静置発酵及び密閉系連続濾過リアクター による柿酢の製造

山崎幸一・杉中克昭・土佐典照・堀江修二

(島根県立工業技術センター)

昭和 63 年 12 月 8 日受理

Production of Persimmon Vinegar by Stationary Fermentation or with a Continuous Membrane-filtration Reactor in Closed System which is Connected to Pure Oxygen

Yukikazu YAMASAKI, Katsuaki SUGINAKA, Noriteru TOSA and Shuji HORIE
(Institute of Industrial Science & Technology Shimane Prefecture, 219 Adakae,
Higashiizumochi, Yatsuka-gun, Shimane 699-1)

Persimmon vinegar was produced from persimmon fruits of inferior grade. Crushed fruits were fermented by adding yeasts directly (Expt. No. 1), or after sterilization (Expt. No. 2) at 70°C and pH 4.6, followed by acetic acid fermentation with bacteria. Acetic acid concentration reached 58.3 g/l after 30 days in No. 1, and 62.2 g/l in No. 2 after 120 days. Polyphenols present in persimmon juice was decreased during alcoholic fermentation, and further in acetic acid fermentation. The persimmon vinegar produced contained more potassium than commercial vinegar on the market, but ascorbic acid content was about the same as the latter. Production of persimmon vinegar was also examined by a continuous membrane-filtration reactor in a closed system which was connected to pure oxygen supplier (Expt. No. 3). As to the organic acids contents, the vinegar in No. 1 contained only small amounts of acids except lactic acid, but inverse was the case in No. 2 and 3. Vinegars in No. 2 and 3 contained more malic citric and succinic acids than the one on the market. No. 3 contained more aroma components such as acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol and isoamyl alcohol than No. 1 or 2.

Key words: 柿酢・純酸素・密閉系連続濾過リアクター

緒 言

島根県は四条柿の産地であり、生産量も年々増加している。しかし、規格外品が全体量の約 45% を占め、安い価格で取引きされているため、付加価値を高めることのできる加工品への変換を目的として柿酢製造を行った。

静置発酵は、昔から柿を容器に入れ放置しておく、柿酢になることが経験的に知られていた。しかし、このようにしてできた柿酢は、酸度が低く、一定の品質のものができにくいため、加熱殺菌をした後純粋な発酵菌を添加する方法について比較を行った。

また、製造期間の短縮化及び除菌された清澄な柿酢を

得るために、限外濾過膜を利用したリアクターについて検討した。

食酢、柿酢のリアクターはすでに数多くの報告¹⁻⁶⁾があるが、大部分は空気通気、酸素富化空気を用いているため、揮発性成分の揮散が問題となる。そこで、我々は、すでに、酢酸発酵中に生成する気体が微量であることを利用して、純酸素を接続した密閉系で酢酸発酵を行い、通気法より優れていることを確認した⁷⁾。

今回、さらに、純酸素を接続した密閉系連続濾過発酵法で柿酢の製造を行ったので報告する。

実験方法

1. 静置発酵による柿酢の製造方法

(1) 試験区 No.1: 西条柿 5 kg を脱渋 (ドライアイス, 2日間), 破碎後, 協会7号酵母を添加した。28°C で約 14 日間アルコール発酵させ, 布袋でろ過した後, 母液に前培養した酢酸菌 (造酢場から分離した Y-2 菌) を 5% 容添加し, 30°C で酢酸発酵させた。

(2) 試験区 No.2: No.1 と同じく脱渋, 破碎後, 酢酸で pH 4.6 に調整し, 75°C に加熱した。これを 50°C に冷却した後, ペクチナーゼ (ヤクルト製ペクチナーゼ 3S) 0.05% 添加し, 50°C, 5 時間作用させた。以下の操作は, No.1 と同様とした。

2. 純酸素を接続した密閉系連続ろ過発酵による柿酢の製造方法

No.2 と同じ操作でアルコール発酵させ, エタノール濃度 52 g/l に調整後, 70°C に加熱, 冷却したものを発酵原液とした。

操置は, 東京理化学器械ミニジャーファメンター M-100 を用い Fig.1 のように接続した。発酵原液 1.5 l に前培養した Y-2 菌を添加し, 開放系で 4 日間, 30°C 静置培養後, 純酸素を接続し, 密閉系とした。発酵原液は④のポンプで連続的に①の発酵槽へ注入され, 発酵槽の液は⑤のポンプにより, 6 l/min の流速で⑥のろ過装置へ送られ, 日東電工製限外ろ過膜 NTU-3150 でろ過をした。また, 送液量と母液量を同じにするため, ④のポンプ流量を調節した。

