

パン酵母生産における新規形状攪拌翼 (スーパーミックス, HS100+HR100) の性能評価

玉井正弘

Performance evaluation of a new shape impeller (Super-Mix, HS100 + HR100)
on baker's yeast production

Masahiro Tamai

To evaluate the performance and energy conservation of a new shape stir impeller (Super-Mix, HS100 + HR100), baker's yeast were grown in a jar-fermentor using the Super-Mix impeller, with a general, turbine-type stir impeller used as a control. The condition of 0.5 g dry cells $\text{g} \cdot \text{glucose}^{-1}$ of Y_{XS} (yield) and 0.15 h^{-1} of μ (specific growth rate), the exponential feeding rate of 50% (w/w) glucose solution was calculated. The dissolved oxygen concentration (DO) showed that the agitation of the Super-Mix impeller was lower than that of the turbine impeller. The multiplication power consumption of the Super-Mix impeller was approximately 11% lower than that of the turbine impeller at 4 ppm.

キーワード：通気攪拌型培養槽，攪拌翼，パン酵母，対数増殖，指数流加

通気攪拌型培養槽¹⁾は、発酵食品、医薬品、アミノ酸、有機酸などの生産に広く利用されている。なかでも、酢酸菌²⁾やパン酵母³⁾などの多量の酸素を要求する好気性微生物を効率的に培養するために通気攪拌型培養槽が使用されている。

通気攪拌型培養槽は、縦型の円筒状タンク形状で、その内部に空気送入口、攪拌翼と3から6枚の邪魔板を備えている。培養液中の微生物に効率的に酸素を供給するためにコンプレッサーから空気送入口を通じて所定量の空気を供給する。供給された空気は、空気送入口の直ぐ上に設置した攪拌翼を高速で回転させることにより気泡径を小さくし、邪魔板で気泡の滞留時間を長くすることにより培養液中に酸素が溶けやすくなるようにしている。

酸素を多量に必要とする培養では、酸素供給量が律速となって効率的な生産を維持できなくなり生産時間が長くなる。通常、液中での酸素の移動速度⁴⁾は、次式で表せる。

$$\text{酸素移動速度} = (\text{濃度勾配}) / (\text{抵抗}) \\ = \text{酸素移動速度係数} \times \text{濃度勾配}$$

大気圧下 25°C、空気（酸素濃度：21%）での純水中の飽和酸素濃度は、僅かに 8.1ppm と低く、濃度勾配により酸素移動速度を大きく保つことは困難である。一方、酸素移動速度係数は、 $k_L a$ で表される。ここで、 k_L は、水溶液系での 2 重境膜説による液境膜酸素移動係数 h^{-1} 、 a は単位面積当たりの気液接触面積 $\text{m}^2 \text{L}^{-1}$ である。 k_L は、同じ酸素分圧、温度、培地組成ではほぼ変化しない。 a は、気泡径を

小さくし、液中での滞留時間を長くすることにより高くすることが可能である。

一方、パン酵母生産において酵母は、最適な条件下（高溶存酸素濃度、最適温度及び pH、低いグルコース及びエタノール濃度）に保持し、原料のグルコースを指数的に供給することにより指数的に増殖⁵⁾する。

そこで、本研究ではグルコースの指数流加培養法及び通気攪拌型培養槽を用いたタービン型攪拌翼を対照として、佐竹化学機械工業株式会社と株式会社三ツワフロンテックが開発した新規形状の攪拌翼の省エネルギー効果を中心とした性能をパン酵母生産において評価した結果を報告する。

実験方法

1. 供試酵母

市販のサフインスタント顆粒ドライイーストを用いた。

2. 培地組成

(1) 基本培地

酵母エキス 5g、尿素 2g、硫酸アンモニウム 5g、リン酸 2 水素カリウム 2g、リン酸水素 2 カリウム 1g、硫酸マグネシウム・7 水和物 1g、グルコース 1g、硫酸亜鉛・7 水和物 0.005g、塩化カルシウム 0.25g、硫酸鉄(II)・7 水和物 0.25g 及び消泡用シリコン 0.2g を水道水 1 L に溶解した。

