

微生物を自然付着させたバイオリアクターの応用

河村 眞也*¹

早川 潔*²

上野 義栄*³

村上 誠*⁴

飯尾 毅*⁵

黒田 裕三*⁶

【要 旨】

糖蜜・グルコースを原料とし酵母を不織布担体に固定化させたバイオリアクターでアルコール発酵を行い、そのアルコールを原料とし酢酸菌をパーライト・不織布に固定化させたバイオリアクターによって酢酸発酵を行って、2週間以内で糖から酢酸に変換することができた。その酢を用いて、ソースを試作した。ソース用の酢をバイオリアクターで造ることが可能であると思われた。蜂蜜を原料の一部として、蜂蜜の風味をもつ酢を醸造することができた。また、容積20L規模の回転円板型の好気性微生物用バイオリアクターを試作した。

1 緒言

微生物は常温常圧で複雑な化学反応を効率よく行うので、その活用が望まれている。バイオリアクターは、酵素・微生物等の生体触媒を用いて、物質生産、機能の変換等を効率的に行うための反応システムであり、現在、アミノ酸、異性化糖、オリゴ糖等での実用化例が知られている。通常、バイオリアクター内では微生物や酵素の流出を防ぎ、再利用するために、それらの固定化が行われる。酵素や微生物を固定化する場合、一般的には、高分

子凝集剤等を使ってビーズ状に固定化が行われている。ただし、この方法はコストや手間がかかり、また、高分子凝集剤による毒性や反応性の低下などの問題の生じる場合がある。当センターでは、これらの固定化剤を使わない方法について検討し、微生物を不織布等に自然付着させる固定化法を開発した。^{1) 2)} 本法は不織布担体あるいはそれにパーライトを併用した担体に微生物を固定化するものである。

今回、本法を用いて微生物を固定化したバイオリアクターによる酢の醸造を行うとともに、回転円板型好気性微生物用バイオリアクターを試作した。

2 実験方法

2.1 保持担体

微生物の保持担体としてはポリプロピレン不織

* 1 応用技術課 主任研究員

* 2 同課 課長

* 3 同課 技師

* 4 京都水研株式会社

* 5 株式会社飯尾醸造

* 6 大洋産業株式会社

布（山中産業株式会社から提供）を単独で使用するか、多孔性物質のパーライト（三井金属鉱業製加工4号）と併用した。

2.2 使用菌株及び培養

酢酸醸造のアルコール発酵用酵母としては、*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602を用いた。酢酸発酵菌については、酢醸造メーカー（株式会社飯尾醸造）から入手した酢酸発酵もろみをそのまま種菌として使用した。

2.3 実験装置と方法

図1の装置によりアルコール発酵を行った。原料液としてグルコース、糖蜜を用いた。

図2の装置により酢酸発酵を行った。回転体の内部には50mm厚のドーナツ板状不織布を圧縮固定し、パーライトを添加し、1回転する毎に不織布全面が必ず1回液中に没するようにした。アルコール発酵でできた液に水を加え、回転数0.4rpm、35℃で培養した。

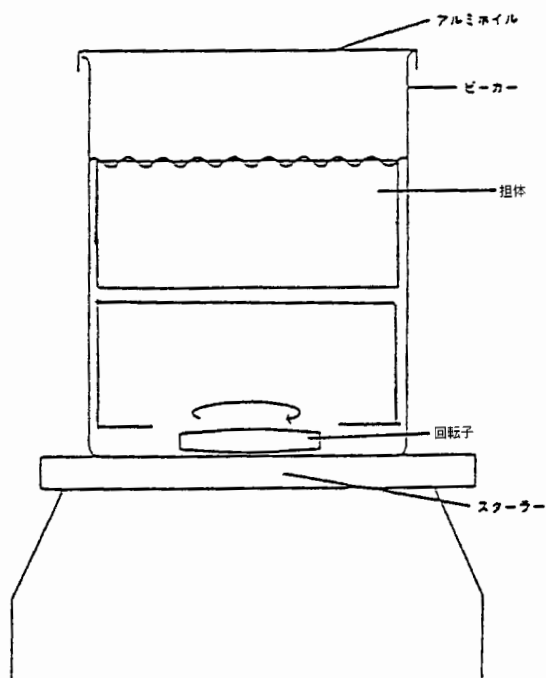


図1 アルコール発酵用実験装置

2.4 測定分析

グルコースはベーリンガー・マンハイム(株)のFキットを用いて分析した。

フラクトース、スクロースは(株)島津製作所製高速液体クロマトグラフ LC - 10AT でカラム MCI-GEL CK04S を用いて分析した。

酢酸、エチルアルコールはベーリンガー・マンハイム(株)のFキットを用いるかまたは(株)島津製作所製ガスクロマトグラフ GC - 15A でガラスカラム (5% Thermon-3000 SHINCARBON A) を用いて分析した。

