

食酢の製造に関する研究

(I) 連続表面発酵による食酢の製造

東出 敏男*・嶋田 千尋*・川村 吉也*
久松 眞・山田 哲也

三重大生物資源学部 食品化学研究室, *株式会社中壱酢店 中壱中央研究所

Vinegar Making

(I) Improvement of Surface Fermentation by Continuous Methods

Toshio HIGASHIDE, Chihiro SHIMADA, Yoshiya KAWAMURA,
Makoto HISAMATSU and Tetsuya YAMADA

Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Bioresources, Mie University
*Nakano Central Research Institute, Nakano Vinegar Co., Ltd.

Abstract

Surface fermentation by *Acetobacter pasteurianus*, the traditional batch system of vinegar making in Japan, produces vinegar with better flavor but less in productivity than submerged fermentation. For enhancing the productivity in surface fermentation, continuous fermentation system was conducted by changing initial acidity and alcohol concentrations, and depth of fermentation broth. The highest productivity was achieved with the depth of broth of 10 cm, initial acidity 2% to 3%, and initial alcohol concentrations 2.5% to 3.5%. Continuous surface fermentation under the optimum conditions was conducted for 80 days, and it showed almost 4.5% of the final acidity with 2 time higher productivity than that of the traditional batch fermentation system. The flavor of the vinegar produced by this method was better than those produced by both batch surface and submerged fermentations.

Key words: vinegar, continuous surface fermentation, productivity, flavor

緒 言

食酢の製造法には、大きく分けて、表面発酵法と深部発酵法の2法がある。表面発酵法は古くから行われており、樽でつくるオルレアン法をはじめとして、つばやかめあるいは桶などの容器(発酵槽)を用いて、液表面に酢酸菌の膜を張り、長時間をかけて製造する。それに対して深部発酵法は比較的新しく開発された方法で、通気

攪拌により短時間で発酵を終了させることから、連続法ともいわれる。表面発酵法は設備が少なく、小規模での生産が可能で発酵管理も比較的簡単であり、出来上がった製品の香りが良質であるので、深部発酵法に比べて生産性で劣るものの、今でもかなりの量の食酢が表面発酵法により製造されている。そこで本法の長所を残し、短所である生産性の低さを改善しようとする試みが種々行われている。例えば、発酵液をプロペラにて攪拌する方法^{1)~3)}や、発酵槽の形状を改良して酢酸菌膜を有効に利用する方法⁴⁾、ゼネレーターあるいはそれに類似する

方法^{5)~9)}等が試みられている。しかしながら、いずれも良質な香と高い生産性を両立させるという観点からは、まだその目的を達成していない。発酵液をプロペラにて攪拌する方法については香の安定性に問題があり、発酵槽の形状を改良して酢酸菌膜を有効に利用する方法についてはそれなりの効果は認められるが大きなものではない。ゼネレーターあるいはそれに類似する方法については香の問題並びに雑菌に汚染されやすいことが欠点である。筆者等は上記の方法の欠点を改良するには、表面発酵の良質な香を保持しつつ、連続化を行うことが得策であるとの考えに至った。この方法については既に試みもなされているが^{10)~15)}、結果的にはまだ改良の余地が残されており、より実用性の高い連続表面発酵法を開発することを目標として検討を行ったのでその結果を報告する。

実験方法

1. 発酵室及び発酵槽

温度 28~31°C, 湿度 38~50% にコントロールした、縦 4 m, 横 5 m, 高さ 3 m の発酵室にて、縦 100 cm, 横 100 cm, 深さ 20 cm, 厚さ 10 mm の塩ビ透明板製の大発酵槽を用い、厚さ 10 mm の塩ビ透明板を蓋として使用した。槽と蓋との間には通気の為のすき間を設けた。培地補給液の注入口、発酵終了液の引卸口は底から 1 cm の位置に対角線上に設けた。小発酵槽は縦 40 cm, 横 40 cm, 深さ 60 cm, 厚さ 4 mm のアクリル透明板製で、蓋は厚さ 4 mm の塩ビ製板を使用し、槽と蓋との間にはすき間を設けた。

