Summary

As the developing solvent in the paper chromatography of phenols, we found that the mixture of *n*-butanol, benzene, acetic acid, and water (1:5:1:0.5 by vol. %) is better than other solvents so far reported, (Table 1) and *p*-benzoquinone and *p*-nitrosodimethylaniline are preferable as the spraying reagent (Table 2).

Waldhof Fermentor の利用に関する研究 (第 2 報)

パン酵母の連続製造について

山田 浩一, 伊藤多賀司, 半田 幸彦, 小山 昂 (東大農芸化学科, 醸酵生産学教室)

昭和 27 年 3 月 15 日 受理

Studies on the Utilization of the Waldhof Fermentor. Part 2.

Continuous Production of Bread Yeast.

By Kōichi YAMADA, Takashi ITO, Yukihiro HANDE and Akira KOYAMA

(Dept. of Agr. Chem., Univ. of Tokyo)

1950 年の夏, 吾々は東洋紡績大田工場で亜硫酸廃液より飼料酵母を Waldhof Type の Fermentor を使用して非常に高収率を以て連続的に製造する事に成功した⁽¹⁾. 此の fermentor は連続的に操作出来るばかりではなく, 培養内容物全体は均一な emulsion を構成し, 然も機械的に消泡されるので, 従来の通気法に比較すると著しく収量を上昇出来, 且又操作も簡単である. 吾々は若し此の装置がパン酵母の連続培養に利用出来るならば非常に興味があると思つたのであるが, 之に関する研究は見当らないので, 今回オリエンタル酵母会社の御援助を得て糖蜜よりのパン酵母製造試験を行つた所, かなり満足すべき結果が得られたので以下報告する.

1. 使用せる装置 亜硫酸廃液より飼料酵母の製造に用いたものと同じ装置で, 内容約 50 l の stainless 製である.

2. 使用せる糖液及び副原料 オリエンタル酵母会社志村工場で調製した台湾産糖蜜を原料とせる糖液を用いた. 副原料は市販の肥料用のものを使用した.

3. 運転及び分析の方法 醗酵槽に始め仕込む液量は 18 l とした. 但し air を毎分 1:2 通ずる時は 15 l とした. 糖濃度 2% の糖液 (pH 4.8) 18 l を batch で運転し, 糖の消費が約 90% となつた時に, 現場の圧搾酵母を更に添加して目的の inoculum size とす. この量は feed する液の糖濃度とその量とによつて決めた. ここで feed を開始し連続運転に移すと約 8 時間後には constant の状態となるので, この時より分析を開始して約 8 時間に亘り毎時間行つた.

分析方法は, 糖の定量は SOMOGY 改良法⁽²⁾, formol 窒素は Sørensen 法, 全窒素は Kjeldahl 法によつた. 菌体量の測定は 3,000 r. p. m. にて遠心分離し, 水分を測定して 75% の水分を含む圧搾酵母に換算して表わすか, 又は乾燥菌体量として表わした. 一実験が終了した時は reserve tank 中の全液量を 15,000 r. p. m. の Sharpless 遠心分離機にかけて充分水洗し, 酵母の全収量を測定した.

酵母の醗酵試験及び生地試験はオリエンタル酵母会社の研究所に依頼し, イースト協会指定の方法に準拠して行つた.

4. 各実験の条件 糖濃度, feed の量, 副原料の種類及び量, 通気量等を変化せしめてその結果を検討したが, 今之等各実験の条件を表示すれば Table 1 の如くである.

5. 実験結果 Table 2 は No. 18 の実験結果を 1 例として記載したもので, 煩雑を避けるために他の全ては各 operation の平均値のみを Table 3 に一括して表示した.

酵母の収量とその力価の分析及び化学分析は Table 4 に示した通りである.

