

固定化酢酸菌による食酢の製造

誌名	香川県発酵食品試験場報告
ISSN	03685640
著者	中山, 重徳
巻/号	78号
掲載ページ	p. 20-23
発行年月	1986年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



固定化酢酸菌による食酢の製造*

中山 重 徳

Vinegar production by immobilized acetic acid bacteria.

Shigenori NAKAYAMA

This study was carried out to utilize the immobilized acetic acid bacteria cells for production of vinegar, and various conditions were investigated to prepare immobilized cells. Results obtained were as follows:

- 1) The optimum concentrations of sodium alginate and calcium chloride were 1–2% and 3–4%, respectively.
- 2) The rate of acetification by the immobilized acetic acid bacteria cells was 1.5 g/L/h.
- 3) Acetic acid fermentation was carried out by not only immobilized cells but also leaked cells after 120 hours.
- 4) The vinegar produced by this method was found to be suitable for the practical use from the results of the analyses of general components, amino acids, and organic acids, and sensory test.

結 言

現況の食酢製造法は静置発酵法及び深部発酵法に区分でき、それぞれ長所短所がある。即ち、静置発酵法においては全くの回分式発酵法で発酵期間も長時間を要し、しかも酢化率が80–85%程度にすぎない、さらに、工場占有面積も生産量に比して広いことが製造条件になっている。

しかし、電気エネルギー等の消費エネルギーは僅かである。一方、深部発酵法では静置発酵法の欠点を大体充足しているが、発酵タンクの温度管理に大量の水を必要とし、また、発酵タンクの攪拌や空気の導入などの動力源としての消費電力が大きい点などで必ずしも省エネルギータイプとは言えない。そこで、これ等の技術的問題を解決し、効率よく食酢製造が可能な一つの方策として酢酸菌を固定化したバイオリクターの活用が考えられる。

本報告では、前報¹⁾に続いて酢酸菌を固定化したバイオリクターによって食酢製造する場合の基礎的条件を若干検討し実用化への見知を得たので報告する。

実 験 方 法

* 食酢に関する研究(第17報)
Studies on Vinegar(Part XVII)

1 供試菌株

前報¹⁾で分離固定した固定化に適応する *Acetocet* *acetic* subsp *xylinum* を使用した。

2 固定化酢酸菌の調製法

表1に示した食酢醪配合を用いて、図1に示した方法に準じて固定化酢酸菌を調製した。

表1 食酢醪配合

第 1 次 変 性	混合量(ml)
エタノール (92.4 ^{W/V} %)	2 0 0
種酢 (酢酸として 5.0 ^{W/V} %)	8 0 0
水	4 0 0
合 計	1,4 0 0
酸度 2.8 (W/V%), エタノール 13.2 (W/V%)	
第 2 次 変 性	混合量 (ml)
第 1 次 変 性 液	1,4 0 0
種 酢	1,4 0 0
原 料 酒*	5 0 0
水	2,1 0 0
合 計	5,4 0 0
酸度 2.1 (W/V%), エタノール 4.3 (W/V%)	

* 原料酒の一般成分

エタノール	9.30g/100ml
還元糖 (グルコースとして)	0.30g/100ml
T. N	0.15g/100ml
酸度 (酢酸として)	1.00g/100ml

即ち、図2に示した固定化装置を用い、あらかじめオートクレーブで殺菌したアルギン酸ソーダ溶液に酢酸菌菌体を懸濁させ強制的に塩化カルシウム溶液中へ滴下し

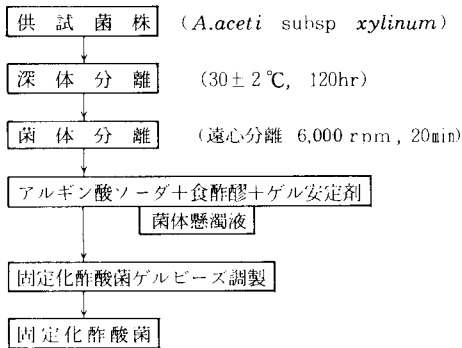
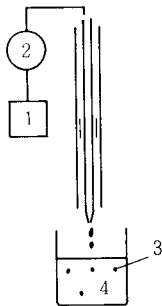


