

バイオリアクターによるパイナップル酢の連続醸造

食品室 赤嶺欣哉
田村博三
照屋比呂子

1. 緒言

熱帯果実酢のパッチ法による醸造技術に関する研究^{1),2)}を、筆者らは、これまで行ってきた。パイナップル酢の酢酸発酵において、栄養源、発酵促進剤として泡盛糟汁の添加は有効であった。

酢酸発酵は好気発酵である。これまでの食酢の製造では、主に静置発酵で製造が行われ、発酵層上面での空気（酸素）との接触のみで、発酵に長期間要していた。バイオリアクター等を用い強制的に空気を送り込み溶存酸素量を増やすと、効率的に食酢の連続発酵ができることが期待される。

バイオリアクターの固定化担体としてはセラミックモノリス³⁾、アルギン酸カルシウムゲル⁴⁾、 κ -カラギーナン⁵⁾、木綿製織布⁶⁾等を用いての食酢の連続発酵が報告されているが、アルギン酸カルシウムゲル、 κ -カラギーナンゲル等の有機ゲルを固定化担体として用いたバイオリアクターを長期間運転するとゲル強度がおちてゲルの崩壊等がみられ、長期間運転するには問題点がある。

今回、ハニカム状セラミックモノリスを固定化担体としたバイオリアクターにより、合成培地を用いて酢酸発酵の連続運転条件の検討を行い、次いでパイナップルアルコール発酵液を用いて果実酢の連続醸造を行ったのでその結果について報告する。一方、固定化担体としてのセラミックモノリスは多孔質なので菌体を細孔に吸着させて固定化することができ、酸に対しても強く、また焼けば再生して使用できる利点がある。

2. 実験方法

2. 1 使用菌株

酢酸菌は微工研酢酸2号菌を使用した。

2. 2 培地

(1) 合成培地

前培養培地、増殖用培地および連続生産用培地の組成を表1に示した。培地は120℃、15分間高圧滅菌し実験に供した。

表1 培地組成(1ℓ当り)

培地名	培地組成			
前培養培地	グルコース	10g	ポリペプトン	10g
	酵母エキス	10g	エタノール	20ml
	酢酸	5g		
増殖用培地	前培養培地のエタノールを40mlとしたもの			
連続生産用培地	グルコース	2g	ポリペプトン	2g
	酵母エキス	2g	エタノール	40ml
	酢酸	10g		

(2) パイナップルアルコール発酵液

Bx12°のパイナップル果汁に補糖を行い、70℃で滅菌し、ワイン酵母（沖工試5005株）を接種し、25℃で5日間静置発酵を行った。アルコール発酵終了後、遠心分離により固液分離を行い、得られたパイナップルアルコール発酵液（エタノール60.0g/ℓ、直接還元糖1.2g/ℓ）を連続培養の原料として用いた。

2. 3 バイオリアクターの構成

図1にバイオリアクターの構成を示した。東京理化製の内容積500mlの縦長バイオリアクターに直径51mm、長さ152mmのハニカム状セラミックモノリスを内接するように充填し、下方より発酵原液と、直径50mm、厚さ4mmのガラスフィルターを通した無菌空気を供給した。セラミックモノリスは日本ガイシ（株）製を使用し、その材質形状は表2に示した。

