

琉球大学学術リポジトリ

糖蜜培地における酵母の増殖と糖消費について(農芸化学科)

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 外間, 宏一, 宮城, 好弘, Hokama, Koichi, Miyagi, Yoshihiro メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12000/4577 |

糖蜜培地における酵母の増殖と糖消費について

外間 宏一* 宮城 好弘**

Koichi HOKAMA, Yoshihiro MIYAGI: Studies on yeast growth and sugar consumption in culture medium of final molasses.

I 緒 言

廃糖蜜の生成量は原料甘蔗に対して約 3%, 製品砂糖に対し約 20% に相当し⁵⁾, 製糖副産物として重要である。糖蜜の利用による醗酵と微生物飼料への基礎的資料とするために, 糖蜜を培地として通気培養による酵母の増殖とそれにとまなう糖消費との関係について実験を試みたが, その結果がまとまったので報告する。実験に供した酵母は琉大農化宮里所有のものから分譲の 396 号, M-603-1 およびパン酵母の 3 種とした。M-603-1 は同氏が泡盛醗から, パン酵母は著者が市販品から分離培養したものである。なおパン酵母について輸入元に照会したところ商品名がカネカイイーストと呼ばれ廃糖蜜によって培養されたものであることは分ったが学名その他については不明であった。

II 実験方法

1. 酵母の増殖 培養は第 1 図に示すような装置³⁾ を用いて 30°C に調節された恒温器内で行ない, 培養槽は 500 ml 平底フラスコを用い, 通気はアスピレーターで吸引して空気を吹きこんだ。通気量は測定が困難なために大体の目測で行なった。すなわち通気があまり激しすぎると培養液の泡立が激しくて他の培養槽へ移行し, また通気が小量すぎると増殖せずにアルコール醗酵だけが進行して増殖が困難なために, 通気量は醗酵せずにかつ泡立たない程度にした。

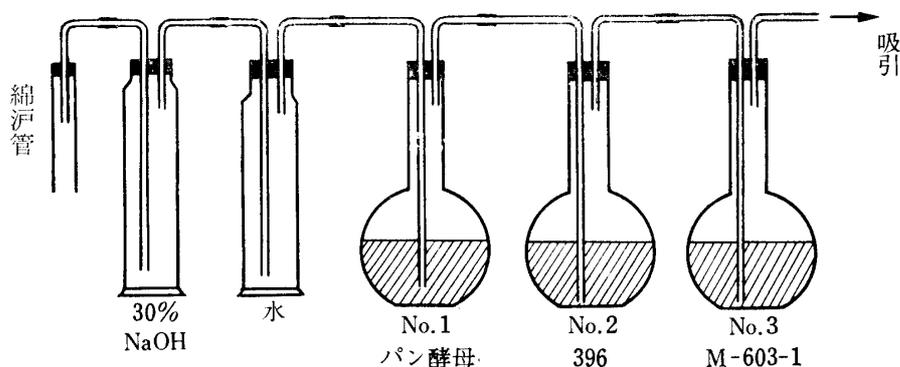


Fig. 1. Apparatus of yeast growth by airted culture

第 1 図 通気培養による酵母の増殖装置

* 琉球大学農学部農芸化学科

** 泰国酒造株式会社

1966 年期琉球製糖工場において生産された糖蜜を試料とした。試料糖蜜の分析結果を第 1 表に示す。

第 1 表 試料糖蜜の分析結果 (%)

| 水分 | 総固形分 | 灰分 | 全糖 | 還元糖 | 全 N |
|-------|-------|------|-------|-------|------|
| 22.58 | 77.42 | 7.48 | 44.90 | 12.68 | 1.30 |

糖蜜 180 g に水 600 ml を加えてボーリング示度が 22° を示すように調整した希釈液を培地とした。その 200 cc 宛を第 1 図 No. 1, No. 2, No. 3 の各フラスコに加えて蒸気殺菌し, No. 1 にはパン酵母, No. 2 には 396 号, No. 3 には M-603-1 各 1 白金耳宛を接種通気した。そのときの培地の pH は 5.3 で, 1 白金耳の酵母数は 7×10^7 個であった。

2. 培養液の分析 (i) pH: ガラス電極 pH メーターによって測定した。(ii): 酵母数⁶⁾: 株集落によって菌体数を測定できる場合とできない場合があって酵母は測定可能であるとされている²⁾。トーマス氏ヘマチトメーターを用いて計算し 200 ml 中の全酵母数とした。(iii): 糖定量⁷⁾: 糖定量は 24 時間目まではレーン法で行ない 28 時間目以降はレーン法では分析不可能になったのでベルトラン法を使用した。レーン法使用不可能の理由はレーン法では 5~10 ml 培地をとり 200 ml に希釈してフェリング液を滴定したが 28 時間目から糖液使用量が 50 ml 以上となりフェリング液の色が糖液自体の色に近づき, 滴定終点が判明できなくなったためである。