2. 仕込液(培地)組成

仕込液(培地)組成については、Table 1 に示した。

Table 1. Composition of broth for vinegar production

acetic acid	1~5% (W/V)
ethanol	1~5% (V/V)
sake less ^{*1} extract	3.01% (V/V)
glucose	0.157% (W/V)

*1 Sake less extract was prepared from 30% of sake lees stored for 1~2 years

3. 発酵菌

(株)中塾酢店半田工場にて使用している米酢発酵菌 (*Acetobacter pasteurianus*) を用い、米酢仕込後 1~2 日後の菌膜を、仕込液表面の 20~30% を覆うように移植して発酵を開始した。

4. 測定

①酸度 (w/v%) : サンプル 5 ml を苛性ソーダ (1 規定) にて滴定し、滴定容量を 1.2 倍し、酢酸濃度として表わした。

②アルコール濃度 (v/v%) : ガスクロマトグラフにて定量分析した。

③予定酸度 (%) : 理論上、アルコール 100 ml から酢酸が約 100 g 生成されるので、両者の合計を予定酸度として求め、酢酸発酵は酸度 (w/v%) とアルコール濃度 (v/v%) で管理した。

5. 発酵管理

①小発酵槽を用いた表面発酵試験。グルコース、酒粕抽出液、酢酸に温水を加えた培地を仕込温度を 32°C 前後に保持し、これに米酢仕込 1~2 日後の酢酸菌膜を 10 cm × 10 cm の塩ビ板にて移植し表面発酵試験を行った。経時的に表面付近の温度と酸度及びアルコール濃度を測定した。

②大発酵槽での連続表面発酵。小発酵槽の場合と同様に表面発酵を開始した後定量ポンプで上記組成の培地を所定量送りこんだ。また大発酵槽よりオーバーフローさせて引卸とし、連続表面発酵を行った。温度管理は表面及び底の 2ヶ所で行った。1日に2回酸度を測定し、酸度に応じて補給液注入量を 700 ml/hr ~ 1100 ml/hr の範囲で変えた。引卸後の残留アルコール濃度は2日に1回測定した。また補給液のアルコール濃度及び酸度は作成ロット毎に測定した。

実験結果及び考察

1. 液深と生酸量

小発酵槽を用いて、液深を 2~20 cm に段階的に変化させて、仕込酸度 2.5%, アルコール濃度 3.0%, 予定酸度 5.5% にして回分での表面発酵を行い、酸度変化 (Fig. 1) をみた。発酵結果については Table 2 に記した。表

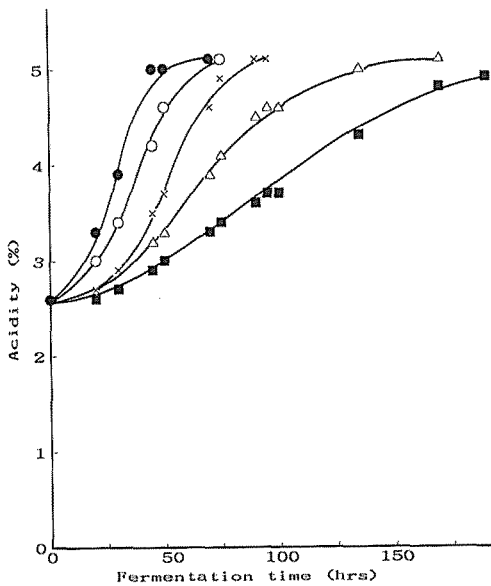


Fig. 1 Time course of acidity at a given depth of broth
 ●: 2 cm, ○: 3 cm, ×: 5 cm, △: 10 cm, ■: 20 cm