バイオリアクターの恒温ジャケットに34℃の恒温水を循環させ恒温にした。

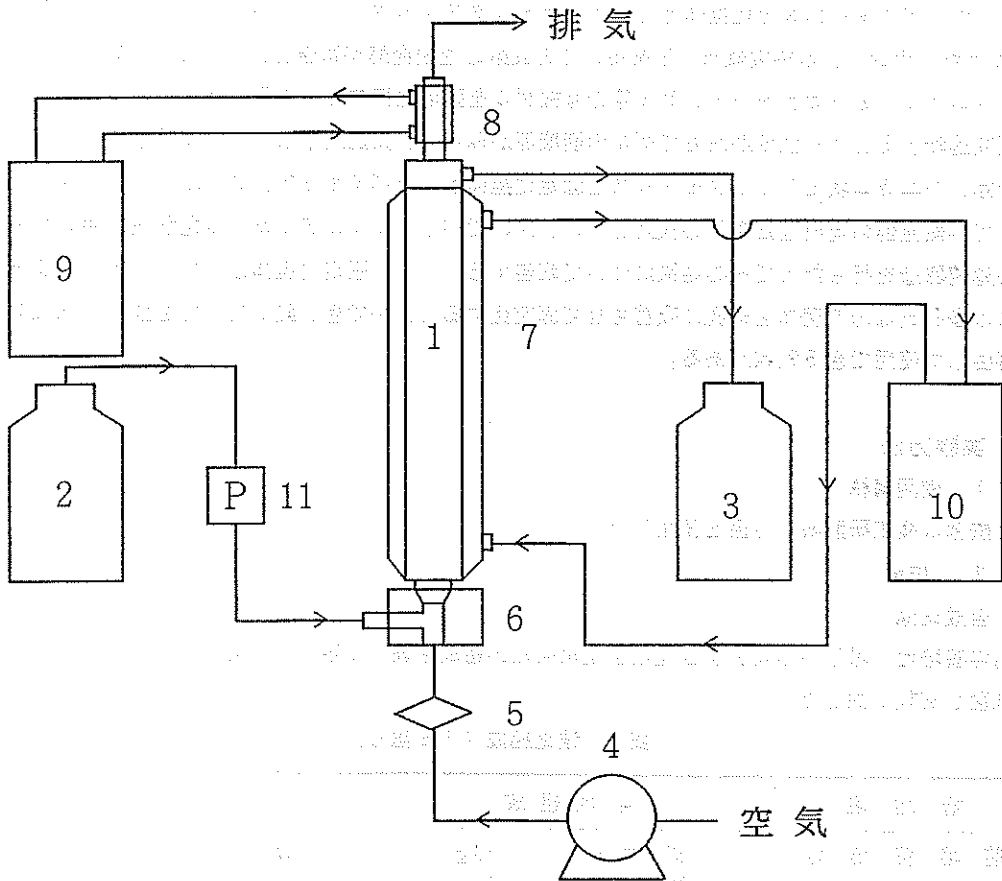


図1 ハニカム状セラミックモノリス担体を用いた食酢生産用リアクターの概略図

- | | | |
|-------------------|----------------|-------------|
| 1. ハニカム状セラミックモノリス | 2. 原料タンク | 3. 生成物タンク |
| 4. 空気ポンプ | 5. エアーフィルター | 6. ガラスフィルター |
| 7. 恒温ジャケット | 8. 冷却管 | 9. 冷水循環装置 |
| 10. 循環恒温槽 | 11. ペリスタリックポンプ | |

表2 ハニカム状セラミックモノリスの特性

セル構造	25ミル/100セル		
材質	コーゼライト		
構造特性	セル形状	四角形	
	壁厚さ (mm)	0.63	
	セルピッチ (mm)	2.53	
物理特性	気孔率 (%)	48	
	平均細孔径 (μm)	22.9	
	全細孔容積 (cm^3)	0.36	

2. 4 酢酸菌の培養と固定化

一白金耳の菌体を 500ml 容三角フラスコ中の 200ml 前培養培地に接種し、34°C、170rpm の条件で 7 日間振とう培養した。その培養液 200ml をハニカム状セラミックモノリスを充填したバイオリアクターに注入し、通気量 300ml/min で 17 時間 34°C で回分培養し、9 日間増殖用培地を低速で供給し、酢酸菌の担体への吸着固定化をはかった。

2. 5 分析法

連続生産用培地および流出液の酢酸濃度は、自動滴定装置（東亜電波製）を用い、0.1N 水酸化ナトリウム溶液で中和滴定し、酢酸濃度に換算し求めた。また、生成酸度は流出液の酢酸濃度と生産用培地の酢酸濃度との差から求めた。

パイナップル果汁の酢酸発酵液のアルコール濃度及び酢酸濃度はガスクロマトグラフを用いて分析した。

3. 実験結果

3. 1 生成酸度の通気量による影響

ハニカム状のセラミックモノリスを充填した 500ml 容の円筒型バイオリアクターに対し、34°C の恒温水をジャケットに流し、培地供給速度 57ml/h、通気量を 100~500ml/min と変化させた場合の、流出液中の生成酸度と酢酸生成速度に与える影響を表 3 に示した。

表3 生成酸度の通気量による影響

通気量 (ml/min)	内容量 (ml)	滞留時間 (h)	生成酸度 (g/l)	酢酸生成速度 (g/l/h)
100	345	6.1	6.1	1.01
300	329	5.8	11.5	1.99
500	326	5.7	15.2	2.66

