

バイオリアクターによる醤油製造法の研究

第1報 醤油モデル系による発酵条件の検討

山田 哲也・小瀬古茂樹*・坪内 一夫**・久松 眞

三重大学生物資源学部 食品化学研究室

*サンジルシ醸造株式会社, **三重県工業技術センター, 醸造課

Studies on Soy-sauce Production by Bioreactor

Part 1. A Study on Fermentation Condition with a Soy-sauce Model System

Tetsuya YAMADA, Shigeki KOSEKO*, Kazuo TSUBOUCHI**
and Makoto HISAMATSU

Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Bioresources, Mie University

*San-Jirushi Corporation, **Mie Prefectural Institute of Technology

Summary

Soy-sauce production by bioreactor was studied. Results are summarized as follows:

1. Selection of yeast fixation material; Among 8 species tested for ability to fixate yeast (*Zygosaccharomyces rouxii* SJ 002), a honeycomb type ceramic (Nippon-gaishi, cordierite) and a bead-type ceramic (Nippon-sharyo, R-1) were selected. Their fixation ability was 4.83 mg/g (wet yeast/ceramic) and 1.71 mg/g (wet yeast/ceramic), respectively.

2. Condition of fermentation by bioreactor; Two different bioreactor types were selected for the fermentation-one was string beads (Tokyo-rika MBR-033, total volume; 900 ml), the other type was cylindrical (ϕ 4 cm \times 40 cm, total volume; 400 ml). The adopted medium for fermentation was a modified soy sauce medium (composition; raw soy-sauce (kiage-shoyu) 10%, glucose 5%, NaCl (final) 10%). Fermentation was carried out in both systems: string bead reactor type packed with the beads, and the cylinder type packed with honeycombs. Proper aeration (0.1 vvm) allowed for fermentation over one week at 30°C without decreasing the yeast population.

3. Fermentation results; With both reactors, alcohol formed was 2% and residual glucose concentration became 0.56%. This indicates the alcohol conversion ratio to be 80%, and alcohol productivity was calculated to be 1.7 g/dl h.

4. Practical trial of fermentation by bioreactor; Sardine hydrolyzate solution, which was prepared with protease treatment, was adopted to check the bioreactor systems. The solution, to which 5% glucose was added, was subjected to the string beads type bioreactor in which the yeast had been fixed. Analysis of fermented solution rendered results regarding alcohol formation as well as taste evaluation of the solution.

The above results suggest that our bioreactor system is favorable to soy sauce production and new

seasoning using similar production methods.

Key words: Soy-sauce production, bioreactor, fixed yeast, ceramic

1. 緒 言

醤油は、日本の代表的な伝統食品であり、又、その製造工程で長時間の熟成期間を要するのが特徴である。醤油の旨味は原料中の蛋白質が分解して生じたアミノ酸に由来すると言われる。この分解は、醤油製造の第一段階である製麹の際、充分に生育した糸状菌が、第二段階で高濃度食塩水に浸漬されることにより自己消化し、菌体より放出されたアルカリ性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ、ロイシナミノペプチダーゼ等により行なわれる。さらに原料蛋白質の分解過程で生じたグルタミンは、グルタミナーゼにより脱アミド化されてグルタミン酸を生じ、このグルタミン酸が醤油の旨味の主成分をなすと言われる。しかし、その他種々のアミノ酸も旨味の形成に関与し、さらにグルタミン酸、アスパラギン酸、セリン等からなるオリゴペプチドが、コクのある旨味を示すことが知られている。さらに醤油を特徴づけるものにその香味がある。この香りの主体は、ピラジン系、フェノール系の物質であり、これらについては詳しい総説¹⁾がある。一般にこの香りの物質の生成機構については不明なことが多い。しかしながら、これらの物質の多くがメイラード反応に由来していると思われる。メイラード反応は非常にデリケートな反応で、反応開始時の糖とアミノ酸組成や、それらの存在比のみならず、反応中の履歴もその最終生成物に大きく影響を与えることが知られ、醤油製造時のように、1年近く常温で熟成したものの生成物の組成が複雑であることは充分納得されるところである。

