

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-298139

(P2004-298139A)

(43) 公開日 平成16年10月28日(2004.10.28)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/16	C 1 2 N 1/16	4 B O 3 2
A 2 1 D 8/04	C 1 2 N 1/16	4 B O 6 5
	C 1 2 N 1/16	G
	A 2 1 D 8/04	

審査請求 未請求 請求項の数 81 O L (全 37 頁)

(21) 出願番号	特願2003-97474 (P2003-97474)	(71) 出願人	501145295 独立行政法人食品総合研究所 茨城県つくば市観音台2丁目1番地12
(22) 出願日	平成15年3月31日(2003.3.31)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
特許法第30条第1項適用申請有り 2003年3月5日 社団法人日本農芸化学会発行の「日本農芸化学会2003年度(平成15年度)大会講演要旨集」に発表		(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
		(72) 発明者	島 純 茨城県つくば市観音台2丁目1番地12
		(72) 発明者	山本 英樹 東京都板橋区小豆沢3-6-10
		(72) 発明者	渡辺 肇 東京都板橋区小豆沢3-6-10

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 パン酵母製造のための合成培地および半合成培地

(57) 【要約】

【課題】本発明は、従来のパン酵母製造において生じていた、廃糖蜜の使用により生じる問題を解決する半合成培地および合成培地、ならびにこれら培地を使用する培養方法を開発することを課題とする。

【解決手段】本発明に従って、アミノ酸、特に酸性アミノ酸、または塩基性アミノ酸を高濃度で含む改善された合成培地が提供される。また、本発明に従って、廃糖蜜中の有効成分を含有する画分を含む改善された半合成培地もまた提供される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための合成培地：

- a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のグルタミン酸；
- b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアスパラギン酸；または
- c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【請求項 2】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための合成培地：

- a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のグルタミン酸；
- b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアスパラギン酸；または
- c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【請求項 3】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 m g 以上である、請求項 1 または 2 に記載の培地。

【請求項 4】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 0 m g である、請求項 1 または 2 に記載の培地。

【請求項 5】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2 . 0 μ g 以上である、請求項 1 または 2 に記載の培地。

【請求項 6】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 1 2 μ g である、請求項 1 または 2 に記載の培地。

【請求項 7】

請求項 1 または 2 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 10】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための半合成培地：

- a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のグルタミン酸；
- b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアスパラギン酸；または
- c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【請求項 11】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

- a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のグルタミン酸；
- b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアスパラギン酸；または
- c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、グルタ

10

20

30

40

50

ミン酸およびアスパラギン酸。

【請求項 1 2】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 m g 以上である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の培地。

【請求項 1 3】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 0 m g である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の培地。

【請求項 1 4】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2 . 0 μ g 以上である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の培地。

10

【請求項 1 5】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 1 2 μ g である、請求項 1 0 または 1 1 に記載の培地。

【請求項 1 6】

請求項 1 0 または 1 1 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 1 9】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、酵母培養のための合成培地：

20

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

30

【請求項 2 0】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、パン酵母製造のための合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

40

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【請求項 2 1】

前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 m g 以上である、請求項 1 9 または 2 0 に記載の培地。

【請求項 2 2】

前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 0 m g である、請

50

求項 19 または 20 に記載の培地。

【請求項 23】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、請求項 19 または 20 に記載の培地。

【請求項 24】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g である、請求項 19 または 20 に記載の培地。

【請求項 25】

請求項 19 または 20 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 26】

請求項 25 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 27】

請求項 26 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 28】

培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、酵母培養のための半合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【請求項 29】

培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【請求項 30】

前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、請求項 28 または 29 に記載の培地。

【請求項 31】

前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、請求項 28 または 29 に記載の培地。

【請求項 32】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、請求項 28 または 29 に記載の培地。

【請求項 33】

前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g である、請求項 28 または 29

10

20

30

40

50

に記載の培地。

【請求項 34】

請求項 28 または 29 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 35】

請求項 34 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 36】

請求項 35 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 37】

培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のピオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための合成培地：

10

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

20

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【請求項 38】

培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のピオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

30

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【請求項 39】

40

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、請求項 37 または 38 に記載の培地。

【請求項 40】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、請求項 37 または 38 に記載の培地。

【請求項 41】

前記ピオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、請求項 37 または 38 に記載の培地。

【請求項 42】

前記ピオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、請求項 37 または 38

50

に記載の培地。

【請求項 4 3】

請求項 3 7 または 3 8 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 4 4】

請求項 4 3 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 4 5】

請求項 4 4 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 4 6】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のピオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための半合成培地：

10

a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

20

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【請求項 4 7】

培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のピオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

30

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 8 8 0 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【請求項 4 8】

40

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 m g 以上である、請求項 4 6 または 4 7 に記載の培地。

【請求項 4 9】

前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 3 3 0 m g である、請求項 4 6 または 4 7 に記載の培地。

【請求項 5 0】

前記ピオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2 . 0 μ g 以上である、請求項 4 6 または 4 7 に記載の培地。

【請求項 5 1】

前記ピオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 1 2 μ g である、請求項 4 6 または 4 7

50

に記載の培地。

【請求項 5 2】

請求項 4 6 または 4 7 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 5 3】

請求項 5 2 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 5 4】

請求項 5 3 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 5 5】

廃糖蜜から得られる精製画分であって、合成吸着剤に吸着しない画分。

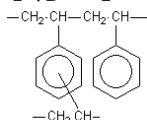
【請求項 5 6】

前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、請求項 5 5 に記載の精製画分。

【請求項 5 7】

前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、請求項 5 5 に記載の精製画分：

【化 1】



【請求項 5 8】

前記合成吸着剤が D I A I O N H P 2 0 (登録商標) である、請求項 5 5 に記載の精製画分。 20

【請求項 5 9】

廃糖蜜から得られる精製画分であって、合成吸着剤に吸着する精製画分。

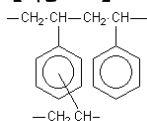
【請求項 6 0】

前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、請求項 5 9 に記載の精製画分。

【請求項 6 1】

前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、請求項 5 9 に記載の精製画分：

【化 2】



【請求項 6 2】

前記合成吸着剤に吸着した精製画分の溶出条件が、50% 2 - プロパノールおよび 2% NH₄ OH を含有する溶媒による溶出である、請求項 5 9 に記載の精製画分。

【請求項 6 3】

前記合成吸着剤が D I A I O N H P 2 0 (登録商標) である、請求項 5 9 に記載の精製画分。

【請求項 6 4】

請求項 5 5 または 5 9 に記載の精製画分を含有する、酵母培養のための半合成培地。 40

【請求項 6 5】

請求項 6 4 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【請求項 6 6】

請求項 6 5 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 6 7】

請求項 6 6 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 6 8】

請求項 5 5 または 5 9 に記載の精製画分を含有する、パン酵母製造のための半合成培地。

【請求項 6 9】

請求項 6 8 に記載の培地を使用する、パン酵母の製造方法。 50

【請求項 70】

請求項 69 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 71】

請求項 70 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【請求項 72】

廃糖蜜から、酵母培地に添加する画分を精製する方法であって、以下の工程：

- a) 廃糖蜜の成分を合成吸着剤と接触させる工程；および
 - b) 該合成吸着剤に吸着しない物質、または該合成吸着剤に吸着して溶出される物質を、酵母培地に添加する画分として回収する工程、
- を包含する、精製方法。

10

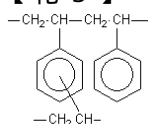
【請求項 73】

前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、請求項 72 に記載の精製方法。

【請求項 74】

前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、請求項 72 に記載の精製方法：

【化 3】



【請求項 75】

前記合成吸着剤に吸着して溶出される物質の溶出条件が、50% 2-プロパノールおよび 2% NH₄OH を含有する溶媒による溶出である、請求項 72 に記載の精製方法。

20

【請求項 76】

前記合成吸着剤が DIAION HP20 (登録商標) である、請求項 72 に記載の精製方法。

【請求項 77】

請求項 72 に記載の方法によって精製された、精製画分。

【請求項 78】

請求項 77 に記載の精製画分を含有する、パン酵母製造のための半合成培地。

【請求項 79】

請求項 78 に記載の培地を使用する、パン酵母の製造方法。

30

【請求項 80】

請求項 79 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【請求項 81】

請求項 80 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、パン酵母製造のための合成培地および半合成培地の分野にある。また、本発明は、パン酵母製造のための培地補添物に関する。

