

2 段連続式バイオリアクターを用いた タマネギ食酢の製造法と食品機能性開発*1

小林 秀彰*2, 山口 文*3, 富田 弘毅*4
中井 義昭*5, 菅野 亨*6, 小林 正義*6

(平成9年9月30日受理)

Development of Food Functions and Production Process for Onion Vinegar Using a Two-Stage Continuous-Tank Reactor*1

Hideaki KOBAYASHI*2, Kazaru YAMAGUCHI*3, Koki TOMITA*4,
Yoshiaki NAKAI*5, Tohru KANNO*6 and Masayoshi KOBAYASHI*6

Abstract

A two-stage continuous-tank reactor was developed to optimize the production of onion vinegar, and the onion vinegar produced was studied to determine its benefits for human health. The "Silan ring" porous ceramics support was available to immobilize microorganisms, maintain higher mechanical strength and provide a stable rate of alcohol production even at higher dilution rates than 1.2 hr^{-1} , without wash-out. The forced cyclic operation of reaction temperature yielded an increase of 25% for amino acids and 35% for organic acids. Five men who ingested onion vinegar for 10 days were found to have testosterone increases in the blood 22% higher than the control cases.

1. 諸 言

北見市を中心としたオホーツク地域は、農畜水産物が豊富である。なかでもタマネギは平成7(1995)年で30万トン生産され、全道の46%を占めている。北海道産タマネギのうち、約90%が生食用に出荷されており、残りが加工向けに出荷されている。それらはケチャップやソースの原料となったり、ソテーや粉末などに加工されている程度で、タマネギを主原料とした加工食品はきわめて少ない。そこで、タマネギを利用した加工食品の開発が急がれるが、通常の加工食品では他の圏域との競合が十分考えられ、競争には非常に不利である。これには、機能性を持たせた食品を開発するなどして、高付加価値化する必要がある。

*1 本研究の一部は、日本化学会北海道支部大会(1997年8月1日、北見工業大学)で発表した。

*2 大学院博士後期課程物質工学専攻、オホーツク圏地域食品加工技術センター

*3 北見工業大学研究生

*4 現勤務先：北海道糖業㈱

*5 荻田バイオサイエンス研究所

*6 化学システム工学科

我々はこれまで、2段連続式バイオリアクターを用いて、オホーツク地域産タマネギから通常の食卓酢ではない、新しい機能をもった食酢を製造する試験を行ってきた¹⁻³⁾。これまでの研究結果から、以下のことが確認されている。

- (1) 原料となるタマネギは、収率の面からも糖含量が高い品種を選択する。
- (2) 微生物の固定化担体は、機械的強度の面から円筒状多孔質セラミックが適している。
- (3) (2)の固定化担体を使用することにより、アルコール発酵で300日、酢酸発酵で700日の長期運転が確認された。
- (4) 試作されたタマネギ食酢は、タマネギの香りを有し、アミノ酸や有機酸が市販の食卓酢に比べて豊富に含まれていた。

タマネギは一般に、糖尿病、高血圧などに薬効があると言われてきたが、科学的評価はあまり行われてこなかった。最近の20年ほどの研究では、*in vitro* 実験やマウスやモルモットを用いて、血小板凝固阻害や抗ぜん息、抗腫瘍といった生理的機能が報告されている⁴⁻¹¹⁾。ところが、このような生理的機能を実際にヒトで確かめられたものはあまり例がない。また、このような生理機能に起因する成分は、微生物による発酵を経由した場合さらに多様化し、本来タマネギが持っている機能を向上させたり、全く新しい機能を付加させたりすることが期待できる。

以上のことから、本報告では以下のことを目的とした。

- (1) 固定化担体である円筒状多孔質セラミックについて、さらなる評価を行うため、操作条件の一つである希釈率に対する発酵安定性を調べた。
- (2) 強制周期操作法による、タマネギ食酢への新たな機能性付与の可能性を検討した。
- (3) タマネギ食酢の生理作用をヒトで試験した。

2. 実験方法

2.1 使用した菌株

アルコール発酵には、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* AHU3532 を用い、酢酸発酵には、酢酸菌 *Acetobacter aceti* TUA549B を用いた。

2.2 タマネギジュース

発酵基質となるタマネギジュースは、前報³⁾と同様に調製した。すなわち、タマネギを家庭用ジューサーで搾汁し、夾雑物をろ過後、ろ液を120°Cで30分間オートクレーブ処理した。析出した固形物をろ過し、保留粒子径0.45 μ mのガラス繊維ろ紙で吸引ろ過したタマネギジュースとした。なお、品種は端野町産赤タマネギ「くれない」を主に用いた。