面発酵においては液表面に膜状に生育した酢酸菌によって酢酸発酵が行われる。従って、表面積が同じならば、理論上は酢酸の生成速度は同じになるはずである。しかしながら、比表面積が小さく液深が深くなれば、発酵液の上下で酸度及びアルコール濃度の不均一が生じやすくなり、逆に比表面積が大きく液深が浅くなれば、相対的には発酵液量が少なくなり、その分表面からの蒸発による冷却効果の影響が大きくなり、発酵温度の低下による発酵不良をきたすので、最適な液深を設定する必要があった。試験の結果 20 cm と 10 cm が最も高く、5 cm,

3 cm, 2 cm はやや低い値を示した。より深い試験区での試験も必要とは思われるが、20 cm と 10 cm で差がなかったことから、連続表面発酵の試験においては液深を 10 cm~20 cm に設定した。

2. 初発酸度と生酸量

初発酸度を 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, アルコール濃度を各 3% として予定酸度 4%, 5%, 6%, 7%, 8% にて回分での表面発酵試験を行った。酸度変化を Fig. 2 に記した。Table 3 に対数増殖期の 1 日当たりの

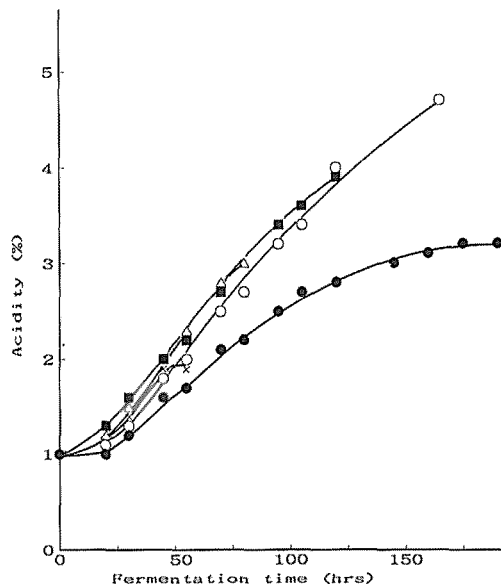


Fig. 2 Acid production by *A. pasteurianus* at a given concentration of broth
 ▼: 0%, ●: 1%, ○: 2%, ×: 3%, △: 4%, ■: 5%

Table 2. Effect of vinegar productivity on broth depth in batch surface fermentation

	Depth of broth (cm)				
	20	10	5	3	2
Productivity (%/hr)	0.015	0.03	0.043	0.051	0.087
Acid production rate (g/m ² /hr)	30	30	21.5	15.3	17.4
Temp. of broth*1 (°C)	32	32	31	30	29
	31	31	30	29	28
Surface area (m ²)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Working volume (ℓ)	32	16	8	4.8	3.2
S/V (m ² /m ³)	5	10	20	33.3	50

*1 Shows upper as maximum, lower as minimum.

Table 3. Effect of vinegar productivity on initial acidity in batch surface fermentation

	Initial acidity (%)					
	0	1	2	3	4	5
TA1* ¹ (%)	1.12	2.38	3.22	4.08	5.40	6.26
TA2* ² (%)	2.48	3.08	3.86	4.63	5.76	6.41
Productivity* ³ (%/24 hr)	1.36	0.70	0.64	0.55	0.34	0.14
Working volume (ℓ)	16	16	16	16	16	16
Surface area (m ²)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Depth (cm)	10	10	10	10	10	10
S/V (m ² /m ³)	10	10	10	10	10	10

*¹ TA1: Acidity at 91 hrs*² TA2: Acidity at 115 hrs*³ Productivity: (TA1-TA2)/24 hrs at logarithmic growth phase