近年、バイオリアクターによる醤油製造が試みられるようになり、本研究もこの目的に沿ったものであるが、上述の醤油の本質を理解して、本研究の手法を決める必要がある。すなわち、旨味の点は目的にかなったプロテアーゼが見出されれば、このプロテアーゼの高温処理、多量使用により短時間に蛋白質の分解を行なうことが可能となり、工程時間を大幅に短縮できるはずである。勿論、この場合も問題点があり、例えば、チーズの熟成で知られるように旨味の主役となるべきアミノ酸が遊離してきて、しかも苦味に関連するアミノ酸は遊離してこ

い方が望しい。従って、使用するプロテアーゼについては、単なる分解率を注目する以上に、基質特異性の検討が必要である。しかし、この分解過程でのバイオリアクターの使用は、基質が大豆、小麦等固体であるため実用化は困難である。香りについては前述の如く高温処理でメイラード反応を促進することによる時間の短縮は、その生成物が全く異なることが考えられるので問題点が多い。しかしながらこの熟成過程で用いられる酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* は、醤油を特徴づけるいくつかの香りの物質の生成に関与することが知られているとともに、残存糖の発酵を行い、それにより生成するアルコールが醤油の芳香の一部となるので、この含有率が一般に醤油の評価の際の指標の一つとなっている。

アルコール発酵能の高い酵母としては、*Saccharomyces cerevisiae* が知られており、広くアルコール醸造工業で用いられているが、醤油のように塩分濃度の高い環境では殆んどその能力を失っており、従って、耐塩性酵母の *Z. rouxii* が醤油では、発酵の主役となっている。

本研究では、バイオリアクターを利用して、この *Z. rouxii* を固定化し、高濃度塩分下でも短時間に発酵を終了させる各種条件の検討を行なった。酵母は、嫌気性下でアルコール発酵を行なうが、この条件は酵母の繁殖には適しているとは言えないため、長時間の運転により固定した酵母が減少してしまうので、定在状態に保つ程度の通気が必要とする。しかし、通気により発酵は阻害されるので、このバランスを如何にするかが本研究の一課題でもある。

2. 実験方法

1. 使用菌株

耐塩性酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* SJ 002 株を使用した。

2. 培 地

醤油合成培地としてグルコース 5 %、食塩 10 %、生揚げ 10 %、pH 4.9~5.0 を含む培地を調製し、121°C、15分間オートクレーブ殺菌した後、使用した。

Table 1. Analysis of raw sardine (*Sardinops melanosticta*).

	Ise bay Heat treatment	Ise bay Non-treatment	Kumano coast Non-treatment
Water (%)	64.80	67.20	77.80
Crude protein (%)	20.38	17.44	16.63
Crude fat (%)	12.95	13.71	3.26
Ash (%)	3.44	3.18	3.54
TMA ^{a)} (mg/kg)	11.3	189.2	3.4
TMAO ^{b)} (mg/kg)	40.9	0.0	66.6

^{a)} TMA; Trimethylamine.

^{b)} TMAO; Trimethylamine oxide.

3. イワシ分解液

使用したイワシは、1987年8月から12月にかけて伊勢湾内で漁獲されたもので、河芸漁港又は白子漁港で水揚げされたものを直接入手した。入手後、直ちに15分間加熱し、真空包装した後、凍結保存（-20°C）した。Table 1 にその成分組成を示した。凍結したイワシは、半解凍した後、ミートチョッパーを用いて粉砕し、このイワシミンチ 1 kg に対し、食塩 112 g、水 420 ml にプロテアーゼ（プロテアーゼM、天野製薬^(株)製）をイワシミンチに対して0.5%添加し、50°C で48時間分解した。別に、同様の方法でイワシミンチ 1 kg に対し、食塩 112 g、水 420 ml、米麴 100 g にプロテアーゼをイワシミンチに対して0.5%添加し、50°C で48時間分解した。各々の分解液に、グルコース 5 % 添加し、食塩濃度10%、pH 5.0 となるように調製した。pH は、乳酸で調整した。生じたオリは、遠心分離（5,000 rpm, 10 min）を行ない除去した。

