

廃乳酸菌を栄養源として利用した乳酸発酵

平田 誠

ポリ乳酸は、植物を原料とし、生分解性を有するため、環境に優しい次世代のプラスチックとして注目されている。その原料となる乳酸には、高い光学純度が要求され、糸状菌*Rhizopus oryzae*などにより発酵生産されている。糸状菌による発酵は、糖源と無機塩類のみで純度の高いL体の乳酸を生産でき、培地コストの点で有利である。しかしながら、生産性が乳酸菌と比べて低く、酵母エキスをわずかに添加するなどによりいくらか改善されるものの、飛躍的に向上させることが困難であるため、乳酸菌に適した安価な培地の開発が望まれる。これまでの研究において、*R. oryzae*による連続発酵¹⁾における生産性は約1.5 g/(l・h)であったが、乳酸菌による発酵に電気透析を組み合わせることにより13 g/(l・h)以上の高い生産性で乳酸を連続生産することに成功している²⁾。一方、最近耐熱性などの性状に優れるポリL-乳酸とポリD-乳酸からなるステレオコンプレックスに期待が寄せられているが、D-乳酸は乳酸菌により生産され、培地開発の重要性が高まってきている。

本研究では、乳酸菌*Lactobacillus rhamnosus*による乳酸発酵を例として培地コストの低減を試み、より安価な栄養源として廃乳酸菌など廃棄物の利用を検討した。

廃乳酸菌を用いた乳酸発酵³⁾

乳酸菌による乳酸発酵では、酵母エキスを代表とするビタミンなどを含む栄養源の質と添加量が生産性に影響するため、培地コストを高くする要因となっている。ここでは、安価な物理的処理により、発酵後に回収した廃乳酸菌を比較的高価な酵母エキスの代替とすることを試みた。

まず、酵母エキスを1.5%添加した同スケールの発酵後の廃乳酸菌を全量回収し、何ら処理せずに添加したところ、酵母エキスを添加なしの場合は発酵がまったく進行しなかったのに対し、乳酸の生成が確認された(図1)。しかしながら、一般的な培地組成に従い酵母エキスを1.5%添加した場合の生産性が2.4 g/(l・h)であるのに対して、0.37 g/(l・h)と著しく低く、実用に適するものではなかった。次に、超音波破碎と酸加水分解、あるいはこれらの組み合わせ処理を施して添加したところ、生産性が1.5倍前後改善したものの、十分ではなかった(図2A)。

そこで、これらと0.5%の酵母エキスを同時に用いたところ、酸加水分解処理によるものでは2.6 g/(l・h)という高い生産性を得ることができ、酵母エキスの添加量を1/3

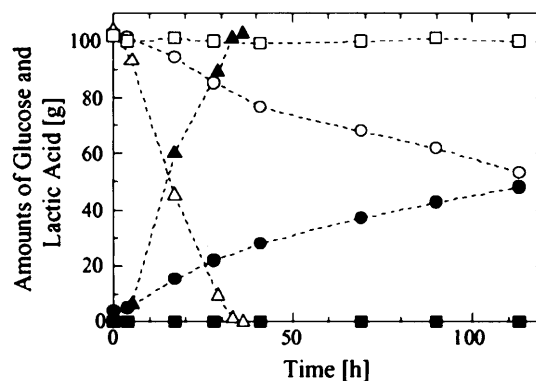


図1. 廃乳酸菌を直接添加した乳酸発酵³⁾。□■, 酵母エキスを無添加; ○●, 廃乳酸菌直接添加; △▲, 酵母エキスを1.5%添加; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸。