図1 固定化酢酸菌の調製法



1. アルギン酸ソーダ酢酸菌体懸濁液
2. ペリスタポンプ
3. アルギン酸カルシウム固定化酢酸菌粒子ゲル
4. 塩化カルシウム溶液

図2 固定化装置

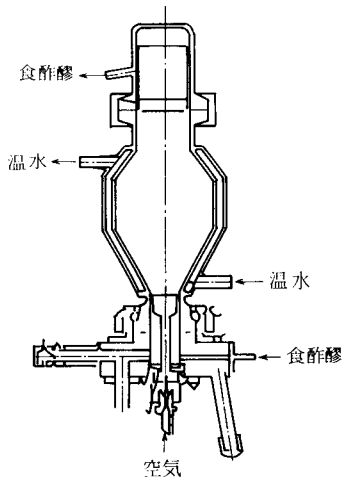


図3 バイオリアクター

てアルギン酸カルシウムをゲル包括法によって酢酸菌の固定化を行った。

3 バイオリアクターの形状

バイオリアクターとしては図3に示した円錐型のリアクターを用い、リアクターの容量は500mlで外筒と内筒の間を水を循環させて、発酵時の温度を $30 \pm 1^\circ\text{C}$ に保持した。なお、気液分散のためセラミック板を使用し、アルギン酸カルシウムのゲルビーズは100g、菌体量0.6g(乾燥重量)及び通気量 $0.1-0.2\text{ v/v/min}$ とした。

4 分析方法

酸度、エタノール等の一般成分はAOAC法²⁾、アミノ酸は液体クロマトグラフ(島津製作所LC-6A)、有機酸はカルボン酸計(盛進製薬 S-700)で測定した。生菌数の測定は、菌体懸濁液を適宜希釈し、その0.1mlを供試用した。ゲル中の生菌数は、ゲル5個($0.03 \times 5 = 0.15\text{ g}$)を滅菌水10mlで数回洗浄後、 10^{-2} M リン酸ソーダ緩衝液(pH7.5)50mlに懸濁し、ホモジナイザーでゲルを破碎し、生理食塩水40mlを加え、完全に溶解した後、平板塗抹法により測定した。

結果と考察

1 固定化条件の検討

(1) アルギン酸ソーダ濃度の影響

酢酸菌菌体及び食酢醗を混合してアルギン酸ソーダの最終濃度が0.5-2.5% (w/v)になるように調整し、2% (w/v) CaCl₂溶液中に滴下して、アルギン酸カルシウムゲルビーズを調製した。そして、このCaCl₂溶液中に 10°C で24hr放置後のゲルビーズの直径、ゲルビーズ中の生菌数の測定した結果を表2に示した。

表2の結果からアルギン酸ソーダの濃度が2.5%以上になるとゲルビーズ中の生菌数が減少の傾向を示していた。従って、酢酸菌菌体を固定化する場合のアルギン酸ソーダの濃度は、アルギン酸ソーダの溶解性、殺菌及び食酢醗との混合などを考慮すると1.0-2.0% (w/v)が適

表2 アルギン酸ソーダ濃度と生菌数の関係

アルギン酸ソーダ% (w/v)	ゲル直径 (mm)	固定化後の生菌数 / gゲル
0.5	1.0	2.5×10^9
0.75	1.3	3.5×10^9
1.0	1.7	2.5×10^9
1.25	1.8	3.1×10^9
1.5	2.0	2.2×10^9
1.75	3.0	0.5×10^9
2.00	3.0	2.2×10^9
2.50	3.0	2.5×10^8

正であった。

(2) 塩化カルシウム濃度の影響

2% (w/v)アルギン酸ソーダ溶液と酢酸菌菌体、食酢醪を混合し、2-6% (w/v)CaCl₂中に滴下してアルギン酸カルシウムゲルビーズを調製した。これを10℃で24hr放置後のゲルビーズ中の生菌数を測定した結果を表3に示した。

表3 塩化カルシウム濃度と生菌数の関係

塩化カルシウム濃度% (w/v)	固定後の生菌数 (gゲル)
2	2.5 × 10 ⁹
3	3.2 × 10 ⁹
4	7.7 × 10 ⁹
5	6.3 × 10 ⁹
6	2.7 × 10 ⁸

表3からCaCl₂濃度6% (w/v)以上では、ゲルビーズ中の生菌数は減少する傾向を示唆しているので、実用化を前提とした場合CaCl₂濃度は3-4% (w/v)が至適である。