4. バイオリアクターの構成

Fig. 1 にバイオリアクターの構成を示した。直径 40 mm、高さ 400 mm の円筒型ガラスカラムに、円筒に接するように成型したセラミックハニカムを充填した。セラミックハニカムは直径 38mm、高さ 127 mm のものを2段連結して使用した。別に同じサイズのガラスカラムにセラミックビーズを内容積の80%になるように充填した。各々、下方より発酵原液とエアフィルター（0.45 μ）を通した除菌空気を供給した。セラミックハニカムは、日本ガイシ^(株)製、セラミックビーズは、日本車両^(株)製を使用した。

5. 菌の培養と固定化

一白金耳の菌体を 100 ml マイヤーフラスコ中の培地 50 ml で前培養し、ここから 5 ml に抜き取り 500 ml マイヤーフラスコ中の培地 300 ml に接種し、30°C、4 日間振盪培養を行なった。この培養液をオートクレーブ殺菌（121°C、15分）処理したセラミックス担体が充填されているガラスカラムに注入し、通気をせず、一昼夜 30°C で放置後、さらに2～3日培地を 20 ml/hr の低流速で供給することによりセラミックハニカム及び、セラミックビーズへの酵母菌体の吸着固定化を行なった。

6. 分析法

バイオリアクター流出液中の酵母菌濃度（遊離菌体量

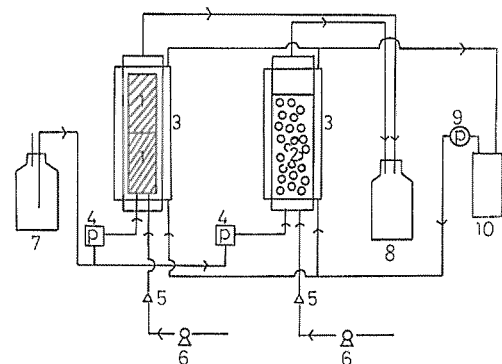


Fig. 1. Schematic diagram of the reactor.

1. ceramic honeycomb; 2. ceramic beads; 3. water jacket; 4. peristaltic pump; 5. air filter; 6. air compressor; 7. culture medium stock vessel; 8. harvest tank; 9. pump; 10. warm water pool.

cell/ml) は、トーマの血球板により測定した。

流出液中の糖濃度は、Somogyi-Nelson 法²⁾に準じた。

アルコール濃度は、ガスクロマトグラフィーにより定量した。定量は、内部標準物質とのピーク面積比により作成した検量線により行なった。検量線作成及び発酵液の定量は、一点検量線により行ないクロマトコーダー11を使用した。検液は、遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) 後、25倍に希釈し、2 μ l 注入した。内部標準物質は、シクロヘキサノール (Cyclohexanol) を使用した。G.C 条件を以下に示す。

ガスクロマトグラフ：YANACO G-180

Column：30% sorbitol on Shimalite (60~80 mesh)

ϕ 3 mm \times 6 m (Stainless)

Carrier gas：N₂, 2.5 kg/cm², 22.5 ml/min

Oven temp (°C)：120°C

Injection temp (°C)：235°C

Detector：FID

イワシ分解液、イワシ分解液の発酵液、及び、米麴を添加したイワシ分解液の全窒素、フォルモール態窒素及び食塩濃度は、しょうゆ試験法³⁾に準拠した。又、上記分解液のアミノ酸分析は、日立 655 A 型反応液体クロマトグラフィー (ニンヒドリン法) を用い分析し、トリメチルアミン、トリメチルアミノオキサライドは食品分析法⁴⁾のピクラート法によった。

7. バイオリアクター性能評価のパラメーター

バイオリアクターの性能評価をするためのパラメーターとして空間時間、選択率、反応率、生成速度を次式⁵⁾により求めた。

空間時間 (Space velocity)

$$\tau = V_r / F$$

選択率 (Selectivity)

$$Se = P_{out} / 0.511 \cdot (S_{in} - S_{out})$$

反応率 (Conversion)

$$x = P_{out} / 0.511 \cdot S_{in}$$

生成速度 (Productivity)