40

【0002】

さらに本発明は、酵母の発酵能を簡便に決定するための方法に関する。

【0003】

【従来の技術】

製パンに使用するパン酵母の製造は、製糖過程で副産物として生じる廃糖蜜を原料として行われている。廃糖蜜を使用するパン酵母製造方法は周知であり、例えば、「製パンの科学 II 製パン材料の科学」(田中康夫・松本博編、株式会社 光琳、1992年9月)に詳細に記載されている。

【0004】

現在のところ、パン酵母製造に使用する廃糖蜜のほとんどは東南アジア諸国からの輸入で

50

まかなわれている。しかし、製糖技術の向上による廃糖蜜の品質低下や世界情勢の変化といった要因により、優良な廃糖蜜を安定的に確保することが難しく、パン酵母の品質の安定化が困難な状況にある。今後、廃糖蜜の供給に関する状況はさらに厳しさを増すものと予想されている。そのため、廃糖蜜をより効率的に利用する方法の確立が望まれる。

【0005】

また、廃糖蜜の成分は、産出国、産出工場や産出年度によっても差がある一方で、フィリピンなどの外国産廃糖蜜は、その製造構造の特定が産業構造上困難である。そのため、パン酵母培養に適した成分の廃糖蜜を選択するためには、数種の廃糖蜜を入手してから、選択することが必要とされる。しかし、廃糖蜜の中にはパン酵母の培養に適当でない成分を含むものもあり、必ずしもパン酵母培養に好適な廃糖蜜を常に入手できるとは限らない。そのため、実際のパン酵母の製造においては、パン酵母培養に不適切な廃糖蜜を使用せざるを得ない場合もある。

10

【0006】

廃糖蜜を使用するパン酵母の製造方法においては、数種類の廃糖蜜を混合使用することによる組成成分の片寄りの排除、廃糖蜜の選択、培養条件の調整、および甜菜糖工場廃液及び/又はその処理物の添加(特開平10-136975)などが試みられているが、廃糖蜜の使用により生じる問題を解決するには至っていない。

【0007】

これら廃糖蜜の使用により生じる問題を解決するために、培養原料として廃糖蜜からの脱却を図り、合成原料を培地成分として常に安定した品質のパン酵母を製造する試みがなされている。しかしながら、十分な発酵力を有するパン酵母製造に適した合成培地または半合成培地は、いまだ開発されていない。その原因の1つは、廃糖蜜に含まれるサトウキビ由来の成分からパン酵母の性能向上に必要な有効成分を同定するための簡便な方法が確立されていないことにある。

20

【0008】

【特許文献1】

公開特許公報 特開平10-136975

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

以上にかんがみて、本発明は、従来のパン酵母製造において生じていた、廃糖蜜の使用により生じる問題を解決する半合成培地および合成培地、ならびにこれら培地を使用する培養方法を開発することを課題とする。

30

【0010】

【課題を解決するための手段】

上記課題は、パン酵母の性能向上に必要な有効成分を同定する簡便な方法を開発し、その方法を使用して、パン酵母製造のための半合成培地および合成培地を開発することによって解決された。

【0011】

パン生地は、例えば、菓子パン生地、フランスパン生地、食パン生地など、その種類に応じてパン酵母が発酵する条件が異なる。本発明において初めて、パン生地の種類に応じた発酵条件に適した、パン酵母を製造するための有効成分を廃糖蜜から同定した。この同定の結果、廃糖蜜をその目的とするパン生地に適した画分に分離・精製し、その精製画分を合成培地に添加した半合成培地をパン酵母製造に使用することにより、廃糖蜜をより効率的に利用することが可能となった。

40

【0012】

また、パン酵母製造に有効な成分を精製して使用することによって、廃糖蜜中に混在するパン酵母製造の障害となる成分の培地への混入を避け、その結果、より効率的に廃糖蜜を使用することも可能になった。

【0013】

従って、半合成培地は、廃糖蜜の有効利用をもたらし、廃糖蜜の供給に起因する問題を解

50

決する。また、廃糖蜜から精製した画分を含む半合成培地を使用することによって、常に一定量の有効成分を培地中に含有させることが可能となり、その結果、廃糖蜜の成分のばらつきにより生じる問題をも改善する。

【0014】

さらに、本発明において完成されたパン酵母製造のための合成培地は、廃糖蜜の供給および廃糖蜜の成分のばらつきを根本的に解決する。

【0015】

従って、本発明は、以下の発明を提供する。

【0016】

(1) 培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための合成培地： 10

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のグルタミン酸；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアスパラギン酸；または

c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【0017】

(2) 培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための合成培地： 20

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のグルタミン酸；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアスパラギン酸；または

c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【0018】

(3) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 1 または 2 に記載の培地。

【0019】

(4) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 1 または 2 に記載の培地。 30

【0020】

(5) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2 . 0 μ g 以上である、項目 1 または 2 に記載の培地。

【0021】

(6) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、項目 1 または 2 に記載の培地。

【0022】

(7) 項目 1 または 2 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【0023】

(8) 項目 7 に記載の製造方法によって製造された酵母。 40

【0024】

(9) 項目 8 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0025】

(10) 培地中の糖 1 g あたり 1 . 2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための半合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のグルタミン酸；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアスパラギン酸；または

c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。 50

【0026】

(11) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のグルタミン酸；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアスパラギン酸；または

c) グルタミン酸およびアスパラギン酸であって、該培地中の該グルタミン酸および該アスパラギン酸の含有量の合計が、該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸。

【0027】

(12) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 10 または 11 に記載の培地。 10

【0028】

(13) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 10 または 11 に記載の培地。

【0029】

(14) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、項目 10 または 11 に記載の培地。

【0030】

(15) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、項目 10 または 11 に記載の培地。 20

【0031】

(16) 項目 10 または 11 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【0032】

(17) 項目 16 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0033】

(18) 項目 17 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0034】

(19) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、酵母培養のための合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸； 30

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【0035】

(20) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、パン酵母製造のための合成培地： 40

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。 50

【0036】

(21) 前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 19 または 20 に記載の培地。

【0037】

(22) 前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 19 または 20 に記載の培地。

【0038】

(23) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、項目 19 または 20 に記載の培地。 10

【0039】

(24) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、項目 19 または 20 に記載の培地。

【0040】

(25) 項目 19 または 20 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【0041】

(26) 項目 25 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0042】

(27) 項目 26 に記載の酵母を使用して製造されたパン。 20

【0043】

(28) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、酵母培養のための半合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または 30

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【0044】

(29) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添成分を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

a) カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸；

b) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物；または 40

c) アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、アミノ酸混合物。

【0045】

(30) 前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 28 または 29 に記載の培地。

【0046】

(31) 前記グルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または前記リジン、 50

アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 28 または 29 に記載の培地。

【0047】

(32) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、項目 28 または 29 に記載の培地。

【0048】

(33) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、項目 28 または 29 に記載の培地。

【0049】

(34) 項目 28 または 29 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。 10

【0050】

(35) 項目 34 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0051】

(36) 項目 35 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0052】

(37) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン； 20

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。 30

【0053】

(38) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン； 40

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【0054】

(39) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 37 または 38 に記載の培地。

【0055】

(40) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 37 または 38 に記載の培地。

【0056】

(41) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μ g 以上である、項目 37 または 38 に記載の培地。

【0057】

(42) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μ g である、項目 37 または 38 に記載の培地。

【0058】

(43) 項目 37 または 38 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。 10

【0059】

(44) 項目 43 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0060】

(45) 項目 44 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0061】

(46) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、酵母培養のための半合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン； 20

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン；

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。 30

【0062】

(47) 培地中の糖 1 g あたり 1.2 μ g 以上のビオチン、ならびに以下の補添アミノ酸を含む、パン酵母製造のための半合成培地：

a) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のヒスチジン；

b) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のアルギニン；

c) 培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上のリジン；

d) ヒスチジンおよびアルギニンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびアルギニン；

e) ヒスチジンおよびリジンであって、該培地中の該ヒスチジンおよび該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジンおよびリジン； 40

f) リジンおよびアルギニンであって、該培地中の該リジンおよび該アルギニンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、リジンおよびアルギニン；または

g) ヒスチジン、アルギニン、およびリジンであって、該培地中の該ヒスチジン、該アルギニン、および該リジンの含有量の合計が培地中の糖 1 g あたり 880 μ g 以上である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジン。

【0063】

(48) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 33 mg 以上である、項目 46 または 47 に記載の培地。

【0064】

(49) 前記補添アミノ酸の量が、前記培地中の糖 1 g あたり 330 mg である、項目 46 または 47 に記載の培地。

【0065】

(50) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 2.0 μg 以上である、項目 46 または 47 に記載の培地。