通気量を100~500ml/minに変化させると、バイオリアクターの上部に泡がたち、バイオリアクターの内容積が345~326mlと変化し、滞留時間も減少するが、通気量の増加にともない生成酸度は6.1g/lから15.2g/lに増加し、酢酸生成速度は1.01g/l/hから2.66g/l/hに増加した。また、通気量の増加にともない、泡立ちが大きくなり、冷却管まで泡が上がるためバイオリアクターはしばしば運転を停止した。

3. 2 生成酸度の滞留時間による影響

ハニカム状のセラミックモノリスを充填した500ml容の円筒型バイオリアクターを用い、34℃の恒温水をジャケットに流し、通気量を500ml/minとし、生産用培地の培地供給速度を17~110ml/hと変化させた場合の、流出液中の生成酸度と酢酸生成速度に与える影響を図2および表4に示した。

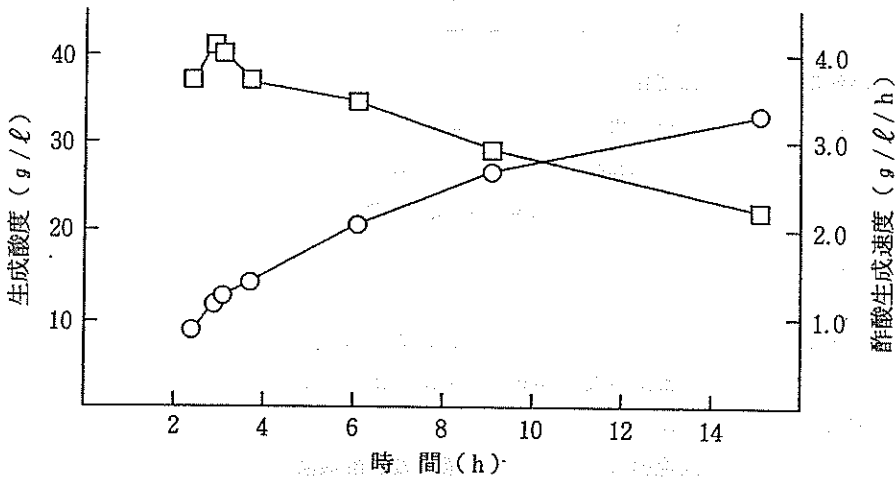


図2 生成酸度の滞留時間による影響

○—○ 生成酸度 □—□ 酢酸生成速度

表4 生成酸度の滞留時間による影響

滞留時間 (h)	培地供給速度 (ml/h)	内容量 (ml)	生成酸度 (g/l)	酢酸生成速度 (g/l/h)
2.4	110	260	8.7	3.68
2.8	92	"	11.6	4.12
3.1	83	"	12.5	3.99
3.7	70	"	13.8	3.70
6.1	43	"	21.1	3.45
9.1	29	"	26.4	2.90
15.1	17	"	33.0	2.18

滞留時間の増加にしたがい、生成酸度は徐々に上昇し滞留時間9.1時間で生成酸度 $26.4 \text{ g} / \ell$ になり、滞留時間15.1時間で生成酸度 $33.0 \text{ g} / \ell$ となった。酢酸生成速度は滞留時間2.8時間で $4.12 \text{ g} / \ell / \text{h}$ の最大値を示し、滞留時間が長くなるにつれ直線的に減少していった。

3. 3 バイオリアクターによるパイナップル酢の連続発酵

アルコール濃度 $60.0 \text{ g} / \ell$ 、直接還元糖 $0.12 \text{ g} / \ell$ のパイナップル果汁のアルコール発酵液をセラミックモノリスを担体とするバイオリアクターによるパイナップル酢の連続発酵の原料に用いた。恒温ジャケット 34°C 、通気量 $500 \text{ ml} / \text{min}$ 、滞留時間20時間の発酵条件で連続発酵させ、その結果を図3に示した。

