



Title	パン酵母の製造法および製パン性能の改良に関する研究
Author(s)	小川, 紀児
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第4334号
Issue Date	1993-06-30
DOI	https://doi.org/10.11501/3073070
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/49916
Type	doctoral thesis
File Information	000000267501.pdf



パン酵母の製造法および製パン性能
の改良に関する研究

小川紀児

①

目次

パン酵母の製造法および製パン性能

第1章 酵母の製造法	1
第2章 酵母の性能	4
第3章 酵母の改良に関する研究	10
第4章 製パン性能の測定	18
第5章 菌体成分と製パン性能との関係	24
第6章 考察	32
第7章 参考文献	37
第8章 謝辞	37
第9章 索引	37
第10章 参考文献	37
第11章 謝辞	37
第12章 索引	37
第13章 参考文献	37
第14章 謝辞	37
第15章 索引	37
第16章 参考文献	37
第17章 謝辞	37
第18章 索引	37
第19章 参考文献	37
第20章 謝辞	37
第21章 索引	37
第22章 参考文献	37
第23章 謝辞	37
第24章 索引	37
第25章 参考文献	37
第26章 謝辞	37
第27章 索引	37
第28章 参考文献	37
第29章 謝辞	37
第30章 索引	37
第31章 参考文献	37
第32章 謝辞	37
第33章 索引	37
第34章 参考文献	37
第35章 謝辞	37
第36章 索引	37
第37章 参考文献	37
第38章 謝辞	37
第39章 索引	37
第40章 参考文献	37
第41章 謝辞	37
第42章 索引	37
第43章 参考文献	37
第44章 謝辞	37
第45章 索引	37
第46章 参考文献	37
第47章 謝辞	37
第48章 索引	37
第49章 参考文献	37
第50章 謝辞	37
第51章 索引	37
第52章 参考文献	37
第53章 謝辞	37
第54章 索引	37
第55章 参考文献	37
第56章 謝辞	37
第57章 索引	37
第58章 参考文献	37
第59章 謝辞	37
第60章 索引	37
第61章 参考文献	37
第62章 謝辞	37
第63章 索引	37
第64章 参考文献	37
第65章 謝辞	37
第66章 索引	37
第67章 参考文献	37
第68章 謝辞	37
第69章 索引	37
第70章 参考文献	37
第71章 謝辞	37
第72章 索引	37
第73章 参考文献	37
第74章 謝辞	37
第75章 索引	37
第76章 参考文献	37
第77章 謝辞	37
第78章 索引	37
第79章 参考文献	37
第80章 謝辞	37
第81章 索引	37
第82章 参考文献	37
第83章 謝辞	37
第84章 索引	37
第85章 参考文献	37
第86章 謝辞	37
第87章 索引	37
第88章 参考文献	37
第89章 謝辞	37
第90章 索引	37
第91章 参考文献	37
第92章 謝辞	37
第93章 索引	37
第94章 参考文献	37
第95章 謝辞	37
第96章 索引	37
第97章 参考文献	37
第98章 謝辞	37
第99章 索引	37
第100章 参考文献	37

平成5年

小川紀児

目次

	頁
I 緒言	1
II 本論	9
第1章 パン酵母培養の基礎	9
第1節 パン酵母製造法の概要	9
第2節 パン酵母の培養法	13
第3節 製パン性能の測定法	16
第4節 測定項目の製パン性能上の意義	24
第5節 考察	32
第6節 要約	35
第2章 原料によるパン酵母の収率および品質の改良	37
第1節 炭素源	37
第2節 窒素およびリン酸源	67
第3節 ビタミン類	75
第4節 考察	86
第5節 要約	97
第3章 培養条件によるパン酵母の収率および品質の改良	99
第1節 種菌の培養条件	99
第2節 培養温度	105
第3節 培養 pH	110
第4節 溶存酸素濃度	117
第5節 糖蜜の流加法	121
第6節 培地浸透圧	125
第7節 考察	138
第8節 要約	146
第4章 パン酵母培養の生物工学的研究	148
第1節 パン酵母の糖供給速度と比増殖速度	148
第2節 パン酵母の酸素要求と供給速度	158
第3節 考察	166

第4節 要約	169
第5章 パン酵母品質向上の生物化学的研究	170
第1節 パン酵母の品質改良の主要因	170
第2節 主要培養条件とパン酵母の醗酵性能	194
第3節 パン酵母の醗酵性能向上と解糖酵素活性	198
第4節 考察	208
第5節 要約	215
III 総括	216
文献	221
謝辞	226

I 糸者言

1. パン酵母製造業界の歴史的背景および現状の紹介

酵母が製パンに使われた最も古い方法は、酵母と乳酸菌など酵母以外の微生物を含む小麦粉と水からなるパン種生地形の形のものであった。酵母はこの培地に増殖し、絶やさぬよう保存されていた。19世紀初頭まで、醸造所の上面酵母が生地の膨張に使われていた。パン屋に供給するための専門の酵母工業が起こったのは19世紀の始めで、19世紀中頃酵母の純粹培養が始まった。その頃の培地は穀類であり、エタノールの製造と一緒に嫌氣的な条件で行われていた。

19世紀の終わりから20世紀の始めにかけて、三つの大きな工程の改良が行われた。まず、エタノールの生成を減少させ酵母の収率を向上させる通気の導入、第2に収率をさらに向上させる培地の流加法の採用、第3に培地を穀物より安くて貯蔵と調製が容易な糖蜜に切り換えたことである。今日では、大容量の培養槽に純粹培養酵母を接種し、大量に通気し、糖蜜を流加することがパン酵母培養の基本的な方法である。ことに第2次世界大戦後、使用する酵母菌株と通気、殺菌、糖蜜流加、包装、貯蔵その他の装置でめざましい改良が行われたため、今日のパン酵母は昔のものより活性が強く、安定で性能の変化が無くなっている。

パン酵母製造工業は大きな醸酵工業の一つである。世界で、およそ 1,700,000トンのパン酵母（圧搾酵母）が毎年生産されている。1983年に、EC加盟の西欧諸国は 473,000トン、トルコを含むその他の西欧諸国は 158,000トン、ソ連を含む東欧諸国は 481,000トン、北米と中米は 363,000トン、南米は 83,000 トン、ソ連とトルコを除いたアジアは 127,000トン、アフリカ 67,000 トン、オーストラリアとオセアニア 11,000 トンの合計 1,763,000トン生産した。¹⁾

わが国のパン酵母の工業生産はポルトガル人がパンを伝えた 1543 年から 288年後の昭和 6年（1931年）に始まった。当時の生産量は年 60 トンであった。パン酵母が本格的に生産されるようになったのは、戦後パン食の普及が始まったときからである。昭和29年（1954年）に学校給食法が制定されパン食が導入されたことによりパン食が急速に進展し、それに伴いパン酵母の生産量が拡大していった。戦後のパン酵母生産量の推移をみると（表1）、²⁾ 1960年以降は、国民のパン食への慣れや食生活の洋風化、近代化によってパン酵母の生産量も急激に増大した。現在では、国内企業7社によって年間約 38,000 トン

表1 わが国のパン酵母ならびにパンの生産量²⁾

(単位：t, パンは小麦粉使用量t)

年	酵母の生産量		パンの生産量
	圧搾酵母	乾燥酵母	
1936	239		
1937	325		
1945	1,117		
1950	9,017		349,831
1955	16,070	288	794,750
1960	14,297	254	628,002
1965	23,273	367	865,000
1966	23,334	1,786	892,885
1967	23,274	2,014	896,538
1968	26,401	1,318	944,269
1969	28,521	955	979,345
1970	28,773	806	970,301
1971	27,973	792	952,051
1972	28,868	616	951,266
1973	30,199	545	981,774
1974	31,671	721	1,029,860
1975	32,499	617	1,062,149
1976	34,047	650	1,097,677
1977	36,007	628	1,146,569
1978	36,841	456	1,167,769
1979	36,805	335	1,167,711
1980	36,859	280	1,189,293
1981	37,893	222	1,209,322
1982	37,783	262	1,192,289
1983	37,937	198	1,193,719
1984	38,438	246	1,202,725

のパン酵母が生産されている。戦後、生産量の伸びに伴い培養方法、菌株などに関する多数の研究によって、わが国のパン酵母の品質は、醗酵力と保存性の面で格段に向上した。わが国のパンの生産量の種類別年次変化(図1)³⁾をみると、合計はほぼ横ばいである。その要因は食糧消費の成熟化にあるものと考えられる。製品別で見ると、食パンが1981年をピークにして減少し、学校給食パンも1975年以降低下しつづけているのに対し、菓子パンとその他のパンでは上昇傾向がつづいている。なお、わが国では統計上パンは次の4種類に分類されている。

食パン……普通食パン、コッペパン、レーズンパンなどで、糖類配合10%未満のもの

菓子パン……あんパン、クリームパン、ジャムパン、デニッシュペーストリーなどの糖類配合10%以上のもの

学給パン……学校で給食に出されるパン。文部省規格によるもの

その他パン……フランスパン、欧風かた焼きパン、ロールパン、クロワッサン、調理パンなど

パン酵母として使用される菌株は、日本酒、ワイン、ビールなどの醸造用酵母と同じ種の *Saccharomyces cerevisiae* に属している。パン酵母は菌体そのものが商品であり、その必要な性質として、パン生地という嫌気的な条件下での醗酵力が強く、持続性のあること、焼き上げたパンのフレーバーが好ましいことの反面、製造において好气的条件下で生育が速く、収率が高いこと、保存中に活性の低下が少ないことなどがあげられる。

製パン上、パン酵母に要求される特性には、高糖濃度生地醗酵性と低糖濃度生地醗酵性という二つの重要な性質がある。前者は高濃度の糖を含む生地でもガス発生が阻害されない性質を表すものである。10~30%の糖(小麦粉重量当たり)を含む菓子パン生地は浸透圧が高くパン酵母のガス発生能を阻害する。わが国では砂糖を30%以上使用する菓子パン製品が多く、耐糖性の高い菌株が重要視されている。そのため、わが国のパン酵母はヨーロッパ、アメリカ諸国のパン酵母に比べて菓子パン生地の醗酵力が強い。後者の低糖濃度生地醗酵性あるいは無糖生地醗酵性とは食パン生地やフランスパン生地での高いガス発生力を有する性質を表すものである。

2. 本研究の製造技術的および学問的な必要性

パン酵母を使用する場合、表2⁴⁾に示すように、対象とするパン製品によって酵母の使

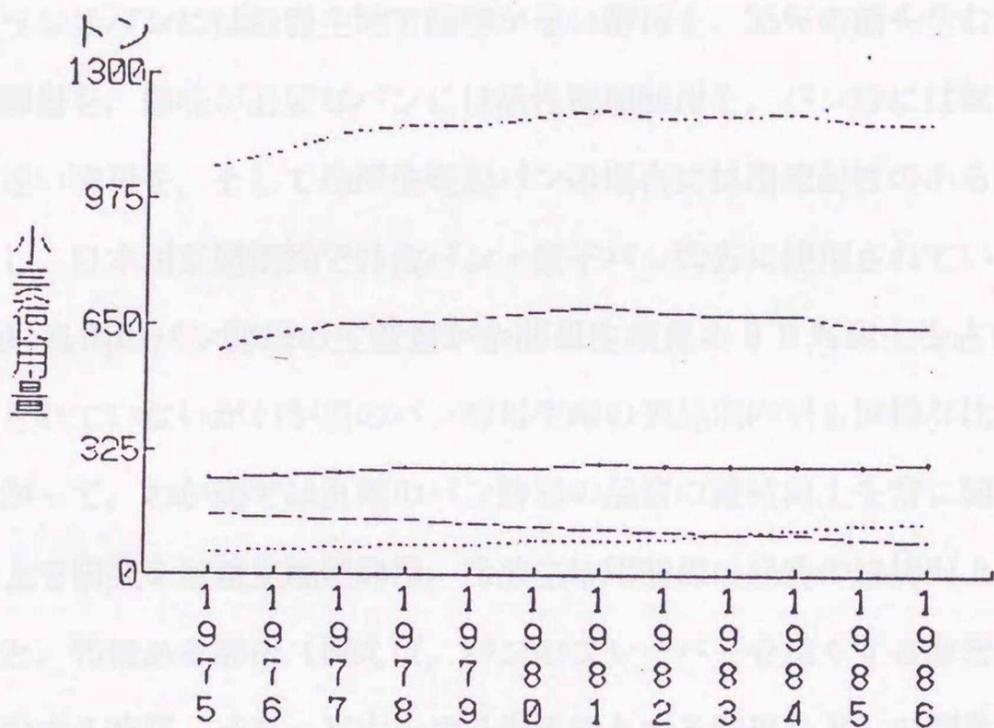


図1 パンの種類別生産の年次変化³⁾

— 食パン

— 菓子パン

..... その他

— 学食

..... 合計

用法や使用量が変わってくる。一種類のパン酵母でも、原料配合や製パン条件を選ぶことによって、かなり広い範囲のパン製品の要求を満たすことができるとはいえ、目的とするパンの特徴を発揮させるのには不十分であり、それぞれの製品に対応した酵母の開発が要望され、フランスパン用、パン粉用、冷凍生地用といった、専用品が市場に流通している。たとえば、フランスパンには無糖生地で醗酵が速い酵母を、35%の糖を含む菓子パンには耐糖性の強い酵母を、風味が必要なパンには活性乾燥酵母を、パン粉には無糖ないし低糖生地で醗酵が速い酵母を、そして冷凍生地製パンの場合には冷凍耐性のある酵母を用いている。²⁾しかし、日本甜菜製糖(株)では食パン・菓子パン両方に使用されている高糖濃度生地醗酵性の強い汎用のパン酵母の生産量が全酵母生産量の90%以上を占めており(表3)、公表はされていないがわが国のパン酵母生産の製品別内訳も同様な比率であろうと考える。したがって、わが国では汎用のパン酵母の品質の維持向上を常に図ることが大切である。その上で研究を無糖生地用酵母、冷凍生地用酵母の品質の維持向上に向けることはむろんのこと、特徴ある酵母(例えば、パンのフレーバーを良くする酵母、サワードウの有機酸を副生する酵母、メリービオースを炭素源とする酵母など)の開発に向ける必要があると考える。

パン酵母の製パン性能の改良を目的とした育種は選抜、突然変異、交雑などによって行われてきた。新しく開発された細胞融合、組換えDNAの技術は、従来の手法と組み合わせると効果が上がると考えられる。細胞融合によれば、接合能のない菌株を交雑することができ、また*Sacch. cerevisiae* 以外の異種酵母と融合させ、新しい性質のパン酵母を得ることが期待できる。DNA組換え技術を応用することによって、パン酵母に異種遺伝子を持たせることにより新規な性質を付与することが可能となり、品質改良、生産性向上が確実に行われると考える。

パン酵母の製パン性能の改良を目的とした場合、菌株の育種の他に、パン酵母菌株が持つ性能を十分に発揮させるために製造条件、すなわち原料ならびに培養条件と製パン性能との関係の検討が必要である。それも、汎用のパン酵母の製造条件と製パン性能との関係を解明することがわが国のパン酵母製造業の基本である。そして得られた結果はより耐糖性の強い、あるいはより食パン性能の強いパン酵母の製造に応用することができる。

培養条件によってパン酵母の品質と収量は大きな影響を受ける。糖蜜を余分に添加するとアルコールに転換し、収率と品質が低下するので、呼吸商(RQ)やアルコール量をモニターして、コンピューター制御が行われる。コンピューターによる制御は、収率の向上、

表2 パンの商品別の酵母使用量⁴⁾

対象商品	標準使用量 (%)
食パン	2 ~3.5
菓子パン	2.5 ~4
フランスパン	1 ~2.5
ペーストリー	4 ~8
イーストドーナツ	3 ~7
パン粉	2 ~3
ビスケット	1 ~2
クラッカー	0.5 ~3
中華まんじゅう	2 ~3
かりん糖	1.5 ~2.5

表3 パン酵母の銘柄別生産量 日本甜菜製糖(株) (1987)

銘柄	生産量		
	t	%	
圧搾酵母	小計	3,233	100
	汎用	2,945	91.15
	無糖用	107	3.31
	冷凍用	156	4.83
	飼料用	25	0.77
乾燥酵母	小計	28.9	
	活性乾燥酵母	28.9	
	薬用酵母	-	
圧搾酵母換算*	合計	3,323	

* 乾燥酵母×3.125 = 圧搾酵母換算

品質の安定化に寄与している。普通の培養での最終菌体濃度は約5%であるが、高濃度培養は培養装置の規模縮小、廃液量の減少、分離エネルギーの軽減などに効果がある。高濃度培養を行うためには高い酸素供給速度の培養槽の開発と酸素富化膜などの実用化研究が必要である。

パン酵母の培養では、後半に糖蜜流加量を減少させて、酵母を熟成させる。熟成によって、保存性が高められ、耐糖性が強くなる。先に述べたように、わが国では20%から40%という高い糖濃度の菓子パンに適した耐糖性のあるパン酵母が求められるため、熟成方法の研究が重要視されている。パン酵母の培養のさい増殖と熟成とに分けて行う2槽式の連続培養法の開発が残され、それを可能にするには無菌培養系の確立が必須である。

一方、主原料である糖蜜はパン酵母が資化できない有機物を多く含んでいるため、排水処理のコストが大きい。濃厚な廃液は濃縮して肥料化されている。メタン醗酵法、活性汚泥法、ラグーン法で分解できない着色物質などに対する処理の研究が必要であり、非資化性の有機物質を除去する研究や糖蜜の代替原料として、トウモロコシなどのでんぷん質の利用の研究がある。

本研究は、高糖濃度生地醗酵性能の強い汎用のパン酵母を対象とし、製パン性能の優れたパン酵母を製造する製造法の改良を目的として行った。

まず、未だ体系づけられていないパン酵母の醗酵諸特性と製パン性能との関係を検討し、製パンにおけるパン酵母の機能と醗酵諸特性との関係を解明することができた。

次いで、原料ならびに培養条件について各種の条件でパン酵母を培養し、得られたパン酵母の製パン性能を調べた。得られた結果から、パン酵母の製造法と製パン性能との関係を明らかにすることができ、最も良い製造条件を見出し、パン酵母の製造法を改良することができた。

次に、他の醗酵工業に較べ酸素要求速度が大きいパン酵母の製造において、得られた最良条件を大量培養の場で良く再現し、収率と品質の安定したパン酵母製造を行うためには、酸素供給速度の速い培養槽が必要である。そこでパン酵母培養の生物工学的検討を行い、パン酵母の酸素要求速度を決定した。得られた結果を製品培養槽の設計に用いることができると考える。

さらに、パン酵母の醗酵性能を向上する主要な培養条件を決定し、とくに糖蜜の間欠流加法と培地浸透圧が醗酵性能を向上するメカニズムを解糖酵素活性ならびにパン酵母の耐浸透圧性獲得の検討という生物化学的研究を行い、糖蜜の間欠流加法と培地浸透圧とはパ

ン酵母の醗酵性能向上に対するメカニズムが異なり、糖蜜の間欠流加法はパン酵母の解糖系酵素活性を向上し、培地浸透圧はパン酵母細胞への糖の取り込み速度を速め、かつ耐浸透圧性を付与することを見出し、培養条件によるパン酵母の醗酵性能向上のメカニズムを説明づけすることができた。

本研究で得られた結果を用いることにより、汎用のパン酵母の製パン性能を改良することはもちろん、専用パン酵母の製パン性能の改良に応用することができると思う。

II 本論

第1章 パン酵母培養の基礎

本章では、パン酵母製造法の概要を述べるとともに、本論文で用いたパン酵母の培養法の基本並びに分析と測定法を示した。また測定項目の製パン上の意義を明らかにするため、未だ体系づけられていないパン酵母の菌体成分ならびに醗酵諸特性と製パン性能との関係を検討した。

第1節 パン酵母製造の概要

パン酵母製造の主原料はビート糖蜜とケーン糖蜜で、炭素源ならびにエネルギー源としての醗酵性糖と無機塩類、イオウ、ビタミン類、微量元素と若干の有機態窒素を供給する。しかし、糖蜜由来の窒素とリン酸ではパン酵母の増殖に不十分であるため、窒素源（urea, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ あるいはアンモニウム塩）とリン酸源（リン酸またはリン酸塩）を添加しなければならない。ときにはビタミン類（biotin, thiamine）や無機塩類（マグネシウム塩および微量金属）の添加も必要である。

最終の製品培養は好気条件下、糖蜜の増量流加（糖蜜の量をパン酵母の増殖に合わせて増加して流加する方法）で行われる。培養は pH 4～6，温度 30℃で8～12時間行われる。培養時の比増殖速度は 0.25hr^{-1} 以下に抑える必要があるといわれている。⁵⁾ 酵母菌体の増加は種菌酵母の4～8倍で、終了までに酵母固形分で4～4.5%を醗酵液中に生産する。

1. 培養の順序

パン酵母の培養はフラスコ培養から始まり、次いで通気のみで回分培養の純粋培養(F-01, 02, 03)，通気攪拌回分培養の前培養(F-04)，通気攪拌流加培養の種培養(F-05)を経て、製品培養(F-06)で行われる（表4，図2）。

種酵母を増殖させる一連の小規模な培養は実験室から始まる。そこでは、まず始めに栄養に富んだ液体培地（麦芽エキス）を含む試験管に斜面から接種し、18℃ 72時間培養する。次いで試験管内の酵母をパスツールフラスコに接種する。24℃ 48時間静置培養したあと、パスツールフラスコの中身を、窒素源とリン酸源などを添加した糖蜜培地が入っている容積 100ℓの純粋培養槽(F-01)に接種する。培地は純粋培養槽内で直接滅菌し、増量流加は行わない。通気にはあらかじめ除菌した空気を用いる。

表4 酵母増殖各ステージの主要条件

ステージ	単位	種培養工程					製品培養工程	
		フラスコ	F-01	F-02	F-03	F-04	F-05	F-06
		0.017	0.6	5.9	33.7	442	1,000	
酵母	Kg	~0.017	~0.6	~5.9	~33.7	~442	~5,064	~4,800
液量	m ³	2.4×10 ⁻³	0.066	0.52	3.12	14.4	103	110
培養時間	hr	48	13	13	13	18	16	13
培養温度	°C	24	26	26	26	30	30	30
糖量	Kg	-	4.6	32.8	279	1,122	10,839	7,625
収率	%		12.7	16.2	9.9	36.4	42.6	49.8

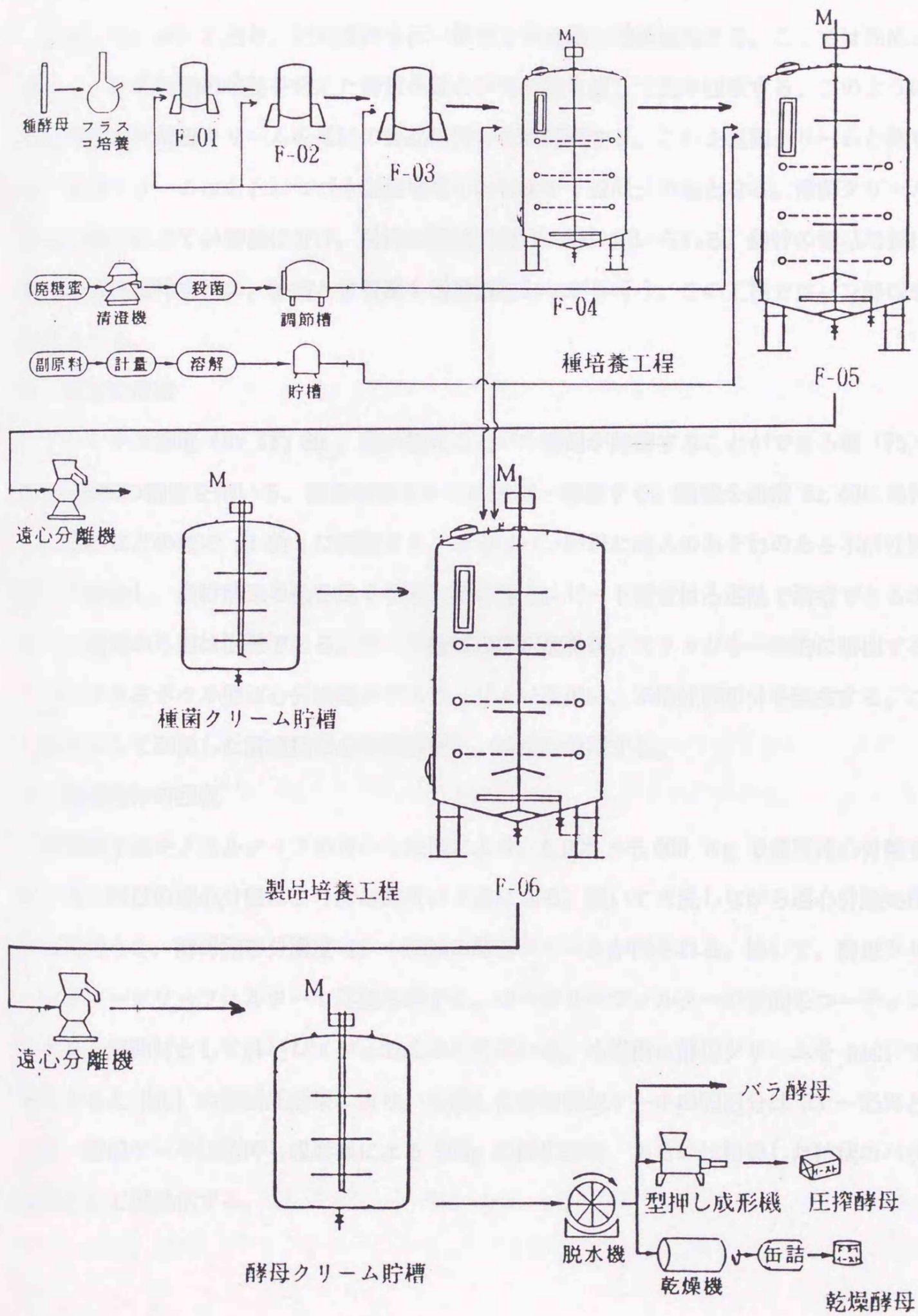


図 2 酵母製造工程

F-01と同様にして、純粋培養は F-02(700 ℓ) , F-03(5kl) と容量を大きくしながら、続けて行われる。F-03段階の培養槽の中身全部を増量流加装置を備え、良好な通気攪拌ができる F-04(20kl) に送る。培養終了後、F-04段階の中身全部を製品培養に用いる培養槽 (F-05, 160 kl) に送り、通気攪拌を行い糖蜜と栄養源を増量流加する。ここでは熟成させない。F-05段階の培養を終えた酵母を遠心分離を繰り返して洗浄回収する。このようにして得られた酵母クリームを最終の製品培養のため貯蔵する。これを種菌クリームと称する。種菌クリームはあとにつづく製品培養のおおよそ1週間分の種となる。種菌クリームは製品量に応じて必要量に分け、最終の製品培養(F-06)に用いられる。最終の製品培養は最大の通気攪拌を行い、糖蜜と栄養源を増量流加しながら行う。この工程ではパン酵母を熟成させる。

2. 糖蜜の清澄

ブリックス濃度 (Bx.) 約 80 , 言い換えるとパン酵母が醗酵することができる糖 (FS) 50 ~55%の糖蜜を用いる。糖蜜はあらかじめ希釈・清澄する。糖蜜を通常 Bx. 40に希釈し、硫酸などの酸で pH 約5に調整する。清澄はパン酵母に混入のおそれのある不溶性固形分を除去し、最終酵母の色を良くするために行う。ビート糖蜜はろ過法で清澄できるが、ケーン糖蜜のろ過は困難である。ケーン糖蜜は希釈加熱後、スラッジを一時的に排出することができるボウル型遠心分離機のデスラッチャーを用い、不溶性固形分を除去する。このようにして調製した清澄糖蜜を加熱滅菌し、培養に使用する。

3. 酵母菌体の回収

培養終了液をノズルタイプの遠心分離機により、4,000 ~5,000 ×g で連続遠心分離する。第1回目の遠心分離により酵母濃度は3倍になる。続いて水洗しながら遠心分離処理を3回行うと、酵母固形分濃度 18 ~20%の酵母クリームが得られる。続いて、酵母クリームをロータリーフィルターで連続ろ過する。ロータリーフィルターの表面をコーティングするろ過助材としてはバレイショでんぷんを用いる。ろ過前に酵母クリームを NaCl で処理すると NaCl の浸透圧効果により、ろ過した後の酵母ケーキの固形分は 33 ~35%となる。酵母ケーキは型押し成形機による 500g の固形酵母、あるいは粉碎した粒状のバラ酵母として製品化する。

第2節 パン酵母の培養法

本論文で用いたパン酵母の培養法の基本をここにまとめて示す。図3に示すように、実験の目的に合わせ各スケールの培養を行った。培養は熟成させない種菌培養と培養の後半に糖の供給を制限して熟成させる製品培養を行った。

1. 三角フラスコ並びに振盪フラスコ種菌培養

YPD 培地 (表5) 100 mlを含む 200ml容三角フラスコに寒天斜面から1白金耳接種し、30℃ 1日振盪し、その培養液 5 mlずつをフラスコ種菌培地 (表6) 120mlを含む振盪フラスコに接種し、30℃ 2日間振盪する。培養液を遠心集菌し、滅菌水で1回洗浄後、一定容とする。

2. シリンダー製品培養

2G2 ガラスフィルター付 500ml容シリンダーを用い、種菌 0.68g, 製品酵母の N 8%, P_2O_5 2.5%になるように, urea, KH_2PO_4 を添加し、通気量 4 l/min, 温度 30-33℃, pH4.0-4.2, 培養時間 11 時間, 糖 8.0g を表7に示した流加表に従って流加する。

3. ミニジャー製品培養

2 l容ミニジャーを用い、種菌 16g, 製品酵母の N 8.0%, P_2O_5 2.5%になるように urea と KH_2PO_4 を加え、さらに $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, inositol 10 mg, Ca-pantothenate 0.4 mg, pyridoxine 0.2mg, biotin 60 μ g を添加する。thiamine 10 mg を添加したケーン糖蜜 (FS 103.5 g) を表8に示した流加表に従って培養時間 10 時間15分で流加する。温度30℃, pH 4.0-7.0, 通気量 2 l/min, DOは攪拌数を変えて、飽和濃度の20-30%を維持する。

4. ジャー種菌培養

10 l容ジャーを用い、種菌は 30 °C 24 時間振盪培養した酵母 10gを使用し、生成酵母の N 9.0%, P_2O_5 3.0%になるように urea, KH_2PO_4 を添加する。糖175gを表9の流加表に従って培養時間9時間で流加する。温度 30 °C, pH4.0-4.2, DOは攪拌数によって飽和濃度の10-20%を維持する。

5. ジャー製品培養

10 l容ジャーを用い、種菌 20.6g, 糖量 250g, 副原料は 2 l容ミニジャーの項で記した量の糖量比で添加する。温度, pH, DOなどの条件は 2 l容ミニジャーの項で記した条件と同じである。

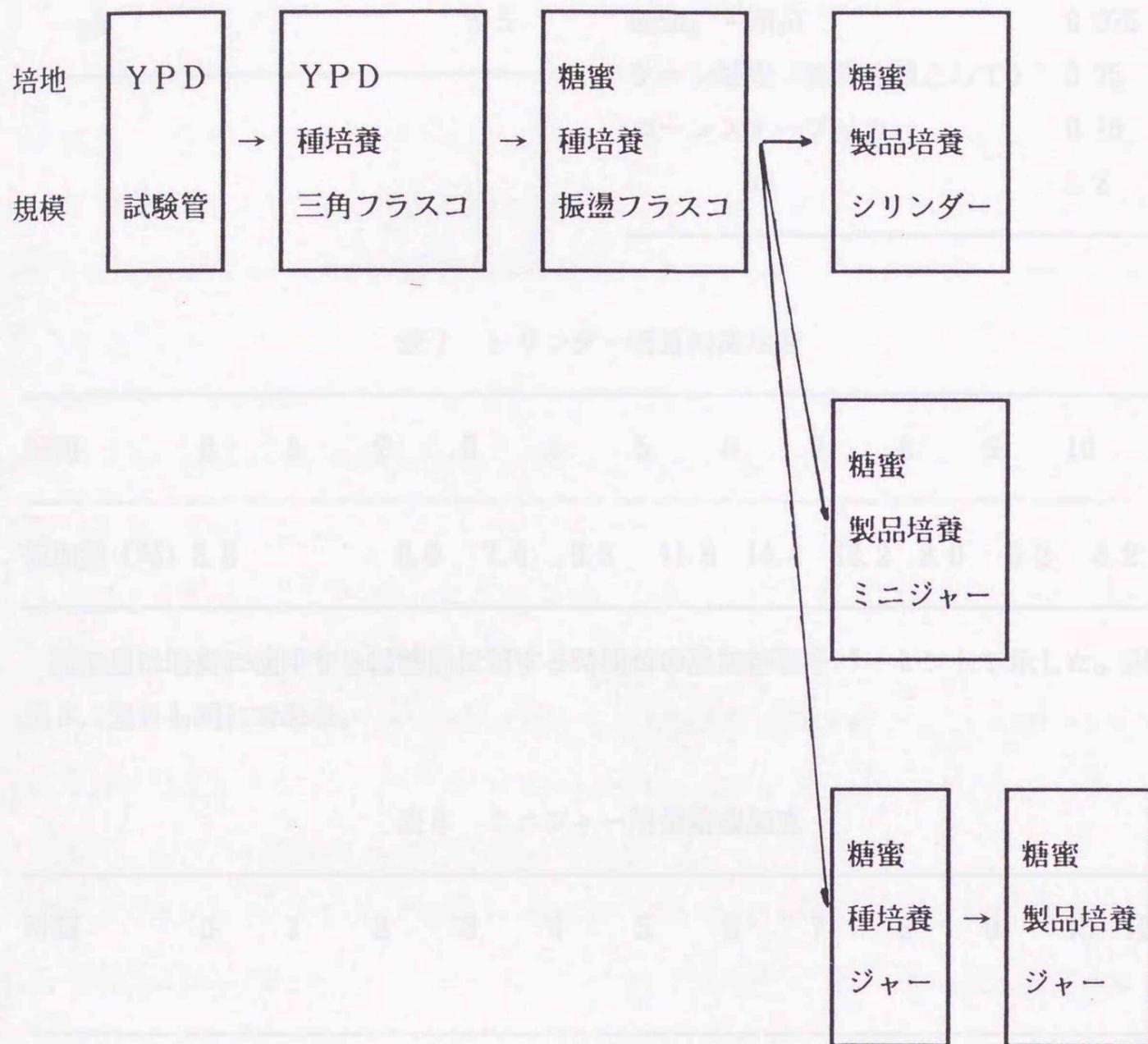


図3 培養の規模と流れ

表5 YPD培地

イーストエキス	1 %
ポリペプトン	2
グルコース	2
pH	5.5

表6 フラスコ培地

(NH ₄) ₂ SO ₄	0.3 %
urea	0.19
KH ₂ PO ₄	0.075
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.075
ケーン糖蜜 (醱酵性糖として)	3.75
コーンスチープリカー	0.19
pH	5.2

表7 シリンダー培養糖流加表

時間	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
流加量 (%)	8.8		6.0	7.4	9.3	11.5	14.4	18.2	8.0	8.2	8.2	

流加量は培養に使用する総糖量に対する時間毎の流加糖量をパーセントで示した。以下表8, 表9も同じである。

表8 ミニジャー培養糖流加表

時間	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10:15
流加量 (%)	6.2	7.6	9.2	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0	9.9	9.9	2.2	

表9 ジャー種培養糖流加表

時間	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
流加量 (%)	8.9	-	6.1	7.9	9.6	11.9	14.7	18.2	22.7	

第3節 製パン性能の測定法

製パンにおけるパン酵母の役割は、その使用量が小麦粉に対して数%と少量である（表2）にもかかわらず、非常に重要である。パン酵母はパン生地中で3つの重要な働きをする。まず糖を醗酵して、生成したCO₂は生地を膨張させ、同時にできた ethanolと有機酸が生地の物理性に变化を与えて熟成を進行させ、細かい気泡膜を形成させる。一方、生成した ethanol, 有機酸, ester, carbonyl化合物などはパンに好ましい風味を与える。

生地醗酵に影響を与える要因としては、イーストフードとして添加した栄養源、温度、pH、酵母使用量などがある。とくに酵母使用量については、製パンでの小麦粉の種類や糖の種類と添加量によっても生地の膨張量ひいてはパンの容積が変わるので、総合的に決定する必要がある。

パン生地中の糖の種類は、(1) 小麦粉中の糖、(2) 酵素作用により二次的に生成する糖および (3) 製パン時に配合される糖がある。これらの糖の量や組成がパン酵母の生地醗酵に大きな影響を与える。

sucrose を加えた生地の場合、まず sucroseがミキシング中にパン酵母の invertaseにより転化され glucoseと fructose になる。一方、小麦粉中には sucrose, glucose, fructose などの糖があり、パン酵母は最初これらの糖を醗酵する。これらの糖が消費された後の糖基質としては、小麦粉中のでんぷんから生成する maltoseが主体となる。したがって、maltose 醗酵は製パン上重要な性能である。

わが国では世界各国のいろいろなパンが作られているといわれ、そこに用いられる糖濃度の範囲はほとんど使用しないフランスパンから、30%程度の菓子パンまで、非常に幅広くなっている。わが国では、この幅広い生地糖濃度に使用でき、菓子パン生地の醗酵が強く、生地の醗酵速度が速いことが求められてきた。パン酵母の菓子パン適性は、主に高濃度（25~35%）の糖に対する醗酵力、いわゆる耐糖性ということで評価が行われている。耐糖性とは耐 sucrose性を意味し、パン酵母の耐糖性は invertase活性と高度の逆相関関係にあり、invertase 活性の強弱によって生地中の転化糖量に著しい差を生じる。したがって、sucrose 使用量が多い菓子パン生地に invertase活性が高いパン酵母を用いると生地中の浸透圧は高いものになる。このような条件下で、醗酵の阻害が起こり耐糖性が劣る結果となる。欧米型（4倍体）のパン酵母やビール酵母、酒酵母などは、一般的に invertase活性が高く、耐糖性が低いが、わが国のパン酵母は食パン、菓子パンに共用されるため、あらかじめ invertase活性の低い2倍体の菌株が選択され、培養時においても

活性を一定レベルに抑えるような条件がとられている。

パン酵母に要求される性能は生地を膨張させる能力にあるため、生地中の糖濃度に関係なく醗酵力が強く、醗酵が速ければ速いほど良く、しかも使用者からみれば、1種類のパン酵母でこれらを満足すれば管理上も望ましくあったので、わが国ではもっぱら通常のパン酵母の醗酵力の向上に研究の力が注がれてきた。その結果、幅広い糖濃度に対応でき、どれにでも使用することができる、ただ1種類のパン酵母が用いられることになり、世界的にみても類のないほど、わが国のパン酵母の品質は高水準にあるといわれる。

一方、新鮮時の製パン適性がすぐれたものであっても、耐久性（貯蔵性）が悪ければ商品としての価値はない。これまでの知見から、パン酵母の耐久力を増強するには、菌体成分、とくに全炭水化物と全窒素量のバランスをコントロールする方法がとられ、窒素飢餓培養といった手段が熟成終期に施されて、出芽細胞を成熟細胞に導き、trehalose とよばれる貯蔵性炭水化物の蓄積を図ることによって、製品の耐久性を向上させている。

以下に、本論文で使用したパン酵母の試験法を記す。

1. 収率

収率は、乾物重量を測定し、対醗酵性糖収率として表示した。

2. 酵母菌体成分の分析ならびに測定法

(1) N

ケルダール法⁶⁾による。表示は%とした。

(2) P₂O₅

デニゲス法⁷⁾による。表示は%とした。

(3) 全炭水化物ならびに trehalose

アンスロン法⁸⁾による。trehalose は trichloroacetic acid 可溶性炭水化物として定量した。表示は%とした。

(4) 娘細胞率

トーマの血球計数板を用い、娘細胞を実測する。全細胞数に対する娘細胞数の%で表示した。

(5) invertase 活性

測定方法を研究の途中で変更したため、2通りの測定法を述べる。

1) 100ml容三角フラスコに pH 4.5 の M/15 KH₂PO₄溶液の 40 % sucrose溶液20mlに酵母 150mgを加え、30℃で1時間振盪しながら反応させた後、その 5 mlをとり、1/10N

NaOH溶液 5 mlを加えて酵素反応を停止させる。この 1 mlをとり、50 mlにメスアップし、これより 10 mlをとり、ベルトラン法により転化糖量を測定する。表示は消費した KMnO_4 溶液の滴定値 (ml) とする。

2) 5% sucrose溶液 (0.1M citrate buffer, pH 5.5) 1 mlに、酵母懸濁液 (乾物量として 0.5~1.5 mg/ml) を 1 ml添加し、30°C, 3分間反応後、N NaOH 2 mlを添加して反応を止め、生成した転化糖をジニトロサリチル酸法⁹⁾で定量した。活性は、1gの酵母が1分間に生成する転化糖の重量 (mg) で示した。

(6) maltase 活性¹⁰⁾

酵母懸濁液 5 ml (乾物として 50~100mg を含む) を試験管にとり、0.2M phosphate buffer (pH 6.0) 5 mlを添加後、超音波細胞破碎機 (ヒートシステム・ウルトラソニック社製, ソニケーター, W-375 型) を用いて、20K Hz, 40W で、0°C, 10分間超音波処理を行った。処理後、0°Cで、10,000rpm, 5分間遠沈し、菌体を除去した。この上清 0.5 mlと 10mM の p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside溶液 0.5 mlを混合し、25°Cで3分間反応後、0.1M Na_2CO_3 溶液 5 mlを添加して反応を止め、生成した p-nitrophenolを 400nmで比色し定量した。pH 6.0, 25°Cで1分間に 1 μ moleの p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside を分解する酵素量を maltase 1単位として、maltase 活性は、菌体乾物 1mg当たりの単位数で表示した。

3. 酵母の醗酵特性

(1) 液体醗酵力 (F_{10} , F_{40} , M_8)

酵母懸濁液添加後、所定の濃度となるよう調製した Atkinらの培地¹¹⁾ をマイセル瓶にとり、酵母懸濁液 (乾物として 200mgを含む) を添加して 25 mlとし、30°C, 3時間振盪後、発生した CO_2 量を重量 (mg) で測定した。糖濃度が、sucrose 10%のとき F_{10} , 40%のとき F_{40} , maltose 8%のとき M_8 と表示した。

(2) 生地醗酵力

イースト工業会の方法¹²⁾ に準じて実施した。sucrose 無添加を無糖生地, 5%を低糖生地, 30%を高糖生地とした。生地体積の測定時間は、無糖生地では第1醗酵 (無糖生地 I) 60分, 第2醗酵 (無糖生地 II) 40分, 低糖生地では第1醗酵 (低糖生地 I) 60分, 第2醗酵 (低糖生地 II) 40分, 第3醗酵 (低糖生地 III) 40分, 高糖生地では 80分である。第1醗酵終了後ガス抜きを行い第2醗酵を行う。低糖生地は第3醗酵まで行い、生地の体積を mlで表す。

(3) チモタキグラフ法あるいはファーモグラフ法

2つの方法は原理が同じであるが、研究の途中でチモタキグラフ法からファーモグラフ法に変更したため2通りの測定方法を述べる。

1) チモタキグラフ法

無糖生地は小麦粉 155g, 酵母 1.5g (乾物として), 水 90 mlを混合し, 加糖生地は小麦粉 155g, 酵母 2.3g, glucose 6.7g, 水 88 mlを混合し, CHOPIN(株)製チモタキグラフにセットし, 温度 28 °Cで醗酵させ, CO₂ 発生のパターンを調べた。

2) ファーモグラフ法¹³⁾

無糖生地ファーモグラフは小麦粉 100g, 酵母 0.99g, 水 62 mlを混合した生地 40g。加糖生地は小麦粉 100g, 酵母 1.46g, glucose 4.3g, 水 57 mlを混合した生地 40gを, アトー(株)製ファーモグラフにセットし, 28°Cの温度で醗酵させ, 5分間毎の CO₂発生量を測定した。

ファーモグラフデータの解析に当たっては結果を数値化するために3つの指標, 無糖生地はファーモ a₀, ファーモ F_t, 加糖生地は菓子 a₀ を用いた。

ファーモ a₀ は醗酵初期における CO₂発生加速度を表すパラメーターであり, 1山目のピークにおける時間当たりの CO₂発生量をピーク時間で除した値である。単位は, [ml / min²] で表す。この値の大きさは醗酵初期の速さを表すものとする。図4の例では, ピーク時の CO₂発生量は 7.585 [ml/5min], ピーク時間は31.980 [min] である。したがって a₀ の値は,

$$7.585 / (31.980 \times 5) = 47.44 \times 10^{-3} \text{ [ml/min}^2 \text{]}$$

となる。

ファーモ F_t は醗酵終了時間を示すパラメーターであり, 2山目のピークと下り勾配との交点である。単位は [min] で表す。この値の大きさは全体の醗酵の速さを表すものとする。図4の例では, 図より 166.0 [min] と読みとれる。

菓子 a₀ は加糖生地における初期醗酵の CO₂発生加速度を表すパラメーターであり, ピークにおける時間当たりの CO₂発生量をピーク時間で除した値である。単位は [ml / min²] で表す。この値の大きさは菓子パン中種生地における醗酵初期の速さを表すものとする。図4の例ではピーク時の CO₂発生量は 9.636 [ml/5min], ピーク時間は 43.685 [min] である。したがって菓子 a₀ の値は,

$$9.636 / (43.685 \times 5) = 44.12 \times 10^{-3} \text{ [ml/min}^2 \text{]}$$

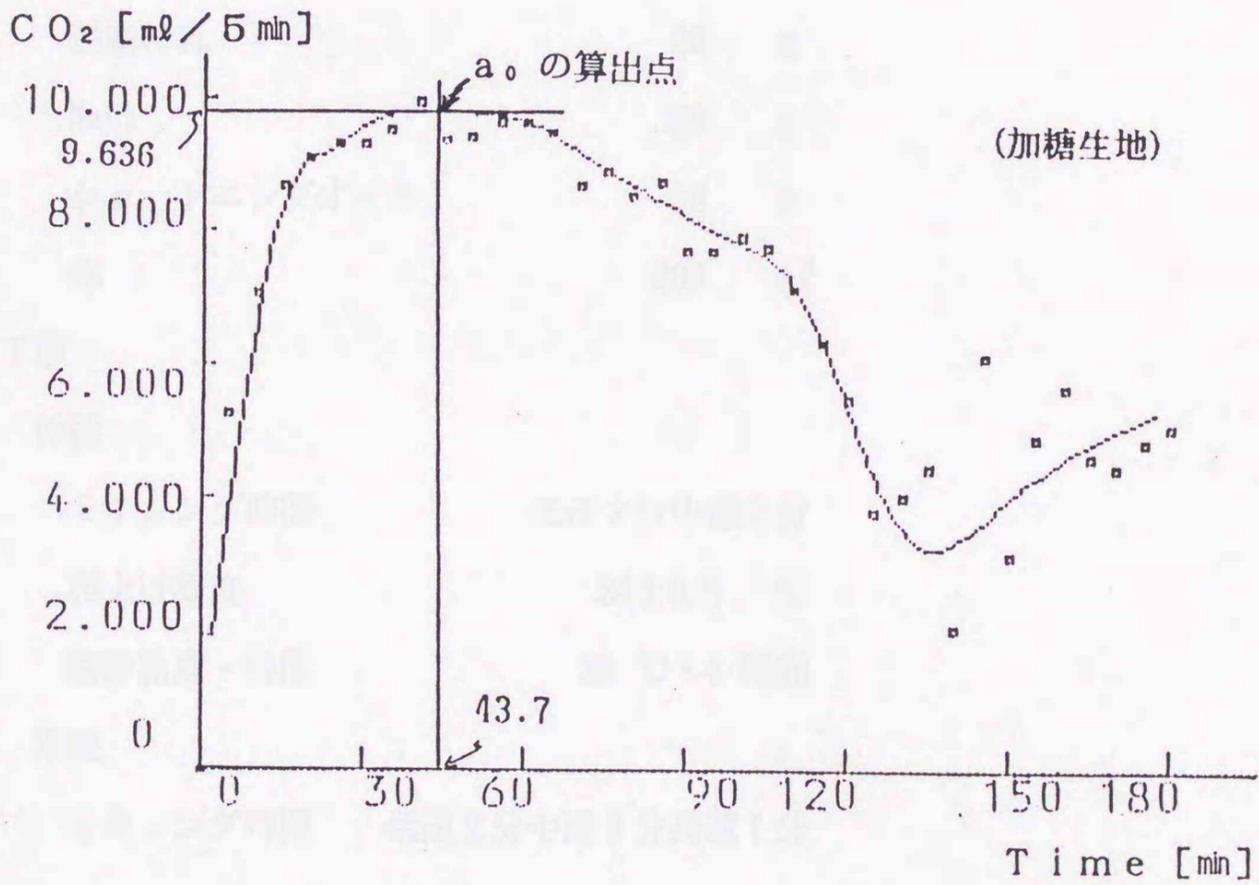
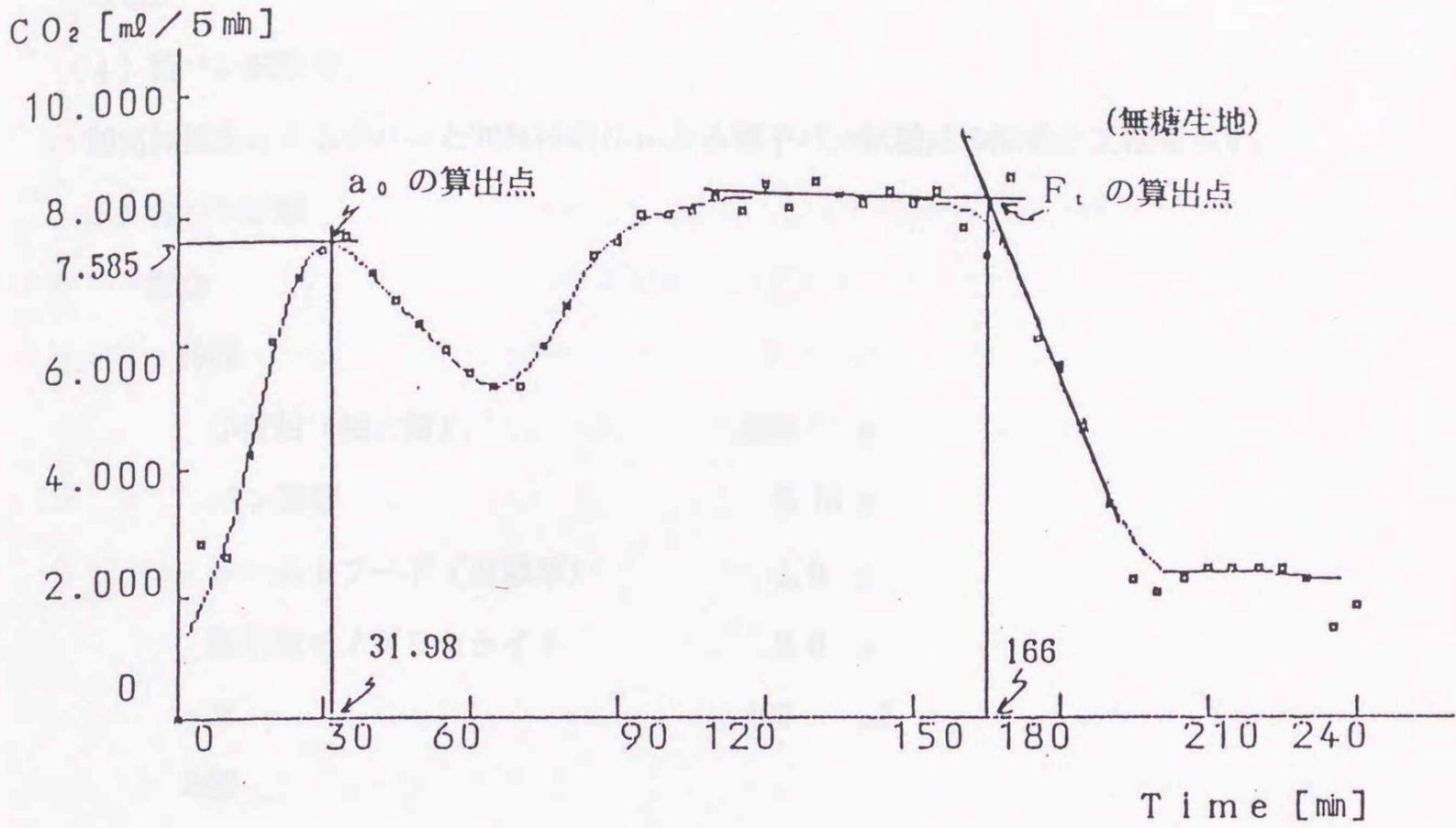


図4 ファーモグラフ解析例

となる。

(4) 製パン試験法

80%仲種法による食パンと70%仲種法による菓子パン試験法の配合と工程を示す。

1) 食パン試験

・配合

仲種

小麦粉 (強力粉)	800	g
パン酵母	8.16	g
イーストフード (有機系)	1.0	g
脂肪酸モノグリセライド	3.0	g
水	460	ml

本捏

小麦粉 (強力粉)	200	g
sucrose	50	g
脱脂粉乳	20	g
NaCl	20	g
ショートニングオイル	50	g
水	200	ml

・工程

仲種

ミキシング時間	低速 2分 中速 2分
捏上げ温度	24±0.5 °C
醱酵温度・時間	28 °C・4 時間

本捏

ミキシング時間	低速 2分 中速 3分 高速 1分 低速 2分 中速 3分 高速 3分
捏上げ温度	27.5±0.5 °C
フロア温度・時間	28°C・20分
分割量	450 g
ベンチ温度・時間	28°C・20分

ホイロ温度・湿度 38℃・85%RH

ホイロ終点（パンケース上縁までの高さ）2 cm

焼成温度・時間 215±5℃・20分

食パン試験において、以下に述べる項目を測定し、その値を示した。仲種工程では仲種醱酵生地、60、90、120分目の生地の体積を仲種醱酵 (*ml*) として示した。ホイロの工程では本捏生地が膨張し、生地の体積がホイロの終点に達するまでの時間をホイロ所要時間 (分) として示した。焼成工程では焼成したパンの体積を重量で除した値を比容積 (—) として示した。

2) 菓子パン試験

・配合

仲種

小麦粉（強力粉） 700 g

パン酵母 10.2 g

イーストフード（有機系） 1.0 g

脂肪酸モノグリセライド 3.0 g

glucose 30 g

卵（全卵） 50 g

水 350 *ml*

本捏

小麦粉（強力粉） 300 g

sucrose 170 g

脱脂粉乳 30 g

NaCl 10 g

ショートニングオイル 80 g

水 210 *ml*

・工程

仲種

ミキシング時間 低速2分 中速2分

捏上げ温度 25±0.5℃

醱酵温度・時間 28℃・2.5時間

本捏

ミキシング時間 低速2分中速3分高速1分

低速2分中速2分高速2分

捏上げ温度 $28 \pm 0.5 \text{ } ^\circ\text{C}$

フロア温度・時間 $28^\circ\text{C} \cdot 30\text{分}$

分割量 70 g

ベンチ温度・時間 $28^\circ\text{C} \cdot 20\text{分}$

ホイロ温度・湿度・時間 $38^\circ\text{C} \cdot 85\%RH \cdot 50\text{分}$

焼成温度・時間 $210 \pm 5 \text{ } ^\circ\text{C} \cdot 8\text{分}$

菓子パン試験において、以下に述べる項目を測定し、その値を示した。仲種工程では仲種醱酵生地₃₀、₆₀、₉₀分目の生地の体積を仲種醱酵 (ml) として示した。ホイロの工程では本捏生地がホイロ時間 50 分間経過後の生地の体積をホイロ (ml) として示した。焼成工程では焼成したパンの体積を重量で除した値を比容積 (-) として示した。

第4節 測定項目の製パン性能上の意義

前節でパン酵母の測定項目と測定方法を述べたが、菌体成分（N, P₂O₅, 全炭水化物, trehalose, 娘細胞率）、酵素活性（invertase, maltase）、液体醱酵力（M₈, F₁₀, F₄₀）、生地醱酵力（無糖生地, 低糖生地, 高糖生地）、チモタキグラフあるいはファーマグラフ（無糖, 加糖）、製パン試験（食パン, 菓子パン）と多数の測定を行っている。しかし、パン酵母の製パン性能とこれらの測定成績、言い換えると醱酵特性との関係は断片的に論じられているが、まだ明確に体系づけられていない。最終的にはパンを焼いて見なければ分からないということは残るが、この関係を明確にすることは、菌株の選択や培養条件の検討に資するところが大きく、役立つものと考えられる。

本節では、幅広い生地糖濃度に使用でき、その醱酵速度が速い2倍体の汎用のパン酵母を主要培養条件を変え16種類の培養条件で培養した酵母（第5章第1節参照）について、酵母の菌体成分や醱酵特性と製パン性能との関係を解析し、相関を見出し、体系づけを行った。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用の2倍体パン酵母菌株

培養：2ℓ容ミニジャーを用いた。

測定あるいは試験：培養して得られたパン酵母の収率、全窒素、磷酸、娘細胞率、全炭水化物、trehalose、invertase 活性、maltase 活性、液体醱酵（M₈, F₁₀, F₄₀）、生地醱酵（無糖生地 I, II, 低糖生地 I, II, III, 高糖生地）、無糖生地ファーマグラフ a₀, F₁, 加糖生地ファーマグラフ菓子 a₀, 食パン仲種醱酵（60, 90, 120分）、食パンホイロ所要時間、食パン比容積、菓子パン仲種醱酵（30, 60, 90分）、菓子パンホイロ、菓子パン比容積を測定あるいは試験した。ただし、invertase 活性の測定はジニトロサリチル酸法を用い、食パンホイロの所要時間の測定を2回行った。

実験結果

結果を表10(1)～(4)ならびに無糖生地ならびに加糖生地ファーマグラフを図5(1), (2)に示した。パン酵母の醱酵性能間の相関を求めるため結果を解析し、得られた各特性値間の相関係数を表11に示した。

相関係数が0.5以上（自由度14での95%信頼、両側）を示し、相関が認められた各特

表10-(1) パン酵母の菌体成分と invertase, maltase 活性

実験 No. *	収率 %	N %	P ₂ O ₅ %	TCH %	trehalose %	娘細胞率 %	invertase U	maltase U
1	41.0	7.26	2.82	31.57	6.98	12.13	153.20	24.76
2	37.6	8.50	2.84	28.04	5.53	20.80	101.47	18.34
3	34.9	8.20	2.97	24.22	2.44	18.80	134.34	28.71
4	39.5	8.02	3.01	29.02	6.67	12.13	64.29	32.47
5	42.6	8.14	2.40	25.01	3.59	4.76	154.64	18.20
6	41.6	8.33	2.80	26.67	4.57	10.75	38.06	20.82
7	39.9	7.88	2.23	26.03	6.56	13.29	56.94	37.90
8	35.9	8.55	2.72	24.80	6.50	23.13	47.34	34.97
9	42.9	7.65	2.38	22.75	1.78	6.61	190.23	16.45
10	34.8	9.15	2.68	25.38	6.73	25.08	109.66	22.04
11	41.2	8.20	2.52	25.29	6.09	6.55	152.90	29.47
12	40.4	7.91	2.53	26.57	5.49	5.09	66.08	23.11
13	40.5	8.41	2.95	27.90	5.35	14.09	224.27	17.40
14	38.6	7.99	3.08	24.60	3.48	4.37	70.24	14.25
15	44.5	7.89	2.64	25.97	2.78	9.40	148.47	27.83
16	34.4	8.62	3.42	23.95	6.03	28.13	95.08	33.90

*実験の条件は第5章第1節で述べる。

表10-(2) 液体醗酵力ならびに生地醗酵力

No.	M ₈ mg	F ₁₀ mg	F ₄₀ mg	無糖生地		低糖生地			高糖生地 ml
				I ml	II ml	I ml	II ml	III ml	
1	287	414	302	385	370	385	400	410	345
2	125	416	316	325	385	415	420	430	445
3	271	429	332	380	405	420	420	425	450
4	268	439	333	360	405	320	425	420	445
5	240	408	300	375	370	405	425	425	370
6	174	414	313	300	370	405	420	420	405
7	310	433	323	385	380	395	415	420	395
8	253	466	359	335	415	430	455	445	470
9	232	413	304	355	360	375	400	410	250
10	38	466	353	305	370	420	430	440	430
11	319	447	330	390	380	405	415	420	415
12	219	416	322	320	360	400	410	400	380
13	303	440	311	395	380	395	405	405	340
14	97	411	321	280	345	305	405	400	375
15	268	401	312	365	350	395	395	400	495
16	252	455	350	335	390	430	430	410	450

表10-(3) 食パン試験結果

No.	仲種醱酵			ファーモグラフ		ホイロ		比容積
	60分 ml	90分 ml	120分 ml	a ₀ ml × 10 ⁻³ /min ²	F _t min	I 分	II 分	
1	310	365	390	58.40	177.19	53.5	53.0	5.65
2	240	330	365	30.57	186.84	49.5	48.5	5.74
3	310	380	395	49.14	159.30	51.0	51.0	5.65
4	290	340	360	42.05	171.58	51.0	51.5	5.69
5	280	345	370	53.37	167.51	51.0	51.5	5.59
6	240	325	370	31.13	193.40	55.0	55.5	5.47
7	305	335	350	52.15	176.65	54.5	55.5	5.69
8	265	355	380	32.90	176.65	49.5	49.5	5.77
9	265	350	390	33.35	173.60	55.0	56.0	5.34
10	230	310	370	26.87	190.36	46.5	47.5	5.97
11	310	340	370	47.44	165.99	52.0	52.0	5.82
12	250	330	370	28.08	196.45	52.5	53.0	5.59
13	300	360	370	53.61	165.23	51.0	50.5	5.79
14	220	310	365	22.83	193.40	54.0	53.0	5.09
15	305	360	370	46.70	174.37	53.0	52.5	5.77
16	270	350	370	39.01	175.13	48.0	48.5	5.74

表10-(4) 菓子パン試験結果

No.	仲種醱酵			ファーモグラフ	ホイロ	比容積
	30分 ml	60分 ml	90分 ml	菓子 a ₀ ml × 10 ⁻³ /min ²	ml	
1	240	430	490	36.51	425	5.81
2	240	420	470	39.93	430	5.81
3	255	430	470	38.10	450	6.00
4	260	420	460	44.85	455	6.30
5	250	450	490	35.68	390	5.24
6	240	425	480	44.32	400	5.51
7	280	440	490	37.71	410	5.78
8	250	420	475	41.41	440	6.10
9	220	400	470	31.32	400	5.46
10	220	380	460	32.81	430	6.21
11	230	410	465	34.37	425	5.78
12	230	420	470	36.90	415	5.89
13	240	420	480	46.15	410	5.35
14	225	420	470	42.74	430	5.46
15	230	425	480	25.10	415	5.51
16	240	430	480	45.83	445	5.78