【0066】

(51) 前記ビオチンの量が、前記培地中の糖 1 g あたり 12 μg である、項目 46 または 47 に記載の培地。

【0067】

(52) 項目 46 または 47 に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

10

【0068】

(53) 項目 52 に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0069】

(54) 項目 53 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0070】

(55) 廃糖蜜から得られる精製画分であって、合成吸着剤に吸着しない画分。

【0071】

(56) 前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、項目 55 に記載の精製画分。

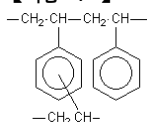
【0072】

(57) 前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、項目 55 に記載の精製画分：

20

【0073】

【化4】



【0074】

(58) 前記合成吸着剤が DIAION HP20 (登録商標) である、項目 55 に記載の精製画分。

30

【0075】

(59) 廃糖蜜から得られる精製画分であって、合成吸着剤に吸着する精製画分。

【0076】

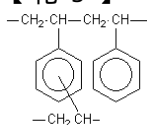
(60) 前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、項目 59 に記載の精製画分。

【0077】

(61) 前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、項目 59 に記載の精製画分：

【0078】

【化5】



40

【0079】

(62) 前記合成吸着剤に吸着した精製画分の溶出条件が、50% 2-プロパノールおよび 2% NH₄OH を含有する溶媒による溶出である、項目 59 に記載の精製画分。

【0080】

(63) 前記合成吸着剤が DIAION HP20 (登録商標) である、項目 59 に記載の精製画分。

【0081】

50

(64) 項目55または59に記載の精製画分を含有する、酵母培養のための半合成培地。

【0082】

(65) 項目64に記載の培地を使用する、酵母の製造方法。

【0083】

(66) 項目65に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0084】

(67) 項目66に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0085】

(68) 項目55または59に記載の精製画分を含有する、パン酵母製造のための半合成培地。 10

【0086】

(69) 項目68に記載の培地を使用する、パン酵母の製造方法。

【0087】

(70) 項目69に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0088】

(71) 項目70に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【0089】

(72) 廃糖蜜から、酵母培地に添加する画分を精製する方法であって、以下の工程：

a) 廃糖蜜の成分を合成吸着剤と接触させる工程；および 20

b) 該合成吸着剤に吸着しない物質、または該合成吸着剤に吸着して溶出される物質を、酵母培地に添加する画分として回収する工程、を包含する、精製方法。

【0090】

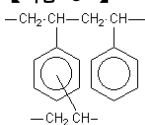
(73) 前記合成吸着剤が芳香族系樹脂である、項目72に記載の精製方法。

【0091】

(74) 前記合成吸着剤が以下の構造式を有する樹脂である、項目72に記載の精製方法：

【0092】

【化6】 30



【0093】

(75) 前記合成吸着剤に吸着して溶出される物質の溶出条件が、50% 2-プロパノールおよび2% NH₄OHを含有する溶媒による溶出である、項目72に記載の精製方法。

【0094】

(76) 前記合成吸着剤がDIAION HP20（登録商標）である、項目72に記載の精製方法。 40

【0095】

(77) 項目72に記載の方法によって精製された、精製画分。

【0096】

(78) 項目77に記載の精製画分を含有する、パン酵母製造のための半合成培地。

【0097】

(79) 項目78に記載の培地を使用する、パン酵母の製造方法。

【0098】

(80) 項目79に記載の製造方法によって製造された酵母。

【0099】 50

(8 1) 項目 8 0 に記載の酵母を使用して製造されたパン。

【 0 1 0 0 】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。

【 0 1 0 1 】

(用語の定義)

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

10

【 0 1 0 2 】

本明細書において「酵母」とは、大部分の生活環を単細胞で経過する菌類をいう。代表的な酵母としては、*Saccharomyces* 属、*Schizosaccharomyces* 属に属する酵母、特に *Saccharomyces cerevisiae*、*Saccharomyces ludwigii*、および *Schizosaccharomyces pombe* が挙げられる。

【 0 1 0 3 】

本明細書において「パン酵母」とは、パンの製造に使用される、*Saccharomyces cerevisiae* に属し、パンの製造に使用される酵母をいう。

【 0 1 0 4 】

本明細書において、「アミノ酸」は、本発明の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体アミノ酸」または「アミノ酸アナログ」とは、天然に存在するアミノ酸とは異なるがもとのアミノ酸と同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体アミノ酸およびアミノ酸アナログは、当該分野において周知である。

20

【 0 1 0 5 】

用語「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸の L - 異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、 γ -カルボキシグルタミン酸、アルギニン、オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸は L 体である。本明細書において、好ましいアミノ酸は天然のアミノ酸である。

30

【 0 1 0 6 】

本明細書中で使用する「アミノ酸」は、時々標準的な以下の三文字コードを用いて明記される：アラニン (Ala)、セリン (Ser)、スレオニン (Thr)、アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)、アスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)、アルギニン (Arg)、リジン (Lys)、イソロイシン (Ile)、ロイシン (Leu)、メチオニン (Met)、バリン (Val)、フェニルアラニン (Phe)、チロシン (Tyr)、トリプトファン (Trp)、プロリン (Pro)、グリシン (Gly)、ヒスチジン (His)、システイン (Cys)。

40

【 0 1 0 7 】

用語「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、ノルロイシン、パラ - ニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラ - フルオロフェニルアラニン、3 - アミノ - 2 - ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンの D 体または L 体および D - フェニルアラニンが挙げられる。「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および/または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとしては、例えば、エチオニン、カナバニン、2 - メチルグルタミンなどが挙げられる。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様な様式で機能する化合物をいう。

50

【0108】

本明細書において、「アミノ酸混合物」とは、天然のアミノ酸である、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、アルギニン、 γ -カルボキシグルタミン酸、オルニチン、およびリジンの少なくとも5種以上、好ましくは少なくとも6種以上、より好ましくは少なくとも7種以上、なおより好ましくは、少なくとも8種以上、少なくとも9種以上、少なくとも10種以上、少なくとも11種以上、少なくとも12種以上、少なくとも13種以上、少なくとも14種以上、少なくとも15種以上、少なくとも16種以上、少なくとも17種以上、少なくとも18種以上、少なくとも19種以上、少なくとも20種以上、少なくとも21種以上、または22種の天然のアミノ酸を含有する混合物である。

10

【0109】

本明細書において使用する場合、「補添アミノ酸」とは、酵母培地に添加されるアミノ酸を意味する。本明細書において、補添アミノ酸の濃度は、使用される培地中の糖1gに対する重量として表される。添加される補添アミノ酸は、純粋なアミノ酸化合物の形態であっても、アミノ酸を含む組成物の形態であってもよい。従って、本明細書において、カザミノ酸の形態でアミノ酸を補添する場合、カザミノ酸は、補添アミノ酸として利用され得る。

【0110】

本明細書において使用される補添アミノ酸の濃度は、培地中の糖1g当たり、 $380\mu\text{g}$ 以上、好ましくは $500\mu\text{g}$ 以上、より好ましくは $880\mu\text{g}$ 以上、最も好ましくは 33mg 以上である。培地中の糖1g当たり 330mg 程度の濃度の補添アミノ酸の使用もまた、好ましい。

20

【0111】

本発明において培地中に添加される糖としては、グルコース、タロース、マンノース、フルクトース、ガラクトース、スクロース、およびこれらの混合物、ならびにデキストロースが挙げられるが、これらに限定されない。

【0112】

本明細書において、合成培地および半合成培地に添加されるリン酸源としては、 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 、 K_3PO_4 などのカリウム塩およびその水和物、 NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 Na_3PO_4 などのナトリウム塩およびその水和物、ならびに他の金属塩およびその水和物が挙げられる。好ましくは、リン酸源は、 KH_2PO_4 である。

30

【0113】

本明細書において、「カザミノ酸」とは、カゼインの加水分解物をいう。この加水分解は、酸加水分解であっても、酵素による加水分解であってもよい。

【0114】

本明細書において使用されるカザミノ酸の濃度は、(1)カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または(2)カザミノ酸中のリジン、ヒスチジンおよびアルギニンの含有量の合計が、培地中の糖1gあたり、 $380\mu\text{g}$ 以上、好ましくは $500\mu\text{g}$ 以上、より好ましくは $880\mu\text{g}$ 以上、最も好ましくは 33mg 以上となる、カザミノ酸の濃度である。カザミノ酸の濃度として、(1)カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、または(2)カザミノ酸中のリジン、ヒスチジンおよびアルギニンの含有量の合計が、培地中の糖1gあたり 330mg 程度となるカザミノ酸の使用もまた、好ましい。