$$P = P_{out} / \theta$$

V_r：バイオリアクターの容積

F：基質の供給流量

S_{in}：バイオリアクター入口における糖濃度

S_{out}：バイオリアクター出口における糖濃度

P_{out}：バイオリアクター出口におけるアルコール濃度

θ ：滞留時間

0.511：アルコールの理論対糖収率

尚、滞留時間は、バイオリアクター内の液容量を基準として算定した。

3. 実験結果

1. 固定化担体の比較

アルコール発酵における酵母菌の固定化法として、セラミック担体への吸着による固定化を行なった。

日本ガイシ(株)製セラミック担体として、SM-10 (60~80 mesh), SM-10 (1 mm \times 0.5 mm 造粒), コーディエライト, ムライトの4種類があり、このうちコーディエライト, ムライトはハニカム構造を有している。これと日本車両(株)製セラミック担体として、R1, R2, R3, P2型の4種類の計8種類について酵母菌体の吸着固定化率を調べた。尚、コーディエライト, ムライトは、1 cm 四方のサイコロ状に加工した。100 ml マイヤーフラスコ中の培地 50 ml に各種担体を充填率20%となるように添加し、室温下で時々攪拌しながら放置し1時間毎に酵母菌濃度を測定し、初発菌濃度から反応後の菌濃度を差し引き、これを初発菌濃度で除した値を吸着による固定化率として求めた。3時間経過後の結果を Table 2 に示した。コーディエライト材質の酵母菌吸着量がセラミック 1 g 当り 4.83 mg と8種類中最も高く、ビーズ型では、R1 型がセラミック 1 g 当り 1.7 mg と最も高い値を示した。

2. 滞留時間の影響

セラミックハニカム (コーディエライト) とセラミックビーズ (RI 型) を充填したバイオリアクターを用い通気量は、セラミックハニカムリアクターでは、内容積に対し 25.5 ml/min, セラミックビーズリアクターでは、内容積に対し 24.0 ml/min で各々運転した時の酵母のアルコール生成に及ぼす滞留時間の影響を Fig. 2-A, 2-B に各々示した。流出液のアルコール濃度は、各々滞留時間の増加に伴い増加し、滞留時間40時間で各々2.4%, 20時間で各々2.3%となり、反応率も滞留時間40時間で各々85%, 84%, 20時間で各々80%となった。しかし、滞留時間13時間で、アルコール濃度は、各々1.8%,

Table 2. Ability of yeast fixation.

Ceramic Specimen	Fixation ratio (%) ^{a)} (after 3 hr)	wett cell/ceramic (mg/g)
SM-10 ^{b)} (60~80 mesh)	1.2	8.40
SM-10 ^{c)} (60~80 mesh)	1.7	4.41
Cordierite ^{d)}	6.9	4.83
Mullite ^{e)}	2.3	1.61
Bead type R-1 ^{f)}	2.3	1.71
R-2 ^{g)}	1.3	0.99
R-3 ^{h)}	1.6	1.20
P-2 ⁱ⁾	1.1	1.31

^{a)} Fixation ratio was based on initial concentration of yeast after 3 hr treatment.

^{b), c), d), e)} Nippon gaishi company.

^{f), g), h), i)} Nippon sharyo company.

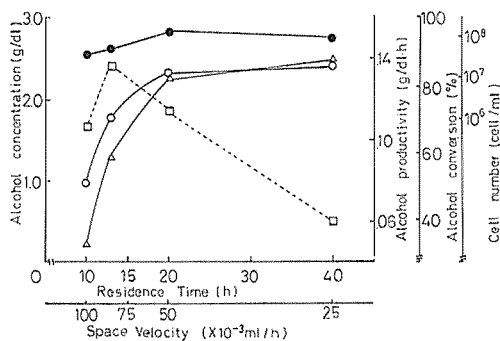


Fig. 2-A. Effects of residence time on alcohol fermentation.

Reactor: cylinder type ($\phi 40 \text{ mm} \times 400 \text{ mm}$)
Packing: ceramic beads (80%)
Air flow rate: 25.5 ml/min
Medium: Soy-sauce modified medium.
(Glucose 5%, NaCl 10%, Soy-Sauce 10%.)