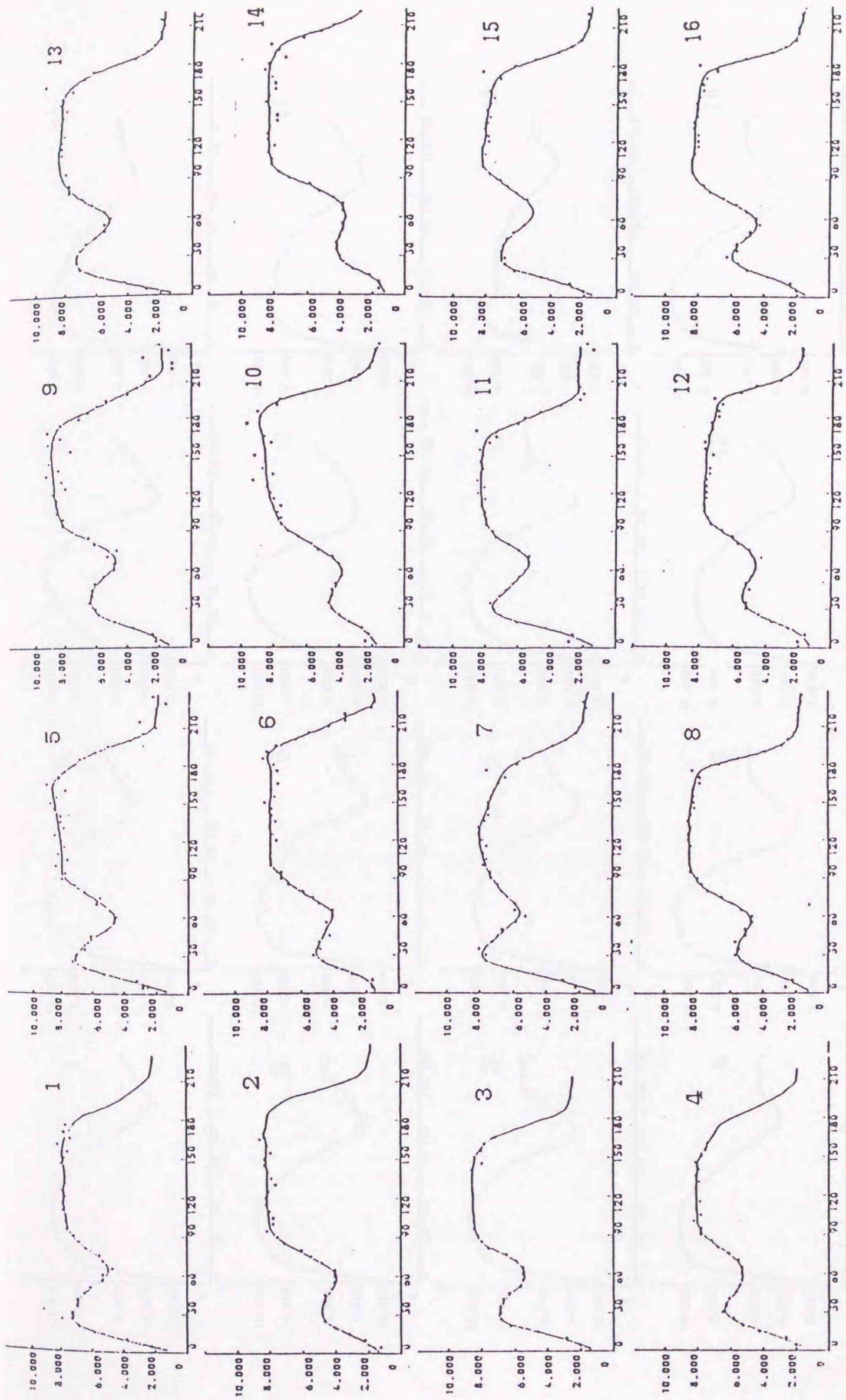


図5(1) 培養品のファーマーグラフ (無糖中種)

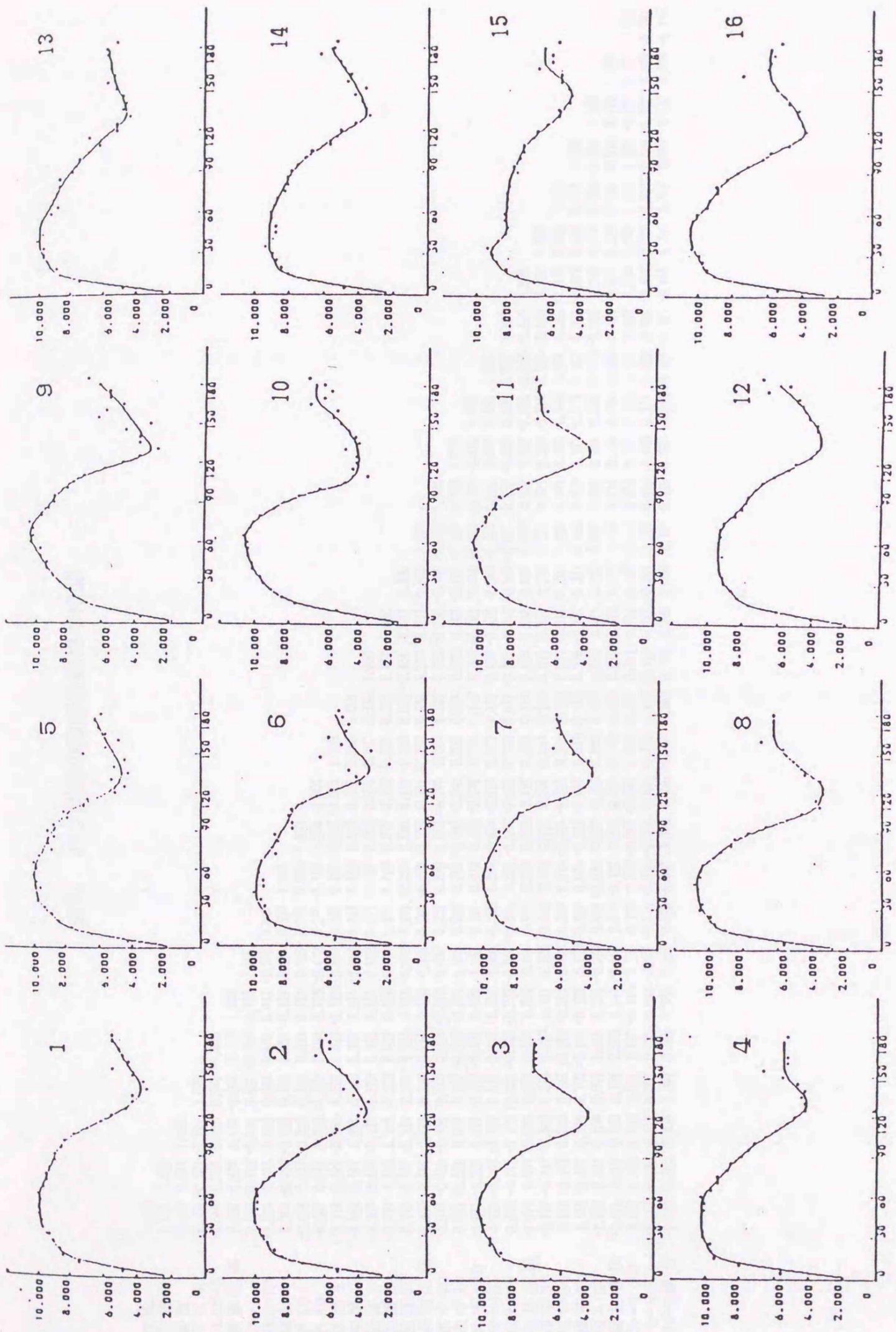


図5(2) 培養品のファーモグラフ (加糖中種)

性値の組み合わせは次の通りであり、関係を+-の符号で示した。

収率は全窒素 (-), 磷酸 (-), 娘細胞率 (-), F_{10} (-), F_{40} (-), 無糖生地 II (-), 低糖生地 II (-) と III (-), 高糖生地 (-), 食パンホイロ所要時間 (+), 菓子パンホイロの醗酵 (-), 菓子パン比容積 (-) とに相関が認められた。

全窒素は娘細胞率 (+), F_{10} (+), F_{40} (+), 低糖生地 II (+) と III (+), 高糖生地 (+), 食パンホイロ所要時間 (-) との間に相関が認められた。

磷酸は菓子パンホイロの醗酵 (+), 加糖生地のファーモグラフ菓子 a_0 (+) との間に相関が認められた。

全炭水化物は trehalose 量 (+) とのみ相関が認められた。

trehalose 量は F_{10} (+), 食パン比容積 (+), 菓子パン比容積 (+) とに相関が認められた。

娘細胞率は F_{10} (+), F_{40} (+), 無糖生地 II (+), 低糖生地 I (+), II (+) と III (+), 高糖生地 (+), 食パンホイロ所要時間 (-), 食パン比容積 (+), 菓子パンホイロの醗酵 (+), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

invertase 活性は無糖生地 I (+), 低糖生地 II (-), 高糖生地 (-), 食パン仲種醗酵 90 分 (+), 無糖生地ファーモグラフ a_0 (+) と F_1 (-) との間に相関が認められた。

maltase 活性は M_8 (+), F_{10} (+), F_{40} (+), 無糖生地 II (+), 高糖生地 (+), 食パン仲種醗酵 60 分 (+), 菓子パン仲種醗酵 30 分 (+), 菓子パン比容積 (+) とに相関が認められた。

M_8 は無糖 I (+), 食パン仲種醗酵 60 分 (+) と 90 分 (+), 菓子パン仲種醗酵 30 分 (+) と 60 分 (+), 無糖生地ファーモグラフ a_0 (+) と F_1 (-) とに相関が認められた。

F_{10} は F_{40} (+), 無糖生地 II (+), 低糖生地 II (+) と III (+), 高糖生地 (+), 食パンホイロ所要時間 (-), 食パン比容積 (+), 菓子パンホイロの醗酵 (+), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

F_{40} は無糖生地 II (+), 低糖生地 II (+) と III (+), 高糖生地 (+), 食パンホイロ所要時間 (-), 菓子パンホイロの醗酵 (+), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

無糖生地 I は食パン仲種醗酵 60 分 (+) と 90 分 (+), 無糖生地ファーモグラフ

a。 (+) と F₁ (-) との間に相関が認められた。

無糖生地Ⅱは低糖生地Ⅱ (+) とⅢ (+), 高糖生地 (+), 菓子パン仲種醗酵 30 分 (+), 菓子パンホイロの醗酵 (+), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

低糖生地Ⅰは食パン比容積 (+) とのみに相関が認められた。

低糖生地Ⅱは低糖生地Ⅲ (+), 高糖生地 (+), 食パンホイロの所要時間 (-), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

低糖生地Ⅲは高糖生地 (+), 食パンホイロの所要時間 (-), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

高糖生地は食パンホイロの所要時間 (-), 菓子パンホイロの醗酵 (+), 菓子パン比容積 (+) との間に相関が認められた。

無糖生地ファーモグラフ a。 は食パン仲種醗酵 60 分 (+) と 90 分 (+), 菓子パン仲種醗酵 30 分 (+), 60 分 (+) と 90 分 (+), 無糖生地ファーモグラフ F₁ (-) とに相関が認められた。

無糖生地ファーモグラフ F₁ は食パン中種醗酵 60 分 (-) と 90 分 (-) との間に相関が認められた。

加糖生地ファーモグラフ菓子 a。 は製パン特性値との間に相関が認められなかった。

第5節 考察

30項目に渡るパン酵母の成分，酵素活性，醱酵特性，製パン性能との相関を調べた。その結果に基づいて考察する。

収率が高いと全窒素，リン酸，娘細胞率が低下するが，これらの特性値は培養条件の違いによる収率の変化の結果である。収率が高くなる培養を行うとパン酵母の醱酵特性や製パン性能が低下するので，パン酵母の醱酵性能や製パン性能を高めようとする場合，ある程度収率を犠牲にしなければならないと考えられる。

パン酵母の醱酵特性や製パン性能に及ぼす培養条件の影響は第2，3，5章で詳細に述べる。また，窒素，リン酸とパン酵母の醱酵性能や製パン性能との関係は第2章第2節で述べる。

全炭水化物と trehalose では trehalose の方がパン酵母の醱酵性能 (F_{10}) や製パン性能 (食パン比容積，菓子パン比容積) と関係が強く，trehalose 量が多いとこれらの値が高かった。食パン比容積，菓子パン比容積を向上させるような培養を行うと結果として trehalose が高くなるものと考えられる。

invertase 活性が高いと無糖生地 I，無糖生地ファーモグラフ a₀，食パン仲種醱酵 90 分の値が向上し，低糖生地 II，高糖生地の値が低下し，無糖生地ファーモグラフ F₁ が早かった。invertase は小麦粉に含まれる sucrose (0.26 g/100g flour)，glucose₁-fructose₂ (0.40)，glucose₁-fructose₃ (0.26)，Higher-glucofructan (0.72)¹⁴⁾ の fructose 部分の加水分解に関与し，invertase 活性が高いと sucrose を添加しない小麦粉生地の初期醱酵が早く終了し，maltose 醱酵への転換が早まり，醱酵の終了が早くなる。一方，sucrose を添加する高糖生地の醱酵は，生成する転化糖の浸透圧による醱酵の阻害を受ける。しかし，もともと invertase 活性が低い汎用のパン酵母においては，酵母の invertase 活性の強弱が高糖生地の醱酵に影響しないことから，¹⁵⁾ invertase 活性を抑えることを目的とした培養を行う必要は無く，パン酵母の醱酵性能や製パン性能を向上させる培養を行った結果として invertase 活性が低くなったと理解した方が良いと考えられる。

maltase 活性が高いと M₈，F₁₀，F₄₀，無糖生地 II，高糖生地，食パン仲種醱酵 60 分，菓子パン仲種醱酵 30 分，菓子パン比容積が向上した。maltose の醱酵に関与する maltase 活性が高いと，M₈，無糖生地 II，食パン仲種醱酵 60 分が高くなるのは当然であるが，maltase 活性が関与しないと思われる F₁₀，F₄₀，高糖生地，菓子パン比容積も

高くなることは、培養条件により maltase活性を含む解糖系酵素の活性が上がったためであると考えられる。したがって、パン酵母の maltase活性を高める培養をすると、他の酵素活性も高いパン酵母を製造することができ、maltase 活性は製パン性能の重要な代替特性の一つであると考えられる。

M_8 が高いと無糖生地Ⅰ，無糖生地ファーモグラフ a_0 ，食パン仲種醗酵 60 分と 90 分，菓子パン仲種醗酵 30 分と 60 分が向上し，無糖生地ファーモグラフ F_1 が早くなった。いずれも生地の maltose醗酵と関連があり， M_8 が高いと仲種の醗酵が早くなるといえる。

F_{10} が高いと F_{40} ，無糖生地Ⅱ，低糖生地ⅡとⅢ，高糖生地，食パン比容積，菓子パンホイロの醗酵，菓子パン比容積が向上し，食パンホイロ所要時間が短縮した。いずれの特性値も解糖反応系に関係しており， F_{10} を高くする培養をすることがパン酵母の醗酵特性や製パン性能を高めることができ， F_{10} は重要な代替特性の一つであると考えられる。

F_{40} が高いと無糖生地Ⅱ，低糖生地ⅡとⅢ，高糖生地，菓子パンホイロの醗酵，菓子パン比容積が向上し，食パンホイロ所要時間が短縮した。 F_{10} と同じく F_{40} も製パン性能の代替特性の一つとなると考えられる。

無糖生地Ⅰが高いと無糖生地ファーモグラフ a_0 ，食パン仲種醗酵 60 分と 90 分が向上し，無糖生地ファーモグラフ F_1 が早くなった。無糖生地Ⅰは仲種生地の初期醗酵だけを示すものであると考えられる。

無糖生地Ⅱが高いと低糖生地ⅡとⅢ，高糖生地，菓子パン仲種醗酵 30 分，菓子パンホイロの醗酵，菓子パン比容積が向上した。無糖生地Ⅱは解糖反応系の酵素活性と関係しているものと考えられる。無糖生地Ⅱを高める培養によって，菓子パン性能も高いパン酵母を製造でき，重要な指標の一つであると考えられる。

低糖生地Ⅰが高いと食パン比容積が向上した。低糖生地Ⅰを高める培養により，食パン比容積の大きいパン酵母を製造できるものと考えられる。

低糖生地ⅡとⅢが高いと高糖生地，菓子パン比容積を向上し，食パンホイロの所要時間を短縮した。解糖反応系の酵素活性との関連をうかがわせ，低糖生地ⅡとⅢを高める培養により，製パン性能の良いパン酵母を製造できるものと考えられる。

高糖生地が高いと菓子パンホイロの醗酵と菓子パン比容積が向上し，食パンホイロの所要時間が短縮した。高糖生地はパン酵母の菓子パン性能の指標となるばかりでなく，高糖生地を高める培養により，解糖反応系の酵素活性も向上し，食パン性能も良いパン酵母を

製造できるものと考えられる。

無糖生地ファーモグラフの a_0 が高いと食パン仲種醗酵 60 分と 90 分、菓子パン仲種醗酵 30 分、60分と 90 分が向上し、無糖生地ファーモグラフ F_1 が早くなった。無糖生地ファーモグラフの a_0 は食パン並びに菓子パンの仲種醗酵をよく表している。

無糖生地ファーモグラフ F_1 が早いと食パン仲種醗酵 60 分と 90 分が向上した。無糖生地ファーモグラフ F_1 が早いパン酵母は食パン仲種の初期醗酵が速く、醗酵が速く終了することになる。

加糖生地ファーモグラフ菓子の a_0 は他の製パン性能と関連が無く、独立した特性値であると考えられる。

第6節 要約

パン酵母の製パン性能と醗酵特性との関係を明確にし、体系づけるため、汎用のパン酵母について16個の培養を行い、得られたパン酵母について、30項目に渡る菌体成分、酵素活性、醗酵特性、製パン性能との相関を調べた。その結果、収率が高くなる条件で培養したパン酵母は、その製パン性能が低下するので、製パン性能を高める場合、ある程度収率を犠牲にしなければならない。

菌体成分ならびに醗酵特性と製パン性能との関係については、食パン比容積、菓子パン比容積を向上させる培養を行うとパン酵母の trehalose 含量が高くなった。

invertase 活性が高いパン酵母は、無糖生地の初期醗酵が早く、生地における maltose 醗酵への基質転換が早まり、醗酵全体が早く終了した。一方、高糖生地醗酵が阻害を受けた。invertase 活性はパン酵母の食パン仲種醗酵ならびに菓子パン性能を表す重要な指標である。

maltase 活性は、食パン仲種醗酵の指標となるばかりでなく、maltase 活性が向上するような培養を行うと、菓子パン性能も向上した。

M_8 が高いと、maltose の醗酵を表す醗酵性能が向上した。 M_8 は食パン仲種醗酵の指標となる。 F_{10} や F_{40} が高いと、食パン性能ならびに菓子パン性能の向上が認められた。 F_{10} や F_{40} は製パン性能の重要な指標である。

無糖生地Ⅰは食パン仲種の初期醗酵のみを示すものであった。無糖生地Ⅱは食パン性能ならびに菓子パン性能の重要な指標である。低糖生地Ⅰは食パン比容積とのみ関連があった。低糖生地ⅡとⅢは食パン性能ならびに菓子パン性能の重要な指標である。高糖生地は菓子パン性能の指標となるばかりでなく、高糖生地を高める培養により食パン性能も向上した。製パン性能の重要な指標である。

無糖生地ファーマグラフ a。ならびに F_1 は食パン仲種の初期醗酵を示す重要な指標である。無糖生地ファーマグラフ a。はさらに菓子パン仲種の醗酵を示す指標ともなる。加糖生地ファーマグラフ菓子 a。は製パン性能との関係が認められなかった。

製パン性能を表す代替特性についてまとめると、食パン仲種の初期醗酵の指標となる代替特性は invertase 活性、maltase 活性、 M_8 、無糖生地Ⅰ、無糖生地ファーマグラフ a。と F_1 の6項目であった。食パンホイロの所要時間の指標となる代替特性は F_{10} 、 F_{40} 、低糖生地ⅡとⅢ、高糖生地の5項目であった。食パン比容積の指標となる代替特性は F_{10} 、低糖生地Ⅰの2項目であった。

菓子パン仲種の初期醗酵の指標となる代替特性は maltase 活性, M_8 , 無糖生地Ⅱ, 無糖生地ファーモグラフ a₀ の 4 項目であった。菓子パンホイロの醗酵の指標となる代替特性は F_{10} , F_{40} , 無糖生地Ⅱ, 高糖生地の 4 項目であった。菓子パン比容積の指標となる代替特性は maltase 活性, F_{10} , F_{40} , 無糖生地Ⅱ, 低糖生地ⅡとⅢ, 高糖生地の 7 項目であった。

第2章 原料によるパン酵母の収率および品質の改良

本章では原料によるパン酵母の収率および品質の改良を目的として、炭素源、窒素源、リン酸源、ならびにビタミン類のパン酵母の収率および品質に及ぼす影響について検討した。

第1節 炭素源

パン酵母の培養に最も広く使われている炭素源はケーン糖蜜やビート糖蜜である。わが国に輸入される糖蜜の大部分はケーン糖蜜で、フィリピン、タイ、インドネシアなどの東南アジア諸国で生産されたものである。近年の輸入量は年間 80 万 t に達し、用途別からみると、輸入量の約 7% がパン酵母用に使われている (表12)。

糖蜜は製糖工場の副産物であり、原料が農産物であるため、組成は産地、収穫期、天候などによって大きく変動する。糖蜜には表13に示すような成分が含まれていると一般にいわれている。ビート糖蜜はケーン糖蜜に比べ、窒素、灰分、カリウム、 SO_2 は多いが、醗酵性ならびに非醗酵性糖が少なく、リン酸含量も少ない。ビタミン類はケーン糖蜜に多く含まれ、なかでも biotin の含量が高い。

糖蜜の糖組成を表14に示した。sucrose はパン酵母の invertase により分解され、転化糖となって醗酵される。ビート糖蜜中の 3 糖類である raffinose は fructose 部分のみパン酵母によって資化され、melibiose が残る。糖蜜の有機非糖分の組成を表15に示した。パン酵母は糖以外に有機酸やアミノ酸を炭素源として資化できる。アミノ酸は炭素源のみならず窒素源としても利用される。有機非糖分の betaine やペクチン等はパン酵母に資化されない。

近年、パン酵母の培養に糖蜜の使用に疑問が持たれるようになった。この変化には大きな2つの理由がある。第1は、ビートあるいはケーンジュースからの sucrose の回収率が高まり、糖蜜中の醗酵性糖分が低下したためである。第2は、糖蜜使用後の培養分離液の高 BOD である。最近、糖蜜に代わる原料への関心が高まり、糖分が高く、BOD 成分の少ないコーン澱粉が技術的、経済的な面から将来性が期待されている。¹⁶⁾ それ以外には粗糖や ethanol¹⁶⁾ を炭素源とするパン酵母の製造の検討を行う必要がある。

本節では、糖蜜、粗糖、ethanol を炭素源とするパン酵母の培養について述べる。

1. 糖蜜

糖蜜はパン酵母の糖源ばかりでなく、栄養源ともなっているため、どのような糖蜜を用

表12 輸入糖蜜の用途²⁾

(単位：t)

	1981	1982	1983
飼料	277,986	282,426	294,599
アミノ酸・核酸酸酵	227,146	231,844	254,356
飲用アルコール	66,798	179,104	208,360
専売アルコール	54,417	59,895	55,034
パン酵母	63,421(9.2%)	62,134(7.6%)	63,386(7.2%)
その他	884	488	342
合計	690,654	815,891	876,077

表13 ケーン糖蜜とビート糖蜜の成分比較²⁾

(25%水分基準)

	単位	ケーン糖蜜	ビート糖蜜
Total Sugars	%	48-56	48-52
Non sugar organic matter	%	9-12	12-17
Sulphated ash	%	10-15	10-12
Total organic matter*	%	60-65	63-65
Protein i. e. N×6.25	%	2-4	6-10
Sodium	%	0.1-0.4	0.3-0.7
Potassium	%	1.5-5.0	2.0-7.0
Calcium	%	0.4-0.8	0.1-0.5
Chlorine	%	0.7-3.0	0.5-1.5
Phosphorus	%	0.6-2.0	0.02-0.07
Biotin	mg/Kg	1.2-3.2	0.04-0.13
Folic acid	mg/Kg	ca. 0.04	ca. 0.2
Inositol	mg/Kg	ca. 6,000	5,800-8,000
Ca-pantothenate	mg/Kg	54-65	50-100
Pyridoxine	mg/Kg	2-6.5	ca. 5.4
Riboflavine	mg/Kg	ca. 2.5	ca. 0.4
Thiamine	mg/Kg	ca. 1.8	ca. 1.3
Nicotinic acid	mg/Kg	20-800	20-45
Choline	mg/Kg	600-800	400-600

* Total organic matter is total solids less sulphated ash.

表14 ケーン糖蜜とビート糖蜜の糖組成比較¹⁶⁾

(As % of total solids)

	ケーン糖蜜	ビート糖蜜
Sugars	73.1	66.5
sucrose	45.5	63.5
raffinose	-	1.5
invert sugar	22.1	-
other	5.5	1.5

表15 ケーン糖蜜とビート糖蜜の有機非糖分組成¹⁶⁾

(As % of total solids)

	ケーン糖蜜	ビート糖蜜
有機非糖分	15.5	23.0
GA & PY *	2.4	4.0
other N	3.1	-
other amino acids	-	3.0
betaine	-	5.5
organic acids	7.0	5.5
pectin, etc.	2.7	5.0

* GA & PY : Glutamic acid and Pyrrolidone carboxylic acid.

いるかがパン酵母の収率・品質に関わる重要な要因である。著者が使用し得る糖蜜は、ケーン糖蜜、ステップエン製糖法のビート糖蜜（以下HB糖蜜と略記する）、イオン交換樹脂製糖法のビート糖蜜（以下HA糖蜜と略記する）の3種類である。HB糖蜜とHA糖蜜の場合は biotin 不足から、ケーン糖蜜を 20～30%程度混合することが従来とられてきた。

本研究では、(1)ケーン糖蜜に対するHB糖蜜あるいはHA糖蜜の混合割合とパン酵母の収率ならびに品質との関係、(2)HA糖蜜に不足している栄養源を添加することにより、パン酵母の製造原料とし得るかの検討、(3)ケーン糖蜜を 20%混合したHA糖蜜培地でのビタミン類と無機塩類の添加効果、(4)ケーン糖蜜 20%使用を基本とするHB糖蜜とHA糖蜜の混合系におけるHA糖蜜の使用上限量を検討した。¹⁷⁾

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

供試糖蜜：試験に供したケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の分析値を表16に示した。

10ℓ容ジャーを用いて培養した。

ケーン糖蜜に対するHB糖蜜あるいはHA糖蜜の混合の実験では、種菌量（乾物量として）70g、糖量：262.3g、液量：始発6.0ℓ、終了6.61ℓ、糖蜜の流加：指数期の比増殖速度 0.200hr^{-1} 、連続流加、培養時間：13.5時間、温度：30～33～35℃、pH：4.0～4.2、通気量 10ℓ/min、DO：飽和濃度の10～20%を攪拌数を変えて維持して行った。

なお、N、 P_2O_5 添加量は糖蜜の窒素、磷酸を勘案し添加量を決めた（表17）。

表17 N, P_2O_5 添加量

実験 No.	1,5	2,6	3,7	4,8
N(2% Sol.) ml	401	389	379	370
P_2O_5 (44mg/ml) ml	50	54	58	63

HA糖蜜培地でのビタミン類、無機塩類の添加効果の実験では、種菌量60g、糖量250g、糖蜜の流加：指数期 比増殖速度 0.200hr^{-1} 、連続流加、温度 30-33℃、pH 4.0-4.5、通気量 10ℓ/min、DO：飽和濃度の10～20%を攪拌数を変えて維持して行った。

表16 ケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の分析値

(% on Sp. Bx)

項目	単位	ケーン糖蜜	HB糖蜜	HA糖蜜
スピンドル Bx *1	-	83.6	85.2	72.8
pH	-	5.29	8.05	5.30
全糖分	%	64.90	65.90	75.27
醱酵性糖分	%	60.47	64.06	66.64
全 N	%	1.67	1.93	4.60
全 P ₂ O ₅	%	0.156	0.044	0.045
betaine *2	%	-	4.87	18.60

*1 スピンドル Bx の測定：スピンドルブリックス度計法¹⁸⁾

*2 betaine の定量：ライネッケ塩法¹⁹⁾

なお、添加ビタミン類と無機塩類は inositol 125mg, Ca-pantothenate 50mg, biotin 25 μ g, thiamine 2.5mg, pyridoxine 2.5mg, nicotinic acid 2.5mg, KCl 2.125g, CaCl₂ · 2H₂O 625mg, MgSO₄ · 7H₂O 625mg, FeCl₃ 12.5mg, MnSO₄ 12.5mgである。

また、glucose を炭素源する合成培地には、K-citrate 25g, citric acid 5g, ビタミンフリーのカザミノ酸 25gを添加した。

ケーン糖蜜とHA糖蜜混合培地でのビタミン類、無機塩類の添加効果の実験では、ケーン糖蜜 20 %混合したHA糖蜜培地に前記したビタミン類ならびに無機塩類の添加と無添加を組み合わせで行った。なお、対照はケーン糖蜜 20 %混合したHB糖蜜培地とした。

ケーン糖蜜 20 %混合を基本とするHB糖蜜ならびにHA糖蜜の最適混合比率決定の実験では、表18に示したケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の組み合わせで行った。

表18 ケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の混合比率

実験 No.	1	2	3	4	5
糖蜜					
ケーン糖蜜	20	20	20	20	20
HB糖蜜	0	20	40	60	80
HA糖蜜	80	60	40	20	0

実験結果

ケーン糖蜜に対するHB糖蜜あるいはHA糖蜜の混合割合とパン酵母の収率ならびに品質に対する影響を知るため、ケーン糖蜜を基準とし、HB糖蜜、HA糖蜜の混合割合を変えて培養したパン酵母の収率・品質との関係を検討した結果を表19に示した。

HB糖蜜を混合することにより収率が大幅に向上した。trehalose の蓄積はケーン糖蜜が最も高く、HB糖蜜やHA糖蜜の割合を増すと減少する傾向が認められた。その傾向はとくにHA糖蜜混合で顕著に表れた。maltose の醗酵能と食パン仲種醗酵はHA糖蜜の混合により低下した。食パンホイロ所要時間には差が認められなかった。菓子パンホイロの醗酵はHB糖蜜の混合により低下し、HA糖蜜の混合で向上した。菓子パン比容積には変化が認められなかった。

表19 ケーン糖蜜, HB糖蜜, HA糖蜜の混合比とパン酵母の収率と品質

実験 No.	単位	1	2	3	4	5	6	7	8
糖蜜									
ケーン糖蜜	%	100	75	50	25	100	75	50	25
HB糖蜜	%	-	25	50	75	-	-	-	-
HA糖蜜	%	-	-	-	-	-	25	50	75
収率	%	48.62	49.64	51.68	53.04	48.62	48.62	50.32	50.32
N	%	7.3	7.4	7.5	7.6	7.3	7.0	6.9	6.8
P ₂ O ₅	%	2.6	2.6	2.6	2.3	2.5	2.5	2.4	2.5
trehalose	%	10.2	8.7	9.3	9.8	9.5	8.7	7.2	6.9
M ₈	mg	257	264	248	224	259	231	214	180
娘細胞率	%	4	9	9	4	12	5	11	8
高糖生地	ml	400	390	390	380	390	420	420	420
食パン仲種 90 分	ml	2,280	2,300	2,250	2,450	2,320	2,180	2,100	1,900
" ホイロ	分	53	57	53	56	58	59	56	55
菓子パンホイロ	ml	400	395	390	370	390	415	405	400
" 比容積	-	5.8	5.8	5.7	5.6	5.6	5.8	5.8	5.6

HA糖蜜単独培地でのビタミン類、無機塩類の添加によるパン酵母の収率ならびに品質に対する効果を知るため、合成培地ならびにHA糖蜜単独培地にビタミン類と無機塩類を添加した培養を行って検討した結果を表20に示した。

合成培地ならびにHA糖蜜単独培地ともにパン酵母の収率が低く、品質を比較できるレベルに達しなかった。

ケーン糖蜜とHA糖蜜混合培地でのビタミン類、無機塩類のパン酵母の収率ならびに品質に対する効果を知るため、ケーン糖蜜を20%混合したHA糖蜜培地にビタミン類と無機塩類を添加して培養した結果を表21に示した。

収率、耐糖性並びに食パン仲種醗酵はケーン糖蜜を20%混合したHB糖蜜とほぼ同じ結果が得られた。しかし、食パンホイロの所要時間は変わらなかった。

ケーン糖蜜20%混合を基本とするHB糖蜜ならびにHA糖蜜の3種類の糖蜜の混合系におけるHA糖蜜の使用上限量を決定することを目的とし、3種の糖蜜を各比率としてパン酵母を培養した結果を表22に示した。

収率についてはデータにばらつきがあるが、HB糖蜜の比率が高い方が収率が高くなる傾向であった。耐糖性はケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の比が20:20:60が最も良好であり、20:60:20まで良い成績を維持した。食パン仲種の初期醗酵は20:60:20～20:80:0が良好であった。食パンホイロの所要時間は20:0:80が劣るが、他の4条件では差が認められなかった。

表20 HA糖蜜単独培地でのビタミン類、塩類の添加効果

項目	単位	合成培地	HA糖蜜培地
収率	%	20.20	24.67
無糖生地 I	ml	275	295
" II	ml	355	345
高糖生地	ml	200	285

表21 ケーン糖蜜 20%混合したHA糖蜜培地でのビタミン類と無機塩類の添加効果

項目	単位	HA糖蜜				HB糖蜜
		添加		無添加		無添加
ビタミン類	-	添加		無添加		無添加
無機塩類	-	添加	無添加	添加	無添加	無添加
収率	%	44.11	43.24	42.11	39.19	44.21
高糖生地	ml	485	430	475	440	455
食パン中種 90分	ml	1,200	1,200	1,180	1,220	1,220
" ホイロ	分	54	56	55	54	51

表22 HB糖蜜とHA糖蜜を使用する場合のHA糖蜜の上限量

実験 No.	単位	1	2	3	4	5
糖蜜混合比						
ケーン糖蜜	%	20	20	20	20	20
HB糖蜜	%	0	20	40	60	80
HA糖蜜	%	80	60	40	20	0
収率	%	41.43	39.62	41.08	43.78	41.68
高糖生地	ml	470	530	510	500	450
食パン中種 90分	ml	1,100	1,200	1,300	1,450	1,400
" ホイロ	分	53	49	48	50	48

2. 粗糖を原料とするパン酵母の製造

パン酵母の主原料はケーン糖蜜あるいはビート糖蜜 (HB糖蜜) が使用されているが、わが国ではケーン糖蜜が主流である。日本甜菜製糖(株)のビート糖の製造において、製糖法の変化 (1959年士別製糖所ステップェン製糖法からイオン交換樹脂製糖法への変更, 1970年イオン交換樹脂製糖法の芽室製糖所操業開始) と合理化 (1970年ステップェン製糖法の磯分内製糖所閉鎖, 1977年帯広製糖所閉鎖) とにより、ビート糖蜜の生産量が減少し、パン酵母製造原料のケーン糖蜜の比率が高まっている。

ケーン糖蜜はパン酵母の主原料としての糖に加えて、パン酵母の生長物質を含む理想的な原料である。しかし、培養後の分離液の BOD成分が高く、着色が著しいという問題点もある。すなわち、高 BODの処理に多大な経費を必要とし、河川への放流に際し、処理液を多量の水で希釈しなくてはならないことである。

したがって、パン酵母製造各社は排水の脱色と BOD負荷の軽減のため、分離液の活性炭などによる脱色、²⁰⁻²⁵⁾ 分離液の色相を軽減し、BOD成分を減少させる原料の検討が行われている。とくに原料の検討では、ハイテストモラセス、^{26, 27)} 粗糖、²⁸⁾ シトラルモラセス、²⁹⁾ その他³⁰⁾ を用いる方法がある。

粗糖は世界の相場商品で価格の変動が激しい原料であるが、1977年の輸入価格は 70 円/Kgであり、それに輸入関税 41.50円/Kgを加えて、合計 111.50 円/Kgである。一方、ケーン糖蜜の価格は 22.80円/Kgで、パン酵母用は飼料用、アルコール用とともに輸入関税が免除されている。仮に粗糖の関税がパン酵母用に限り免除もしくは軽減措置がとられるとするならば、排水処理面で有利な粗糖をパン酵母製造原料に使用する可能性が出てくるものと考えられる。このような場合に備え、粗糖を主原料としたパン酵母の製造技術を確立する必要がある。また、この技術は他の糖質を原料とするパン酵母の製造の布石になると考える。

本章では、粗糖を炭素源とし、(1)ケーン糖蜜の混合下限量、(2)有効な生長促進物質の選択、(3)カザミノ酸の最適添加量の検討、(4)カザミノ酸とその他の添加物の同時添加の効果、(5)糖液の流加法と NaCl 添加の効果、(6)アミノ酸の効果、(7)粗糖を原料として培養したパン酵母とケーン糖蜜を原料として培養したパン酵母の成績を比較検討した。³¹⁾

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：2 ℓ 容ミニジャーを用いた。種菌量 15.04g，糖量：指数期 41.6g，熟成期 35.4gの計 77g，指数期比増殖速度 0.165 hr^{-1} ，培養時間 10 時間，製品酵母の窒素 7.5%，磷酸 (P_2O_5 として) 2.5 %になるように urea と KH_2PO_4 を培養始発時に添加，培養温度 30 ~33~35°C，pH 4.0-5.0，通気量 2 ℓ/min，攪拌数を変えてDOを飽和濃度の 10 ~20%に維持した。

供試糖源：粗糖〔ブラジル産，醗酵性糖分 (FS) 98.58 % on Sample〕，ケーン糖蜜 (フィリピン産)

供試添加物質：

コーンスチープリカー (CSL，日本食品化工)，イーストエキス (大五栄養化学)，麦芽エキス (Difco)，肉エキス (極東製薬工業)，カザミノ酸 (Difco)，ポリペプトン (大五栄養化学) は Solidとして醗酵性糖分 (FS) の 10 %の 7.5g/cycle を培養始発時に添加した。CSF (日本甜菜製糖(株)美幌製糖所，ステッフエン廃液の濃縮物，FS 14.93%) は指数期流加糖量の FS 基準で 5%の 14g/cycleを指数流加糖蜜と混合して添加した。

ビタミン混液は Oura³²⁾ の合成培地に準じ，thiamine, pyridoxine, nicotinic acid, Ca-pantothenate をそれぞれ 10mg/cycle，biotin 0.2mg/cycle, inositol 190mg/cycle を培養始発時に添加した。

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.8g/cycle を培養始発時に添加した。 NaCl 25g/cycleを熟成開始時に添加した。

アミノ酸：カザミノ酸の組成を参考にして17種のアミノ酸を供試した。添加量はカザミノ酸の組成から決定した。添加アミノ酸の群別と添加量を表23に示した。

糖液の間欠流加は熟成期以降，糖液を糖供給速度 $0.250 \text{ g sugar/g yeast hr}$ で 10 分間流加し，20分間停止する方法を用いた。

分析と測定：FSに対する収率，trehalose，娘細胞率，耐糖性，食パンと菓子パン試験，培養分離液の R-Bx，残糖，残窒素，10倍希釈液の吸光値 $-\log T_{560\text{nm}}$ (色価) を分析測定した。培地浸透圧は氷点降下法³³⁾ によって測定した。

実験結果

粗糖を炭素源とする場合のケーン糖蜜混合の下限量を知るため，ケーン糖蜜を 0，25，50，75，100 %混合した流加糖液でパン酵母を培養した結果を図6に示した。

粗糖だけでパン酵母を培養すると収率，trehalose の蓄積，耐糖性が低く，娘細胞率が

表23 アミノ酸のグループ分けと添加量

		mg/cycle
A群	glycine	100
	leucine	250
	threonine	100
	aspartic acid	300
	lysine	300
	cysteine	50

B群	alanine	100
	iso-leucine	150
	tyrosine	50
	glutamic acid	550
	arginine	150
	methionine	50

C群	valine	200
	serine	150
	phenylalanine	50
	histidine	50
	proline	200

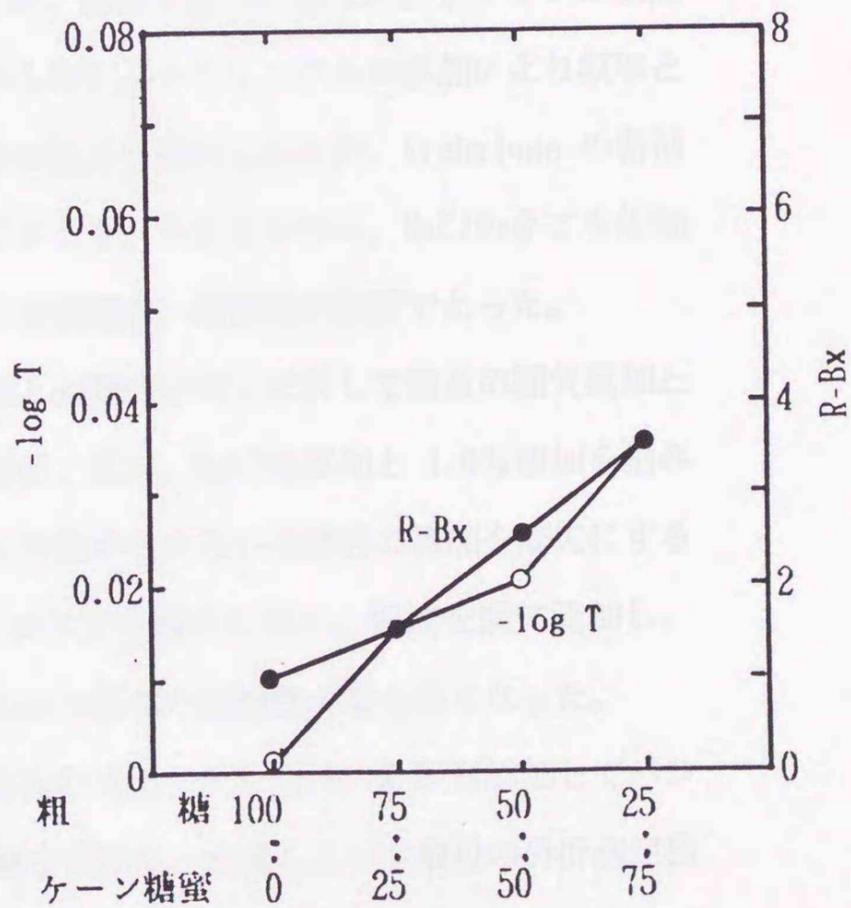
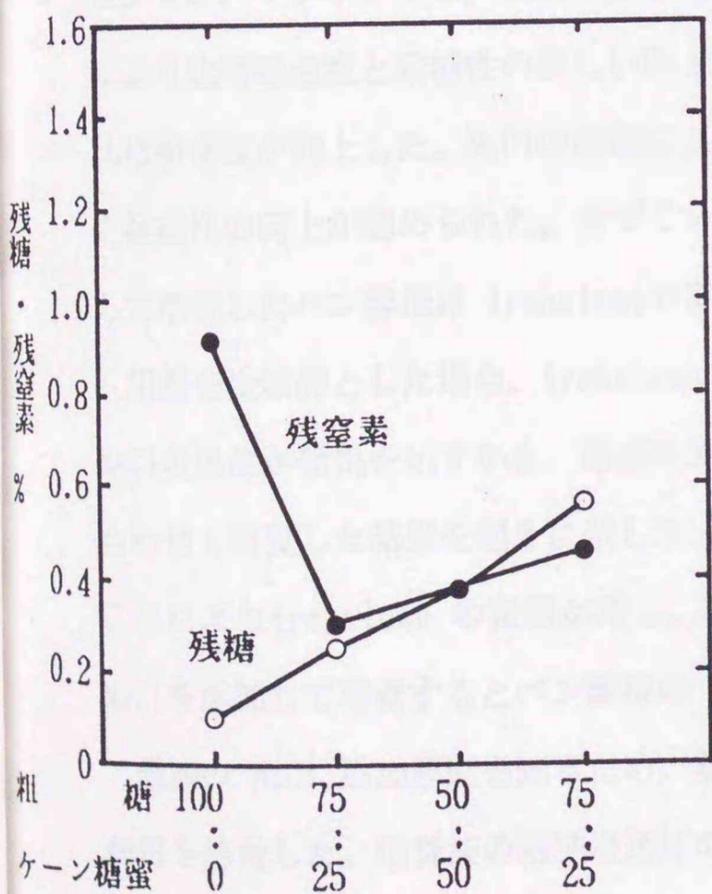
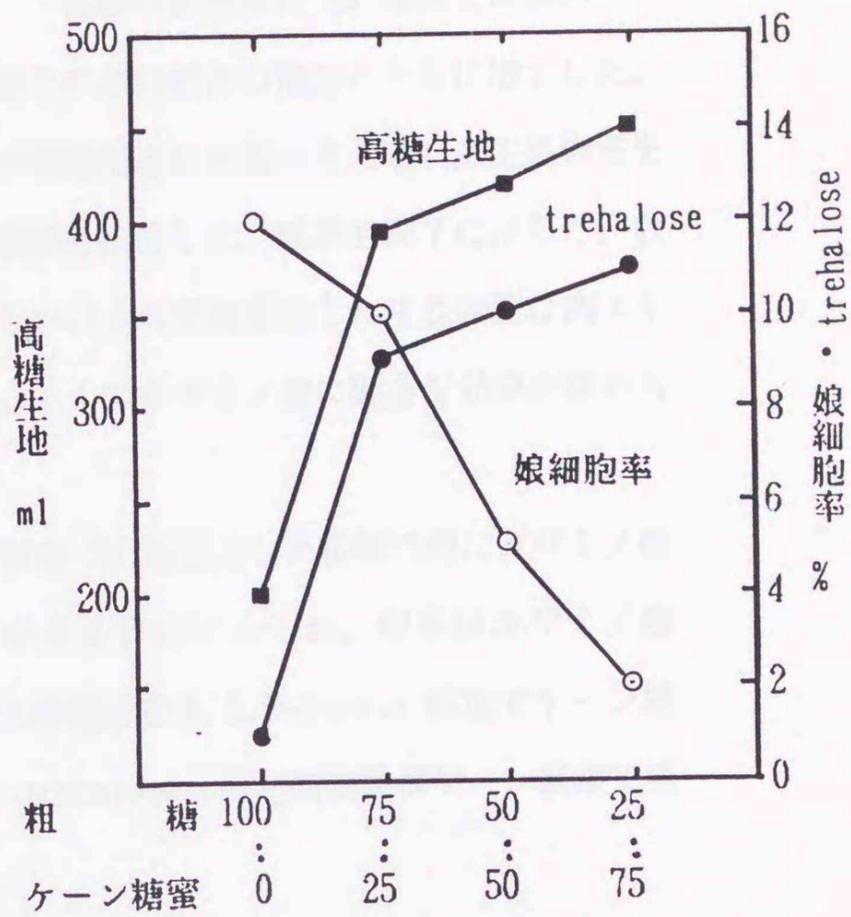
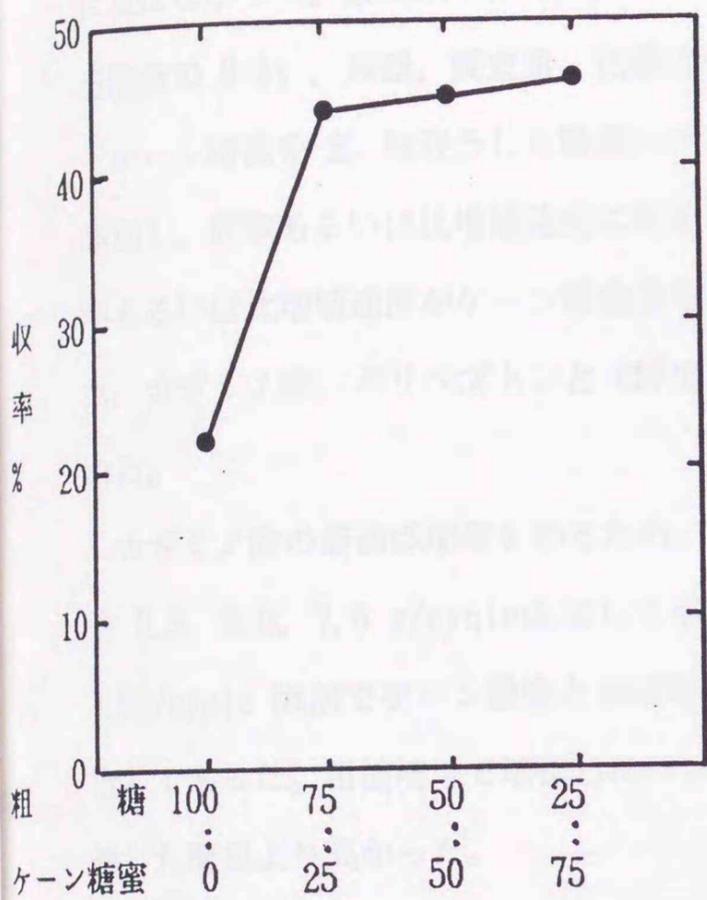


図6 粗糖培地におけるケーン糖蜜の下限使用量

粗糖とケーン糖蜜の混合は糖基準で行い、図の横軸に混合比を示した。

高かった。分離液の R-Bx, 残糖ならびに色価が激減し, 残窒素が多かった。ケーン糖蜜を 25 %混合すると収率, trehalose の蓄積, 耐糖性の回復が認められたが, ケーン糖蜜に及ばなかった。娘細胞率は未だ高かった。ケーン糖蜜の混合割合 25 %以上において, 分離液の R-Bx, 残糖, 残窒素, 色価はケーン糖蜜の混合割合の増加とともに増大した。

ケーン糖蜜を 25 %混合した糖液にパン酵母の増殖促進に有効と考えられる生長物質を添加し, 収率あるいは比増殖速度に対する向上効果を検討した。結果を図 7 に示した。収率あるいは比増殖速度がケーン糖蜜並もしくはそれ以上の成績を示した生長物質は肉エキス, カザミノ酸, ポリペプトンと CSFであった。とくにカザミノ酸に顕著な効果が認められた。

カザミノ酸の最適添加量を知るため, ケーン糖蜜 25 %混合した粗糖培地にカザミノ酸を 2.5, 5.0, 7.5 g/cycle 添加して培養した結果を表 24 に示した。収率はカザミノ酸 7.5g/cycle 添加でケーン糖蜜とほぼ等しく, 比増殖速度は 5.0g/cycle 添加でケーン糖蜜並であった。粗糖培地で培養したパン酵母の trehalose 含量と耐糖性はケーン糖蜜で培養した酵母より高かった。

パン酵母の醗酵力をさらに向上させることを目的として, カザミノ酸を添加した培地にビタミン, マグネシウム, NaCl の添加を検討した。結果を表 25 に示した。ビタミンの添加により比増殖速度と耐糖性の著しい向上が認められた。マグネシウムの添加により収率と比増殖速度が向上した。NaCl の添加により収率の低下が認められたが, trehalose の蓄積と耐糖性の向上が認められた。カザミノ酸, ビタミン, マグネシウム, NaCl の全てを添加して培養したパン酵母は trehalose の蓄積, 比増殖速度, 耐糖性が良好であった。

粗糖を炭素源とした場合, trehalose の蓄積と耐糖性の向上に対して糖液の間欠流加と NaCl の添加が効果を示すかを, 糖液の流加を連続と間欠, NaCl 無添加と 1.0% 添加を組み合わせ培養した結果を図 8 に示した。NaCl を添加するあるいは糖液の流加を間欠にすることにより trehalose の蓄積が増し, 耐糖性の向上が認められた。糖液を間欠流加し, NaCl を添加して培養するとパン酵母の trehalose の蓄積と耐糖性が最も高くなった。

最適の NaCl 添加濃度を知るため, 熟成期に NaCl を 0, 0.5, 1.0, 2.0 % 添加してパン酵母を培養した。培養液の培地浸透圧の測定値を表 26 に, 培養したパン酵母の分析測定値の結果を図 9 に示した。NaCl の添加量を増すと娘細胞率が高くなり, NaCl 2.0% 添加 (18atm) で熟成不良が認められた。しかし, trehalose の蓄積と耐糖性は高い値を示した。trehalose の蓄積は NaCl 1.0 % 添加 (10 atm) でピークを示し, それ以上の添加では蓄

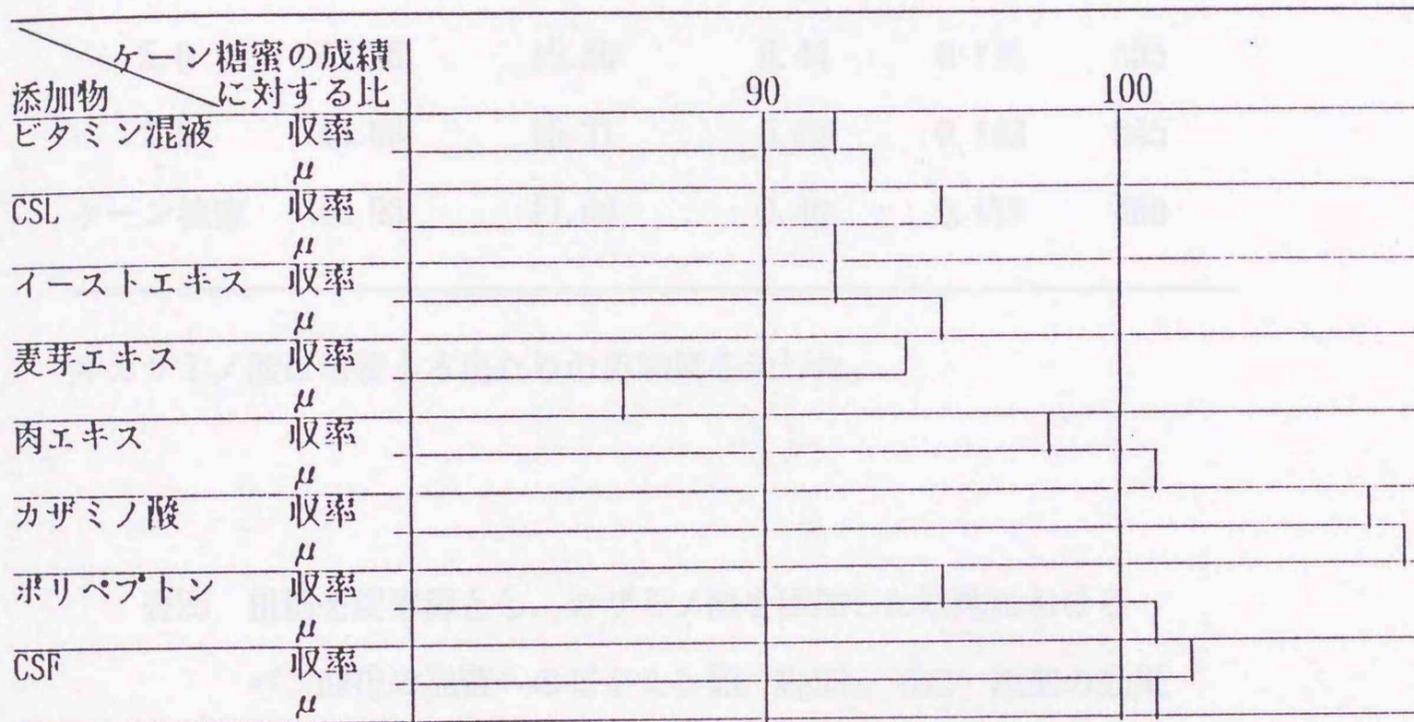


図7 粗糖培地で有効な生長物質の選択

表24 粗糖を炭素源する培地におけるカザミノ酸の最適添加量について

カザミノ酸 添加量*	収率	trehalose	娘細胞率	比増殖速度	高糖生地
g	%	%	%	hr ⁻¹	ml
2.5	47.06	16.37	6.61	0.172	545
5.0	47.76	15.30	6.44	0.176	535
7.5	48.96	15.71	5.88	0.182	545
ケーン糖蜜	48.93	11.00	3.48	0.178	480

*カザミノ酸は培養1本当たりの添加量を示した。

表25 粗糖を炭素源とし、カザミノ酸を添加した培地における
パン酵母の品質へのビタミン類, MgSO₄, NaCl 添加の効果

添加物	単位	無添加	添加	添加	添加
ビタミン混合液	-	無添加	添加	添加	添加
MgSO ₄ · 7H ₂ O	-	添加	無添加	添加	添加
NaCl	-	添加	添加	無添加	添加
収率	%	47.79	45.66	50.06	48.72
trehalose	%	12.74	13.46	10.56	13.83
娘細胞率	%	7.14	4.81	3.92	3.03
比増殖速度	hr ⁻¹	0.179	0.179	0.180	0.186
高糖生地	ml	470	505	440	505

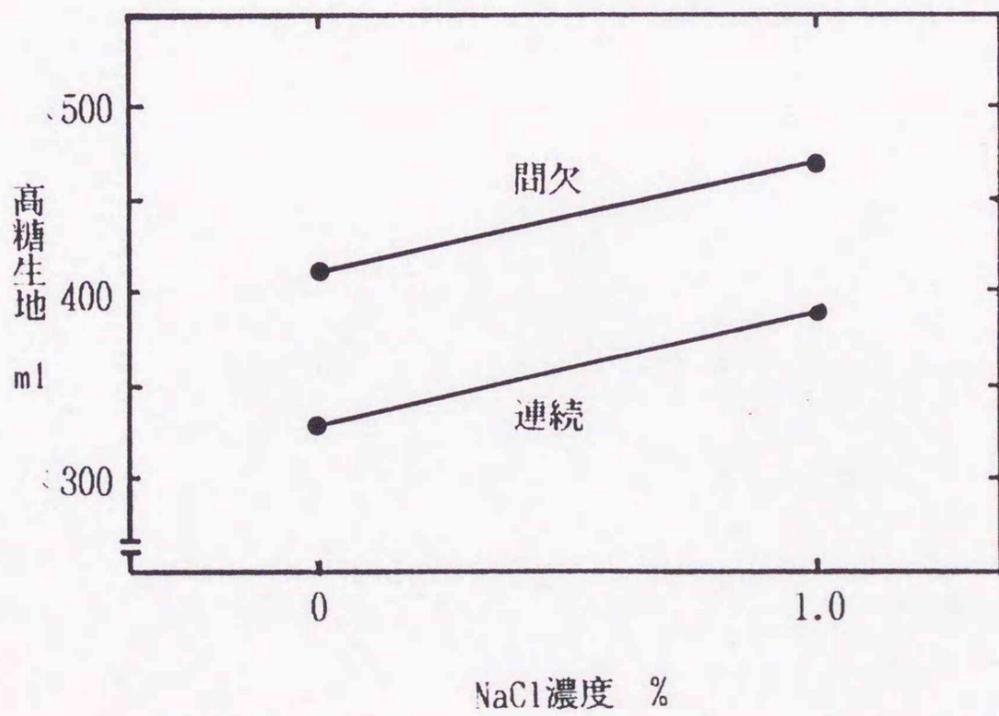
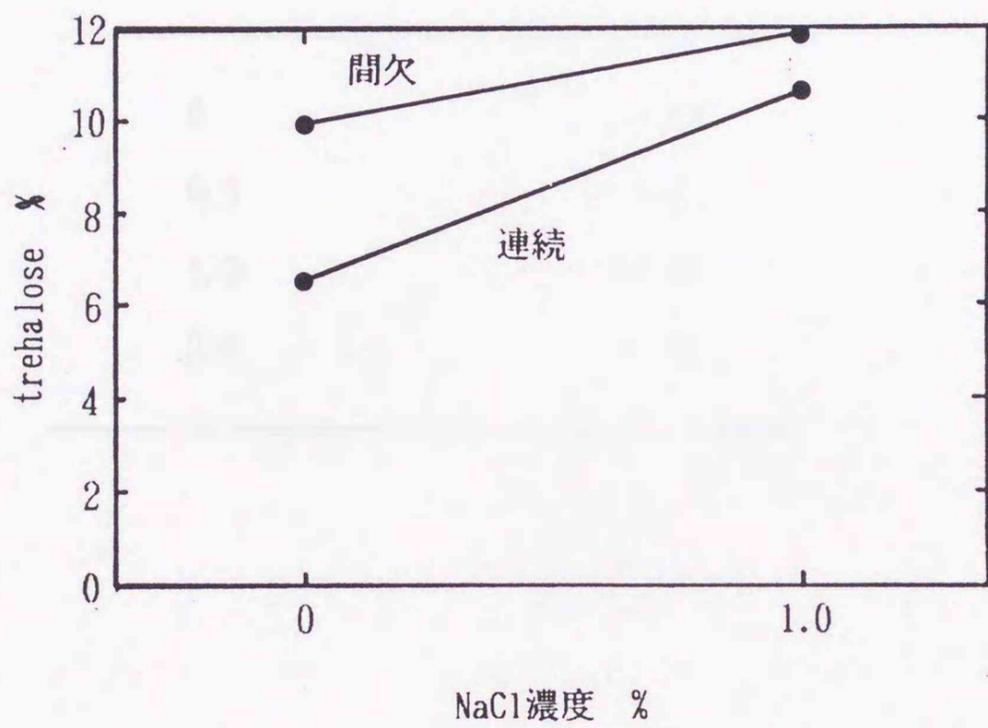
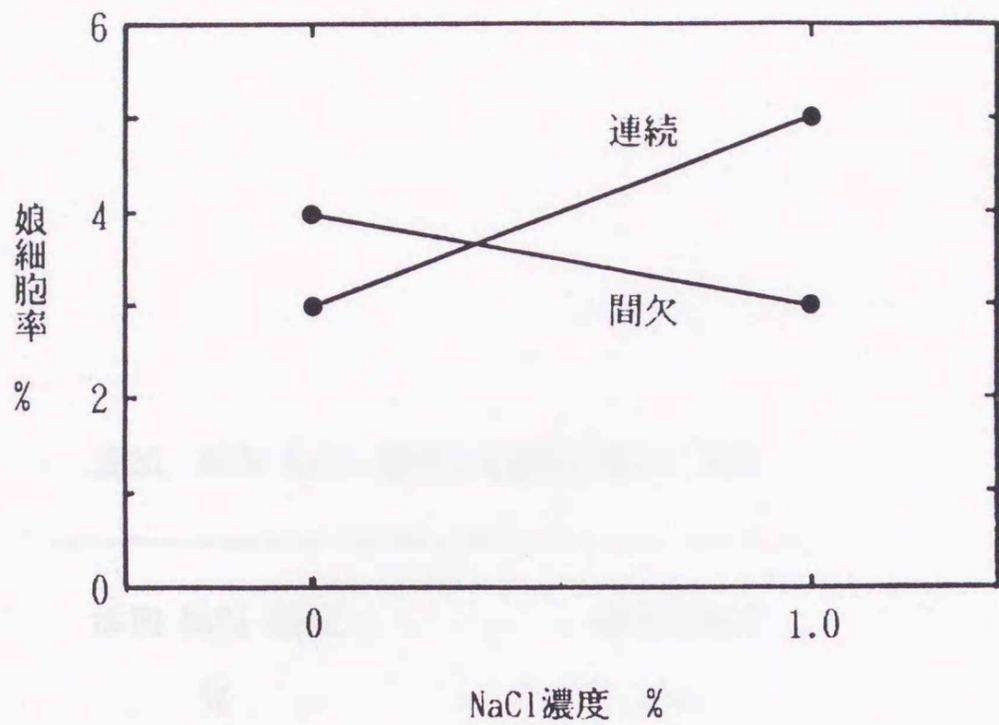