40

【0115】

本明細書において、「発酵能」とは、酵母を培養した場合に、糖質を無酸素的に分解した代謝産物を生じる能力をいう。酵母の発酵には、代表的には、アルコール発酵、グリセロール発酵などが挙げられるが、これらに限定されない。発酵能を示す指標としては、例えば、低糖条件における発酵能(F10)、高糖状態における発酵能(F40)、およびマ

50

ルトース発酵力 (Fm) などが挙げられるが、これらに限定されない。これらの発酵能の指標は、酵母の流加培養によって測定される。また、パン生地から生じる炭酸ガスを測定して、パン生地の発酵力を測定するファームグラフという方法もまた、発酵能を測定するために、使用可能である。本明細書において、「発酵能」は、「発酵力」と互換可能に使用される。

【0116】

本明細書において、「流加培養」とは、酵母の培養期間中に、ある特定の物質を培養槽に供給し、培養産物を培養終了時点まで培養槽の外に抜き出さない、培養方法をいう。流加培養としては、供給する物質を連続的に加える連続流加培養と、不連続的に加える逐次流加培養が挙げられる。また、流加培養の途中で、必要に応じて、培養液を取り出してもよい。

10

【0117】

本明細書において使用する場合、「合成培地」とは、酵母エキスも、廃糖蜜も含有しない培地をいう。合成培地としては、SD培地、および改変SD培地が挙げられるが、これらに限定されない。

【0118】

本明細書において使用する場合、「SD培地」とは、以下と同等の組成を有する培地をいう：

- ・ Yeast Nitrogen Base without amino acids without ammonium sulphate (Difco社、Detroit, MIまたは同等品) 1.7 g / L
- ・ 硫酸アンモニウム 5 g / L、および
- ・ デキストロース 20 g / L。

20

【0119】

本明細書において使用する場合、「改変SD培地」とは、以下と同等の組成を有する培地をいう：

- ・ ビオチン 60 μg / L、
- ・ パントテン酸カルシウム 2400 μg / L、
- ・ 葉酸 12 μg / L、
- ・ イノシトール 12000 μg / L、
- ・ ナイアシン 2400 μg / L、
- ・ p - アミノ安息香酸 1200 μg / L、
- ・ 塩酸ピリドキシン 2400 μg / L、
- ・ リボフラビン 1200 μg / L、
- ・ 塩酸チアミン 2400 μg / L、
- ・ H₃BO₃ 3000 μg / L、
- ・ CuSO₄ 240 μg / L、
- ・ KI 600 μg / L、
- ・ FeCl₂ 1200 μg / L、
- ・ MnSO₄ 2400 μg / L、
- ・ Na₂MoO₄ 1200 μg / L、
- ・ ZnSO₄ 2400 μg / L、
- ・ MgSO₄ 3 g / L、
- ・ CaCl₂ 600 mg / L、
- ・ NaCl 600 mg / L、
- ・ KH₂PO₄ 6 g / L、
- ・ 硫安 5 g / L (または尿素 2.25 g / L)、および
- ・ グルコース 30 g / L。

30

40

【0120】

当業者は、上記のような周知の培地の組成を利用して、本発明に従ってアミノ酸、ビオチ

50

ン、カザミノ酸、および/または廃糖蜜画分を添加することによって、本発明の合成培地または半合成培地を容易に作製することができる。

【0121】

本明細書において使用する場合、「半合成培地」とは、合成培地に、廃糖蜜から精製または部分精製した成分または画分を添加した培地をいう。

【0122】

本明細書において使用する場合、「糖蜜培地」とは、廃糖蜜のような糖蜜を、精製することなく使用して調製された培地をいう。

【0123】

本明細書において使用する場合、「精製」とは、廃糖蜜に含まれる特定の物質を、天然の状態の廃糖蜜中においてその物質とともに存在する他の物質と分離する方法をいう。従って、本明細書において使用する場合、「精製」は、「部分精製」を包含する。また、本明細書において使用する場合、用語「分画」は「精製」と互換可能に使用される。

【0124】

本明細書において使用する場合、「合成吸着剤」とは、合成吸着剤と接触した化合物の化学的性質（例えば、親水性・疎水性）に依存して、化合物をその表面に選択的に吸着する物質をいう。好ましくは、合成吸着剤は、細孔と呼ばれる微細な連続孔が粒子内部まで発達した多孔性の樹脂である。

【0125】

合成吸着剤としては、その化学構造により、芳香族系合成吸着剤、置換芳香族系合成吸着剤、およびアクリル系合成吸着剤の3種類が挙げられる。芳香族系合成吸着剤は、代表的には、架橋スチレン系の多孔質重合体で、芳香族の置換基を有する合成吸着剤である。置換芳香族系合成吸着剤は、代表的には、芳香族重合体の芳香核に臭素原子を結合させた疎水性の強い合成吸着剤であり、非極性・中極性の物質を選択的に吸着する。アクリル系合成吸着剤とは、メタクリル酸エステル重合体を骨格とする親水性吸着剤である。この化学構造は各吸着剤の親水性・疎水性の程度を決定する因子であるため、吸着させたい物質の親水性・疎水性に合わせて適切な吸着剤種を選択することができる。好ましい合成吸着剤は、芳香族系合成吸着剤である。

【0126】

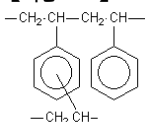
芳香族系合成吸着剤は、ペプチドや色素などの天然物の抽出分離や、抗生物質などの有用物の発酵液からの抽出濃縮等に利用可能であり、そしてこの芳香族系合成吸着剤は、吸着・脱着とも穏やかな条件下で汎用的に使用できる。

【0127】

好ましい芳香族系合成吸着剤は、以下の構造を有する、

【0128】

【化7】



【0129】

また、好ましい芳香族系合成吸着剤は、以下の構造的特徴を有する：

- ・細孔容積 1.3 mL / g
- ・比表面積 600 m² / g
- ・細孔半径 200 オングストローム以上。

【0130】

特に好ましい芳香族系合成吸着剤は、D I A I O N H P 2 0（登録商標）（三菱化学株式会社、東京）である。

【0131】

本明細書において、合成吸着剤に吸着した物質を溶出する溶媒としては、例えば、アルコ

10

20

30

40

50

ール、アセトン、アルカリ、および酸溶液、ならびにこれらの混合物が使用され得る。使用されるアルコールとしては、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールが挙げられるが、これらに限定されない。好ましい溶媒は、50% 2-プロパノールおよび2% NH_4OH を含有する水溶液である。

【0132】

本明細書において使用する場合、「有効成分」とは、パン酵母の培養において、合成培地に添加した場合に、製造されるパン酵母の増殖速度・発酵能を改善するのに有効な成分をいう。

【0133】

(基本技術)

本明細書において使用される技術は、そうではないと具体的に指示しない限り、当該分野の技術範囲内にある、微生物学、発酵工学、生化学、遺伝子工学、分子生物学、遺伝学および関連する分野における周知慣用技術を使用する。そのような技術は、例えば、以下に列挙した文献および本明細書において他の場所において引用した文献においても十分に説明されている。

【0134】

本明細書において使用される代表的な基本技術を以下に説明するが、これらはあくまで例示であり、本発明が以下の説明に限定されることは意図しない。

【0135】

(流加培養)

流加培養の条件は、当該分野において周知である。代表的な流加培養を以下に例示するが、流加培養の条件は、これに限定されない。流加培養条件を適宜変化させることは、当業者が容易になし得ることである。

【0136】

例えば、代表的な流加培養は、YMPD培地(0.3% イーストエキス、0.3% マルトエキス、0.5% ペプトン、3% グルコース)で培養した酵母菌体1.2gを種酵母として、所定の培地に播種した後、糖蜜溶液(260g/Lの糖に相当する廃糖蜜に19.49g/Lの尿素、および52g/Lの KH_2PO_4 を添加した溶液)を用いて30で連続流加することによって行われる。

【0137】

流加培養の条件は当該分野において周知であり、当業者は、流加培養条件を適宜選択・変更し得る。

【0138】

(廃糖蜜からの有効成分の精製)

廃糖蜜からの有効成分の精製は、合成吸着剤を用いて、以下のように行うことができる。

【0139】

(廃糖蜜の精製：合成吸着剤による精製)

合成吸着剤としては、例えば、DIAION HP20(登録商標)(三菱化学株式会社、東京)が挙げられるが、これに限定されない。例えば、DIAION HP20以外に、DIAION HP21、SEPA BEDAS SP825、SEPA BEDAS SP850、SEPA BEDAS SP70、SEPA BEDAS SP700(いずれも三菱化学株式会社、東京)が挙げられる。また、同程度の疎水性を有する樹脂も、同様に本発明の目的に使用可能である。

