

微生物を自然付着させたバイオリアクターに関する研究

河村 眞也*
上野 義栄**
宮島 直人**
早川 潔***

【要 旨】

グルコース等を原料とし、 α -グルコシダーゼ生産麹菌を不織布担体に固定化させたバイオリアクターによって、 α -グルコシダーゼ溶液を生産することができた。また、液化仕込の酒製造工程で副産物としてでる高タンパク質酒粕を用いて、農業用の酢（アミノ酸含量の多い酢）を、パーライト・不織布に酢酸菌を固定化させたバイオリアクターによって造り出せる可能性があると思われた。

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。京都府中小企業総合センターでは、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酵素の生産及び酢の醸造を行った。

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布（山中産業株式会社）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

α -グルコシダーゼの生産には、 α -グルコシダーゼ生産麹菌（大関株式会社から入手）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も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 α -グルコシダーゼの生産を行った。原料液として、グルコース、ポリペプト

* 応用技術課主任研究員

** 応用技術課技師

*** 応用技術課長

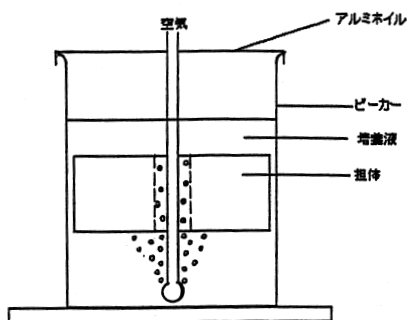


図1 酵素生産用バイオリアクター

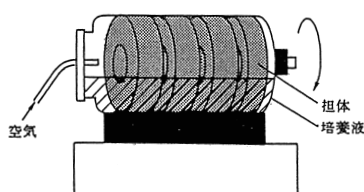


図2 酢醸造用バイオリアクター

ン等を用いた。

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。

2.4 測定分析

-グルコシダーゼ活性は、キッコーマン株式会社製の糖化力分別定量キットの -グルコシダーゼ測定用試薬を用いて測定した。

酢酸、エチルアルコールは(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% Theermon-3000 SHINCARBON A)を用いて分析した。

アミノ酸分析は(株)島津製作所製液体クロマトグラフLC-9Aで強酸性陽イオン交換樹脂カラム Shim-pack ISC-07型を用いて分析した。

3. 結果及び考察

3.1 酵素の生産

-グルコシダーゼはマルトースやオリゴ糖の -1,4-グルコシド結合を切ってグルコースを生成する酵素である。生じたグルコースの転移作用により、イソマルトース、イソマルトトリオースなどのオリゴ糖を生成する。これらのオリゴ糖は清酒の旨味に關与する成分の一つである。主に、清酒、糖含有水飴、ブドウ糖製造などに用いられている。

この -グルコシダーゼを、不織布に -グルコシダーゼ生産菌を固定化したバイオリアクターを用いて生成を行った。

まず、通常の液体培養と不織布を用いたバイオリアクターによる培養との比較を行った。

図3に示すようにバイオリアクターを用いる方が高い活性の酵素液を生成することができた。これは、不織布によって菌が高密度に固定化されたためと思われる。次に、不織布を用いたバイオリ

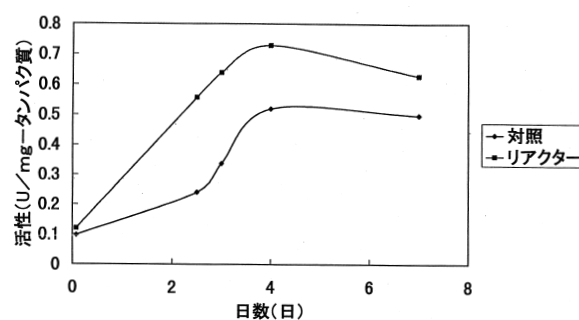


図3 -グルコシダーゼ活性の変化

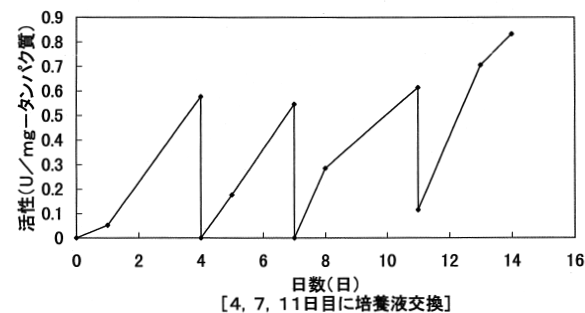


図4 -グルコシダーゼ活性(繰り返し培養)