6. 考 察

(1) 糖濃度, 注加液量及び菌体量の関係に就いて: 連続醗酵に於いては此の 3 者の間には密接な関係が存在する. 菌体量 (inoculum size) は糖濃度によつて最も多く影響されるのであるが, 糖濃度そのものは培養基

Table 1. Condition of Each Series

Series number	Feed liquor					Chemicals used						Total N for sugar %	Workig volume l	Aeration size for vol- ume per min.
	pH	Sugar conc. %	N for liq. %	Formol N %	Rate of feed l/h	23% NH ₃ aq. %	(NH ₄) ₂ -SO ₄ %	(NH ₂) ₂ -CO %	(NH ₄) ₂ -HPO ₄ %	23% NH ₃ aq. (pH adjust)%				
6	4.4	4.30			6.31					0.70	2.47	18	1:1	
7	4.4	4.30	0.076	0.0059	5.04					0.99	2.78	18	1:1	
8	4.6	4.00	0.071	0.0056	4.46					1.15	3.12	18	1:1	
9	4.5	4.26	0.078	0.0060	4.00					1.60		18	1:1	
10	4.6	4.15	0.098	0.0073	2.95					1.55	3.91	18	1:1	
11	4.8	4.11	0.131	0.0105	3.01					1.24	4.43	18	1:1	
14	4.8	4.23	0.206		3.85	9.75			2.60	0.95	5.83	18	1:1	
15	4.8	4.12	0.209		3.78	9.75			2.60	1.52	6.59	18	1:1	
16	4.8	4.16	0.246	0.0176	3.94	15.90			2.98	0.39	6.32	18	1:1	
17	4.8	3.89	0.214	0.0154	4.56		13.00		2.97	2.87	8.40	18	1:1	
18	4.8	3.82	0.203	0.0408	2.91		13.00		2.97	2.77	8.09	18	1:1	
19	4.8	4.41	0.198		3.98			6.42	2.98	2.00	6.49	18	1:1	
20	7.0	2.37	0.131		5.92	13.20			2.48		5.54	18	1:1	
21	8.8	6.80	0.377		3.01	12.40			2.48	0.18	5.75	18	1:1	
23	8.6	5.77	0.235		2.52	12.40			2.48	0.52	4.53	15	1:2	

Table 2. Progress Sheet Example (Series No. 18)

Hrs. from start	Feed Tank			Aeration		Aerobic Fermentor							Reserve Tank	
	Temp. °C	Rate of Feed l/h.	Vol. of Feed l	Temp. °C	Vol. l/min.	Temp.	pH	Bllg.	Sugar conc. g/100 cc	Yeast conc. g/100 cc	Total N	Formol N	Rate of Discharge l/h.	Total Vol. Disch.
8	19.0	0	0	19.0	18	29.8	4.4	4.9	0.409	7.72	0.045	0.0146	0	0
9	19.0	2.95	2.95	19.3	18	28.0	4.4	4.9					2.60	2.60
10	19.0	3.05	6.00	20.2	18	29.2	4.6	4.8	0.402	7.72		0.0148	2.40	5.00
11	19.0	3.00	9.00	21.8	18	30.7	4.5	4.8					3.30	8.30
12	19.0	3.00	12.00	22.3	18	29.5	4.5	4.9	0.409	7.76		0.0148	2.30	10.60
13	19.2	3.10	15.10	23.0	18	30.0	4.4	4.9					2.20	12.80
14	19.5	3.00	18.10	23.8	18	29.2	4.5	4.7	0.420	7.96		0.0140	3.00	15.80
15	20.0	2.55	20.65	25.0	18	29.5	4.6	4.7					2.60	18.40
16	20.2	2.65	23.30	25.6	18	29.5	4.0	4.8	0.402	7.86	0.047	0.0137	3.95	22.35
Average 19~22.2	22.2	2.91		19.0~25.6	18	29.5		4.8	0.408	7.81	0.046	0.0145	2.80	—

Table 2. (continued)

Sugar balance				Yeast analysis		
Total sugar fed	Total residual sugar	Sugar used	Rate of sugar used	Moisture	Crude Protein	Crude Ash
0.892 kg	0.095 kg	0.797 kg	89.3%	77.92%	55.13%	7.89%
Yeast Yield				Activity		
Wet	Press 75% Moist.	Based on total sugar	Based on sugar used	Per kl of Molasses	Air per kg of Press. Yeast	in Liquor CO ₂
1.800 kg	1.502 kg	178.0%	199.6%	3.5 ton	5.4 m ³	795 mg
						in Butter
						445 cc

の種類と性質, 特に fermentor 中に於ける emulsion の状態又は fermentor の攪拌能力によつて限度が自ら定まるものであろう。

糖濃度 2.37% より 6.80% に至る間の種々の濃度に就いて培養を行つたが, Table 3 及び Table 4 に示される通り酵母収量, 醗酵力及び生地試験には濃度の差による影響は現われなかつた。工場の事情により 6.80% 以上の糖濃度を試みる事は不可能であつたが, 此の濃度に於ては 12.3% の菌体量を持続し且つ continuous に引き出す事が出来た。

