

醸造酢における汚染微生物制御法

食品工業部 ○松永一彦, 瀬戸口眞治, 亀澤浩幸, 下野かおり

1. はじめに

静置発酵法で醸造酢を製造するにあたり, 汚染微生物である産膜酵母の増殖によりモロミが腐敗してしまうケースが見られる。産膜酵母は酢酸菌の増殖を抑制し酢酸発酵を阻害してしまうことから, 醸造酢を安定的に製造する上で産膜酵母を抑制することが重要な課題となる。そこで本研究では, 産膜酵母の増殖を抑制する技術及び増殖した産膜酵母に対する処置について検討したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 産膜酵母の単離及び同定

県内にある醸造酢メーカー6社から産膜酵母をサンプリングし, 常法により純粋・分離を行った。単離した産膜酵母については, 18S rDNAの塩基配列を解析し同定を行った。

2. 2 産膜酵母の増殖抑制試験

エタノールあるいは酢酸を添加したGYP液体培地に単離した産膜酵母または当センター保有の酢酸菌 (*Acetobacter pasteurianus*) を植菌し, 30℃で培養を行った。2週間後の培養液の外観, 成分分析及び微生物試験の結果を踏まえて, 産膜酵母の増殖抑制について検討を行った。

2. 3 増殖した産膜酵母に対する抑制試験

エタノールを約3%に調整したGYP液体培地に単離した産膜酵母または当センター保有の酢酸菌 (*Acetobacter pasteurianus*) を植菌し, 室温で培養を行った。培養に際して, わさびシートあるいはイソチオシアン酸アシルを含ませた脱脂綿を容器の蓋に貼付し, 2週間後の培養液の外観, 成分分析及び微生物試験の結果を踏まえて, 産膜酵母に対する抑制効果について検討を行った。また, 醸造酢メーカーの現場において, わさびシート及びイソチオシアン酸アシルの抑制効果について検証を行った。

3. 結果

3. 1 産膜酵母の単離・同定について

常法により純粋・分離を行った結果, 6株の産膜酵母を単離することが出来た。その6株について18SrDNAの塩基配列を解析したところ, *Pichia membranifaciens* (4株), *Issatchenkia orientalis* (1株), *Pichia anomala* (1株) と同定した。

3. 2 産膜酵母の増殖抑制について

静置発酵法で醸造酢ができるまでの一連の発酵過程の中で, 産膜酵母はアルコール発酵から酢酸発酵に移行する時期に増殖する(図1)。現地調査したところ, この時期のモロミはエタノール濃度で約6~9%, 酸度で1%以下を示すことが多いが, 産膜酵母が増殖したモロミの場合, エタノール濃度8%以下, 酸度で1%以下を示す傾向が見られた。

この現地調査の結果を踏まえて, エタノール及び酢酸に着目し, これら成分の濃度と産膜酵母の増殖抑制について検討を行った。その結果を図2, 3に示す。

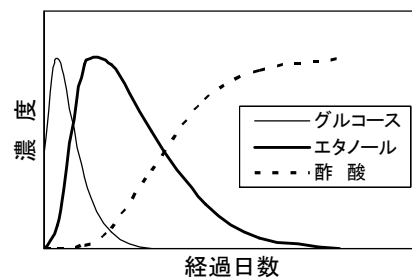


図1 発酵経過のパターン

産膜酵母は酢酸菌に比べてエタノール耐性が僅かながら低い傾向を示した。このことから、モロミのエタノール濃度を8.5%以上に設定することが産膜酵母を抑制する一つの方法であることが明らかとなった。また、酢酸濃度約1%以上で産膜酵母は増殖抑制を受けたことから、種酢を添加することも有効な方法の一つであった。

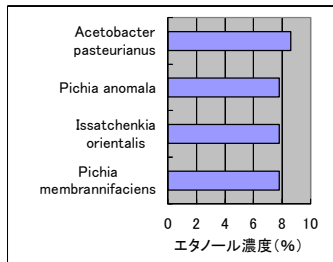


図2 エタノール耐性

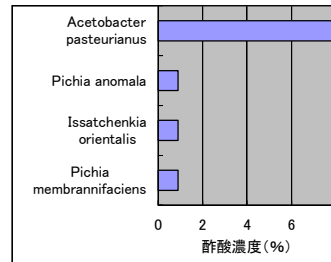


図3 酢酸耐性

3. 3 増殖した産膜酵母に対する抑制について

県内の醸造酢メーカーの製法では、醸造において原料以外のものを使用しないことを特長としている。この特長を受けて、醸造酢メーカーでは様々な手法で再発防止に取り組んでいるが、完全に抑制することは難しく抜本的な解決に至っていない。

産膜酵母の発生抑制試験に際して、モロミに直接添加することなく静菌性を示す材料を選択することが本製法を尊重する上で求められた。そこで、静菌性を示すことが一般に知られている揮発性のイソチオシアン酸アリルを含むわさびシートを選択した。実験室でイソチオシアン酸アリルの静菌性試験を実施したところ、本試薬に対する耐性は産膜酵母で低く酢酸菌に対しては僅かながら高い傾向を示した。また、一定以上の濃度で産膜酵母及び酢酸菌に対して殺菌効果を示すことが明らかとなった。好気性菌である産膜酵母と酢酸菌はモロミの表面で増殖することから、ガスの影響を受けやすかったと考えられた。しかし、この結果を踏まえて醸造酢メーカーで現場試験したところ、わさびシートの貼付量を増やしても産膜酵母を十分に抑制することはできなかった。壺づくりの場合、壺と蓋との間にわさびシートを挿入することで壺と蓋との密着性が低下し、イソチオシアン酸アリルが壺の外へ漏れやすい状態になったことが原因であると考えられた。そこで、わさびシートに代わってイソチオシアン酸アリルを脱脂綿に含ませ貼付する方法を試みた。この方法では、壺と蓋の間に挿入することなく小さく切った脱脂綿を蓋に貼り付けることが出来るため、壺の空間を気密にすることが出来た。約20 μ Lを脱脂綿に含ませて試験したところ、産膜酵母を抑制することができた。産膜酵母は酢酸菌に比べて増殖しやすいことから抑制後に再度汚染されることも心配されたが、イソチオシアン酸アリルが僅かに残存している内に酢酸菌を移植することで再汚染を防ぐことが出来た。

4. おわりに

アルコールを8.5%以上に設定することで産膜酵母の増殖を抑制することができた。また、種酢を添加して酸度を高めることも有効な方法の一つであった。一方、増殖した産膜酵母に対しては、イソチオシアン酸アリルを含ませた脱脂綿を容器の蓋に貼付して抑制した後、酢酸菌を移植することで再汚染を防止することができた。

5. 謝辞

産膜酵母の同定は、鹿児島大学農学部の藤田清貴博士に実施していただいた。ここに感謝の意を表します。