図8 粗糖培地における糖液の流加法並びに培地浸透圧とパン酵母の品質

間欠：プレ熟成以降糖液を10分間流加、20分間停止

表26 添加 NaCl 濃度と培地浸透圧の関係

添加 NaCl 濃度 %	培地浸透圧 atm
0	2.29
0.5	4.22
1.0	10.39
2.0	18.01

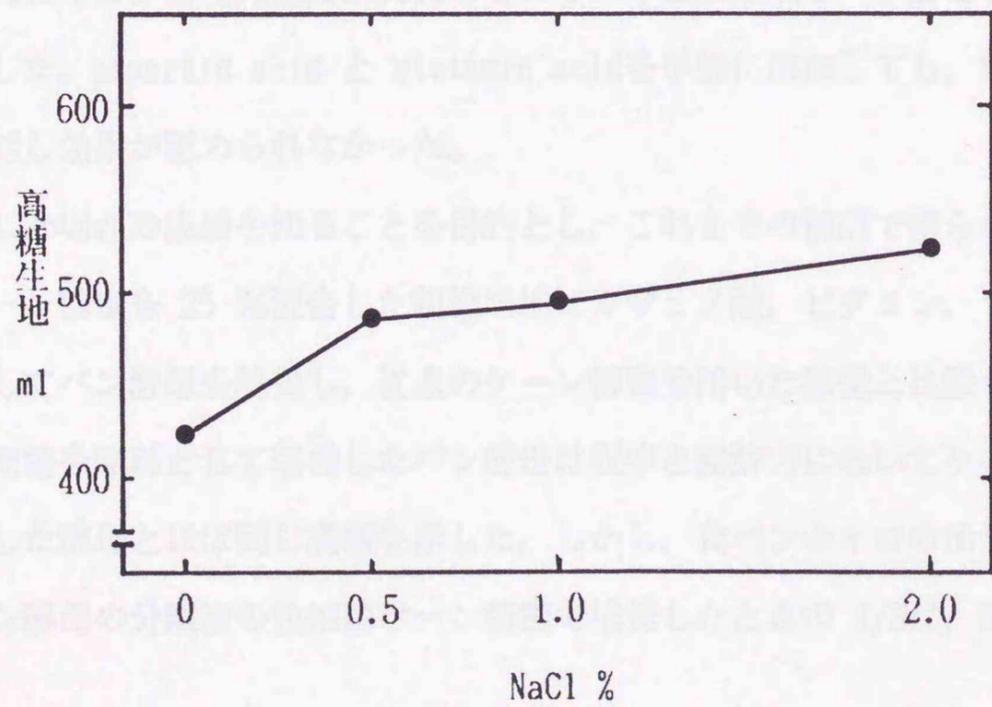
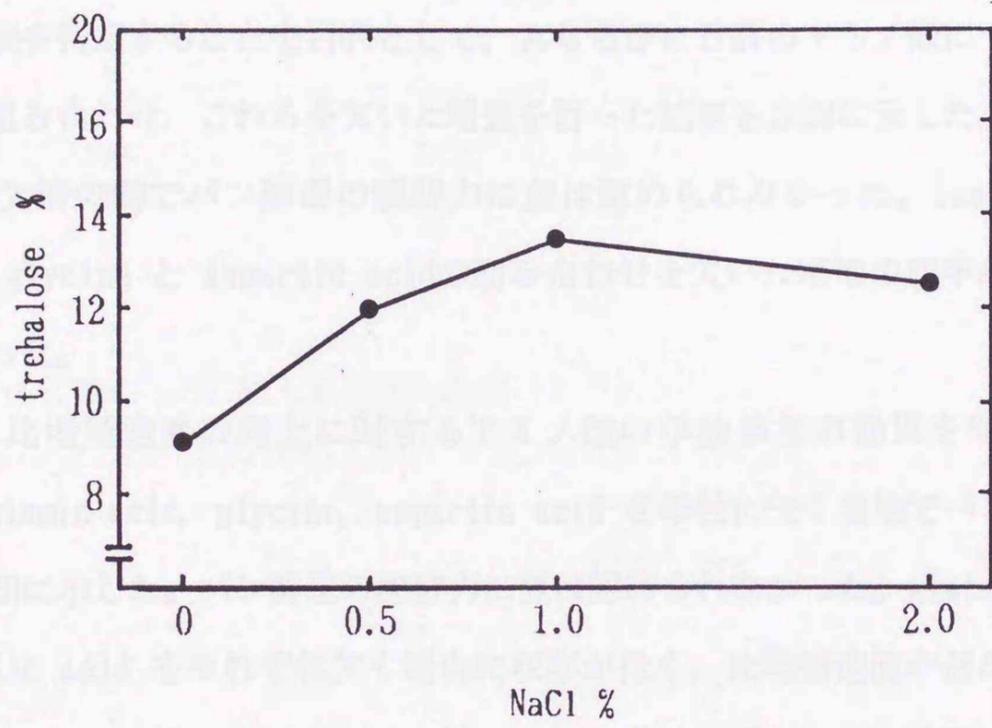
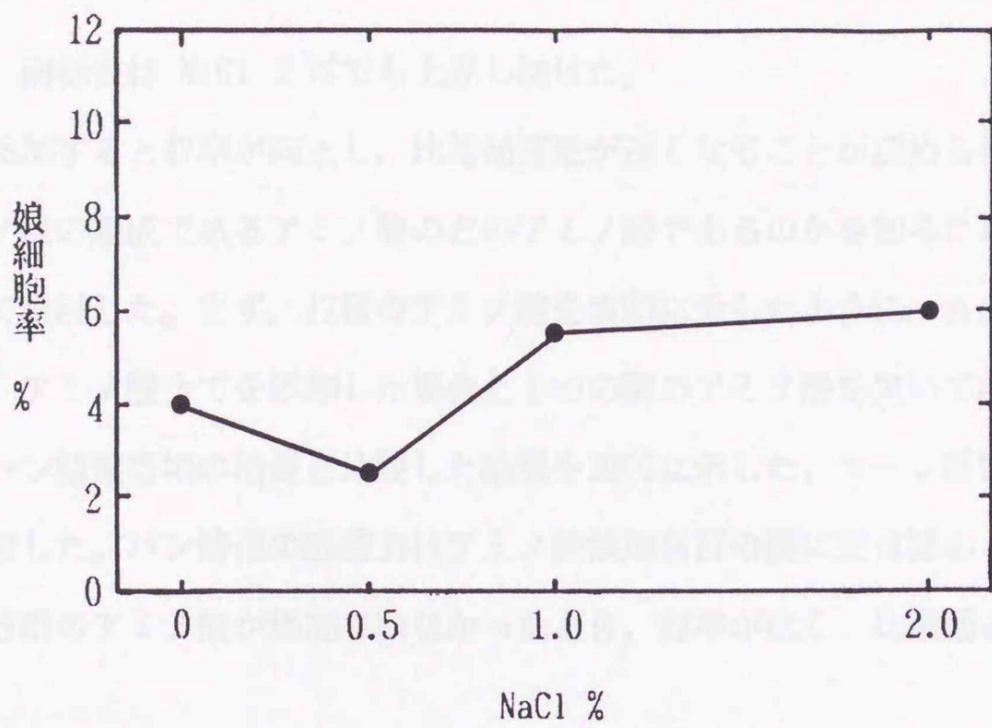


図9 粗糖培地における NaCl 濃度とパン酵母の品質

積量が低下した。耐糖性は NaCl 2%でも上昇し続けた。

カザミノ酸を添加すると収率が向上し、比増殖速度が速くなることが認められたが、その効果がカザミノ酸の組成であるアミノ酸のどのアミノ酸であるのかを知るため、17種のアミノ酸について検討した。まず、17種のアミノ酸を表23に示したように、A、B、Cの3つの群に分け、アミノ酸全てを添加した場合と1つの群のアミノ酸を欠いて添加して培養した場合をケーン糖蜜培地の培養と比較した結果を表27に示した。ケーン糖蜜培養の成績を100として表した。パン酵母の醗酵力はアミノ酸添加各群の間に差は認められなかった。AならびにB群のアミノ酸が添加されなかったとき、収率が低く、比増殖速度が遅くなった。

有効なアミノ酸を特定することを目的として、AならびにB群のアミノ酸について、2種のアミノ酸を組み合わせ、これらを欠いた培養を行った結果を表28に示した。各組み合わせのアミノ酸欠群の間でパン酵母の醗酵力に差は認められなかった。isoleucineと glutamic acid, glycine と aspartic acidの組み合わせを欠いた培地の収率が低く、比増殖速度が遅かった。

収率ならびに比増殖速度の向上に対するアミノ酸の単独添加の効果を知るため、isoleucine, glutamic acid, glycine, aspartic acid を単独に欠く培地でパン酵母を培養した結果を表29に示した。パン酵母の醗酵力に差は認められなかった。glutamic acid, glycine, aspartic acid をそれぞれ欠く場合に収率が低く、比増殖速度が遅かった。

次いで、aspartic acid と glutamic acidをそれぞれ単独に添加しパン酵母を培養した結果を表30に示した。aspartic acid と glutamic acidを単独に添加しても、収率ならびに比増殖速度に対し効果が認められなかった。

粗糖を原料とした場合の成績を知ることを目的とし、これまでの検討で得られた最適条件、すなわちケーン糖蜜を25%混合した粗糖培地にカザミノ酸、ビタミン、マグネシウム、NaClを添加してパン酵母を培養し、従来のケーン糖蜜を用いた培養と比較した結果を表31に示した。粗糖を原料として培養したパン酵母は収率と醗酵力においてケーン糖蜜を原料として培養した酵母とほぼ同じ成績を示した。しかし、食パンホイロの所要時間は長くかかった。パン酵母の分離液の色相はケーン糖蜜で培養したときの1/3に、BOD 負荷は1/2に軽減した。

表27 粗糖を炭素源とする培地におけるパン酵母の
増殖と品質に対するアミノ酸類の効果の検討(1) *

アミノ酸類 **		収率	無糖生地Ⅱ	高糖生地	比増殖速度
添加群	欠群				
B, C	A	98.5	102.1	100.0	94.1
A, C	B	98.6	100.0	100.0	95.9
A, B	C	101.2	100.0	101.5	98.2
A, B, C		100.2	100.0	100.5	99.4
ケーン糖蜜培地		100	100	100	100

* ケーン糖蜜培地における成績を 100とし、それに対する比で示した。

**アミノ酸のグループ分けは表23に示した。

表28 粗糖を炭素源とする培地におけるパン酵母の
増殖と品質に対するアミノ酸類の効果の検討(2) *

欠アミノ酸類	収率	trehalose	無糖生地Ⅱ	高糖生地	比増殖速度
alanine • tyrosine	96.9	112.1	97.9	95.6	97.6
isoleucine • glutamic acid	92.8	107.9	100.0	98.5	94.1
arginine • methionine	99.0	111.6	100.0	95.6	97.6
glycine • aspartic acid	90.9	109.9	102.1	95.6	94.1
leucine • lysine	96.2	109.5	100.0	95.6	96.5
threonine • cysteine	96.2	104.5	95.8	95.6	98.8
完全添加	98.0	101.7	97.9	98.5	98.8
ケーン糖蜜培地	100	100	100	100	100

* ケーン糖蜜培地における成績を 100とし、それに対する比で示した。

表29 粗糖を炭素源とする培地におけるアミノ酸単独欠の効果*

欠アミノ酸	収率	trehalose	無糖生地Ⅱ	高糖生地	比増殖速度
glycine	92.8	110.1	100.0	94.1	92.4
aspartic acid	93.2	96.2	100.0	97.1	96.5
isoleucine	98.2	102.9	100.0	100.0	98.8
glutamic acid	93.3	98.8	100.0	101.5	95.9
完全添加	98.0	98.6	97.9	98.5	98.8
ケーン糖蜜培地	100	100	100	100	100

* ケーン糖蜜培地における成績を 100とし、それに対する比で示した。

表30 粗糖を炭素源とする培地におけるアミノ酸単独添加の効果*

添加アミノ酸	収率	trehalose	無糖生地Ⅱ	高糖生地	比増殖速度
aspartic acid	94.2	108.0	90.7	79.4	95.3
glutamic acid	91.1	103.0	93.0	87.3	89.4
ケーン糖蜜培地	100	100	100	100	100

* ケーン糖蜜培地における成績を 100とし、それに対する比で示した。

表31 粗糖を原料とするパン酵母とケーン糖蜜を原料とするパン酵母の比較

		糖蜜		
		ケーン糖蜜	ケーン糖蜜 25 粗糖 75	
		添加物	添加物	
		無し	カザミノ酸 2.5g ビタミン混合液 MgSO ₄ / 7H ₂ O 0.8g NaCl 25 g	
単位				
収率	%	47.71	46.70	
trehalose	%	9.72	13.31	
娘細胞率	%	5.22	9.01	
比増殖速度	hr ⁻¹	0.164	0.168	
高糖生地	ml	480	500	
食パンホイロ	分	52	56	
菓子パン比容積	-	4.43	4.91	
分	R-Bx	3.5	3.6	
	残糖	%	0.486	0.175
離	残窒素	%	0.052	0.039
	-logT	-	0.392	0.098
液	BOD	ppm	12,000	4,700

3. Ethanolを炭素源とするパン酵母の製造

ethanol は醗酵の一生産物として得られるが、1960年代には石油化学工業の産物として得られるようになり、価格も低下してきている。ethanol が酵母に利用されることは知られている。^{34, 35)}

本章では、パン酵母の製造原料として ethanolを使用することを目的として、菌株のスクリーニングならびに培養条件を検討した。³⁶⁾

実験方法

供試菌株：当社保存パン酵母菌株。

培養：振盪フラスコ培養，シリンダー培養，10ℓ容ジャー培養を行った。

スクリーニングに使用した培地はHB糖蜜 80g，ケーン糖蜜 20g， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 8.5g， KH_2PO_4 1.4g， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.9g，K-citrate 5.0g，citric acid 1.0gを pH 4.7 の1ℓ溶液とし，100 mlずつ 500ml容振盪フラスコに分注した。培養開始時に ethanolを 1.6 V/V%^{37, 38)} になるように添加した。30℃，2日間培養した。収量は2本ずつ培養したものの合計量を gで示した。

対 ethanol収率は次の算出方法によった。

$$D = [(A - B) / C] \times 100$$

ただし， A : ethanol 使用培地での対糖収率×糖量=収量

B : 糖蜜 100%使用時での収率×ethanol 使用培地の糖蜜糖量

A - B : ethanol からの収量

C : ethanol 培地に使用したethanol 量

D : 対 ethanol収率

実験結果

ethanol の使用限度を知るため，ethanol を流加糖蜜の糖量の 0, 20, 40, 60%混合した4種類の流加糖液についてジャー培養でパン酵母を培養した結果を表32に示した。ethanol の使用量が多くなると収率と耐糖性が低下し，無糖生地の醗酵力が向上することが認められた。

ethanol 培地においてコーンスチープリカーあるいはイーストエキスの添加が収率の低下を抑える効果があるかを知るため，シリンダー培養を用い，ethanol 使用量を流加糖蜜

の糖量比で 60, 80, 100%の 3 段階についてコーンスチープリカーあるいはイーストエキスを培養 1 本当たり 1, 2, 3, 4 g を流加糖液に添加し, パン酵母を培養した結果を表 33 に示した。収率はコーンスチープリカーあるいはイーストエキス 4 g/cycle 添加が最も高かった。また, ethanol 60% 混合が収率が高く, ethanol の混合割合を増すと収率が低下した。無糖生地の酸酵, 耐糖性は ethanol の混合割合と添加物の組み合わせにより一部低い値を示したが, ethanol 60% 混合では添加物 3 g/cycle が, 80% と 100% では 4 g/cycle が良かった。

ethanol 耐性の強い菌株を得るため, 培地 ethanol 1.6% で振盪フラスコ培養により菌株のスクリーニングを行った結果を表 34 に示した。菌株により ethanol の生育阻害の受け方に違いが認められた。収量 1.9 g を越えた菌株は 75, 0-30, 45-D-2, 0-84, 31, 57, DC-1, 0-677 の 9 株であった。

フラスコ培養で成績の良かった E-1, 75, 0-84, 31, 0-38, 57 の 6 菌株について, シリンダー培養を行い, 培養の前半 ケーン糖蜜を流加し, ethanol を 40 と 60 % 使用となるように, 培養の後半 ethanol のみを流加した。結果を表 35 に示した。2 倍体の汎用のパン酵母である耐糖系の 0-84 の収率が低かった。0-84 以外の菌株は 34 ~ 39% の収率であった。耐糖系の 0-38 と 31 は ethanol 40 と 60 % での収率の差が大きかった。

ethanol を炭素源として培養したパン酵母の製パン性能を知ることを目的として, 4 倍体の無糖系菌株 E-1 と 2 倍体の耐糖系菌株 57 を供試し, ethanol の割合を 0, 40, 60% の 3 段階になるように, 培養の前半 ケーン糖蜜を流加し, 培養の後半 ethanol のみを流加した。培養した結果を表 36 に示した。全収率は菌株 E-1, 57 とともに ethanol の使用割合が 40, 60% と増すにつれて低下が認められた。しかし算出した対 ethanol 収率は供試した菌株間に差が認められなかった。また, ethanol 使用割合を 40, 60% と変えても対 ethanol 収率は 40% 前後であった。この培養では窒素源として $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と NH_3 を用い, 窒素の供給とともに pH の調節も行った。培養で使用した窒素源の比率を表 37 に示した。菌株 E-1, 57 とともに ethanol の使用割合が増加するにともない, NH_3 の使用量が減少し, 熟成期の NaOH 消費量が増加した。ethanol の使用と品質との関係では, ethanol の使用により菌株 E-1 は耐糖性, 食パン仲種の初期酸酵がやや低下し, 食パンホイロの所要時間の短縮が認められた。菌株 57 は ethanol の使用により, 耐糖性は変わらず, 食パン仲種の初期酸酵が大幅に低下し, 食パンホイロの所要時間が短縮した。

表32 炭素源としての ethanol の使用比とイーストの収率・品質

炭素源混合比率		収率 %	無糖生地		高糖生地 ml
ケーン糖蜜	ethanol		I ml	II ml	
100 %	0 %	40.17	380	455	475
80	20	34.84	385	460	475
60	40	29.65	390	470	435
40	60	27.12	360	480	410

表33 ethanol を炭素源とする培地におけるパン酵母の増殖と品質
に対するコーンスチープリカーあるいはイーストエキスの添加の効果

炭素源混合率		添加量* g	コーンスチープリカー			イーストエキス		
ethanol %	ケーン糖蜜 %		収率 %	無糖 II ml	高糖生地 ml	収率 %	無糖 II ml	高糖生地 ml
60	40	1	27.46	435	430	29.13	430	510
		2	31.44	385	410	30.73	430	520
		3	28.54	425	445	32.07	440	510
		4	36.65	400	430	37.45	415	470
80	20	1	22.21	430	400	27.39	375	425
		2	23.93	345	360	29.27	345	380
		3	22.47	425	435	27.97	385	430
		4	29.57	440	440	33.40	425	525
100	0	1	14.91	515	-	12.59	495	-
		2	13.13	460	-	16.66	515	-
		3	20.28	420	-	24.38	340	360
		4	28.54	390	400	28.59	430	500

*コーンスチープリカーあるいは、イーストエキスの添加量は培養1本当たりの量を示した。

表34 ethanol 添加培地での菌株のスクリーニング

No.	Mark	収量 (g)	No.	Mark	収量 (g)	No.	Mark	収量 (g)	No.	Mark	収量 (g)
1	4-1	1.248	21	48	1.796	41	410	1.502	61	28	1.816
2	17-2	1.306	22	0-30	1.910	42	45-288	1.550	62	27	1.878
3	E-3	1.304	23	0-14	1.850	43	81	1.446	63	54	1.724
4	11-G	1.466	24	39	1.580	44	0-38	1.792	64	37	1.810
5	10-D	1.332	25	29	1.556	45	86	1.614	65	89	1.330
6	677-C	1.394	26	45-D-2	1.922	46	S-307	1.498	66	24	1.434
7	677-G	1.362	27	0-84	1.936	47	Ni-255	1.728	67	21	1.742
8	1-H	1.474	28	N-283	1.864	48	104	1.546			
9	9-D	1.476	29	52	1.716	49	111	1.742			
10	E-1	1.516	30	210	1.548	50	22	1.778			
11	9-E	1.480	31	84	1.556	51	57	1.976			
12	17-7	1.383	32	77	1.662	52	103	1.872			
13	18-75	1.488	33	31	1.974	53	83	1.830			
14	19-4	1.416	34	17	1.562	54	210	1.483			
15	17-10	1.284	35	62	1.778	55	DC-1	1.932			
16	15-10	1.628	36	11	1.790	56	0-677	1.935			
17	14-5	1.544	37	52	1.532	57	0-45	1.952			
18	17-9	1.292	38	88	1.554	58	77	1.810			
19	72-a	1.858	39	110	1.414	59	85	1.204			
20	75	1.912	40	0-27	1.650	60	105	1.576			

表35 ethanol 培地での6菌株の収率比較

菌株	培地 ethanol濃度	
	40 %	60 %
E-1 (無糖系)	38.81 %	39.13 %
75 (")	36.22	37.00
0-38 (耐糖系)	37.05	34.88
0-84 (")	29.95	28.45
57 (")	35.49	35.28
31 (")	38.99	35.77

表36 各種 ethanol濃度で培養した菌株 E-1と 57 の収率ならびに品質

菌株	ethanol		収率		無糖生地	高糖	食パン	
	使用比 %	対糖換算 %	対 ethanol %	II ml	生地 ml	仲種 60分ml	ホイロ 分	
E-1	0	42.43	-	490	310	1,600	63	
	40	37.88	40.01	490	310	1,600	56	
	60	35.81	40.46	485	290	1,500	57	
57	0	39.70	-	355	510	600	57	
	40	36.66	41.37	350	520	300	54	
	60	35.03	41.14	345	515	300	55	

表37 ethanol を炭素源とした培養における窒素源使用比と熟成期の NaOH 消費量

菌株	ethanol 置換割合	窒素源使用比		熟成期 NaOH 消費量
		(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ OH	
E-1	0	28.6%	71.4%	52ml
	40	37.8	62.2	110
	60	46.2	53.8	120
57	0	33.6	66.4	25
	40	35.4	64.6	66
	60	50.4	49.6	100

第2節 窒素および磷酸源

ケーンやビート糖蜜は窒素化合物を含み、その一部はパン酵母に資化される。ビート糖蜜はケーン糖蜜より多くの α -アミノ態窒素を含んでいるが、パン酵母の増殖のごく一部分をまかなうに過ぎない(表54)。窒素は NH_4OH あるいは $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ureaなどの形で添加し、その添加量は製品のT-Nが7~9.5% (乾物当たり)になるように調整する。

パン酵母の増殖を順調に進めるためには、磷酸塩の添加が必要である。添加量は製品酵母で2.5~3.0%の P_2O_5 (乾物当たり)になるように添加する。磷酸源として H_3PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ などが使用される。

本章では、窒素と磷酸源がパン酵母の収率や醗酵性能に及ぼす影響について、窒素源はその種類の比較と添加方法、磷酸源は添加量と添加方法を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：シリンダー培養と2ℓ容ミニジャーを用いた。流加糖蜜はケーン糖蜜75 : HB糖蜜25の混合糖蜜を用いた。

実験結果

1. 窒素源

窒素源の種類 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urea, NH_4OH) と添加方法 (培養始発時添加と指数増殖期流加) がパン酵母の収率ならびに品質に及ぼす影響を検討した。

窒素源の種類がパン酵母の収率と醗酵性能に及ぼす影響を知るため、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urea, NH_4OH の3種類の窒素源を用いてパン酵母を培養して比較した。その結果を表38に示した。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ は urea や NH_4OH を用いた場合より収率が低かったが、食パン・菓子パン性能ともに良好であった。

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を窒素源として用いた場合、 NH_3 が酵母に資化され、残った SO_4^{--} を NaOH で中和するが、中和で生成した塩によって培地浸透圧が上昇したために食パン・菓子パン性能を向上させたのかを確認するため、ureaと $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用い、 NaCl を培地に1%添加と無添加により培地浸透圧を変えて培養した。その結果を表39に示した。ureaと NaCl 添加を組み合わせると、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 単独の成績に近付き、窒素源による差が認められなかった。また、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と NaCl 添加の組み合わせは収率が最も低かった。

表38 パン酵母の収率ならびに品質に対する窒素源の種類の影響

窒素源	単位	urea	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ OH
収率	%	54.72	53.63	58.24
N	%	6.91	7.11	7.21
trehalose	%	13.47	12.09	11.42
娘細胞率	%	1.37	2.53	5.15
M _s	mg	163	142	201
invertase 活性	ml	3.27	3.58	3.17
高糖生地	ml	440	465	360
食パン仲種 90 分	ml	1,950	1,970	2,000
" ホイロ	分	59	56	56
菓子パンホイロ	ml	395	410	355
" 比容積	-	4.75	4.82	4.80

表39 パン酵母の収率と品質に対する窒素源の種類と NaCl 添加の影響

窒素源	単位	urea		(NH ₄) ₂ SO ₄	
		無添加	添加	無添加	添加
収率	%	54.72	53.50	53.63	50.93
N	%	6.91	7.19	7.11	7.33
trehalose	%	13.47	12.93	12.09	9.93
娘細胞率	%	1.37	4.17	2.53	7.14
M _s	mg	163	166	142	169
invertas活性	ml	3.27	3.66	3.58	3.96
高糖生地	ml	440	470	465	465
食パン仲種 90 分	ml	1,950	2,300	1,970	2,400
" ホイロ	分	59	53.5	56	51.5
菓子パンホイロ	ml	395	390	410	410
" 比容積	-	4.75	4.91	4.82	4.80

窒素源の添加法あるいは添加時期がパン酵母の収率ならびに醗酵性能に及ぼす影響を検討するため、まず urea の添加法を培養始発時に所定量添加してパン酵母を培養したものと、指数増殖期に流加して培養したものとを結果を表40に示した。ureaを流加すると、始発時に添加した培養と比べ、窒素と trehaloseの含量が低く、娘細胞率と maltoseの醗酵が高くなった。食パン・菓子パン性能には差が認められなかった。

さらに、窒素源の流加期間がパン酵母の収率や品質に及ぼす影響を知るため、窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と NH_4OH を用いて、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ は指数期前半と指数期終了まで流加し、 NH_4OH はプレ熟成終了までと全期間流加して培養して比較した。その結果を表41に示した。 NH_4OH の方が $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ よりパン酵母の収率が高く、trehaloseの含量と耐糖性が低かった。しかし、食パン・菓子パン性能には差が認められなかった。

2. 磷酸源

磷酸添加量や添加時期を変え、収率に対する影響ならびにパン酵母の磷酸含量と醗酵性能との関係を検討した。

パン酵母の磷酸含量の違いが収率と醗酵性能（無糖生地、高糖生地）に及ぼす影響を知るため、磷酸の添加量を変えてパン酵母を培養し、収率、菌体 P_2O_5 含量、無糖生地、高糖生地醗酵を調べた結果を図10に示した。パン酵母の菌体 P_2O_5 含量は 2.3~3.4%の間であった。収率は菌体 P_2O_5 量の増加とともに増し、2.8%でほぼ横這いになった。無糖生地の醗酵は P_2O_5 量によって変化せず、高糖生地は P_2O_5 量の増加にともなって低下し、2.5%以上で高糖生地膨張量が 500mlを下回り、3.0%以上でさらに低下が認められた。

パン酵母の磷酸含量と製パン性能との関係を知るため、添加磷酸量を変えてパン酵母を培養して菌体の P_2O_5 量を変化させ、パン酵母の収率、菌体 P_2O_5 量、食パンならびに菓子パン性能を検討した結果を表42に示した。 P_2O_5 量 2.5%と 3.17%のパン酵母が得られた。この得られたパン酵母を比較すると、3.17%の方が収率は高くなったが、食パン・菓子パン性能の低下が認められた。しかし、 P_2O_5 含量 2.5%と 3.0%について、再検討した結果を表43に示したが、磷酸量の増加によって食パン性能の低下は認められなかった。

磷酸の添加方法の違いがパン酵母の収率と製パン性能に及ぼす影響を知ることを目的として、所定量の磷酸を培養始発時に添加して培養したパン酵母と指数期に磷酸を流加して培養したパン酵母の収率と製パン（食パンと菓子パン）性能を比較した結果を表44に示した。また、無糖生地醗酵のチモタキグラフを図11に示した。磷酸を流加してパン酵母を培

表40 パン酵母の収率ならびに品質に対する
ureaの添加方法の違いの影響

	単位	ureaの添加方法	
		培養始発時添加	流加
収率	%	49.64	49.95
N	%	8.61	8.03
trehalose	%	8.93	7.71
娘細胞率	%	6.67	9.68
M ₈	mg	227	237
invertase 活性	ml	4.85	4.65
高糖生地	ml	330	355
食パン仲種 60 分	ml	230	225
" ホイロ	分	47.5	47.0
菓子パンホイロ40分	ml	430	450
" 比容積	-	5.40	5.40

表41 パン酵母の収率ならびに品質に対する
窒素源の種類と添加時期の影響

窒素源	添加期間	(NH ₄) ₂ SO ₄		NH ₄ OH	
		指数期前半 単位	指数期終了	培養終了 2時間前	全期間
収率	%	55.94	56.30	58.24	58.08
N	%	7.71	7.53	7.21	7.63
trehalose	%	12.72	12.15	11.42	11.41
娘細胞率	%	2.88	6.19	5.15	5.38
M ₈	mg	197	191	201	183
invertase 活性	ml	3.77	3.23	3.17	3.29
高糖生地	ml	425	420	360	360
食パン仲種 90 分	ml	2,000	2,050	2,000	2,000
" ホイロ	分	56	55	56	54
菓子パンホイロ	ml	360	355	355	360
" 比容積	-	4.84	4.80	4.80	4.87

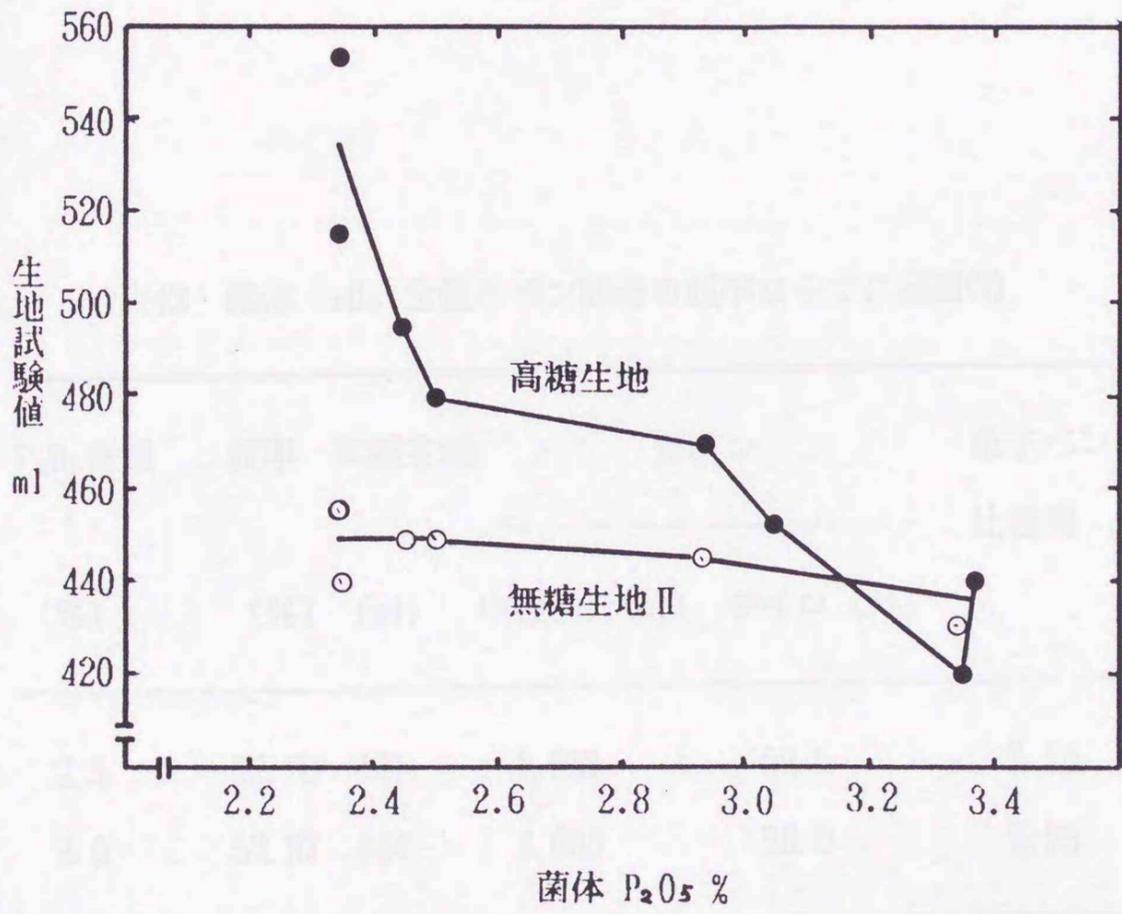
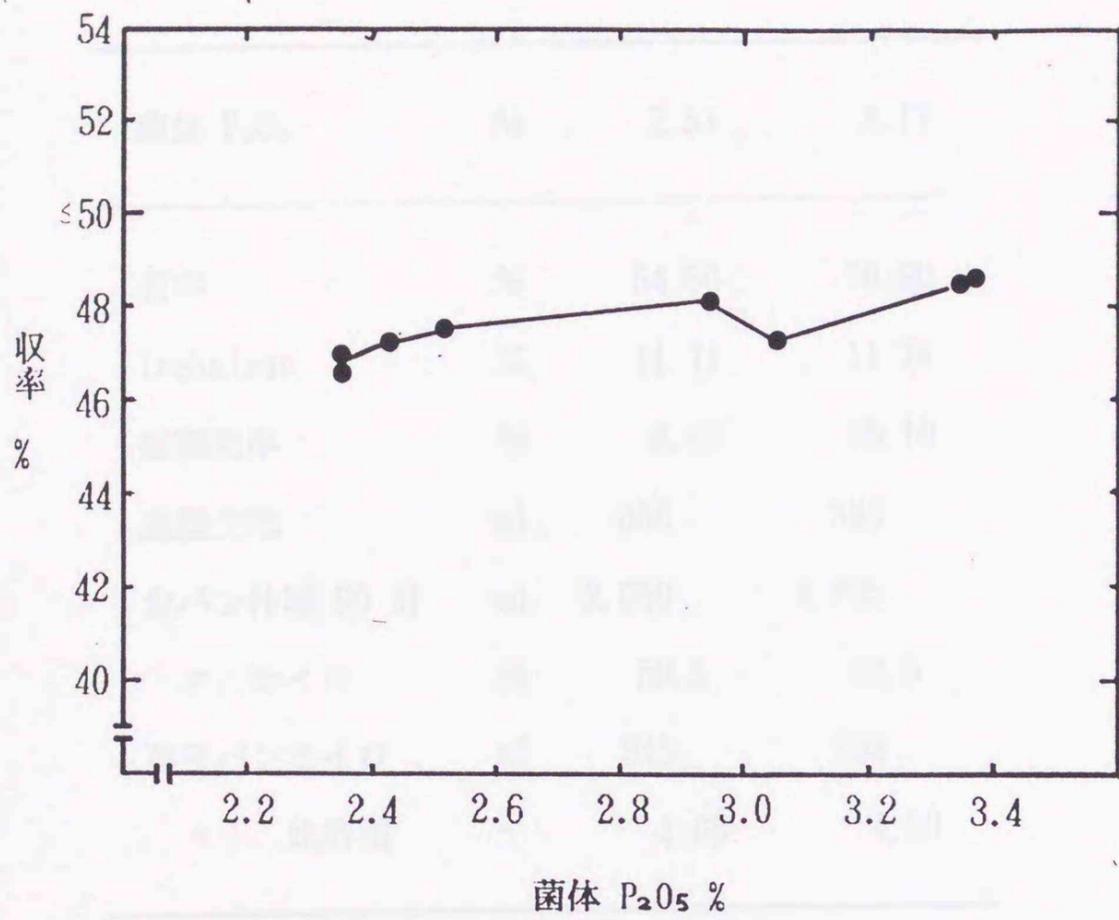


図10 菌体 P_2O_5 含量と収率・生地試験値

表42 菌体 P₂O₅ 含量とパン酵母の収率ならびに品質(1)

菌体 P ₂ O ₅	%	2.57	3.17
収率	%	54.60	56.90
trehalose	%	11.71	11.78
娘細胞率	%	8.63	10.10
高糖生地	ml	380	333
食パン仲種 90 分	ml	2,050	1,825
" ホイロ	分	59.5	63.5
菓子パンホイロ	ml	343	333
" 比容積	-	4.65	4.50

表43 菌体 P₂O₅ 含量とパン酵母の収率ならびに品質(2)

P ₂ O ₅ 含量 (%)	収率 (%)	高糖生地 (ml)	食パン		菓子パン 比容積
			中種90分(ml)	ホイロ(分)	
2.5	52.36	441	1,555	56.5	5.55
3.0	52.87	444	1,683	56.0	5.28

表44 磷酸の添加方法とパン酵母の収率ならびに品質

添加方法	単位	培養始発時	指数期流加
収率	%	49.64	39.78
P ₂ O ₅	%	3.75	4.28
trehalose	%	8.93	1.18
M ₈	mg	227	86
invertase 活性	ml	4.85	4.55
娘細胞率	%	6.67	12.79
高糖生地	ml	360	160
食パン仲種 60 分	ml	230	175
" ホイロ	分	47.5	65.0
菓子パンホイロ	ml	430	360
" 比容積	-	5.40	4.55

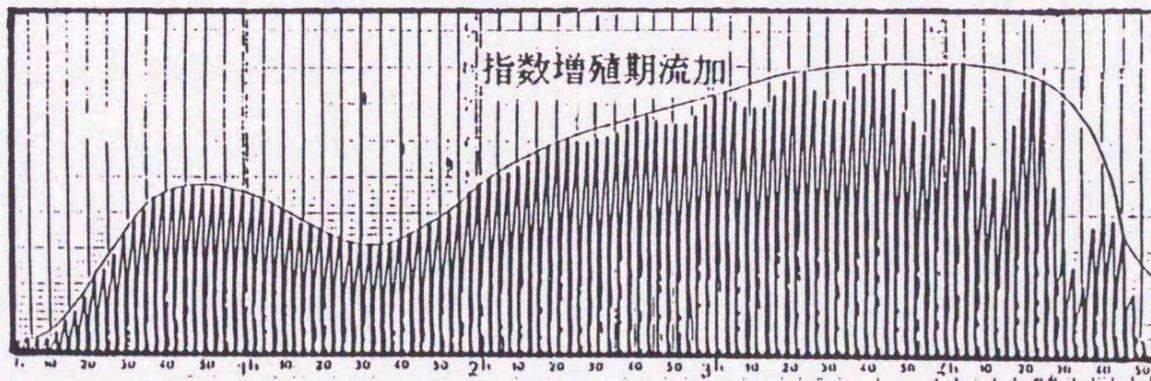
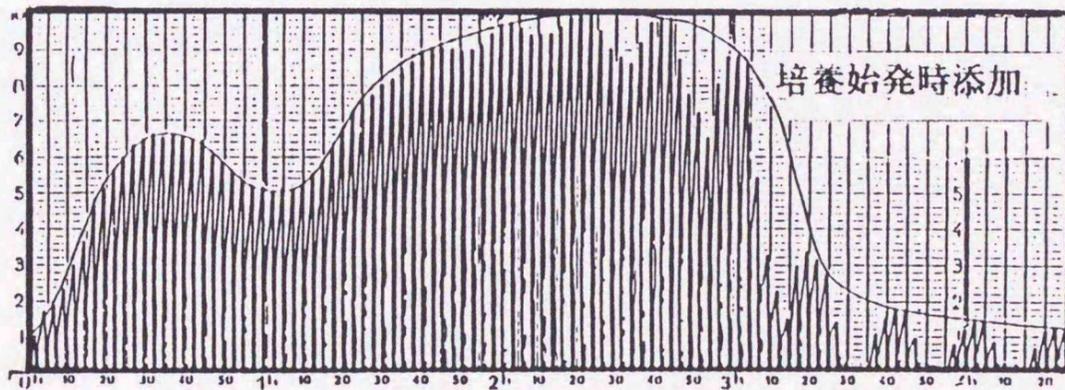


図11 磷酸の添加法と酵母の無糖生地醗酵チモタキグラフ

養すると、増殖が遅れ、収率が低く、チモタキグラフのパターンも後ろに大幅にずれ、パン酵母の製パン性能も劣った。

第3節 ビタミン類

パン酵母は増殖にビタミン類を要求することは知られている。とくに biotin, pantothenic acid, inositol, thiamineの要求性が高く、その重要性が検討されている。

biotinはパン酵母中に約 0.75 ~2.5ppm含まれている(乾物基準)。ケーン糖蜜は biotin を豊富(1.2 ~3.2ppm)に含むが、ビート糖蜜は含有量が少ない(0.04~0.13ppm)(表13)。ビート糖蜜を用いた培地では biotin が不足するため biotin を添加するか、ケーン糖蜜を少なくとも 20 %混合しなければならない(表19)。また窒素源として urea を使う場合は、biotin 使用量を多くしなければならないことも報告されている。

¹⁶⁾ White, ³⁹⁾ Olson と Johnson⁴⁰⁾ はパン酵母の pantothenic acid 要求量は酵母固形分 g 当たり 40 μ g, inositol のそれは 2,000~5,000 μ g であると報告している。Ca-pantothenate はケーン糖蜜に 54 ~65ppm, ビート糖蜜に 50 ~100ppm 含まれ、inositol はケーン糖蜜には約 6,000ppm, ビート糖蜜には 5,800~8,000ppm 含まれている(表13)。糖蜜培地では pantothenic acid と inositol は十分に供給されている。糖蜜の thiamine 含量はケーン糖蜜約 1.8ppm, ビート糖蜜約 1.3ppm (表13)で、パン酵母の増殖には十分である。しかし、thiamine は生地の醗酵を促進する効果を有しており、この効果を引き出すために、製品酵母固形分 g 当たり 50 ~100 μ g の含量になるように thiamine を流加糖蜜に添加することが報告されている。¹⁶⁾

本章では、糖蜜培地でのビタミン類のパン酵母の収率や品質に対する添加効果を詳細に検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：シリンダー、2 ℓ 容ミニジャー、10 ℓ 容ジャーを用いた。流加糖蜜はHB糖蜜にケーン糖蜜を 20 %混合した糖蜜培地を用いた。窒素源は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - NH_4OH ならびに urea を供試した。ビタミンの単独添加では、biotin は 0, 1.7, 3.3, 5.0, 6.7 μ g/g seed yeast を培養始発時に添加した。Ca-pantothenate は培養始発時に 175 μ g/g seed yeast 添加した。thiamine は、シリンダー培養では 0, 20, 50, 100 μ g/g produced yeast を培養開始時に添加し、ジャー培養では 0, 150, 160, 200 μ g/g produced yeast を培養始発時、熟成開始時、糖蜜と混合して流加するの3通りの方法で添加した。イーストクリーム of thiamine 処理の検討では、イーストクリームに thiamine を 0, 25,

50, 100 $\mu\text{g/g}$ 生 yeast 添加し, 冷蔵庫で 24 時間放置後, 遠心分離洗浄し回収したパン酵母の高糖生地醗酵力を測定した。

ビタミン類の添加試験では, 流加糖蜜はケーン糖蜜を用いた。ビタミン類は 1 cycle 当たり pyridoxine $\cdot\text{HCl}$ 10mg, nicotinic acid 10mg, thiamine $\cdot\text{HCl}$ 10mg, Ca-pantothenate 10mg, biotin 0.2mg, inositol 190mg を熟成時に添加した。

実験結果

1. パン酵母の収率および品質に対する biotin の添加効果

窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ を用いた場合と urea を用いた場合の, biotin 添加によるパン酵母の増殖と醗酵性能への影響を調べた。

窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$, urea を使用し, パン酵母の収率や品質に対する biotin の添加効果を検討した。その結果を表 45, 46 に示した。窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ を使用した場合は比増殖速度, 収率や醗酵性能に biotin の添加効果が認められなかった。一方, 窒素源に urea を用いた場合は 0~3.3 $\mu\text{g/g}$ seed yeast までは biotin の添加量に応じて比増殖速度が速くなり, 収率が向上し, 耐糖性が高くなる傾向が認められた。しかし, 3.3 $\mu\text{g/g}$ seed yeast 以上では比増殖速度, 収率や耐糖性の値に大きな変化が認められなかった。

2. パン酵母の収率および品質に対する Ca-pantothenate の添加効果

糖蜜培地における Ca-pantothenate のパン酵母の収率や品質に対する添加効果を検討した。

Ca-pantothenate を培養始発時に 175 $\mu\text{g/g}$ seed yeast を添加して培養し検討した。その結果を表 47 に示した。Ca-pantothenate の添加によってパン酵母の収率・品質の変化は認められなかった。

3. パン酵母の収率および品質に対する thiamine の添加効果

松田ら⁴¹⁾ は thiamine が存在する培地で生育したパン酵母は醗酵力が著しく良好であると報告している。パン酵母の収率・品質に対する thiamine 添加の効果を検討した。

thiamine 量 0, 20, 50, 100 $\mu\text{g/g}$ produced yeast を培養開始時に添加して培養した。その結果を図 12 に示した。収率は thiamine 添加により低下したが, 50 と 100 $\mu\text{g/g}$

表45 パン酵母の比増殖速度, 収率ならびに耐糖性に対する窒素源の種類の違いにおける biotin 添加の効果

実験組	窒素源	biotin添加量 ($\mu\text{g/g}$ seed yeast)	比増殖速度 (hr^{-1})	収率 (%)	高糖生地 (ml)
I	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$	0	0.211	51.40	376
		3.33	0.206	51.42	386
II	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ urea	0	0.209	53.34	470
		0	0.176	34.81	380
		1.67	0.182	44.53	395
		3.33	0.196	45.32	420
		5.00	0.195	45.77	390
		6.67	0.203	49.13	445

表46 窒素源を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ とする培養におけるパン酵母の生地醗酵力に対する biotin 添加の効果

biotin添加量 ($\mu\text{g/g}$ seed yeast)	無糖生地		低糖生地		高糖生地 120分(ml)
	I (ml)	II (ml)	I (ml)	II (ml)	
	0	329	390	401	445
2.5	330	386	405	451	474

表47 パン酵母の収率ならびに品質に対するCa-pantothenate の添加の効果

培養規模	Ca-pantothenate		無糖生地		低糖生地		高糖生地	食パン仲種
	添加量	収率	—————		—————			90分
	($\mu\text{g/g}$ seed yeast)	(%)	I (ml)	II (ml)	I (ml)	II (ml)	(ml)	(ml)
シリンダー	0	50.66	-	425	-	-	535	-
培養	175	50.66	-	425	-	-	500	-
ジャー	0	-	325	414	425	476	516	1,720
培養	175	-	325	416	431	474	510	1,758

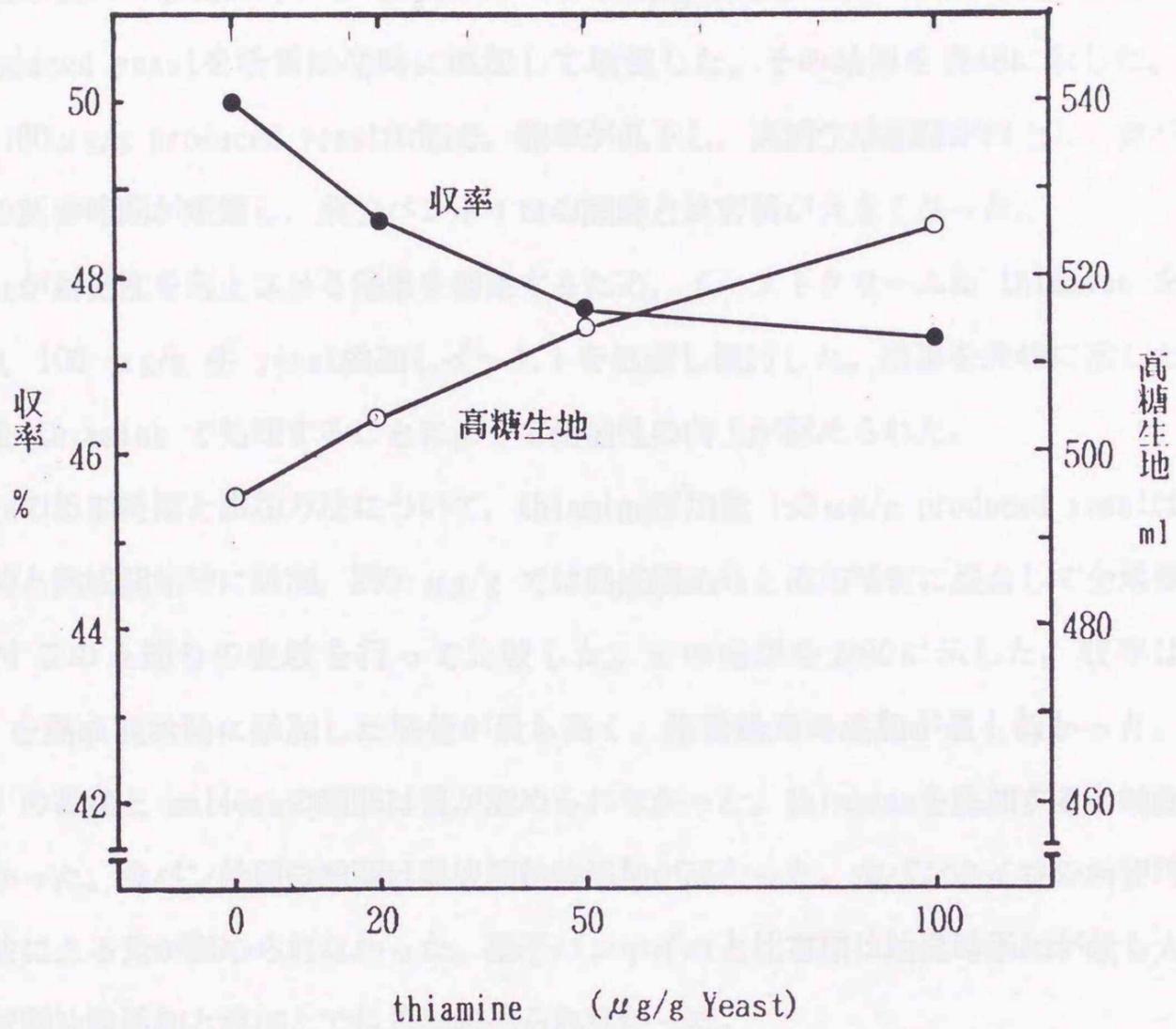


図12 培養への thiamine 添加量とパン酵母の収率ならびに耐糖性

produced yeastでは差が認められず横這いとなった。高糖生地醗酵は thiamine 添加量の増加に伴って向上が認められた。

パン酵母の製パン性能に対する thiamine の添加効果を知るため、thiamine量 0, 160 $\mu\text{g/g}$ produced yeastを培養始発時に添加して培養した。その結果を表48に示した。thiamine 160 $\mu\text{g/g}$ produced yeast添加で、収率が低下し、高糖生地醗酵が向上し、食パンホイロの所要時間が短縮し、菓子パンホイロの醗酵と比容積が大きくなった。

thiamineが耐糖性を向上させる効果を確認するため、イーストクリームに thiamine を 0, 25, 50, 100 $\mu\text{g/g}$ 生 yeast添加しイーストを処理し検討した。結果を表49に示した。パン酵母を thiamine で処理することによって耐糖性の向上が認められた。

thiamineの添加時期と添加方法について、thiamine添加量 150 $\mu\text{g/g}$ produced yeastは培養始発時と熟成開始時に添加、200 $\mu\text{g/g}$ では熟成開始時と流加糖蜜に混合して全培養期間流加するの4通りの実験を行って比較した。その結果を表50に示した。収率は thiamine を熟成開始時に添加した培養が最も高く、培養始発時添加が最も低かった。trehalose の蓄積と maltoseの醗酵は差が認められなかった。thiamineを流加すると娘細胞率が高かった。食パン仲種の醗酵は熟成開始時添加が高かった。食パンホイロの所要時間は添加法による差が認められなかった。菓子パンホイロと比容積は始発時添加が最も大きく、熟成開始時添加と流加とでは差が認められなかった。

4. パン酵母の品質に対するビタミン類添加効果

近年、製糖法の改良によりHB糖蜜の生産量が減少し、ケーン糖蜜を使用する割合が多くなった。本項では、流加糖蜜にケーン糖蜜を使用してパン酵母を培養した場合の収率と品質に対するビタミン類の添加効果を検討した。

供試したビタミン類を添加してパン酵母を培養し、無添加と比較した結果を表51に示した。ビタミン類添加により、maltose 醗酵力が向上し、食パンホイロ所要時間が短縮し、菓子パン性能の向上が認められた。

ビタミンを単独に添加しても、添加効果があるのかを知るため、供試したビタミンを単独に添加してパン酵母を培養した。その結果を表52に示した。個々のビタミンを単独に添加した場合は、パン酵母の収率や品質に対する効果は認められなかった。

パン酵母の収率や品質に対して有効なビタミンを特定することを目的とし、供試したビタミンのうち1種のビタミンを欠く培養を行った。その結果を表53に示した。供試したビ

表48 パン酵母の収率ならびに品質に対する thiamine の添加効果

		thiamine添加量 $\mu\text{g/g}$ seed yeast	
		0	160
収率	%	49.64	48.17
trehalose	%	8.66	8.80
M_8	mg	249	260
高糖生地	ml	462	502
食パン仲種 90 分	ml	1,736	1,699
" ホイロ	分	57.0	54.6
菓子パンホイロ	ml	353	369
" 比容積	-	5.0	5.2

表49 イーストクリームに thiamine を添加処理することによる
パン酵母の高糖生地醗酵力に対する thiamine の効果

thiamine 添加量 ($\mu\text{g/g}$ 生 yeast)	高糖生地 (ml)
0	420
25	440
50	445
100	470

表50 パン酵母の収率と品質に対するthiamineの添加時期ならびに添加方法の影響

thiamine添加量	μg/g Yeast	thiamine添加の時期・方法			
		始発時	熟成開始時		流加法
		150	150	200	200
収率	%	51.85	53.89	44.44	43.30
trehalose	%	10.2	10.2	9.14	9.31
M ₈	mg	248	256	236	239
invertase 活性	mg	-	-	178	140
娘細胞率	%	6.6	7.0	8.65	16.80
高糖生地	ml	561	540	378	415
食パン仲種 90 分	ml	1,825	1,875	310	293
" ホイロ	分	56.5	56.5	53.5	52.3
菓子パンホイロ	ml	398	375	435	435
" 比容積	-	5.5	5.3	5.44	5.48

表51 添加ビタミン類の効果

項目	単位	ビタミン類	
		無添加	添加
収率	%	54.41	54.95
threhalose	%	11.65	10.89
娘細胞率	%	2.06	6.56
M ₈	mg	178	205
invertase 性	ml	3.52	3.16
高糖生地	ml	395	420
食パン仲種 90 分	ml	1,850	1,850
" ホイロ	分	61	58
菓子パンホイロ	ml	355	380
" 比容積	-	4.59	4.80

表52 ビタミンの単独添加とパン酵母の収率ならびに品質

No.	単位	1	2	3	4	5	6	7	8
添加ビタミン	-	Pyr.	Nic.	Thi.	Cont.	Pan.	Bio.	Ino.	Cont.
収率	%	52.13	53.59	50.45	50.42	52.54	51.34	52.88	52.47
trehalose	%	12.76	13.49	11.87	11.17	15.15	15.36	14.71	15.09
娘細胞率	%	6.54	5.94	4.50	2.70	3.85	1.92	6.36	0.90
M _g	mg	181	173	211	182	186	195	188	187
invertase 活性	ml	3.78	3.76	3.73	3.63	3.57	3.67	3.70	3.60
高糖生地	ml	395	410	405	395	455	445	445	440
食パン仲種 90 分	ml	2,050	2,050	2,100	2,050	2,150	2,200	2,200	2,150
" ホイロ	分	61	59	61	59	63.5	63	63	63
菓子パンホイロ	ml	335	345	350	345	370	360	375	375
" 比容積	-	4.56	4.62	4.67	4.62	4.87	4.77	4.87	4.89

Pyr.:pyridoxine, Nic.:nicotinic acid, Thi.:thiamine, Pan.:pantothenic acid, Bio.:biotin, Ino.:inositol, Cont.:no addition

表53 ビタミン類のうち一種類のビタミンを欠いて添加した場合のパン酵母の収率ならびに品質

No.	単位	1	2	3	4	5	6	7	8
欠ビタミン	-	Bio.	Ino.	-	Nic.	Pan.	Pyr.	Thi.	-
収率	%	51.06	51.48	53.02	51.30	50.39	53.58	53.59	52.39
trehalose	%	12.66	13.15	12.32	11.83	13.75	14.19	13.20	12.32
娘細胞率	%	3.23	5.08	9.82	2.88	4.69	4.23	2.38	3.57
M _g	mg	197	190	204	210	209	179	206	213
invertase 活性	ml	3.30	3.04	3.31	3.32	3.56	4.09	3.95	3.52
高糖生地	ml	480	485	475	465	470	475	460	450
食パン仲種 90 分	ml	2,200	2,200	2,100	2,100	2,100	2,000	2,100	2,100
" ホイロ	分	67	65	67	65	62	68	63	61
菓子パンホイロ	ml	365	355	360	355	410	380	405	400
" 比容積	-	4.66	4.62	4.60	4.60	5.11	4.96	5.09	5.07

タミン類のうち pyridoxine を欠く場合に maltose 醱酵が低下し、食パンホイロ所要時間が長くなり、菓子パン性能の低下が認められた。その他のビタミン欠ではパン酵母の品質に差が認められなかった。

第4節 考察

本章では、原料によるパン酵母の収率および品質の改良を目的とし、炭素源、窒素およびリン酸源、ビタミン類がパン酵母の収率およびパン酵母に重要な trehalose 含量、耐糖性、食パン仲種の初期醗酵力ならびに食パンホイロ所要時間、菓子パンホイロの醗酵力あるいは菓子パン比容積に及ぼす影響を検討した。得られた結果から以下に考察を述べる。

1. 炭素源

(1) 糖蜜

パン酵母の製造原料はケーン糖蜜とビート糖蜜である。わが国のビート糖蜜には製糖法により、ステップエン法のHB糖蜜とイオン交換樹脂法のHA糖蜜があり、著者はこれら3種類の糖蜜について検討した。

1) 収率

ビート糖蜜は biotin が不足しているため、ビート糖蜜単独では比増殖速度が遅く収率が低いため流加糖蜜にはケーン糖蜜を 20 %以上混合しなければならない(表19)。ケーン糖蜜へのHB糖蜜の混合割合を増すにともない収率が向上した。しかし、HA糖蜜には収率向上の効果が認められなかった(表19)。ケーン糖蜜に対するHB糖蜜あるいはHA糖蜜の混合比の培養結果(表19)から資化窒素を計算した値を表54に示したが、ケーン糖蜜単独では 0.14 ~0.16% (対 FS) の窒素が糖蜜から資化され、ビート糖蜜の混合比の増加に伴い資化窒素の値は高くなった。HB糖蜜 75 %混合では資化窒素が 0.90 %まで増加した。HA糖蜜では混合比の増加による資化窒素の増加が少なかった。資化窒素の増加と収率の向上には比例関係が見られたことより、混合したHB糖蜜のアミノ酸が窒素源としてのみならず、炭素源としてもパン酵母に利用されたものと考えられる。HA糖蜜の場合、収率の向上が認められなかったのは、HA糖蜜中の主たる窒素成分は酵母に資化されない betaine である(表16)ため、HA糖蜜は収率の向上に寄与しないと考えられる。

また、ケーン糖蜜 20 %混合したHA糖蜜培地ではビタミン類と無機塩類の添加が収率の向上に効果があり(表21)、HA糖蜜にはパン酵母の増殖に必要なビタミン類と無機塩類が不足していると考えられる。

2) trehalose 含量

ケーン糖蜜にHA糖蜜を混合すると、パン酵母の trehalose の蓄積が低下し、HB糖蜜の混合では変化が認められなかった(表19)が、この理由は明らかでない。

表54 パン酵母に資化された糖蜜の窒素

No.	糖蜜の混合比率			資化—N (% on FS)
	ケーン糖蜜 (%)	HB糖蜜 (%)	HA糖蜜 (%)	
1	100	-	-	0.16
2	75	25	-	0.42
3	50	50	-	0.60
4	25	75	-	0.90
5	100	-	-	0.14
6	75	-	25	0.20
7	50	-	50	0.35
8	25	-	75	0.36

3) 耐糖性

ケーン糖蜜にHA糖蜜を混合してパン酵母を培養した場合、耐糖性が高くなる傾向が認められ、HB糖蜜の混合では低下する傾向が認められた(表19)が、流加糖蜜の糖蜜の混合比によってパン酵母の耐糖性が変化した原因は明らかでない。

4) 食パン仲種の初期醗酵力

ケーン糖蜜へのHA糖蜜の混合比率を高くすると、パン酵母の食パン仲種の初期醗酵力が低下し、HB糖蜜の混合では差が認められなかった(表19)ことは、HA糖蜜を混合すると maltoseの醗酵力を示す M_8 の値も低下したことから、HA糖蜜の混合によってパン酵母の maltoseの醗酵に何らかの変化が生じたものと考えられる。

5) 食パンホイロの所要時間

得られた結果にバラツキがある(表19, 22)が、供試した3種の糖蜜によってパン酵母の食パンホイロの所要時間に差は無いと考えられる。

6) 菓子パンホイロの醗酵力および比容積

ケーン糖蜜にHB糖蜜を混合する場合、HB糖蜜の混合比が高くなるにともない、培養して得られたパン酵母の菓子パンホイロの醗酵力は低下し、HA糖蜜を混合した場合は強くなり、HA糖蜜 25%混合の場合が最も強かった(表19)。HA糖蜜の混合によって菓子パンホイロの醗酵力が向上した理由は不明である。

ケーン糖蜜にHA糖蜜を混合した流加糖蜜を用いてパン酵母を培養すると、得られた酵母の耐糖性、菓子パンホイロの醗酵力が向上し、食パン仲種の初期醗酵力が低下する傾向が認められた。しかし、第5章第1節で述べるが、ケーン糖蜜にHA糖蜜を50%混合した流加糖蜜とケーン糖蜜の比較を詳細に行った結果では、食パン仲種の初期醗酵力が低下すること以外は再現しなかった。

(2) 粗糖

ケーン糖蜜はパン酵母の主原料としての糖に加え、パン酵母の生長物質を含む理想的な原料である。しかし、培養後の分離液のBOD成分が高く、着色が著しいという問題がある。パン酵母の培養を排水処理を含めたトータルで考えると、排水処理コストの安価な粗糖をパン酵母製造原料に使用することも考えることができる。本研究では、粗糖を主原料としたパン酵母の製造技術を確立することを目的として検討した。

1) 収率

粗糖にはパン酵母の生長物質が不足しており、ケーン糖蜜を最低 25 % 混合する必要がある、ケーン糖蜜を 25 % 混合してもなお娘細胞率が高い (図 6)。このことは、ケーン糖蜜を 25 % 混合しても生長物質が不足し、増殖速度が遅くなり、熟成不良を起こしたものと考える。その対策として、生長物質を添加する方法とパン酵母の比増殖速度に合った糖の量を流加する方法の 2 通りが考えられる。本研究では、生長物質を添加する方法について検討した。

収率あるいは比増殖速度をケーン糖蜜並もしくはそれ以上の成績を示した生長物質は肉エキス、カザミノ酸、ポリペプトンと CSF であった (図 7)。とくにカザミノ酸が顕著な効果を示し、最適添加量は 2.5~5.0g/cycle (3.3 ~6.7 % on FS) であると考えられる。カザミノ酸を構成している 17 種類のアミノ酸について検討し、17 種のアミノ酸から、glycine, aspartic acid, glutamic acid をそれぞれ欠いた場合に収率ならびに比増殖速度が低下した (表 29)。しかし、aspartic acid あるいは glutamic acid を単独に添加しても収率ならびに比増殖速度の向上に効果を示さなかった (表 30) ことから、添加した生長物質のアミノ酸の混合物がパン酵母の収率ならびに比増殖速度に対し向上効果を示したものと考える。さらに収率の向上のためにはマグネシウムの添加が効果を示した (表 25) ことから、無機塩の添加が必要であると考えられる。