気相部分は②の酸素ボンベより酸素を送り, ジャーファメンター内のかくはん子の回転数を大きくして, 発酵原液中の溶存酸素濃度を大きくした。酢酸生成について lag phase の場合は, 100~200 rpm の低回転で, log phase から steady phase になると 400~600 rpm と大きくした。また, 溶存酸素濃度は, 隔膜式溶存酸素電極で経時的に測定した。

3. 分析方法

(1) 酢酸: フェノールフタレインを指示薬として, 0.1 N NaOH で滴定し, 酢酸換算で示した。

(2) エタノール: 日立 073 型ガスクロマトグラフにより, 充てん剤 Porapak QS, 内部標準物質にイソプロパノールを用いて分析した。

(3) ポリフェノール: フォリン・デニス法⁸⁾で分析した。

(4) カリウム: 炎光分析法により分析した。

(5) アスコルビン酸: インドフェノール比色法により分析した。

(6) 香氣成分: 100 ml のサンプル瓶に試料 5 ml,

Fig. 1 Schematic diagram of continuous membrane-filtration reactor

1. Jar fermenter, 2. Oxygen bomb, 3. liquid for acetic acid fermentation, 4. Pump for sending liquid, 5. Pump for circulating liquid, 6. apparatus for filtration, 7. filtrate

Fig. 2 Changes in acetic acid and ethanol content during batch fermentation

水 5 ml, 食塩 4 g を加え, 50°C, 30 分間保った後のヘッドガス成分を PEG-1000 の 3 m ガラスカラムを用いたガスクロマトグラフで分析した。

(7) 有機酸: 東京理化学器械製カルボン酸分析計により, 常法通り分析した。

結果及び考察

1. 静置発酵による柿酢の製造

(1) 酢酸及びエタノールの变化

Fig. 2 に示したように, No.1 の酢酸は, 酢酸菌添加後約 30 日まで増え, 58.3 g/l の濃度になったが, No.2 の酢酸は, 漸増し, 約 120 日で 62.1 g/l の濃度となった。

No.1 は, 殺菌を行っていないため, 野生の菌がそのまま生存し, 後述のように乳酸生成量も多く, アルコール発酵と同時に他の発酵も行われ, No.2 に比べエタノール生成量が少なくなったと推察された。

No.2 は, 発酵期間が長くなったが, このことは酢酸菌添加時のエタノール濃度が高く, 酢酸菌の lag time を長くしたためと考えられた。

(2) ポリフェノール量の変化

渋味の残った柿果汁から試験区 No.2 と同じ製造方法

Table 1 Potassium and Ascorbic acid contents.

	Potassium (mg/100 ml)	ascorbic acid (mg/100 ml)
No.1	167	0.2
No.2	227	0.7
Wine Vinegar	55*	0.5
Rice Vinegar	6*	0.2

* quotation from STANDARD TABLES OF FOOD COMPOSITION IN JAPAN 4th revised edition

Table 2 Effect of residence time on continuous membrane-filtration reactor.

	Residence time (hr)	
	42	50
Productivity of acetic acid (g/l/hr)	1.25	1.26
Rate of changing into acetic acid (%)	77.6	93.4

Productivity of acetic acid (g/l/hr)

$$= \frac{\text{Acetic acid concentration (g/l)}}{\text{Residence time (hr)}}$$

Rate of changing into acetic acid (%)

$$= \frac{\text{Acetic acid concentration (g/l)} \times 100}{\text{Ethanol concentration before acetic acid fermentation} \times 1.303 \text{ (g/l)}}$$

Fig. 3 Change in polyphenol content.