生酸速度（酸度上昇/日）を示した。その結果、初発酸度の高い場合には対数増殖期における生酸速度は低く、グラグラとした上昇曲線を描くが、低酸度になるほど生酸速度は高くなる。また、高酸度では酢酸菌膜の張りは良くなく、4%、5%と1%、2%を比較すると、菌膜が表面全体に張るまでに1日の差がついた。0%では発酵液が酵母による汚染を受け、混濁を生じたが、通常、汚染防止のため2.5%程度で仕込がなされていることもあり、仕込酸度はある程度必要である。連続表面発酵を想定した場合、菌膜の張りが悪くない限りは、早く引卸酸度に到達した方が早く連続発酵を開始できるので有利であることから、2%ないしは3%が適当と思われた。

3. 初発アルコール濃度と生酸量

初発酸度の影響の少ない酸度で初発アルコール濃度の影響を調査すべく、初発酸度を1%とし、初発アルコール濃度を1%、2%、3%、4%、5%と変化させて実験した。酸度変化を Fig. 3 に、生酸速度については Table 4 に示した。初発アルコール濃度5%では生酸速度は著しく低くなる。対数増殖期の生酸速度をみると、初発アルコール濃度5%の場合 0.48%/hr であり、4%以下の場合のはほぼ 0.70%/hr 以上と比べて 0.20%/hr 以上の差がある。また、酸生成はアルコール濃度が低い方が良好であることは周知であるが、本試験においても初発アルコール濃度1%を除くとその他の濃度では低い方が酸生成は良好である。酢酸菌膜の張りはアルコール濃度5%では非常に弱くて薄く、酸度が上昇して

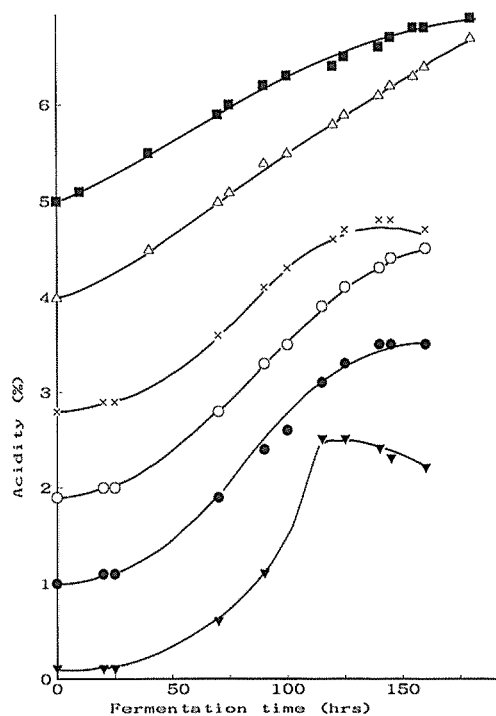


Fig. 3 Effect of initial alcohol concentration on acid production

x: 1%, △: 2%, ■: 3%, ○: 4%, ●: 5%

から正常な形態であるチリメン状を呈した。初発アルコール濃度については4%以下ならば問題はないと結論した。

Table 4. Effect of vinegar productivity on initial alcohol concentration in batch surface fermentation

	Initial alcohol concentration (%)				
	1	2	3	4	5
Productivity (%/24 hr)	0.72	0.97	0.69	0.70	0.48
Working volume (ℓ)	16	16	16	16	16
Surface area (m ²)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
Depth (cm)	10	10	10	10	10
Initial acidity (%)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Total concentration (%)	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0