(3) 固定化酢酸菌による食酢製造

アルギン酸ソーダ濃度2.0% (w/v)、CaCl₂濃度3.0% (w/v)、ゲルビーズ直径3mmなる固定化条件で酢酸菌ゲルビーズを調整し、図3に示したリアクター(500ml容)に食酢醪500mlと100mlのゲルビーズを入れ、通気量0.1 v/v/min、反応温度30 ± 1℃で食酢製造を行ったところ、次の結果を得た。

$$P_A = \frac{\Delta M}{\theta} = \frac{M_{AO} - M_{AI}}{\theta}$$

P_A : 酸度生成速度 (g/l/hr)

ΔM : 酸度生成量 (g/l)

M_{AI} : 流入食酢醪酸度 (g/l)

M_{AO} : 流出食酢醪酸度 (g/l)

P_A = 1.5 g/l/hr

1.5 g/l/hr以上のP_Aを期待するとすれば固定化菌体のことも勿論であるが、食酢醪配合も検討する必要があると考えられる。

バイオリアクターによる食酢製造を120hr以上にわたって行った場合、ゲルビーズから酢酸菌菌体が漏出し、食酢醪中に遊離した酢酸菌が10⁶/mlに達し通気量を増加させることが必要となってくる。

また、120hr以上の酢酸発酵になってくると酢酸菌は完全に包括固定化されなくなってくるので固定化された酢酸菌ゲルビーズとゲルビーズから離脱した遊離酢酸菌の双方が酢酸発酵促進に関与しているとみるべきである。

(4) 食酢製造の実用化小試験

表1に示した食酢醪配合で食酢を連続製造した場合の一般成分、アミノ酸組成及び有機酸組成は表4-6の結果であった。

これらの結果からみて、酢化率は96.8%に達し、非常によい酢化率であった。また、アミノ酸組成及び有機酸組成、さらに官能的にみても十分に実用化はあると考え得る。

表4 食酢の一般成分 (g/100ml)

成分	食酢醪	食酢
酸度	2.10	7.51
エタノール	4.30	0.02
直接還元糖	0.37	0.21
T.N	0.16	0.15
全エキス	0.25	0.23
pH	2.8	2.6

$$\text{酢化率(\%)} = \frac{\text{酸度} - \text{初発酸度}}{\text{エタノール重量} \times 1.30} = \frac{7.51 - 2.10}{4.30 \times 1.30} = 96.8(\%)$$

5 アミノ酸組成 (mg/ml)

アミノ酸	食酢醪	食酢
アスパラギン酸	0.063	0.038
スレオニン	0.053	0.046
セリン	0.047	0.038
グルタミン酸	0.111	0.070
プロリン	0.053	0.022
グリシン	0.052	0.038
アラニン	0.131	0.092
シスチン	—	—
バリン	0.047	0.046
メチオニン	0.010	0.009
イソロイシン	0.026	0.025
ロイシン	0.085	0.113
チロシン	0.072	0.067
フェニルアラニン	0.061	0.057
ヒスチジン	0.036	0.033
リジン	0.096	0.082
アルギニン	0.061	0.085

表6 有機酸組成 (mg/ml)

有機酸	食酢醪	食酢
酢酸	21.02	75.06
乳酸	0.95	0.36
ピログルタミン酸	0.11	0.19
リンゴ酸	—	—
クエン酸	—	0.01
コハク酸	0.08	0.08

要 約

固定化酢酸菌を食酢製造に利用することを目的として、アルギン酸カルシウムを担体とし、バイオリアクターを調製した。その際の実用条件につき若干検討し、次の結果を得た。

- 1) アルギン酸ソーダを固定剤とする場合、その濃度は1.0-2.0% (W/v)が適正であった。
- 2) アルギン酸カルシウムゲルビーズ形成さす上でCaCl₂濃度は3-4% (W/v)がよい結果であった。
- 3) 酢酸菌菌体固定化によるバイオリアクターで食酢製造を行った場合の酸度生成速度は、1.5 g / ℓ / hrであ

った。

- 4) 食酢製造において120hr以上の酢酸発酵に達すると固定化菌体と遊離菌体の双方が酢酸発酵に関与しているものとみられる。
- 5) バイオリアクターによる食酢の品質は一般成分、アミノ酸組成及び有機酸組成さらに官能的にみて十分に実用性のある食酢製造法と認められた。

文 献

- 1) 中山重徳：香川発試報, 77, 77 (1985)
- 2) AOAC: Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 12th Ed. p.560, Benjamin Franklin Station (1976)