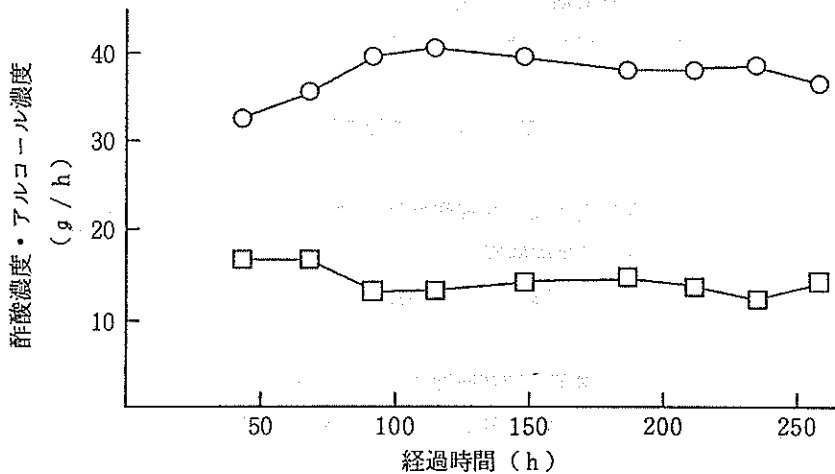


図3 バイオリアクターによるパイナップル酢の連続醸造

○—○ 酢酸濃度 □—□ アルコール濃度

12日間運転して平均して $38 \text{ g} / \ell$ 前後の酢酸が得られ、 $1.88 \text{ g} / \ell / \text{h}$ の酢酸生成速度で酢酸が生成した。また、平均して $14 \text{ g} / \ell$ のアルコールが残った。合成培地に比較して、酢酸発酵は低調であった。

4. 考 察

酢酸発酵で固定化菌体を用いて連続発酵させる利点は、酢酸生成速度を向上させ発酵期間を短縮させることや、高い酢酸生産力を長期間維持できることである。

酢酸発酵は、好気発酵なので溶存酸素量に影響されるので、通気量による生成酸度の影響を検討した。通気量を $100 \sim 500 \text{ ml} / \text{min}$ と変化させたところ、生成酸度は $6.1 \text{ g} / \ell \sim 15.2 \text{ g} / \ell$ に増加した。今回の装置ではできなかったが、もっと通気量を増やすことにより溶存酸素量を上昇させ生成酸度を向上させる連続酢酸発酵の条件を求めることが期待できる。

滞留時間の生成酸度への影響を検討したところ、滞留時間の増加にともない徐々に生成酸度が $8.7 \text{ g} / \ell$ から $33 \text{ g} / \ell$ に増加した。しかし、滞留時間をかなり大きくしたが、通気量の生成酸度に与える影響に比較して、生成酸度の向上は認められなかった。

パイナップル果汁を用いての実際の果実酢の連続発酵の結果は、12日間運転して、滞留時間20時間で、平均して38 g / ℓ前後の酢酸が得られ、1.88 g / ℓ / hの酢酸生成速度で酢酸が生成した。また、平均して14 g / ℓのアルコールが残った。これは、前報での述べた通り、アルコール発酵で栄養源がかなり使われ、酢酸発酵では栄養源が不足したと推定され、通気量、滞留時間は十分であったが生成酸度が上昇しなかったと思われる。パイナップル酢の静置発酵で栄養源、発酵促進剤として泡盛糟汁の添加が酢酸発酵に有効であったように、泡盛糟汁の添加による連続発酵においても、酸度の高い果実酢の生産が可能と思われる。

5. 要 約

ハニカム状セラミックモノリスを酢酸菌の固定化担体としたバイオリアクターを使用し、合成培地による酢酸発酵の効率的な条件を検討し、次いでパイナップル酢の連続発酵を行い以下の結果を得た。

- 1) リアクターへの通気条件として、100~500ml/minの設定範囲では、500ml/minの時、高い生成酸度が得られた。
- 2) 連続生産培地の滞留時間の長さにともない生成酸度は増加し、滞留時間 9.1時間で生成酸度26.4 g / ℓになり、滞留時間 15.1時間で生成酸度33.0 g / ℓになった。
- 3) 酢酸生成速度は滞留時間2.8時間で4.12 g / ℓ / hの最大値を示し、滞留時間が長くなるにつれ直線的に減少していった。
- 4) パイナップル酢の連続発酵では、滞留時間20時間の条件でパイナップルアルコール発酵液を供給することにより、12日間運転して平均して38 g / ℓ前後の酢酸が得られ、1.88 g / ℓ / hの酢酸生成速度で酢酸が生成した。

6. 文 献

- 1) 赤嶺欣哉、田村博三、照屋比呂子：沖縄県工業試験場業務報告、14、77 (1986)
- 2) 赤嶺欣哉、田村博三、照屋比呂子、沖縄県工業試験場業務報告、15、95 (1987)
- 3) 近藤正夫、鈴木康之、加藤照：醗酵工学、66、393 (1988)
- 4) 佐伯明比古：日食工誌、37、722 (1990)
- 5) 中西載慶、横塚弘毅：日食工誌、34、362 (1987)
- 6) 山下純隆、太田修明、末永光：日食工誌、38、608 (1991)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。