—○—: alcohol concentration (g/dl)
—△—: alcohol conversion (%)
---□---: alcohol productivity (g/dl h)
—●—: cell number (cell/ml)

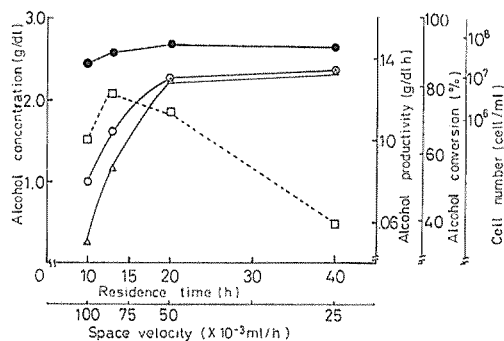


Fig. 2-B. Effects of residence time on alcohol fermentation.

Reactor: Cylinder type ($\phi 40 \text{ mm} \times 400 \text{ mm}$)
Packing: Ceramic honeycomb
($\phi 38 \text{ mm} \times 127 \text{ mm}$)

Air flow rate: 24.0 ml/min
Medium: Soy-sauce modified medium.
(Glucose 5%, NaCl 10%, Soy-Sauce 10%.)

—○—: alcohol concentration (g/dl)
—△—: alcohol conversion (%)
---□---: alcohol productivity (g/dl h)
—●—: cell number (cell/ml)

1.6%, 反応率57.5%, 54.3%と減少した。アルコール生成速度は、滞留時間13時間で各々 0.14 g/dl·h, 0.12 g/dl·h と最大となり、滞留時間の増加に伴い減少した。流出液中の酵母菌体量は、滞留時間が、20時間と13時間の間で各々減少した。

3. アルコールの連続発酵

セラミックビーズ RI 型を固定化担体とするバイオリアクターで、*Z. rouxii* SJ 002 によるアルコール発酵を連続して行った結果を、Fig. 3 に示した。ここで使用した装置は、東京理科器械(株)製の内容積 300 ml の連珠型リアクターを 3 段連結し、下方より発酵原液を滞留時間約

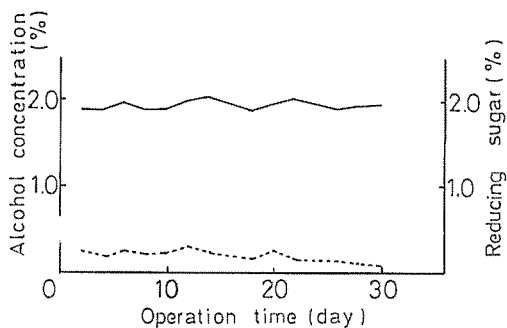


Fig. 3. Continuous fermentation on ceramic beads in bioreactor. (*Zygosaccharomyces rouxii*)
 Medium: Soy-sauce modified medium.
 (Glucose 5%, NaCl 10%, Soy-Sauce 10%.)
 Air flow rate: 50 ml/min
 Residence time: about 20 hours
 Reactor: String bead type
 (ceramic beads (Nippon Sharyo Type RI))
 —: alcohol concentration (%)
: reducing sugar (%)

20時間で供給し、除菌空気をセラミック分散板を通して 50 ml/min の通気量で運転した。尚、ビーズの充填率は、下方から100%, 100%, 80%となるようにした。この条件下で運転すると約 2%前後のアルコールが、安定して得られた。さらに、1ヶ月間の連続運転後も菌体による閉塞等の障害は観察されなかった。

4. イワシ分解液のバイオリアクターによる調味液の連続発酵

耐塩性酵母 *Z. rouxii* を固定化したバイオリアクターを利用した食品への技術の応用として、イワシ分解液をバイオリアクターの基質として用いた。バイオリアクター装置は、前述の連珠型のものを用い、セラミックス担体の種類は、ビーズ RI 型、充填率は下方から100%, 100%, 80%とした。基質の滞留時間は、約20時間とし除菌空気を 50 ml/min の通気量でセラミックス分散板を通し運転した。