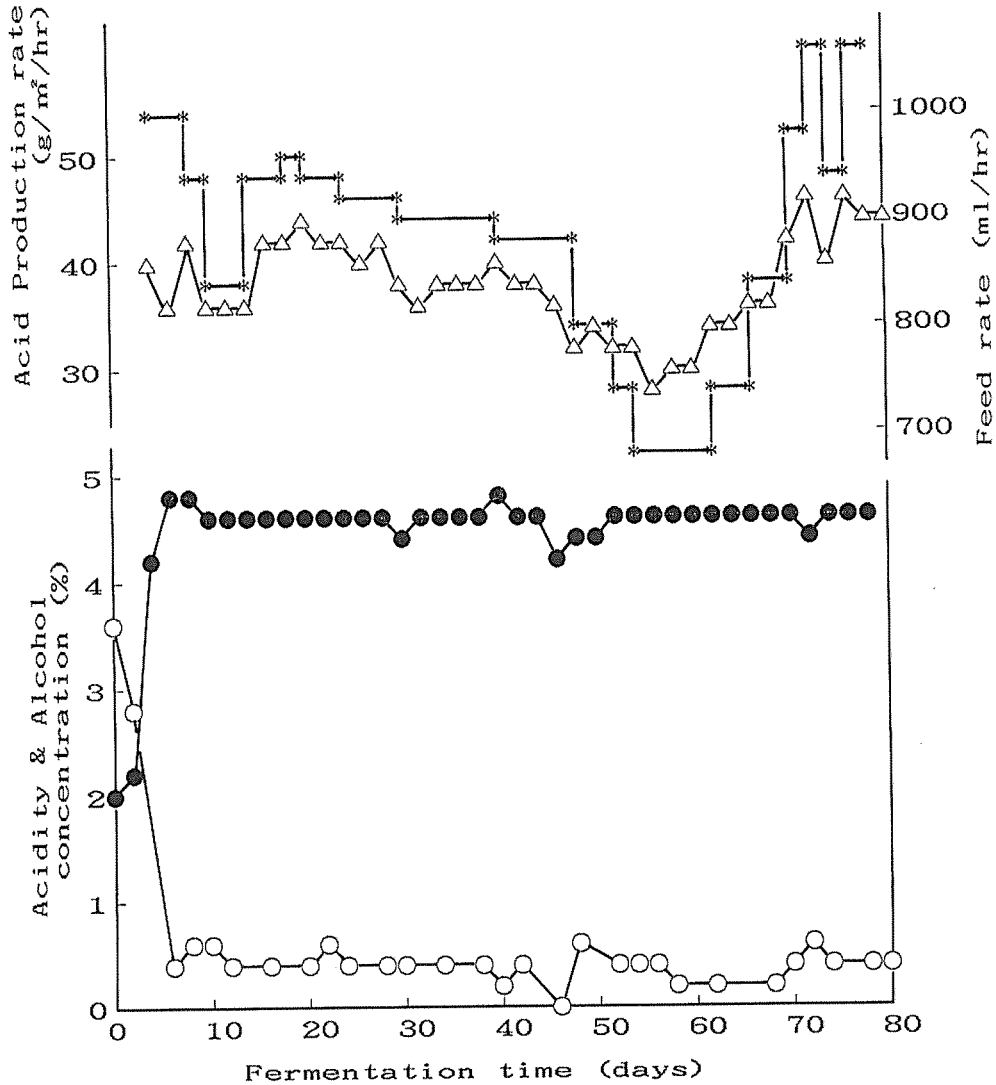


Fig. 4 Continuous surface fermentation for the production of acetic acid with a single vessel (Final acidity: 4.5%)
 ●: Acidity, ○: Alcohol concentration, *: Feed rate, △: Acid production rate