で柿酢を作り、柿果汁、アルコール発酵後、酢酸発酵後の各々のポリフェノール含量を Fig. 3 に示した。発酵によってポリフェノール含量は減少し、柿酢では渋味を感じなかった。アルコール発酵及び酢酸発酵中に生じる沈澱は、酵母、酢酸菌が大部分であるが渋味を伴っていることから、ポリフェノールは菌体に吸着され沈澱となって減少してゆくと推察された。

(3) カリウム・アスコルビン酸含量

四訂日本食品標準成分表によると、柿は他の果実と比較しカリウム、アスコルビン酸を多く含んでいる。柿酢中での含量を Table 1 に示した。カリウムは No. 1, No. 2 とともに市販のブドウ酢、米酢よりかなり多く含まれていたが、アスコルビン酸はほぼ同程度であった。

2. 純酸素を接続した密閉系連続濾過発酵法による柿酢の製造

Fig. 4 に発酵濾液中の酢酸、エタノール濃度の経時変化を示した。約 100 時間目までは密閉系で静置培養した後、連続発酵を行い、滞留時間 50 時間と 42 時間で定

Fig. 4 Changes in acetic acid and ethanol content during fermentation of continuous membrane-filtration reactor **Fig. 5** Change in Flux.

常状態を得た。滞留時間の影響を Table 2 に示した。酢酸生成速度はほぼ同じであったが、酢酸変換率は滞留時間 50 時間の方が高くなった。このことは、濾液中の酢酸濃度が 52.6 g/l から 63.5 g/l に上昇したため、高濃度酢酸含有の柿酢を連続的に得るには、滞留時間 50 時間の方が適していることがわかった。また、各 phase によって、かくはん子の回転数を変えて行ったが、lag, log, steady とすすむに従い呼吸速度は増大し、各 phase での溶存酸素濃度は約 0.2 ppm と低濃度を維持した。このことから、酸素供給速度をさらに高めれば、酢酸生成速度が増大することが予想される。

今回の実験は、約 400 時間で中断したが、さらに続行可能であり、今後、長期間高濃度酢酸存在下での酢酸菌の挙動及び適切な溶存酸素濃度の設定など詳細に検討する予定である。

Fig. 5 に Flux の経時変化を示した。約 10 時間で 35% 低下した。これは逆洗によって回復し、約 400 時間位までは、濾過流量が調節できた。

3. 有機酸含量の比較

Fig. 6 から Fig. 9 まで試験区 No. 1, No. 2 (各々アルコール発酵後、酢酸発酵後)、No. 3, 市販のワイン酢、

Fig. 6 Comparison of lactic acid content.

Fig. 7 Comparison of malic acid content.

Fig. 8 Comparison of citric acid content.

米酢についての有機酸含量を示した。

(1) 乳酸

前述のように No. 1 はアルコール発酵中に乳酸発酵も行われ、多量の乳酸が蓄積されるが、酢酸発酵中に減少する。乳酸は酢酸菌によって資化されアセトイン系化合物を生成するという報告⁹⁾もあり、アセトイン系化合物の官能に与える影響が問題となる。

No. 2 はアルコール発酵後も少なく酢酸発酵でさらに減少し、市販のブドウ酢、米酢とはほぼ同量になった。

No. 3 は最も少なかったが、豊富な酸素条件下で短時間発酵を行ったことが何んらかの影響を与えていると思

Fig. 9 Comparison of succinic acid content.

Table 3 Components of head space vapor.

	Components of head space vapor (mg/100ml)				
	Acetaldehyde	Isobutylaldehyde	Ethylacetate	Isobutylalcohol	Isoamylalcohol
No. 1	trace	16.5	0.6	0.3	1.1
No. 2	trace	10.7	2.9	0.6	1.2
No. 3	9.1	1.9	21.2	3.0	7.5

われた。

(2) リンゴ酸

No. 1 は少なかったが、No. 2 はアルコール発酵後多量に存在し、酢酸発酵で減少した。このことは、酵母によって生成され、酢酸菌によって資化されることを示唆している。また、No. 1 はアルコール発酵と同時に乳酸発酵など他の発酵も進行しているため、リンゴ酸の生成量が相対的に少なくなったと思われる。

(3) クエン酸、コハク酸

クエン酸、コハク酸ともアルコール発酵で増加し、酢酸発酵によって若干減少した。また、リンゴ酸と同じく No. 1 は No. 2 より少なく、複合的な発酵の影響と思われる。