Table 3 にバイオリアクターに供したイワシ分解液、イワシ分解液の発酵処理液、及び、米麴10%添加イワシ分解液の発酵処理液の成分を示し、Table 4 に各々のアミノ酸組成を示した。イワシ分解液は、分解率が30%前後と、市販されている濃い口醤油と比べ低く、呈味性に欠け、塩味の強い味液であるが、香りは、トリメチルアミンを主体とする魚特有の悪臭を感じさせず、イワシ独特の良好な香りであり、又、米麴10%添加したイワシ分解液は、上述の香りをまろやかにした良好な香りであった。アミノ酸組成は、市販の醤油ではグルタミン酸が約15%含まれているが、イワシ分解液では、約6%と低く代りに、疎水性アミノ酸のロイシンが14%前後と高い以外に、リジンが11%前後と塩基性アミノ酸の遊離可溶化が大きいのが特徴的であった。

上記、各々の分解液を *Z. rouxii* を固定化したバイオリアクターで連続アルコール発酵を行った結果を Fig. 4 に示した。イワシ分解度は、2日目以降アルコール濃度

Table 3. Analysis of raw sardine hydrolyzate solution.

	Solution 1 ^{a)}	Solution 2 ^{b)}	Solution 3 ^{c)}	Solution 4 ^{d)}
T.N ^{e)}	1.28	1.23	1.30	1.72
F.N ^{f)}	0.37	0.35	0.40	0.91
R.S ^{g)}	4.37	0.49	1.07	5.50
NaCl	9.35	9.41	9.81	16.90
F.N/T.N	28.52	28.54	31.00	52.91

^{a)} Sardine hydrolyzate solution.

^{b)} Sardine hydrolyzate solution after fermentation.

^{c)} (Sardine + 10% rice koji) hydrolyzate solution after fermentation.

^{d)} Raw soy source.

^{e)} Total Nitrogen (g/dl).

^{f)} Formol Nitrogen (g/dl).

^{g)} Reducing sugar (%).

Table 4. Analysis of amino acid.

Name	Solution 1 ^{a)}		Solution 2 ^{b)}		Solution 3 ^{c)}		Solution 4 ^{d)}	
	mmol (%)	mg (%)	mmol (%)	mg (%)	mmol (%)	mg (%)	mmol (%)	mg (%)
Asp	2.33	2.66	2.32	2.65	3.00	3.42	9.51	10.56
Thr	5.78	5.90	5.71	5.85	4.84	4.94	4.60	4.57
Ser	4.06	3.65	3.99	3.61	4.37	3.94	7.68	6.74
Glu	4.62	5.83	4.54	5.75	6.75	8.52	13.87	17.02
Pro	2.59	2.55	2.90	2.87	5.73	5.65	6.29	6.04
Gly	2.15	1.38	2.15	1.39	2.85	1.84	5.73	3.59
Ala	6.73	5.14	6.74	5.17	7.82	5.97	8.28	6.15
Cys	0.05	0.11	0.05	0.10	0.10	0.21	0.00	0.00
Val	6.84	6.86	6.81	6.86	6.51	6.53	6.37	6.22
Met	3.99	5.10	3.95	5.07	3.55	4.54	1.38	1.71
Ile	5.80	6.52	5.80	6.55	5.16	5.80	5.52	6.45
Leu	13.38	15.04	13.13	14.82	12.05	13.55	8.56	9.37
Try	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.70	1.05
Phe	4.97	7.03	4.95	7.04	4.04	5.72	3.74	5.15
NH ₃	14.24	2.07	14.57	2.13	12.71	1.85	6.00	0.85
Lys	9.18	11.49	9.22	11.59	9.33	11.70	5.11	6.23
His	7.25	9.64	7.15	9.55	5.52	7.35	2.66	3.44
Arg	6.05	9.03	6.01	9.01	5.66	8.45	3.62	5.26

^{a)} Sardine hydrolyzate solution.

^{b)} Sardine hydrolyzate solution after fermentation.

^{c)} (Sardine + 10% rice koji) hydrolyzate solution after fermentation.

^{d)} Raw soy source.