4. 酸度4.5%引卸の連続表面発酵

発酵条件の選択のため大発酵槽を用いて引卸酸度を4.5%とし、補給液流量を変動させて発酵を連続的に実施した。経過については Fig. 4 に、発酵期間21日～28日の安定した時期の発酵成績を Table 5 に記す。流量変化は 600 ml/hr～1000 ml/hr で1回/日の流量調節が酸度変化に対応して必要であった。引卸酸度は連続発酵初期の4.9%と定量ポンプ故障時の4.85%及び室温の低下(22°C)時の4.25%を除いてほぼ安定であった。残留アルコールは0.5%を目標に管理したが、0.2%以下では発酵成績に影響すると思われた。定量ポンプの故障により45日目の残留アルコール濃度が数時間から1日程度、約0.1%になったが、生酸量は故障前よりも低下するものの通常の表面発酵の値とほぼ同じぐらいであった。深部発酵では数10秒間の装置の停止により重大な生酸低下を起こすのに対して、表面発酵では生酸速度は深部発酵よりも低く、急激なアルコール濃度の低下を起こさない為時間的余裕があるので、連続表面発酵を実施に移した時にメリットとなりうる。発酵温度は液深 10 cm では上部と下部で約 1°C の差を生じるが、室温 30°C においては上部が 34°C 前後で一定になった。11日から15日頃の生酸の低下は初期の補給液流量を上げたことにより、45日から65日の生酸量の低下は酢酸菌膜が正常菌膜 (*A. pasteurianus*) より有害菌膜 (*A. xylinum*) が優勢となったことと、残留アルコール濃度の低下及び品温の低下によるものであり、66日以降の生酸量の増加は粘質物に覆われた有害菌膜が自重により発酵液中に沈下した後、表面に新たな正常菌膜が張り、回復した結果である。安井等¹⁵⁾は12槽連結方式により 0.80%/day の生産性を達成

Table 5. Result of continuous surface fermentation

Surface area	m ²	1
Working volume	m ³	0.1
S/V	m ² /m ³	10
Flow rate	ℓ/hr	0.9627
Acidity of feed solution	%	0.25
Alcohol conc. of feed solution	%	4.82
Total conc. of feed solution	%	5.07
Ave. acidity of broth	%	4.54
Ave. alcohol conc. of broth	%	0.34
Acid production rate	g/m ² /hr	41.3
Productivity	%/day	0.99

しているが、著者等はより簡便な単槽方式により、これを上回る 0.99%/day の良好な生産性を達成することができた。また、バッチ式表面発酵(液深 10 cm)では、全発酵期間の平均生産性は 0.40%/day なので、本試験結果はバッチ式の2倍以上の成績を示した。

5. 酸度5.5%引卸の連続表面発酵

酸度5.5%引卸を目的に、仕込酸度2%,仕込アルコール濃度4%,予定酸度6%にて発酵を開始し、発酵開始後70時間にて培地補給液を630 ml/hrで注入しはじめ、連続発酵に移行した。その経過を Fig. 5 に記す。培地補給液を注入する前の酢酸菌膜と酸度上昇は引卸酸度4.5%の場合と変わらないが、連続発酵時の生酸速度は開始初期の30 g/hrを最高に低迷した。原因として、酢酸菌膜の生酸継続限界が5%付近にあることが最も大きいと推察した。6日目より球形をした粘質物を伴う *A. xylinum* が全体に繁殖し、液表面を覆い、正常菌を圧倒した。その後生産性の回復も認められなかったので、15日目に試験を中止した。

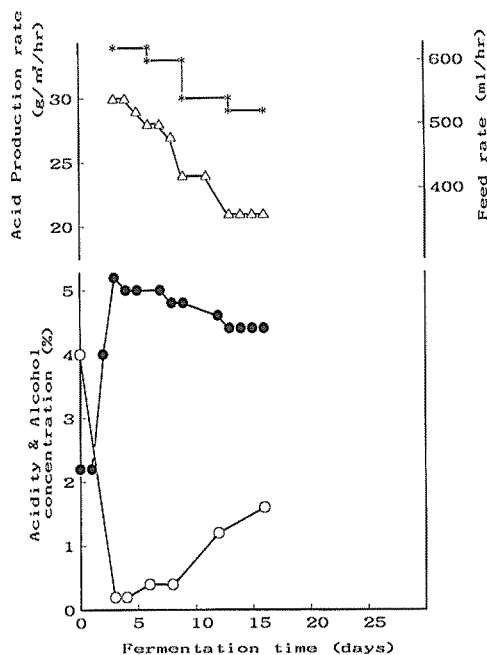


Fig. 5 Continuous surface fermentation for the production of acetic acid with a single vessel (Final acidity: 5.5%)