【0140】

合成吸着剤を利用する精製方法としては、水性溶媒中に溶解したサンプルを、合成吸着剤にアプライし、吸着しない画分を回収する方法か、または吸着した画分を、穏やかな条件で溶出することによって精製する方法が挙げられる。穏やかな溶出条件として好ましい条件は、50% 2-プロパノールを含む2%アンモニアを溶出液として使用する、常温での溶出である。

【0141】

10

20

30

40

50

(発酵能の測定)

本明細書において、発酵能を測定する場合には、例示的に、低糖条件における発酵能 (F 10)、高糖状態における発酵能 (F 40)、およびマルトース発酵力 (F m) を指標として用いたが、これら以外の指標も、当業者には周知である。また、パン生地から生じる炭酸ガスを測定して、パン生地の発酵力を測定するファームグラフという装置を用いる方法もまた、発酵能を測定するために、使用可能である。

【0142】

説明のために、これらの指標の代表的な測定方法を以下に説明するが、本明細書において使用される発酵能の測定方法は、以下に限定されない。

【0143】

(発酵能の測定：低糖条件における発酵能 (F 10) の測定)

低糖条件における発酵能 (F 10) とは、10% (重量/容量) のスクロース溶液中で、30、120分間発酵させた際の炭酸ガス発生量である。

【0144】

(発酵能の測定：高糖状態における発酵能 (F 40) の測定)

高糖状態における発酵能 (F 40) とは、40%スクロース溶液中で、30、120分間発酵させた際の炭酸ガス発生量である。

【0145】

(発酵能の測定：マルトース発酵力 (F m) の測定)

マルトース発酵力 (F m) とは、5%マルトース溶液中で、30、120分間発酵させた際の炭酸ガス発生量である。この場合、F mを、F m (5) と記載する。

【0146】

(好ましい実施形態の説明)

以下に、代表的な合成培地およびパン酵母を用いて好ましい実施形態の説明を記載するが、この実施形態は本発明の例示であり、本発明の範囲はそのような好ましい実施形態に限定されないことが理解されるべきである。従って、本発明は、代表的な合成培地およびパン酵母に限定されることなく、本明細書に記載の合成培地以外の培地、およびパン酵母以外の酵母にも適用可能である。

【0147】

本発明は、酵母の培養、特にパン酵母の製造のための改善された合成培地、および改善された半合成培地を提供する。

【0148】

1つの局面において、本発明は、a) 培地中の糖 1g あたり 880 μ g 以上のグルタミン酸； b) 培地中の糖 1g あたり 880 μ g 以上のアスパラギン酸；または c) 培地中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が、培地中の糖 1g あたり 880 μ g 以上である、グルタミン酸およびアスパラギン酸、を含む培地を提供する。ある局面において、上記アミノ酸は、酵母培養用の合成培地 (例えば、SD培地、および改変SD培地) に添加されて、使用される。1つの局面において、上記アミノ酸の濃度は、培地中の糖 1g 当たり、380 μ g 以上、好ましくは 500 μ g 以上、より好ましくは 880 μ g 以上、最も好ましくは 330 mg 以上である。培地中の糖 1g 当たり 330 mg 程度の濃度の補添アミノ酸の使用もまた、好ましい。

【0149】

上記の場合において、培地中に添加される糖としては、グルコース、タロース、マンノース、フルクトース、ガラクトース、スクロース、およびこれらの混合物、ならびにデキストロースが挙げられるが、これらに限定されない。

【0150】

別の局面において、本発明は、カザミノ酸であって、該カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖 1g あたり 880 μ g 以上であるか、または該カザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖 1g あたり 880 μ g 以上である、カザミノ酸を含む合成培地または半合成培地を提

10

20

30

40

50

供する。

【0151】

さらに別の局面において、本発明は、アミノ酸混合物であって、該アミノ酸混合物中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計が該培地中の糖1gあたり880 μ g以上であるか、または該アミノ酸混合物中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が該培地中の糖1gあたり880 μ g以上である、アミノ酸混合物を含む合成培地または半合成培地を提供する。

【0152】

ある局面において、上記アミノ酸は、酵母培養用の合成培地（例えば、SD培地、および改変SD培地）に添加されて、使用される。1つの局面において、上記カザミノ酸の濃度は、カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、またはカザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、培地中の糖1gあたり、380 μ g以上、好ましくは500 μ g以上、より好ましくは880 μ g以上、最も好ましくは33mg以上となる、カザミノ酸の濃度である。カザミノ酸の濃度として、カザミノ酸中のグルタミン酸およびアスパラギン酸の含有量の合計、またはカザミノ酸中のリジン、アルギニン、およびヒスチジンの含有量の合計が、培地中の糖1gあたり330mg程度となるカザミノ酸の使用もまた、好ましい。

10

【0153】

本発明はさらに、酵母培養のための培地に添加する有効成分を精製する方法、およびそのような方法によって精製された画分を提供する。

20

【0154】

1つの局面において、本発明は、廃糖蜜から酵母培養培地に添加する画分を精製する方法であって、以下の工程：a) 廃糖蜜の成分を合成吸着剤と接触させる工程；およびb) 該合成吸着剤に吸着しない物質、または該合成吸着剤に吸着して穏やかな溶出条件で溶出される物質を、酵母培養培地に添加する画分として回収する工程、を包含する、精製方法を提供する。ある局面において、この合成吸着剤は、芳香族合成吸着剤からなる樹脂である。特定の局面において、この合成吸着剤は、DIAION HP20（登録商標）（三菱化学株式会社、東京）である。

【0155】

1つの局面において、合成吸着剤に吸着する画分は、50%（v/v）2-プロパノールおよび2% NH₄OHを含む溶液で溶出される。

30

【0156】

上記の精製方法によって精製された画分もまた提供される。

【0157】

本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考として援用される。

【0158】

以上、本発明を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本発明を限定する目的で提供したのではない。従って、本発明の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態にも実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。

40

【0159】

【実施例】

以下に実施例を示して本発明をさらに詳しく説明するが、この発明は以下の例に限定されるものではない。

【0160】

（実施例1：合成培地と廃糖蜜を使用する培地との比較）

（1．合成培地の成分決定）

従来使用されている合成培地は、パン酵母の増殖に適さないことが公知である。そこで、

50

本実施例において、パン酵母の製造に使用する合成培地として、以下のとおりに改変SD培地を作製した。

【0161】

廃糖蜜中の存在する多数の成分について、パン酵母増殖およびパン酵母発酵能に与える影響を検討した結果、発明者らはビオチンに着目した。ビオチン濃度に関して、一般的に使用される合成培地であるSD培地の含まれるビオチン濃度は、廃糖蜜中に含まれるビオチン濃度と比較して、培地中のグラム糖あたりの量が少なかった。そこで、SD培地の調製に使用されるYeast Nitrogen Base without amino acids without ammonium sulphate (Difco社、Detroit, MI)の組成を参考にして、SD培地に、培地中の糖1グラムあたり2.0 μ gの糖を添加した培地を用いて、パン酵母の増殖および発酵能を検討したところ、パン酵母の増殖速度、および発酵能(製パン性能)が顕著に改善された。同様の効果は、培地中の糖1グラムあたり1.2 μ gの糖を添加した培地を使用した場合においても確認された。

10

【0162】

改変SD培地の組成と、SD培地の組成との比較を表1に示す。また、流加培養に使用した流加用基質も、表1に記載する。この流加培地の各成分間の比率は、改変SD培地と同一であり、そのため、糖1g当たりの添加量が同一である。しかし、改変SD培地について使用する流加培地では、1L当たりの糖の量を、改変SD培地と比較して増やしたため、その他の成分についても、比例して増えている。

20

【0163】

【表1】

合成培地(/L)

	SD培地	改変SD培地	流加用基質
ビオチン	12 μ g	60 μ g	520 μ g
パントテン酸カルシウム	2.4mg	2.4mg	20.8mg
葉酸	12 μ g	12 μ g	104 μ g
イノシトール	12mg	12mg	104mg
ナイアシン	2.4mg	2.4mg	20.8mg
p-アミノ安息香酸	1.2mg	1.2mg	104mg
塩酸ピリドキシン	2.4mg	2.4mg	20.8mg
リボフラビン	1.2mg	1.2mg	10.4mg
塩酸チアミン	2.4mg	2.4mg	20.8mg
H ₃ BO ₃	3mg	3mg	26mg
CuSO ₄	240 μ g	240 μ g	2080 μ g
KI	600 μ g	600 μ g	5.2mg
FeCl ₂	1.2mg	1.2mg	10.4mg
MnSO ₄	2.4mg	2.4mg	20.8mg
Na ₂ MoO ₄	1.2mg	1.2mg	10.4mg
ZnSO ₄	2.4mg	2.4mg	20.8mg
MgSO ₄	3g	3g	26g
CaCl ₂	600mg	600mg	5.2g
NaCl	600mg	600mg	5.2g
KH ₂ PO ₄	6g	6g	52g
硫安(または尿素)	5g(2.25g)	5g(2.25g)	52g(19.49g)
グルコース	30g	30g	260g