2) trehalose あるいは耐糖性

粗糖を炭素源とした場合も、糖液を間欠流加することと NaCl を添加することが trehalose ならびに耐糖性向上に効果を示し (図 8)、最適の NaCl 濃度は 1.0% (浸透圧 10atm) であった (図 9)。trehalose と耐糖性との関係は、加藤⁴²⁾ は trehalose 含量と 25 % 糖生地との相関を認め、堀⁴³⁾ は耐糖性のある酵母は炭水化物、trehalose がかなり多量含むことを報告していることから、NaCl 添加による耐糖性向上効果の一つとして、trehalose の蓄積による酵母の耐浸透圧性獲得の結果によるものと考えている。NaCl 2.0% 添加で trehalose の蓄積が低下した原因は熟成が不良のためと考えられる。しかし、NaCl 2.0% 添加で耐糖性の低下が認められなかったのは trehalose の蓄積以外の理由によるものと考えられる。

ケーン糖蜜を 25 % 混合した粗糖を原料とし、これにカザミノ酸、ビタミン混液、マグネシウム、NaCl を添加した最良条件で培養したパン酵母は、ケーン糖蜜を原料としたパン酵母より高い耐糖性を示した (表 31) ことは、添加した NaCl により、培地浸透圧がケーン糖蜜培地より高くなった効果であると考えられる。これらの結果から、粗糖を炭素源とする

場合、NaClの添加量は 1.0%，すなわち浸透圧 10atmが最適であると考えられる。

3) 食パンホイロの所要時間

粗糖を原料とする場合、最良条件で培養したパン酵母でも、ケーン糖蜜で培養したパン酵母に比べ、食パンホイロの所要時間が長かった（表31）が、その理由は明らかではなく、これを短縮する方法の検討が必要であると考えられる。

4) 菓子パン比容積

粗糖を原料とし、最良条件で培養したパン酵母はケーン糖蜜で培養したパン酵母より菓子パン比容積が高かった（表31）ことは、耐糖性と同じく、添加した NaCl の効果であると考えられる。

5) 酵母分離液の色相と BOD負荷

ケーン糖蜜を 25 %混合した粗糖培地を用い、最良条件で培養したパン酵母の分離液の色相はケーン糖蜜で培養したときの約 1/3に、BOD 負荷は約 1/2に軽減され（表31），粗糖を原料とするパン酵母の製造の排水処理での優位性を見出すことができた。

(3) ethanol

ethanol は醗酵の一生産物として得られるが、1960年代には石油化学工業の産物として得られるようになり、価格も低下してきている。本研究では、パン酵母の製造原料として ethanol を使用することを目的として、菌株のスクリーニングならびに培養条件の検討を行った。

1) 収量あるいは収率

ethanol を流加糖量の 0, 20, 40, 60%混合した4種類の流加糖液について試験したところ、ethanol の使用量が多くなると収率が低下した（表32）ことから、ethanol の使用限度は流加糖量の 60 %であると考えられる。ethanol を混合した培地にコーンスチープリカーあるいはイーストエキスを FS 当たり 40 ~50%と大量に添加すると収量が高かった（表33）が、これら添加物は生長物質として効果を示したのではなく、炭素源として取り込まれたためであると考えられる。

酵母の増殖が阻害を受けるといわれている ethanol 1.6%を含む糖蜜培地を用い、振盪フラスコ培養により当社保存のパン酵母 67 菌株を培養し、6 菌株を選択し（表34），さらに、培養の初期にケーン糖蜜を流加し、必要な生長物質を十分にパン酵母に取り込ませた後、培養の後半所定量の ethanolを流加する方法で培養し、収率が高かった無糖系菌株

E-1 と耐糖性菌株 57 を選出した (表35)。この培養の結果, ethanol を炭素源とし得る能力は菌株間に差は認められず, また ethanol の使用割合を変えても, 対 ethanol 収率に差がなく, 約 40 %であった (表36)。ethanol からのパン酵母の理論収率は約 50 %であるからこの実験の収率は概ね妥当であると考えられる。

培養の経過を示す指標の一つとして, 窒素源の使用比に着目すると, 両菌株とも ethanol の使用割合が増加するにともない, 指数増殖期の NH_4OH の使用量が減少し, 熟成期の NaOH の消費量が増加した (表37) ことは, ethanol の消費速度が糖に較べると遅く, 指数増殖期に ethanol が設計通りに消費されずに残り, 熟成期に入って残存する ethanol を消費していると考えられる。ethanol を炭素源とする場合は, 消費速度に合った ethanol の供給が必要であると考えられる。

2) 耐糖性

ethanol を炭素源としたパン酵母はケーン糖蜜で培養したパン酵母と較べ, 耐糖性は変わらず (表36), 良好な耐糖性を示した。

3) 食パン仲種の初期醗酵とホイロ所要時間

ethanol を炭素源としたパン酵母はケーン糖蜜で培養したパン酵母と較べ, 食パン仲種の初期醗酵が遅れ, ホイロの所要時間が短くなった (表36)。この結果は第3章第5節で述べる糖蜜を間欠流加した場合と同じ現象であり, 培養時に ethanol が存在するとパン酵母の生地醗酵に影響を与えるものと考えらる。ethanol を炭素源としたときの食パン仲種の初期醗酵力の低下を防ぐ方法の検討が必要であると考えられる。

2. 窒素及び磷酸源

窒素源と磷酸源がパン酵母の収率や醗酵性能に及ぼす影響について、窒素源は種類と添加方法、磷酸源は添加量と添加方法を検討した。

(1) 窒素源

1) 収率

窒素源として NH_4OH , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urea の 3 種を比較すると、流加糖蜜にケーン糖蜜を使用した場合、 NH_4OH が最も高く、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が低かった (表38)。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を使用すると収率が低下した理由は、培養中に遊離する SO_4^{--} を NaOH で中和することによって塩濃度が上昇し、培地浸透圧が高くなったためであると考えられる。ビート糖蜜にケーン糖蜜を 20 % 混合した糖蜜を流加糖蜜とした場合、urea を使用すると比増殖速度と収率が大きく低下し、biotin を $3.33 \mu\text{g/g}$ seed yeast 添加することにより比増殖速度と収率が回復した (表45) ことから、ビート糖蜜の混合比が高い糖蜜を流加し、窒素源に urea を使用する場合 biotin の添加が必須であった。窒素の添加方法の違いによる収率の差は認められなかった (表40, 41)。

2) 耐糖性

窒素源に NH_4OH を用いると、urea や $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用いたよりも耐糖性が低く、urea と $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ とでは $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の方がやや耐糖性が高かった (表38) が、urea の場合 NaCl を添加して培地浸透圧を高くしてパン酵母を培養すると $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を使用した場合と耐糖性に差が認められなくなった (表39)。これらの結果から、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を使用すると NH_3^+ が消費され、培地中に遊離する SO_4^{--} を NaOH で中和することによって培地塩濃度が増加し、培地浸透圧が上昇するため耐糖性が向上したものと考えられる。すなわち、耐糖性に対する窒素源の違いは、中和で生成する塩により培養時の浸透圧に差が生じるためであると考えられる。一方、窒素源の添加方法の違いによって耐糖性に差は認められなかった (表40, 41)。

3) 食パン中種の初期醗酵力

窒素源の種類や窒素源の添加方法の違いによって、パン酵母の食パン中種の初期醗酵力に差は認められなかった (表38, 39, 40, 41)。

4) 食パンホイロの所要時間

窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と NH_4OH を用いた培養のパン酵母の方が、urea を用いたより食パン

ホイロ所要時間が短かった（表38, 39）が、その理由は不明である。窒素源の添加方法の違いによる食パンホイロの所要時間に差は認められなかった（表40, 41）。

5) 菓子パンホイロの醗酵力あるいは比容積

窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を用いて培養したパン酵母の菓子パンホイロの醗酵力が最も強く、次いで urea, NH_4OH の順になり（表38）、ureaを窒素源とした場合、培地に NaCl を添加すると $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ との差が認められなくなった（表39）ことから、耐糖性と同じく培地浸透圧の効果と考えている。窒素源の添加方法は菓子パンホイロの醗酵力に影響を及ぼさなかった（表40, 41）ことから、窒素源は所定量を培養始発時に一度に添加しても、また流加してもパン酵母の収率や醗酵性能に影響を与えないと考えられる。

(2) 磷酸源

1) 収率

パン酵母菌体の磷酸含量 (P_2O_5 として) 2.8 %未満では磷酸含量の増加とともに収率が上昇し、2.8 %以上ではほぼ横這いとなった（図10）。磷酸を流加すると収率が大きく減少した（表44）ことから、パン酵母の良好な増殖を行わせるためには増殖中に菌体の磷酸レベルを高く維持する必要がある、所定量の磷酸を培養初期に添加する必要があると考えられる。

2) 耐糖性

パン酵母の磷酸含量と耐糖性の検討結果では、 P_2O_5 として 2.4%以下で高く、3.0 %まで緩やかに低下し、3.0 %を超えるとさらに低下した（図10, 表42）ことから、耐糖性はパン酵母の磷酸含量によって変化し、耐糖性の高いパン酵母を得るためにはパン酵母の P_2O_5 含量を 3.0%以下とし、とくに高い耐糖性のパン酵母を得るためには 2.4%に管理する必要があると考えられる。磷酸を流加すると耐糖性が大きく低下した（表44）ことは、収率が低下したことによるものであると考えられる。

3) 食パン仲種の初期醗酵力

パン酵母の磷酸含量と食パン仲種の初期醗酵力との検討結果（表42, 43）はバラツキがあつて関係を見出せなかった。磷酸の添加方法では培養始発時添加が食パン仲種の初期醗酵力が強く、流加すると弱く（表44, 図11）、また maltoseの醗酵力を示す M_0 も流加すると低かった（表44）ことから、磷酸を流加するとパン酵母の酵素系の生成が遅れ、収率が低くなったことが食パン仲種の初期醗酵力が弱かった原因であると考えられる。

4) 食パンホイロの所要時間

パン酵母のリン酸含量と食パンホイロの所要時間との検討結果(表42, 43)はバラツキがあるため関係を見出せなかった。リン酸は培養始発時に添加した方が流加したより良かったが、リン酸を流加すると収率の低下が起こり、結果として食パンホイロの所要時間が長くなったものと考えられる。

5) 菓子パンホイロの醗酵力あるいは比容積

パン酵母のリン酸含量と菓子パンホイロの醗酵力との検討結果では、 P_2O_5 として2.5と3.0%の場合を比較すると、 P_2O_5 含量2.5%のパン酵母は菓子パンホイロの醗酵力あるいは比容積が高かった(表42, 43)ことから、菓子パン性能の良好なパン酵母を製造するためには P_2O_5 含量2.5%とすることが最適であると考えられる。リン酸を培養始発時に添加して培養したパン酵母の方が、流加したものより菓子パンホイロの醗酵力が強かった(表44)が、リン酸を流加したことによる収率の低下によるものと考えられる。

3. ビタミン類

本研究では、biotin, Ca-pantothenate, thiamine と混合ビタミン類(pyridoxine, nicotinic acid, thiamine, Ca-pantothenate, biotin, inositol)の糖蜜培地での添加効果を検討した。

1) 収率

ビート糖蜜にケーン糖蜜20%混合した流加糖蜜において、窒素源に $(NH_4)_2SO_4-NH_4OH$ 系を用いた場合、収率に対するbiotinの添加効果が認められず、ureaを使用した場合に向上効果を示した(表45)ことから、 $(NH_4)_2SO_4-NH_4OH$ を窒素源とする場合、20%混合したケーン糖蜜に由来するbiotin量が十分であると考えられる。biotinはビート糖蜜の比率が多い糖蜜を流加し、窒素源にureaを使用した場合に必須であり、その添加量は最低 $3.3\mu g/g$ seed yeastであると考えられ、これまでの報告¹⁶⁾と同様な結果であった。Ca-pantothenateは添加効果が認められず(表47)、糖蜜から十分供給されていると考えられる。thiamineは添加量 $50\mu g/g$ produced yeastまで急激に収率が低下した(図12)ことは、thiamineは解糖系酵素の補酵素であるから、thiamineにより解糖反応が加速されるためにthiamineの添加により収率が影響を受けたものと考えられる。thiamineの添加時期と収率の関係は培養始発時添加が最も低く、次いで流加法、熟成開始時添加の順に上昇した(表50)ことも、thiamineの解糖反応を加速する働きによるものと考えられる。ケ

ーン糖蜜培地において、混合ビタミン類の収率に対する効果は認められなかった（表51）ことから、ケーン糖蜜にはパン酵母の増殖に必要なビタミン類は十分含まれているものと考えられる。

2) 耐糖性

ビート糖蜜にケーン糖蜜を混合した流加糖蜜を用い、窒素源に urea を使用した場合、パン酵母の収率が低く、耐糖性が低下した（表45）ことから、窒素源に urea を使用するとパン酵母の biotin 要求性が増し、流加糖蜜中の biotin が不足するため、収率が低下し、耐糖性も低下したものと考えられる。一方、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ を窒素源とするとき、あるいは流加糖蜜にケーン糖蜜を用いる場合、収率ならびに耐糖性に対する biotin の添加効果は認められなかった（表45, 46, 52）。これらの結果から、窒素源を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ とした場合は酵母の biotin 要求性が低く、ケーン糖蜜には biotin が十分存在するためであると考えられる。したがって、耐糖性のあるパン酵母とするためには正常な増殖が行われ、収率が確保される必要があると考えられる。Ca-pantothenate の耐糖性に対する効果は認められなかった（表47, 52）ことから、糖蜜中の Ca-pantothenate 量で十分であると考えられる。Co-enzyme A は pantothenic acid を構成因子とし、パン酵母の Co-enzyme A の含量と耐糖性との間に負の相関が認められているが、⁴⁴⁾ 添加した Ca-pantothenate は耐糖性に対し影響を示さなかったことから、パン酵母の Co-enzyme A の含量と耐糖性との関係は添加した Ca-pantothenate 量で説明できず、単純なものではないと考えられる。培養での thiamine 添加によりパン酵母の耐糖性が大きく向上し（図12, 表48）、また培養を終了したパン酵母を thiamine で処理しても耐糖性が向上した（表49）ことから、酵母菌体に取り込まれた thiamine によりパン酵母の嫌氣的醗酵が促進されたためであると考えられる。thiamine の添加時期あるいは添加方法は所定量の thiamine を培養始発時に添加する、または流加糖蜜と混合添加する方法が良く、熟成時に添加すると thiamine の耐糖性に対する効果が低下した（表50）ことから、酵母菌体への thiamine の取り込み時期によって耐糖性に差が認められたことは thiamine の酵母菌体中での遊離型と結合型の比によるものではないかと考えられるが未検討である。

3) 食パン仲種の初期醗酵力

biotin, Ca-pantothenate, thiamine, ビタミンの単独添加による食パン仲種の初期醗酵力に対する効果は認められず、複数のビタミンの存在が必要であり、添加混合ビタミン類のうち pyridoxine を欠くと maltose の醗酵が低下した（表53）。pyridoxine の効果に

については、本項の菓子パンホイロの醗酵力のところでまとめて考察する。

4) 食パンホイロの所要時間

食パンホイロの所要時間に対して biotin, Ca-pantothenate の添加効果は認められず (表52), thiamine 単独添加は効果が認められる場合 (表48) と認められない場合 (表52) とがあり、また thiamine 欠の結果 (表53) から、食パンホイロ所要時間に対する thiamine の効果は明らかでない。添加混合ビタミン類のうち pyridoxine を欠くと食パンホイロの所要時間が長くなった (表53)。pyridoxine の効果については、本項の菓子パンホイロの醗酵力のところで考察する。

5) 菓子パンホイロの醗酵力あるいは比容積

thiamine 添加が菓子パンホイロの醗酵力向上に顕著な効果を示し (表48), 添加時期は始発時添加が最も高い効果を示した (表50) ことは、thiamine は解糖酵素 pyruvate decarboxylase の補酵素であるから、thiamine を添加するとパン酵母の醗酵性能を向上するものと理解される。pyridoxine 欠で菓子パンホイロの醗酵力の低下が認められ (表53), pyridoxine は maltose の醗酵, 食パン仲種の醗酵ならびにホイロ所要時間, 菓子パンホイロの醗酵とパン酵母の主要な製パン性能に関与していることが判明した。pyridoxine はアミノ酸代謝 (アミノ基転移, 脱炭酸, ラセミ化など) をあずかる酵素類の補酵素として重要な役割を果していると考えられている⁴⁵⁾ ことから、pyridoxine 添加によりパン酵母の糖代謝に関与する酵素系の合成のためのアミノ酸の供給が加速され、解糖系酵素の生成が促進されたのではないかと考えられる。

第5節 要約

本章では原料によるパン酵母の収率ならびに品質の改良を目的として、炭素源、窒素およびリン酸源、ビタミン類のパン酵母の収率ならびに品質に及ぼす影響を検討した。

1. 炭素源

炭素源については、糖蜜、粗糖、ethanol を検討した。

(1) 糖蜜

炭素源として、ケーン糖蜜、ビート糖蜜（HB糖蜜、HA糖蜜）の3種類を検討した結果、ケーン糖蜜単独よりケーン糖蜜にHB糖蜜を混合した方が収率が高かった。HA糖蜜には収率を高める効果はなかった。trehalose の蓄積はケーン糖蜜にHA糖蜜を混合すると低下し、HB糖蜜の混合で変わらなかった。maltose の醗酵能と食パン仲種の初期醗酵力はHA糖蜜を混合すると低下した。食パンホイロの所要時間、菓子パンホイロの醗酵はHB糖蜜を混合すると低下し、HA糖蜜を混合すると向上した。菓子パン比容積は糖蜜の混合によって変わらなかった。ケーン糖蜜、HB糖蜜、HA糖蜜の3種類の糖蜜を混合した場合、混合比 20:60:20 が収率ならびに品質が良好であった。

(2) 粗糖

パン酵母の培養を排水処理まで含めたトータルで考え、排水処理コストの安価な粗糖を原料とするパン酵母の製造を検討した結果、粗糖に FS 基準で 25 %のケーン糖蜜を混合し、これにカザミノ酸、ビタミン混液、マグネシウム、NaClを添加して培養すると、ケーン糖蜜並の収率ならびに醗酵力のパン酵母を得たが、食パンホイロの所要時間が長かった。カザミノ酸の収率向上効果を検討し、glycine, glutamic acid, aspartic acid をそれぞれ欠く場合に収率の低下が認められた。アミノ酸の単独添加では効果が認められず、アミノ酸類の添加が効果を示すものとする。一方、パン酵母の分離液はケーン糖蜜培地と比べ、色相が 1/3に、BOD 負荷が 1/2以下になった。

(3) ethanol

ethanol を炭素源とするパン酵母の培養において、ethanol の使用割合が 60 %で収率が著しく低下した。生長物質を添加する方法は添加量が多く実用的でなかった。ethanol を 1.6%を含む培地で菌株のスクリーニングを行い、無糖系菌株 E-1と耐糖系菌株 57 を選択した。ethanol の使用割合を 40 ~60%とし、培養の前半ケーン糖蜜を流加し、後半所定量の ethanolを流加する方法により、対 ethanol収率約 40 %でパン酵母を得ることができた。ethanol で培養したパン酵母は糖蜜で培養したパン酵母と比べ、耐糖性は変わ

らなかったが、食パン仲種の初期醗酵力が低下し、食パンホイロの所要時間の短縮が認められた。

2. 窒素および磷酸源

窒素源については種類と添加方法、磷酸源については添加量と添加時期を検討した。

(1) 窒素源

窒素源は urea , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4OH の3種類を比較した結果、収率は NH_4OH が最も高く、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が低かった。耐糖性や菓子パン性能は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が高かった。食パン性能には窒素源の違いによる差が認められなかった。窒素源の添加方法の違いによるパン酵母の収率や醗酵性能に差が認められなかった。

(2) 磷酸源

磷酸を培養始発時にパン酵母の P_2O_5 含量が 2.5~3.0 % の範囲内になるように添加して培養すると、収率が高く、食パンならびに菓子パン性能が良いパン酵母を得ることができた。磷酸を流加すると収率が低く、製パン性能も劣った。

3. ビタミン類

ケーン糖蜜を 20 % 混合した HB 糖蜜を流加糖蜜とし、窒素源に urea を使用する場合、収率を確保するためには biotin の添加が必須であった。thiamine を添加すると収率が低下するが、製パン性能の向上が認められ、パン酵母の品質の維持向上のためには thiamine の添加が必須であった。thiamine を培養始発時に添加すると thiamine の品質向上への効果が最も強く現れるが、収率の低下が大きい。thiamine を流加糖蜜と混合して流加する方法は収率の低下を抑え、thiamine の効果が現れる添加方法であった。ケーン糖蜜培地ではビタミンの単独添加は効果が認められなかったが、複数のビタミンが存在するとパン酵母の品質に対する効果が認められ、とくに pyridoxine 欠で maltose の醗酵、食パンホイロの所要時間、菓子パンホイロの醗酵ならびに菓子パン比容積の低下が認められた。

以上、パン酵母の培養における炭素源、窒素源、磷酸源、ビタミン類の検討結果から、炭素源にケーン糖蜜を用い、窒素源として $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と NH_4OH を組み合わせて用い、パン酵母の P_2O_5 含量が 2.5~3.0 % になるように磷酸源を培養始発時に添加し、ビタミン類とくに thiamine ならびに pyridoxine を添加して培養することによって、品質の優れたパン酵母を収率良く製造することが可能であると考えられる。

第3章 培養条件によるパン酵母の収率および品質の改良

本章では、培養条件によるパン酵母の収率および品質の改良を目的とし、種菌の培養条件、製品培養の温度、培養pH、溶存酸素濃度、糖蜜流加法、培地浸透圧とパン酵母の収率・製パン性能との関係を検討した。

第1節 種菌の培養条件

種酵母の調製とは、製品培養に使われる種酵母を培養する工程である。種酵母は製品培養において良好な収率と比増殖速度ならびに製品品質を与えるものでなければならない。

本節では、種酵母としての能力を知るために、酵母の増殖ステージの違い、種培養の温度ならびに種酵母の成分、種菌クリームの貯蔵期間が製品培養での収率、比増殖速度や製品の醗酵性能に及ぼす影響を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母菌株

培養：10ℓ容ジャーを使用し、培養時間 13 時間、設計比増殖速度 0.250hr^{-1} とした。

比増殖速度は培養 0 と 9 時間目の酵母量より求めた。

RNA の定量は Schmidt・Thannhauser の方法⁴⁶⁾ によった。

試薬の調製：

- i) trichloroacetic acid 溶液：5, 7 と 10%
- ii) alcohol・ether 混合液：alcohol 75容と ether 25 容を混合
- iii) methanol・chloroform 混合液：methanol と chloroform 等容を混合
- iv) N-KOH
- v) 6N-HCl

測定手順：生酵母 5g に冷却した 7% trichloroacetic acid 溶液 100ml 加え、20分間攪拌して 2,000~3,000rpm で遠心分離、上澄液を捨て、酵母菌体を 10% trichloroacetic acid 溶液で洗浄を 3~4 回繰り返す。残渣を純水で洗浄し、弱酸性を示すまで繰り返す。残渣に alcohol・ether 混合液を 150~200 ml 加え、70~80℃の湯浴中で数分間煮沸する。ろ紙でろ過後、残渣を ether で洗浄、乾燥する。粉碎後、ソックスレー脂肪抽出器を用い、受器に methanol・chloroform 混合液を入れ煮沸し、30分還流抽出する。ろ過残渣を ether で洗浄する。残渣を乾燥し、乾燥残渣に N-KOH 50 ml を加え、

37°C 15 時間放置し溶解液を作る。溶解液 10 ml を採取し、6N-HCl 2 ml, 5% trichloroacetic acid 溶液 10 ml を加え混合ろ過し、上澄液 10 ml の磷酸を定量する。得られた P の乾物パーセントに 1.06 を乗じ RNA-(P) とする。

実験結果

培養ステージ別の酵母の種酵母としての能力を比較するため、前培養酵母、製品培養の指数期ならびに熟成酵母を種として製品培養し、収率と比増殖速度ならびに得られた酵母の耐糖性を調べた結果を表55に示した。収率は製品培養指数期酵母を種とした培養が高かった。比増殖速度と耐糖性は種酵母の培養ステージが進むにともない低下する傾向が認められ、熟成酵母を種とした培養が最も劣った。

種菌クリーム酵母と製品培養の指数期酵母を種として製品培養し、収率と得られたパン酵母の生地試験（無糖生地、高糖生地）ならびに食パン試験の成績を比較した結果を表56に示した。種菌クリーム酵母を用いると耐糖性が高かった。食パンホイロの所要時間と比容積は種酵母の培養ステージの違いによる差は認められなかった。

種菌クリーム酵母の製造方法によって、製品培養での収率ならびに製品酵母の品質をさらに高めることができるかを知るために、ジャーで培養した酵母を種酵母として製品培養し、収率と生地試験ならびに製パン試験（食パンならびに菓子パン）の成績を種菌クリームを種とした培養と比較した結果を表57に示した。ジャーで培養した酵母を種とすると種菌クリームと較べ、製品培養での比増殖速度が速く、無糖生地Ⅱ、高糖生地、菓子パンホイロならびに比容積が高かった。種菌クリームを種として培養すると、食パン仲種の初期酸酵が高く、食パンホイロの所要時間が短かった。

種の培養温度が製品培養での比増殖速度に影響するかを知るため、種培養を温度 27 と 30 °C で行い、得られた酵母を種として製品培養し、製品培養における指数期の比増殖速度を比較した結果を表58に示した。種培養の温度の違いによって、製品培養の比増殖速度は差が認められなかった。

種酵母の成分と製品培養の比増殖速度との関係を知るため、種酵母の成分として P_2O_5 と RNA 量に着目し、⁴⁷⁾ 種培養での P_2O_5 添加量を変えて、種酵母の P_2O_5 と RNA と製品培養の指数期の比増殖速度との関係を検討した結果を表59に示した。種酵母の P_2O_5 と RNA 含量の違いによって、製品培養の比増殖速度は変わらなかった。

貯蔵中の種菌の変化が製品培養に及ぼす影響を知るため、種菌の貯蔵日数による変化と

表55 各増殖ステージの酵母を種とした製品培養の

収率, 比増殖速度ならびに耐糖性

項目	単位	増殖ステージ		
		前培養酵母	指数期酵母	製品培養 熟成酵母
収率	%	47.42	51.71	47.26
比増殖速度	hr ⁻¹	0.222	0.222	0.210
高糖生地	ml	454	431	401

表56 種菌の違いによる種酵母としての能力比較

項目	単位	種酵母	
		種菌クリーム	製品培養指数期酵母
収率	%	48.65	50.16
無糖生地 I	ml	303	309
" II	ml	403	404
高糖生地	ml	463	448
食パン仲種 90 分	ml	1,505	1,575
" ホイロ	分	48.5	48.8
" 比容積	—	5.38	5.35

表57 種酵母の調製法の違いが製品培養における
収率と比増殖速度並びに製品品質への影響

項目	単位	種酵母の調製法	
		種菌クリーム	ジャーで培養調製
収率	%	51.68	52.62
比増殖速度	hr ⁻¹	0.163	0.168
無糖生地 I	ml	295	293
" II	ml	413	421
高糖生地	ml	499	526
食パン仲種 90 分	ml	1,593	1,513
" ホイロ	分	52.8	54.0
菓子パンホイロ	ml	333	345
" 比容積	—	5.1	5.3

表58 種培養温度と製品培養比増殖速度

種の培養温度	比増殖速度
℃	hr ⁻¹
27	0.215
30	0.215

表59 種酵母の成分と製品培養比増殖速度との関係

種酵母の成分		製品培養
P ₂ O ₅	RNA	比増殖速度
%	%	hr ⁻¹
2.88	7.21	0.214
3.29	8.12	0.215

表60 種菌の貯蔵期間がパン酵母の製品培養での増殖速度と耐糖性に及ぼす影響

種菌の貯蔵日数	娘細胞率	比増殖速度	高糖生地
日	%	hr ⁻¹	ml
種培養終了	24.0	—	—
3	21.3	0.251	493
4	20.0	0.255	510
5	18.6	0.241	503
6	14.5	0.245	448

して娘細胞率を測定するとともに、各貯蔵日数の種菌を種酵母として製品培養し、指数期の比増殖速度と製品の耐糖性を調べた結果を表60に示した。貯蔵中に種菌の娘細胞率が減少した。そして種菌の貯蔵日数の経過とともに製品培養の比増殖速度と耐糖性が低下する傾向が認められた。

第2節 培養温度

White³⁹⁾の各温度におけるパン酵母の世代交代時間の値を比増殖速度に計算しなおすと、20℃で 0.139hr^{-1} 、24.5℃で 0.231hr^{-1} 、30℃で 0.315hr^{-1} 、36℃で 0.330hr^{-1} 、40℃で 0.173hr^{-1} 、43℃で 0.087hr^{-1} という値となる。ただし、最高収率を得るための最適温度は必ずしも最大の比増殖速度とする温度とは一致せず、Eroshinら⁴⁸⁾は28.5℃であるとしている。

パン酵母の培養温度は収率のみならず品質を考えて決定しなければならない。そこで、実用上の最適培養温度を決定することを目的にして、指数増殖期の温度と比増殖速度との関係、熟成期の温度とパン酵母の醗酵性能を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：指数増殖期の温度の検討は10ℓ容ジャーを用い、設計比増殖速度 0.220hr^{-1} で行った。熟成期の温度については2ℓ容ミニジャーを用い、指数期の温度30℃、設計比増殖速度 0.180hr^{-1} 、培養時間12.5時間で行った。

実験結果

指数増殖期の培養温度とパン酵母の比増殖速度との関係を知るため、培養温度を27、30、33と35℃として培養した結果を表61に示した。培養温度を高めると酵母の比増殖速度が速くなり、27℃のとき比増殖速度 0.189hr^{-1} 、35℃で 0.205hr^{-1} であった。

熟成期において培養終了までの3.5時間の培養温度を30、33、35、37℃として培養した結果を表62に、得られたパン酵母の無糖生地醗酵のチモタキグラフを図13に示した。熟成期の温度30℃ではmaltoseの醗酵、 F_{40} 、無糖生地の醗酵、無糖生地チモタキグラフの初期醗酵が良く、収率、trehalose含量、 F_{10} が低かった。33ないし35℃の熟成温度では低糖生地の醗酵、耐糖性が良かった。37℃は収率、trehaloseの蓄積が高く、娘細胞率が低かったが、maltoseの醗酵、 F_{40} 、無糖生地醗酵、低糖生地醗酵、耐糖性、無糖生地のチモタキグラフの初期醗酵、食パン性能、菓子パン性能が低かった。

熟成期の温度30と33℃について培養した結果を表63、無糖生地醗酵のチモタキグラフを図14に示した。熟成温度30℃はmaltoseの醗酵、無糖生地チモタキグラフの初期醗酵、食パン仲種の初期醗酵、菓子パン比容積が高かった。33℃はtrehalose含量が高く、食パンホイロの所要時間が短かった。

表61 指数期の培養温度と酵母の比増殖速度

培養温度 (°C)	比増殖速度 (hr ⁻¹)
27	0.189
30	0.196
33	0.203
35	0.205

表62 熟成温度とパン酵母の収率ならびに品質

	単位	熟成温度 °C			
		30	33	35	37
収率	%	49.36	49.55	51.52	51.82
N	%	7.88	7.72	7.85	7.53
P ₂ O ₅	%	3.74	3.68	3.82	3.75
全炭水化物	%	35.01	33.02	34.66	33.70
trehalose	%	10.99	11.68	11.94	12.81
M ₈	mg	244	222	227	211
F ₁₀	mg	409	440	436	439
F ₄₀	mg	353	346	348	340
invertase 活性	ml	4.45	4.51	4.44	4.38
娘細胞率	%	3.80	4.90	3.66	2.98
無糖生地 I	ml	435	415	420	410
" II	ml	460	450	450	450
低糖生地 I	ml	455	465	470	445
" II	ml	470	480	480	460
" III	ml	480	490	490	485
高糖生地	ml	400	415	410	390
食パン仲種 90 分	ml	290	295	290	285
" ホイロ	分	47.5	48.5	47.0	52.0
" 比容積	-	5.87	5.95	5.92	5.88
菓子パン仲種 45 分	ml	280	280	270	275
" ホイロ	ml	510	520	510	505
" 比容積	-	5.55	5.60	5.46	5.38

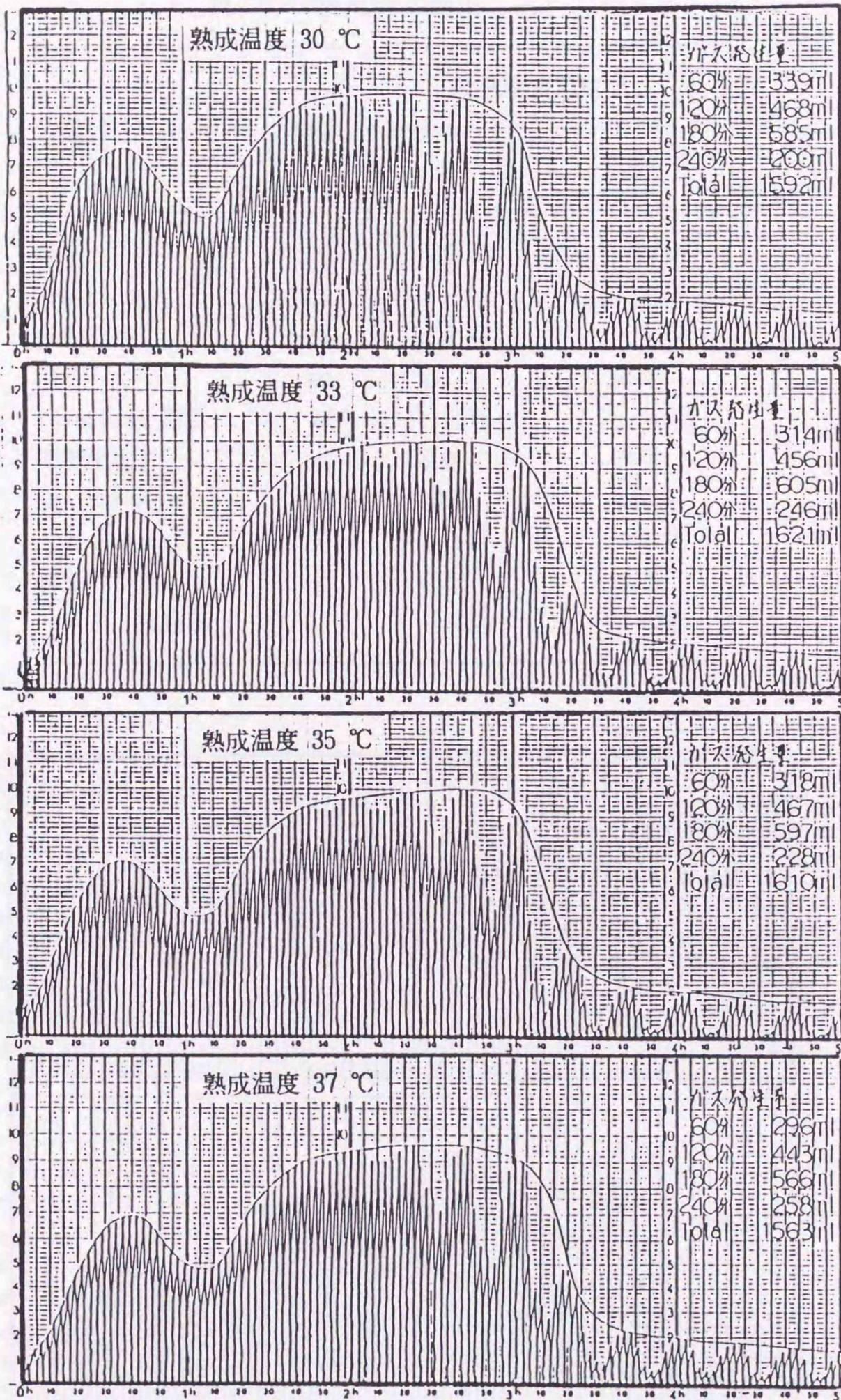


図13 熟成温度とパン酵母の無糖生地醗酵チモタキグラフ

表63 パン酵母の収率ならびに品質に及ぼす
熟成期の培養温度の関係

項目	単位	熟成期の温度 °C	
		30	33
収率	%	44.20	44.00
trehalose	%	9.83	10.09
娘細胞率	%	4.26	4.88
M8	mg	247	220
invertase 活性	ml	5.76	5.19
高糖生地	ml	350	350
食パン仲種 60 分	ml	260	245
" ホイロ	分	46.0	45.0
菓子パンホイロ	ml	450	450
" 比容積	—	5.54	5.46

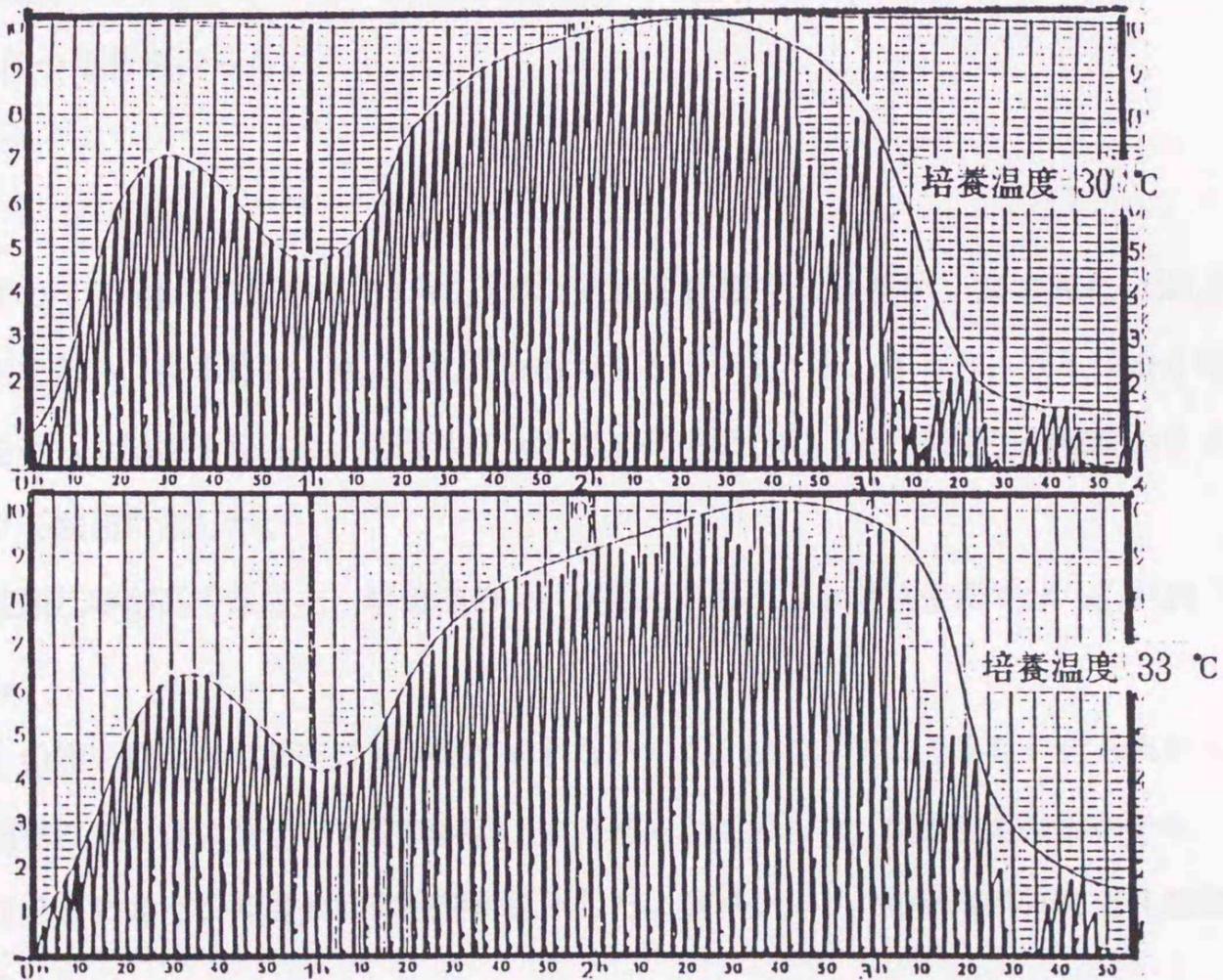


図14 培養温度とパン酵母の無糖生地醗酵チモタキグラフ

第3節 培養 pH

パン酵母は pH 3.6 ~ 6.0 の間で生育するが、最適範囲は 4.0 ~ 5.0 の間である。Broshin ら⁴⁸⁾ は *Sacch. cerevisiae* (必ずしもパン酵母ではない) を用いた連続培養において、pH 4.1の時が最高収率であることを見出した。しかし、培養 pH とパン酵母の収率ならびに品質との関係は未だ明らかでない。

本研究では、窒素源の種類を使い分けによって培養 pH を変えた場合と酸あるいはアルカリを用いて培養 pH を変えた場合のパン酵母の収率ならびに品質との関係を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：2 ℓ 容ミニジャーを用いた。流加糖蜜はHB糖蜜を 20 % 混合したケーン糖蜜を用いた。供試した窒素源は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -urea と $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - NH_4OH の 2 通りである。窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -urea を用いる場合、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: urea = 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9, 0 : 10 の 4 種の窒素比として添加し、pH の調節を行わずに培養した。窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - NH_4OH を用いる場合、NaOH を用い urea を使用したときの pH の経時変化と同じにする培養と pH 5.0 に保つ培養を行った。

実験結果

培養 pH がパン酵母の収率ならびに品質に対する影響を知るため、窒素源に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -urea を用い、窒素比で $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: urea = 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9, 0 : 10 の 4 種類の培養を行った結果を表64に、培養中の pH の変化を図15に、また無糖生地醱酵のチモタキグラフを図16に示した。

urea の使用比率が高くなると、培養液の pH が高くなり、urea 単独使用では pH が約 7.0 に達した。

培養 pH の違いによって収率に差が認められなかった。pH の上昇にともない得られたパン酵母の耐糖性ならびに菓子パン性能が向上する傾向が認められ、無糖生地醱酵のチモタキグラフならびに食パン仲種の初期醱酵が低下した。食パンホイロの所要時間に変化は認められなかった。

確認のため $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -urea を窒素源とし、窒素源比 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: urea = 3 : 7 と 0 : 10 について培養した結果を表65に、無糖生地醱酵のチモタキグラフを図17に示した。培養

表64 培養 pH とパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	窒素源比 (NH ₄) ₂ SO ₄ : urea			
		3:7	2:8	1:9	0:10
培養終了 pH	-	5.1	5.8	6.1	6.8
収率	%	51.34	53.48	53.92	53.99
trehalose	%	10.24	10.48	10.69	9.93
娘細胞率	%	1.45	1.39	1.27	1.92
M _s	mg	231	269	267	266
invertase 活性	ml	4.16	4.01	4.32	4.72
高糖生地	ml	325	330	360	385
食パン仲種 60 分	ml	270	260	260	260
" ホイロ	分	49	50	49	49
菓子パンホイロ	ml	390	400	400	410
" 比容積	-	5.11	5.11	5.22	5.22

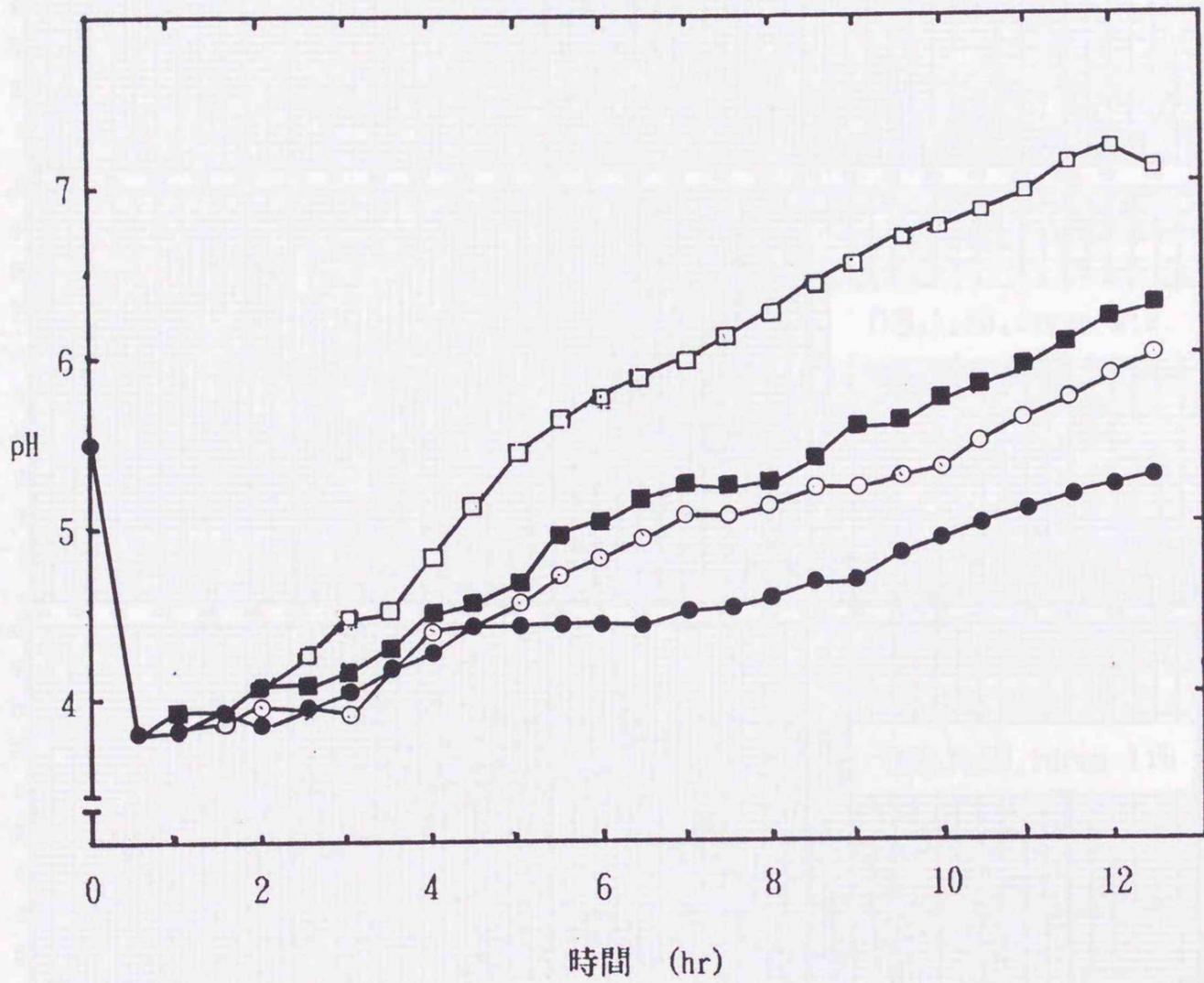


図15 窒素源比と培養 pH の時間変化

- (NH₄)₂SO₄ : urea 3: 7
- " " 2: 8
- " " 1: 9
- " " 0:10

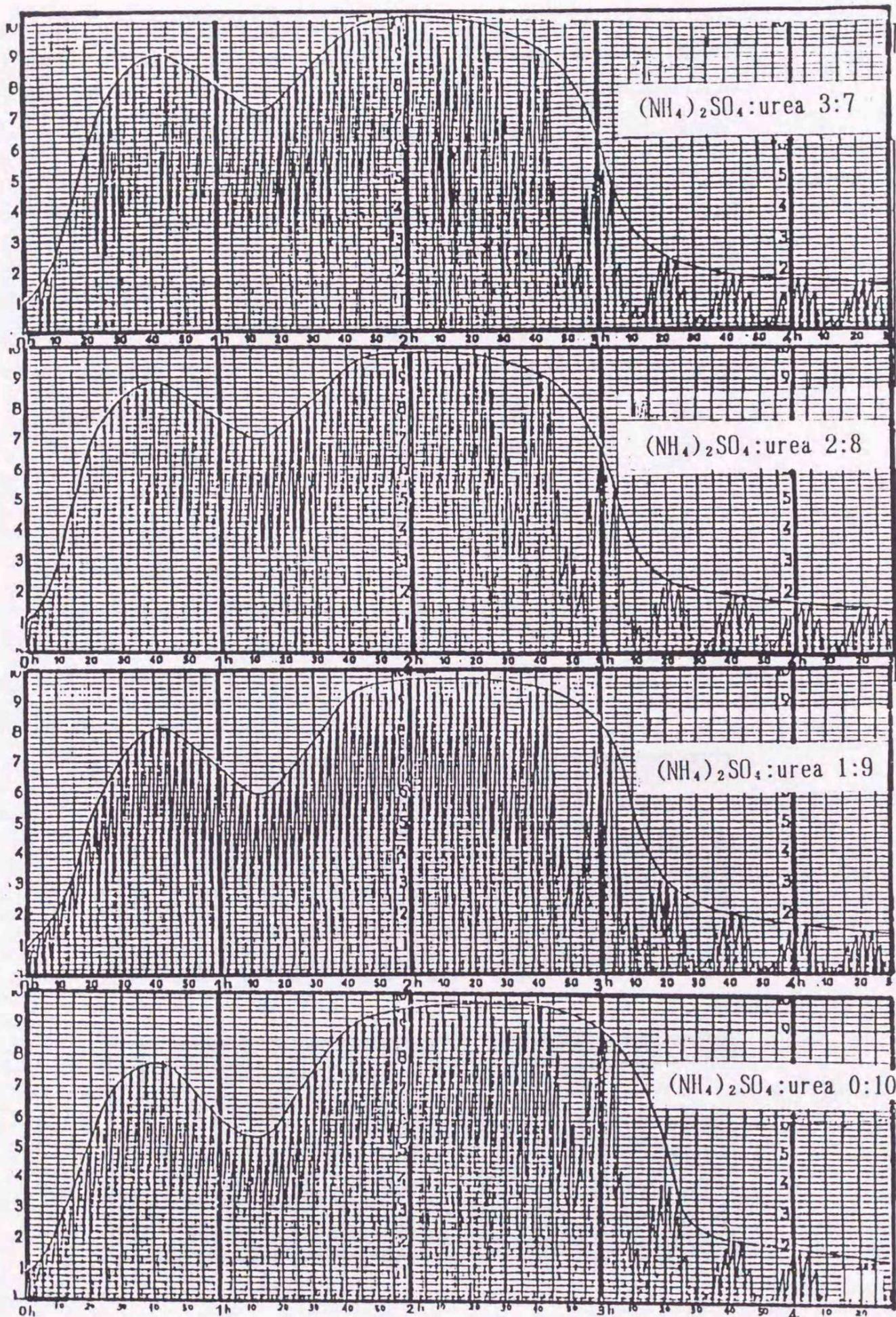


図16 培養 pH とパン酵母の無糖生地醗酵チモタキグラフ

表65 窒素源使用比による培養 pH とパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	窒素源比 urea : (NH ₄) ₂ SO ₄	
		7:3	10:0
収率	%	56.10	57.66
trehalose	%	10.30	10.78
娘細胞率	%	1.16	3.03
M ₈	mg	256	258
invertase 活性	ml	4.20	4.69
高糖生地	ml	265	285
食パン仲種 60 分	ml	240	230
" ホイロ	分	56	54
菓子パンホイロ	ml	400	390
" 比容積	-	5.11	5.05

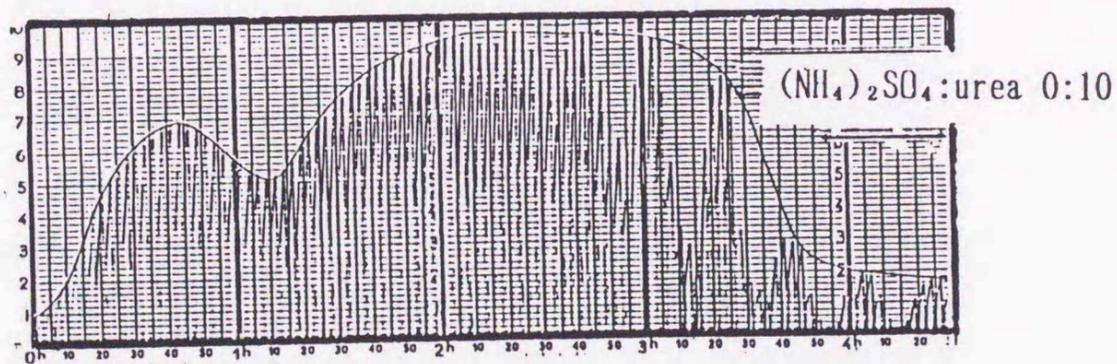
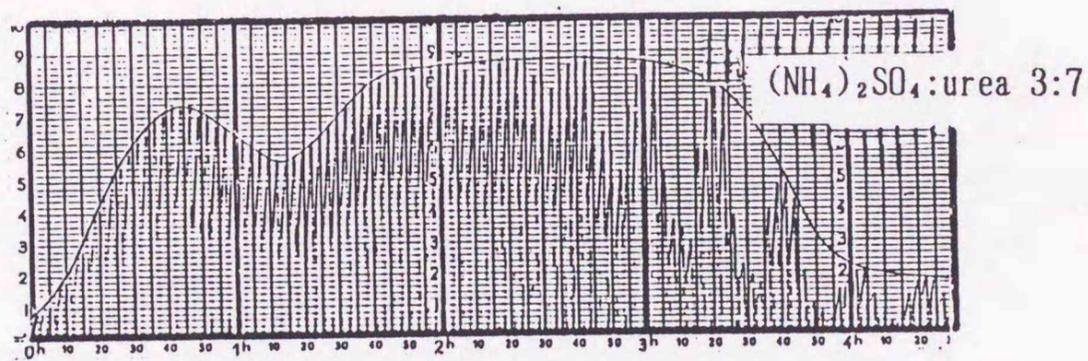


図17 窒素源比とパン酵母の無糖生地醗酵チモタキグラフ

pHが高いと食パンホイロの所要時間が短縮したが、食パン仲種の初期醗酵と菓子パンホイロの醗酵が低下する傾向が認められた。

培養 pH が収率および品質に及ぼす影響を確認するため、窒素源を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-NH}_4\text{OH}$ とし、NaOHを用いて urea を窒素源とした場合の培養 pH の経時変化と同じにした培養と、pH 5.0に保つ培養の2条件で比較した結果を表66に、無糖生地醗酵のチモタキグラフを図18に示した。

培養 pH の違いによって耐糖性に差は認められなかった。しかし、培養 pH が高いと、無糖生地のチモタキグラフの初期醗酵力に低下が認められた。

表66 パン酵母の収率ならびに品質に対する培養 pH の影響

項目	単位	培養 pH *	
		urea の pH 変化	5.0
収率	%	53.92	53.79
trehalose	%	10.75	10.96
娘細胞率	%	8.42	8.24
M ₈	mg	229	214
invertase 活性	ml	4.46	4.32
高糖生地	ml	355	370
食パン仲種 60 分	ml	240	255
" ホイロ	分	48.5	50.5
菓子パンホイロ	ml	430	415
" 比容積	-	5.36	5.48

* (NH₄)₂SO₄ - NH₄OH を窒素源とし、培養 pH を urea での変化 (培養初期 4.0, 培養終了 7.0) と全培養期間 5.0 に制御した。

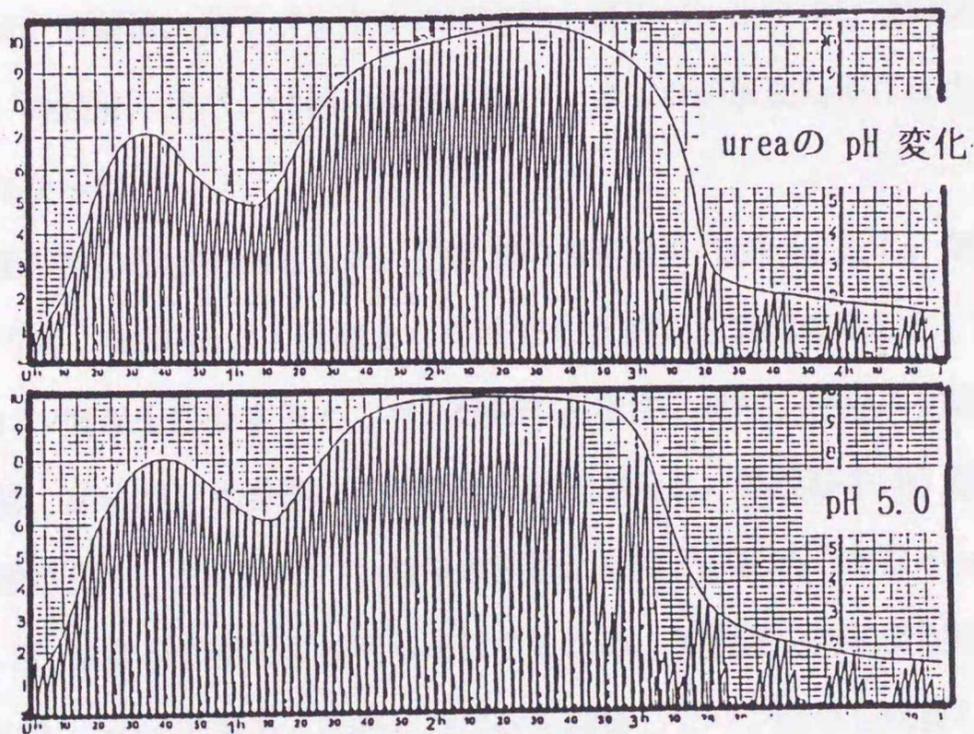


図18 培養 pH によるパン酵母の無糖生地醱酵チモタキグラフの変化

第4節 溶存酸素濃度

パン酵母は通気条件下で糖供給速度を管理しながら培養を行う。増殖の著しい指数期と増殖を制限する熟成期とでは溶存酸素（DO）濃度に対する要求も異なるものと考えられる。本研究では、培養全期間あるいは熟成期について DO 濃度を制御し、培養時の DO 濃度とパン酵母の収率ならびに品質との関係を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母菌株

培養：2ℓ容ミニジャーを用いた。

実験結果

2ℓ容ミニジャーにおける、攪拌数と DO 濃度との関係、その DO 濃度でのパン酵母の収率ならびに品質との関係を知ることを目的とし、培養全期間攪拌数を 700, 800, 900, 1,000 rpm の4段階でパン酵母を培養した結果を表67に示した。また、培養中の DO 濃度の変化を図19に示した。収率は攪拌数 900rpm 以上、すなわち培養5時間目の DO 濃度が飽和濃度の 10%以上が確保された条件が良かった。耐糖性は攪拌数の多い方が良かった。trehalose の蓄積、菓子パンホイロの醗酵と菓子パン比容積は攪拌数が多いと低下した。maltose の醗酵、食パン仲種の醗酵、食パンホイロの所要時間には攪拌数による変化が認められなかった。

熟成期の攪拌数の影響を知るため、指数期の攪拌数を 900rpm とし、熟成期の攪拌数を 500, 600, 700, 800rpm の4段階として培養した結果を表68に示した。熟成期の DO 濃度を変えてパン酵母を培養すると、パン酵母の耐糖性、食パン仲種の初期醗酵、菓子パンホイロの醗酵、菓子パン比容積に DO 濃度の影響が現れ、熟成期の DO 濃度は飽和濃度の約 40%が最も良く、その他のパン酵母の性能には変化が認められなかった。

熟成期の DO 濃度の影響をより明らかにするため、DO濃度を飽和濃度に対して 0-10, 10-20, 30-40, 50-60% の4段階に攪拌数を調整してパン酵母を培養した結果を表69に示した。熟成期の DO 濃度の違いによる収率の差は認められなかった。熟成期の DO 濃度を高くすると、娘細胞率が増加し、trehalose の蓄積ならびに耐糖性が低下し、食パンホイロの所要時間が長くなった。菓子パンホイロの醗酵ならびに比容積は向上した。熟成期の DO濃度は飽和濃度の 10乃至 40%を維持した場合が最も良い結果が得られた。

表67 パン酵母の収率ならびに品質に対する
培養全期間の攪拌数の影響

項目	単位	攪拌数 rpm			
		700	800	900	1,000
収率	%	53.91	54.80	55.90	55.03
trehalose	%	13.47	11.67	11.05	10.42
娘細胞率	%	3.88	5.69	5.76	7.44
M ₈	mg	181	184	180	183
invertase 活性	ml	4.42	4.10	4.17	3.94
高糖生地	ml	360	375	395	395
食パン仲種 90 分	ml	1,850	1,900	1,900	1,800
" ホイロ	分	57	58	56	57
菓子パンホイロ	ml	370	380	365	365
" 比容積	-	4.84	4.80	4.69	4.71

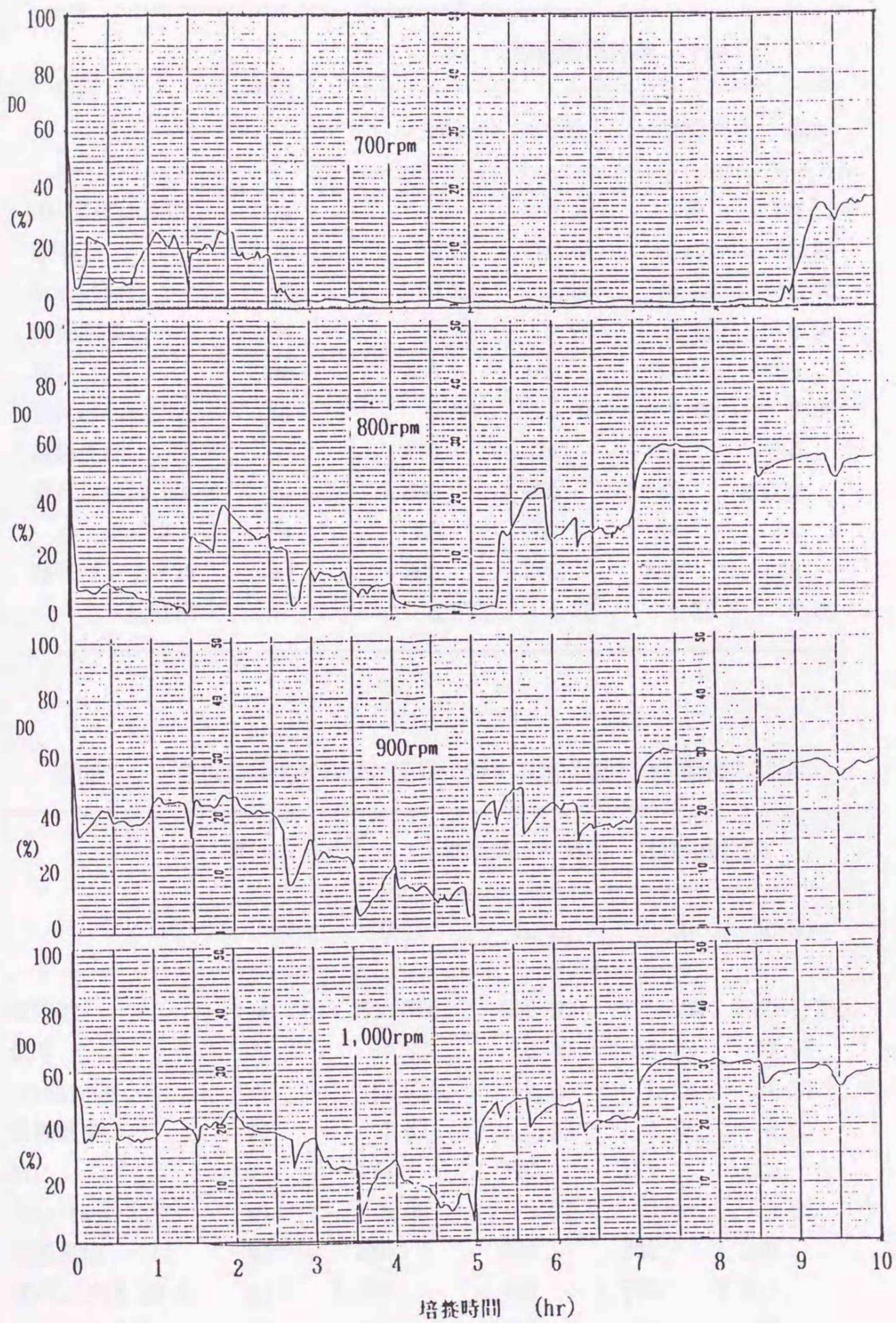


図19 パン酵母培養の攪拌数と DO の経時変化

表68 熟成期攪拌数とパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	熟成期攪拌数 rpm			
		500	600	700	800
DO (対飽和濃度)	%	0	0-10	40	50-52
収率	%	52.20	52.54	53.17	52.84
trehalose	%	10.83	11.64	10.86	12.10
娘細胞率	%	0.93	2.97	3.17	0.98
M ₈	mg	169	160	164	160
invertase 活性	ml	3.58	3.74	3.60	3.38
高糖生地	ml	410	430	420	430
食パン仲種 90 分	ml	1,850	1,900	2,050	2,000
" ホイロ	分	56	52	54	54
菓子パンホイロ	ml	365	375	380	385
" 比容積	-	4.67	4.75	4.80	4.80