2.3 2段連続バイオリアクター

図1に、アルコール発酵および酢酸発酵の2段連続バイオリアクターの模式図を示した。反応器は、容量50~1300mlの範囲で6種類あり、これらを適宜使い分けた。各反応器は、トレーサー試験により、完全混合槽の理論曲線に一致することを確かめてある。このうち、容量50mlの反応器は自作によるもので、発酵温度を制御するためのジャケットはなく、反応器ごと恒温器に入れることで発酵温度をコントロールした。

また、菌体はシリカ系多孔質セラミックに固定化して発酵に使用した。これには市販の円筒状多孔質セラミック(商品名「シランリング」、発売元：(株)東京理化、主成分SiO₂、空隙率0.7、有

効表面積 $270\text{m}^2/\text{l}$ 、外径 21mm 、内径 15mm 、長さ 16mm)を用いた。これらセラミック担体を反応器内(酵母の場合 25°C 、酢酸菌の場合 30°C に保持してある)に充填後、あらかじめ各々の菌体の培養液をマイクロチューブポンプにて $20\text{ml}/\text{hr}$ で送入し、3~4日間培養液を循環させ、菌体を固定化した。

発酵は前報³⁾と同様に行った。すなわち、タマネギジュースを1段目のアルコール発酵槽で無菌 CO_2 ガスを通じて嫌氣的に発酵させ、得られたタマネギアルコールを一時的にバッファに溜めた後、2段目の酢酸発酵槽で無菌空気を通じて好氣的に発酵させた。こうして、タマネギ食酢を連続的に製造した。

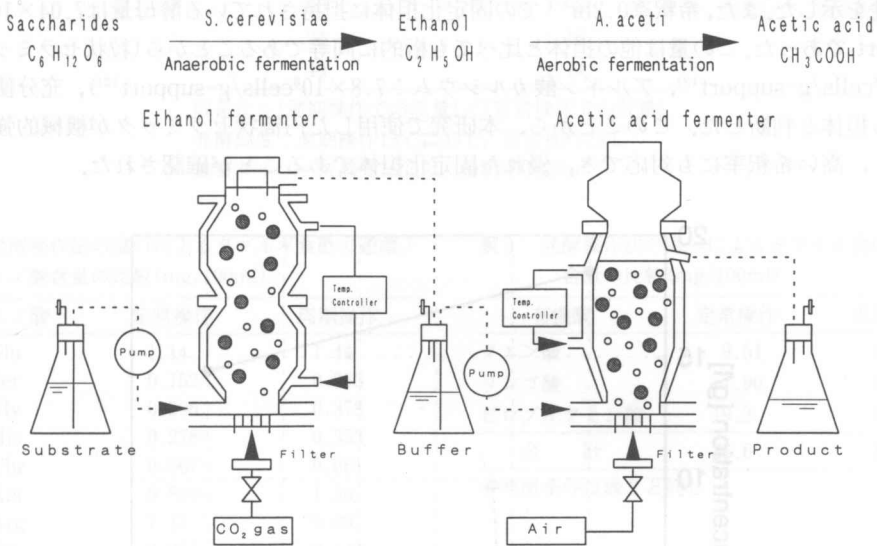


図1. 2段連続バイオリアクターの模式図

2.4 強制周期操作法

発酵が定常状態に達した後、発酵温度や基質導入量を周期的にステップ変化させ、それぞれの反応器出口での生成物の応答を調べた。なお、強制周期操作はアルコール発酵と酢酸発酵を連動させず、それぞれの反応器において別々に行った。

2.5 生成物の分析方法および菌数の測定方法

発酵生産物(エタノール、酢酸)および有機酸、遊離アミノ酸、糖の含量は前報³⁾同様、HPLCで分析した。菌数の測定は、遊離菌体の場合、トーマの血球計数器を用いて測定し、固定化菌体では、固定化担体を粉碎後、生理食塩水で均一にした検液を平板培養し、コロニー(集落)数を測定した結果から算出した。

2.6 ヒトに対するタマネギ食酢の薬効機能性評価法

試作したタマネギ食酢の薬効機能性を調べるための試験は、次のように行った。33歳~60歳の男性ボランティア5名に1日朝と晩の2回、10日間連続してタマネギ食酢を飲用していただき、飲用前、飲用4日後および10日後に採血し、血液検査を行い比較した。また、タマネギジュースにおいても、同様の試験を行った。