10

20

30

40

50

【0164】

(2. 流加培養における、合成培地と糖蜜培地との比較)

改変SD培地を用いて培養したパン酵母の性質を測定し、従来からパン酵母製造に用いられてきた廃糖蜜(フィリピン産)を用いて培養したパン酵母と比較した。パン酵母菌株としては、オリエンタル酵母社の開発したT128株を使用した。改変SD培地、および廃糖蜜を培地として、微量流加培養によりパン酵母を培養した。流加培養法はパン酵母企業の工場で行われている方法と同様であり、工業レベルでのパン酵母の性質を調べるのに適当な培養法である。具体的には、以下の条件を使用した。

【0165】

(2.1. 合成培地および半合成培地での流加培養)

YMPD培地(0.3% イーストエキス、0.3% マルトエキス、0.5% ペプトン、3% グルコース)で培養した酵母菌体1.2gを種酵母として、改変SD培地に播種した後、糖溶液(260g/Lの糖に相当する廃糖蜜に19.49g/Lの尿素、および5.2g/LのKH₂PO₄を添加した溶液)を用いて連続流加することによって、合成培地での流加培養を行った。

【0166】

必要に応じて、改変SD培地に、アミノ酸、カザミノ酸、または廃糖蜜の精製画分を添加した。

【0167】

(2.2. 廃糖蜜を使用する糖蜜培地での流加培養)

糖蜜溶液(260g/Lの糖に相当する廃糖蜜に19.49g/Lの尿素、および5.2g

／Lの KH_2PO_4 を添加した溶液)を調製し、流加培地として使用した：

YMPD培地(0.3% イーストエキス、0.3% マルトエキス、0.5% ペプトン、3% グルコース)で培養した酵母菌体1.2gを種酵母として、改変SD培地に播種した後、上記糖蜜培地を流加した。

【0168】

(2.3.合成培地で製造したパン酵母と廃糖蜜を使用する培地で製造したパン酵母との比較)

上記2.1および2.2の培養方法で得られたパン酵母の性質を、以下について比較した：培養後pH、対糖収率、マルトース発酵力(Fm)、低糖条件における発酵能(F10)、高糖状態における発酵能(F40)、および高糖生地発酵力。

10

【0169】

(2.3.1.対糖収率の測定)

糖溶液、または同量の糖を含有する糖蜜溶液を用いて流加培養を行い、1gの糖あたりに回収されるパン酵母の湿重量(水分を67%として)(g)を測定し、パン酵母の対糖収率とした。この値が高い場合は、パン酵母の収率が高いことを示す。

【0170】

(2.3.2.マルトース発酵力(Fm)の測定)

流加培養で得られた菌体を用いて、5%マルトース溶液中で30、120分間発酵させた際の炭酸ガス発生量を測定した。

【0171】

このマルトース発酵力は、フランスパン生地の発酵を予測するためのデータである。

20

【0172】

(2.3.3.低糖条件における発酵能(F10)の測定)

流加培養で得られた菌体を用いて、10%スクロース溶液中で30、120分間発酵させた際の炭酸ガス発生量を測定した。

【0173】

この低糖条件における発酵能(F10)での発酵力は、食パン生地の発酵を予測するためのデータである。

【0174】

(2.3.4.高糖生地発酵力の測定)

高糖生地発酵力の測定は、周知の方法に従って、以下のように測定した：

小麦100部に対して、砂糖30部、NaCl0.5部、酵母4部、シヨトニング6部、脱脂粉乳2部、水52部を配合し、3.5分間ミキシングを行い、ミキシング終了時の温度を28になるようにした。その後、40g毎に分割した生地を、Fermograph(ATTO社、東京)を用いて、30、2時間のガス発生量を測定することによって、高糖生地発酵力を測定した。

30

【0175】

高糖生地発酵力は、菓子パン生地における発酵力の指標となる。

【0176】

以上の結果を、以下の表2にまとめた。

40

【0177】

【表2】

培地	廃糖蜜	改変SD培地
培養後pH	5.21	3.42
対糖収率	117	109
Fm(7)	62	82
F(10)	192	185
F(40)	134	122
高糖生地発酵力	112	54

10

【0178】

表2の結果が示すように、改変SD培地で得られたパン酵母は、糖蜜培地で得られたパン酵母と比較した場合、低糖状態における発酵能(F10)などについては、廃糖蜜を用いた場合に近い性能を有しているが、高糖状態における発酵能(F40)、および高糖生地発酵力が著しく劣っていた。菓子パンが普及している我が国においては、高糖生地発酵力は極めて重要な特性であるので、高糖生地発酵力の劣るパン酵母を製造する培地は、実用上問題がある。

(実施例2:合成培地と廃糖蜜を使用する培地とを比較するための試験管アッセイ系の構築)

20

実施例1の結果から、廃糖蜜培地を用いた場合と比較した場合、合成培地を用いて製造したパン酵母では、高糖状態における発酵能(F40)、マルトース発酵力(Fm)、および高糖生地発酵力が劣ることが明らかとなった。この原因としては、廃糖蜜に含まれるパン酵母の発酵能に関わる有効成分が合成培地では欠乏している可能性が考えられる。そこで、廃糖蜜に含まれる有効成分を同定し、その機能を明らかにすることを試みた。

【0179】

有効成分を同定するためには、どのような成分が、高糖状態における発酵能(F40)、マルトース発酵力(Fm)、および高糖生地発酵力を改善するかを、測定する必要がある。しかし、高糖状態における発酵能(F40)、マルトース発酵力(Fm)、および高糖生地発酵力を測定するためには、大量の菌体が必要であり、膨大な時間と労力を要する。そこで、有効成分の簡便な同定のための「試験管アッセイ系」の確立を試みた。

30

【0180】

(1.合成培地を使用した場合と糖蜜培地を使用した場合における、試験管内での酵母増殖特性の比較)

試験管アッセイ系を確立するために、合成培地を使用した場合におけるパン酵母増殖特性と、糖蜜培地を使用した場合におけるパン酵母増殖特性とを比較した。具体的には、以下のとおりに実験を行った。

【0181】

(方法)

40

培地はすべて、16試験管に5mlずつ分注し、紙栓をして120で15分間オートクレーブした。T128株をSD液体培地で24時間前培養し、その培養液をOD₆₆₀ = 1(分光光度計はU-2000 HITCHIを用いた)となるよう、滅菌生理食塩水に懸濁した。そして、希釈した培養液を10μlずつ糖蜜培地と改変SD培地にそれぞれ添加して、経時的(具体的には、培養開始後、24時間、48時間、および72時間)にOD₆₆₀を測定した。糖蜜培地の糖蜜には、フィリピン産、ならびに国産の球陽製糖(沖縄県名護市)、および翔南製糖(沖縄県豊見城市)の3つの廃糖蜜を用いた。合成培地には改変SD培地を用いた。

【0182】

(N源に硫安を用いた場合の結果)

50

T 1 2 8 株を各培地で試験管培養し、経時的にODを測定した結果と、pHを測定した結果を図1と図2に示した。

【0183】

まず、国産廃糖蜜の二つの培地では酵母はほとんど同じ増殖パターンを示した(図1)。糖蜜の国産と外国産の違いによる酵母増殖の違いは、国産の方が若干酵母の増殖が良好であったが有意な差は認められなかった(図1)。pHの経時変化は、外国産、国産廃糖蜜でほとんど違いがなかった(図2)。改変SD培地では、24時間後に糖蜜培地の半分程の菌量までしか酵母が増殖せず(図1)、その後、pH低下のため(図2)酵母の増殖はほとんど止まってしまうと考えられた。これは、pH低下が大きな要因であると考えられた(図2)。

10

【0184】

pH低下が増殖特性に大きな影響を与える条件下では、有効成分の同定が困難であるだけでなくpHの低下を緩衝する物質が有効成分と誤認される可能性があると考えられたので、pH低下を緩和するために、N源を尿素に変更して同様の試験を行うことにした。

【0185】

(N源に尿素を用いた場合の結果)

N源を尿素に変更したことを除いて、用いた培地の組成、方法はN源硫酸の系と同様に行った。尿素は100倍濃度ストックを作り、フィルター滅菌し、オートクレーブ後に無菌的に50 μ lずつ各培地に添加した。また、コントロールとして、フィリピン産廃糖蜜培地について、N源を硫酸としたサンプルも加えた。