●: Acidity, ○: Alcohol concentration, *: Feed rate, △: Acid production rate

6. 連続表面発酵によって得られた食酢の官能評価

酸度4.5%引卸の連続表面発酵酢、深部発酵酢及び表面発酵酢の香の嗜好テスト（2点又は3点の中から好きなものを選択する）を実施した。サンプルは酸度4.2%にブレンドした後、精製濾過、殺菌を行い、官能評価に供した。Table 6 に官能検査（嗜好テスト）の結果を示した。連続表面発酵酢の香は深部発酵酢特有の異臭や刺激臭はなく、表面発酵酢の重厚でまろやかな感じと異なり、どちらかというとなり、くせない香であった。嗜好テストの結果からは連続表面発酵酢は表面発酵酢と比べても遜色なく、最も優れた香を有することが確認された。

Table 6. Sensory evaluation test of vinegar flavour

Number of panel	Vinegar 1* ¹	Vinegar 2* ²	Vinegar 3* ³
20	11	9	—
20	13	7	—
25	10	9	6

*¹ Vinegar 1: continuous surface fermentation

*² Vinegar 2: batch surface fermentation

*³ Vinegar 3: submerged fermentation

要 約

Acetobacter pasteurianus を用いた、食酢製造のための表面発酵法の改良を試みた。

1) 大、小2つの発酵槽を用いて、表面発酵における液深の影響、仕込酸度、仕込アルコール濃度の影響を調べ、続いて連続表面発酵を実施した。

2) 液深においては、浅い場合は液が比較的均一になるが、蒸発による液温低下が起きやすく、10 cm~20 cmが生酸速度も高くなり、適当と判断された。

3) 初発酸度、初発アルコール濃度はそれぞれ2%~3%、2.5%~3.5%が適当であった。

4) 引卸酸度を4.5%に設定した場合は80日間発酵を継続でき、バッチ式発酵による場合の2倍の食酢を生産することができた。

5) 官能検査によれば連続表面発酵酢はバッチ式表面発酵酢や深部発酵酢に比べて好まれる傾向にあった。

引 用 文 献

- 1) 稲葉見敬：表面発酵法に依る食酢の迅速醸造法。特許出願公告 昭36-11294
- 2) 山口種利・向井 薫：食酢の製造法。特許出願公告 昭38-7090
- 3) 稲葉見敬：食酢製造法の研究（第2報）。工学院大学研究報告。27: 128-135 (1970)
- 4) 高島静雄・高島昭宏：酢酸（食酢）の速醸法。特許出願公告 昭40-10955
- 5) 安井之雄・向井 薫：食酢の連続醸造法。特許出願公告 昭33-3798
- 6) 安井之雄：酒精発酵液を原料とする食酢速醸装置。特許出願公告 昭15-552
- 7) 中村 静・中島文雄：酸化発酵法。特許 昭17-151440
- 8) 重野 正：醸造に於ける速醸化装置。特許 昭19-166192
- 9) 茂木和二郎：食酢の製造法。特許出願公告 昭27-2947
- 10) 安井之雄・向井 薫：食酢の連続醸造法。特許出願公告 昭33-3799
- 11) 小田喜造：酸化発酵法の改良。特許 昭19-167071
- 12) 住江金之・柳田藤治・中小路忠彦：階段式食酢速醸法。特許出願公告 昭42-11991
- 13) 向井 薫：食酢の多槽式連続醸造法に於ける酢酸金皮膜層の破壊防止処理法。特許出願公告 昭41-16549
- 14) 安井之雄：食酢の連続醸造法の工業化。発酵協会誌。20: 475-481 (1961)
- 15) 安井之雄・伊香賀直・杉本充紀・伊達公雄：食酢の連続醸造法。特許出願公告 昭44-17996