カルシウムは過マンガン酸カリウム容量法で測定した。

3 結果及び考察

3.1 糖蜜及び蜂蜜の成分分析

糖蜜中に含まれる糖の分析を行ったところ、グルコース7.9g/100g、フラクトース7.9g/100g、スクロース25.6g/100gであった。このように糖質41.4g/100gを含む糖蜜を原料の一部として、酵母によるアルコール発酵を行った。なお、カルシウムは951mg/100g含まれていた。

また、蜂蜜中に含まれる糖の分析を行ったところ、グルコース35.6g/100g、フラクトース40.7g/100g、スクロース0.5g/100gであった。このように糖質76.8g/100gを含む蜂蜜を原料の一部として、酵母によるアルコール発酵を行った。

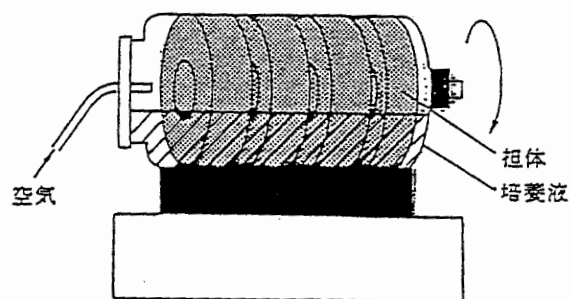


図2 酢醸造用バイオリアクター

3.2 アルコール発酵及び酢酸発酵

米酢は静置発酵といわれる方法で生産されており、この方法では、種酢に諸味を加温して注入し、静置して酢酸菌によるアルコールの酸化が行われる。この方法では、酢酸発酵に1～3ヶ月という長期間を要する。以前の試験において³⁾酢製造期間の短縮を図るためにパーライトと不織布に酢酸

菌を固定化した回転式バイオリアクターを用いて酢酸発酵を行い、アルコールから酢酸への変換を行うことができた。

本研究では、まず、ソース製造において糖蜜及び酢を共に使用するので、ソースの原料として糖蜜を含んだ酢を造ることを検討した。具体的には、原料としてグルコース及び糖蜜の割合を変えてバ

**表1 培養液中のグルコース、エタノール、酢酸の変化
(原料：糖蜜30% + グルコース3%、糖質合計15.4%)**

	アルコール発酵			酢酸発酵		
	0日目	2日目	6日目	0日目	3日目	8日目
グルコース (g/100ml)	5.5	0	0	-	-	-
エタノール (g/100ml)	0	6.2	6.7	5.8	0.5	0
酢酸 (g/100ml)	-	-	-	1.0	4.4	6.0

**表2 培養液中のグルコース、エタノール、酢酸の変化
(原料：糖蜜20% + グルコース5%、糖質合計13.3%)**

	アルコール発酵			酢酸発酵		
	0日目	2日目	8日目	0日目	2日目	8日目
グルコース (g/100ml)	6.9	0.7	0	-	-	-
エタノール (g/100ml)	0	5.9	6.7	5.5	0.6	0
酢酸 (g/100ml)	-	-	-	1.0	3.9	6.4

**表3 培養液中のグルコース、エタノール、酢酸の変化
(原料：糖蜜5% + グルコース10%、糖質合計12.1%)**

	アルコール発酵			酢酸発酵		
	0日目	2日目	7日目	0日目	2日目	7日目
グルコース (g/100ml)	10.3	1.2	0.4	-	-	-
エタノール (g/100ml)	0	3.8	4.7	4.0	1.3	1.0
酢酸 (g/100ml)	-	-	-	1.0	4.7	5.3

**表4 培養液中のグルコース、エタノール、酢酸の変化
(原料：糖蜜3% + グルコース10%、糖質合計11.2%)**

	アルコール発酵			酢酸発酵		
	0日目	6日目	0日目	2日目	7日目	
グルコース (g/100ml)	10.1	0	-	-	-	
エタノール (g/100ml)	0	4.7	3.8	1.5	1.2	
酢酸 (g/100ml)	-	-	1.0	4.3	4.8	