約1.7%, 反応率約78%, 米麴10%添加イワシ分解液では, アルコール濃度約3%, 反応率約80%と各々一週間の連続運転中安定した発酵が観察された。しかし, 一週間の連続運転中に基質タンク内に白色オリが多く析出したため運転を中止した。

4. 考 察

醤油のアルコール発酵に耐塩性酵母 *Z. rouxii* を用いて固定化酵母菌体を利用した場合, 基質の供給速度, 即ち滞留時間と通気容量のバランスによってアルコール生成反応と生成速度の向上, 及び通気による酵母菌体の増殖による高いアルコール発酵活性の維持が可能と考えられた。

又, バイオリアクター固定化担体材料として食品衛生上の事を考慮すると現在までのところアルギン酸カルシウムゲルや⁶⁾, 円筒型セラミックス⁷⁾が報告されている

にすぎない。今回, 固定化材料として選択したセラミックスはアルギン酸シカルシウムゲルよりも耐久性に優れ, 高温処理することにより再利用が可能である。Table 2で, セラミックス担体の吸着固定化量を調べたところコーディエライト材質のセラミックハニカム, 又, ビーズ型ではRIが良好であると考えられた。この担体を用い, リアクターの発酵特性を通気量を一定にし滞留時間の影響を調べたが, セラミックハニカム, ビーズ共に, アルコール濃度, アルコール反応率等, 両者に大きな差は認められなかった。又, 滞留時間20時間前後でアルコール反応率80%以上, アルコール濃度2%以上が得られ, 滞留時間がこれよりも短くなると, 遊離菌体量も減少し, アルコール濃度, 反応率共に減少した。通気容量は, 各々 25 ml/min で行なった。通気方法は, セラミック分散板は通さずに通気した。セラミックビーズでは, 気泡による障害はみられなかったが, セラミックハニカムでは気泡がうまく抜けず, 気泡だまりによる基質供給

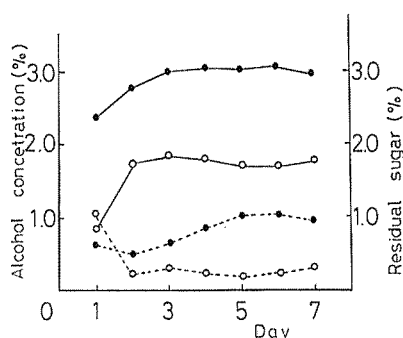


Fig. 4. Time course of alcohol fermentation in bioreactor. (*Zygosaccharomyces rouxii*)

Air flow rate: 50 ml/min

Residence time: about 20 hours

Reactor: string bead type

(ceramic beads (Nippon Sharyo Type RI))

Medium: ○: Sardinia hydrolyzate solution

(Glucose 5%, NaCl 10%)

●: (Sardine + 10% rice koji) hydrolyzate solution (Glucose 7%, NaCl 10%)

—○—: alcohol concentration (%)

---○---: residual sugar (%)

—●—: alcohol concentration (%)

---●---: residual sugar (%)

の障害が生じたため、セラミックハニカムの中心に直径 3 mm の穴をあけ、気泡を抜けやすくした。このため、気泡が抜ける際、液が上から下へと循環したと考えられる。通気方法に関しては、溶存酸素の上昇につながる工夫が必要と考えられる。

吸着の機構として、セラミックス担体表面と菌体の静電気引力による可能性が最も高い。セラミックスの表面電位（ゼータ電位）は、酸性条件下ではマイナス^{8),9)}であることから正電荷を帯びた細胞表層の物質を介してセラミック担体に菌体が吸着されたと考えられる。従ってセラミック担体を塩溶液に浸漬した状態では、食塩の影響でこの静電的引力の効果が薄れ、遊離菌体は素通りしやすくなることが考えられ、この点を考慮して担体の充填率を決定すべきであろう。

酵母菌体を利用したバイオリアクターの応用として、イワシ蛋白分解液を用いた。このイワシ蛋白分解液は、「しょっつる」などで知られる既存の魚醬とは異なり、食塩濃度 10% 前後で分解調製されたものである。風味は、