表69 パン酵母の収率ならびに品質に対する熟成期の DO 制御の効果

項目	単位	熟成期 DO 濃度 対飽和濃度%			
		0-10	10-20	30-40	50-60
攪拌数	rpm	600-750	600-800	775-800	800-1,300
収率	%	57.82	58.33	58.75	57.97
trehalose	%	12.73	12.49	11.72	11.33
娘細胞率	%	1.87	2.87	4.72	4.50
M ₈	mg	177	170	177	183
invertase 活性	ml	3.55	3.57	3.48	3.51
高糖生地	ml	380	360	360	360
食パン仲種 90 分	ml	1,750	1,750	1,750	1,850
" ホイロ	分	61	62	62	63
菓子パンホイロ	ml	365	375	375	380
" 比容積	-	4.41	4.55	4.53	4.57

第5節 糖蜜の流加法

パン酵母の培養に用いる糖蜜の流加法には、終始糖蜜の流加を行う連続流加法と糖蜜流加を一時的に停止する間欠流加法、例えば30分間欠（糖蜜を添加する時間5分間、添加しない時間25分間）がある。連続流加法は収率ならびに無糖生地醗酵力を向上させるが耐糖性を低下させ、間欠流加法は収率ならびに無糖生地醗酵力を低下させるが耐糖性を向上させることがこれまで経験的に知られている。

本研究では、糖蜜の流加法とパン酵母の収率ならびに製パン性能との関係を明らかにすることにより、無糖生地醗酵力あるいは耐糖性それぞれに強いパン酵母を製造し、食パン性能を重視するユーザーあるいは菓子パン性能を要求するユーザーそれぞれに糖蜜の流加法で対応することが可能か否かを、培養全期間や熟成期について、糖蜜の連続流加と間欠流加を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母菌株

培養：2ℓ容ミニジャーを用いた。指数期の設計比増殖速度を 0.200hr^{-1} とした。窒素源は urea を用い、pH 4.5～5.0 で培養した。糖蜜の間欠流加間隔は表70に示した3通りである。流加間隔の時間内で流加する設計糖量を5分間で流加し、残りの時間は糖蜜の流加を停止した。

表70 糖蜜の間欠流加法の添加時間と無添加時間（単位；分）

流加間隔	糖 蜜	
	添加時間	無添加時間
10	5	5
15	5	10
30	5	25

実験結果

糖蜜の間欠流加の流加間隔がパン酵母の収率ならびに品質に及ぼす影響を知るため、培

養全期間に渡っての糖蜜の連続流加と間欠流加の比較を、流加間隔を 10, 15, 30 分、すなわち糖蜜を添加する時間—添加しない時間 5—5, 5—10, 5—25 (分) の 3 組の条件でパン酵母を培養した結果を表71に示した。糖蜜の流加を間欠にすると収率の低下は避けられなかった。糖蜜の流加間隔 15 分まで、パン酵母の比増殖速度は連続流加と変わらず、糖蜜の流加間隔が 30 分になると比増殖速度が低下した。糖蜜の流加間隔が長くなると耐糖性の向上が認められた。食パンホイロの所要時間は連続流加が良かったが、菓子パン比容積は間欠流加の方が良かった。

10分間という短い糖蜜の流加間隔の間欠流加でも、耐糖性、菓子パン性能が向上するかを確認するため、連続流加と流加間隔 10 分とを比較した結果を表72に示した。収率は連続流加の方が高かった。maltose の醗酵、食パン仲種の初期醗酵も連続流加が良かった。食パンホイロの所要時間には差が認められなかった。しかし、菓子パン性能は 10 分間欠が良かった。

糖蜜の間欠流加の効果を維持しながら、収率の低下をできるだけ抑えるという目的のために、指数期を連続流加し、熟成期を間欠流加する方法を検討した結果を表73に示した。熟成期の糖蜜流加を間欠流加すると、収率は連続流加と較べ若干低かった。trehalose の蓄積は流加間隔が長くなるにしたがい増加した。食パンホイロの所要時間は変わらなかったが、耐糖性の向上幅が全期間間欠流加に較べ小さくなり、菓子パン比容積の向上幅も狭まった。

パン酵母の増殖期を指数期と熟成期とに分けて、糖蜜の流加法を連続と間欠 (30分間欠) とし、糖蜜の流加法を組み合わせ比較した結果を表74に示した。収率は連続流加が最も高かった。maltose の醗酵は熟成期間欠流加が高かった。耐糖性は全期間間欠流加が最も高かった。食パン仲種の初期醗酵は変わらず、食パンホイロの所要時間は全期間間欠流加が最も短かった。指数期に糖蜜を連続流加し、熟成期に間欠流加して培養したパン酵母は全期間連続流加で培養したパン酵母と全期間間欠流加で培養したパン酵母の中間的な製パン性能を示した。

表71 糖蜜の流加法の違いによるパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	糖蜜流加法			
		間欠流加間隔 (分)			連続流加
		5-25	5-10	5-5	
収率	%	43.25	44.56	43.28	46.29
比増殖速度	hr ⁻¹	0.187	0.202	0.197	0.202
trehalose	%	9.92	10.43	9.88	8.43
娘細胞率	%	11.28	3.67	8.06	1.67
高糖生地	ml	490	470	460	405
食パンホイロ	分	58	60	58	55
菓子パン比容積	-	4.44	4.62	4.58	4.34

表72 パン酵母の収率ならびに品質に対する
糖蜜の連続流加と 10 分間欠流加の効果の比較

項目	単位	糖蜜流加法	
		連続流加	10分間欠流加
収率	%	50.35	47.45
M _s	mg	226	216
高糖生地	ml	374	491
食パン仲種 90 分	ml	1,674	1,523
" ホイロ	分	57.4	57.0
菓子パンホイロ	ml	310	326
" 比容積	-	4.4	4.7

表73 パン酵母の収率ならびに品質に対する
熟成期の糖蜜流加法の効果

項目	単位	糖蜜流加法			連続流加
		間欠流加	流加間隔 (分)		
		5-25	5-10	5-5	
収率	%	47.94	50.24	47.72	50.45
trehalose	%	12.28	11.98	11.60	11.00
娘細胞率	%	4.00	3.16	4.46	2.80
高糖生地	ml	455	450	445	420
食パンホイロ	分	58	60	57	60
菓子パン比容積	-	4.67	4.51	4.56	4.40

表74 指数期と熟成期の糖蜜の流加法の組み合わせとパン酵母の収率・品質

項目	単位	指数期糖蜜の流加法		
		連続流加	間欠流加	
		熟成期糖蜜の流加法		
		連続流加	間欠流加	間欠流加
収率	%	52.40	50.78	50.05
M _s	mg	121	138	130
高糖生地	ml	425	455	488
食パン中種90分	ml	255	258	260
〃 ホイロ	分	61.5	60.0	59.5

第6節 培地浸透圧

間瀬は培地の浸透圧を高めてパン酵母を培養すると、耐糖性、耐久性が良くなると予想している。⁴⁹⁾ 培地浸透圧を高める方法としては、パン酵母の培養濃度を高め、単位容積当たりの生産量を増して、糖蜜や副原料の使用量を増加することによって培地の塩濃度を高める方法と培地に塩類を添加する方法が考えられる。塩類を添加する方法では、2%のNaClを添加した培地で培養する方法が報告されている。^{50, 51)} しかし、パン酵母の培養濃度を高める方法は培養槽の酸素供給や培養生成物の制約を受けるため限界がある。また、NaClを添加して培地の浸透圧を上げると、最大比増殖速度が低下する⁵²⁾ という問題点もある。

本研究では、培地浸透圧とパン酵母の収率ならびに品質との関係を知るため、酵母の培養濃度、添加塩類の選択、NaClの添加を検討した。⁵³⁾

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母菌株

培養：塩類の選択はシリンドー培養で行った。供試した塩類は Na-acetate, Na₂CO₃, Na-citrate, NaCl, Na₂SO₄, NaH₂PO₄, Na-lactate, NaNO₃, KCl, CaCl₂, K₂SO₄, CaSO₄, MgSO₄ である。熟成時の塩類の添加試験はシリンドーを用い、酵母濃度2%の製品培養指数期終了液 200mlを供試し、温度 30 °C, 通気量 4 l/min, pH 4.0-4.2, Bx. 45の糖蜜液を 0.5mlずつ 30分毎に添加して4時間培養した。酵母の NaCl 処理試験は製品酵母クリームを供試した。酵母の培養濃度と NaCl 添加の試験は 2 l 容ミニジャー培養で行った。

実験結果

培養槽の酸素供給能力の範囲内で、酵母の濃度を高めて培養することによって、培地浸透圧を高める効果が得られるかを知るため、培養終了時の酵母濃度を 27.2, 34.0, 40.8, 54.4g/l の4段階として培養した結果を表75に示した。DO濃度を確保できる範囲内で、パン酵母の培養濃度を高めると、収率が低下したが、maltose 醱酵, 耐糖性, 食パン仲種の初期醱酵, 菓子パン比容積の向上が認められた。

パン酵母の耐糖性向上に効果のある塩類を選択するため、塩類の添加濃度を2%とし、熟成開始時に添加して培養した結果を表76に示した。耐糖性向上に効果を示した塩類は、

表75 パン酵母の収率ならびに製パン性能に及ぼす酵母培養濃度の影響

項目	単位	酵母最終培養濃度 (g/l)			
		27.2	34.0	40.8	54.4
収率	%	58.93	57.51	57.36	56.49
trehalose	%	11.91	12.40	11.55	11.90
娘細胞率	%	2.00	1.80	3.88	3.31
M _s	ml	182	184	187	192
invertase 活性	ml	3.76	3.18	3.31	3.27
高糖生地	ml	390	365	370	415
食パン仲種 90 分	ml	1,700	1,650	1,750	1,750
" ホイロ	分	58	56	58	57.5
菓子パンホイロ	ml	370	370	380	365
" 比容積	-	4.64	4.71	4.89	4.80

表76 パン酵母の耐糖性向上に効果を示す塩類の選択

塩類	高糖生地 ml	塩類	高糖生地 ml
Control	405	Control	380
Na-acetate	435	NaCl	435
Na ₂ CO ₃	170	KCl	400
Na-citrate	425	CaCl ₂	425
NaCl	435	Na ₂ SO ₄	410
Na ₂ SO ₄	430	K ₂ SO ₄	415
NaH ₂ PO ₄	405	CaSO ₄	370
Na-lactate	415	MgSO ₄	380
NaNO ₃	425		

Na-acetate, Na-citrate, NaCl, Na₂SO₄, NaNO₃, KCl, CaCl₂, K₂SO₄ であり、とくに Na-acetate, Na-citrate, NaCl, Na₂SO₄ が耐糖性向上の効果が大きかった。耐糖性を低下させた塩類は Na₂CO₃ であった。

耐糖性の向上に対する塩類の最適濃度を知るため、耐糖性の向上に効果が認められた NaCl と Na₂SO₄ を指数期終了培養液に 0～5% 添加して熟成し、パン酵母の耐糖性を調べた結果を図20に示した。NaCl は 3.0% 添加が最も良く、Na₂SO₄ は 4.0% 添加が良かった。

パン酵母の培養に塩類を添加することによる収率と耐糖性への影響を知るため、NaCl を培養始発時に 0, 1, 2, 3% を添加して培養した結果を表77に示した。NaCl 濃度が 2% を超えると、収率が低下した。しかし、耐糖性は NaCl 濃度が高くなるにともない向上が認められた。

熟成時に塩類を添加することによるパン酵母の比増殖速度と耐糖性に及ぼす影響を知るため、熟成開始時に NaCl を 2% 添加して培養した結果を表78に示した。熟成時に NaCl を 2% 添加すると、パン酵母の比増殖速度は低下したが、耐糖性は向上した。

NaCl によるパン酵母の耐糖性向上の効果が、酵母細胞を NaCl で処理した効果なのか、NaCl 添加による培地浸透圧の上昇による効果なのかを確認するため、酵母クリームを用い、酵母濃度、NaCl 濃度、反応温度、反応時間、通気量を要因として取り上げ、直交表 (L8) による実験計画法で検討した。実験因子とその水準を表79に、わりつけならびに耐糖性の結果を表80に、解析して得られた要点を表81に示した。NaCl は添加と無添加との間に有意な差が認められず、NaCl による酵母細胞の処理効果は認められなかった。

耐糖性に効果を示す塩の種類と添加濃度を知るため、熟成期の培養について、塩添加濃度、塩の種類、DO濃度、実験日を実験因子として検討した。実験因子とその水準並びにわりつけを表82に、実験結果を表83に、解析結果の要点を表84に示した。塩添加濃度と塩の種類が耐糖性に強く影響し、塩の添加濃度 2%, 塩の種類は NaCl が良かった。DO濃度の違いによる耐糖性への影響は認められなかった。

NaCl の最適添加量を知るため、NaCl の添加濃度を 0, 0.25, 0.5, 0.75% と 0.75, 1.0, 1.5, 2.0% を培養始発時に添加する 2 組の培養を行った結果をそれぞれ表85, 表86に示した。また得られたパン酵母の無糖生地の子モタキグラフを図21に示した。NaCl の添加濃度を高めると、収率が低下する傾向であり、とくに 2% 添加において低下が著しかった。NaCl 濃度の増加にともない trehalose の蓄積も低下し、娘細胞率が高くなった。maltose の醗酵は 2% 添加まで上昇しつづけ、耐糖性は 1.5% 添加でピークに達した。食パン仲種

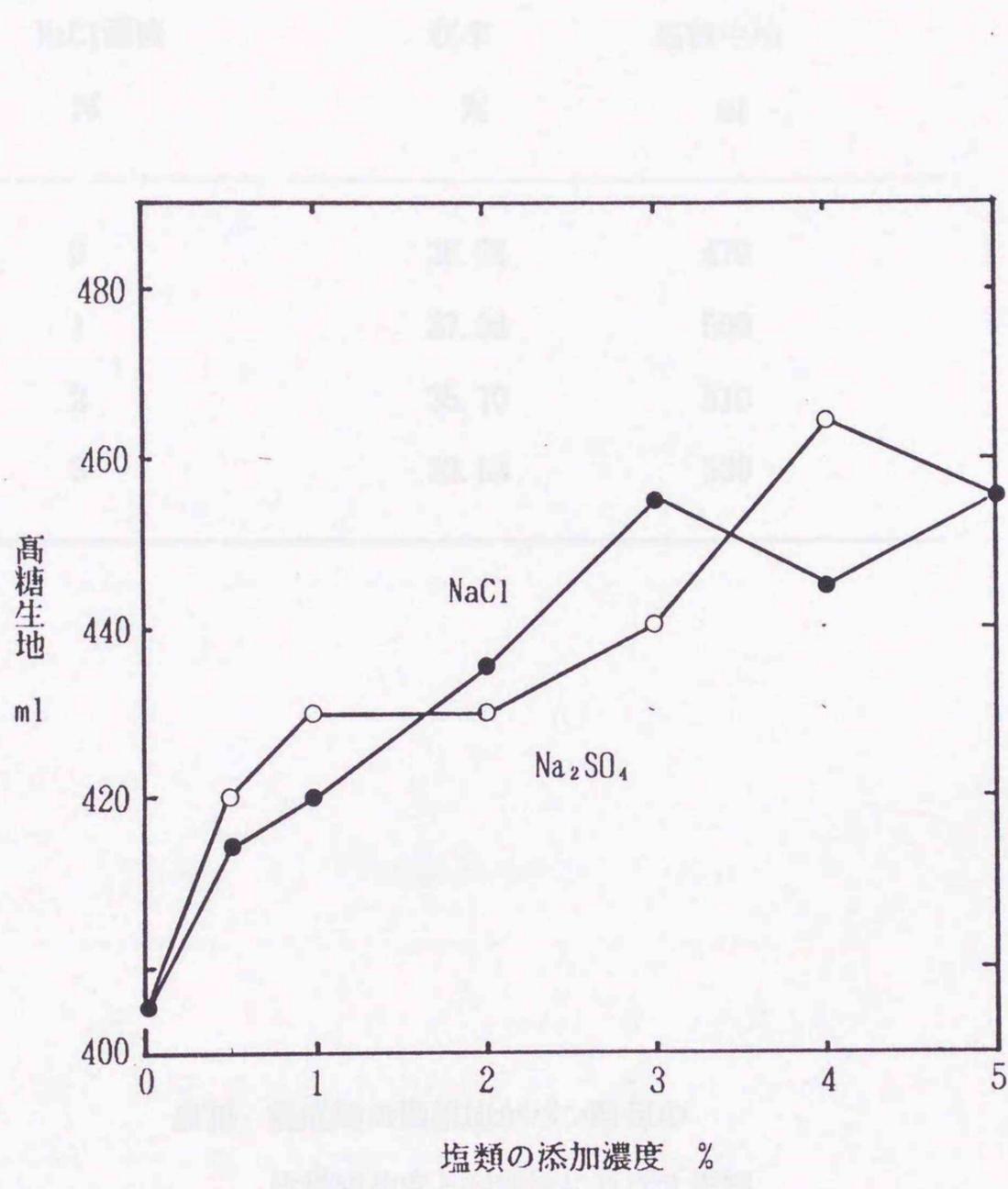


図20 培地への塩類の添加濃度とパン酵母の耐糖性との関係

表77 塩濃度によるパン酵母の増殖阻害と耐糖性に対する効果

NaCl濃度 %	収率 %	高糖生地 ml
0	36.38	470
1	37.06	500
2	35.70	510
3	33.83	530

表78 熟成時の塩添加がパン酵母の
比増殖速度と耐糖性に及ぼす影響

NaCl添加濃度 %	比増殖速度 hr ⁻¹	高糖生地 ml
0	0.057	465
2	0.040	510

表79 パン酵母の NaCl 処理の実験因子とその水準

実験因子	単位	水準	
		1	2
A. 酵母濃度	%	3.4	17
B. NaCl	%	0	2
C. 反応温度	°C	10	30
D. 通気量	l/min	4	0
E. 反応時間	hr	1	2

表80 NaCl処理実験の組み合わせと結果

列番	1	2	3	4	5	6	7	高糖生地
No. 要因	A	B	C	E	D	ml		
1	1	1	1	1	1	1	1	495
2	1	1	1	2	2	2	2	495
3	1	2	2	1	1	2	2	510
4	1	2	2	2	2	1	1	465
5	2	1	2	1	2	1	2	515
6	2	1	2	2	1	2	1	495
7	2	2	1	1	2	2	1	500
8	2	2	1	2	1	1	2	500

表81 NaCl処理効果の解析結果の要点

実験要因	判定	寄与率 $\rho\%$
A. 酵母濃度	×	12.5
B. NaCl	×	-
C. 反応温度	↑	30.3
D. 通気量	↓	30.3
E. 反応時間	×	-

↑は上側に水準 1、下側に水準 2 をとって 95 %信頼で水準間に有意な差があることを示し、矢印の方向の水準が良い。×は有意な差がないことを示す。

表82 塩の種類と添加量の決定、実験因子とその水準

実験因子	単位	水準		わりつけ 列番
		(1)	(2)	
A. 塩添加濃度	%	1	2	1
B. 塩の種類	-	Na ₂ SO ₄	NaCl	2
C. DOレベル	ppm	0.6-1.0	1.0-1.6	4
D. 実験日	-	1	2	7

表83 最適塩の種類と添加量の決定実験結果

No.	高糖生地 ml
1	445
2	455
3	460
4	475
5	475
6	470
7	500
8	495

表84 最適塩の種類と添加量の結果の要点

実験要因	判定	寄与率 $\rho\%$
A. 塩添加濃度	↓	54.6
B. 塩の種類	↓	35.5
C. D0レベル	×	-
D. 実験日	×	-

↑は 99%信頼で水準間に有意な差があることを示す。

表85 NaClの添加濃度とパン酵母の収率ならびに品質（1組目）

項目	単位	NaCl添加濃度 %			
		0	0.25	0.50	0.75
収率	%	53.14	52.36	52.22	50.69
trehalose	%	11.16	12.44	12.95	11.72
娘細胞率	%	1.19	1.09	7.24	2.06
M _s	mg	202	181	214	224
invertase 活性	ml	4.05	4.00	4.20	4.12
高糖生地	ml	330	355	400	435
食パン仲種 60 分	ml	340	360	370	380
" ホイロ	分	59.0	56.0	54.0	56.0
菓子パンホイロ	ml	400	395	390	390
" 比容積	-	5.05	5.05	4.92	5.11

表86 NaClの添加濃度とパン酵母の収率ならびに品質（2組目）

	単位	NaCl添加濃度 %			
		0.75	1.00	1.50	2.00
収率	%	53.86	50.86	51.71	47.67
trehalose	%	11.05	12.78	9.95	8.95
娘細胞率	%	3.49	7.56	8.97	11.59
M _s	mg	219	205	242	308
invertase 活性	ml	4.28	4.35	4.90	3.67
高糖生地	ml	430	445	485	480
食パン仲種 60 分	ml	385	385	395	385
" ホイロ	分	52.5	53.0	50.5	52.0
菓子パンホイロ	ml	400	410	400	400
" 比容積	-	5.02	5.00	4.91	4.86

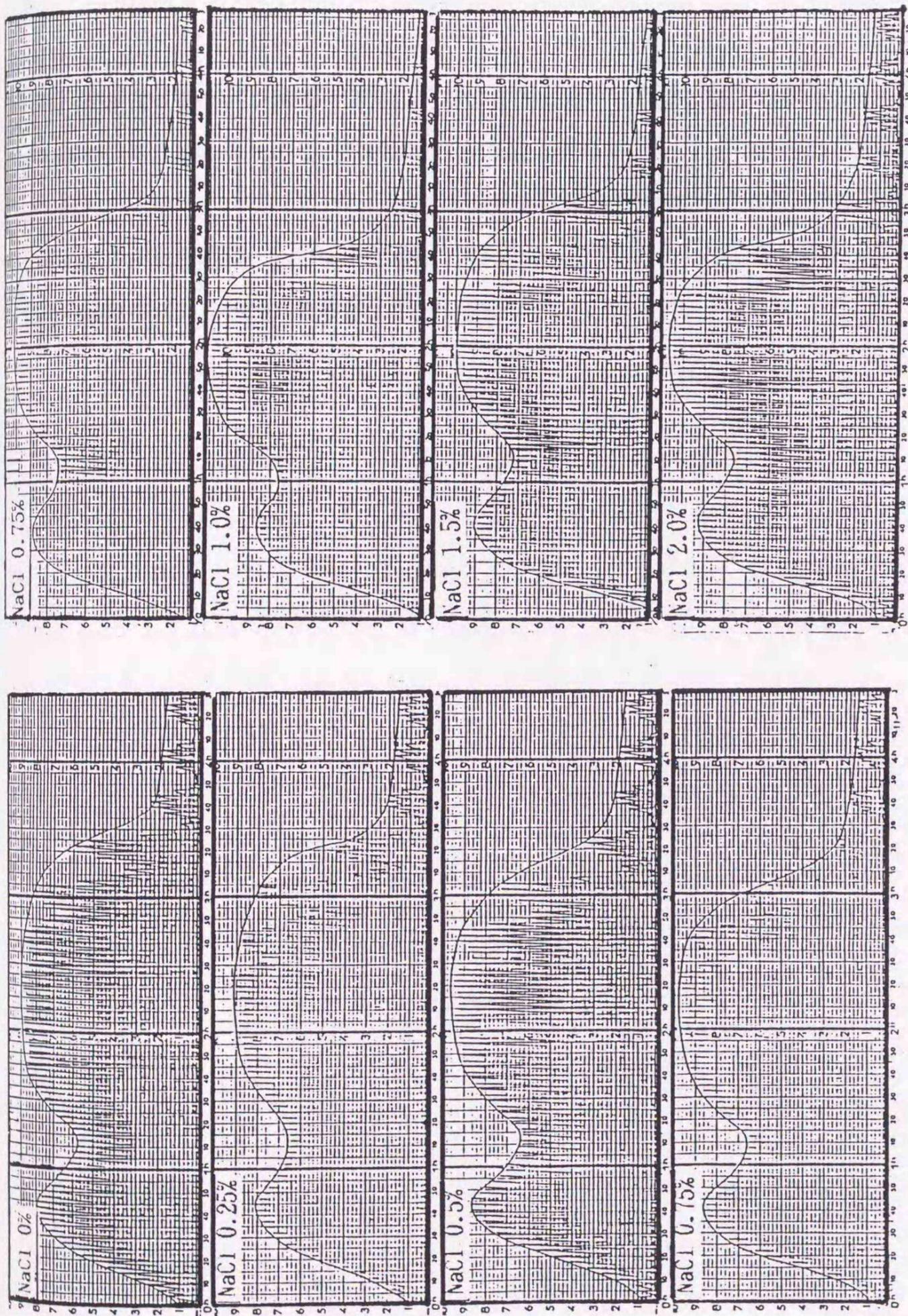


図21 培地への NaCl の添加濃度とパン酵母の無糖生地酸酵チモタキグラフ

の初期醱酵は 0.75 % 添加が最も高かった。食パンホイロの所要時間は 1.5~2.0 % 添加までほぼ直線的に短縮した。菓子パンホイロの醱酵は NaCl 添加による変化が認められず、菓子パン比容積も 1.5%未満の NaCl 濃度でほとんど変化なく、1.5 %以上の濃度で低下した。

NaClの添加時期がパン酵母の収率ならびに品質に対する影響を知るため、1%の NaCl を培養始発時に添加した培養と熟成開始時に添加した培養とのパン酵母の収率ならびに品質を比較した結果を表87に示した。NaClの添加時期を熟成開始時にすると、収率の低下を抑えることができるが、maltose の醱酵、耐糖性、食パン性能、菓子パン性能いずれも培養始発時に NaCl を添加して培養したパン酵母の成績に及ばなかった。

表87 NaClの添加時期とパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	NaClの添加時期	
		培養始発時	熟成始発時
収率	%	51.34	54.40
trehalose	%	10.0	10.4
娘細胞率	%	5.5	8.1
M ₈	mg	259	245
高糖生地	ml	555	546
食パン仲種 90 分	ml	1,875	1,825
" ホイロ	分	54.5	58.5
菓子パンホイロ	ml	400	373
" 比容積	-	5.5	5.3

第7節 考察

本章では、培養条件によるパン酵母の収率および品質の改良を目的とし、条件として種菌の培養条件、製品培養の温度、pH、溶存酸素濃度、糖蜜流加法、培地浸透圧をとりあげ、これら条件とパン酵母の収率ならびに製パン性能との関係を検討した。以下に、得られた結果に基づいて考察する。

1. 種菌の培養条件

本研究では、種酵母としての能力を知るために、酵母の増殖ステージの違い、種培養の温度ならびに種酵母の成分、種菌クリームの貯蔵期間が製品培養の収率、比増殖速度や製品酵母の醗酵性能に及ぼす影響を検討した。得られた結果に基づいて、種菌の培養条件と製品培養の収率あるいは比増殖速度、製品酵母の製パン性能との関係を考察する。

(1) 収率あるいは比増殖速度

種酵母の増殖ステージと製品培養の比増殖速度の検討により、指数増殖期の酵母を種に用いると比増殖速度が最も速く（表55, 57）、種菌クリームの貯蔵期間と比増殖速度の検討により、種菌クリームの貯蔵期間が長くなるにしたがい、種菌クリーム酵母の娘細胞率が減少し、製品培養の比増殖速度が低下した（表60）ことから、種酵母には娘細胞率が高い、熟成していない酵母を用いることにより、製品培養での比増殖速度を速めることができると考えられる。酵母の増殖において、誘導期の前半は同調的に、誘導期の後半はやや同調的に増殖し、やがて、cell ageの分布によってこの同調性がくずれ、非同調的となって指数増殖期に入ることが知られている。⁵⁴⁾ 製品培養の誘導期に同調化が起こるとすれば、種培養で製品培養のような熟成を行わず、指数増殖期の酵母を種酵母として調製し、この種酵母を製品培養することにより誘導期が短縮し、直ちに指数増殖期に入り、比増殖速度や収率が高い結果が得られるものと考えられる。一方、前培養槽酵母と製品培養熟成酵母とで収率に差が認められなかった（表55）が、製品培養では培養の後半糖の供給を制限する熟成を行うので、指数期の増殖が遅れても、炭素源が熟成に持ち越され、酵母の増殖が起こり培養終了時の酵母量に差がなくなったためであると考えられる。種培養の温度ならびに種酵母の成分（ P_2O_5 とRNA）と製品培養の比増殖速度との関係は見出せなかった（表58, 59）ことから、種培養の温度と P_2O_5 量は特別な条件とする必要はなく、従来より採用してきた温度 30 °C、 P_2O_5 3.0%で良いと考えられる。

(2) 食パン仲種の初期醗酵力

種酵母のステージの違いにより、製品酵母の食パン仲種の初期醱酵力に差が認められ、製品培養指数期酵母を種とした場合が強かった(表56)ことは、食パン仲種の初期醱酵力は maltose の醱酵力の強弱によって差が表れることから、製品培養において増殖が遅れ ethanol が生成し、ethanol が炭素源となった場合に maltose の資化が低下するため食パン仲種の初期醱酵力が弱くなるものと考えられる。したがって、食パン仲種の初期醱酵力が強いパン酵母を得るためには、培養中に ethanol が生成しない培養を行う必要があると考えられる。製品培養の比増殖速度は熟成していない酵母を種とした場合が速い(表55)ので、熟成していない酵母を種に用いることにより、ethanol の生成を避けることができるものと考えられる。

(3) 食パンホイロの所要時間

種酵母のステージと食パンホイロ所要時間との関係は認められなかった(表56)。一方、種菌クリームとジャーで調製した種の比較において、ジャーで調製した種酵母を用いて培養したパン酵母の方が食パンホイロの所要時間が長い結果であった(表57)が、この差は誤差の範囲と考えられ、種酵母の調製法によって食パンホイロの所要時間が変化する可能性はないと考えられる。

(4) 菓子パンホイロの醱酵力あるいは比容積

種菌クリームとジャーで調製した種を比較すると、ジャーで調製した酵母を種にした場合の方が菓子パンホイロの醱酵力が強く、比容積も大きかった(表57)ことから、種菌の調製法によって、菓子パン性能は変化する可能性があると考えられる。

2. 培養温度

パン酵母の培養温度は収率のみならず品質を考えて決定しなければならない。本研究では、実用上の最適温度を決定することを目的にして、指数期の温度と比増殖速度との関係、熟成期の温度とパン酵母の醱酵性能を検討した。得られた結果に基づき、培養温度と収率ならびに醱酵性能(耐糖性、製パン性能)との関係を考察する。

(1) 収率あるいは比増殖速度

培養温度 27 ~ 35°C の範囲で、培養温度の上昇にともない比増殖速度は早まる傾向であり(表61)、White の報告³⁹⁾ と傾向は一致したが、文献値より低かった。この原因は糖の供給を制限した流加を行ったためであると考えられる。

(2) trehalose の蓄積あるいは耐糖性

パン酵母の trehalose の蓄積は熟成の進行にともなって増加し、パン酵母の耐糖性⁵⁵⁾ならびに耐久性⁵⁶⁾ に必要であるとされている。熟成期の培養温度の上昇にともなっても trehalose の蓄積は増加し (表62, 63), 林部ら⁵⁷⁾ の報告と一致した。しかし、パン酵母の耐糖性は熟成期の培養温度 30 ~ 37°C を比較したが、差が認められなかった (表62, 63)。

(3) 食パン仲種の初期醱酵力

熟成期の培養温度 30 ~ 37°C を比較すると、食パン仲種の初期醱酵力は温度の上昇にともない低下する傾向であり (表62, 63), 無糖生地醱酵のチモタキグラフも培養温度の上昇にともない低下した (図12, 13) ことは、培養温度の上昇により、酵母の trehalose の蓄積が増し maltose の醱酵が低下した (表62, 63) ためであると考えられる。

(4) 食パンホイロの所要時間

熟成期の培養温度 30 ~ 37°C を比較したが、食パンホイロの所要時間は 35 °C までは差は認められず、37°C にすると長くなり (表62, 63), 37°C で培養すると酵母の活性が低下するものと考えられる。

(5) 菓子パンホイロの醱酵力および比容積

熟成期の培養温度 30 ~ 37°C で、菓子パンホイロの醱酵力に差はなかったが、菓子パン比容積は 35 °C 以上で低下する傾向を示し (表62, 63), 解糖系酵素の生成が影響を受けたのではないかと考えられる。

3. 培養 pH

培養 pH とパン酵母の収率ならびに品質との関係は明らかになっていない。本研究では、培養 pH を 5.0 ~ 7.0 の範囲において、窒素源を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と urea の混合比によって pH を変えた場合と、窒素源を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$ とし、酸あるいはアルカリで pH を変えた場合のパン酵母の収率ならびに品質との関係を検討した。窒素源に urea を使用すると、培地 pH が高くなり、調節しないと最終の pH が 7 以上になる。一方、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の使用割合を高めると培地 pH は低くなり、窒素源比を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 urea 7 とすると最終の培養 pH が約 5 になる (図15)。得られた結果に基づき、培養 pH と収率あるいは比増殖速度、パン酵母の醱酵性能との関係について考察する。

(1) 収率および比増殖速度

培養 pH と収率および比増殖速度との関係は認められなかった (表64, 65, 66)。

(2) 耐糖性

ureaを窒素源とすると最終の培養 pH は 6.8を示し(図15), 耐糖性が高く(表64, 65), 酸あるいはアルカリで pH を5.0 と 6.5に調節して培養したパン酵母の耐糖性は, pH 6.5の方が良い傾向を示した(表66)ことから, 窒素源の種類に関係なく, 培養 pH を高くすると耐糖性の高いパン酵母が得られると考えられる。

(3) 食パン仲種の初期醗酵力

パン酵母を $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と urea の混合比率を変えて培養終了 pH を 5.1~6.8 の4段階で培養し, 得られたパン酵母の食パン仲種の初期醗酵力を比較し, 食パン仲種の初期醗酵力に対する培養 pH の影響を検討した。食パン仲種の初期醗酵力は pH 5.1 で培養したパン酵母の方が強く(表64, 65, 図16, 17), 酸あるいはアルカリで pH を 5.0と 6.5に調整して培養した場合も, 食パン仲種の初期醗酵力は pH 5.0の方が強い傾向を示した(表66, 図18)。このことから, pH 5.0で培養したパン酵母の方が高い pH で培養したパン酵母より食パン仲種の初期醗酵力が強くなるものと考えられる。しかし, 培養 pH によって invertase活性や maltoseの醗酵力(M_0)に差は認められず, この結果は invertase活性や maltoseの醗酵力からは説明出来ない。

(4) 食パンホイロの所要時間

窒素源の比率によって培養 pH を変えた培養では食パンホイロの所要時間に差は認められなかった(表64)。しかし, 酸およびアルカリで培養 pH を変えた場合, 培養 pH を 5.0 と 6.5の比較では, pH 6.5の方が食パンホイロの所要時間が短かい傾向を示した(表65, 66)ことから, 培養 pH が食パンホイロの所要時間に影響し, 高い方が良いと考えられる。

(5) 菓子パンホイロの醗酵力あるいは比容積

培養 pH と菓子パンホイロの醗酵力あるいは菓子パン比容積との関係はデータにばらつきがあって(表64, 65, 66), 関係が認められなかった。

4. 溶存酸素濃度

本研究では, 培養時の DO 濃度とパン酵母の収率ならびに品質との関係を検討した。得られた結果に基づき, DO濃度とパン酵母の収率あるいは比増殖速度, パン酵母の醗酵性能との関係について考察する。

(1) 収率あるいは比増殖速度

指数期末の DO 濃度が飽和酸素濃度の 10 % (約 0.6ppm) 以上で収率が高く (表67, 図19), 熟成期の DO 濃度は飽和濃度の 10 ~50%の範囲で収率に差が認められなかった (表68, 69) ことは, 酵母が呼吸するための臨界 DO 濃度は 0.6ppm であるという Hixson・Gaden⁵⁸⁾ の結果からも, 培養全期間を通じて DO 濃度を培地飽和濃度の 10 % 以上確保することが必要であると考えられる。

(2) 耐糖性

指数期末の DO 濃度が飽和酸素濃度の 10 %を下回ると, パン酵母の耐糖性が低下し (表67, 図19), 熟成期の DO 濃度が飽和酸素濃度の 10 %以上確保されると耐糖性は変わらなかった (表68, 69) ことから, 指数期の DO 濃度を飽和酸素濃度の 10 %以上維持できるように, 培養槽の酸素供給能力に見合った糖供給速度で培養する必要があると考えられる。

(3) 食パン仲種の初期醱酵力

指数期末の DO 濃度を飽和濃度の 10 %以上確保して培養したパン酵母の食パン仲種の初期醱酵力が強く (表67), 熟成期の DO 濃度では飽和濃度の 40 %が食パン仲種の初期醱酵力が強い傾向を示した (表68)。しかし, DO濃度を制御して培養した場合, パン酵母の食パン仲種の初期醱酵力に差が認められなかった (表69)。これらの結果から, DO濃度は指数期末に飽和濃度の 10 %以上確保することが食パン仲種の初期醱酵力にも必要であると考えられる。

(4) 食パンホイロの所要時間

培養中の DO 濃度の違いによって食パンホイロの所要時間に差が認められなかった (表67, 68, 69)。

(5) 菓子パンホイロの醱酵力

指数期の DO 濃度とパン酵母の菓子パンホイロの醱酵力との関係は, DO濃度は飽和濃度の 10 %以下で培養したパン酵母の菓子パンホイロの醱酵力が強く (表67), 熟成期の DO 濃度の培養結果では飽和濃度の 10 %以上で培養したパン酵母の菓子パンホイロの醱酵力が強い傾向を示した (表68, 69) ことから, 指数期の DO 濃度を飽和濃度の 10 %以下の培養においては, 電極電位を測定して管理する方法がある⁵⁹⁾ が, 良品質のパン酵母を安定した収率で得るためには実際的でない。したがって, 培養全期間を通じて DO 濃度は飽和濃度の 10 %を下限として培養することが必要であると考えられる。

5. 糖蜜の流加法

パン酵母の培養における糖蜜の流加法には、終始糖蜜の流加を行う連続流加と、糖蜜流加を一時的に停止する間欠流加法がある。連続流加法は収率は良いが耐糖性が劣り、間欠流加法は収率は劣るが耐糖性が良いことがこれまで経験的に知られていた。本研究では、糖蜜の流加法とパン酵母の収率ならびに品質との関係を明らかにするため検討した。得られた結果に基づき、糖蜜の流加法とパン酵母の収率あるいは比増殖速度ならびに醗酵性能との関係について考察する。

(1) 収率あるいは比増殖速度

パン酵母の品質、とくに耐糖性を高めるために、間欠流加すると比増殖速度や収率が低下した(表71, 72)ことから、糖蜜の流加法はパン酵母の比増殖速度や収率に対する影響が大きく、指数期を連続流加し熟成期を間欠流加しても収率の低下は避けられなかった(表73, 74)。したがって、糖蜜を間欠流加する場合は連続流加する場合より糖供給速度を遅く設計する必要があると考えられる。

(2) 耐糖性

糖蜜を間欠流加して培養したパン酵母の耐糖性が高く(表71, 72, 73, 74)、間欠流加を培養全期間行ったものと、熟成期のみ行ったものでは培養全期間に渡って行った方が耐糖性が高かった(表74)。間欠流加の間隔は糖蜜を5分間流加し、25分間停止する30分間欠流加したパン酵母の耐糖性が最も高かった(表71)。これらの結果から、耐糖性の高いパン酵母を得るためには糖蜜の流加間隔を30分間欠として培養全期間に渡って間欠流加を行うことであると考えられる。糖蜜の間欠流加によって耐糖性が向上する理由は第5章第3節で明らかにする。

(3) 食パン仲種の初期醗酵力

糖蜜を間欠流加すると連続流加と比べ、食パン仲種の初期醗酵力が低下する場合(表72)と、差が認められない場合(表74)とがあった。第2章第1節第3項で述べたように、ethanolを炭素源としたパン酵母は食パン仲種の初期醗酵力が著しく弱い(表36)。間欠流加では培養中にethanolの生成が起こり、生成したethanolが再びパン酵母に資化されるが、その場合、関与する酵素系が異なるため、食パン仲種の初期醗酵力が低下すると考えられる。

(4) 食パンホイロの所要時間

糖蜜の流加法を連続と間欠を比較した結果では、データにばらつきがあるが、糖蜜を間

欠流加した方が短くなる傾向であった(表72, 73, 74)。

(5) 菓子パンホイロの醗酵力

糖蜜の流加法の違いによって、菓子パンホイロの醗酵力に差が認められ、間欠流加法で培養したパン酵母の方が連続流加法で培養したパン酵母より強かった(表71, 72, 73)ことから、糖蜜の流加方法によってパン酵母の解糖系に何らかの違いを生じるものと考えられる。

以上の結果より、食パン性能とくに仲種の初期醗酵を重視するユーザーには糖蜜を連続流加して培養したパン酵母を提供し、耐糖性を含めた菓子パン性能をとくに要求するユーザーに限っては30分間欠流加で培養したパン酵母を提供すると良いと考えられる。

6. 培地浸透圧

間瀬は培地浸透圧を高めて培養すると耐糖性、耐久性が良くなると予想している。⁴⁹⁾ 培地浸透圧を高める方法は、パン酵母の培養濃度を高める方法と培地に塩類を添加する方法が考えられる。本研究では、培地浸透圧とパン酵母の収率ならびに品質との関係を検討した。得られた結果に基づいて、培地浸透圧と収率あるいは比増殖速度、パン酵母の醗酵性能との関係について考察する。

(1) 収率あるいは比増殖速度

培地浸透圧を高めるための、パン酵母の培養濃度を上げる方法(表75)、あるいはNaClを添加する方法(表77)はどちらも収率が低下し、NaClの添加時期は培養始発時添加が熟成時添加より収率が低く(表87)、添加濃度の上昇にともない収率が低下する傾向を示した(表85, 86)ことから、酵母の収率は培地浸透圧の影響を受けるものと考えられる。

(2) 耐糖性

培養酵母濃度を高めることによってもパン酵母の耐糖性を高くすることは可能である(表75)が、向上幅は小さい。一方、NaClなどの塩類を添加してパン酵母を培養すると、耐糖性が大幅に向上し、効果が大きい塩類はNaClと Na_2SO_4 であった(表76)。塩類が耐糖性を向上する効果は、塩類による酵母細胞の処理では効果がなく(表81)、塩類を添加して培養した効果であると考えられる。NaClと Na_2SO_4 の最適添加量はそれぞれ3%と4%であり(図20)、NaCl1%と Na_2SO_4 2%添加がパン酵母の耐糖性において、ほぼ等しい成績を示した(表83)ことは、NaCl1%と Na_2SO_4 2%添加はモル濃度に換算すると、ほ

ば等しい浸透圧となり、⁶⁰⁾ 培地浸透圧上昇が耐糖性向上に効果を示したものと考えられる。NaClを培養始発時に添加した場合が最も効果が大きい(表87)ことは、高い培地浸透圧に接する酵母細胞の世代交代数の多い方が良いと考えられる。添加濃度 1.5~2.0 %で培養したパン酵母の耐糖性が最も高く(表85, 86)、耐糖性向上のためには NaCl の添加が必須であり、その添加濃度は 1.5~2.0 %であると考え。培地浸透圧の耐糖性向上効果は単なる浸透圧に耐性のあるパン酵母を作り出したためなのか、解糖系の反応を速める効果を与えるものかについては、第5章第3節で明らかにする。

(3) 食パン仲種の初期醱酵力

パン酵母の培養濃度を上げる方法は食パン仲種の初期醱酵力向上に効果を示さなかった(表75)ことは、培地浸透圧の上昇が少ないためであると考え。NaClを添加する方法は食パン仲種の初期醱酵力向上に効果を示し、添加時期は培養始発時に添加すると、その効果が強く表れ(表87)、添加濃度 0.75 %以上で向上効果は横這いになった(表85, 86, 図21)。食パン仲種の初期醱酵力に対する培地浸透圧の効果の理由は、NaCl添加により maltose醱酵が高くなっている(表85, 86)ことから、解糖系の活性が向上するものと考えられる。

(4) 食パンホイロの所要時間

培養酵母の濃度を高めた場合は食パンホイロの所要時間に差は認められず(表75)、NaCl添加による培地浸透圧上昇により食パンホイロの所要時間が短縮した(表85, 86)ことから、培養濃度を上げる方法では浸透圧の上昇が十分でないと考え。NaClの添加濃度は 1.5~2.0 %が最も効果を示し(表85, 86)、添加時期は培養始発時添加で効果が大きかった(表87)。NaCl添加による食パンホイロの所要時間の短縮は解糖系酵素活性の向上によるものと考え、その点を第5章第3節で明らかにする。

(5) 菓子パンホイロの醱酵力

NaCl添加によって菓子パンホイロの醱酵力に差が認められなかった(表85, 86)ことは、耐糖性は培地浸透圧によって高くなるが、仲種法による菓子パンの製造を行う場合、獲得した耐糖性がそのまま菓子パン性能に反映しないものと考えられる。

第8節 要約

本章では、培養条件によるパン酵母の収率ならびに品質の改良を目的とし、種菌の培養条件、製品培養の温度、培養 pH、溶存酸素、糖蜜の流加法、培地浸透圧とパン酵母の収率ならびに製パン性能との関係を検討した。

1. 種菌の培養条件

種酵母としての能力を知るために、酵母の増殖ステージの違い、種培養の温度ならびに種酵母の成分、種菌クリームの貯蔵期間が製品培養の収率あるいは比増殖速度、製品の醗酵性能に及ぼす影響を検討した。

種菌は熟成していないものを用いると、製品培養で比増殖速度が速く、収率あるいは醗酵性能が高いパン酵母が得られた。種培養の温度ならびに種酵母の成分と比増殖速度との関係は得られなかった。また、種菌クリームの貯蔵期間の経過とともに製品培養の比増殖速度や耐糖性が低下した。

2. 培養温度

実用上の最適温度を決定することを目的にして、指数増殖期の温度と比増殖速度との関係、熟成期の温度とパン酵母の醗酵性能との関係を検討した。

指数期の温度は 30℃より高いと比増殖速度が速くなった。熟成期の温度は 30℃で培養したパン酵母の食パンと菓子パン性能が良かった。実用上の最適培養温度は 30℃であった。

3. 培養 pH

培養 pH とパン酵母の収率ならびに品質との関係を明らかにするため、窒素源の種類を使い分けによって培養 pH を変えた場合と、酸あるいはアルカリを用いて培養 pH を変えた場合のパン酵母の収率ならびに醗酵性能との関係を検討した。

培養 pH は 5.0~7.0 の範囲を比較した。収率には差が認められなかった。培養 pH は無糖生地初期醗酵力と耐糖性に影響し、高い pH で培養すると無糖生地初期醗酵力が低く、耐糖性が高くなる傾向が認められた。培養 pH とその他の製パン性能との関係は認められなかった。

4. 溶存酸素濃度

DO濃度とパン酵母の収率ならびに品質との関係を明らかにするため、培養全期間と熟成期について攪拌数を一定で培養する。あるいは、熟成期については攪拌数を変え、DO濃度

を制御し、培養時の DO 濃度とパン酵母の収率および醗酵性能との関係を検討した。

指数期の DO 濃度が耐糖性に影響し、DOが不足すると耐糖性が低下した。指数期の DO 濃度が飽和濃度の 10 %以上確保され、熟成期の DO が飽和濃度の 10 ~50%の範囲内では耐糖性、菓子パン性能に差が認められなかった。培養全期間を通じて DO 濃度は少なくとも培地飽和濃度の 10 % (約 0.6ppm)以上を確保することが必要である。

5. 糖蜜の流加法

糖蜜の流加法 (連続流加と間欠流加) とパン酵母の収率および醗酵性能との関係を明らかにするため、培養全期間と熟成期について、糖蜜の流加法を検討した。間欠流加については糖蜜の流加間隔も比較した。

糖蜜を間欠流加すると収率の低下は避けられなかった。流加間隔を狭めたり、熟成期のみを間欠流加すると収率の低下幅が小さくなった。耐糖性と製パン性能は培養全期間 30 分間欠流加したパン酵母が最も良かった。間欠流加の流加間隔を狭めたり、熟成期のみを間欠流加すると、全期間 30 分間欠流加と連続流加の中間の耐糖性ならびに製パン性能を示した。

6. 培地浸透圧

培地浸透圧とパン酵母の収率および醗酵性能との関係を知るため、酵母の培養濃度、添加塩類の選択、NaClの添加濃度ならびに添加時期とパン酵母の収率および醗酵性能との関係を検討した。

パン酵母の培養濃度を高くすると、収率は低下するが、maltose の醗酵、耐糖性、食パン仲種の初期醗酵、菓子パン比容積が向上した。しかし、その向上幅は小さかった。

塩類添加により浸透圧を高める場合、耐糖性向上に効果を示した塩は Na-acetate , Na-citrate, NaCl, NaNO₃ , KCl , CaCl₂ , Na₂SO₄, K₂SO₄ であった。酵母クリームを NaCl で処理しても耐糖性向上に効果を示さなかった。

NaClを 1.0~2.0 %培養始発時に添加して培地浸透圧を高めて培養すると、収率が低下するが、maltose の醗酵、耐糖性、食パン仲種の初期醗酵が向上し、食パンホイロの所要時間が短縮し、菓子パン性能は変わらなかった。

本章で検討した種菌の培養条件、製品培養の温度、pH, DO濃度、糖蜜の流加法、培地浸透圧のうち、パン酵母の収率と品質に対して影響が大きかった条件は糖蜜の流加法と培地浸透圧であった。

第4章 パン酵母製造の生物工学的研究

パン酵母の培養工学に関して、嶋田は以下に述べる内容のことを総説している。²⁾

種培養の最終 (F-05) ならびに製品培養 (F-06) においては、大量に酵母を培養するため、大型醗酵槽が使用される (表4)。⁶¹⁾ 通常、製品培養の条件は、温度 30 ~ 35°C、pHは 4~6 であり、糖蜜はパン酵母の増殖に応じて流加される。培養時間は 12 ~ 16時間で、この間に酵母菌体は種酵母の 4~5 倍量に増加し、1回の培養で5トン程度の菌体が製造される。パン酵母は増殖に大量の酸素を必要とするため、通気攪拌槽が用いられる。培養温度はパン酵母自身の増殖のみならず、製パン性能にも影響を与える (表62) ため、培養の温度管理が必要であり、醗酵槽に冷却装置が備えられている。

糖蜜の流加法は指数的流加培養法がパン酵母の培養に用いられる。指数的流加培養法は酵母菌体の指数的増殖にともなう菌体量の変化に合わせて糖蜜を指数的に増量流加するものである。パン酵母の製造にとって、ethanol の生成を抑制することと、呼吸量に応じて十分なエネルギーを与えることが必須である。指数的流加培養法は、糖の過剰流加が防止され、一般にパスツール効果といわれる呼吸抑制が起こらず、また、ethanol の生成が抑えられ菌体収率が上げられることから、パン酵母の培養に採用されている。^{62, 63)} 近年、菌体収率の向上を目的とし、糖流加の最適量を決定する制御方法が種々検討され、培地の DO 濃度による方法、^{64, 65)} 呼吸商 (RQ) による方法、^{66, 67)} ethanol 生成量による方法⁶⁸⁾ などが報告されている。現在では、RQ制御や ethanol制御による流加培養法がパン酵母の生産に用いられるようになっている。最近、さらに大量に安くパン酵母を生産する方法として、代謝産物を除去して流加培養を行う高濃度菌体培養法、⁶⁹⁾ 純酸素を通気して酵母の酸素要求を満たす培養法、⁷⁰⁾ が試みられている。RQ制御や ethanol制御においては、酵母の増殖に適合した糖の流加管理をコンピューターを用いて行うオンライン制御法⁷¹⁾ などがある。

本章では、パン酵母の糖供給速度と比増殖速度、パン酵母の酸素要求と供給速度など、パン酵母製造の生物工学的研究を行った結果を述べる。

第1節 糖供給速度とパン酵母の比増殖速度

糖蜜の流加速度はパン酵母の培養で最も重要であり、流加不足あるいは流加過剰はパン酵母の収率を減少し品質を低下する。流加過剰条件下では、パン酵母が ethanolを生成することが知られている。ethanol がいったん生成すると、その後のパン酵母の好気的な同

化が遅れるので、菌体収量を最大にするためには ethanol の生成を最小に抑える必要があり、培養液中の ethanol 濃度は 0.1% 以下、望ましくは 0.05 % 以下に保たねばならないとされている。¹⁶⁾

糖蜜流加はあらかじめ設定されたプログラムに従って行われるが、最近では菌体収率を最大にするために、糖蜜流加をパン酵母の増殖に合わせて制御する多数のフィードバックシステムが報告されている。報告されているそれらは残糖濃度、⁷²⁾ RQ、⁶⁶⁾ DO 濃度、ethanol 濃度、排気ガス中の CO₂ 濃度、増殖の生成熱、菌体濃度⁷³⁾ の測定などがあり、それらを組み合わせて制御に用いられている。⁶⁷⁾ フィードバックシステムは糖蜜の流加速度の決定に応用されるばかりでなく、攪拌数、通気量や通気ガス中の酸素濃度の制御にも用いられる。フィードバックによる糖蜜流加はオンオフ制御、PID 制御が用いられ、最近ではファジー制御も検討されている。しかし、これらの方法は収率を最大にすることには役立つが、パン酵母の性能を制御することは不可能であるといわれている。コンピュータを用いた酵母増殖の数式化も多数行われ、^{74, 75)} 流加回分培養の培地流加の数式化も試みられている。⁷⁶⁻⁷⁸⁾ 数式に基づく制御はパン酵母の増殖工程を設計する上で有用であると考える。

本節では、種培養工程の設計資料を得るため、糖蜜を流加しない回分培養における培地糖濃度とパン酵母の増殖との関係、製品培養設計のため、流加培養における糖供給速度と比増殖速度の関係、⁷⁹⁾ 培養始発時糖濃度と比増殖速度、収率ならびに品質との関係を検討した結果を述べる。

本研究では、まず、種酵母の培養は回分培養の純粋培養 (F-01, 02, 03) を経て、糖蜜を流加する種培養 (F-04, 05) へと順次スケールを大きくして行く。糖蜜を流加しない回分培養における培地糖濃度とパン酵母の増殖との関係を知ることは純粋培養工程の装置設計と運転計画の作成に必要であることから、回分培養において酸素供給が制限されない条件で、始発糖濃度とパン酵母の増殖との関係を調べた。

次いで、糖蜜を流加培養する製品培養において、増殖の伸びに重きを置く指数増殖期と、糖の流加を制限して品質の向上に主眼を置く熟成期とがある。指数増殖期の条件が収量に大きく影響するので、パン酵母の増殖速度を速め、生産率を高めることが経済上重要である。一方、培養の後半から終了の熟成期には、酵母細胞を熟成させるため糖の供給を抑える。この熟成は出芽を抑え、娘細胞の生育を図って娘細胞率を下げ、炭水化物とくに trehalose の含量を高め、耐糖性、耐久力の優れたパン酵母を得るために行うものである。

糖の供給を制限すると収率が低下することは経験的に知られている。糖蜜の流加量を設計する上で、指数増殖期ならびに熟成期の糖供給速度と比増殖速度あるいは収率との関係を明らかにしておくことが必要であることから、指数増殖期ならびに熟成期の糖供給速度とパン酵母の比増殖速度ならびに収率との関係を検討した。

次に、パン酵母の増殖は誘導期、指数増殖期、熟成期に分けられ、誘導期の前半は同調的に、誘導期の後半はやや同調的に増殖し、やがて cell age の分布によって、この同調性がくずれて非同調的となり、指数増殖期に入ることが知られている⁵⁴⁾ ことから、パン酵母の誘導期の増殖に影響を与えると考えられる培養始発時の糖濃度について、始発時糖濃度とパン酵母の比増殖速度、収率ならびに品質との関係を検討した。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：回分培養における培地糖濃度と比増殖速度の実験は2ℓ用ミニジャーを用い、培養液1ℓ、通気量2ℓ/min、攪拌数1,300rpm、30℃。糖蜜はケーン糖蜜を用いた。窒素ならびにリン酸源に urea と $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を用いた。

糖蜜の流加培養における糖供給速度と比増殖速度の実験は10ℓ容ジャーを用い、ケーン糖蜜20%を混合したHB糖蜜を流加した。指数期の糖供給速度の実験は種酵母量10.2gを供試し、糖供給速度0.412~0.635g sugar/g yeast hr で9時間流加培養した。DO 1.0~2.0ppm、pH 4.0~4.5、温度 33 ± 0.5 °C、生成する酵母の P_2O_5 を2.5%になるようにリン酸を培養始発時に添加した。窒素は流加糖量の4%を流加した。熟成期の糖供給速度の実験では指数期末培養の酵母30gを出発酵母とし、糖供給速度0.088~0.176g sugar/g yeast hr で4時間培養した。

培養始発時糖濃度とパン酵母の比増殖速度、収率ならびに耐糖性との関係の実験は10ℓ容ジャーを用い、流加糖蜜はケーン糖蜜20%を混合したHB糖蜜を用いた。培養始発時の糖濃度を0、1と3%とし、糖濃度0%は培養開始時から、1%は1時間後、3%は2時間後から糖蜜を設計比増殖速度 0.250hr^{-1} で流加した。

培養始発時の糖濃度とパン酵母の収率ならびに品質との関係の実験は2ℓ容ミニジャーを用い、流加糖蜜にケーン糖蜜を用いた。流加開始時間は上記した試験に準じ、0.5%は培養開始30分後、1.5%は1時間30分後から流加した。

分析：ethanolの定量はガスクロマトグラフ法を用いた。

実験結果

種培養槽設計資料に必要な回分培養における培地糖濃度と比増殖速度の関係を知らるために始発糖濃度を 2.5, 5.0, 7.5, 10.0%として培養し、得られたパン酵母と分離液の分析値を表88に示した。また、pH, 酵母濃度, ethanol 濃度の経時変化を図22に示した。pHは培養の進行とともに低下し、末期には上昇した。培地糖濃度の低い方が pH の上昇は早かった。パン酵母の増殖は培養の進行とともに増加し、増殖の停止にともない pH が上昇した。ethanol 濃度はパン酵母の増殖と同様の变化を示した。ethanol 濃度が2%を超えるとパン酵母の増殖抑制が認められた。培地糖濃度と収率, 最大比増殖速度, 最大 ethanol 濃度との関係では、収率は培地糖濃度が増すと低下する傾向であった(図23)。最大比増殖速度も収率と同様に培地糖濃度が増すと低下する傾向であった(図24)。最大 ethanol 濃度は培地糖濃度が増すと増加する傾向が認められた(図25)。

糖蜜を流加する培養における、指数増殖期の糖供給速度とパン酵母の比増殖速度との関係の結果ならびに糖消費係数(糖供給速度/酵母増殖速度)と収率を表89に示した。糖供給速度を高めると、パン酵母の比増殖速度が上昇し、糖供給速度 0.529~0.558g sugar/g yeast hr での比増殖速度 0.224hr^{-1} が最高値であった。糖供給速度をさらに高めると比増殖速度が低下した。糖供給速度 0.412~0.417g sugar/g yeast hr の範囲内では糖消費係数が 2.11 ~2.24と低く、収率も 49.61~52.26 %と高かった。糖供給速度が 0.471g sugar/g yeast hrを超えると収率の低下が認められた。

熟成期における最適糖供給速度を決定するため、糖供給速度と比増殖速度, 収率, 娘細胞率, trehalose 含量との関係を検討した結果を表90に示した。糖供給速度の減少により比増殖速度が低下した。糖供給速度が 0.088g sugar/g yeast hrのとき、収率が低く、trehalose 含量も低い結果であった。

パン酵母の培養における始発時の最適糖濃度を決定するため、始発時の糖濃度を 0, 1, 3%として培養した結果を表91に示した。培養始発時の糖濃度が 0, 1%では比増殖速度は変わらなかった。しかし、3%にすると比増殖速度が低下した。収率は始発糖濃度が高くなると低下する傾向が認められた。耐糖性は始発時の糖濃度が0%の時低く、1, 3%では変わらなかった。

培養始発時の最適糖濃度を決定するため、さらに範囲を狭め 0, 0.5, 1.0, 1.5%として培養した結果を表92に示した。収率は始発時糖濃度の試験した範囲では変わらなかった。培養始発時の糖濃度を上げると、trehalose の蓄積が低下し、invertase 活性が増加する

表88 糖濃度を変えて回分培養したパン酵母ならびに分離液の分析値

糖濃度 (% as FS)	種菌量 (g as 32% DM)	パン酵母			分離液		
		N (%)	P ₂ O ₅ (%)	娘細胞率 (%)	Bx.	残糖 (%)	ethanol (%)
10	10	9.80	4.38	26.82	7.5	1.32	2.778
7.5	7.5	9.71	4.82	28.89	5.4	0.96	2.073
5	5	9.70	4.97	14.29	3.9	0.69	1.589
2.5	2.5	8.16	4.50	20.00	2.2	0.36	1.002