注加液量 (feed) は 18 l の working volume に対して平均毎時間 2.52 l のものより 6.31 l のものに至るまで種々の場合を試みたが Series No. 6 (6.31 l/h.) 及び No. 20 (5.29 l/h.) の場合を除き一定の Population size を維持する事が出来た。Saccharomyces cerevisiae の所謂 Generation-dauer は普通約 2 時間とされているが, この fermentor 中に於ける増殖に当つては 3 時間以上かかるものと考えられる。

(2) 窒素源の種類及びその量と増殖との関係に就て: Wet yeast の収量を対糖 200% と考え, その水分

Table 3. Average Data of Series

Series Number	Feed					Air	Fermentor			Reserve Tank				
	pH	Sugar conc. g/100 cc	Formol N% $\times 10^3$	Total N% $\times 10^3$	Rate of Feed l/h	Vol m ³ /8h	pH	Sugar conc. g/100 cc	Formol N% $\times 10^3$	Total N% $\times 10^3$	Yeast conc. g/100cc	Sugar conc. g/100 cc	Formol N% $\times 10^3$	Rate of Discharge l/h
6	4.4	4.30	—	76	6.31	8.64	4.1	—	—	67	2.45	—	4.1	5.74
7	4.4	4.30	5.9	76	5.04	40.35	4.2	—	—	—	—	—	—	—
8	4.6	4.00	5.6	71	4.46	7.56	4.3	—	—	—	—	—	—	—
9	4.5	4.26	6.0	78	4.06	8.64	4.3	—	—	—	—	—	—	—
10	4.6	4.15	7.3	98	2.95	8.64	4.3	—	—	—	—	—	—	—
11	4.8	4.11	10.5	130	3.90	8.64	4.3	—	—	—	—	—	—	—
14	4.8	4.23	—	206	3.85	8.64	4.2	—	—	69	5.33	—	5.6	2.71
15	4.8	4.12	—	209	3.78	8.64	4.1	—	—	64	5.33	—	7.0	3.66
16	4.8	4.16	17.6	246	3.94	8.64	4.2	—	—	92	8.22	—	0.38	3.36
17	4.8	3.89	15.4	214	4.56	8.64	4.0	—	—	121	8.84	—	0.39	4.02
18	4.8	3.82	40.8	203	2.91	8.64	4.8	—	—	96	8.12	—	0.33	4.14
19	4.8	4.41	15.4	396	3.98	8.64	4.4	—	—	14.5	7.82	—	0.41	2.80
20	7.0	2.37	9.9	131	5.92	4.32	4.2	—	—	7.3	8.50	—	0.41	3.61
21	8.8	6.80	30.2	377	3.01	8.64	4.2	—	—	5.6	1.79	—	0.23	5.25
23	8.6	5.77	22.3	235	2.52	14.4	4.2	—	—	9.6	12.30	—	0.51	3.06
								0.47	10.9	149	9.30	0.44	10.1	2.20

Table 4. Yeast Yield and Activity

Series Number	Yield		Activity		Analysis		Air per yeast m ³
	Based on Total Sugar %	Based on Sugar used	in Liquor mg CO ₂	in Butter cc	Curde Protein %	Curde Ash %	
6	62.5	71.9	922	435	—	—	26.8
7	50.6	53.7	997	460	53.8	7.0	39.0
8	70.7	79.6	817	475	50.4	7.0	39.0
9	79.2	89.2	997	410	49.7	5.7	32.0
10	88.8	108.8	1050	415	51.2	—	38.2
11	107.2	120.4	914	435	54.0	5.4	32.5
14	111.6	123.2	840	445	53.5	7.4	23.6
15	167.0	183.5	705	420	54.8	5.8	16.8
16	180.0	198.0	577	415	55.5	7.8	14.2
17	196.4	216.0	1065	460	54.7	7.9	12.3
18	178.4	199.6	795	435	55.1	7.9	21.7
19	177.6	195.2	697	460	49.9	8.0	13.8
20	53.6	59.2	795	465	50.7	—	—
21	186.8	202.4	952	455	51.1	—	—
23	154.0	184.9	982	475	48.8	7.6	11.3
						7.8	—