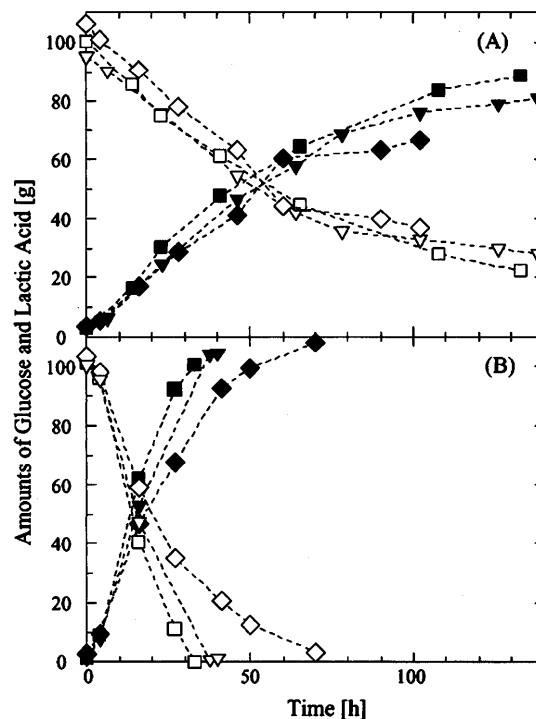


図2. 廃乳酸菌処理物を用いた乳酸発酵³⁾。(A) 廃乳酸菌のみ、(B) 廃乳酸菌 + 0.5%酵母エキス。◇◆, 超音波破碎処理; □■, 酸加水分解処理; ▽▼, 超音波 + 酸加水分解処理; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸。

著者紹介 大分大学工学部応用化学科(准教授) E-mail: mh@cc.oita-u.ac.jp

2008年 第7号

337

特 集

に削減することを可能とした(図2B)。さらに、ここで得られる廃乳酸菌を回収して酸加水分解し、0.5%酵母エキスとともに添加して繰り返し発酵を行った。図3に示すように3サイクル目においても同様かむしろ良い結果が得られ、0.5%の酵母エキスを毎回補うことにより、廃菌体を繰り返し利用しても乳酸が安定生産できることが明らかとなった。

魚廃棄物を用いた乳酸発酵⁴⁾

廃乳酸菌のみでは十分な生産性が得られなかったため、魚廃棄物を加水分解して利用することを検討した。加水分解については図4に示す通り、廃棄物を粉碎後、酸によりpH1としてオートクレーブ滅菌と同時に分解して利用する方法(可溶化法A)と、酸加水分解前に一度オートクレーブ処理して抽出液を回収し、固形分のみをAと同様に酸加水分解し、これらを合わせて利用する方法(可溶化法B)の2通りを検討した。また、魚廃棄物としては、刺身などの切り身の残渣として廃棄されたぶ

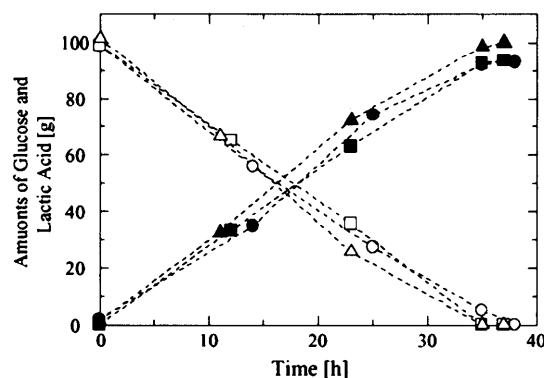


図3. 廃乳酸菌を用いた繰り返し発酵³⁾. ○●, 1サイクル目; □■, 2サイクル目; △▲, 3サイクル目; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸。

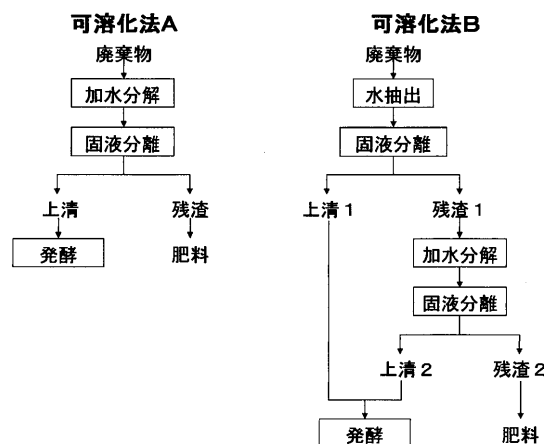


図4. 酸加水分解による廃棄物の可溶化⁵⁾

りのあら(主に頭と背骨)を用いた。

まず、加水分解を行わずに魚廃棄物を添加した場合は、発酵が60%程度進行したところで乳酸生成が停止したが、可溶化法A、Bともに短時間で発酵が終了し、特に可溶化法Bでは生産性が2.7 g/(l·h)となり、酵母エキスで得られる最大の値2.4 g/(l·h)(添加量2.0%)よりも高くなった(図5)。このことより、前処理として抽出を行うことにより溶け出した成分は加水分解を受けず、発酵に対して有効に働いていることが分かる。次に、可溶化法Bを用いて魚廃棄物量を変化させて検討を行った。培地量に対する魚廃棄物の乾燥重量を添加量として整理したものを図6に示す。先の可溶化法の検討における添加量は6.8%である。添加量を1.0%まで落としたものでは135 hでも発酵が終了せず、生産性が極めて低かった。1.7%添加では約60 hで発酵が終了しグルコースが完全に消費されたものの収率が81%と低く、これらの添加量