有機酸を総合的に比較すると、No. 1 は乳酸以外の有機酸が少なく、逆に No. 2, No. 3 は乳酸が少なく、他の有機酸が多かった。また、No. 2 は市販酢に比較し、リンゴ酸、クエン酸、コハク酸が多かった。

4. 香気成分の比較

Table 3 に No. 1, No. 2, No. 3 のヘッドガス中の成分量を示した。No. 3 は No. 2 に比べアセトアルデヒド、酢酸エチル、イソブチルアルコール、イソアミルアルコールが多く、イソブチルアルデヒドが少なかった。

No. 1 と No. 2 はあまり差がなく、酢酸エチルがわずかに No. 2 の方が多かった。

5. 官能評価

柿酢は独得の香りがあり、No. 1 は特に強く感じられた。今後、この香りについて成分的な確認を行う予定である。No. 2 はバランスのとれた味、香りがあり、3試験区の中で最も好評であった。No. 3 は酢酸臭がかなり

強いため、常温で数日間放置しておくとう丸味のある良好な柿酢となった。

要 約

規格外品の柿を有効利用するため柿酢の試作を行い、さらに、純酸素を接続した密閉系連続ろ過発酵法により、短時間で清澄な柿酢を連続的に生産できた。静置発酵は、殺菌を行わず、酵母添加、酢酸菌添加のみで発酵させた試験区 (No. 1) と殺菌、pH 調整 (酢酸) 後、酵母添加、酢酸菌添加を行った試験区 (No. 2) について検討した。

その結果、No. 1 はアルコール発酵中に乳酸が多量に生成され、酢酸菌添加後約 30 日で 58.3 g/l の酢酸濃度となった。No. 2 は約 120 日で 62.2 g/l の酢酸濃度となり、高濃度のエタノールが酢酸菌の lag time を長くしたと思われた。

ポリフェノールは、柿果汁、アルコール発酵液、柿酢と発酵がすすむにつれて減少した。

柿果実中に多いカリウムは柿酢でも多く含まれていたが、アスコルビン酸は少なかった。

また、純酸素、限外ろ過膜を用いた密閉系連続ろ過発酵法 (No. 3) で柿酢を連続的に生産した結果、滞留時間 50 時間で酢酸濃度 63.5 g/l の柿酢が得られた。

さらに、No. 1, No. 2, No. 3 の有機酸を比較した結果、No. 1 は乳酸以外の有機酸が少なく、逆に No. 2, No. 3 は乳酸が少なく、他の有機酸が多かった。No. 2, No. 3 は市販酢に比較して、リンゴ酸、クエン酸、コハク酸が多く含まれていた。香気成分は No. 3 が No. 1,

No. 2 に比較し、アセトアルデヒド、酢酸エチル、イソブチルアルコール、イソアミルアルコールを多く含んでいた。

終りに臨み、御指導御助言を賜りました微生物工業技術研究所高崎義幸部長ならびに広島大学工学部永井史郎教授に深謝いたします。また、膜の提供を賜りました日東電気工業(株)池田健一氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) A. NANBA, K. KIMURA and S. NAGAI : *J. Ferment. Technol.*, **63**, 175 (1985)
- 2) J. OSUGA, A. MORI and J. KATO : *J. Ferment. Technol.*, **62**, 139 (1984)
- 3) A. OKUHARA : *J. Ferment. Technol.*, **63**, 57 (1985)
- 4) C. GHOMMIDH; J. M. NAVARRO and G. DURAD : *Biotechnol and Bioeng.*, **24**, 605 (1982)
- 5) 諸木保彦, 柏木享, 椎木幹夫, 有富和生, 木村精二, 篠原伸雄, 佐伯明比古 : 昭和 59 年度技術開発研究費補助事業成果普及講習会用テキスト, 中小企業庁
- 6) 中野浩 : 醸造に関するシンポジウム講演集, p.15 (1987)
- 7) 山崎幸一, 杉中克昭, 土佐典照, 松崎一, 岩本正俊, 堀江修二 : 島根県立工業技術センター研究報告, **25** 1 (1988)
- 8) 中村敏郎 : 食品の変色とその化学, p.84, 光琳書院 (1967)
- 9) 中島実, 中川秀幸, 本江薫, 山下市二, 青木章平 : 日食工誌, **34**, 818 (1987)