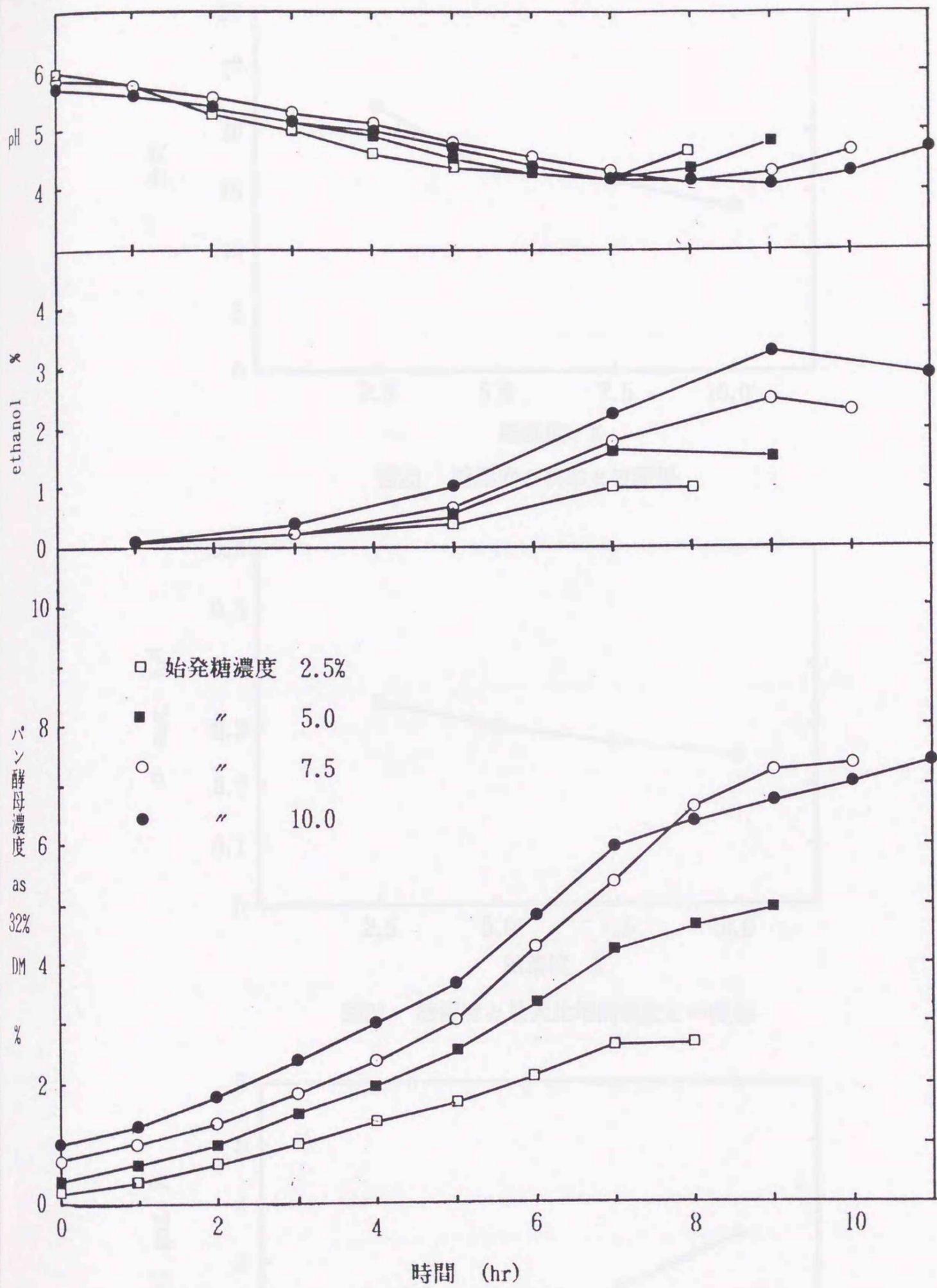


図22 回分培養における糖濃度の違いによる
pH, 酵母濃度, ethanol 濃度

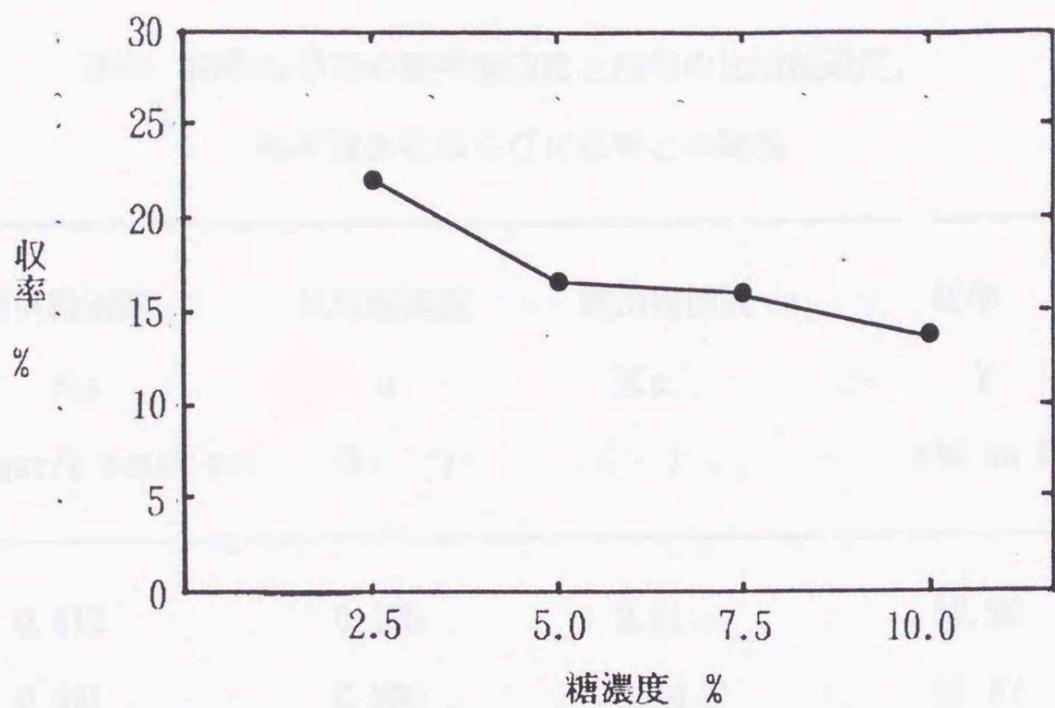


図23 糖濃度と収率との関係

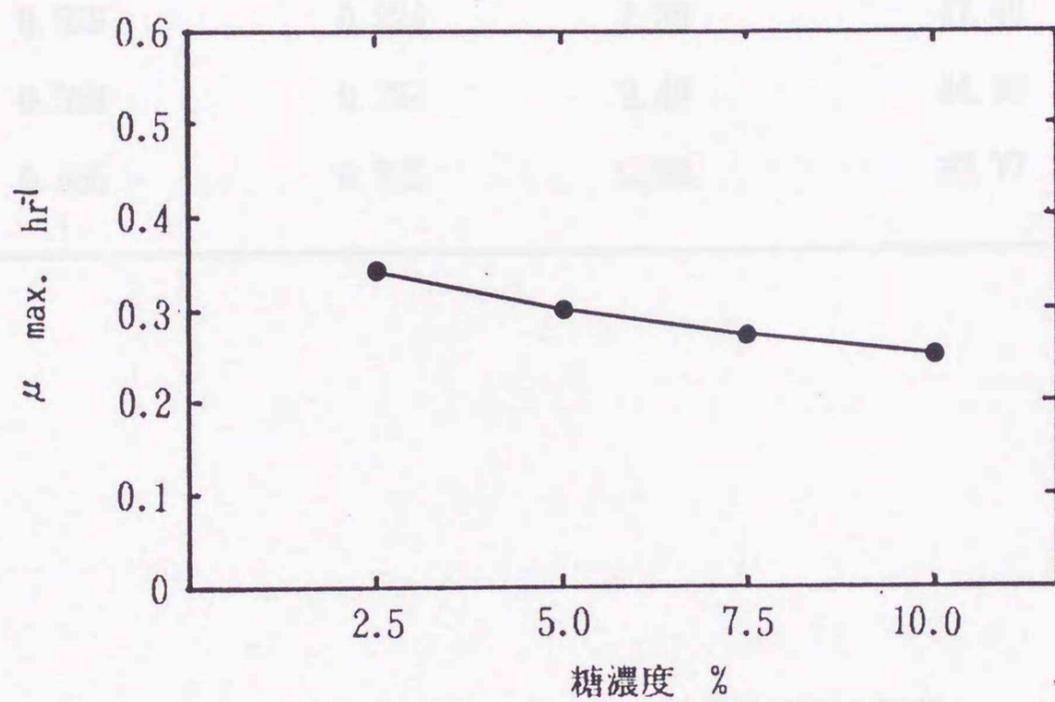


図24 糖濃度と最大比増殖速度との関係

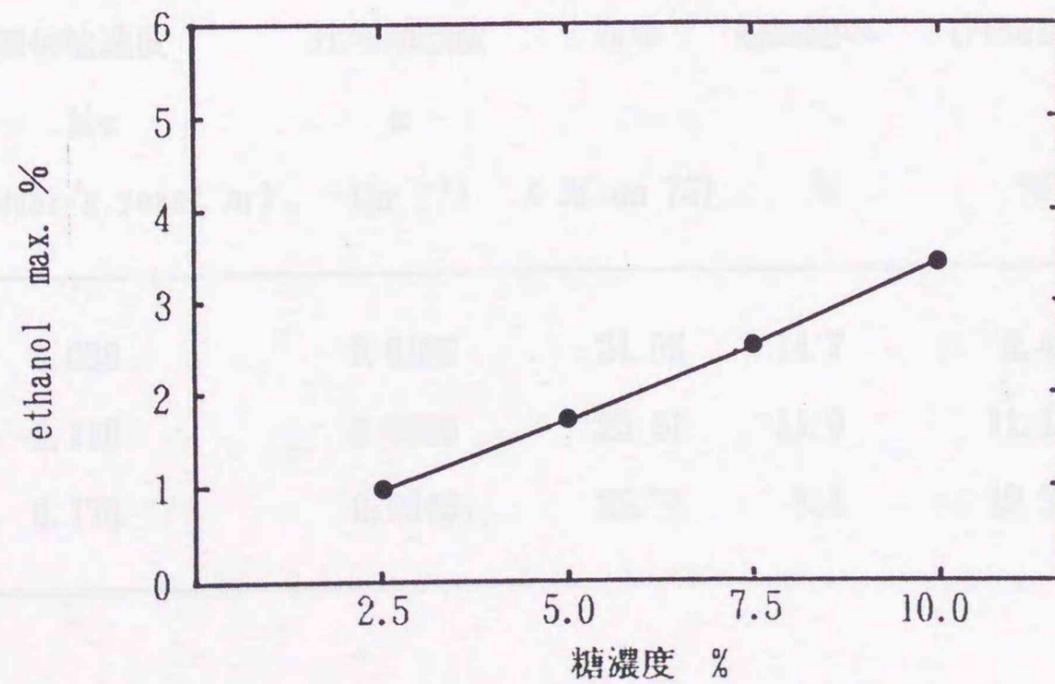


図25 糖濃度と最大 ethanol濃度との関係

表89 指数増殖期の糖供給速度と酵母の比増殖速度,
糖消費係数ならびに収率との関係

糖供給速度 Ks (g sugar/g yeast hr)	比増殖速度 μ (hr ⁻¹)	糖消費係数 Kc (-)	収率 Y (% on FS)
0.412	0.195	2.11	52.26
0.441	0.206	2.14	51.87
0.471	0.210	2.24	49.61
0.529	0.224	2.36	47.46
0.558	0.224	2.49	44.99
0.635	0.215	2.95	37.77

表90 酵母の熟成度に対する熟成期の糖供給速度の影響

糖供給速度 Ks (g sugar/g yeast hr)	比増殖速度 μ (hr ⁻¹)	収率 (% on FS)	娘細胞率 %	trehalose %
0.088	0.0189	21.68	14.7	9.41
0.118	0.0300	25.81	11.9	11.16
0.176	0.0443	25.74	8.4	12.38

表91 培養始発時の糖濃度とパン酵母の比増殖速度,
収率, 耐糖性との関係

始発時糖濃度 (%)	比増殖速度 (hr ⁻¹)	収率 (%)	高糖生地 (ml)
0 (流加)	0.211	51.29	395
1	0.211	51.06	435
3	0.198	50.68	434

表92 始発時糖濃度とパン酵母の収率ならびに品質

項目	単位	始発時糖濃度 %			
		0	0.5	1.0	1.5
収率	%	54.64	57.10	55.30	55.02
trehalose	%	13.73	12.27	12.24	12.11
娘細胞率	%	2.73	1.04	3.77	5.98
M ₈	mg	219	206	211	209
invertase	ml	2.97	3.04	3.05	3.41
高糖生地	ml	405	410	440	420
食パン仲種 90分	ml	1,900	2,000	1,950	1,900
“ ホイロ	分	55	53	52.5	52.5
菓子パンホイロ	ml	380	380	375	375
“ 比容積	-	5.13	5.00	4.96	5.00

傾向が認められた。始発時糖濃度 1.5%で娘細胞率がやや高かった。耐糖性は 1.0%が高かった。始発時糖濃度 1.0, 1.5 %は食パンホイロ所要時間が短く、菓子パン比容積が低下する傾向であった。

$$OAB = E_2 \times C$$

第2節 パン酵母の酸素要求と供給速度

パン酵母製造の目的は菌体の生産であるから、高収率である好気条件で培養が行われ、厳密な好気条件下でとりうる最高の収率は $0.54 \text{ g yeast/g sugar}$ であるとされている。

16) 最大の収率を得るためには、比増殖速度は 0.20 hr^{-1} を超えず、培養液中の基質量は所定限度量以上存在してはならない。比増殖速度 0.20 hr^{-1} 以下のとき、RQは約1であり、比増殖速度が高い場合 (0.23 hr^{-1} 以上) に CO_2 の発生が加速し、RQの値が高くなり、醗酵性糖から ethanol が生成する。^{80, 81)}

100gの sucrose から 50gの酵母固形分が得られるという仮定のもとでは、パン酵母の増殖に必要な酸素量は生成酵母 1.0g 当たり約 1.0g である。^{82, 83)} 培養系内の酸素移動速度 (OAR) は

$$\text{OAR} = \text{KLa} \times \text{C}$$

で示される。ただし、OAR : 酸素移動速度 ($\text{milli mole O}_2/\ell \text{ hr}$) , KLa : 酸素移動容量係数 ($1/\text{hr}$) , C : 液相中の飽和溶存酸素濃度と実測の溶存酸素濃度の差 ($\text{milli mole O}_2/\ell$) である。酸素移動速度の測定は亜硫酸酸化法で可能である⁸⁴⁾ が、培養槽の亜硫酸酸化法の値は培養の真の要求酸素を示す指標にならない⁸⁵⁻⁸⁷⁾ ため、実際の培養での排気ガスの酸素濃度から得られる酸素吸収速度の値と溶存酸素濃度とから培養槽の酸素移動能力を求めることが必要となる。得られた酸素移動速度を用い、攪拌所要動力を求め培養槽のスケールアップの基礎とすることができる。

糖の最適流加を決定する方法が、培地の DO 濃度、^{84, 85)} RQ、^{86, 87)} ethanol の生成量⁸⁸⁾ などの面から検討されてきた。現在では、RQ制御や ethanol制御による流加培養法がパン酵母の生産に用いられるようになっている。ただし、これらの方法は収率を最大にすることには役立つが、パン酵母の性能を制御することは現段階では不可能であると言われている。しかし、ethanol が生成するような糖の流加が行われ、収率が確保されないとパン酵母の性能も変化することも事実である。

本研究では、上述した知見をもとに、酸素移動速度と攪拌所要動力を知るため、パン酵母の増殖に必要な酸素量とその酸素量を供給するために必要な攪拌動力を測定した。また、RQ管理の可能性について熟成期の糖蜜の流加量を変えた培養を行い検討した。

実験方法

供試菌株 : ニッテン汎用のパン酵母株

培養 : 糖供給速度とパン酵母の酸素吸収速度との関係の実験には 10 ℓ 容ジャーを、パ

ン酵母の増殖量と酸素吸収量との関係の実験には 160 m³培養槽を、酸素供給のための攪拌所要動力の測定には 20 m³培養槽を用いた。糖蜜流加の R Q 管理の実験には 20 l 容ジャー (ミツワ理化学工業製) を用い、ケーン糖蜜を培養の前半比増殖速度 0.160 hr⁻¹ で流加し、パン酵母が所定濃度になった時点からその時の糖蜜流加量を終了まで継続して流加した。

分析ならびに測定：排気ガス中の酸素濃度の測定は 10 l 容ジャーでは溶存酸素分析計 (ベックマン社製 777型)、160 m³培養槽では排ガス中 CO₂、O₂分析装置 (日立-堀場社製 ENDA-824) を用いた。攪拌所要動力は消費電流を測定し計算により求めた。R Q と O A R は排ガス中の CO₂・O₂分析装置 (日立-堀場社製) により、培養時の排出ガス分析から求めた。品質試験は製品酵母をコントロールとし、培養サンプルと比較した。

実験結果

1. パン酵母の酸素要求と供給速度

糖の供給量とパン酵母の酸素吸収速度との関係を知るため、指数増殖期の酸素吸収速度を測定した結果を表93に示した。培養が進行して単位時間当たりの糖の供給が多くなると、糖供給速度に対する酸素吸収速度の比が低下したが、平均で 0.51g O₂/g sugar であった。また、パン酵母の増殖速度に対する酸素吸収速度の比は糖供給が少ない培養の初期を除いて、約 1.0 Kg O₂/Kg yeast であった。

パン酵母の増殖に必要な酸素量を知るため、パン酵母の酸素吸収量を種培養 (F-05) と製品培養 (F-06) のそれぞれについて測定した結果を表94に示した。種培養の平均酸素吸収量は 32.35 mole O₂/Kg yeast が得られ、製品培養においては培養 8 時間目の 71.3 mole O₂/Kg yeast という異常値を除いて、平均 31.6 mole O₂/Kg yeast、すなわち、1.0 Kg O₂/Kg yeast の酸素要求量であった。

酵母 1 Kg が増殖するのに必要な酸素を供給するための攪拌所要動力を知るため、20 m³培養槽 (F-04) の培養において、DO 濃度 0.6 ppm を確保し得なくなった時間の各種データ (通気量、攪拌翼回転数、液量、酵母濃度、比増殖速度、消費電流) を測定した結果を表95に示した。代表例として 2 例目の通気量 14 Nm³/min、液量 13.2 m³、回転数 170 rpm、酵母濃度 23g/l、比増殖速度 0.125 hr⁻¹、電圧 420V、消費電流 38A を用いて攪拌所要電力を計算した。

投入動力 38 A × 420 V = 15.96 KW

単位体積当たりの動力 15.96 KW / 13.2 m³ = 1.209 KW/m³

表93 糖供給速度とパン酵母の酸素吸収速度

糖供給速度	酵母増殖速度	酸素吸収速度		
K_s	K_x	Q_{O_2}	Q_{O_2}/K_s	Q_{O_2}/K_x
g/hr	g/hr	g/hr		
14.8	4.17	7.82	0.53	1.88
18.0	7.91	10.46	0.58	1.32
21.8	12.33	12.34	0.57	1.00
26.6	13.51	14.23	0.53	1.05
32.6	16.32	14.75	0.45	0.90
40.0	17.68	18.97	0.47	1.07
49.2	22.70	21.94	0.44	0.97

表94 パン酵母の増殖に必要な酸素量

培養 時間 hr	種培養		製品培養	
	酵母増殖量 Kg/hr	酸素吸収量 mol O ₂ /Kg yeast	酵母増殖量 Kg/hr	酸素吸収量 mol O ₂ /Kg yeast
0	-	-	-	-
1	56	49.1	-	-
2	78	41.7	406	14.0
3	144	26.0	183	45.1
4	146	29.1	234	42.7
5	180	26.4	407	28.3
6	196	26.8	403	31.0
7	161	35.7	490	28.1
8	214	30.4	214	71.3
9	275	28.2	-	-
10	293	30.7	440	36.9
11	314	32.6	-	-
12	258	46.5	439	26.8
13	390	34.6	-	-
14	436	32.7	-	-
15	-	-	-	-
16	306	47.4	-	-

表95 20m³ 培養槽において DO 0.6ppmを確保し得なくなった
培養経過時間での操作条件

培養時間	通気量	攪拌数	液量	酵母濃度	比増殖速度	消費電流
hr	N m ³ /min	rpm	m ³	Kg/ m ³	hr ⁻¹	A
13	14	170	13.2	22.3	0.125	38
12	14	170	13.2	23.0	0.125	38
14	12	170	12.8	24.0	0.123	38

表96 20m³培養槽において培養の進行にともない
DO 1.0 から 0.6ppm に変化した時の操作条件と酵母量

培養時間	液量	攪拌数	通気量	DO	酵母量
hr	m ³	rpm	N m ³ /min	ppm	Kg
11:20	12.7	170	14	1.0	189.84
12:40	13.0	170	14	0.6	228.62

1時間当たりの増殖速度 $\epsilon^x = 1.133 \text{ hr}^{-1}$

” 増殖量 $23 \text{ Kg yeast} \times (1 - 1/1.133) = 2.70 \text{ Kg yeast}$

酵母増殖量当たりの動力 $1.209 \text{ KW} / 2.70 \text{ Kg yeast} = 0.448 \text{ KW/Kg yeast}$

” 正味動力 $0.448 \text{ KW/Kg yeast} \times 0.947 \times 0.85 \times 0.95 = 0.343 \text{ KW/Kg yeast}$

モーター効率 変速機効率 減速機効率

を得た。

また、DO濃度が 1.0から 0.6ppm に変化する間の測定結果 (表96) をもとに、上述と同様に計算すると、

比増殖速度 $\ln(228.62 \text{ Kg yeast} / 189.84 \text{ Kg yeast}) / 1.133 \text{ hr} = 0.139 \text{ hr}^{-1}$

1時間当たりの増殖速度 $\epsilon^x = 1.149 \text{ hr}^{-1}$

投入動力 $38 \text{ A} \times 420 \text{ V} = 15.96 \text{ KW}$

単位体積当たりの動力 $15.96 \text{ KW} / 13.0 \text{ m}^3 = 1.228 \text{ KW/m}^3$

” 酵母量 $228.6 \text{ Kg yeast} / 13.0 \text{ m}^3 = 17.59 \text{ Kg/m}^3$

時間当たりの酵母増殖量 $17.59 \text{ Kg yeast} \times (1 - 1/1.149) = 2.28 \text{ Kg yeast}$

単位酵母当たりの動力 $1.228 \text{ KW} / 2.28 \text{ Kg yeast} = 0.538 \text{ KW/Kg yeast}$

正味所要動力 $0.538 \text{ KW/Kg yeast} \times 0.947 \times 0.85 \times 0.95 = 0.411 \text{ KW/Kg yeast}$

モーター効率 変速機効率 減速機効率

を得た。

2. 糖蜜流加のRQ管理

パン酵母の培養において、RQによる糖蜜の流加管理が有効であるのかを知るため、熟成期の糖蜜の流加量を、(1)設計のまま、(2)8時間目に設計の9割に下げる、(3)8時間目9割とし、さらに9時間目に8割に下げるの3方式で培養したパン酵母の収率ならびに品質の結果を表97に、RQならびにOARの経時変化を図26に示した。収率は設計まま、9割方式、9-8割方式の順に向上した。娘細胞率は設計のままが高く、熟成不良であった。食パンならびに菓子パン性能は9割方式が良かった。9-8割方式は菓子パン比容積が低下した。終了前2時間のRQ値はいずれの培養も1.05~1.10を示した。

表97 パン酵母の収率ならびに品質に対する熟成期の糖蜜流加量の影響

項目	単位	熟成期糖蜜流加量					
		標準		標準 - ×0.9		標準 - ×0.9 - ×0.8	
		実測値	対製品比	実測値	対製品比	実測値	対製品比
収率	%	50.29	-	52.29	-	56.24	-
trehalose	%	7.71	0.81	10.55	0.85	8.11	0.87
娘細胞率	%	17.7	-	2.3	-	8.6	-
M ₈	mg	273	1.13	299	1.50	260	1.11
maltase 活性	mg	23.97	0.83	18.77	1.09	18.96	0.58
invertase 活性	mg	186.4	1.31	158.4	1.00	170.5	1.28
高糖生地	ml	345	0.99	355	0.92	370	0.90
食パン仲種 60分	ml	260	1.13	250	1.06	250	1.00
” ホイロ	分	50.5	1.01	50.0	0.99	50.5	0.99
菓子パンホイロ	ml	450	1.01	445	1.02	445	0.99
” 比容積	-	5.64	1.00	5.80	1.11	5.32	0.93

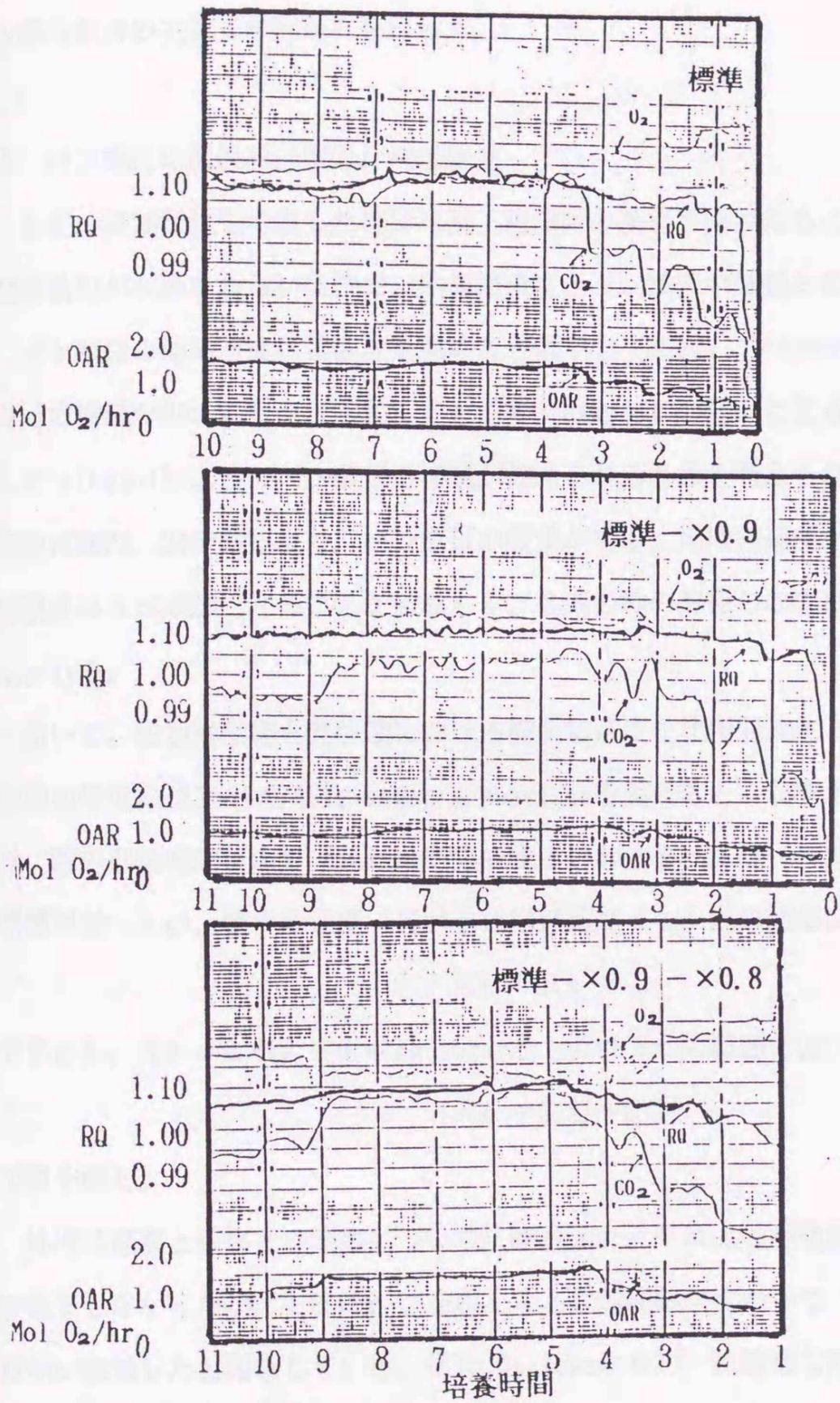


図26 糖蜜流加量の変化と培養時のOAR, RQの変化

第3節 考察

本章では、パン酵母の糖供給速度と比増殖速度、パン酵母の酸素要求と供給速度などパン酵母製造の生物工学的研究を行った。

1. パン酵母の糖供給速度と比増殖速度

まず、実装置化を考慮した純粋培養工程設計の基礎を得るために、回分培養において、酸素供給が制限されない条件で、始発糖濃度とパン酵母の増殖との関係を調べた。

パン酵母の増殖速度は糖濃度を高めると低下し(図24)、ethanolの濃度の増加に伴って増殖が抑えられた(図25)ことから、ethanolの生成による糖の消費ならびに生成したethanolによってパン酵母の増殖が抑えられるものと考えられる。純粋培養工程の糖濃度は図23, 24の結果より、パン酵母の収量が多く、比増殖速度が速く、収率が高い始発糖濃度は6%未満とすることが望ましく、6%の時の酵母の収率は16% on FSであると推定される。

次いで、指数増殖期と熟成期における糖供給速度と比増殖速度との関係を調べ、指数増殖期の糖供給速度が0.471g sugar/g yeast hrを超えると、収率が低下した(表89)ことは、糖の供給過剰によりethanolが生成するいわゆるパスツール効果であると考えられる。糖消費係数(Kc)、糖供給速度(Ks)と比増殖速度(μ)との関係は

$$Kc = Ks / \mu$$

で示され、 $Ks = 0.412 \sim 0.471$ g sugar/g yeast hrの範囲では

$$Kc = 2.11 \sim 2.24$$

の値を得た。

比増殖速度と収率との関係について、Meyenburg⁸⁰⁾は比増殖速度 0.230hr^{-1} までは収率が低下しなかったが、 0.250hr^{-1} を超えると代謝経路が変わってパスツール効果が起こり収率が激減したと報告している。またDellewegら⁸¹⁾は厳密な好気条件下で可能な最高収率は54%であり、比増殖速度 0.250hr^{-1} 以下に保たねばならないとしている。収率については、50~52%が得られている。⁵⁾本研究では、糖供給速度 $0.412 \sim 0.471$ g sugar/g yeast hrの範囲内で、比増殖速度 $0.195 \sim 0.210\text{hr}^{-1}$ 、収率49.61~52.26%であったことから指数増殖期における実用上の最大糖供給速度は 0.471 g sugar/g yeast hrであり、比増殖速度 0.210hr^{-1} 、収率は50% on FSである。

熟成期の糖供給速度 0.088 g sugar/g yeast hrで収率が低く娘細胞率が高かった(表

90) ことから、パン酵母の増殖が抑えられたと考える。パン酵母が増殖せずに代謝を維持するためには、 $0.08\text{g sugar/g yeast hr}$ の糖が必要であるという Wang ら⁶⁷⁾ の報告があることから、糖供給速度 $0.088\text{g sugar/g yeast hr}$ では供給した糖がほとんど基礎代謝に消費され、増殖に回らなかったため熟成せず、娘細胞が多かったものと考えられる。熟成期の糖供給速度は $0.118\text{g sugar/g yeast hr}$ が最低限度であると考えられ、その条件での収率は約 25 %が期待できる。

さらに、パン酵母の誘導期の増殖に影響を与えると考えられる培養始発時の糖濃度について検討し、始発時糖濃度を 3 %とすると比増殖速度と収率が低下した(表91)ことは、ethanol が一旦生成するとその後の増殖が遅れるので、始発時糖濃度 3 %では ethanol が生成し比増殖速度と収率が低下したものと考えられる。始発時糖濃度 0~1.5 %の範囲では収率ならびに品質に大差なかった(表92)ことから、始発糖濃度が低い範囲では、始発糖濃度は酵母の比増殖速度、収率ならびに品質への影響をほとんど与えないものと考えられる。

2. パン酵母の酸素要求と供給速度

培養槽のスケールアップの基礎に必要な酸素移動速度と攪拌動力を求めるため、パン酵母の増殖に必要な酸素量とその酸素量を供給するために必要な攪拌動力を測定した。また、糖蜜流加の R Q 管理が可能性かどうかを知るため、熟成期の糖蜜の流加量を変えパン酵母の収率ならびに品質への影響を検討した。

まず、排気ガスの酸素濃度を測定し、パン酵母の増殖に必要な酸素量は酵母固形分 1Kg 当たり約 1Kg と推定した(表93, 94)。この結果は Harrison⁸²⁾, Mateles⁸³⁾の結果と一致した。

次いで、パン酵母の増殖に必要な酸素を供給する攪拌所要動力を2つの計算により(表95, 96), パン酵母 1Kgが増殖するのに必要な酸素を供給する攪拌所要動力は通気量 1VVM のとき、最低 0.343KW/Kg yeast であり、余裕をみると 0.411KW/Kg yeast であると推定した。この値はパン酵母の培養槽設計に役立つ重要なものであると考えられる。

さらに、糖蜜流加の R Q 管理の可能性を知るため、熟成時の糖蜜流加量を変えて R Q に変化を与え、パン酵母の収率と品質を調べ、糖蜜の流加量を培養 8 時間目から設計の 9 割に落とす方法が収率と品質が良かった(表97)。このことは、すでに述べたように、熟成時の糖供給速度の下限值が $0.118\text{g sugar/g yeast hr}$ であることから、あらかじめ最終の糖供給速度を $0.118\text{g sugar/g yeast hr}$ に設定し、R Q 値により糖蜜の流加量を微調整す

れば良いと考える。またRQ値による管理によって、収率の低下とパン酵母の品質の低下を防ぐことができ、安定した品質のパン酵母を製造することができると考えられる。

第4節 要約

回分培養である純粹培養の始発糖濃度の上限は収量と比増殖速度を勘案し6%であった。その時の収率は16% on FSであった。

指数増殖期の糖供給速度が0.412~0.471g sugar/g yeast hrの範囲内で、比増殖速度0.195~0.210hr⁻¹、収率49.61~52.26%であった。糖供給速度0.471g sugar/g yeast hrを超えると、収率が低下した。

熟成期の糖供給速度は0.088g sugar/g yeast hrでは熟成せず、0.118g sugar/g yeast hrが最低限度であった。その条件での収率は約25%であった。

培養始発時の糖濃度0~1.5%の範囲では、始発時糖濃度によりパン酵母の比増殖速度、収率ならびに品質は影響を受けなかった。

パン酵母の酸素要求量は1Kg O₂/Kg yeastであり、通気量1VVMの条件で、酸素要求を満たす攪拌所要動力は0.343 KW/Kg yeastあった。

培養の後半に糖蜜流加量を変えてRQを変化させたとき、RQを1に近づけた場合に収率が高かった。またRQが高い培養のパン酵母の品質は良くなかった。

第5章 パン酵母品質向上の生物化学的研究

これまで述べたように、パン酵母の耐糖性や製パン性能（食パン仲種の醗酵力、食パンホイロ所要時間、菓子パンホイロの醗酵力、菓子パン比容積）に及ぼす原料ならびに培養条件の主たる項目は下記のように要約できる。

流加糖蜜は、食パン仲種ではケーン糖蜜が良いのに対し、その他の項目ではHA糖蜜混合が良い。チアミンの添加は耐糖性、食パンホイロの所要時間、菓子パンホイロの醗酵力、菓子パン比容積を向上した。添加窒素源としては、食パンホイロ所要時間、菓子パンホイロの醗酵力、菓子パン比容積では $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が良い。また糖蜜の流加法に関しては、食パン仲種の醗酵力以外の項目では間欠流加法が良い。始発時の糖濃度は菓子パンホイロの醗酵、菓子パン比容積を除いては、始発時糖濃度 0.5~1.5 % が良い。培養 pH は、食パン仲種の醗酵力に関しては 5.0 が、耐糖性と食パンホイロ所要時間に関しては 6.5~7.0 が良い。NaCl 添加は、食パン仲種の醗酵力に関しては 0.75 % 添加が良いが、耐糖性と食パンホイロ所要時間に関しては 1.5 ~ 2.0 % 添加が良い。

これらの結果の多くは、単独の効果を検討した結果に基づいている。したがって各効果に対して重みづけを行い主要な効果を抽出する必要がある。しかも、実際の培養環境下では幾つかの効果が互いに作用を及ぼしながら単独では認められなかった効果を表すことも考えられる。本研究では、直交配列 (L16)⁸⁸⁾ を用いて、各種培養条件の主効果（単独効果）ならびに培養条件間の交互作用について検討を行い主要な効果を抽出した。また、主要な効果（糖蜜の流加法ならびに培地浸透圧）による品質改良の効果の機作を解明するため解糖酵素活性の測定と酵母の耐浸透圧性獲得の検討を行った。

第1節 パン酵母の品質改良の主要因

本研究では、パン酵母の醗酵性能向上に効果がある主な要因を抽出するため、直交配列 (L16) を用いて、各種培養条件の主効果（単独効果）ならびに培養条件の交互作用について検討した。なお本研究で対象とした培養条件は次の6項目（糖蜜組成、添加窒素源、培養 pH、糖蜜流加法、NaCl濃度、始発時糖濃度）である。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

実験計画：糖蜜組成、添加窒素源、培養 pH、糖蜜流加法、NaCl濃度、始発時糖濃度の

6項目を因子として取り上げ、直交表(L16)による実験計画を行った。実験因子とその水準を表98に、わりつけを表99に各々示した。表99に示したように、列番4には因子A(NaCl濃度)を、列番8には因子B(糖蜜の流加法)を、以下同様にわりつけを行った。なお列番1~3には実験日を割りつけた。

16通りの培養を4週間に渡って行った。すなわち、No. 1~4を第1週目に、No. 5~8を第2週目に、No. 9~12を第3週目に、No. 13~16を第4週目に各々培養し分析ならびに測定に供した。

培養方法：培養には2ℓ容ミニジャーを用いた。詳細は下記の通りである。

滅菌水800mlを仕込水として入れ、これに窒素源溶液50ml、5% KH_2PO_4 20ml、5% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶液5ml、ビタミン類(inositol 5mg, Ca-pantothenate 0.2mg, pyridoxine 0.1mg, biotin 30 μg)を添加し、種菌クリーム(乾物で8g)を接種した。

NaCl：水準1(0.75%)では10.5gを、水準2(2%)では28gを培養開始時に添加した。

糖蜜の流加法：水準1(連続流加法)は糖蜜を連続的に流加し、水準2(間欠流加法)は連続流加で30分間に入れる量と同量の糖蜜を5分間で流加し、続く25分間は流加を停止するという周期を繰り返した。

糖蜜：水準1(ケーン糖蜜のみ)ではケーン糖蜜を用いてFS 12.5%(FS 51.75g), thiamine 5mgを含む糖蜜液414mlをミニジャー1本当たりの流加用糖蜜として用いた。水準2(HA糖蜜混合)ではケーン糖蜜の50%(FS換算)をHA糖蜜で置き換えた。その他は水準1に準じた。

pH：水準1では5.0に、水準2では6.5になるように、 H_2SO_4 あるいはNaOH溶液を用いて調整した。

窒素源：水準1(ureaのみ)ではurea 10%溶液を、水準2($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 混合)ではurea 7%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 濃度6.6%の混合溶液(窒素比でurea: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 7:3$)を窒素源溶液として用いた。

始発糖濃度：水準1(1%)では、培養開始時にFS 10gの糖蜜(ケーン糖蜜あるいはHA混合糖蜜)を添加し、糖蜜の流加はDOが上昇し始めた時点から開始した。水準2(0%)では培養開始時から通常通りの流加を行った。

培養温度は30℃に自動調節し、通気量は2ℓ/min一定とし、DOは攪拌により飽和濃度の20~30%を維持した。消泡剤はニッサンディスホームCC-118を適宜滴加した。

表98 パン酵母の品質改良の主要因決定のための実験因子とその水準

実験因子	水準 1	水準 2
A. NaCl濃度	0.75(%)	2.0(%)
B. 糖蜜流加法	連続流加	間欠流加
C. 糖蜜組成	ケーン糖蜜のみ	HA糖蜜 50 %混合
D. 培養 pH	5.0	6.5
E. 窒素源	urea	urea-(NH ₄) ₂ SO ₄
F. 始発時糖濃度	1.0(%)	0.0(%)

表99 培養各条件の因子わりつけ表

列番	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
因子	実験日			A				B	F				E	D	C
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1

分析ならびに試験：培養終了後，一般分析，生地試験，製パン試験を行った。分析は1反復で行ったが，食パンホイロの所要時間のみ2反復で行った。

分散分析：分散分析の計算は NEC製 PC-9801を用いて行った。言語はマイクロソフト社のCコンパイラ（MS-C, Ver. 3.0）を利用した。有意確率（P）はF値から近似式により直接求めた。^{89）} 効果の有無の判定は有意確率5%で行った。

実験結果

結果を表100(1)～(4) に，ファーマグラフのパターンを図27(1)，(2)に，分散分析結果を表101(1)～(30)に示した。主効果の一覧表を表102 に，交互作用は図28におのおの示した。

(1) 収率

培養 pH，糖蜜流加法，始発糖濃度，流加法×窒素源で差が認められた。低 pH，連続流加法，始発糖濃度が0%で収率が高まる傾向が認められた。糖蜜流加法と窒素源の交互作用では，連続流加法で urea のみを用いた場合に収率は高いが，間欠流加法や $(NH_4)_2SO_4$ を用いた場合に収率が低下する傾向が認められた。

(2) 全窒素

培養 pH，糖蜜流加法で差が認められ，高 pH，間欠流加法で全窒素が高まる傾向が認められた。

(3) 磷酸

実験日，糖蜜流加法，NaCl濃度×pHで差が認められた。NaCl濃度と培養 pH の交互作用では，NaCl濃度が高い場合，pHの上昇により磷酸含量が著しく高まる傾向が認められた。実験日による影響では培養1，4週目が高く，2，3週目は低い値を示した。

(4) 全炭水化物

全炭水化物含量の培養条件による影響は認められなかった。

(5) trehalose

糖蜜，糖蜜流加法，糖蜜×流加法で差が認められた。糖蜜はケーン糖蜜で高く，糖蜜流加法では間欠流加法で含量が高くなる傾向が認められた。糖蜜流加法と糖蜜の交互作用では連続流加でHA糖蜜を混合した場合に trehalose含量が著しく低下する傾向が認められた。

(6) 娘細胞率

表100-(1) パン酵母の菌体成分と invertase, maltase 活性

実験 No.	収率 %	N %	P ₂ O ₅ %	TCH %	trehalose %	娘細胞率 %	invertase U	maltase U
1	41.0	7.26	2.82	31.57	6.98	12.13	153.20	24.76
2	37.6	8.50	2.84	28.04	5.53	20.80	101.47	18.34
3	34.9	8.20	2.97	24.22	2.44	18.80	134.34	28.71
4	39.5	8.02	3.01	29.02	6.67	12.13	64.29	32.47
5	42.6	8.14	2.40	25.01	3.59	4.76	154.64	18.20
6	41.6	8.33	2.80	26.67	4.57	10.75	38.06	20.82
7	39.9	7.88	2.23	26.03	6.56	13.29	56.94	37.90
8	35.9	8.55	2.72	24.80	6.50	23.13	47.34	34.97
9	42.9	7.65	2.38	22.75	1.78	6.61	190.23	16.45
10	34.8	9.15	2.68	25.38	6.73	25.08	109.66	22.04
11	41.2	8.20	2.52	25.29	6.09	6.55	152.90	29.47
12	40.4	7.91	2.53	26.57	5.49	5.09	66.08	23.11
13	40.5	8.41	2.95	27.90	5.35	14.09	224.27	17.40
14	38.6	7.99	3.08	24.60	3.48	4.37	70.24	14.25
15	44.5	7.89	2.64	25.97	2.78	9.40	148.47	27.83
16	34.4	8.62	3.42	23.95	6.03	28.13	95.08	33.90

表100-(2) 液体醗酵力ならびに生地醗酵力

No.	M ₈ mg	F ₁₀ mg	F ₄₀ mg	無糖生地		低糖生地			高糖生地 ml
				I ml	II ml	I ml	II ml	III ml	
1	287	414	302	385	370	385	400	410	345
2	125	416	316	325	385	415	420	430	445
3	271	429	332	380	405	420	420	425	450
4	268	439	333	360	405	320	425	420	445
5	240	408	300	375	370	405	425	425	370
6	174	414	313	300	370	405	420	420	405
7	310	433	323	385	380	395	415	420	395
8	253	466	359	335	415	430	455	445	470
9	232	413	304	355	360	375	400	410	250
10	38	466	353	305	370	420	430	440	430
11	319	447	330	390	380	405	415	420	415
12	219	416	322	320	360	400	410	400	380
13	303	440	311	395	380	395	405	405	340
14	97	411	321	280	345	305	405	400	375
15	268	401	312	365	350	395	395	400	495
16	252	455	350	335	390	430	430	410	450

表100-(3) 食パン試験結果

No.	仲種醱酵			ファーモグラフ		ホイロ		比容積
	60分 ml	90分 ml	120分 ml	a ₀ ml × 10 ⁻³ /min ²	F _t min	I 分	II 分	
1	310	365	390	58.40	177.19	53.5	53.0	5.65
2	240	330	365	30.57	186.84	49.5	48.5	5.74
3	310	380	395	49.14	159.30	51.0	51.0	5.65
4	290	340	360	42.05	171.58	51.0	51.5	5.69
5	280	345	370	53.37	167.51	51.0	51.5	5.59
6	240	325	370	31.13	193.40	55.0	55.5	5.47
7	305	335	350	52.15	176.65	54.5	55.5	5.69
8	265	355	380	32.90	176.65	49.5	49.5	5.77
9	265	350	390	33.35	173.60	55.0	56.0	5.34
10	230	310	370	26.87	190.36	46.5	47.5	5.97
11	310	340	370	47.44	165.99	52.0	52.0	5.82
12	250	330	370	28.08	196.45	52.5	53.0	5.59
13	300	360	370	53.61	165.23	51.0	50.5	5.79
14	220	310	365	22.83	193.40	54.0	53.0	5.09
15	305	360	370	46.70	174.37	53.0	52.5	5.77
16	270	350	370	39.01	175.13	48.0	48.5	5.74

表100-(4) 菓子パン試験結果

No.	仲種醱酵			ファーモグラフ	ホイロ	比容積
	30分 ml	60分 ml	90分 ml	菓子 a ₀ ml × 10 ⁻³ /min ²	ml	
1	240	430	490	36.51	425	5.81
2	240	420	470	39.93	430	5.81
3	255	430	470	38.10	450	6.00
4	260	420	460	44.85	455	6.30
5	250	450	490	35.68	390	5.24
6	240	425	480	44.32	400	5.51
7	280	440	490	37.71	410	5.78
8	250	420	475	41.41	440	6.10
9	220	400	470	31.32	400	5.46
10	220	380	460	32.81	430	6.21
11	230	410	465	34.37	425	5.78
12	230	420	470	36.90	415	5.89
13	240	420	480	46.15	410	5.35
14	225	420	470	42.74	430	5.46
15	230	425	480	25.10	415	5.51
16	240	430	480	45.83	445	5.78

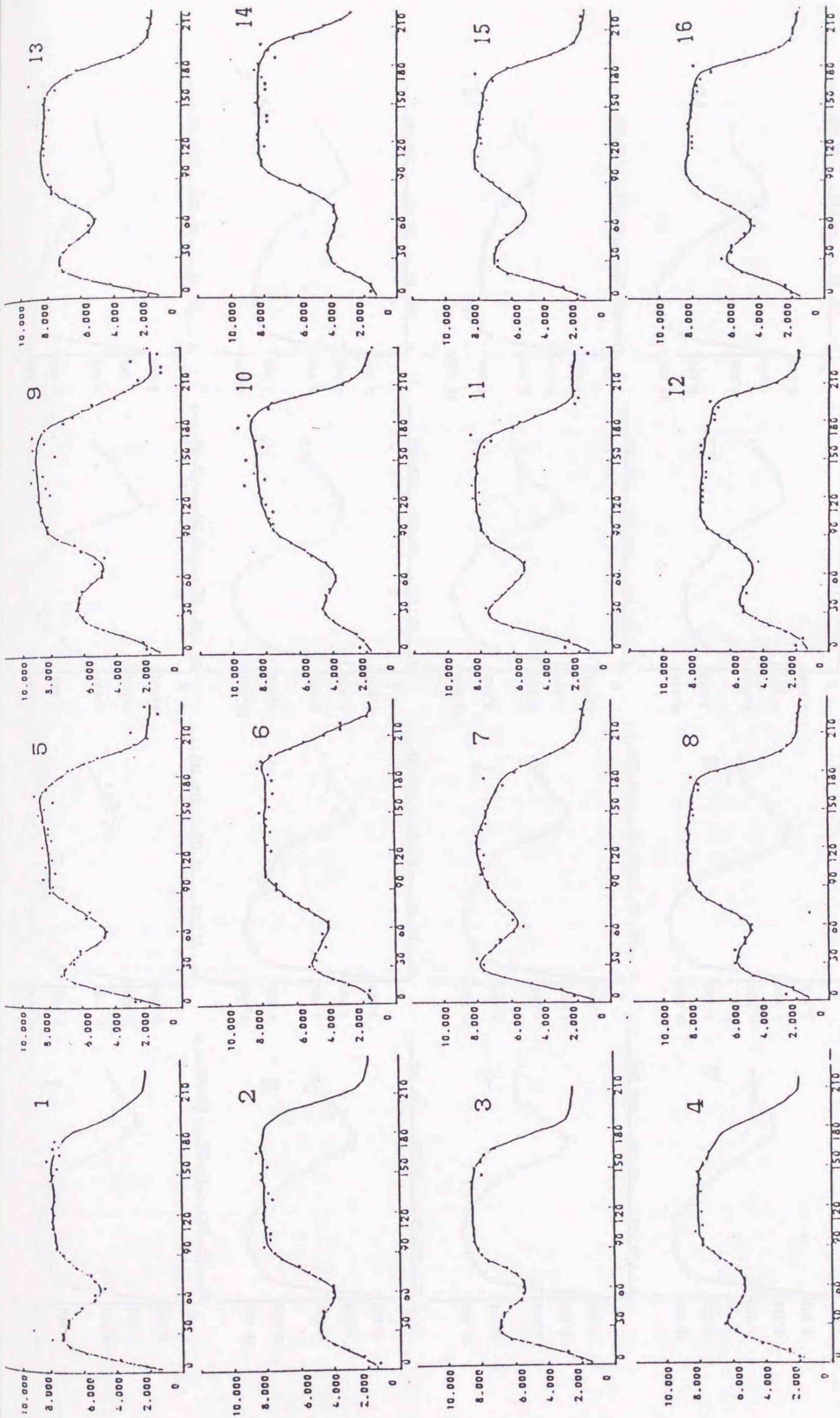


図27(1) 培養品のファーモグラフ (無糖中種)

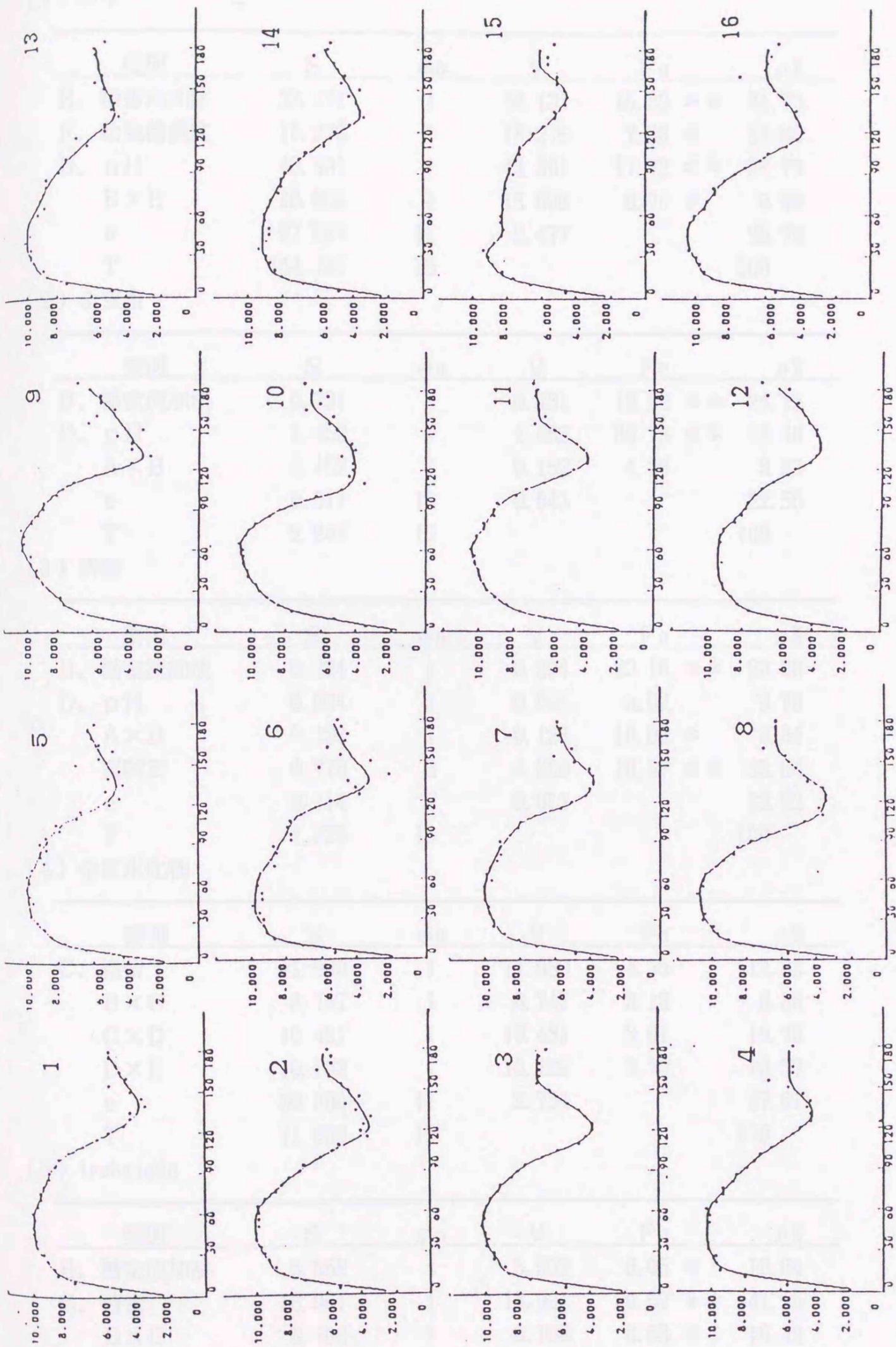


図27(2) 培養品のファーマーモグラフ (加糖中種)

表101 分析各項目の分散分析表

(1) 収率

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	38.131	1	38.131	15.39 **	24.73
F. 始発糖濃度	18.276	1	18.276	7.38 *	10.96
D. pH	43.891	1	43.891	17.72 **	28.73
B × E	16.606	1	16.606	6.70 *	9.80
e	27.247	11	2.477		25.78
T	144.151	15			100

(2) 全窒素

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	0.731	1	0.731	19.52 **	24.15
D. pH	1.452	1	1.452	38.76 **	49.46
A × B	0.152	1	0.152	4.06	3.83
e	0.514	12	0.043		22.56
T	2.849	15			100

(3) 磷酸

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	0.294	1	0.294	23.16 **	20.38
D. pH	0.064	1	0.064	5.02	3.70
A × D	0.128	1	0.128	10.06 *	8.34
実験日	0.779	3	0.260	19.97 **	53.66
e	0.114	9	0.013		13.92
T	1.379	15			100

(4) 全炭水化物

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
C. 糖蜜	11.989	1	11.989	4.35	12.88
B × C	8.747	1	8.747	3.18	8.36
C × D	10.481	1	10.481	3.81	10.78
D × E	10.192	1	10.192	3.70	10.37
e	30.290	11	2.754		57.61
T	71.699	15			100

(5) trehalose

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	5.558	1	5.558	6.05 *	10.64
C. 糖蜜	18.901	1	18.901	20.57 **	41.25
B × C	8.108	1	8.108	8.83 *	16.49
e	11.025	12	0.919		31.62
T	43.592	15			100

(6) 娘細胞率

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	120.176	1	120.176	7.44 *	11.86
C. 糖蜜	53.254	1	53.254	3.30	4.23
D. pH	285.357	1	285.357	17.66 **	30.70
B × D	240.483	1	240.483	14.89 **	25.58
e	177.697	11	16.154		26.63
T	876.967	15			100

(7) invertase 活性

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	4,772.39	1	4,772.39	7.86 *	9.27
B. 糖蜜流加法	24,240.15	1	24,240.15	39.92 **	52.59
D. pH	3,369.51	1	3,369.51	5.55 *	6.15
B × F	5,877.14	1	5,877.14	9.68 *	11.73
e	6,679.46	11	607.22		20.26
T	44,938.65	15			100

(8) maltase 活性

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	577.201	1	577.201	299.40 **	71.07
C. 糖蜜	85.101	1	85.101	44.14 **	10.28
C × D	62.885	1	62.885	32.62 **	7.53
C × F	63.044	1	63.044	32.07 **	7.55
e	21.206	11	1.928		3.57
T	809.437	15			100

(9) M₈

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	27,556.0	1	27,556.0	28.62 **	27.31
B. 糖蜜流加法	40,401.0	1	40,401.0	41.97 **	40.50
C. 糖蜜	3,782.3	1	3,782.3	3.93	2.90
F. 始発糖濃度	3,249.0	1	3,249.0	3.38	2.35
A × B	12,769.0	1	12,769.0	13.26 **	12.12
e	9,626.8	10	962.7		14.82
T	97,384.1	15			100

(10) F₁₀

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	676.00	1	676.00	8.81 *	9.13
B. 糖蜜流加法	600.25	1	600.25	7.82 *	7.97
C. 糖蜜	1,369.00	1	1,369.00	17.84 **	19.68
D. pH	2,162.25	1	2,162.25	28.18 **	31.76
B × E	992.25	1	992.25	12.93 **	13.94
e	767.25	10	76.73		17.52
T	6,567.00	15			100

(11) F₄₀

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	1,242.56	1	1,242.56	18.08 **	23.98
B. 糖蜜流加法	1,463.06	1	1,463.06	21.28 **	28.49
D. pH	915.06	1	915.06	13.31 **	17.29
B × E	517.56	1	517.56	7.53 *	9.17
e	756.19	11	68.74		21.07
T	4,894.43	15			100

(12) 無糖生地 I

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	1,406.25	1	1,406.25	12.13 **	6.67
B. 糖蜜流加法	13,806.25	1	13,806.25	119.05 **	70.77
C. 糖蜜	900.00	1	900.00	7.76 *	4.05
D. pH	506.25	1	506.25	4.37	2.02
A × B	1,056.25	1	1,056.25	9.11 *	4.86
B × F	625.00	1	625.00	5.39 *	2.63
e	1,043.75	1	115.97		9.00
T	19,343.75	15			100

(13) 無糖生地 II

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	1,139.06	1	1,139.06	12.47 **	18.07
D. pH	1,501.56	1	1,501.56	16.44 **	24.32
B × E	451.56	1	451.56	4.94 *	6.21
C × D	1,701.56	1	1,701.56	18.63 **	27.77
e	1,004.69	11	91.34		23.63
T	5,798.43	15			100

(14) 低糖生地 I

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	506.25	1	506.25	1.80	2.72
D. pH	7,225.00	1	7,225.00	25.75 **	37.29
E. 窒素源	1,806.25	1	1,806.25	6.44 *	8.19
A × C	2,500.00	1	2,500.00	8.91 *	11.92
B × D	2,256.25	1	2,256.25	8.04 *	10.61
D × E	1,806.25	1	1,806.25	6.44 *	8.19
e	2,525.00	9	280.56		22.59
T	18,625.00	15			100

(15) 低糖生地 II

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	225.00	1	225.00	6.43 *	5.68
B. 糖蜜流加法	900.00	1	900.00	25.71 **	25.87
D. pH	1,056.25	1	1,056.25	30.18 **	30.54
C × D	506.25	1	506.25	14.46 **	14.09
D × E	306.25	1	306.25	8.75 *	8.11
e	350.00	1	35.00		15.71
T	3,343.75	15			100

(16) 低糖生地 III

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
D. pH	900.00	1	900.00	14.52 **	29.93
C × D	756.25	1	756.25	12.20 **	24.80
D × E	400.00	1	400.00	6.45 *	12.07
e	743.75	12	61.98		33.20
T	2,800.00	15			100

(17) 高糖生地

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	12,100.0	1	12,100.0	71.70 **	25.88
B. 糖蜜流加法	12,100.0	1	12,100.0	71.70 **	25.88
D. pH	9,025.0	1	9,025.0	53.48 **	19.21
E. 窒素源	1,056.3	1	1,056.3	6.26 *	1.93
A × B	4,225.0	1	4,225.0	25.04 **	8.80
実験日	6,412.5	3	2,137.5	32.82 **	12.81
e	1,181.3	7	168.8		5.49
T	46,100.1	15			100

(18) ファーマ a。

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	1,237.63	1	1,237.63	75.28 **	64.04
C. 糖蜜	180.37	1	180.37	10.97 **	8.60
A × B	72.00	1	72.00	4.38	2.91
実験日	269.09	3	89.70	5.46 *	11.52
e	147.97	9	16.44		12.93
T	1,907.06	15			100

(19) ファーマ F。

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	165.19	1	165.19	4.23	6.64
B. 糖蜜流加法	960.54	1	960.54	24.57 **	48.55
D. pH	303.02	1	303.02	7.75 *	13.91
e	469.05	12	39.09		30.90
T	1,897.80	15			100

(20) ファーマ菓子 a。

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	120.18	1	120.18	5.49 *	19.25
C. 糖蜜	61.51	1	61.51	2.81	7.76
B × D	65.98	1	65.98	3.01	8.64
e	262.76	12	21.90		64.35
T	510.43	15			100

(21) 食パン仲種 60分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	3,025.00	1	3,025.00	46.34 **	20.14
B. 糖蜜流加法	9,025.00	1	9,025.00	138.26 **	60.98
C. 糖蜜	900.00	1	900.00	13.79 **	5.68
実験日	1,156.25	3	385.42	5.90 *	6.53
e	587.50	9	65.28		6.67
T	14,693.75	15			100

(22) 食パン仲種 90分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	564.06	1	564.06	4.06	7.59
B. 糖蜜流加法	2,139.06	1	2,139.06	15.38 **	35.72
A × B	689.06	1	689.06	4.96	9.82
実験日	954.69	3	318.23	2.29	9.60
e	1,251.56	9	139.06		37.27
T	5,598.43	15			100

(23) 食パン仲種 120分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	189.06	1	189.06	7.63 *	8.22
C. 糖蜜	189.06	1	189.06	7.63 *	8.22
A × B	126.56	1	125.56	5.11	5.09
A × C	351.56	1	356.56	14.19 **	16.35
A × D	689.06	1	689.06	27.81 **	33.24
実験日	279.69	3	93.23	3.76	10.28
e	173.44	7	24.78		18.60
T	1,998.43	15			100

(24) 食パンホイロ所要時間

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	27.188	1	27.188	54.60 **	14.41
D. pH	114.383	1	114.383	229.63 **	61.50
E. 窒素源	6.570	1	6.570	13.19 **	3.28
A × D	7.508	1	7.508	15.07 **	3.79
B × D	7.508	1	7.508	15.07 **	3.79
D × E	9.570	1	9.570	19.21 **	4.90
e	12.453	25	0.498		8.33
T	185.180	31			100

(25) 食パン比容積

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	0.073	1	0.073	4.74	8.15
C. 糖蜜	0.102	1	0.102	6.65 *	13.43
D. pH	0.198	1	0.198	12.86 **	28.24
A × D	0.106	1	0.106	6.86 *	14.04
e	0.169	11	0.015		35.34
T	0.648	15			100

(26) 菓子パン仲種 30分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	625.00	1	625.00	7.97 *	14.60
実験日	2,256.25	3	725.08	9.59 **	53.98
e	862.50	11	78.41		31.42
T	3,743.75	15			100

(27) 菓子パン仲種 60 分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B × E	400.00	1	400.00	3.51	7.78
実験日	2,112.50	3	704.17	6.39 **	47.83
e	1,212.50	11	110.23		44.39
T	3,725.00	15			100