(2) 流加用グルコース培地

121°C で 20min 滅菌した酵母エキス 5g L^{-1} を含む 50%

(w/w)グルコース液を用いた。

3. 培養方法

(1) 培養装置

Fig. 1 に示した装置を用い、基本培地 2.5L を 5L 容培養槽 (三ツワフロンテック製) に入れ、121°C で 30min 滅菌した。

(2) 攪拌翼

高 K_La 攪拌翼としてスーパーミックス (SM, HS100+HR100, 三ツワフロンテック製) を用いた。対照として従来より発酵槽の攪拌翼として使用されてきたタービン翼 (TB, 三ツワフロンテック製) を用いた。(Fig. 2)

(3) 流加培養

培養は、初発乾燥酵母濃度が $10.8\text{g-dry cell L}^{-1}$ となるようにドライイーストを添加し、30°C、通気量 2.5L/min (1vvm) で行った。pH は、pH コントローラーを用いて 14%(w/v) NH_4OH を滴下することにより 5.5 に制御した。溶存酸素濃度 (DO) は、培養槽に装着した DO センサーから培養制御装置 (三ツワフロンテック製) に

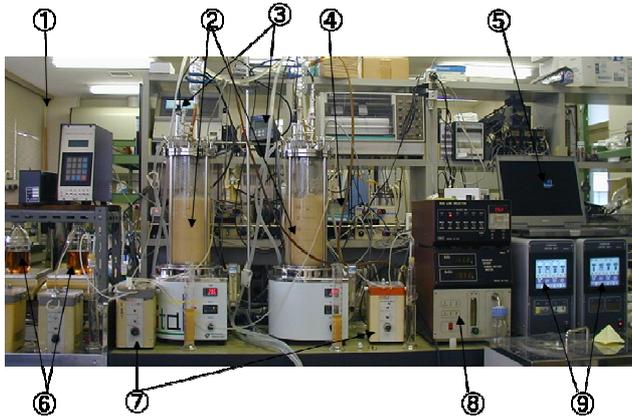


Fig. 1 Experimental set-up

- ① feed controller ② jar fermentor ③ DO meter ④ pH meter
⑤ computer ⑥ 50(w/w)% glucose solution ⑦ peristaltic pump
⑧ gas analyzer ⑨ controller

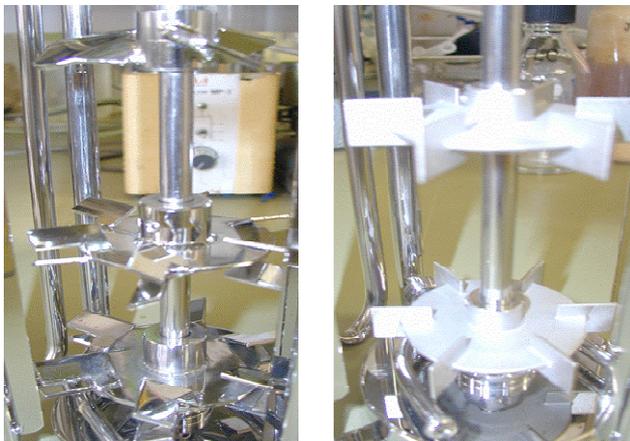


Fig. 2 Shape of stir wing (Left is Super-mix (HS100 + HR100) and right is Turbine)