20

【0186】

培養開始から24時間後の糖蜜培地と合成培地でのODの差が、N源硫酸の試験系の時(図1)と比較して大きくなり、且つ、48時間後には合成培地でのODが糖蜜培地でのODに追いつくという結果になった(図3)。しかし、48時間後のフィリピン産廃糖蜜(N源尿素)を用いた試験区は酵母の増殖がほとんど止まってしまう、また、国産の二つの廃糖蜜を用いた試験区でも72時間後には増殖がほとんど止まってしまった。pHの経時変化もODと同時に測定したところ、尿素の影響で、硫酸の試験区(図2)とは逆に、培養を続けるとpHが上がりすぎてしまい、酵母の増殖に悪影響を与えていると考えられた(図4)。

【0187】

以上のように、増殖特性に対するpH低下の影響が少ない条件下で実験を行った結果、改変SD培地のような合成培地と、糖蜜培地でのパン酵母の試験管内での増殖特性の差異は、培養開始の24時間後での顕著なOD₆₆₀の差異であることが明らかとなった。これに対して、培養開始の72時間後では、合成培地と、糖蜜培地との間の差異が少ないか、または全くなかった。このことから、合成培地と、糖蜜培地との差異は、増殖曲線の立ち上がりの遅れであることが明らかとなった。

30

【0188】

以上の結果から、培養開始の24時間後での増殖曲線の立ち上がりの遅れを回復させるか否かを指標として、合成培地に欠乏している有効成分の検索が可能であることが示された。

40

【0189】

また、これら廃糖蜜画分の効果は、改変SD培地を使用した場合のみならず、SD培地を使用した場合にも同様に確認された。従って、SD培地と比較して、改変SD培地において多く含まれるピオチンおよび少なく含まれるKH₂PO₄は、パン酵母の製造に対して影響しないことも確認された。

【0190】

(実施例3：本発明の試験管アッセイ系を用いる、廃糖蜜からの有効成分の検索)

実施例2の結果により、培養開始の24時間後での増殖曲線の立ち上がりの遅れを回復させるか否かを指標として、合成培地に欠乏している有効成分の検索が可能であることが示されたので、その指標に基づいて、廃糖蜜から有効成分の検索を行った。

50

【0191】

(廃糖蜜の分画)

廃糖蜜中の有効成分を精製するために、図5に概要を示すように、以下の方法で、廃糖蜜を分画した。

【0192】

廃糖蜜を20%のBrix(水溶性固形分の指標)に希釈した廃糖蜜溶液を、F0画分とした。

【0193】

F0画分を、8000rpmで20分間、遠心分離をして調製し、水で平衡化した合成樹脂DIAION HP20(三菱化学株式会社、東京)にアプライした。サンプルのアプライは、700mlの試料を4Lのベッド体積のカラムにアプライして、ベッド体積の3倍量の水を流し、樹脂に吸着しない画分を回収し、700mlに減圧濃縮して、F1画分とした。次にベッド体積の3倍量の50%2-プロパノール、2%アンモニアで溶出し、凍結乾燥して、F2画分とした。F2画分として14.4g回収された(図5)。

10

【0194】

(得られた画分のパン酵母増殖に対する効果)

得られた精製画分F1およびF2を、合成培地に添加して、パン酵母の増殖、および培養培地のpH変化に対する影響を検討した。

【0195】

F1画分の場合は、糖量として、糖蜜と同一になるように培地に添加した。F2については、収量から換算して、同一の糖量になるように、添加した。その結果を、図6A(パン酵母増殖)および図6B(pH変化)に示す。図6Aの24時間後のOD₆₆₀から明らかのように、いずれの画分も、酵母増殖を改善した。

20

【0196】

(得られた画分についての成分分析)

得られた画分についての成分分析を、以下のとおりに行った。

【0197】

全窒素量を、セミマイクロ・ケルダール法にて測定した。具体的には、150mlケルダールフラスコに試料を一定量とり、硫酸10mlおよび分解促進剤(硫酸カリウム：硫酸銅=9：1)約3gを加え、分解器(SIBATAセミマイクロケルダール窒素分解器SE-6型)で約4時間分解し、放冷後水を20ml加え冷やし、塩入・奥田式蒸留器に150mlケルダールフラスコと2%ホウ酸捕集液を取り付けて蒸留した。捕集液をN/50硫酸で滴定し試料の全窒素量を算出した。

30

【0198】

糖濃度を、イオンクロマトグラフィーにて測定した。具体的には、イオンクロマトグラフィー(日本ダイオネクス株式会社、大阪)にて測定した。分離カラムには、DIONEX CarboPac PA1(4×250mm)、ガードカラムDIONEX CarboPac PA1 Guardを使用した。溶離液には200mM NaOHを使用し、アイソクラテック法により流速1.0mL/分とし、パルスドアンペロメトリー検出器にて測定した。

40

【0199】

灰分を、常法に従って硫酸灰分法にて測定した。

【0200】

アミノ酸を、島津アミノ酸分析システムにて測定した。試料の前処理は、以下のとおりに行った。糖蜜溶液3部を、7部の99.5%エタノールと混合し、3,000rpmで20分間遠心分離した。遠心分離した上清5mlを減圧乾固し、残渣を希釈液にて定容した後、ろ過した試料を、アミノ酸分析に供した。

【0201】

得られた画分についての成分分析を行った結果を、以下の表3に示す。

【0202】

50

(表3 糖蜜および廃糖蜜由来画分の成分分析)

【0203】

【表3】

表3 糖蜜および廃糖蜜由来画分の成分分析

	希 釈 廃糖蜜	F-1画分	F-2画分
Brix	20	17.9	—
全窒素 (mg/g)	2.08	1.50	58.5
糖濃度 (%)			
スクロース	9.24	8.14	検出されず
グルコース	0.76	0.75	検出されず
フラクトース	1.62	2.19	検出されず
総量	11.6	11.1	検出されず

10

20

【0204】

また、各画分のアミノ酸分析を行った結果を表4に示す。

【0205】

【表4】

	フィリピン 産糖蜜 ($\mu\text{g/ml}$)	球陽 糖蜜 ($\mu\text{g/ml}$)	翔南 糖蜜 ($\mu\text{g/ml}$)	F-0 ($\mu\text{g/ml}$)	F-1 ($\mu\text{g/ml}$)	F-2 ($\mu\text{g/mg}$)
Asp	331	1092	800	118	83.5	10.2
Thr	7.9	91.4	40.6	10.7	4.4	0.3
Ser	22.5	376	138	34.1	15.1	1.1
Glu	253	1466	866	187	98.3	3.1
Pro	40.3	153	187	42.7	28.5	0.9
Gly	0.8	31.5	10.2	2.6	0.6	0.4
Ala	101	375	309	71.7	38.3	2.8
Val	72.0	191	154	44.6	19.4	1.3
Met	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	2.0
Cys	2.3	19.8	16.4	4.4	6.3	N. D.
Ile	47.4	117	92.0	25.9	9.2	3.0
Leu	13.8	59.0	62.0	17.9	7.9	0.7
Tyr	17.9	61.5	46.5	13.4	4.2	0.6
Phe	9.5	42.8	38.6	11.3	0.2	7.9
His	0.4	18.9	3.9	1.0	0.2	0.1
Lys	17.1	71.6	27.6	9.1	5.3	N. D.
Arg	N. D.	20.9	8.1	1.8	N. D.	N. D.
GABA*	6.7	113	56.5	15.3	7.5	1.8
Total	937	4187	2799	597	321	34.6

*GABA= γ -アミノ酪酸

【0206】

(パン酵母の発酵能に対する、廃糖蜜の各分画の効果)

パン酵母の発酵能に対する、廃糖蜜の各分画について検討した。

【0207】

廃糖蜜の各分画を改変SD培地に添加して、流加培養を行い、酵母の発酵能を決定した。各分画を、同量の糖濃度となるように添加した。例えば、F1画分の場合は、糖量として、糖蜜と同一になるように添加した。F2については、収量から換算して、同一の糖量になるように、添加した。

【0208】

酵母の発酵能決定のために、実施例1に記載の方法によって以下を測定した：培養後pH、培養前pH、対糖収率、Fm(マルトース発酵力)、F10(低糖条件における発酵能)、F40(高糖状態における発酵能)、および高糖生地発酵力。

【0209】

その結果を、以下の表5に示す。

10

20

30

40

50

【0210】

(表5 廃糖蜜由来画分の改変SD培地への添加試験)

【0211】

【表5】

表5 廃糖蜜由来画分の改変SD培地への添加試験

培地	廃糖蜜	改変SD培地	F-1	F-2	F-2 (1/5)
培養後pH	5.21	3.42	4.79	3.51	3.53
対糖収率	117	109	108	107	98
Fm(7)	62	82	105	20	43
F(10)	192	185	193	194	194
F(40)	134	122	131	125	132
高糖生地発酵力	112	54	88	75	61