(28) 菓子パン仲種 90分

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
B. 糖蜜流加法	306.25	1	306.25	9.42 *	18.88
B × E	156.25	1	156.25	4.81	8.53
実験日	662.50	3	220.83	6.80 **	38.97
e	325.00	10	32.50		33.62
T	1,450.00	15			100

(29) 菓子パンホイロ

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	1,225.00	1	1,225.00	10.21 **	20.87
B. 糖蜜流加法	900.00	1	900.00	7.50 *	14.73
実験日	1,968.75	3	656.25	5.47 *	30.39
e	1,200.00	10	120.00		34.61
T	5,293.75	15			100

(30) 菓子パン比容積

要因	S	ϕ_0	V	F ₀	$\rho\%$
A. NaCl	0.328	1	0.328	9.54 *	20.52
B. 糖蜜流加法	0.284	1	0.284	8.25 *	17.45
実験日	0.477	3	0.159	4.62 *	26.17
e	0.344	10	0.034		35.86
T	1.433	15			100

*, **は各々95, 99%信頼で有意差が認められることを示す。

表102 主要6要因の培養条件における主効果の結果一覧

分析・ 試験項目	A.		B.		C.		D.		E.		F.	
	要因	NaCl濃度	糖蜜	糖蜜組成	糖蜜組成	培養 pH	培養 pH	窒素源	窒素源	始発時	始発時	
	水準	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	
収率	×	40.9←37.9	×	41.1←37.7	×	38.3→40.5						
N	×	8.0→8.4	×	7.8→8.5	×							
P ₂ O ₅	×	2.6→2.9	×	×	×							
全炭水化物	×	×	×	×	×							
trehalose	×	4.5→5.6	6.1←4.0	×	×							
娘細胞率	×	10.7←16.2	×	9.2←17.7	×							
invertase	130←96	152←74	×	98→127	×							
maltase	19.0→31.0	×	27.3←22.7	×	×							
M ₈	187→270	279←178	×	×	×							
F ₁₀	423→436	423→435	439←420	418→441	×							
F ₄₀	315→333	314→333	×	316→331	×							
無糖生地 I	340→359	379←320	357←342	×	×							
無糖生地 II	369→386	×	×	368→387	×							
低糖生地 I	×	×	×	373→415	383→404							
低糖生地 II	413→421	409→424	×	409→425	×							
低糖生地 III	×	×	×	410→425	×							
高糖生地	370→425	370→425	×	374→421	406←389							
ファーモ a ₀	×	49←32	44←37	×	×							
ファーモ F ₁	×	170→185	×	182←173	×							
ファーモ菓子 a ₀	×	36→41	×	×	×							
食パン仲種 60分	261→288	298←251	282←267	×	×							
食パン仲種 90分	×	354←331	×	×	×							
食パン仲種 120分	×	376←369	369→376	×	×							
食パンホイロ時間	×	53→51	×	54→50	51←52							
食パン比容積	×	×	5.7←5.6	5.5→5.8	×							
菓子パン仲種30分	234→247	×	×	×	×							
菓子パン仲種60分	×	×	×	×	×							
菓子パン仲種90分	×	479←471	×	×	×							
菓子パンホイロ	414→423	416→431	×	×	×							
菓子パン比容積	5.6→5.9	5.6→5.9	×	×	×							

→印は水準間に 95 %以上で有意な差が認められ、その左右の数値は各水準での平均値を記した。×印は水準間に有意な差が認められないことを示す。

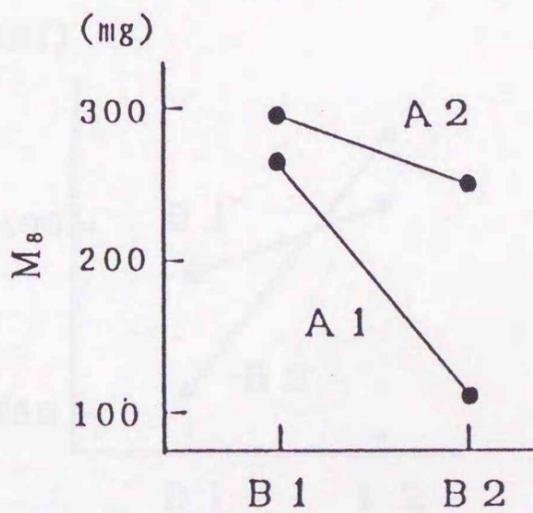
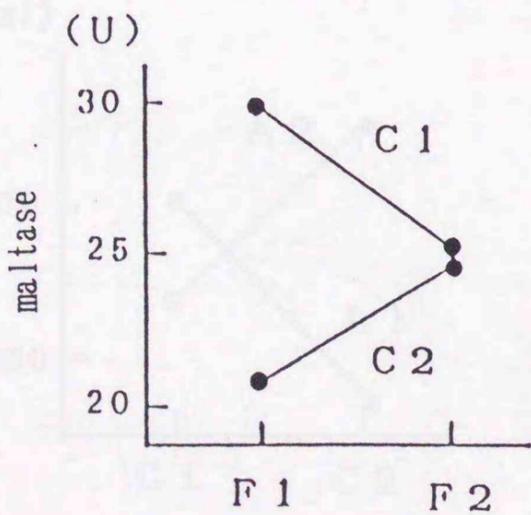
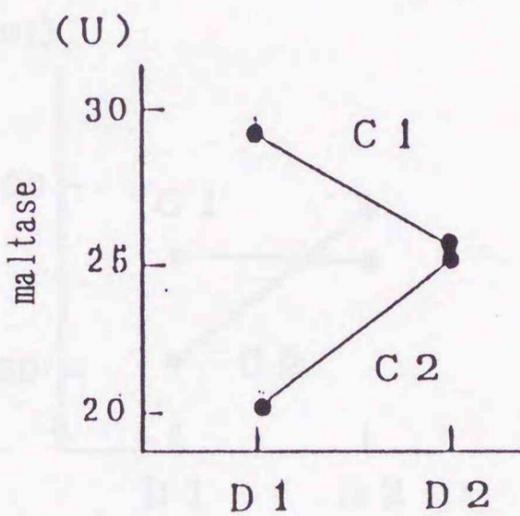
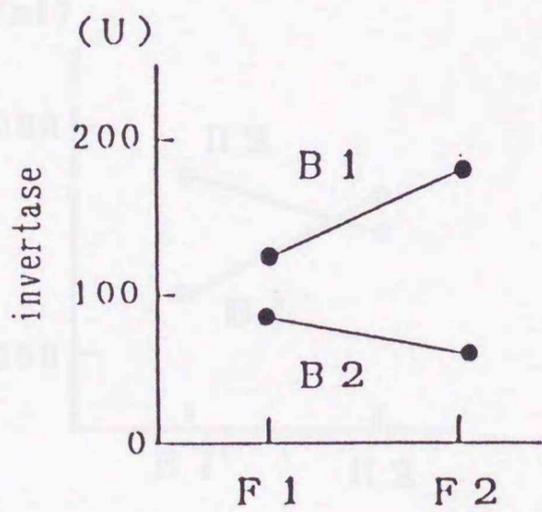
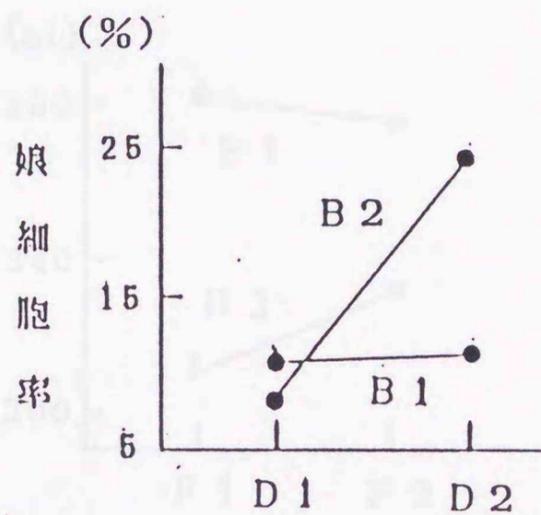
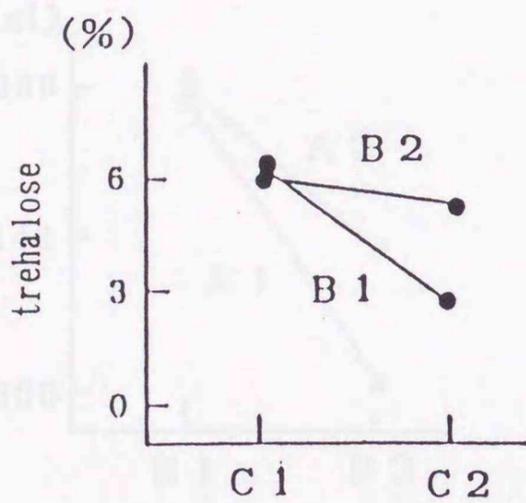
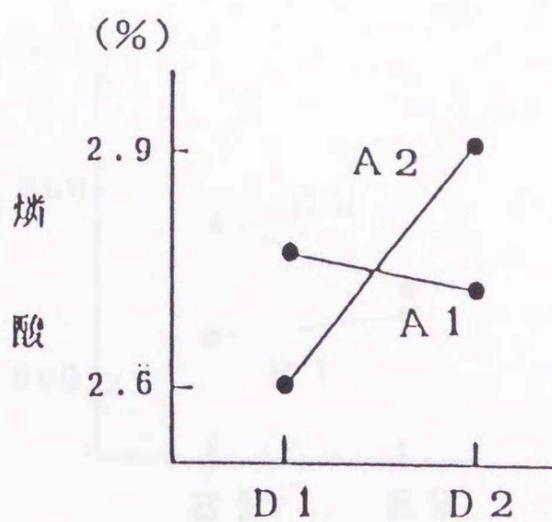
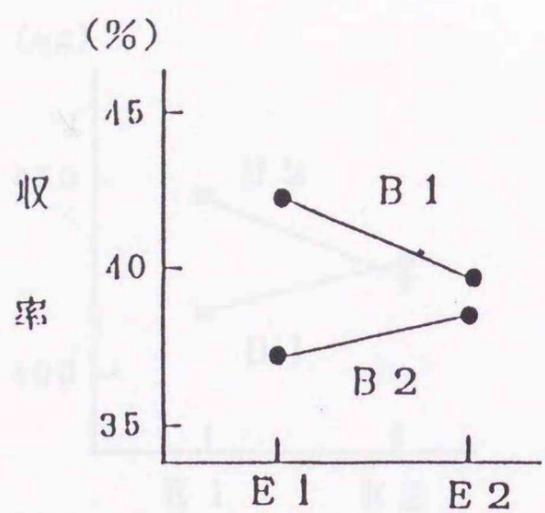


図28 各因子間の交互作用

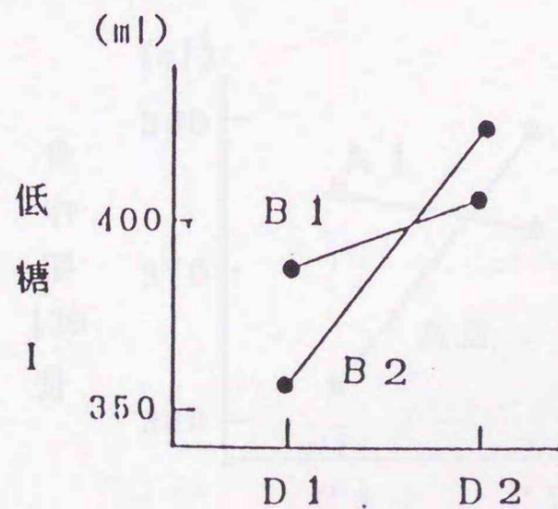
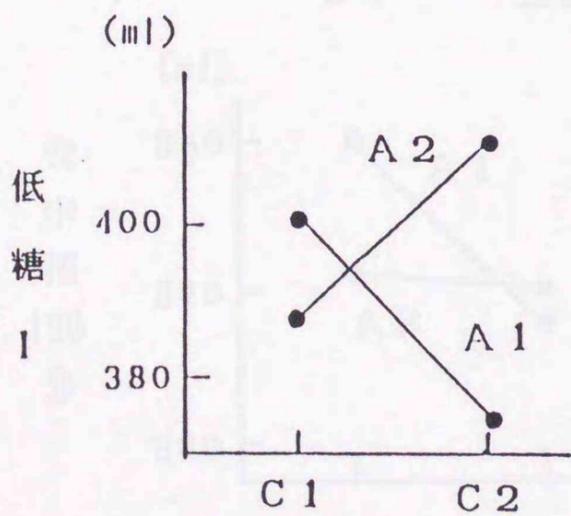
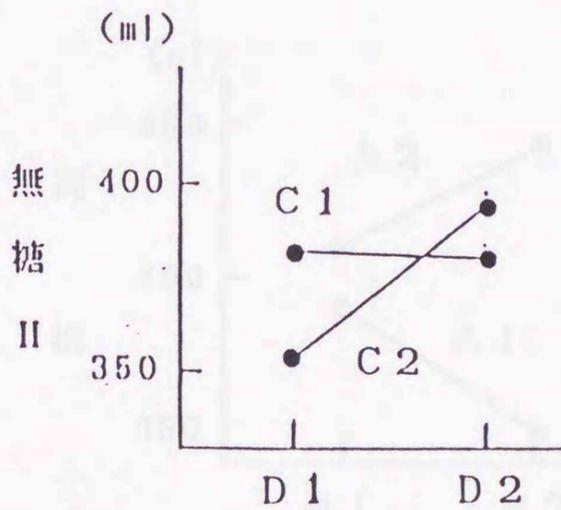
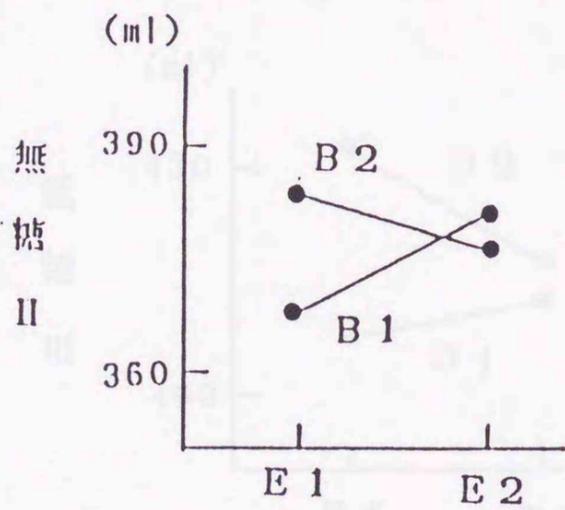
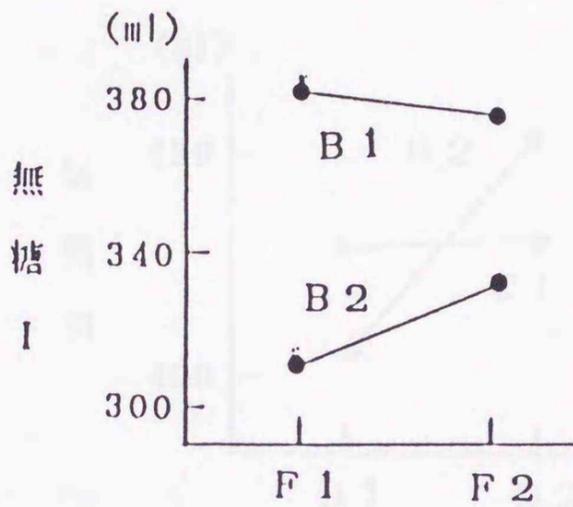
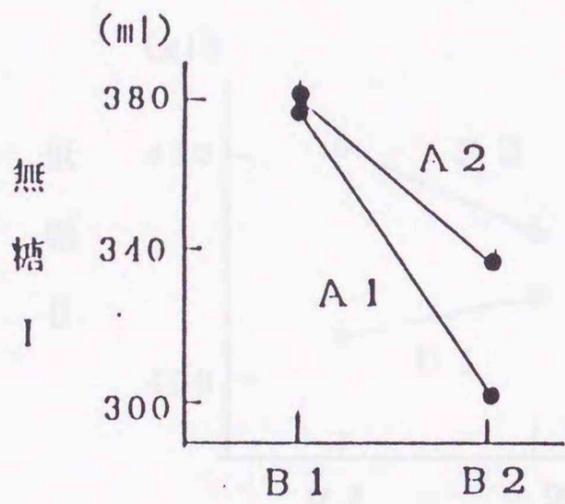
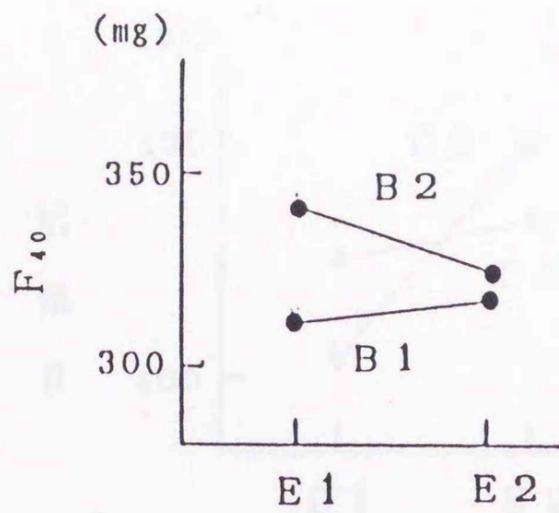
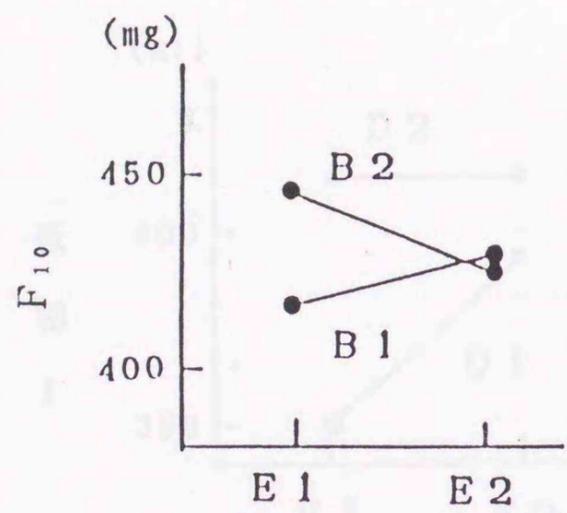


図28 各因子間の交互作用 (続き)

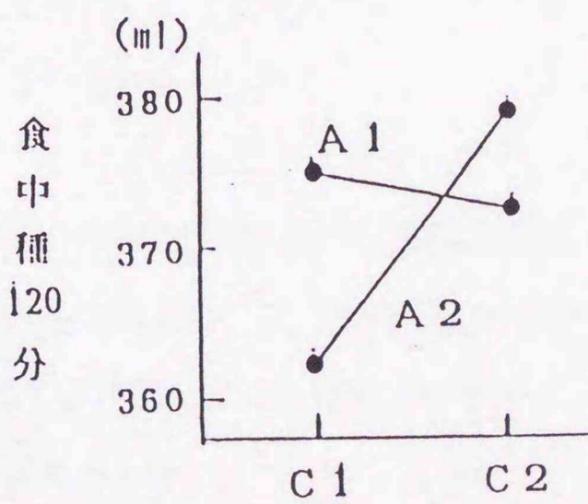
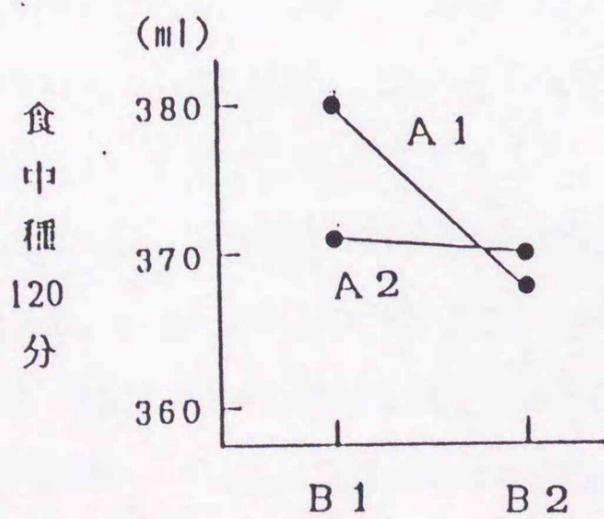
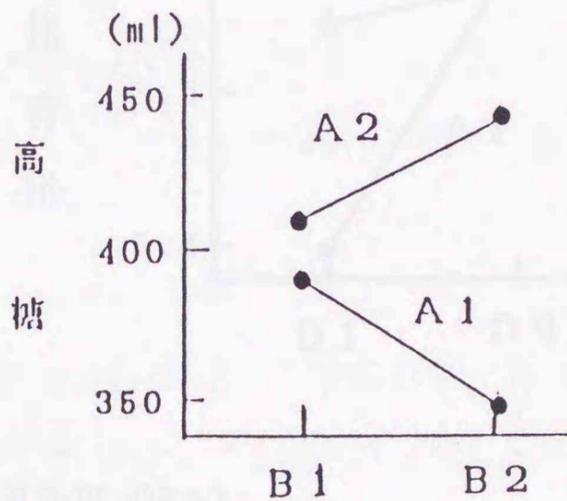
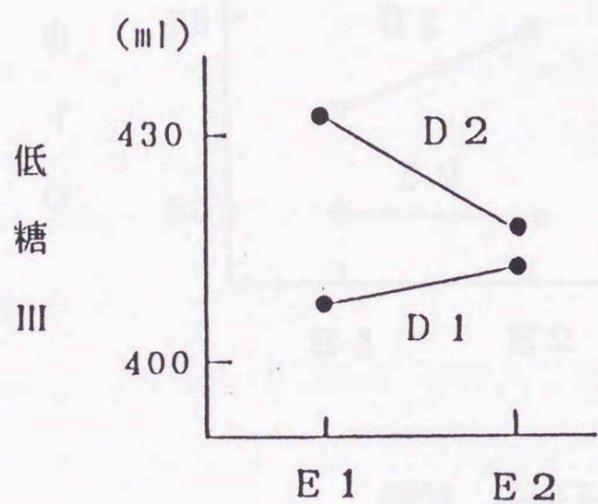
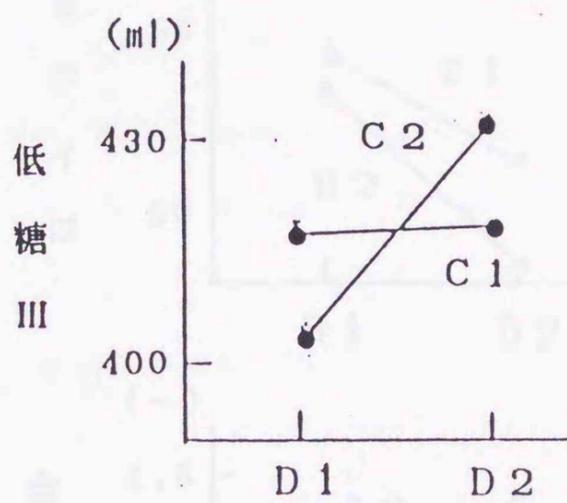
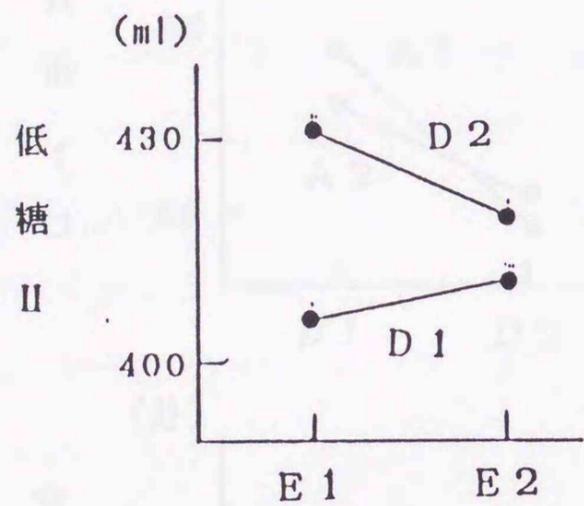
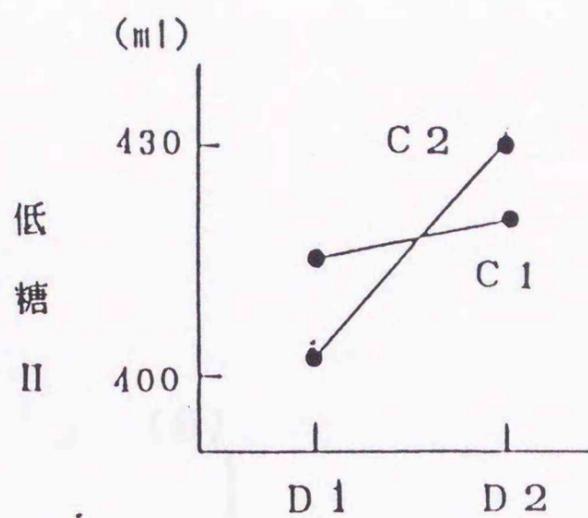
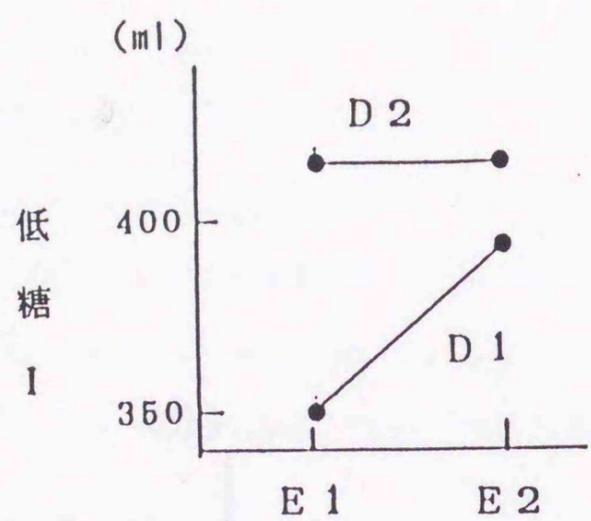


図28 各因子間の交互作用 (続き)

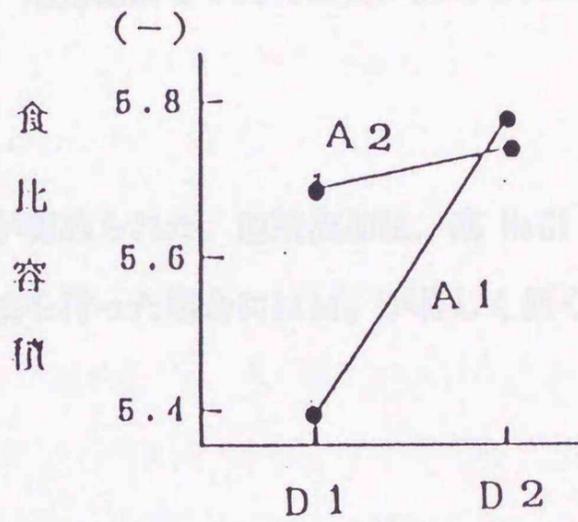
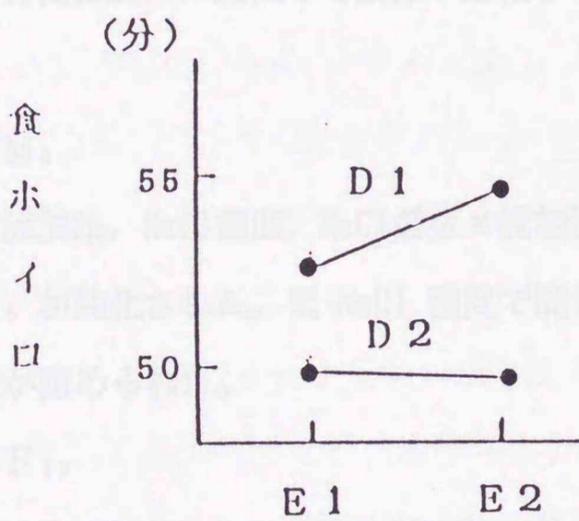
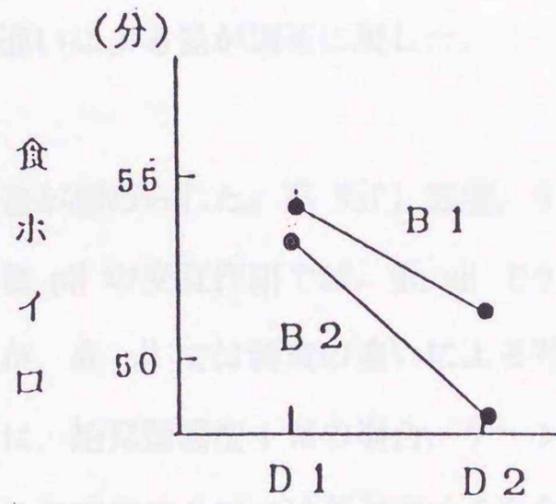
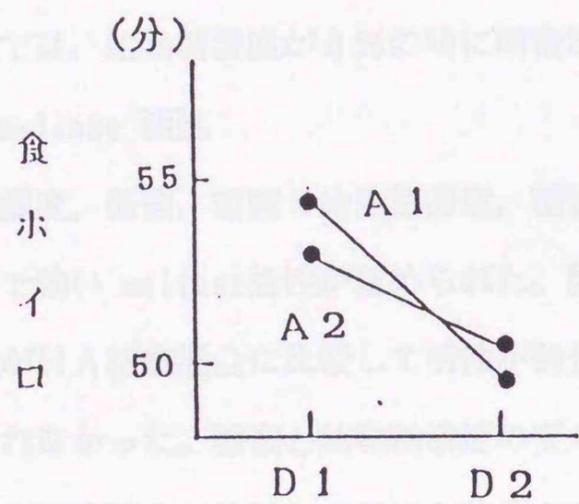


図28 各因子間の交互作用 (続き)

培養 pH , 糖蜜流加法, 流加法×pHで差が認められた。高 pH , 間欠流加法で娘細胞率が増加した。培養 pH と糖蜜流加法の交互作用では, 高 pH で間欠流加法を行った場合に娘細胞率が著しく増加した。

(7) invertase 活性

糖蜜流加法, NaCl濃度, 培養 pH , 流加法×始発糖濃度で差が認められた。連続流加法, 低 NaCl 濃度, 高 pH で強い invertase活性が認められた。糖蜜流加法と始発糖濃度の交互作用では, 始発糖濃度が0%の時に糖蜜流加法の違いによる差が顕著に現れた。

(8) maltase 活性

NaCl濃度, 糖蜜, 糖蜜×始発糖濃度, 糖蜜×pHで差が認められた。高 NaCl 濃度, ケーン糖蜜で強い maltase活性が認められた。糖蜜と培養 pH の交互作用では, 低 pH でケーン糖蜜がHA糖蜜混合に比較して活性が強化されたが, 高 pH では糖蜜の違いによる差は認められなかった。糖蜜と始発糖濃度の交互作用では, 始発糖濃度1%の場合, ケーン糖蜜がHA糖蜜混合に比較して活性が強化されたが, 始発糖濃度0%では差が認められなかった。

(9) M_8

糖蜜流加法, NaCl濃度, NaCl濃度×流加法で差が認められた。連続流加法, 高 NaCl 濃度で M_8 が強化された。低 NaCl 濃度で間欠流加法を行った場合には M_8 が著しく低くなる傾向が認められた。

(10) F_{10}

培養 pH , 糖蜜, NaCl濃度, 糖蜜流加法, 流加法×窒素源で差が認められた。高 pH , ケーン糖蜜, 高 NaCl 濃度, 間欠流加法で F_{10} が増強された。糖蜜流加法と窒素源の交互作用では, ureaのみで培養した場合, 間欠流加法を採用すると連続流加法に比較し F_{10} が増強されたが, $(NH_4)_2SO_4$ を混合した場合に差は認められなかった。

(11) F_{40}

糖蜜流加法, NaCl濃度, 培養 pH , 流加法×窒素源で差が認められた。間欠流加法, 高 NaCl濃度, 高 pH で F_{40} が増強された。糖蜜流加法と窒素源の交互作用では, ureaのみで培養した場合, 間欠流加法を採用すると連続流加法に比較し F_{40} が増強されたが, $(NH_4)_2SO_4$ を混合した場合は流加法による差は認められなかった。

(12) 無糖生地 I

糖蜜流加法, NaCl濃度, 糖蜜, NaCl濃度×流加法, 流加法×始発糖濃度で差が認められ

た。連続流加法，高 NaCl 濃度，ケーン糖蜜で無糖生地 I の高い値が得られた。NaCl濃度と糖蜜流加法の交互作用は，連続流加では NaCl 濃度に影響なく高い値が得られたが，間欠流加法により値が低下し，低 NaCl 濃度ではその傾向が著しかった。糖蜜流加法と始発糖濃度の交互作用では，連続流加法においては始発糖濃度に関係なく高い値が得られた。しかし，間欠流加法は連続流加法に比較して値が低く，始発糖濃度 1% の条件が最も低い値を示した。

(13) 無糖生地 II

培養 pH，NaCl濃度，糖蜜×pH，流加法×窒素源で差が認められた。高 pH，高 NaCl 濃度で無糖生地 II の高い値が得られた。糖蜜流加法と窒素源の交互作用では，窒素源として urea のみを用いた場合糖蜜流加法による影響が現れ，間欠流加法が連続流加法に比較して高い値を示した。糖蜜と培養 pH の交互作用では，ケーン糖蜜では pH の影響を受けないが，HA糖蜜を混合した場合 pH の上昇にともない値も高まる傾向が認められた。

(14) 低糖生地 I

培養 pH，窒素源，NaCl濃度×糖蜜，流加法×pH，pH×窒素源で差が認められた。高 pH， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 混合で低糖生地 I の高い値が得られた。NaCl濃度と糖蜜の交互作用では，低 NaCl 濃度ではケーン糖蜜が，高 NaCl 濃度ではHA糖蜜混合が高い値を示した。また，HA糖蜜を混合した場合，NaCl濃度の差による違いが著しく現れた。糖蜜流加法と pH の交互作用では pH の上昇にともない値も高まる傾向が認められたが，その傾向は間欠流加法において特に顕著であった。培養 pH と窒素源の交互作用では，低 pH の場合 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を混合した方が高い値が得られる傾向が認められたが，高 pH では窒素源の違いによる差は認められなかった。

(15) 低糖生地 II

培養 pH，糖蜜流加法，NaCl濃度，糖蜜×pH，pH×窒素源で差が認められた。高 pH，間欠流加法，高 NaCl 濃度で低糖生地 II の高い値が得られた。糖蜜と培養 pH の交互作用は，pHの上昇にともない値も上昇したが，その傾向はHA糖蜜を混合した場合特に顕著であった。培養 pH と窒素源の交互作用では高 pH の場合窒素源による差が認められ，urea のみで最も高い値が得られた。

(16) 低糖生地 III

培養 pH，糖蜜×pH，pH×窒素源で差が認められた。高 pH で低糖生地 III の高い値が得られた。糖蜜と培養 pH の交互作用では，pHの上昇にともない値が上昇し，その傾向はH

A糖蜜を混合した場合特に顕著であった。培養 pH と窒素源の交互作用では、高 pH の場合窒素源による差が認められ、ureaのみで最も高い値が得られた。

(17) 高糖生地

NaCl濃度、糖蜜流加法、窒素源、培養 pH、実験日、NaCl濃度×流加法で差が認められた。高 NaCl 濃度、間欠流加法、高 pH、ureaのみで高糖生地の高い値が得られた。NaCl濃度と糖蜜流加法の交互作用では間欠流加を行った場合、NaCl濃度の差による違いが現れ、高 NaCl で最も高い値が得られた。実験日による影響では、培養1週目が高く、3週目が低い傾向を示した。

(18) ファーモグラフ a。

糖蜜流加法、糖蜜、実験日で差が認められた。連続流加法、ケーン糖蜜でファーモグラフ a。の高い値が得られ、初期醗酵の速やかさが示された。実験日による影響では、培養3週目の値が低かった。

(19) ファーモクラフ F。

糖蜜流加法、培養 pH で差が認められた。連続流加法、高 pH でファーモクラフの醗酵がより速く終了した。

(20) ファーモグラフ菓子 a。

糖蜜流加法のみで差が認められた。間欠流加法でファーモグラフ菓子 a。の高い値が得られ、初期醗酵の速やかさが示された。

(21) 食パン仲種 60 分

糖蜜流加法、NaCl濃度、糖蜜、実験日で差が認められた。連続流加法、高 NaCl 濃度、ケーン糖蜜で食パン仲種 60 分の高い値が得られた。実験日による影響では培養1週目が高く、3週目が低い値を示した。

(22) 食パン仲種 90 分

糖蜜流加法のみで差が認められた。連続流加法で食パン仲種 90 分の高い値が得られたが、他の要因では効果が認められなかった。また、実験日の変動も認められなかった。

(23) 食パン仲種 120分

糖蜜流加法、糖蜜、NaCl濃度×pH、NaCl濃度×糖蜜で差が認められた。連続流加法、ケーン糖蜜で食パン仲種 120分の高い値が得られた。NaCl濃度と培養 pH の交互作用では、低 pH では低 NaCl 濃度、高 pH では高 NaCl 濃度で高い値が得られた。NaCl濃度と糖蜜の交互作用では高 NaCl 濃度で糖蜜の違いによる差が認められ、HA糖蜜混合でより高い

値が得られた。

(24) 食パンホイロの所要時間

培養 pH , 糖蜜流加法, 窒素源, pH×窒素源, NaCl濃度×pH, 流加法×pHで差が認められた。高 pH , 間欠流加法, ureaのみで食パンホイロ所要時間の短縮が認められた。NaCl濃度と培養 pH の交互作用では低 NaCl 濃度において pH の上昇にともなうホイロ所要時間の短縮傾向が顕著に認められた。糖蜜流加法と培養 pH の交互作用では, 間欠流加法, 高 pH の条件でホイロ所要時間が最も短縮された。培養 pH と窒素源の交互作用では, 高 pH 環境下では窒素源の影響を受けずホイロ所要時間は短い, 低 pH 環境下では (NH₄)₂SO₄を混合した場合にホイロ所要時間が長くなる傾向が認められた。

(25) 食パン比容積

培養 pH , 糖蜜, NaCl濃度×pHで差が認められた。高 pH , ケーン糖蜜で食パン比容積が増大した。NaCl濃度と pH の交互作用では, 低 NaCl 濃度の時に pH の下降にともなって比容積が著しく減少する傾向が認められた。

(26) 菓子パン仲種 30 分

実験日, NaCl濃度において差が認められた。高 NaCl 濃度で菓子パン仲種 30 分の高い値が得られた。実験日による影響では, 培養 3 週目の値が低かった。

(27) 菓子パン仲種 60 分

実験日においてのみ差が認められた。実験日による影響では, 培養 3 週目の値が低かった。

(28) 菓子パン仲種 90 分

実験日, 糖蜜流加法において差が認められた。連続流加法で菓子パン仲種 90 分の高い値が得られた。実験日による影響では, 培養 3 週目の値が低かった。

(29) 菓子パンホイロの醗酵

NaCl濃度, 糖蜜流加法, 実験日で差が認められた。高 NaCl 濃度, 間欠流加法で菓子パンホイロの醗酵の高い値が得られた。実験日による影響では, 培養 1 週目で高い値が得られた。

(30) 菓子パン比容積

NaCl濃度, 糖蜜流加法, 実験日で差が認められた。高 NaCl 濃度, 間欠流加法で大きな菓子パン比容積が得られた。実験日による影響では, 培養 1, 3 週目が高い値を示した。

第2節 主要培養条件とパン酵母の醗酵性能

パン酵母の製パン性能を改良する主要な方法として、NaCl添加、糖蜜の間欠流加、培養pH 6.5 などがあることを前節で述べた。とりわけ NaCl の添加と糖蜜の間欠流加が液体醗酵力、生地試験値ならびに製パン諸性能にもたらす効果が大きいことを認めた。

本節では、糖蜜の間欠流加と NaCl の添加効果の確認を行った。

実験方法

供試菌株：ニッテン汎用のパン酵母株

培養：ミニジャーを用い、ミニジャー培養1本当たりの種菌接種量を8gとし、窒素源はurea、pHは6.0以下、糖蜜はケーン糖蜜のみ、始発糖濃度0%とした。糖蜜の流加方法とNaCl添加量は次の4通りで実験を行った。なお、NaClの添加量は最終培養液量に対して2%として培養開始時に全量添加した。

- (1) 間欠流加法・NaCl 28g添加
- (2) 連続流加法・NaCl 28g添加
- (3) 間欠流加法・NaCl無添加
- (4) 連続流加法・NaCl無添加

培養終了後、一般分析、生地試験、製パン試験を行った。

実験結果

得られたパン酵母の一般分析値、生地試験値、製パン試験の成績を表103に示し、ファーマグラフを図29に示した。

(1) 糖蜜の間欠流加法

前節で述べた糖蜜の流加法が主効果を示した測定項目(表102)、収率、全窒素、磷酸、trehalose、娘細胞率、invertase活性、 M_8 、 F_{10} 、 F_{40} 、無糖生地I、低糖生地II、高糖生地、ファーマグラフ a_0 、 F_t 、菓子 a_0 、食パン仲種60、90、120分、食パンホイロ所要時間、菓子パン中種90分、菓子パンホイロ、菓子パン比容積の22項目のうち、trehalose、無糖生地I、食パン仲種90、120分、ファーマグラフ F_t の5項目を除いた残りの17項目が前節の結果を再現した。

糖蜜を間欠流加することによって、invertase活性の減少が著しく、 F_{10} 、 F_{40} 、低糖生地II、高糖生地、ファーマグラフ菓子 a_0 、菓子パンホイロ、菓子パン比容積の向上が

表103 糖蜜の間欠流加と NaCl 添加培養パン酵母の性能

項目	単位	NaCl			
		添加		無添加	
		糖蜜流加法			
		間欠	連続	間欠	連続
収率	%	39.0	40.0	38.9	46.4
N	%	8.21	8.47	9.44	8.28
P ₂ O ₅	%	3.28	3.34	3.44	2.88
全炭水化物	%	27.58	29.12	25.47	32.70
trehalose	%	7.89	6.51	3.64	6.55
娘細胞率	%	11.93	8.97	12.92	3.21
invertase 活性	U	42.71	106.77	56.48	149.02
maltase 活性	U	29.75	23.59	20.00	12.74
M ₈	mg	307	337	213	260
F ₁₀	mg	394	434	420	344
F ₄₀	mg	309	328	309	250
無糖生地 I	ml	395	375	345	345
無糖生地 II	ml	435	370	410	340
低糖生地 I	ml	405	365	405	345
低糖生地 II	ml	420	385	440	390
低糖生地 III	ml	420	390	425	390
高糖生地	ml	440	370	340	305
ファーモ a ₀	×10 ⁻³ ml /min ²	40.23	49.40	38.42	38.83
ファーモ F _t	min	139.34	162.18	162.94	194.92
ファーモ菓子 a ₀	×10 ⁻³ ml /min ²	42.89	34.41	48.73	32.98
食パン仲種 60分	ml	310	310	275	280
食パン仲種 90分	ml	360	360	360	330
食パン仲種 120分	ml	375	370	370	350
食パンホイロ時間	min	49.5	52.0	49.5	54.0
食パン比容積	-	5.78	5.55	5.49	5.31
菓子パン仲種30分	ml	250	230	250	220
菓子パン仲種60分	ml	390	390	400	375
菓子パン仲種90分	ml	415	430	420	410
菓子パンホイロ	ml	460	430	455	445
菓子パン比容積	-	6.53	5.64	5.84	5.87

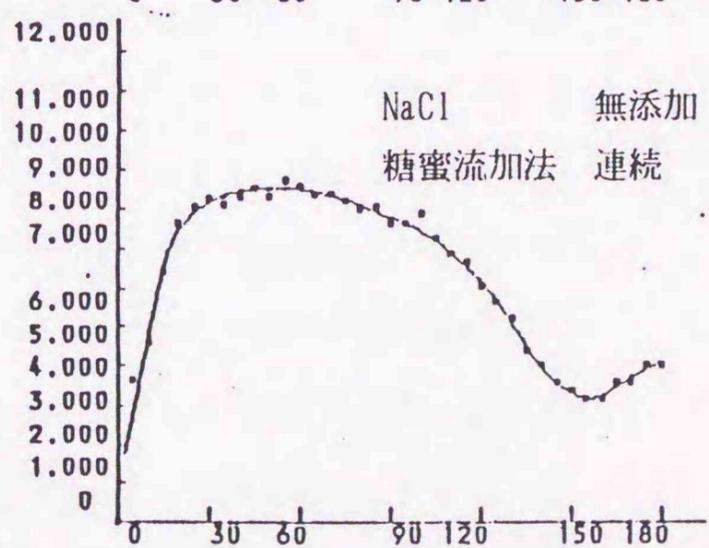
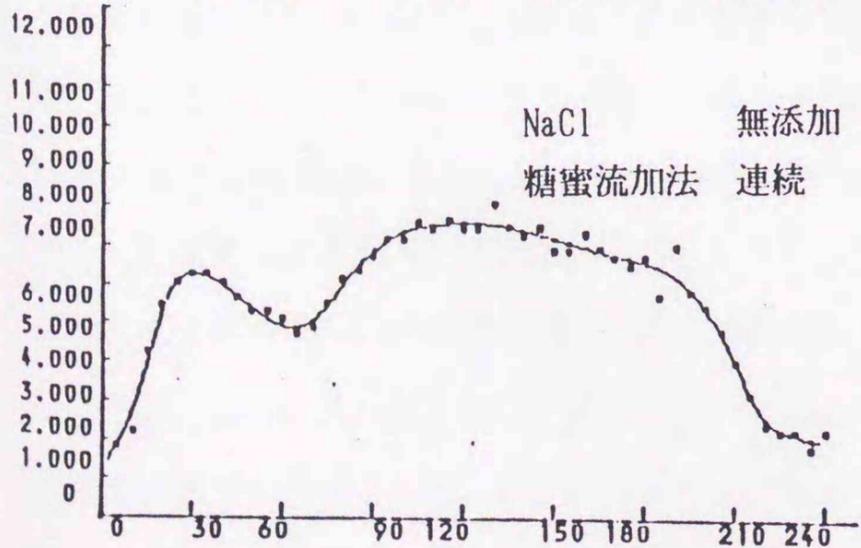
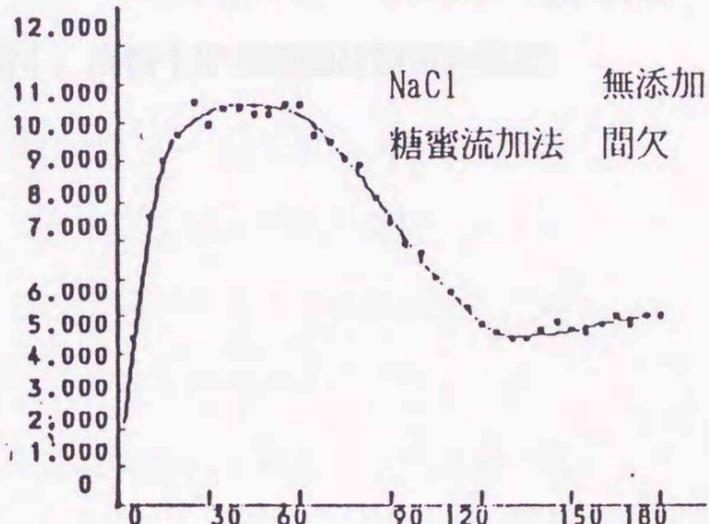
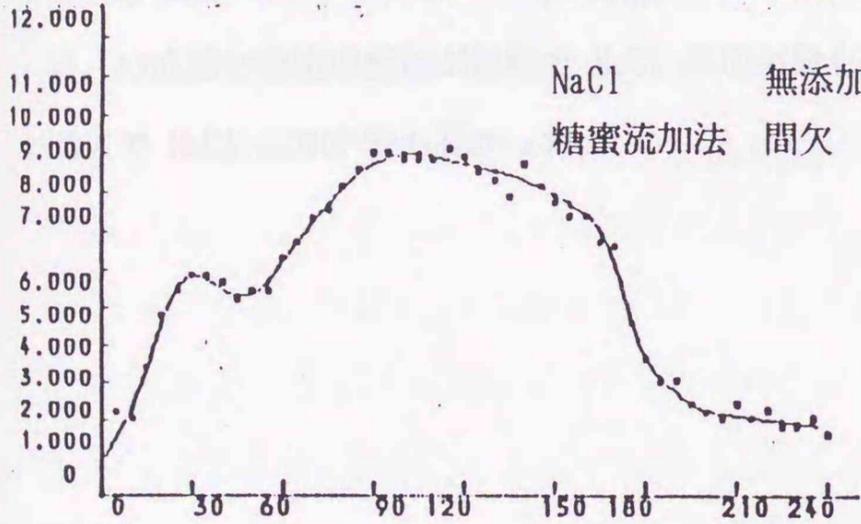
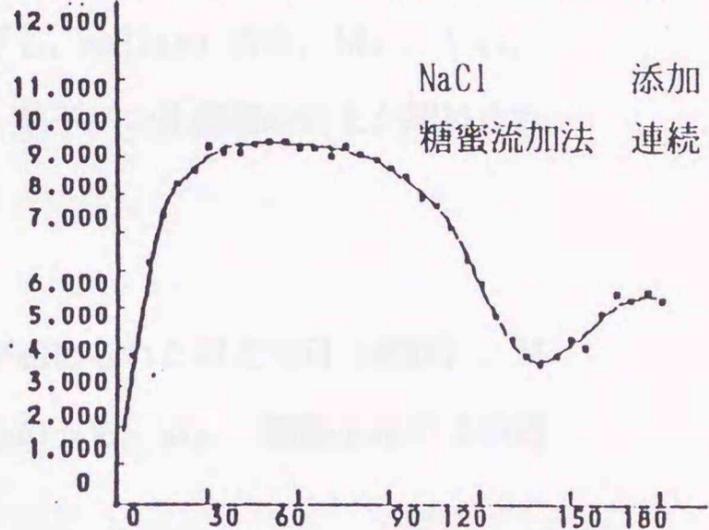
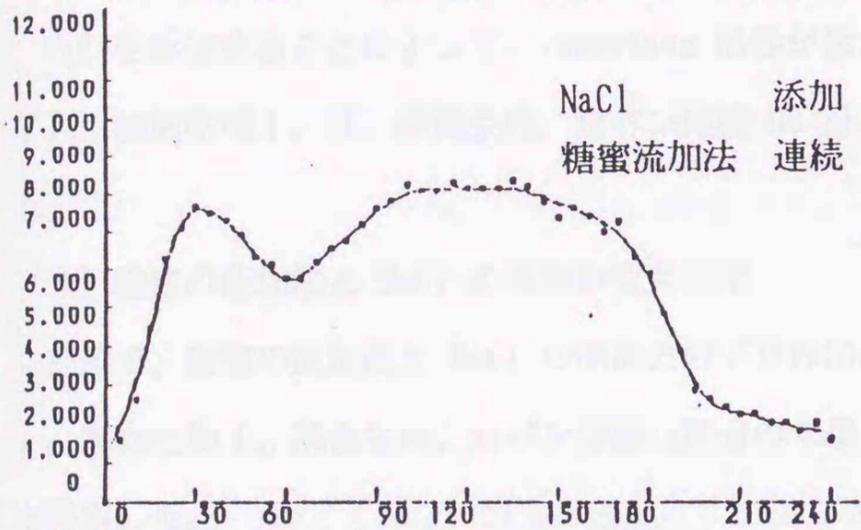
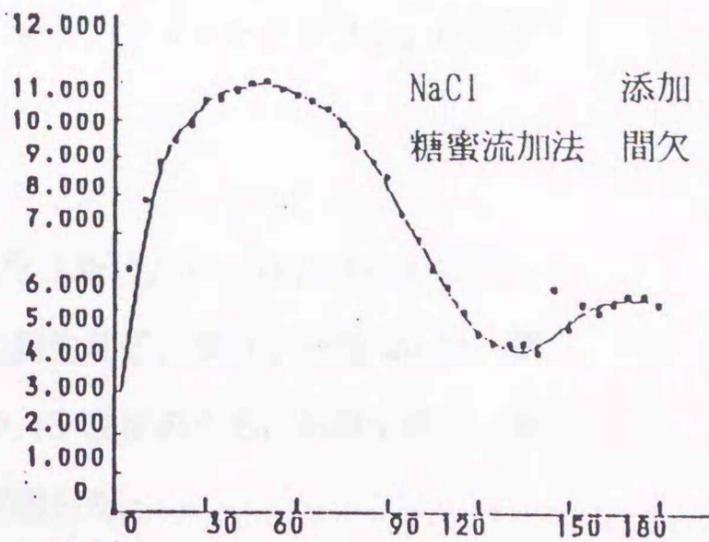
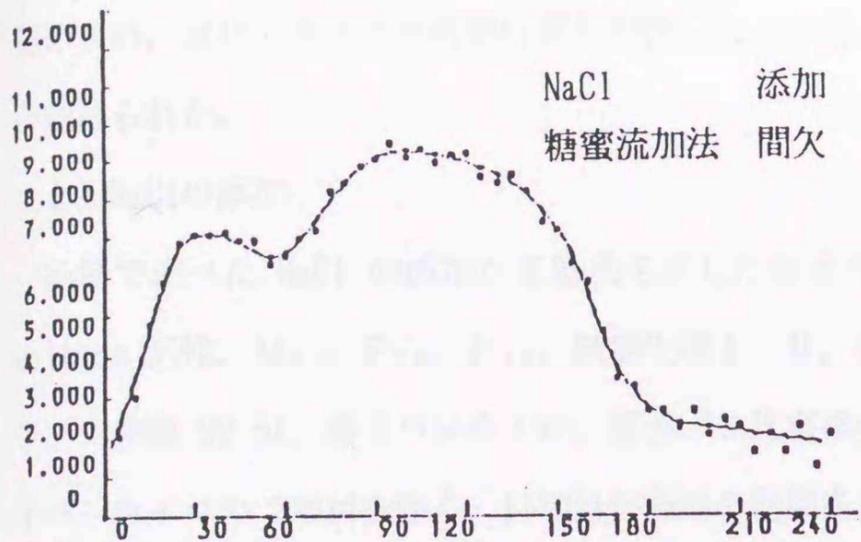


図29 培養パン酵母のファーモグラフ

左：無糖生地 右：加糖生地

認められ、食パンホイロの所要時間が短縮した。一方、 M_8 、ファーマグラフ a_0 の低下が認められた。

(2) NaClの添加

前節で述べた NaCl の添加が主効果を示した測定項目 (表102) , invertase 活性, maltase 活性, M_8 , F_{10} , F_{40} , 無糖生地 I , II , 低糖生地 II , 食パン仲種 60 分, 菓子パン仲種 30 分, 菓子パンホイロ, 菓子パン比容積の 13 項目のうち, 低糖生地 II , 菓子パンホイロの 2項目を除く, 11項目が前節の結果を再現した。

NaClを添加することによって, invertase 活性が低下し, maltase 活性, M_8 , F_{10} , F_{40} , 無糖生地 I , II , 高糖生地, 食パン仲種 60 分, 菓子パン比容積の向上が認められた。

(3) 糖蜜の流加法と NaCl の添加の交互作用

前節で, 糖蜜の流加法と NaCl の添加との交互作用が認められた測定項目 (図28) , M_8 , 無糖生地 I , 高糖生地, 食パン仲種 120分の 4 項目のうち, M_8 , 高糖生地の 2項目が再現した。

M_8 の成績は糖蜜の流加が連続で NaCl 添加が最も高く, 高糖生地の成績は糖蜜の流加が間欠で NaCl 添加が最も高かった。

第3節 パン酵母の醱酵性能向上と解糖酵素活性

前節において、パン酵母を糖蜜の間欠流加あるいは NaCl を添加して培養するとパン酵母の醱酵性能の向上に顕著な効果を示し、糖蜜の間欠流加あるいは NaCl 添加により、共通して invertase 活性の低下が認められ、F₁₀、F₄₀、高糖生地、菓子パン比容積が向上した。さらに、糖蜜の間欠流加により、低糖生地Ⅱ、ファーモグラフ菓子 a₀、菓子パンホイロが向上し、食パンホイロ所要時間が短縮し、M₈ ならびにファーモグラフ a₀ が低下した。一方、NaCl 添加により maltase 活性、M₈、無糖生地Ⅰ、Ⅱ、食パン仲種 60 分が向上することを述べた。

糖蜜の間欠流加は糖を添加した生地での醱酵を強くし、NaCl 添加は糖が入らない生地での醱酵を強くすることから、この2つの条件はパン酵母に作用するメカニズムが異なっていることをうかがわせる結果であった。しかし、そのメカニズムに関しては未検討であった。

本研究は、NaCl の添加と糖蜜の流加法に注目して、これら培養条件がパン酵母の ethanol 耐性、耐浸透圧性、酵素活性に及ぼす影響を検討し、培養条件がパン酵母の醱酵力に及ぼす影響のメカニズムを探ることを目的として行った。まず、糖蜜の間欠流加あるいは NaCl を添加して培養を行うことによる醱酵力の向上は、パン酵母が ethanol 耐性を獲得したことによるものか、培地浸透圧の上昇によるパン酵母の耐浸透圧性獲得によるものかを知るため、培養したパン酵母の ethanol 耐性ならびに高浸透圧下での醱酵力を測定し、培養条件と ethanol 耐性ならびに耐浸透圧性について検討した。次に、パン生地中でパン酵母は糖を解糖系経路により ethanol と CO₂ とする。glucose を基質とした場合、最終代謝産物である ethanol と CO₂ を生成するまでには 12 個の酵素が関与している。代謝地図によると 12 の酵素系の中に 3 個所の律速段階がある。⁹⁰⁾ すなわち、それらの律速段階には hexokinase (HK)、phosphofructokinase (PFK)、pyruvate kinase (PK) の 3 酵素が関与している。一方、Bacila ら⁹¹⁾ は酵母 (*S. cerevisiae*) の呼吸欠損株と正常株について解糖に関与する 12 個の酵素すべてについて酵素活性を測定し、呼吸欠損株では HK、PFK、PK、alcohol dehydrogenase (ADH) の 4 酵素活性が高くなっていることを見出した。Bacila らの結果より、alcohol 醱酵と HK、PFK、PK、ADH の酵素活性の関与が示唆された。培養条件により醱酵性能が変動することは、酵素活性による影響が大きいものと考え、解糖系において重要と考えられる 4 酵素—HK、PFK、PK、ADH—について、糖蜜の流加法と NaCl の添加の培養で得たパン酵母を

試料として酵素比活性ならびに代謝中間体量を測定し比較検討した。⁹²⁾

実験方法

供試試料

糖蜜の流加法を連続と間欠、NaClの添加と無添加の4通りの組み合わせで培養したパン酵母を試料とした。

ethanol 耐性

コンウェイの微量拡散法を利用して測定した。コンウェイ ユニットの外室に、パン酵母懸濁液 1 ml (乾物として 20mg を含む) と ethanol濃度を 0.15, 0.5, 1.5, 5.0%の4段階とした 10% glucose溶液 (KH₂PO₄ 1%, (NH₄)₂HPO₄ 1%を含む) 1 mlを混合しないように添加し、内室に 0.1N NaOH 1 mlと混合指示薬 (チモールブルー 0.1%とクレゾールレッド 0.1%を3:1で混合) 0.05 mlを添加後、直ちに蓋をし、外室のパン酵母懸濁液と glucose溶液を混合して、30°Cで15分間醗酵させた。醗酵後、内室の 0.1N NaOH溶液に、飽和 BaCl₂溶液 0.5 mlを添加し、0.1N HClで滴定して、発生した CO₂量を測定した。同様に、ethanol 無添加の glucose溶液を用いて CO₂発生量を測定した。ethanol 耐性は、ethanol 無添加の場合の CO₂発生量に対する ethanol添加の場合の CO₂発生量の%で表示した。

耐浸透圧性

Atkin ら¹¹⁾ の液体醗酵法を一部改変して液体醗酵力を測定した。浸透圧を高めるために NaCl, glucose, sucrose を用いた。NaClによって浸透圧を高める場合、炭素源として glucoseを 2.5g 添加し、NaClを 0, 0.25, 0.50, 1.0Mの4段階とした。glucose による場合、glucose 2.5(9.4%), 5.0(17.7%), 7.5(25.1%), 10.0(31.8%), 12.5g(37.8%) の5段階とした。sucrose による場合、sucrose として、2.5(9.4%), 5.0(17.8%), 7.5(25.2%), 10.0(32.0%), 12.5g(38.0%) の5段階になるように添加して液体醗酵力を測定した。glucose, sucroseは 25 mlに添加した重量である。()は W/V%濃度である。

解糖系酵素比活性

以下に述べる手順により、パン酵母から粗酵素液を抽出し、酵素比活性の測定に供した。パン酵母懸濁液 (乾物 100mg) を試験管に採取し、水を加えて 5 mlとし、-20°Cの冷凍庫で 16 時間凍結、4°Cの冷蔵庫で 8 時間融解を 3 回繰り返した後、0.2M 磷酸緩衝液 (pH

6.0) を 5 ml 加え, 60w, 15分間の超音波破碎 (HEAT SYSTEMS-ULTRASONICS社製, W-375型) を行った。破碎液を 10,000 回転 10 分間の遠心分離により上澄画分を採取し, 粗酵素液とした。粗酵素液の蛋白質含量を Lowry法⁹³⁾ により測定した。酵素比活性の測定は 4種の酵素 (HK, PFK, PK, ADH) について行い, 分光光度計 (日本分光製 U-BEST 30型) を用い, 340nm で吸光値変化を測定し, ⁹⁴⁾ 酵素比活性を求め, IU/g protein/min で示した。

HKの測定:

0.1M	tri-ethanolamine緩衝液 (pH 7.6)	1.00ml
0.1M	MgCl ₂	0.20
10mg/ml	NADP ⁺ (Na塩) *	0.20
50mg/ml	ATP (Na塩) *	0.10
250U/ml	glucose-6-phosphate dehydrogenase *	0.02
	試料	0.01
	蒸留水	0.27

を石英セルに加え良く攪拌した後に 100mg/ml glucoseを 1.20 ml加え, 吸光値変化を測定する。

PFKの測定:

0.1M	トリス塩酸緩衝液 (pH 8.5)	2.00ml
0.1M	MgSO ₄	0.05
0.1M	KCl	0.10
10mg/ml	NADH (Na塩) *	0.05
10mg/ml	phosphoenolpyruvate *	0.10
10mg/ml	fructose-1,6-diphosphate (Na塩) **	0.10
10mg/ml	ATP (Na塩) *	0.20
1,250U/ml	pyruvate kinase *	0.05
3,125U/ml	lactae dehydrogenase *	0.02
	試料	0.01
	蒸留水	0.12

に, 10mg/ml fructose-6-phosphate (Na塩) を 0.20 ml加え, 吸光値変化を測定する。

PKの測定:

0.1M	tri-ethanolamine緩衝液 (pH 7.6)	1.00ml
0.1M	MgSO ₄	0.75
2M	KCl	0.15
10mg/ml	NADH (Na塩) *	0.05
10mg/ml	ADP (Na塩) *	0.20
2,500U/ml	lactae dehydrogenase*	0.02
試料		0.10
蒸留水		0.58

に, 5mg/ml phosphoenolpyruvate 0.15ml加え, 吸光値変化を測定する。

ADHの測定:

0.1M	Na-pyrophosphate 緩衝液 (pH 9.0)	2.000 ml***
25mg/ml	semicarbazid-HCl (pH約 6.5)	0.100
10mg/ml	NAD ⁺ (Na塩) *	0.400
90mg/ml	glutathione	0.010
試料		0.005
蒸留水		0.385