イオリアクターによる酢の醸造を検討した。その工程中のグルコース、エタノール、酢酸の変化を表1～4に示した。

糖蜜30% + グルコース3% または 糖蜜20% + グルコース5% を原料とすると、アルコール発酵によりエタノールが6.7%程度生成し、酢酸発酵により6%程度の酢酸ができた。また、糖蜜5% + グルコース10% または 糖蜜3% + グルコース10% を原料とするとエタノールが4.7%程度生成し、5%程度の酢酸ができた。これらの酢酸含量の違いは原料の糖（グルコースのみではなく、グルコース + フラクトース + スクロースの合計）の含量によって生成するエタノール量の違いによるものと思われる。つまり、糖質合計が多い原料の方がエタノール生成量も多く、酢酸生成量も多かった。なお、糖蜜20% + グルコース5% から醸造した酢にはカルシウムが129mg/100g含まれていた。これは糖蜜に含まれるカルシウムによるものである。一般の米酢にはカルシウムは2mg/100gしか含まれておらず、一般の米酢よりはカルシウムが多く含まれている酢となった。また、醸造期間についてはバイオリアクターを用いることによって、糖から酢酸への変換は2週間以内で行うことができ、酢酸醸造期間の短縮が可能となった。糖蜜30% + グルコース3% を原料とした酢は糖蜜のにおい及び甘みが残っていた。また、糖蜜20% + グルコース5% を原料とした酢も糖蜜のにおい及び甘みは少ないが残っていた。これらの酢を原料として大洋産業においてソースを試作したところ、糖蜜のにおいが少しするソースとなった。そこで、糖蜜5% または 3% 含む糖液を原料としてバイオリアクターによる酢の醸造を行ったところ、糖蜜のにおいが軽減された。ソースの原料にこの酢を使用することが可能であると思われる。ただし、ソース

の原料とする酢は酢酸濃度の高いことが望まれるので（酢の添加量が少なく済むので）、さらに濃度を高める必要がある。

次に、新規な酢の開発を狙って、蜂蜜を原料の一部とした酢の醸造を行った。具体的には、蜂蜜10% + グルコース3% を原料としてバイオリアクターによる酢の醸造を行った。グルコース、エタノール、酢酸の培養中の変化は図3、図4に示すように、アルコール発酵で5%程度のエタノールができ、酢酸発酵により5%程度の酢酸が2週間