10

20

【0212】

上記の結果から、十分な発酵能を有するパン酵母の製造に不適格であった改変SD培地に、F1画分を添加することによって、糖蜜培地で製造したパン酵母と同程度の発酵能を有するパン酵母を製造することに成功した。

【0213】

F2画分を添加した場合には高糖生地発酵力の著しい改善が観察された。従って、合成培地にF2精製画分を添加した半合成培地を使用することによって、菓子パン生地製造のためのパン酵母の製造が可能である。

【0214】

この結果は、廃糖蜜を精製することによって、パン生地の種類に応じた有効成分を含む精製画分が得られたことを示す。従って、本発明によって、パン生地の種類に応じて廃糖蜜画分を選択することによって、より効率的に廃糖蜜を利用することが可能となった。

30

【0215】

上記の結果は、F1画分およびF2画分は、改変SD培地に欠乏する、パン酵母の発酵能にとって重要な有効成分を含んでいることを示す。本実施例の結果はまた、培養開始の24時間後での増殖曲線の立ち上がりの遅れを回復させるか否かを指標として、合成培地に欠乏している有効成分であって、十分な発酵能を有するパン酵母製造のために重要な有効成分の検索ができることを、示す。

【0216】

上記の結果から、F1画分またはF2画分を利用することによって、パン酵母製造のための半合成培地を作製すること、および廃糖蜜をより効率的に利用することが可能となった。

40

【0217】

(実施例4：パン酵母製造のための改善された合成培地の作製)

本実施例において、廃糖蜜に全く依存しない、パン酵母製造のための合成培地を、作製した。

【0218】

実施例3において、十分な発酵能を有するパン酵母製造のための有効成分を含む画分として、F1画分およびF2画分を同定した。これら画分の中でも特にF1画分は、アミノ酸、特にグルタミン酸およびアスパラギン酸を多く含んでいる。

50

【0219】

そこで、これらアミノ酸を改変SD培地に添加することによって、パン酵母製造のための改善された合成培地を調製できるか否か検討した。

【0220】

(アミノ酸添加に対する、試験管アッセイ系での評価)

改変SD培地に対して、最終濃度0.5% (重量/重量) で各種アミノ酸 (グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、プロリン) または、それらアミノ酸の混合物、またはカザミノ酸 (乳タンパク質であるカゼインを酸加水分解したもの、各種アミノ酸の混合物である) を添加して、実施例1の試験管アッセイ系を利用して、パン酵母の生育を調べた。パン酵母の増殖特性の結果を図7に、パン酵母培養時のpH変化を図8に示す。

10

【0221】

図7の結果から明らかなように、培養開始後24時間での増殖を指標とした場合、カザミノ酸、アミノ酸混合物、グルタミン酸、アスパラギン酸を添加した改変SD培地は、蔗糖蜜とほぼ同等の増殖特性を示した。これらの結果から、改変SD培地のような合成培地においては、蔗糖蜜中には豊富に存在する特定のアミノ酸 (例えば、グルタミン酸、およびアスパラギン酸) が欠乏し、そのために、従来の合成培地では、パン酵母製造のために十分ではなかったことが示された。

【0222】

グルタミン酸、およびアスパラギン酸による格別な効果は、これらアミノ酸を単独で使用した場合でも、合わせて使用した場合でも、最終濃度として、培地中の糖1gあたり33mgを添加した場合に確認された。また、最終濃度を培地中の糖1gあたり880 μ gとした場合においても、その効果が確認された。

20

【0223】

カザミノ酸、アミノ酸混合物、グルタミン酸、およびアスパラギン酸と同様の効果は、塩基性アミノ酸である、ヒスチジン、アルギニン、およびリジンの各々においても確認された。塩基性アミノ酸の場合には、最終濃度として、各アミノ酸個別にまたは複数の塩基性アミノ酸の合計量として、培地中の糖1gあたり33mgを添加した場合に確認された。また、最終濃度を培地中の糖1gあたり880 μ gとした場合においても、その有効成分としての効果が確認された。

【0224】

(アミノ酸添加に対する、流加培養での評価)

アミノ酸などを添加した合成培地によって、十分な発酵能を有するパン酵母の製造が可能か否かを確認するために、実施例1に記載の方法に従って、流加培養を行い、そして、以下の項目の測定をした: 培養後pH、対糖収率、マルトース発酵力 (Fm)、低糖条件における発酵能 (F10)、高糖状態における発酵能 (F40)、および高糖生地発酵力。

30

【0225】

グルタミン酸およびアスパラギン酸に関して、最終濃度として培地中の糖1gあたり33mgを添加した場合、十分な発酵能を有するパン酵母が製造された。また、最終濃度を培地中の糖1gあたり880 μ gとした場合においても、十分な発酵能を有するパン酵母が製造された。

40

【0226】

また、塩基性アミノ酸の場合にも同一の濃度を改変SD培地に添加した場合に、十分な発酵能を有するパン酵母の製造が確認された。

【0227】

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

【0228】

50

【発明の効果】

本発明によって提供された改善された合成培地、および改善された半合成培地を使用することによって、従来のパン酵母製造において生じていた、廃糖蜜の使用により生じる問題を解決することができた。

【図面の簡単な説明】

【図 1】図 1 は、窒素源（N 源）として、硫安を使用した場合の、外国産（フィリピン産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、国内産（球陽産および翔南産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、および改変 S D 培地でのパン酵母増殖特性を示すグラフである。

【図 2】図 2 は、窒素源（N 源）として、硫安を使用した場合の、外国産（フィリピン産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、国内産（球陽産および翔南産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、および改変 S D 培地でのパン酵母培養時の、培地 pH の変化を示すグラフである。

【図 3】図 3 は、窒素源（N 源）として、尿素を使用した場合の、外国産（フィリピン産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、国内産（球陽産および翔南産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、および改変 S D 培地でのパン酵母増殖特性を示すグラフである。なお、比較のために、外国産（フィリピン産）廃糖蜜と硫安を使用した糖蜜培地での結果も、示している。

【図 4】図 4 は、窒素源（N 源）として、尿素を使用した場合の、外国産（フィリピン産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、国内産（球陽産および翔南産）廃糖蜜を使用した糖蜜培地、および改変 S D 培地でのパン酵母培養時の、培地 pH の変化を示すグラフである。なお、比較のために、外国産（フィリピン産）廃糖蜜と硫安を使用した糖蜜培地での結果も、示している。

【図 5】図 5 は、国内産（翔南産）廃糖蜜の分画の概要を示した図である。

【図 6 A】図 6 A は、試験管アッセイ系を用いた、パン酵母の増殖に対する、廃糖蜜画分の効果を示すグラフである。

【図 6 B】図 6 B は、試験管アッセイ系における、パン酵母の増殖の間の培地 pH 変化を示すグラフである。

【図 7】図 7 は、試験管アッセイ系を用いた、パン酵母の増殖に対する、補添アミノ酸の効果を示すグラフである。

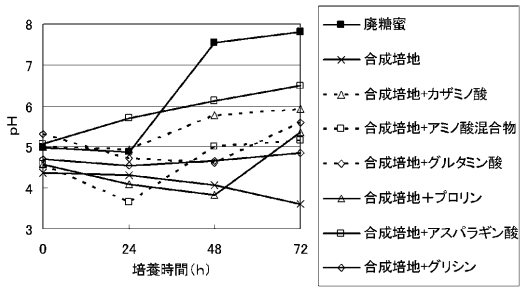
【図 8】図 8 は、試験管アッセイ系における、パン酵母増殖のための培地 pH に対する、補添アミノ酸の効果を示すグラフである。

10

20

【 図 8 】

合成培地(改変SD培地)に、各種アミノ酸(グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、プロリン)、それらアミノ酸の混合物、またはカザミノ酸を添加した場合のpHの変化



フロントページの続き

- (72)発明者 中島 亮一
東京都板橋区小豆沢 3 - 6 - 1 0
- (72)発明者 渡嘉敷 唯章
沖縄県具志川市州崎 5 - 1
- (72)発明者 仲里 梨沙
沖縄県具志川市州崎 5 - 1
- (72)発明者 池端 真美
沖縄県具志川市州崎 5 - 1
- (72)発明者 玉城 康智
沖縄県具志川市州崎 5 - 1
- (72)発明者 田村 博三
沖縄県具志川市州崎 5 - 1
- Fターム(参考) 4B032 DB01 DK54
4B065 AA79X AC20 BB12 BB13 BB22 BC01 CA42