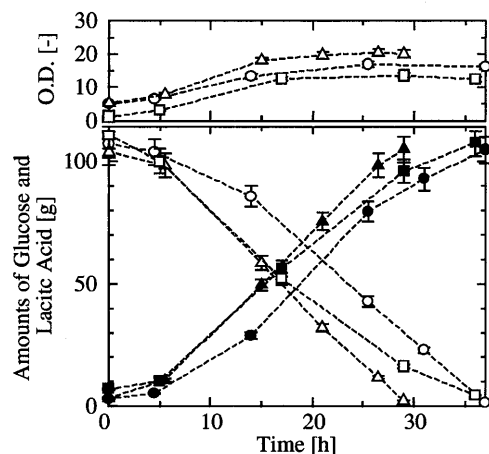


図5. 魚廃棄物を用いた乳酸発酵⁴⁾. ○●, 可溶化法A; △▲, 可溶化法B; □■, 酵母エキス2.0%; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸。

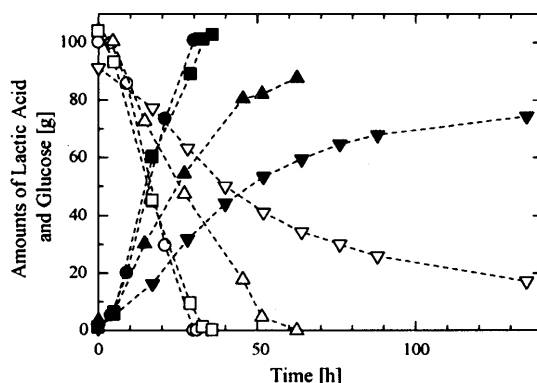


図6. 魚廃棄物加水分解物の添加量の影響⁶⁾. ○●, 6.8%; △▲, 1.7%; ▽▼, 1.0%; □■, 酵母エキス1.5%; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸。

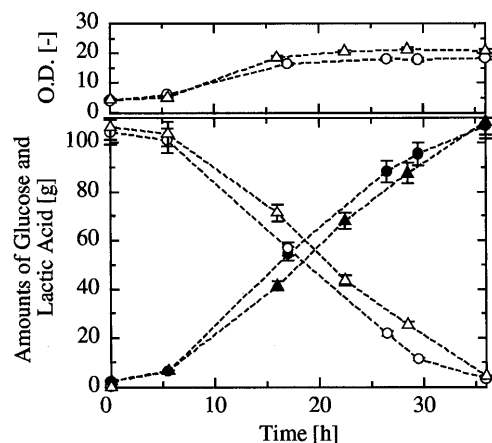


図7. 魚廃棄物加水分解物粉末を用いた乳酸発酵⁴⁾. ○●, 液状物; △▲, 粉末; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸.

では栄養源が不足していると考えられた. なお, 添加量 3.4%以上では収率 97%以上と問題はなかったが, 十分な生産性 ($2.3 \text{ g/(l} \cdot \text{h)}$) を得るためには 5.1%の添加を必要とした. さらにここでは, ハンドリングを向上させるため, 加水分解物の粉末化についても検討した. 図7に示す通り, フリーズドライで粉末にしたものでもほとんど同様の結果が得られ, 粉末化しても問題のないことが明らかとなった.

廃乳酸菌と魚廃棄物を用いた乳酸発酵⁶⁾

魚廃棄物のみでは約 5%以上の高い濃度で添加する必要があるが, 添加物が不純物となって発酵後の乳酸回収を阻害する危険性が懸念された. そこでここでは, 発酵液中の不純物を減らすことを目的として, 廃乳酸菌と魚廃棄物を組み合わせて利用することを検討した.