に, 96% ethanolを 0.10 ml加え, 吸光値変化を測定する。

* : オリエンタル酵母工業製

** : SIGMA 社製

*** : 1.67mg glycine/ mlを含む

代謝中間体

Atkin らの培地をマイセル瓶にとり, パン酵母懸濁液 (乾物として 200mgを含む) を添加し, sucrose 濃度 10% 溶液 (F₁₀) 25mlとし, 30℃, 3時間醗酵液を供し, Berry ら⁹⁵⁾ の方法に準じ, 35% perchloric acid溶液で処理したパン酵母菌体から代謝中間体を抽出した。抽出処理は 60W, 10分間の超音波破碎 (HEAT SYSTEMS-ULTRASONICS社製, W-375 型) で行った。代謝中間体は分光光度計 (日本分光製 U-BEST 30型) を用い, Bergmeyer⁹⁶⁾ のNADが関与する 340nmでの吸光度変化を測定する方法により定量した。定量値は $\mu\text{mol/g cells}$ で表示した。

実験結果

培養条件の違いによりパン酵母の ethanol耐性に差が認められるかを知るため、反応溶液中の各 ethanol濃度における醗酵力の相対値を表104 に示したが、ethanol 濃度と醗酵力との間には顕著な傾向は認められなかった。

培養条件によりパン酵母の耐浸透圧性に差が認められるかを知るため、反応溶液に NaCl, glucose, sucrose を加え反応液の浸透圧を高め、培養条件と耐浸透圧の関係を検討した結果を図30-a, b, cに示した。NaClを添加して培養したパン酵母の CO₂発生量は、NaCl濃度 0 ~ 1 M の範囲内ではほぼ直線的に低下したのに対し、NaCl無添加で培養したパン酵母は 0.5M 以上で急激な低下が認められた。糖蜜の流加法による系統だった違いは認められないが、NaCl無添加・連続流加培養のパン酵母は4条件の中で CO₂の発生量が最も低かった(図30-a)。glucose の濃度上昇によっても同様な傾向が認められた。NaClを添加して培養したパン酵母の CO₂発生量は、glucose 濃度 18 ~ 38%の範囲ではほぼ直線的に減少したのに対し、NaCl無添加で培養したパン酵母は glucose濃度が高まるにつれて加速度的に減少する傾向が認められた(図30-b)。sucrose 濃度による影響は、全体的傾向として 18 %濃度以上で減少傾向が強調された。NaCl無添加・連続流加培養のパン酵母の CO₂の発生量は全体の中で最も低い値を示し、NaCl添加または糖蜜の間欠流加を行った3培養条件のパン酵母は類似した傾向を示した(図30-c)。

以上の結果より、反応溶液中の NaCl 濃度あるいは glucose濃度が高い条件において、NaCl添加培養の効果が認められ、sucrose 濃度が高い条件では糖蜜の間欠流加ならびに NaCl 添加培養の効果が認められた。

培養条件と酵素活性の関係を知るため、酵素比活性を測定した結果を図31に示した。NaCl 無添加・連続流加の条件(No. 4)を 100とした相対値で示し、No. 4の実測値を図に記載した。HK比活性は NaCl を添加することにより低下した。また、NaCl無添加の条件で間欠流加により比活性が低下したが、NaCl添加ほど明瞭な差は認められなかった。PFK比活性は間欠流加により向上し、NaCl添加により低下した。本酵素の変動は4酵素の中で最も顕著に現れた。PK比活性はNaCl添加により低下するが流加法の影響は受けなかった。ADH比活性は間欠流加により向上したが、NaClの影響はほとんど受けなかった。

以上の結果より、NaCl添加によりHK, PFK, PKの比活性が低下し、間欠流加によりPFK, ADH比活性が向上することが見出された。

培養条件による酵素比活性の変化がパン酵母の糖代謝に影響するのcaを知るため、NaCl添加と流加法を変えて培養したパン酵母の解糖系代謝中間体の量を測定した。結果を表

表104 パン酵母の ethanol耐性に対する培養における
NaCl添加の有無ならびに糖蜜の流加法の違いの影響

ethanol 濃度 (%)	NaCl			
	添加		無添加	
	間欠	連続	間欠	連続
0.15	115	94	96	104
0.50	82	89	96	96
1.50	89	114	96	89
5.00	89	80	105	100

数値は ethanol無添加の場合の CO₂発生量に対する ethanol添加時の CO₂発生量の%で示した。

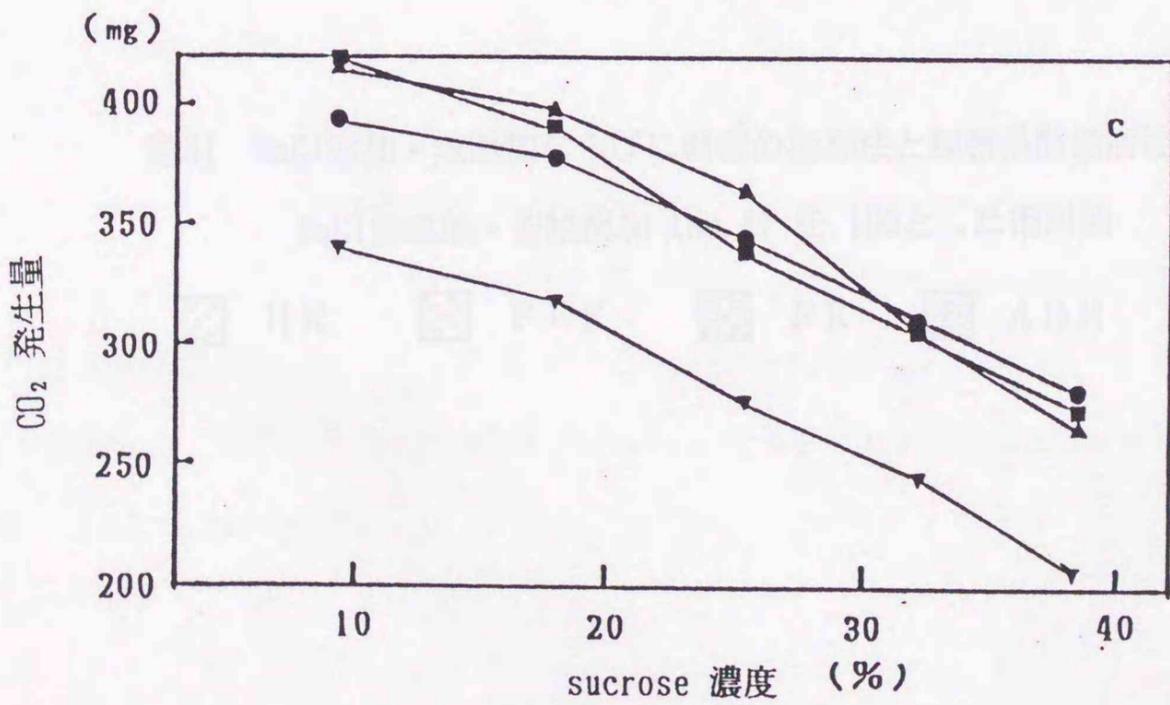
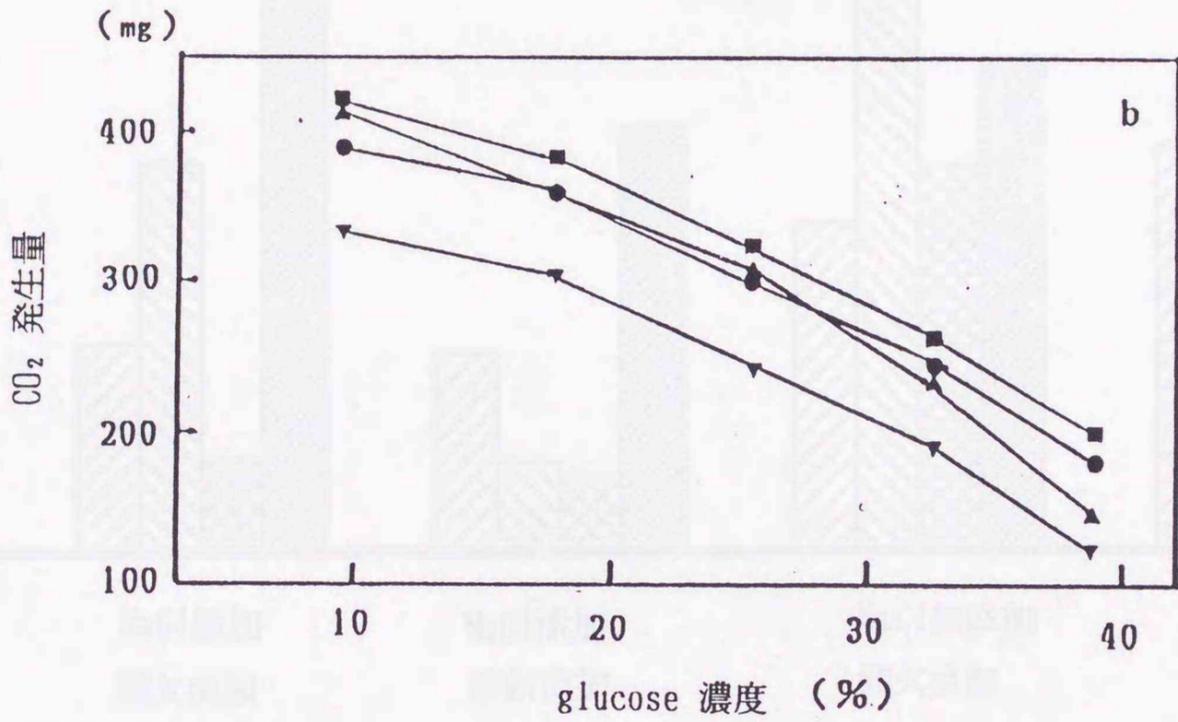
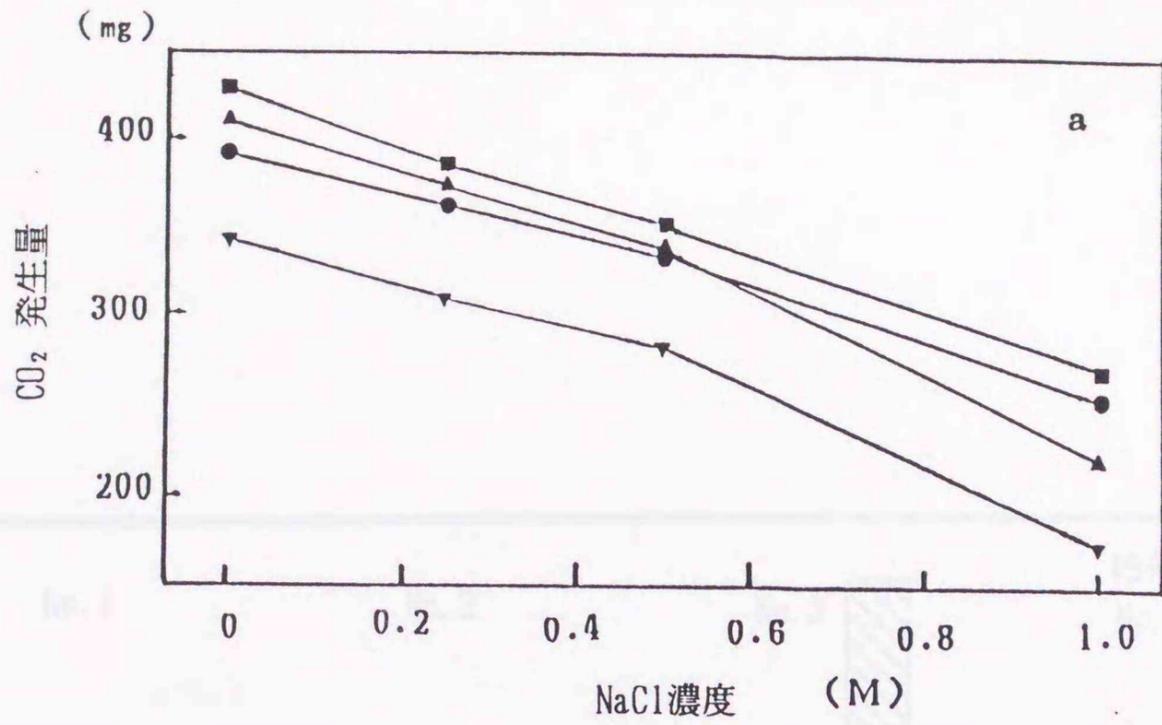


図30 NaCl添加・無添加ならびに糖蜜流加法と耐浸透圧性

- | | |
|---------------|----------------|
| ● NaCl添加・間欠流加 | ▲ NaCl無添加・間欠流加 |
| ■ NaCl添加・連続流加 | ▼ NaCl無添加・連続流加 |

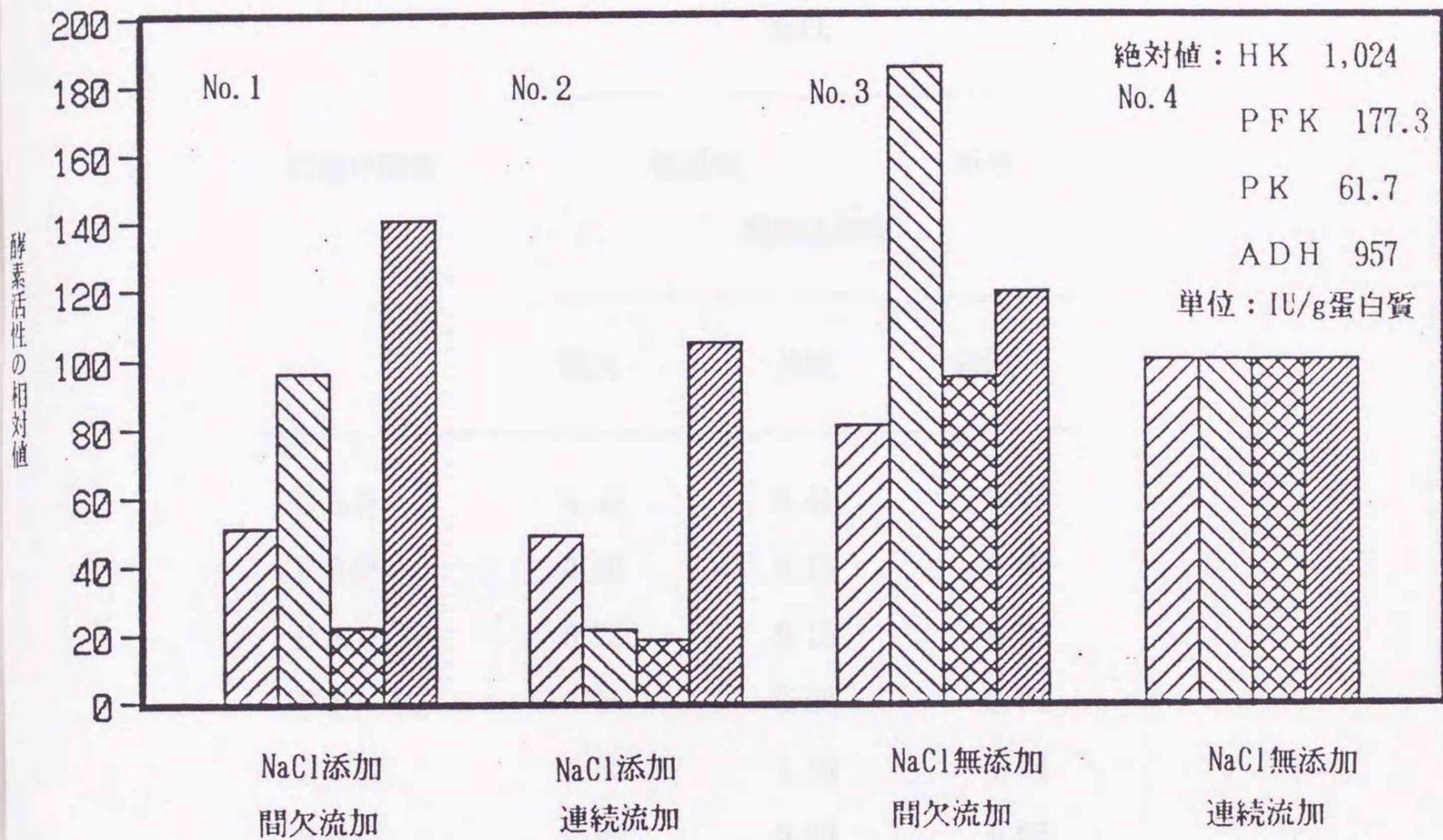


図31 NaCl添加・無添加ならびに糖蜜の流加法と解糖系酵素活性

NaCl無添加・連続流加 (No. 4) を 100とした相対値

HK
 PFK
 PK
 ADH

表105 パン酵母の代謝中間体量に対する培地への
NaCl添加, 無添加ならびに糖蜜の流加法の影響

代謝中間体	代謝中間体量 ($\mu\text{mole/g yeast}$)		
	NaCl		
	無添加	添加	
	糖蜜流加法		
	間欠	連続	連続
G 6 P	0.49	0.41	0.27
F 6 P	0.10	0.15	0.08
D A P	0.25	0.15	0.22
F 1, 6 P	6.05	6.09	6.07
3 P G	1.50	1.13	1.34
2 P G	0.04	0.06	0.08
P E P	0.02	ND	0.02
Py	0.17	0.16	0.15

G 6 P ; glucose-6-phosphate, F 6 P ; fructose-6-phosphate, D A P ; dihydroxyacetonephosphate, F 1, 6 P ; fructose-1,6-diphosphate, 3 P G ; 3-phosphoglycerate, 2 P G ; 2-phosphoglycerate, P E P ; phosphoenolpyruvate, Py; pyruvate, ND; not determined.

第4節 考察

本研究では、各種培養条件の主効果ならびに培養条件間の交互作用について検討を行い、主要な効果として糖蜜の流加法、培地浸透圧、培養 pH を抽出した。これら主要な効果のうち、糖蜜の流加法ならびに培地浸透圧による品質改良の効果のメカニズムを解明するため、パン酵母の耐浸透圧性と解糖系酵素比活性を測定し検討を行った。

1. パン酵母の品質改良の主要因

本研究では、パン酵母の醗酵性能向上に効果がある主な要因を抽出するため、次の6項目の培養条件（糖蜜の種類、添加窒素源の種類、培養 pH、糖蜜流加法、NaCl濃度、始発時糖濃度）を直行配列（L16）を用いて、各種培養条件の主効果ならびに交互作用について検討した。

パン酵母の醗酵性能の向上を目的とし、各製パン性能に適した培養条件の抽出と組み合わせを見出すために検討した。検討した条件は (1) 低糖生地、高糖生地試験値の向上 (2) 食パン仲種醗酵力、ファーモグラフ a₀、ファーモグラフ F₁ の向上 (3) 食パンホイロ、比容積の向上 (4) 菓子パン仲種醗酵力、ファーモグラフ菓子 a₀ の向上 (5) 菓子パンホイロ、比容積の向上の5条件である。認められた主効果は、

- (1) 低糖生地、高糖生地試験値向上の条件は NaCl 添加濃度 2%、糖蜜の流加法間欠、培養 pH 6.5。
- (2) 食パン仲種醗酵力、ファーモグラフ a₀、ファーモグラフ F₁ 向上の条件は NaCl 添加濃度 2%、糖蜜の流加法連続、糖蜜の種類ケーン糖蜜、培養 pH 6.5。
- (3) 食パンホイロ、比容積向上の条件は糖蜜の流加法間欠、糖蜜の種類ケーン糖蜜、培養 pH 6.5、窒素源 urea。
- (4) 菓子パン仲種醗酵力、ファーモグラフ菓子 a₀ 向上の条件は NaCl 添加濃度 2%。
- (5) 菓子パンホイロ、比容積向上の条件は NaCl 添加濃度 2%、糖蜜の流加法間欠。

であった。

以上の結果を表106に一覧表の形で示したが、パン酵母の製パン性能に対し効果が大きい培養条件は糖蜜の流加法、NaCl添加濃度（培地浸透圧）、培養 pH であり、全体的な傾向としては、NaCl添加濃度 2%、培養 pH 6.5、窒素源としては urea、始発糖濃度 0% が各性能に共通した条件であることが認められた。糖蜜流加法は食パン仲種のみが連続流加法で性能が向上したのに対し、他の性能は間欠流加法で向上した。糖蜜の種類としては

表106 パン酵母の各醱酵性能に寄与する培養条件

醱酵性能	低糖生地	高糖生地	食パン仲種	食パンフアモ	食パンホイロ	食パン比容積	菓子パン仲種	菓子パンフアモ	菓子パンホイロ	菓子パン比容積
培養条件										
NaCl濃度	2%	2%	2%	2%	—	—	2%	2%	2%	2%
糖蜜流加法	間欠	間欠	連続	連続	間欠	間欠	間欠	間欠	間欠	間欠
糖蜜	HA混合	HA混合	ケーン	ケーン	ケーン	ケーン	—	—	—	—
培養 pH	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	—	—	—	—
窒素源	urea	urea	—	—	—	—	—	—	—	—
始発時糖濃度	0%	0%	—	—	—	—	—	—	—	—

生地試験のみがHA糖蜜混合により性能が向上したのに対し、他の性能はケーン糖蜜のみで向上が認められた。

糖蜜の間欠流加法や高 pH によってパン酵母の収率が低下し、酵母の全窒素、磷酸含量が高まる傾向が認められた（表101-(1)(2)）が、これらの要因は収率を低下させる要因であり、収率が低下した結果、全窒素と磷酸含量が高くなったものと考えられる。パン酵母の品質を向上させるためには収率の低下も止むを得ないと考えられる。

2. 主要培養条件とパン酵母の醗酵性能

パン酵母の製パン性能を改良する主要な方法として、NaClの添加、糖蜜の間欠流加、培養 pH 6.5 などがあるが、とりわけ NaCl の添加と糖蜜の間欠流加が液体醗酵力、生地試験値ならびに製パン諸性能にもたらす効果が大きいことを認めた。この糖蜜の間欠流加と NaClの添加の効果の確認を行った。

糖蜜を間欠流加する、あるいは NaCl を添加することによって、共通して invertase活性の低下、F₁₀、F₄₀、高糖生地、菓子パン比容積の向上が認められた。間欠流加のみで低糖生地II、菓子パンホイロの向上と食パンホイロの所要時間の短縮、M₈ならびにファーモグラフ a₀ が低下し、糖蜜を間欠流加すると、糖を添加した生地の醗酵力が強化される傾向が認められた。糖蜜の流加法の効果が trehalose、無糖生地I、ファーモグラフ F_t、食パン仲種 90、120分の5項目において再現しなかったことは、trehalose、食パン仲種 120分は前節の解析でも糖蜜の流加法の寄与率が低く、寄与率が高かった無糖生地I、ファーモグラフ F_t、食パン仲種 90 分は糖蜜の連続流加法の成績が何らかの原因で低く出たため再現しなかったものと考えられる。NaClの添加のみが maltase活性、M₈、無糖生地I、II、食パン仲種 60 分の向上に効果を示し、NaClを添加すると maltoseの醗酵が強化される傾向が認められた。NaCl添加の効果が低糖生地IIと菓子パンホイロで再現しなかったことは、低糖生地IIは寄与率が低く、寄与率が高かった菓子パンホイロは誤差も多い測定値であるため再現しなかったものと考えられる。糖蜜の間欠流加あるいは NaCl 添加培養によって、invertase 活性が低下し、F₄₀、高糖生地、菓子パン比容積の向上が認められたが、2倍体の酵母では、高糖生地醗酵力に対する invertase活性の影響が認められない^{15, 97, 98)} ことから、糖蜜の間欠流加あるいは NaCl 添加培養によって、高糖生地醗酵力が向上したことは invertase活性の低下によるものではないと考えられる。

3. パン酵母の醗酵性能向上と解糖系酵素活性

糖蜜の間欠流加は糖を添加した生地での醗酵を強くし、NaCl添加は糖が入らない生地での醗酵を強くすることから、2つの要因はパン酵母に作用するメカニズムが異なっていることをうかがわせる結果であった。本研究では、培養条件の違いによって認められたパン酵母の醗酵力の向上は、酵母の ethanolの生成速度が違い ethanol蓄積量に差が生じたための阻害によるものか、高糖濃度での醗酵力の向上は培地浸透圧の効果でパン酵母の耐浸透圧性が獲得したことによるものかを検討した。また、培養条件により醗酵性能が変動することは、酵素活性による影響が大きいものと考え、解糖系において重要と考えられる4酵素(HK、PFK、PK、ADH)について、糖蜜の流加法とNaClの添加の培養で得たパン酵母を試料として酵素比活性ならびに醗酵時のパン酵母の代謝中間体を定量し検討した。

まず、NaCl添加培養あるいは糖蜜の流加法の違いによって、醗酵力に差が認められた(表103)ことは、パン酵母が醗酵において ethanolを生成する速度が異なり、その生成した ethanolの阻害に対する抵抗性に差を生じるためかを検討したが、いずれの条件で培養したパン酵母も高 ethanol環境下においても醗酵力は抑制されず(表104)、ethanol蓄積による阻害はないものと考えられる。

高糖生地での醗酵力の向上はパン酵母の耐浸透圧性獲得の結果によるものかを検討した。glucoseとNaClの濃度を変えた液体培地でのCO₂発生量の測定結果(図30-a, b)から、NaCl添加、間欠流加両条件とも、パン酵母のCO₂発生量を増加させたが、高い濃度の糖試験区ではNaCl添加培養の効果のみが認められた。NaCl添加培養の酵母は無添加培養の酵母より glucoseおよび sucroseからのガス発生量が高かった(表103)ことと、NaCl濃度1.0Mの液体培地でのCO₂発生量の低下が小さかった(図30-a)ことから、NaCl添加培養によって酵母が糖からのCO₂発生力を向上したことと耐浸透圧性を獲得したことにより、高糖生地醗酵力が向上したと考えられる。

一方、液体醗酵培地の sucrose濃度を上昇させても、glucoseで認められたNaCl添加と無添加培養の差が認められなかった(図30-c)が、glucose濃度30%と sucrose濃度38%とは類似したCO₂発生量を示した(図30-b, c)ことから、sucroseは glucoseの2倍の分子であり、糖濃度が同じであっても、浸透圧はパン酵母の invertaseの働きによって、必ずしも1/2とはならないが、浸透圧が低いことが考えられる。NaCl無添加・連続流加法を除いて高いCO₂発生量を示した(図30-c)ことは、NaCl無添加・連

連続流加法のパン酵母は他の3種の培養のパン酵母と比べ invertase活性が高いため sucroseを加水分解し、他のパン酵母より反応溶液の浸透圧が高くなったためであると考えられる。

糖蜜の間欠流加法により、PFKとADHの酵素比活性の向上が認められた(図31)。糖蜜の連続流加では好氣的代謝が行われ、おおむねRQ 1.0で推移するのに対し、間欠流加では糖が一時的に大量に流加されるため、流加後RQが上昇し($RQ > 1.0$)、その後徐々にRQが下降($RQ < 1.0$)する周期的な変化が観察される。RQの上昇は糖からの ethanolの生成を示し、RQの下降は ethanolからの菌体の生成を示している。すなわち、間欠流加では一定の時間間隔で ethanol醱酵が行われることを示している。パン酵母のPFKは糖代謝の最も重要な制御点であり(図32)、好氣的条件ではその活性が阻害され、嫌氣条件ではその活性が解除される(アロステリック効果)ことが知られている。間欠流加条件のPFK活性が連続流加に比較して高かったことは、アロステリック効果の現れと考えられる。間欠流加によりADH活性の向上が認められたことは、間欠流加では培養中に ethanolが生成し、その後生成した ethanolからの菌体生産が行われ、ADHは ethanolの生成と資化の両反応に関与している酵素であるため、間欠流加ではADH活性が増強されたものと考えられる。

NaClを添加した場合、解糖反応に関与するHK、PFK、PKの3酵素活性が低下したが、ethanol 醱酵に関与するADHは変化が認められなかった。NaClを添加した場合、液体醱酵力、生地試験値、食パン仲種醱酵力などの諸性質が向上するにもかかわらず、解糖反応に関与している酵素活性が抑制されているという、一見矛盾した結果が得られた。NaCl添加培養の酵母の解糖系酵素の比活性が NaCl 無添加培養の酵母に較べ低下したにもかかわらず、glucose および sucroseからの CO_2 発生量が増加し、解糖時の酵母の代謝中間体量には有意な差が認められなかった(表 105)ことから、NaCl添加培養の酵母には取り込んだ基質を分解するのに十分な量の解糖系酵素が存在していると考えられる。NaCl添加培養の酵母は glucoseおよび maltoseからの CO_2 発生量ならびに maltase活性が無添加培養の酵母より高かった(表 103, 図30-a, b)ことから、NaCl添加培養によって酵母が糖からの CO_2 発生量を向上したことと maltase活性が高められたことにより、無糖生地醱酵力が向上したと考えられる。Hautera・Lövgren⁹⁹⁾は maltaseと同時に maltose透過酵素が合成されると報告していることから、NaCl添加培養によって、maltose 透過酵素も増加し基質の maltoseの取り込み速度が速められたことも考えられる。また、酵母の糖代

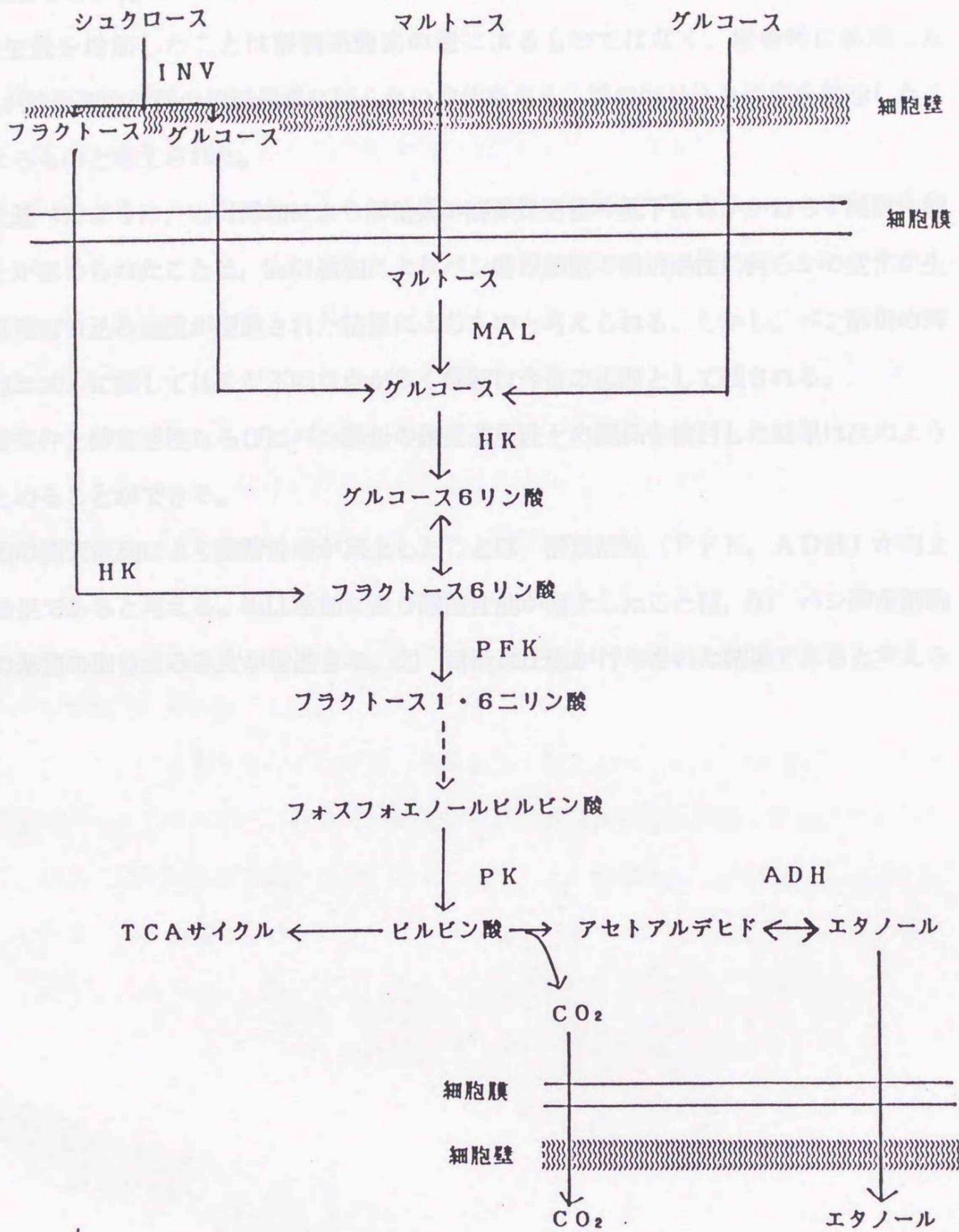


図32 パン酵母解糖経路の概略

謝ではグルコースの膜透過性が重要であり、酵母は条件によって基質に対して異なる親和力の状態を取り得ることも知られている。¹⁰⁰⁾ NaClを添加して培養した酵母が糖からのCO₂発生量を増加したことは解糖系酵素の量によるものではなく、培養時に添加したNaClが酵母細胞の糖の透過機構に何らかの変化を与え、糖の取り込み速度を加速したことによるものと考えられた。

以上述べたように、NaCl添加により解糖系の酵素比活性の低下にもかかわらず醗酵性能の向上が認められたことは、NaCl添加によりパン酵母細胞の膜透過性に何らかの変化が生じ、基質取り込み速度が促進された結果によるものと考えられる。しかし、パン酵母の解糖メカニズムに関しては未だ不明な点が多く詳細は今後の課題として残される。

培養条件と酵素活性ならびにパン酵母の耐浸透圧性との関係を検討した結果は次のようにまとめることができる。

糖蜜の間欠流加により醗酵性能が向上したことは、酵素活性(PFK, ADH)が向上した結果であると考え。NaCl添加により醗酵性能が向上したことは、(1) パン酵母細胞内への基質の取り込み速度が促進され、(2) 耐浸透圧性が付与された結果であると考えられる。

第5節 要約

本研究では、各種培養条件の主効果ならびに培養条件間の交互作用について検討を行い、主要な効果として糖蜜の流加法、培地浸透圧、培養 pH を抽出した。これら主要な効果のうち、糖蜜の流加法ならびに培地浸透圧による品質改良の効果のメカニズムを解明するため、パン酵母の耐浸透圧性と解糖系酵素比活性を測定し検討を行った。

1. パン酵母の製パン性能に対し効果が大きい培養条件は糖蜜の流加法、NaCl濃度（培地浸透圧）、培養 pH であった。NaCl添加濃度2%、ケーン糖蜜、培養 pH 6.5、窒素源として urea、始発糖濃度0%が各性能の向上に共通した条件として得られた。唯一の相違点は、食パン仲種醗酵力を向上させるには連続流加法が良かったことである。生地試験値、食パンホイロ、比容積、菓子パン性能を向上させるには間欠流加法が良かった。

2. 糖蜜を間欠流加あるいは NaCl の添加により、invertase 活性が低下し、F₁₀、F₄₀、高糖生地、菓子パン比容積が向上した。さらに、間欠流加は低糖生地Ⅱ、ファーモグラフ菓子 a₀、菓子パンホイロを向上し、食パンホイロ所要時間を短縮し、M₈ ならびにファーモグラフ a₀ が低下した。一方、NaClの添加により maltase 活性、M₈、無糖生地Ⅰ、Ⅱ、食パン仲種 60 分が向上した。

3. NaClを添加して培養することにより、醗酵性能が向上したことは、NaCl添加によりパン酵母細胞内への基質の取り込み速度の促進ならびに耐浸透圧性を獲得した結果であると考えられる。糖蜜の間欠流加法で醗酵性能が向上したことは、酵素活性（PFK、ADH）が向上した結果であると考えられる。

III 総括

通常のパン酵母を対象とし、製パン性能の優れたパン酵母を製造する製造法の改良を目的として、製パン性能と原料ならびに培養条件との関係について以上の研究を行い、製パン性能向上の機作を明らかにするとともに、パン酵母の食パン性能ならびに菓子パン性能を向上させる培養条件を確立した。

第1章では、測定項目の製パン性能上の意義を明らかにするため、未だ体系づけられていなかったパン酵母の醱酵諸特性と製パン性能との関係を検討し、製パン性能を表す代替特性を見出すことができた。

1. 食パン仲種の初期醱酵の代替特性は invertase活性, maltase 活性, maltose 8%の液体醱酵での CO_2 の発生量 (M_8) , 無糖生地第1醱酵 60 分の生地膨張量 (無糖生地 I) , 無糖生地ファーモグラフ初期醱酵の加速度 (ファーモグラフ a_0) , 無糖生地ファーモグラフ醱酵終了時間 (ファーモグラフ F_1) の6項目であった。

2. 食パンホイロ所要時間の代替特性は sucrose 10%の液体醱酵での CO_2 の発生量 (F_{10}) , 同じく 40%の液体醱酵 (F_{40}) , 低糖生地第2醱酵 40 分の生地膨張量 (低糖生地 II) , 同じく第3醱酵 40 分 (低糖生地 III) , 高糖生地の5項目であった。

3. 食パン比容積の代替特性は F_{10} , 低糖生地 I の2項目であった。

4. 菓子パン仲種の初期醱酵の代替特性は maltase活性, M_8 , 無糖生地第2醱酵 40 分 (無糖生地 II) , ファーモグラフ a_0 の4項目であった。

5. 菓子パンホイロの代替特性は F_{10} , F_{40} , 無糖生地 II , 高糖生地の4項目であった。

6. 菓子パン比容積の代替特性は maltase活性, F_{10} , F_{40} , 無糖生地 II , 低糖生地 II , III , 高糖生地の7項目であった。

第2章では、原料によるパン酵母の収率および品質の改良を目的とし、炭素源 (糖蜜, 粗糖, エタノール) , 窒素およびリン酸源, ビタミン類とパン酵母の収率と製パン性能との関係を検討した。

1. ケーン糖蜜, ステッフエン製糖法のビート糖蜜 (HB糖蜜) , イオン交換樹脂製糖法のビート糖蜜 (HA糖蜜) を炭素源とする場合, ケーン糖蜜単独よりケーン糖蜜にHB糖蜜を混合すると収率が高くなることが認められた。HA糖蜜には収率を高める効果が認められなかった。maltose の醱酵能と食パン仲種の初期醱酵力はHA糖蜜の混合により低

下する傾向が認められ、HB糖蜜の混合により食パンホイロの所要時間、菓子パンホイロ、菓子パン比容積が低下し、HA糖蜜を混合すると向上する傾向が認められた。

2. 粗糖に醗酵性糖分 (FS) 基準で 25 %のケーン糖蜜を混合し、これにカザミノ酸、ビタミン混液、Mg, NaClを添加して培養すると、ケーン糖蜜並の収率ならびに醗酵力のパン酵母を得たが、食パンホイロの所要時間が長かった。一方、酵母分離液の色相を 1/3に、BOD 負荷を 1/2以下に軽減することができた。

3. ethanol を炭素源とする場合、培養の前半ケーン糖蜜を流加し、後半所定量の ethanolを流加する方法により、ethanol を炭素比で流加糖量の 40 ~60%を糖蜜と振り替えて使用することが可能であり、対 ethanol 収率約 40 %の成績でパン酵母を得ることができた。ethanol で培養したパン酵母は糖蜜で培養したパン酵母と較べ、耐糖性は変わらなかったが、食パン中種の初期醗酵が低下し、食パンホイロ所要時間が短縮することが認められた。

4. 窒素源の中で NH_4OH がパン酵母の収率が最も高く、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が低いことが認められた。耐糖性や菓子パン性能は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が高く、食パン性能では窒素源による差が認められなかった。窒素源の添加方法の違いによるパン酵母の収率や醗酵性能に差が認められなかった。

5. 磷酸を培養始発時にパン酵母の磷酸含量が P_2O_5 として 2.5~3.0 %の範囲内になるように添加して培養すると、収率が高く、食パンならびに菓子パン性能が良好なパン酵母を得ることができた。磷酸を指数増殖期に流加すると増殖が遅れるため、収率が低く、製パン性能も劣ることが認められた。

6. ケーン糖蜜を FS 基準で 20 %混合したHB糖蜜を流加糖蜜とする場合、thiamine を添加すると収率が低下するが、製パン性能が向上することが認められた。thiamineを培養始発時に添加することによってパン酵母の品質向上への効果が最も強く現れるが、収率の低下が大きい。収率の低下を抑え、thiamineの効果が現れる添加方法は流加糖蜜と混合して流加する方法であることを見出した。一方、ケーン糖蜜単独培地ではビタミンの単独添加は効果が認められなかったが、複数のビタミンが存在すると効果が認められた。とくに pyridoxine 添加がパン酵母の品質に不可欠であることを見出した。

ケーン糖蜜を FS 基準で 20 %混合したHB糖蜜を流加し、窒素源に urea を使用した場合にパン酵母の比増殖速度が遅く、収率や耐糖性が低下し、biotinを添加すると収率や耐糖性の回復が認められた。この結果はこれまでの報告¹⁶⁾ と一致した。

第3章では、培養条件によるパン酵母の収率および品質の改良を目的とし、種菌の培養条件、製品培養の温度、培養 pH、溶存酸素濃度、糖蜜の流加法、培地浸透圧とパン酵母の収率および製パン性能との関係を検討した。

1. 種菌は熟成していないものを用いると、製品培養で比増殖速度が速く、収率あるいは醗酵性能が高いパン酵母が得られることを見出した。種菌クリームの貯蔵期間の経過とともに製品培養の比増殖速度や耐糖性の低下が認められた。

2. 指数期の温度は 30 °C より高いと比増殖速度が速く、熟成期の温度は 30 °C で培養したパン酵母が食パンならびに菓子パン性能が良好であることを認めた。

3. 培養 pH の違いにより収率に差は認められなかった。培養 pH は無糖生地 of 初期醗酵力と耐糖性に影響し、高い pH で培養すると無糖生地 of 初期醗酵力が低く、耐糖性が高くなる傾向が認められた。培養 pH とその他の製パン性能との関係は認められなかった。

4. 指数期の DO 濃度が耐糖性に影響し、DO が不足すると耐糖性の低下が認められた。指数期の DO 濃度が飽和濃度の 10 % 以上確保され、熟成期の DO が飽和濃度の 10 ~ 50 % の範囲内では耐糖性、菓子パン性能に差が認められなかった。培養全期間を通じて DO 濃度は少なくとも培地飽和濃度の 10 % (約 0.6 ppm) 以上を確保することが必要であることを見出した。

5. 糖蜜を間欠流加すると収率の低下は避けられなかった。流加間隔を狭めたり、熟成期のみを間欠流加すると収率の低下幅が小さくなることが認められた。耐糖性と製パン性能は培養全期間 30 分間欠流加したパン酵母が最も良好であることを見出した。間欠流加の流加間隔を狭めたり、熟成期のみを間欠流加すると、全期間 30 分間欠流加と連続流加の中間の耐糖性ならびに製パン性能を示すことが認められた。

6. パン酵母の菌体濃度を高くして培養すると、収率は低下するが、maltose の醗酵、耐糖性、食パン仲種の初期醗酵、菓子パン比容積の向上が認められた。しかし、その向上幅は小さかった。塩類添加により培地浸透圧を高める場合、耐糖性向上に効果を示した塩は Na-acetate, Na-citrate, NaCl, NaNO₃, KCl, CaCl₂, Na₂SO₄, K₂SO₄ であった。酵母クリームを NaCl で処理しても耐糖性向上の効果が認められなかった。NaCl を 1.0 ~ 2.0 % 培養始発時に添加して培地浸透圧を高めて培養すると、収率が低下するが、maltose の醗酵、耐糖性、食パン仲種の初期醗酵が向上し、食パンホイロの所要時間が短縮し、菓子パン性能が変わらないことを見出した。

第4章では、パン酵母の糖供給速度と比増殖速度、パン酵母の酸素要求と供給速度など、パン酵母製造の生物工学的検討を行った。

1. 回分培養である純粋培養の始発糖濃度の上限は6%であり、その時の収率は対糖約16%と期待できることを見出した。
2. 指数期の糖供給速度 $0.412 \sim 0.471 \text{ g sugar/g yeast hr}$ の範囲内で、比増殖速度 $0.195 \sim 0.210 \text{ hr}^{-1}$ 、収率 $49.61 \sim 52.26 \%$ であった。これらの結果は Meyenburg⁸⁰⁾ の連続培養の結果と一致した。熟成期の糖供給速度 $0.088 \text{ g sugar/g yeast hr}$ ではパン酵母の増殖が認められなかった。この値は Wang ら⁸⁷⁾ が報告した酵母の維持エネルギー値 $0.08 \text{ g sugar/g yeast hr}$ とほぼ一致した。したがって、熟成期の糖供給速度は $0.118 \text{ g sugar/g yeast hr}$ が最低限度であり、その条件での収率は対糖約25%が期待できることを見出した。
3. 培養の始発糖濃度 $0 \sim 1.5 \%$ の範囲では収率ならびに品質に差が認められなかった。
4. パン酵母の増殖に必要な酸素量は増殖した酵母固形分 1 Kg 当たり約 1 Kg であることを確認した。この値は Harrison⁸²⁾ や Marteles⁸³⁾ が報告した値と一致した。酵母の増殖に必要な酸素を供給するための攪拌所要動力は、通気量 1 VVM のとき、最低 $0.343 \text{ KW/Kg yeast}$ であることを見出した。
5. RQ管理を検討し、あらかじめ最終の糖供給速度を $0.118 \text{ g sugar/g yeast hr}$ に設定し、RQ値によって糖蜜の流加量を微調整することにより、収率の低下とパン酵母の品質の低下を防ぐことができ、安定した品質のパン酵母の製造が可能であることを見出した。

第5章では、各種培養条件の主効果ならびに培養条件間の交互作用について検討を行い、主要な効果として糖蜜の流加法、培地浸透圧、培養 pH であることを見出した。これら主要な培養条件のうち、糖蜜の流加法ならびに培地浸透圧による品質改良の効果のメカニズムを解明するため、パン酵母の耐浸透圧性ならびに解糖系酵素比活性を測定し検討を行った。

1. パン酵母の製パン性能に対し効果が大きい培養条件は糖蜜の流加法、NaCl濃度（培地浸透圧）、培養 pH であることを見出した。糖蜜の流加法で効果の違いが認められ、食パン仲種醗酵力を向上させるには連続流加法が良いが、生地試験値、食パンホイロ、食パン比容積、菓子パン性能を向上させるには間欠流加法が良いことを見出した。
2. 糖蜜の間欠流加あるいは NaCl の添加により、共通して invertase 活性が低下し、

F₁₀, F₄₀, 高糖生地, 菓子パン比容積の向上が認められた。さらに, 間欠流加法は低糖生地Ⅱ, ファーモグラフ菓子 a₀, 菓子パンホイロを向上し, 食パンホイロの所要時間を短縮し, M₈ ならびにファーモグラフ a₀ を低下することが認められた。一方, NaCl の添加により maltase 活性, M₈, 無糖生地Ⅰ, Ⅱ, 食パン仲種 60 分の向上することが認められた。

3. 糖蜜の間欠流加法が醗酵性能を向上することは, 酵素 (phosphofructokinase, alcohol dehydrogenase) 活性が向上した結果であると考ええる。

4. NaCl を添加して培養すると, 解糖系酵素比活性が低下するにもかかわらず, 醗酵性能が向上したことは NaCl 添加によりパン酵母細胞内への基質の取り込み速度の促進ならびに耐浸透圧性を獲得した結果であると考えられた。

以上の研究により, 良好な品質のパン酵母を安定して製造することが可能になった。とくに, NaCl の添加と糖蜜の流加法を変えることによって, パン酵母の食パン性能あるいは菓子パン性能をある程度自由に变化させることができるようになった。そのため, ユーザーのパン酵母の製パン性能に対する幅広い要求に対し, 一種類のパン酵母株で対応することが可能になった。その結果, 性能的にユーザーの希望を満たしたばかりでなく, 製造において工程を増設しなくても済むこととなり, 多額の設備投資を必要としない大きなメリットをもたらした。

文献

(緒言及び第1章)

- 1) Sanderson, G. W. : Cereal Foods World, 30, 770 (1985).
 - 2) 嶋田昇二 : 酵母製品. 岡見吉郎, 権田金治, 清水潮, 都留信也, 堀越広毅編 : 最新微生物ハンドブック, 345 サイエンスフォーラム (1986).
 - 3) 高野博幸 : 食品工業, 11, 52 (1987).
 - 4) 越後明 : 食品と科学, 28, 増刊号②, 29 (1986).
 - 5) Reed, G., and Pepler, H. J. : Baker's Yeast Production, In, Yeast Technology, 53 AVI (1973).
 - 6) 京都大学農学部農芸化学教室編 : 新改版 農芸化学実験書 (増補版), 2, 518 産業図書 (1968).
 - 7) 京都大学農学部農芸化学教室編 : 新改版 農芸化学実験書 (増補版), 1, 103 産業図書 (1968).
 - 8) 京都大学農学部農芸化学教室編 : 新改版 農芸化学実験書 (増補版), 2, 679 産業図書 (1968).
 - 9) 京都大学農学部食品工学教室編 : 食品工学実験書, 下, 431 養賢堂 (1979).
 - 10) 鈴木良幸, 田村雅彦 : イースト技報, 54, 7 (1984).
 - 11) Atkin, L., Shultz, A. S., and Frey, C. N. : Cereal Chem., 22, 321 (1945).
 - 12) イースト工業会 : パン酵母試験法, (1975).
 - 13) 日野明寛, 高野博幸, 北林延夫, 新田房二郎, 大石勉, 田中康夫 : 日本食品工業学会誌, 35, 344 (1988).
 - 14) Burrows, S. : Baker's Yeast, In, Economic Microbiology, 4, Microbial Biomass, 32, Academic Press (1979).
 - 15) 小川紀児, 布子信夫 : イースト技報, 39, 54 (1970).
- ### (第2章)
- 16) Reed, G. : Production of Bakers' Yeast, In, Industrial Microbiology, 4th edition, 593, AVI (1982).
 - 17) 小川紀児, 前川幹治 : イースト技報, 45, 1 (1975)
 - 18) 精糖技術研究会編 : 製糖便覧 17 朝倉書店 (1962).
 - 19) 佐野孝文, 松野拓 : 精糖技術研究会誌, 12, 48 (1963).

- 20) 前田茂: イースト技報, 26, 9 (1963).
- 21) 魚谷治: イースト技報, 31, 21 (1966).
- 22) 高橋和夫, 酒井賢次郎, 諏訪正明: イースト技報, 42, 13 (1972).
- 23) 川口芳文, 酒井正文, 宇野一男, 樋野勲: イースト技報, 44, 17 (1974).
- 24) 服部義則: イースト技報, 45, 9 (1975).
- 25) 宇野一男, 川口芳文, 樋野勲: イースト技報, 45, 13 (1975).
- 26) 川口芳文, 酒井正文, 樋野勲, 佐藤孝吉: イースト技報, 43, 11 (1973).
- 27) 榎田静雄, 関根敏弘, 保坂孝男: イースト技報, 43, 15 (1973).
- 28) 宇野一男, 樋野勲: イースト技報, 46, 5 (1976).
- 29) オリエンタル酵母工業: 特開昭, 51-54974 (1976).
- 30) オリエンタル酵母工業: 特開昭, 51-54973 (1976).
- 31) 前川幹治, 小川紀児: イースト技報, 47, 13 (1977).
- 32) Oura, E.: Biotechnol. Bioeng., 16, 1, 197 (1974).
- 33) 京都大学農学部農芸化学教室編: 新改版 農芸化学実験書 (増補), 1, 150, 産業図書 (1968).
- 34) 大亦正次郎, 村尾沢夫, 寺島宏: 醸酵協会誌, 26, 313 (1968).
- 35) 大亦正次郎, 村尾沢夫, 寺島宏: 醸酵協会誌, 26, 317 (1968).
- 36) 小川紀児, 前川幹治, 膳法昭人: イースト技報, 36, 15 (1968).
- 37) 谷日出男: イースト技報, 34, 1 (1967).
- 38) 永谷正治: 日本醸酵工学会発表, 11月16日 (1967).
- 39) White, J.: Yeast Technology, 275 Chapman and Hall, London (1954).
- 40) Olson, B. H., and Jhonson, M. J.: J. Bacteriol., 57, 235 (1949).
- 41) 松田哲朗, 庄司正治: イースト技報, 13, 10 (1957).
- 42) 加藤民也: イースト技報, 6, 39 (1953).
- 43) 堀正義: イースト技報, 6, 7 (1953).
- 44) 布子信夫, 佐藤吉朗, 小川紀児: イースト技報, 25, 5 (1963).
- 45) 玉虫文一他編: 岩波理化学辞典 第3版増補版, 1, 112 岩波書店 (1981).

(第3章)

- 46) Schmidt, G., and Thannhauser, S. J.: J. Biol. Chem., 161, 83 (1945).
- 47) Aiba, S., Humphrey, A. E., and Millis, N. F.: Biochem. Eng., 34, University of

- Tokyo Press (1965).
- 48) Eroshin, V. K., Utkin, I. S., Ladynichev, S. V., Samoylov, V. V., Kuvshinnikov, V. D., and Skryabin, G. K.: *Biotechnol. Bioeng.*, 18, 289 (1976).
 - 49) 間瀬泰男: *イースト技報*, 6, 81 (1953).
 - 50) Chen, S. L., and Gutmanis, F.: U. S. Patent, No. 4, 420, 563 (1983).
 - 51) Pomper, S.: U. S. Patent, No. 3, 617, 306 (1971).
 - 52) Watson, T. G.: *J. Gen. Microbiol.*, 64, 91 (1970).
 - 53) 井上清二, 橋爪健一, 小川紀児: *イースト技報*, 42, 9 (1972).
 - 54) 柳田友道: *化学と生物*, 1, 10 (1963).
 - 55) 加藤民也: *イースト技報*, 6, 39 (1953).
 - 56) 松田哲朗, 宮内完吾, 庄司正治, 天野功: *イースト技報*, 5, 21 (1953).
 - 57) 林部正也, 麻生清: *醸酵協会誌*, 17, 106 (1959).
 - 58) Hixson, A. W., and Gaden, E. L. Jr.: *Ind. Engin. Chem.*, 42, 1, 792 (1950).
 - 59) 小川紀児, 前川幹治: *イースト技報*, 48, 9 (1978).
 - 60) 日本化学会編: *化学便覧 基礎編II* 1, 202 丸善 (1975).
- (第4章)
- 61) 七字三郎: *微生物工学の応用*, 108 共立出版社 (1972).
 - 62) White, J.: *Yeast Technology*, 31 Chapman and Hall, London (1954).
 - 63) 越後明: *食品工業*, 25, 67 (1982).
 - 64) 大橋実: *醸酵と工業*, 39, 1, 170 (1981).
 - 65) Miskiewicz, T.: *J. Ferment. Technol.*, 59, 411 (1981).
 - 66) Aiba, S., Nagai, S., and Nisizawa, Y.: *Biotechnol. Bioeng.*, 18, 1, 001 (1976).
 - 67) Wang, H. Y., Cooney, C. L., and Wang, D. I. C.: *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 69 (1977)
 - 68) Nanba, A., Hirota, F., and Nagai, S.: *J. Ferment. Technol.*, 59, 383 (1981).
 - 69) Fukuda, H., Shiotani, T., Okada, W., and Morikawa, H.: *J. Ferment. Technol.*, 56, 354 (1978).
 - 70) 石川尊, 村瀬芳夫, 大橋実, 根立慎一郎, 金沢金治, 市川真琴: 日本特許公告 51-9833 (1976).
 - 71) 石川尊: *パン酵母生産*, 合葉修一, 鈴木周一, 山下直, 遠藤勲編: *醸酵プロセスの最適計測・制御* 112 *サイエンスフォーラム* (1983).

- 72) Chen, S. L., and Gutmanis, F. : *Biotechnol. Bioeng.*, 18, 1, 455 (1976).
- 73) Polivoda, A. I., Baum, R. F., Mosin, V. F. Yakovenko, A. Z., and Fisher, P. N. : *British Patent*, 1, 284, 500 (1972).
- 74) Aiba, S., Humphrey, A. E., and Millis, N. F. : *Biochemical Engineering*, 2nd. ed., 92 University of Tokyo Press (1973).
- 75) Blanch, H. W., and Dunn, I. J. : *Advances in Biochemical Engineering*, eds. Ghose, T. K., Fiechter, A., and Blakeborough, N., 3, 127, Springer-Verlag Berlin (1974).
- 76) Pirt, S. J. : *J. Appl. Chem. Biotechnol.*, 24, 415 (1974).
- 77) Yoshida, F., Yamane, T., and Nakamoto, K. : *Biotechnol. Bioeng.*, 15, 257 (1973).
- 78) Dunn, I. J. and Mor, J. R. : *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 1, 805 (1975).
- 79) 布子信夫, 小川紀児, 橋爪健一 : *イースト技報*, 31, 17 (1966).
- 80) Meyenburg, von H. aK. : *Arch. Mikrobiol.*, 66, 289 (1969).
- 81) Delleweg, H., Bronn, W. K., and Hartmeier, W. : *Kem. Kemi.*, 4, 611 (1977).
- 82) Harrison, J. S. : *Proc. Biochem.*, 2, 41 (1967).
- 83) Mateles, R. I. : *Biotechnol. Bioeng.*, 13, 581 (1971).
- 84) Cooper, C. M., Fernstrom, G. A., and Miller, S. A. : *Ind. Eng. Chem.*, 36, 504 (1944)
- 85) Linek, V., and Benes, P. : *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 697 (1978).
- 86) Reith, T., and Beek, W. J. : *Chem. Eng. Sci.*, 28, 1, 331 (1973).
- 87) Bell, G. H., and Gallo, M. : *Proc. Biochem.*, 6, 33 (1971).

(第5章)

- 88) 磯部邦夫 : 初心者のための直交表の使い方 日本規格協会 (1963).
- 89) 統計数値表編集委員会編 : 簡約統計数値表 日本規格協会 (1977).
- 90) 日本生化学会編 : 代謝マップー経路と調節ー, 8 東京化学同人 (1980).
- 91) Bacila, M., Xavier, A. W., and Horii, J. : *Biochemistry and Genetics of Yeasts, Pure and Applied Aspects*, 577 Academic Press (1978).
- 92) 小川紀児, 石栗 秀, 森谷 浩, 橋爪健一 : *醸酵工学会誌*, 70, 273 (1992).
- 93) Hartree, E. F. : *Anal. Biochem.*, 48, 422 (1972).
- 94) 日本生化学会編 : 生化学実験講座 12, 117 東京化学同人 (1976).
- 95) Berry, D. R., Franco, C., and Smith, J. E. : *Current Developments in Yeast Research*, 4, 393 Pergamon Press, New York (1980).

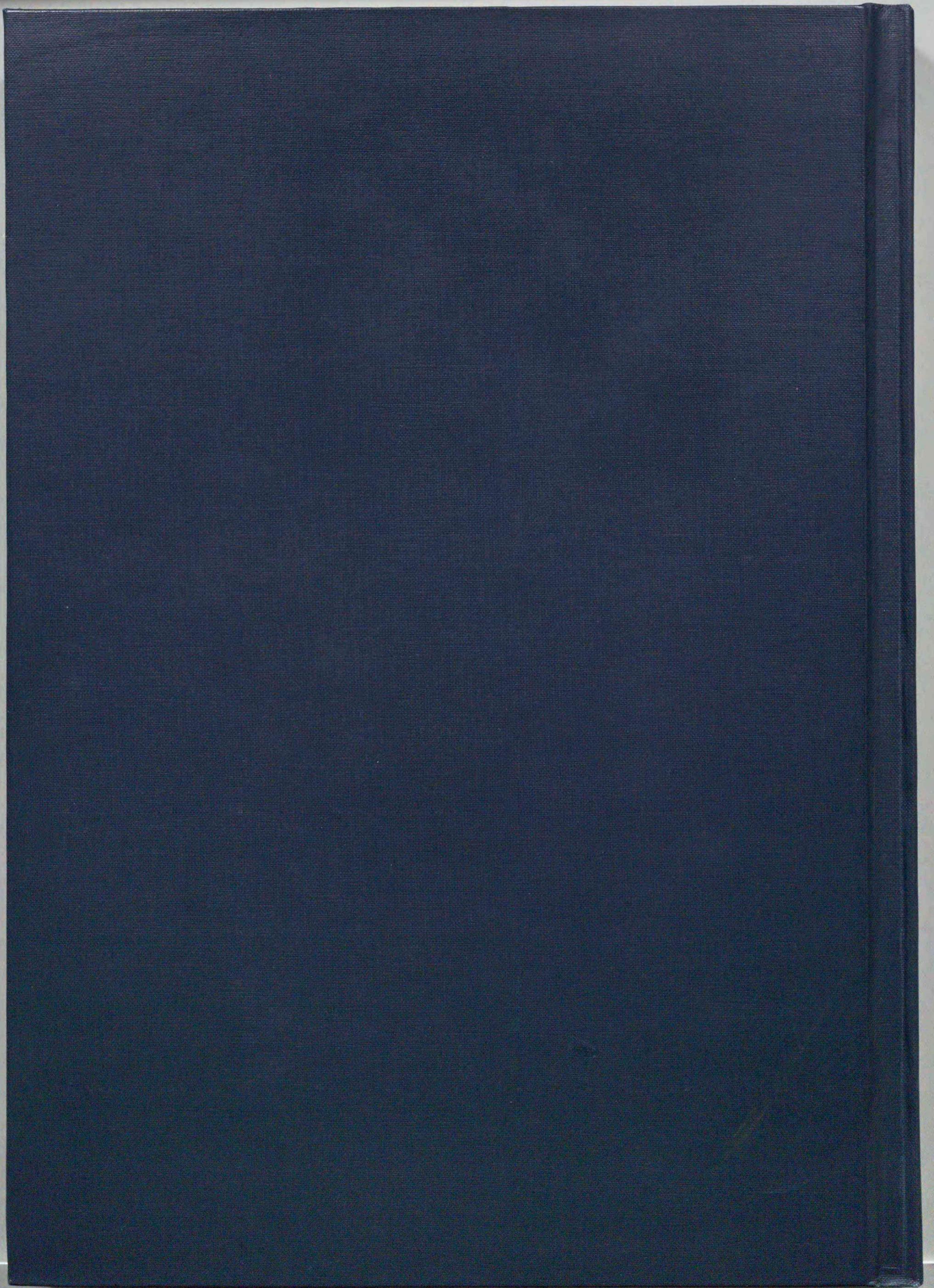
- 96) Bergmeyer, H. U. : Methoden der Enzymatischen Analyse, 2, 1,200, Verlag Chemie Weinheim/Begstr. (1970).
- 97) 鈴木良幸, 田村雅彦 : イースト技報, 54, 7 (1984).
- 98) Oda, Y., and Ouchi, K. : Food Microbiol., 7, 241 (1990).
- 99) Hautera, P., and Lövgren, T. : J. Inst. Brew., 81, 309 (1975).
- 100) 千葉英雄, 佐々木隆造 : 酵母の糖代謝 蛋白質核酸酵素 臨時増刊 24, 301 (1979).

謝辞

本研究を行うにあたり、終始懇切なるご指導ならびに本論文のご校閲を賜った、北海道大学農学部教授 富田房男博士をはじめ、本論文のご校閲を賜った同農学部教授 千葉誠哉博士、同農学部教授 仁木良哉博士に対して深甚の謝意を表します。

また、本研究の細部にわたるご助言を頂いた日本甜菜製糖株式会社常務取締役総合研究所所長 増田昭芳博士、同清水工場元工場長 布子信夫氏に感謝の意を表します。

さらに、本研究にご協力いただいた同総合研究所第3課、同清水工場イースト課の方々ならびに、折りにふれ有意義なご示唆を賜った北海道大学名誉教授 佐々木西二博士、同名誉教授 高尾彰一博士、国税庁醸造試験所所長 西谷尚道博士に感謝いたします。



inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Blue

Cyan

Green

Yellow

Red

Magenta

White

3/Color

Black

Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