イワシ特有の悪臭を感じさせない香りであるが、醬油に比べると、Table 3, 4 に示されるように分解率 30% 前後、グルタミン酸、アスパラギン酸の酸性アミノ酸が少なく、疎水性アミノ酸のロイシン以外にリジン等の塩基性アミノ酸の多い、呈味性にやや欠けるものであった。この溶液をバイオリアクターに供給すると、原液タンク、送液チューブ、リアクター内にチロシン等と考えられる白色の沈殿物による目詰まりが生じ、リアクターの連続運転は非常に困難であった。このような高蛋白、高窒素を含む溶液を供給するためには、オリとなって生じるタンパク質等を熱処理、膜濾過等により前もって除去することが必要と考えられる。

発酵させたイワシ分解液、又、米麴 10% 添加イワシ分解液の風味は、独特のイワシ風味調味液として大変良好であった。特に発酵液を加熱処理すると、いわゆるカツオ節風の香りに変化し、極めて良好な香りを生成する。従って、醬油様調味料と言うより、直接食品の味付けに「ダシ」液として用いることも充分可能であり、新調味液として有望である。

今後、醬油、魚醬のように製造工場において、仕込みからアルコール発酵が終了するまでの 6 月から 1 年¹⁰⁾の期間を要することを考慮すると、本報による発酵は、非常に効果的であると考えられ、又、無菌溶液を培地とし、密閉型で操作することから、腐敗防止の面での役割の大きかった食塩の高濃度化は不要となるため、食生活の変化に対応して低塩化がかなり可能となり、つまり塩分濃度の操作が可能となるため、製造期間の短縮化と共に醬油醸造への応用と新調味液の開発が期待できる。

要 約

1) 酵母 *Z. rouxii* SJ 002 株のセラミック担体への吸着固定化量を測定したところ、最も良好なものでセラミックハニカム型は、コーディエライト（日本ガイシ）がセラミック 1 g 当り 4.83 mg ビーズ型は RI 型（日本車両）でセラミック 1 g 当り 1.71 mg であった。

2) アルコール生成速度は、両担体共、滞留時間 13 時間で最高となったが、アルコール濃度はハニカム型が 1.65%、ビーズ型が 1.78% と低く、アルコール濃度 2% 以上でアルコール反応率が 80% 以上の条件が満足されたのは滞留時間 20 時間以上であった。

3) ビーズ型セラミック担体充填リアクターで、滞留時間20時間（通気量 0.10 V/V で連続通気）の条件でモデル原液を供給することにより1ヶ月間、安定した発酵が行われた。

4) イワシ分解液を、バイオリアクターを利用して発酵させることにより、従来にない独特の風味を持つ良好な調味液が得られた。従って、セラミックは、固定化担体としても適しており、醸造工業への実用化が期待される。

文 献

- 1) TAMOTSU, Y. SOY SAUCE BIOCHEMISTRY. ADVANCES IN FOOD RESEARCH., 30: 257-287 (1988).
- 2) 福井作蔵. 還元糖の定量. 東京大学出版会, p. 8-11 (1969).
- 3) 井口信義. しょう油試験法. (財)日本醤油研究所, p. 2-20 (1985).
- 4) 徳永俊夫. 食品分析法. 光琳, p. 673-682 (1982).
- 5) 清水祥一, 山根恒夫. バイオリアクターシステム. 共立出版(株), p. 37-44 (1982).
- 6) K. OSAKI, Y. OKAMOTO, T. AKOO, S. NAGATA, and H. TAKAMATSU. Fermentation of Soy Sauce with Immobilized Whole Cells, *J. Food. Sci.*, 50: 1289-1292 (1985).
- 7) 堀津浩章, 河野克典, 間世田雄人, 河合啓一. セラミックスリアクターによる醤油の新しい製造法. 日本農芸化学会昭和62年度大会講演要旨, 東京, p. 139 (1987).
- 8) 馬島 剛, 川瀬三雄, 神谷佳宏, 松原 緑. セラミックスおよび菌体表面荷電が吸着性に及ぼす影響に関する検討. 日本農芸化学会昭和62年度大会講演要旨, 東京, p. 707 (1987).
- 9) 近藤正夫, 鈴木康之, 加藤 熙. ハニカム状セラミックモノリスを担体とする固定化酢酸菌による食酢の製造. 日本発酵工学会誌, 5: 393-399 (1988).
- 10) 広瀬養成. しょう油 (その6). 日本醸造協会誌, 79: 864-868 (1984).