数値を取り込み、回転数を 400~1 000rpm の範囲で制御することにより一定値に保持した。

(4) 基質の流加

流加培養における物質収支に基づく基礎式¹⁰⁾は、下記の式で与えられる。

$$d(VX)/dt = \mu VX \quad (1)$$

$$d(VS)/dt = F(\theta S_R - (1/Y_{x/s}) d(VX)/dt) \quad (2)$$

$$d(VP)/dt = q_p VX \quad (3)$$

$$dV/dt = F(\theta)/\rho \quad (4)$$

ここで、 V は培養液量 L 、 X は菌体濃度 g L^{-1} 、 S は基質濃度 g L^{-1} 、 S_R は流加グルコース溶液中のグルコース濃度 $\text{g-glucose g-glucose solution}^{-1}$ 、 F は基質の流加速度 $\text{g-glucose solution L}^{-1}$ 、 t は時間 h 、 q_p は比生産速度 $\text{g-product h}^{-1} \text{L}^{-1}$ 、 ρ は流加グルコース溶液の比重 g-glucose L^{-1} 、 μ は比増殖速度 h^{-1} である。定流量送液システム (エイブル製) に予め入力しておいた送液速度 (2 分間以内に計算量のグルコースの 1/30) で流加するように設定した。1 時間毎にグルコース溶液の供給量を指数的に増加させて流加した。流加速度の計算に当たっては、グルコースと 14%(w/v) NH_4OH 溶液の流加による培養液量の増加とサンプリング (約 22mL)、実際の値はメスシリンダーにより実測による培養液量の減少を考慮した。

(5) 培養データ収集

排気ガス中の酸素と炭酸ガス濃度は、排ガス分析装置 (エイブル製) で測定し、回転数、消費電力、溶存酸素濃度は、培養制御装置からデータ変換装置 (三ツワフロンテック製) を通じてコンピュータに 1 回/秒の間隔でデータを収集した。

4. 分析方法

採取した培養液の 10mL を遠心管に移し、 $10\ 000\text{rpm}$ で 10 分間遠心分離した。沈殿物を生理食塩水で 2 回洗浄を行った後に、 105°C で 1 夜乾燥後、重量を測定し、乾燥酵母菌体とした。

実験結果および考察

1. グルコース流加速度

酵母菌体を対数的に増殖させるために必要な流加グルコース量 g-glucose L^{-1} を以下のように求めた。

対数増殖期における培養槽内の菌体濃度及び全菌体量は、(1)~(4) 式から次式で表せる。

$$X = X_0 \exp(\mu t) \quad (5)$$

$$V = V_0 + (Ft)/\rho + N_0 - aM_0 \quad (6)$$

$$XV = X_0 V_0 + X_0 V_0 \exp(\mu t) \quad (7)$$

ここで、 a はサンプリング回数、 M は 1 回のサンプリング量 mL 、 N は 14%(w/v)アンモニア水の流加量 mL 、 S_r は全培養液量に対する 50%(w/w)グルコース溶液の流加量 mL 、 μ は比増殖速度 h^{-1} を表す。微小時間 $\Delta t (=t_{i+1} - t_i)$

での菌体増殖量は、次式で表せる。

$$X_{i+1} = X_i \exp(\mu \Delta t) \quad (8)$$

$$V_{i+1} = V_0 + V_i + F(\Delta t) \Delta t / \rho + N_i - aM_i \quad (9)$$

$$X_{i+1} V_{i+1} = X_0 V_0 + X_i V_i \exp(\mu \Delta t) \quad (10)$$

また、疑似定常状態 ($dS/dt=0$, 供給されたグルコースは直ちに消費される。) において時間 t での流加速度 $F(t)$ は、(1)及び(2)式から次式で表せる。

$$F(t) = \mu X V / Y_{x/s} S_R \quad (11)$$

グルコースの流加量 S_{Tg} は、次式で表せる。

$$S_T = F(t) S_R t \quad (12)$$

したがって、 $t=t_i$ での必要な流加速度 $F(t_{i+1})$ は、次式で表せる。

$$F(t_{i+1}) = \mu X_{i+1} V_{i+1} / Y_{x/s} S_R \quad (13)$$

本研究では、 X_0 を $10.8\text{g-dry cell L}^{-1}$, V_0 を 2.5L , $Y_{x/s}$ を $0.5\text{g-dry cell g-glucose}^{-1}$, S_R を $0.5\text{g-glucose g-glucose solution}^{-1}$, ρ を $1.23\text{g-glucose mL}^{-1}$ (シヨ糖溶液として) ¹¹⁾ とした。

上記の式及び各定数を基に 10 時間までの各値を計算した。ただし、定流量送液システムによる 50%(w/w)グルコース溶液は、1 時間に流加させるグルコースを 30 回に分割 (2 分間隔でポンプを駆動) して流加させるとともに、1 時間ごとに流加速度を増加させた。グルコースの流加速度とこれによる 50%(w/w)グルコース溶液及びグルコースの流加の積算量を Fig. 3 に示した。