III 実験結果および考察

pH の変化については第 2 表に示す通りである。各時間における pH の変化にはいくらかの高低はあるが大略的にみると直線的に減少してゆき最高 pH は 5.30 で最低 pH は 4.65 を示した。pH が低くなるということは酵母の増殖にともない生酸作用があるものと推察できる。普通酒清醗酵を行なう場合は pH 4.4~4.6 で仕込をするので本実験での pH は高すぎるようであり, 後述の糖消費, 酵母増殖の遅滞はそこにも原因の一つがあるようである。このような pH の調整に対する糖消費および酵母増殖率の変化は今後の研究にゆずりたい。

第 2 表 培地の pH 変化

| 酵母 \ 時間 | 0 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 |
|---------|-----|------|------|------|------|------|----|------|------|
| パン酵母 | 5.3 | 5.15 | 5.00 | 5.00 | 4.95 | 4.80 | — | 4.75 | 4.90 |
| 396 号 | 5.3 | 5.17 | 5.00 | 5.10 | 5.10 | 4.75 | — | 4.65 | 4.90 |
| M-603-1 | 5.3 | 5.17 | 4.90 | 5.11 | 5.00 | 4.85 | — | 4.70 | 4.80 |

酵母の増殖は第 3 表に示す。増殖曲線の傾きから判断して 8 時間目までを遅滞期 (Lag phase)¹⁾ とした。パン酵母, M-603-1 においては 8 時間目から 24 時間目までの間に, また 396 号においては 8 時間目から 28 時間目までの間に酵母の増殖が最も盛んに行なわれたので, その区間を夫々の対数期 (Logarithmic phase)¹⁾ とした。パン酵母と M-603-1 は 24 時間目にまた 396 号は 28 時間目に夫々定常期 (Stationary phase)¹⁾ に入り, この時間になると酵母の増殖は緩慢になり酵母数はほとんど一定になった。32 時間目にパン酵母数が極端に増加しているが, この時間における糖消費は他の時間に較べ必ずしも著しいとは言えず, 糖消費量と酵母増加数との関係はパン酵母の 32 時間目については説明できない。糖消費の状態をみると直接還元糖については第 4 表に示すとおりである。各酵

第3表 酵母の増殖量 (Cell/200 ml)

| 酵母 | 時間 | 0 | 8 | 12 | 16 | 20 |
|------------------------|----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| パン酵母 396 M-603-1 | | 7×10^7 | 4.8×10^8 | 1.2×10^9 | 1.8×10^{10} | 4.7×10^{10} |
| | | 7×10^7 | 2.8×10^8 | 8.9×10^8 | 6.1×10^9 | 6.5×10^9 |
| | | 7×10^7 | 3.8×10^8 | — | 1.3×10^{10} | 1.7×10^{11} |
| 酵母 | 時間 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 |
| パン酵母 396 M-603-1 | | 1.1×10^{11} | 1.7×10^{11} | 2.0×10^{12} | 2.4×10^{11} | 2.8×10^{11} |
| | | 4.2×10^{10} | 1.0×10^{11} | 1.4×10^{11} | 2.1×10^{11} | 1.9×10^{11} |
| | | 1.2×10^{11} | 1.2×10^{11} | 1.5×10^{11} | 1.8×10^{11} | 2.0×10^{11} |

第4表 培地中の直接還元糖残糖量 (g/200 ml)

| 酵母 | 時間 | 0 | 8 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 |
|-------------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| パン酵母 396号 M-603-1 | | 5.556 | 5.312 | 5.450 | 5.804 | 2.250 | 2.360 | 3.150 | 3.600 | 1.900 | 2.630 |
| | | 5.556 | 4.980 | 5.372 | 5.124 | 5.280 | 4.182 | 2.276 | 2.000 | 1.500 | 2.470 |
| | | 5.556 | 5.000 | 5.388 | 4.986 | 3.758 | 4.148 | 2.360 | 2.160 | 1.480 | 2.050 |

母における直接還元糖はある時間においては前の時間よりも増していき1つのピークを形成する時期があり、各酵母のピークは時間的に不規則に現われた。すなわちパン酵母が残糖量最低を示すとき396号では高い値を示した。パン酵母は32時間目に、M-603-1と396号は24時間目に残糖量にやや大きいピークが現われ、また各酵母とも40時間目に残糖量が再び増加した。