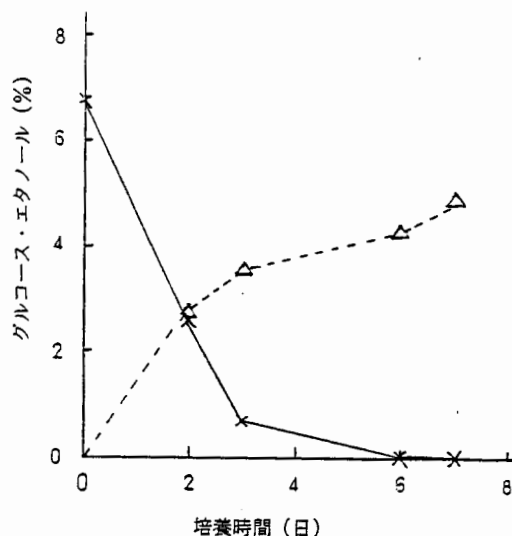


図3 培養液中のグルコース・エタノールの変化
× グルコース Δ エタノール

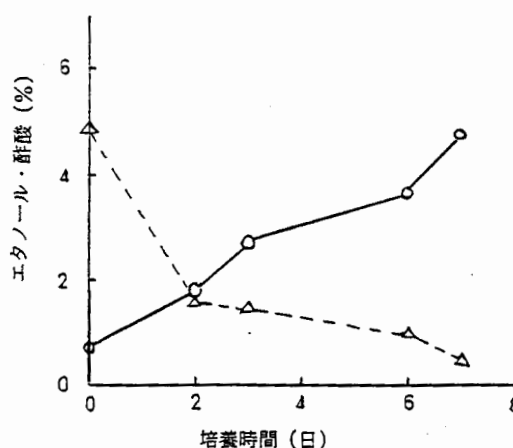


図4 培養液中のエタノール・酢酸の変化
○ エタノール Δ 酢酸

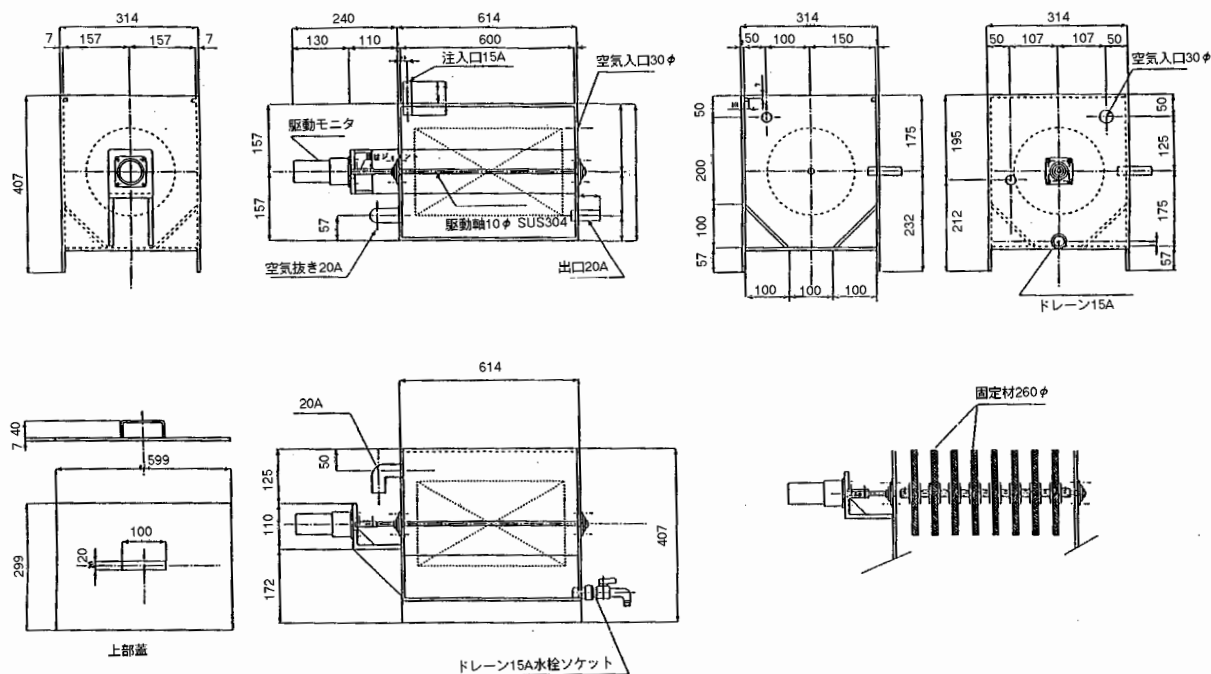


図5 回転円板型好気性微生物用バイオリアクター

以内ででき、少し蜂蜜の風味をもった酢ができた。

また、未利用資源を利用できるようにするために、ブルーの搾り粕やナツメヤシの実等を風味付けに使った酢の醸造を検討する予定である。

3.3 好気性微生物用バイオリアクターの試作

現在実験に使用している回転円板型バイオリアクター(図2)は、ドラムが回転して、それに伴って中にある円板(保持担体)も回転している。実装置化を考慮すると、この装置の場合保持担体を回転させるということは液の入ったドラムを回転させることになり、大きい負荷がモーターにかかる。また、担体がドラムに密着しているので、担体の交換に手間がかかる。そこで、円板を直接モーターの回転軸につけて円板を回転させる方がモーターの負荷も小さくなり、取り扱いも容易になる。このような考えのもとに図5のとおり回転円板型のバイオリアクターを作成した。

本装置は培養液容量 20 L、円板回転数 0.4 ~

5rpm(可変調節できる)回転円板の上半面は空気と接触しているので、好気性微生物を用いるバイオリアクターとして使用できる。

4 結言

微生物をパーライト、不織布に固定化したバイオリアクターを用いて酢の醸造を行い次のような結果を得た。

- (1) 糖蜜・グルコースを原料として、バイオリアクターによって酢を醸造した。2週間以内で糖から酢酸への変換を行うことができた。その酢を用いてソースを試作した。ソース用の酢をバイオリアクターで造ることが可能であると思われた。
- (2) 蜂蜜を原料の一部とした酢を醸造し、酢酸5%程度の酢ができた。
- (3) 容積20L規模の回転円板型の好気性微生物用バイオリアクターを試作した。

(参考文献)

- 1) 中西貞博、早川 潔、上野義栄：特許第

1985393号 (1995)

2) 早川 潔 : 食品工業、39, 40 (1996)

3) 河村眞也、早川 潔、上野義栄、東 和徳、
村上 誠、浦辺裕光、飯尾 毅 : 京都府中小
企業総合センタ - 技報、25, 31 (1996)