2. アンモニア添加速度

酵母の培養において、酵母は増殖に伴って各種有機酸を生産し細胞外に排出し、培養液の pH を低下させる。pH の低下は、酵母の増殖速度の低下を招くため、至適 pH に保持するためにアルカリ溶液を添加する必要がある。アルカリ溶液の添加は、培養液量を増加させる。そこで、経時的な培養液量の推定を行うために、菌体増殖量と酸性物質の生産量は比例し、50%(w/w)グルコース溶液の流加量 mL

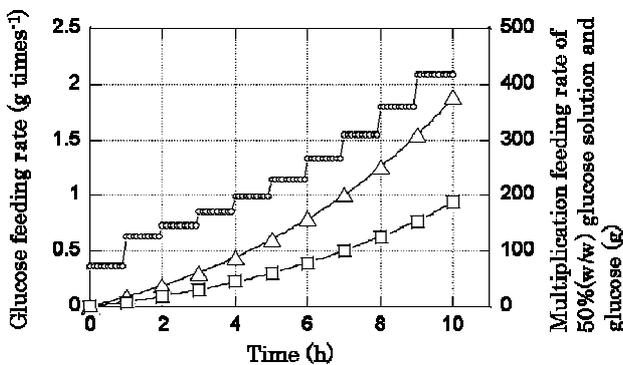


Fig. 3 Relationship between feeding volume of 50%(w/w) glucose solution and amount of addition of 14(w/v) ammonia solution

Symbols: ○, glucose feeding rate; △, multiplication feeding rate of 50%(w/w) glucose solution; □, multiplication feeding rate of glucose.

と菌体増殖量も比例 ($Y_{x/s}=0.5$) すると仮定した。予備試験を行い、50%(w/w)グルコース溶液の流加量と 14%(w/v)アンモニア溶液の添加量との関係を求めた。結果を Fig. 4 に示した。

両者にはほぼ直線関係が存在し、次式で表せた。

$$N = 0.196 S_T - 0.66 \quad (14)$$

3. 経時変化の予測

(1)~(6)式を用いて 50%(w/w)グルコース溶液の流加速度と流量, 14(w/v)アンモニア溶液の添加量, サンプルング量, 菌体濃度, 全菌体量, 全培養液量を求めた。結果を Fig. 5 に示した。

サンプルングによる培養液量の減少ならびにアンモニア及びグルコース溶液の流加による培養液の増加が全菌体量に与える影響は、10 時間後での 120g に対して 2.8g の減少, μ に与える影響は、設定した 0.15h^{-1} に対して 0.001h^{-1} の低下と小さいため、サンプルングならびにアンモニア及びグルコース溶液の流加の影響は無いと仮定した。

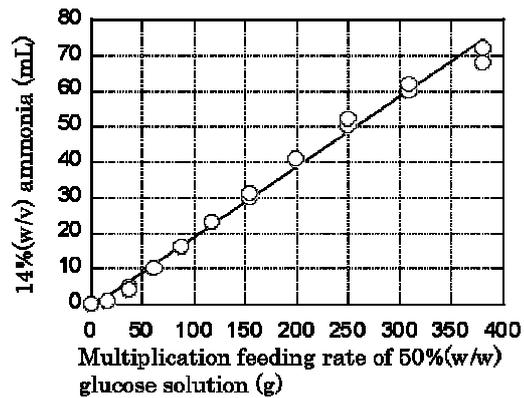


Fig. 4 Estimation of feeding rate of glucose and amount of multiplication of glucose.

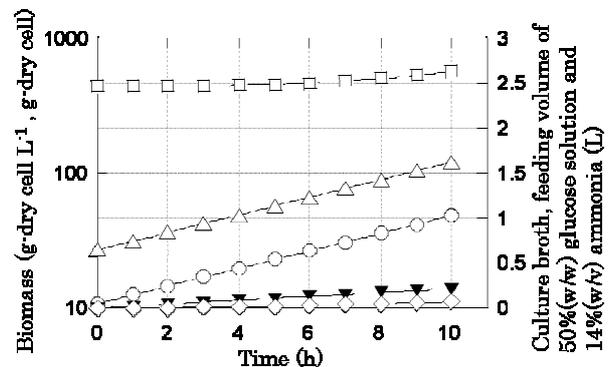


Fig. 5 Estimate of biomass concentration, total biomass, culture broth volume, sampling volume and ammonia solution

Symbols: ○, total biomass; △, biomass concentration; □, culture broth; ▼, feeding volume of 50%(w/w) glucose solution; ◇, 14(w/v) ammonia.