3. 実験結果および考察

3.1 円筒状セラミックの固定化担体としての有用性の評価

図2は、アルコール発酵において、セラミック固定化酵母反応器と遊離酵母反応器で、反応器への基質導入量、すなわち希釈率を変化させたときの、反応器内の酵母量、残存基質（グルコース）濃度および生成エタノール濃度の変化を示したものである。遊離酵母反応器では、希釈率 0.45 hr^{-1} で菌体が全て反応器内から流れ出てしまう wash out が起こり、エタノールは全く生成しなくなるのに対し、固定化酵母反応器では希釈率 1.2 hr^{-1} においても wash out が見られず、優れた発酵安定性を示した。また、希釈率 0.2 hr^{-1} での固定化担体に担持されている酵母量は $7.04 \times 10^8 \text{ cells/g-support}$ であった。この量は他の担体と比べても桁的に同等であることから（粒状セラミックス： $3.2 \times 10^8 \text{ cells/g-support}^{12}$ ）、アルギン酸カルシウム： $7.8 \times 10^8 \text{ cells/g-support}^{12}$ ）、充分使用に耐えられる担体と判断した。このことから、本研究で使用した円筒状セラミックが機械的強度面だけでなく、高い希釈率にも対応でき、優れた固定化担体であることが確認された。

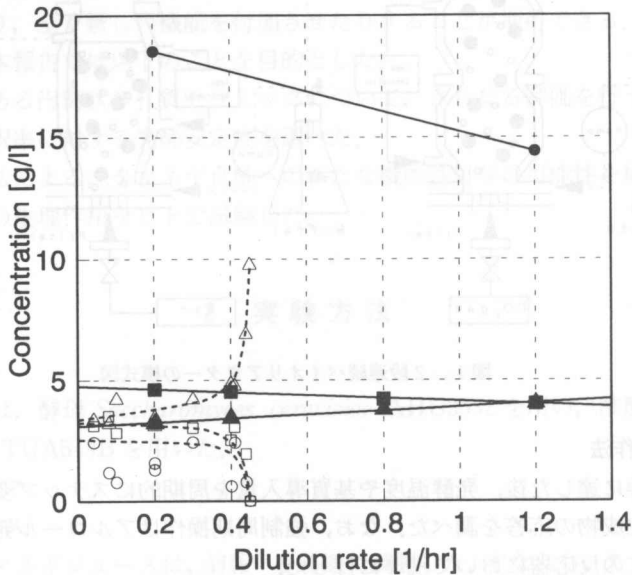


図2. アルコール連続発酵におけるセラミック固定化酵母反応器と遊離酵母反応器の希釈率に対する発酵特性
 ○●: 酵母量 △▲: 残存グルコース濃度 □■: 生成エタノール濃度
 ○△□: 遊離酵母反応器 ●▲■: 固定化酵母反応器
 操作条件: 発酵温度 25°C , 基質グルコース濃度 10 g/l

3.2 強制周期操作法によるタマネギ食酢への新たな機能性付与の可能性

前報³⁾でも示したように、アルコール発酵の場合、発酵温度の周期的変化に伴って、エタノール生成量も周期的に変化するのが確認された。そこで周期操作を行ったときと定常操作を行ったときの収量を比較したところ、表1に示すように、周期 24 hr において16%の向上が認められた。

一方、酢酸発酵では、発酵温度の周期操作において、アルコール発酵の場合のような収率向上は得られなかった。しかしながら、表2および表3に示したように、生成したタマネギ食酢中の遊

離アミノ酸や有機酸の含量が、定常操作に比べてそれぞれ25%および35%増加する傾向が認められた。

これらのことから、本システムに強制周期操作を適用すると、生成物の収率や呈味成分が向上し、機能性付与の可能性が示唆された。

表1. アルコール発酵における発酵温度の周期操作と定常操作との収量比

周期時間(hr)	収量比(-)
10	1.08
24	1.16
48	1.14

収量比 = (周期操作での収量) / (定常操作での収量)

発酵温度：周期操作15°C⇄35°C，定常操作25°C

基質グルコース濃度150g/l，希釈率0.05hr⁻¹

表2. 発酵操作法の違いによるタマネギ食酢の遊離アミノ酸含量の比較(mg/100ml)