75%, 蛋白質含有量を乾燥物の 50% とすると, 菌体の必要とする窒素は一応対糖 4% でよいことになる。然しながら窒素の形態にも大きく影響はされるが一般には完全なる窒素消費は起り得ないので相当過量に加えずにはならない。特に此の種の fermentor の場合には対糖 6% 前後の窒素が必要であり, 培養液中の窒素濃度は 0.010~0.016% であることが必要であるものの如くである。窒素が 0.01% 以下の場合には消費糖率には大きな差は与えないが 110% 以上の酵母収量を得ることは困難で, アルコールの生成へ傾く懸念も生じる。

磷酸源に就ては N に対する P_2O_5 の量比が重要で, N 過剰の場合, 例えば Series No. 15, 16, 18 の如く醗酵力を減退せしめる恐れがある。N : P_2O_5 = 3.6 : 1.6 の比率が保てる如くに注意して行つた培養に於ては大体に於て満足な結果が得られた。

窒素源の種類に就ては No. 17 及び 18 は $(NH_4)_2SO_4$, No. 19 は urea, その他はアンモニア水を使用した。それ等の間には酵母収量及び醗酵力に関しては本質的の差は認められない。アンモニア水を使用すると pH の低下を適当に制御出来るので都合ではあるが, Sludge が生じる欠点がある。但し此の物は製品酵母に附着しても水洗により容易に除去出来るので害作用は無いが, 加えた窒素の loss の原因にはなり得よう。

(3) パン酵母としての価値 : 最初に述べた如く一実験の終了した時は醗酵液全体を Sharpless に掛けて水洗しつつ酵母を分離し, その一部を採つて直ちに醗酵試験, 生地試験, パン焼試験を行い, 或る物については保存試験をも行つて従来法による現場製品と比較した。製品の量が少量である為に整形試験は出来なかつたが従来物と比較して色, 臭には異なりなく, 保存試験も満足された。尚醗酵力と生地試験, 並に製品の分析は, Table 4 に示される通りで, 培養の条件を考慮すれば従来物と何等遜色のないパン酵母が, 連続的に此の fermentor によつて製造され得るものと考えられる。

結 論

従来の通気培養装置と比較すると, パン酵母の製造に於ても Waldhof type のものは優秀であつて, その量

Table 5. Superiority of Waldhof Fermentor

	Normal Sparger Fermentor	Waldhof Fermentor
Sugar concn. of wort	1.9~2.0%	6.8%
Yeast yield based on total sugar	120%	185%
Wet yeast yield from 100 kg molasses	60 kg	92 kg
Ratio of yeast yield	100	152
Liquor volume used per day (10 t fermentor)	15 m ³	15 m ³
Molasses used per day (10 t fermentor)	0.57 t	2.04 t
Yeast yield per day (10 t fermentor)	0.34 t	1.88 t
Capacity of Fermentor for 1 t yeast per day	29.5 t	5.3 t
Air volume for 1 kg of dry yeast	120 m ³	11.3 m ³

的の關係は Table 5 に示される如く製造時間の短縮, 収量の増大, 工場設備の縮少となつて現われている。此のことはやがて人員の減少, 操作の簡易化と相俟つて cost の切り下げを招来するものと思われるので, 本格的な中間工業試験による最後の検討を行う必要と価値があるものと思ふ。

本研究を遂行するに当り全ゆる御便宜を与えて下さつたオリエンタル酵母会社の西村研究所長, 笠原主任, 陣内工場長始め工場の皆様に深謝すると同時に, 終始御指導を賜つた朝井教授に感謝の意を表す。又本研究費の一部は文部省の科学研究費によつた事を記して感謝の意を表す。

(1) 山田, 伊藤, 半田, 小山 : 農化, 25, 173 (1951).

(2) 小林, 田淵 : 昭和 25 年 12 月, 日本農芸化学会東京支部講演会。

Summary

A 50 l stainless steel Waldhof type fermentor was used for the continuous production of bakers' yeast from molasses. Various conditions were tested as shown in Table 1, and every series was analyzed for 8 hours as shown for example in Table 2.

Table 3 shows the average data of the series obtaining good results.

Both yeast yield and activity were satisfying as shown in Table 4, comparing with the commercial bakers' yeast.

The Waldhof type fermentor, having so many points of superiority as shown in Table 5, was proved as the most suitable fermentor, not only for the production of fodder yeast from sulfite waste liquor but also for the production of bakers' bread yeast from molasses.