4. 各溶存酸素濃度での培養

(1) 溶存酸素濃度 2ppm における培養

回転数を調節することにより溶存酸素濃度（以下 DO）を 2ppm に制御して培養を行った。培養の経時変化を Fig. 6 に示した。時間の経過と共にスーパーミックス及びタービン翼の回転数は次第に増加したが、5 時間以降は増加しなくなった。回転数は、何れもスーパーミックスが低い値であり、10 時間目で約 200rpm 程度の差であった。消費電力は、ほぼ回転数に比例して増加し、10 時間目で約 12Wh 程度の差が生じていた。

DO は、スーパーミックス及びタービン翼共にほぼ 2ppm を維持できた。積算消費電力は、ほぼ直線的に増加し、スーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で 656Wh 及び 729Wh であった。

菌体濃度及び全菌体量は、スーパーミックス及びタービン翼共に対数的に増加した。スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体濃度は、45.37g-dry cell L⁻¹及び 119.64g-dry cell，タービン翼での菌体濃度及び全菌体濃度は、44.93g-dry cell L⁻¹及び 118.48g-dry cell であった。さらに、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、0.139 及び 0.145h⁻¹，タービン翼での菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、0.142 及び 0.148h⁻¹ であった。ここで、

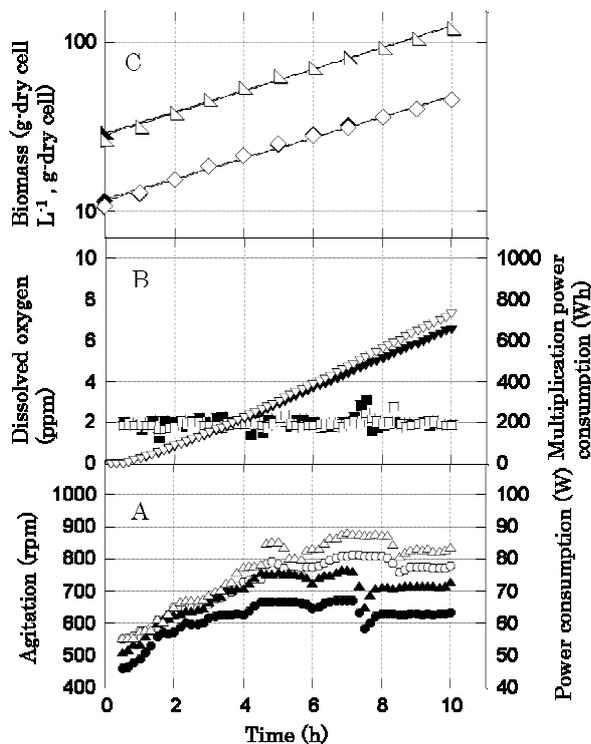


Fig. 6 Time course of yeast cultivation in 2ppm of dissolved oxygen concentration

Symbols : (A) ●,○, agitation ; ▲,□, power consumption ;
(B) ■,□, dissolved oxygen ; ▼,□, total power consumption ;
(C) □,□, biomass concentration ; □, ▴, total biomass.
Open and closed symbols indicate Turbine and Super-mix.