リアクターによって、3～4日間ごとに培養液を交換し、連続的に培養した。その結果は図4に示すように3～4日間で活性が上昇し、くり返し - グルコシダーゼを生成できた。

酸に分解されて、アミノ酸の多い酢ができないか検討した。具体的には、図2のバイオリアクターに酢酸菌を固定化し、酢培養液（種酢、もろみ、水）400mlに高タンパク質酒粕6gを添加し酢の

3.2 農業用酢の醸造

次に、農業用酢の醸造について検討した。アミノ酸含量の多い酢は農業用に使用されている。一方、液化仕込酒粕はタンパク質を多く含み（タンパク質36.2%、脂質7.5%、繊維1.7%、水分40.2%）そのほとんどは廃棄物として処理され、一部飼料として利用されているに過ぎない。このタンパク質を多く含む液化仕込酒粕を酢製造工程中に添加することによって、タンパク質がアミノ

表1 培養液中の全アミノ酸、エタノール、酢酸の変化

| | (g/100ml) | | |
|-----|-----------|-------|------|
| | 全アミノ酸 | エタノール | 酢酸 |
| 0日目 | 0.656 | 2.12 | 2.23 |
| 1日目 | 0.751 | 1.50 | 2.89 |
| 4日目 | 0.814 | 0.40 | 3.96 |
| 7日目 | 0.906 | 0.03 | 4.49 |

表2 アミノ酸含量の変化

| | (mg/100ml) | | | |
|-----------|------------|-----|-----|-----|
| | 0日目 | 1日目 | 4日目 | 7日目 |
| アスパラギン酸 | 62 | 68 | 75 | 86 |
| スレオニン | 42 | 45 | 50 | 60 |
| セリン | 42 | 47 | 51 | 57 |
| グルタミン酸 | 80 | 89 | 101 | 117 |
| プロリン | 41 | 44 | 45 | 50 |
| グリシン | 36 | 39 | 39 | 33 |
| アラニン | 90 | 102 | 114 | 120 |
| バリン | 36 | 60 | 66 | 78 |
| メチオニン | 5 | 5 | 6 | 6 |
| イソロイシン | 41 | 44 | 50 | 57 |
| ロイシン | 65 | 75 | 81 | 89 |
| チロシン | 29 | 38 | 39 | 42 |
| フェニールアラニン | 20 | 21 | 17 | 23 |
| ヒスチジン | 30 | 33 | 36 | 50 |
| リジン | 23 | 26 | 29 | 38 |
| アルギニン | 14 | 15 | 15 | |
| 計 | 656 | 751 | 814 | 906 |

醸造を行った。表1に全遊離アミノ酸、エタノール、酢酸の変化を示した。全アミノ酸は7日間で徐々に増加している。また、表2に個々のアミノ酸含量を示した。アラニン、グルタミン酸が多く、個々のアミノ酸も徐々に増加しており、アミノ酸含量の多い酢を造ることが可能であると思われた。

4. まとめ

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酵素の生産並びに酢の醸造を行い次のような結果を得た。

- (1) グルコース等を原料とし、 α -グルコシダーゼ生産麹菌を不織布担体に固定化させたバイオリアクターによって、 α -グルコシダーゼを生成することができた。
- (2) 液化仕込の酒製造工程で副産物としてでる高タンパク質酒粕を用いて、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、農業用の酢（アミノ酸含量の多い酢）を造りだせる可能性が認められた。

<謝 辞>

本研究において、 α -グルコシダーゼ生産麹菌を提供いただきました大関株式会社 総合研究所 尾関 健二 氏に深謝いたします。

(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)