アミノ酸	定常操作	周期操作
Glu	1.14	1.44
Ser	0.152	0.233
Gly	0.206	0.378
His	0.278	0.353
Thr	0.567	0.661
Ala	0.840	1.36
Arg	7.12	9.09
Pro	0.217	0.444
Val	0.473	0.504
Ile	0.317	0.297
Leu	0.768	0.650
Phe	0.646	0.622
Lys	0.541	0.515
Tyr	0.422	0.504
合計	13.7	17.1

表3. 発酵操作法の違いによるタマネギ食酢の有機酸含量の比較(mg/100ml)

有機酸	定常操作	周期操作
クエン酸	9.51	12.1
リンゴ酸	7.90	10.5
ピログルタミン酸	19.2	26.8
合計	36.6	49.4

※発酵条件は表2と同じ

※発酵条件：

発酵温度：周期操作15°C⇄35°C(周期48hr)，定常操作

25°C，基質エタノール濃度45g/l，希釈率0.01hr⁻¹

3.3 タマネギ食酢がヒトの生理機能に与える効果

血液検査結果を比較したところ、男性ホルモンの一種であり、精力増強作用のあるテストステロンの値に、飲用前との明らかな違いが認められた。表4にその結果を示す。数値に個人差はあるが、5名全員がタマネギ食酢飲用後に増加傾向を示し、飲用4日目で飲用前より平均25%、10日目では平均22%の増加が認められた。同様な傾向がタマネギジュースでもみられた。これらのことから、この効果はタマネギに由来し、発酵を経由しても失われないことが示唆された。

表4. 男性に対するタマネギジュースおよび食酢飲用における血漿中テストステロン値の変化(ng/dl)

タマネギジュース				タマネギ食酢			
年 齢	飲用前	4日後	10日後	年 齢	飲用前	4日後	10日後
33	508	575	511	33	551	676	643
42	419	570	704	42	539	612	677
52	198	842	750	52	493	741	707
60	462	394	637	59	316	423	361
60	420	361	516	60	494	561	526
平均値	401	548	604	平均値	479	603	583

※基準値250~1,100ng/dl

4. 結 言

- (1) 本研究で使用した円筒状セラミックは、菌体の固定化担体として非常に優れており、希釈率が 1.2hr^{-1} まで上昇しても wash out が起こらず、発酵が安定することが確認された。
- (2) 発酵温度の強制周期操作法により、アルコール発酵における収量が定常操作に比べて最大16%向上し、タマネギ食酢中の遊離アミノ酸量や有機酸量が定常操作に比べてそれぞれ25%および35%増加した。このことから、強制周期操作法によりタマネギ食酢への新たな機能性付与の可能性が期待できる。
- (3) タマネギ食酢には、ヒトの血漿中のテストステロン値を増加させ、精力を増強する効果が期待できる。

謝 辞

本研究で使用した菌体を供試して下さった、北海道立食品加工研究センター研究員吉川修司様ならびに東京農業大学生物産業学部助教境博成様、また、タマネギを提供して下さいました端野町農業振興センター所長堤平様に感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) 高橋淳 「2段連続バイオリアクターの動特性」 北見工業大学修士論文 (1994)
- 2) 高橋淳, 菅野亨, 小林正義 「多段連続バイオリアクターによる玉葱食酢製造」 北見工業大学研究報告, Vol. 25, No. 1, 39-47 (1993)
- 3) 小林秀彰, 山口文, 富田弘毅, 菅野亨, 小林正義 「2段連続バイオリアクターを用いたタマネギ食酢製造の最適操作」 北見工業大学研究報告, Vol. 29, No. 1, 1-8 (1997)
- 4) VANDERHOEK J Y, MAKHEJA A N, BAILEY J M, "Inhibition of fatty acid oxygenases by onion and garlic oils. Evidence for the mechanism by which these oils inhibit platelet aggregation", *Biochem Pharmacol*, Vol. 29, No. 23, 3169-3173 (1980)
- 5) KAWASAKI S, MORIMITSU Y, "Sulfur Chemistry of Onions and Inhibitory Factors of the Arachidonic Acid Cascade", *ACS Symp Ser*, No. 546, 120-127 (1994)
- 6) DORSCH W, ADAM O, WEBER J, ZIGELTRUM T, "Antiasthmatic effects of onion extracts - Detection of benzyl- and other isothiocyanates (mustard oils) as antiasthmatic compounds of plant origin", *Eur J Pharmacol*, Vol. 107, No. 1, 17-24 (1984)
- 7) WAGNER H, BAYER TH, BREU W, WILLER F, "Antiasthmatic effects of onions: inhibition of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase in vitro by thiosulfinates and "Cepaenes"", *Prostaglandins Leukot*