全菌体量に基づく μ が菌体濃度に基づく μ よりも高くなるのは、培養液量が初発培養液量よりも増加するためと考えられる。

2 回目の培養も同様の経過を示した。スーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で積算電力量は、729 及び 656Wh であった。スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体濃度は、45.37g-dry cell L⁻¹及び 119.64g-dry cell，タービン翼での菌体濃度及び全菌体濃度は、45.63g-dry cell L⁻¹及び 120.33g-dry cell であった。さらに、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、0.146 及び 0.152h⁻¹，タービン翼での菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、0.145 及び 0.151h⁻¹ であった。

(2) 溶存酸素濃度 3ppm における培養

回転数を調節することにより DO を 3ppm に制御して培養を行った。培養の経時変化を Fig. 7 に示した。時間の経過と共にスーパーミックス及びタービン翼の回転数は、10 時間までほぼ直線的に増加した。回転数は、何れもスーパーミックス翼が低い値であり、10 時間目で約 130rpm 程度の差であった。消費電力は、ほぼ回転数に比例して増加し、10 時間目で約 14Wh 程度の差が生じていた。

DO は、スーパーミックス及びタービン翼共にほぼ 3ppm を維持できた。積算消費電力は、ほぼ直線的に増加し、スーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で 837 及び 942Wh であった。

菌体濃度及び全菌体量は、スーパーミックス及びタービン

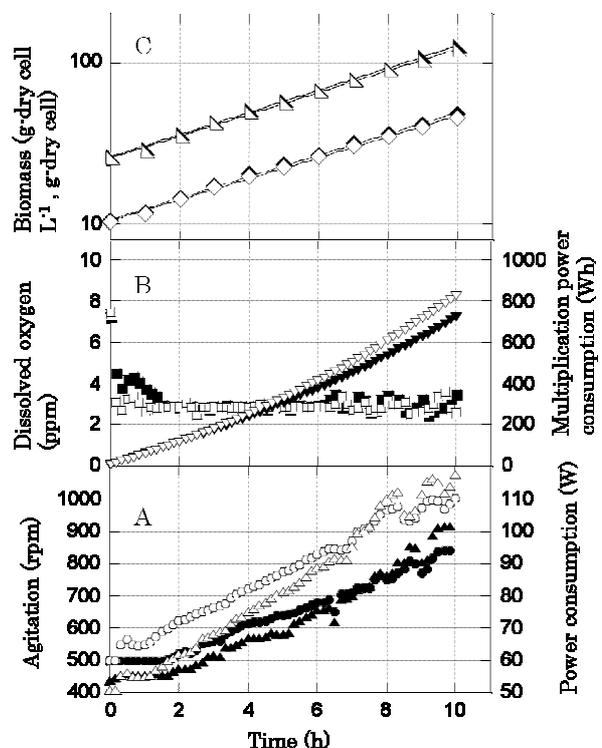


Fig. 7 Time course of yeast cultivation in 3ppm of dissolved oxygen concentration

Symbols are the same as Fig. 6

ン翼共に対数的に増加し、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体濃度は、 $48.25\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 127.24g-dry cell 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体濃度は、 $45.65\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 120.38g-dry cell であった。さらに、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.152 及び 0.158h^{-1} 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.149 及び 0.155h^{-1} であった。

2 回目の培養も同様の経過を示した。スーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で積算電力量は 658 及び 737Wh、であった。スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体濃度は、 $45.17\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 119.11g-dry cell 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体濃度は、 $44.56\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 117.50g-dry cell であった。さらに、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.149 及び 0.155h^{-1} 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.149 及び 0.155h^{-1} であった。

(3) 溶存酸素濃度 4ppm における培養

回転数を調節することにより DO を 4ppm に制御して培養を行った。培養の経時変化を Fig. 8 に示した。時間の経過と共にスーパーミックスの回転数は、6 時間までほぼ直線的に増加したが、6 時間以降の増加は穏やかとなった。タービン翼での回転数は、6 時間まで急速に増加したが、以降、上限回転数である 1000rpm の一定値となった。何れもスーパーミックスが低い値であり、10 時間目で約 130rpm 程度の差であった。消費電力は、ほぼ回転数に比例して増加し、10 時間目で約 14Wh 程度の差が生じていた。

DO は、スーパーミックス及びタービン翼共にほぼ 4ppm を維持できた。積算消費電力は、ほぼ直線的に増加し、スーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で 656 及び 729Wh であった。

菌体濃度及び全菌体量は、スーパーミックス及びタービン翼共に対数的に増加し、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体濃度は、 $45.60\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 120.25g-dry cell 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体濃度は、 $44.91\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 118.43g-dry cell であった。さらに、スーパーミックスでの菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.150 及び 0.155h^{-1} 、タービン翼での菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は、 0.146 及び 0.152h^{-1} であった。