廃乳酸菌加水分解物とともに添加量 1.0%相当の魚廃棄物可溶化物 (可溶化法 B) を用いた発酵の結果を図8に示す. このときの生産性は $1.7 \text{ g/(l} \cdot \text{h)}$ であり, 廃乳酸

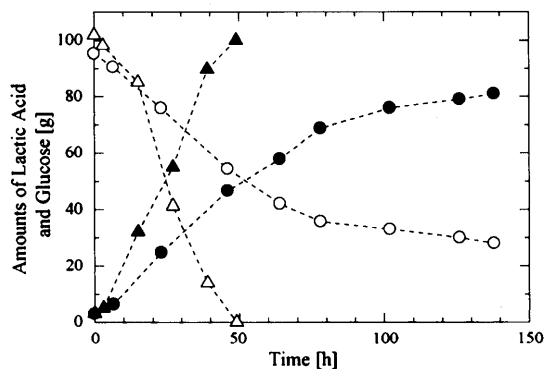


図8. 廃乳酸菌と魚廃棄物を用いた乳酸発酵⁶⁾. ○●, 廃乳酸菌のみ; △▲, 廃乳酸菌+魚廃棄物; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸.

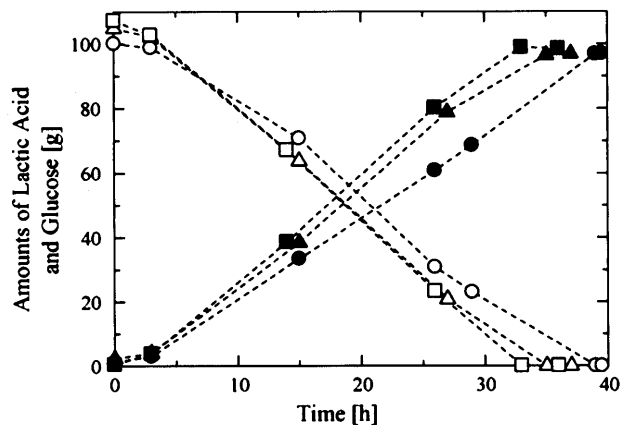


図9. 廃乳酸菌と魚廃棄物を用いた繰り返し発酵⁶⁾. ○●, 1サイクル目; △▲, 2サイクル目; □■, 3サイクル目; 白抜, グルコース; 黒塗, 乳酸.

菌と 0.5%酵母エキスを同時に用いたものよりは低かったが, 廃乳酸菌のみ, あるいは魚廃棄物 1.0%のみの場合では著しく生産性が低く, 廃乳酸菌と魚廃棄物の組み合わせが有効であることが明らかとなった. 廃乳酸菌と同時に用いる魚廃棄物の添加量を 1.7%まで上げたところ, 生産性は $2.1 \text{ g/(l} \cdot \text{h)}$ まで改善された. さらに, この発酵後の乳酸菌を回収して加水分解し, 魚廃棄物可溶化物 1.7%とともに添加するという発酵を 2 回繰り返したところ, 生産性は最終的には $2.3 \text{ g/(l} \cdot \text{h)}$ となった (図9). 2 サイクル目に用いた菌体は 1.5%酵母エキスをを用いた標準培地での発酵により得られたもので, 廃乳酸菌量は 0.60%添加相当であったのに対し, 廃棄物を用いた発酵では菌体の収量が向上し, 2 サイクル目以降の発酵では約 0.65%と高くなり, このことにより生産性が向上したと考えられた. すべてのサイクルにおける発酵後の菌体収量がほぼ一定であったことから, 本条件では安定して繰り返し発酵を行えることが明らかとなった.

発酵後の液中の不純物に関しては, 灰分と窒素分について検討した. 魚廃棄物可溶化物 6.8%のときはそれぞれ 3.9 g/l と 0.86 g/l ときわめて高かったのに対し, 繰り返し発酵 3 サイクル目では 0.77 g/l と 0.47 g/l となり, 酵母エキス 1.5%における 0.96 g/l と 0.35 g/l と遜色なく, このような発酵法により発酵液中の不純物を抑えることを可能とした.

文 献

- 1) 小井手資幹ら: 化学工学論文集, **30**, 432 (2004).
- 2) Hirata, M. et al.: *Biochem. Eng. J.*, **25**, 159 (2005).
- 3) Gao, M.-T. M. et al.: *Biochem. Eng. J.*, **28**, 87 (2006).
- 4) Gao, M.-T. M. et al.: *Bioresour. Technol.*, **97**, 2414 (2006).
- 5) 平田 誠: 特開2007-044580 (2007).
- 6) Gao, M.-T. M. et al.: *Biochem. Eng. J.*, **36**, 276 (2007).