全糖の消費は第5表に示すとおりである。12時間目以外は全糖の消費は順調に進行しており、20時間目から消費量が急激に増大してM-603-1と396号においては28時間目までの8時間で全糖の70%を消費し、パン酵母においては20時間目から32時間目の12時間で約65%を消費した。直接還元糖と全糖の糖消費状態を比較してみると、全糖が比較的正常な曲線をえがいているのに対して、直接還元糖は減少が不規則で、減少したり、増加したりして、ある時間にピークをもっており、このことは蔗糖の酵素分解速度と酵母の糖消費速度が不均衡かつ不規則に進行したことに起因するものと思われる。全糖の消費量と酵母の増殖量との関係を見ると遅滞期と対数期初期においては酵母が増殖した割合には糖消費は少なかったが、糖消費がいちじるしく進んだ28時間目からは酵母の増殖も緩慢になった。パン酵母においては各時間における糖消費量は他の2つの酵母に比較して少なかったが酵母数は最大であった。このことは本実験に使用されたパン酵母が糖蜜によって培養されたものであり馴致が早く、それに応じて増殖量も多くなったものと思われる。糖消費および酵母数は各時間ともM-603-1が396号よりも多かった。最終酵母数は各酵母ともほとんど同じであった。

第5表 培地中の全糖分残糖量 (g/200 ml)

| 酵母 | 時間 | 0 | 8 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 |
|-------------------------|----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| パン酵母 396号 M-603-1 | | 22.920 | 22.298 | 19.328 | 21.808 | 20.800 | 16.592 | 10.100 | 4.900 | 3.750 | 6.900 |
| | | 22.920 | 22.008 | 18.784 | 21.024 | 20.698 | 15.072 | 3.260 | 3.180 | 2.850 | 2.630 |
| | | 22.920 | 21.649 | 18.864 | 20.912 | 20.800 | 12.016 | 2.830 | 2.300 | 2.350 | 2.420 |

IV 要 約

(1) pH 調整および栄養物添加による予備処理はおこなわないで糖蜜を **Balling 22°** に希釈しただけで、通気培養により、**396** 号、**M-603-1** およびパン酵母の**3**種の酵母について増殖実験をおこなった。各酵母は **200 ml** の培地宛に一白金耳接種して培養された。

(2) **M-603-1** とパン酵母は接種後 **24** 時間で、また **396** 号酵母は接種後 **28** 時間で夫々定常曲線を示した。

(3) pH 値の変化はガラス電極 pH メーターにより、酵母数はトーマ氏ヘマトメーターにより、夫々測定され、また糖定量はレーン法とベルトラン法を併用しておこなった。

(4) 各酵母による全糖消費曲線は酵母の増殖とともに減少したが、直糖消費曲線は不規則であった。

参 考 文 献

- 1) 秋葉暁彦・富金原孝 1964 アルコール醗酵における酵母の増殖について 醗工誌 42: 240~246。
- 2) 小林次郎・上山英夫・鎌内紀子 1963 酵母増殖の Age に関する培養模型 醗工誌 41: 66~74。
- 3) 駒沢利雄 1949 実用農産製造普通篇 167~171 産業図書。
- 4) 小野英男・園田頼和 1956 アミロ酒母の通気について 醗協誌 14: No. 2: 14~20。
- 5) 中村 静・市野一磨 1949 最新アルコール工業 115 産業図書。
- 6) 東大農化 1960 実験農芸化学 上巻 212 朝倉書店。
- 7) 友田宜孝・工藤憲資・玉置弥栄 1958 炭水化物実験法 39~40 共立出版。

Summary

- (1) Without preliminary treatment such as pH control and nutrient addition, the growth of No. 396, M-603-1, and bread yeast were determined in aeration culture of the diluted final molasses medium with 22° of Balling. Each yeast was separately inoculated to a 200 ml culture medium with a platinum loop.
- (2) The growth curve showed a stationary phase 24 hours after the inoculation with the M-603-1 and bread yeast, and 28 hours after the inoculation with the yeast of No. 396.
- (3) The change of pH value and number of the yeast were measured with glass electrode pH meter and Thomas Haemocytometer respectively. The sugar consumption by the yeast was also determined according to the methods, of Lane and Bertrand.
- (4) The consumption of the total sugar by each yeast was indicated by a curve that decreased with the growth of the yeast, whereas that of the reducing sugar was not.