2 回目の培養では、タービン翼において 6 時間以降、設定上限回転数の 1000rpm に達しても 4ppm を維持できなかった。

5. 各溶存酸素濃度での培養結果

タービン型攪拌翼を対照として、新規形状の攪拌翼の省エネルギーを中心とした性能評価の結果を Fig. 9 に示した。

10 時間の培養後の最終積算消費電力は、DO の上昇のためには回転数を増加させる必要があるため、設定 DO の増加につれてスーパーミックス、タービン翼共に急速に上昇

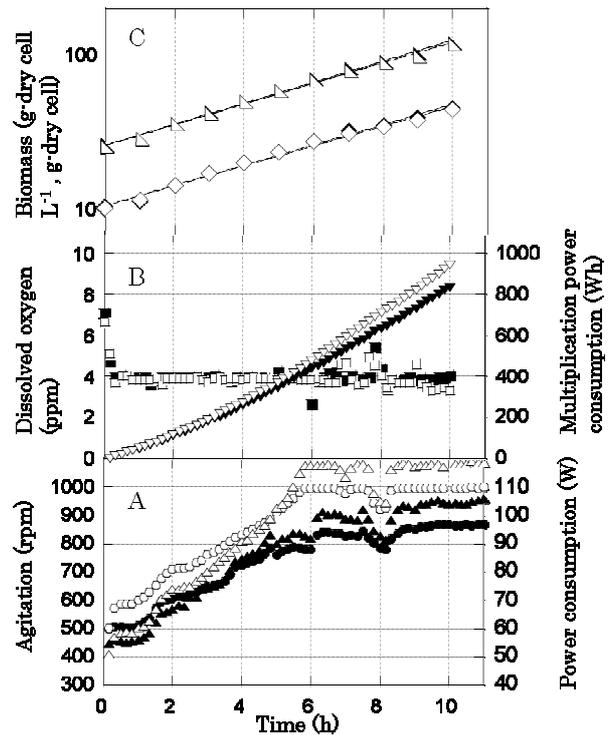


Fig. 8 Time course of yeast cultivation in 4ppm of dissolved oxygen concentration

Symbols are the same as Fig. 6

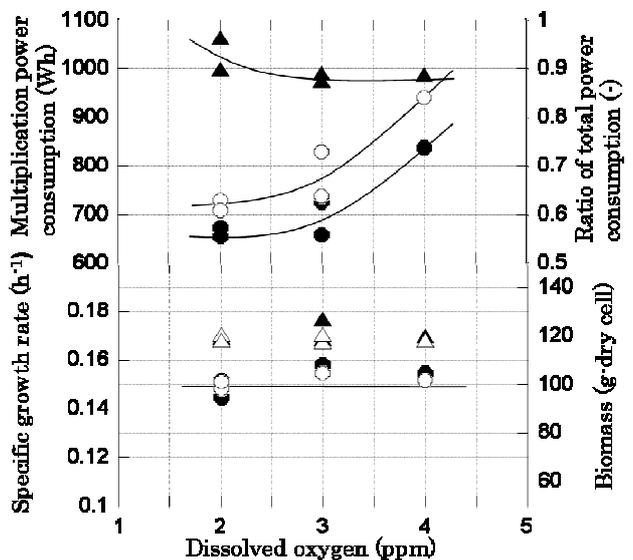


Fig. 9 Influence of dissolved oxygen concentration on μ , cell concentration, total cell dry weight and ratio of total power consumption

Symbols : ●, ○, μ ; ▲, △, total biomass; ■, □, total power consumption ; ▼, ▽, ratio of total power consumption(°)
Open and closed symbols indicate Turbine and Super-mix.

した。最終積算消費電力は、常にスーパーミックスが低い値となった。

スーパーミックスの省エネルギー効果を明らかにするために、次式によりスーパーミックスとタービン翼の最終積算消費電力の比率を計算した。

$$\text{最終積算消費電力の比率} = \frac{\text{スーパーミックスの最終積算消費電力}}{\text{タービン翼の最終積算消費電力}}$$

Fig. 9 より、DO2ppm で6%、3及び4ppm で11%程度消費電力を削減できた。

要 約

酢酸菌やパン酵母などの酸素を多量に必要とする培養では、酸素供給量が律速となって、効率的な生産を維持できなくなる。一方、パン酵母生産において、酵母は最適な条件下に保持し、原料のグルコースを指数的に供給することにより指数的に増殖する。パン酵母生産においてグルコースの指数流加培養法を用いて溶存酸素濃度を 2,3 及び 4ppm に制御して培養を行った。タービン型攪拌翼を対照として、新規形状の攪拌翼（スーパーミックス）の省エネルギーを中心とした性能を評価し、以下の結果を得た。

- 1) 50%(w/w)グルコース溶液の流加量と 14(w/v)アンモニア溶液の添加量との関係を求め、 μ を 0.15h^{-1} 、 Y_{xs} を $0.5\text{g-dry cell g-glucose}^{-1}$ として対数的に増殖させるための 50%(w/w)グルコース溶液の流加速度式を設定した。設定した式は、実験結果とほぼ一致した。
- 2) DO の 2 及び 3ppm は、培養装置の上限回転数である 1 000rpm 以内で制御できたが 4ppm の 1 回は、酸素供給不足により維持できなかった。
- 3) 何れの DO においても攪拌翼の回転数は、スーパーミックスがタービン翼よりも低かった。このため消費電力は、スーパーミックスがタービン翼よりも低かった。
- 4) μ は、ほぼ設定値の 0.15h^{-1} を達成できた。
- 5) 10 時間後の最終菌体濃度及び菌体量は、何れの DO においても $45\text{g-dry cell L}^{-1}$ 及び 120g-dry cell であった。この値は最初に求めた予測値とほぼ同じであった。

- 6) スーパーミックスがタービン翼に比較して、最終積算消費電力は 2ppm で 6%、3 及び 4ppm で 11%程度低い結果となった。

文 献

- 1) 小林 猛, 本多裕之, 応用生物科学シリーズ 8, 「生物化学工学」, 第 1 版, (東京科学同人, 東京), pp.106-108 (2002).
- 2) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 中空糸膜モジュールを用いた菌体の完全濃縮培養法による食酢の連続生産, 日本食品科学工学会誌, **44**, 119-125 (1997).
- 3) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 中空糸膜モジュールを用いた濃縮菌体の一部排出培養法による食酢の連続生産, 日本食品科学工学会誌, **44**, 126-132 (1997).
- 4) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 中空糸膜モジュールを用いた濃縮菌体の一部排出培養法による高濃度食酢の連続生産における培養温度の影響, 日本食品科学工学会誌, **44**, 677-680 (1997).
- 5) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 濃縮菌体の一部排出培養法による高濃度食酢の連続生産における培地供給速度の影響, 日本食品科学工学会誌, **44**, 862-870 (1997).
- 6) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 中空糸膜モジュール酢酸発酵液の過特性, 日本食品科学工学会誌, **44**, 896-904 (1997).
- 7) 玉井正弘, 丸子 修, 門 隆興, 酢酸耐性および酢酸生産速度の高い酢酸菌株の分離とその性質, 日本食品科学工学会誌, **45**, 44-51 (1998).
- 8) Nanba, A., Hirota, F. and Nagai, S., Microcomputer-coupled baker's yeast production. *J. Ferment. Technol.*, **59**, 383-389 (1981).
- 9) 永井史郎, 吉田敏臣, 菅 健一, 西澤義矩, 田口久治, 微生物学基礎講座 7 巻, 「微生物培養工学」, 初版, 永井史郎, 田口久治編, (共立出版, 東京), pp.162-169(1985).
- 10) 永井史郎, 吉田敏臣, 菅 健一, 西澤義矩, 田口久治, 微生物学基礎講座 7 巻, 「微生物培養工学」, 初版, 永井史郎, 田口久治編, (共立出版, 東京), pp.145-151 (1985).
- 11) 沢田継男, 中橋 博監修, エンジニアズブック (技術データ集) 第 4 版, 兵神装備株式会社編, (兵神装備, 兵庫), p.132 (1987).