フラクトオリゴ糖含有ヤーコンビネガー の製法

本堂正明*・奥村幸広*・山木 携*

A Preparation Method of Yacon Vinegar Containing Natural Fructooligosaccharides

Masaaki HONDO*, Yukihiro OKUMURA*
and Tazusa YAMAKI*

*Hokkaido Food Processing Research Center, 589-4,
Bunkyo-dai Midori-machi, Ebetsu City, Hokkaido
069-0836

Acetic acid fermentation of yacon juice was performed with *Acetobacter pasteurianus* IFO 14814 of acetic acid bacteria. Reduction of the juice's grassy odor and the possibility for development of yacon vinegar containing natural fructooligosaccharides (FOS) were investigated. (1) Yacon juice with and without alcohol fermentation treatment was used. Acetic acid fermentation was conducted under the following conditions: 30°C, initial pH 5.0, initial ethanol concentration 5.5% (w/v) and acetic acid bacteria pre-culture concentration 10% (v/v). As a result, in surface culture, more than 4.0% acetic acid was produced from YJ•OC-2 (1d) after 32 days and from YJ•OC-2 (10ds) after 20 days, respectively. In shaking culture, more than 4.0% acetic acid was produced from YJ, YJ•OC-2 (1d), YJ•OC-2 (10ds) and YJ•OC-2 (Glc•1d) after 5 days, respectively. (2) A sensory evaluation on above sample juice containing FOS was carried out. As a result, the grassy odor was almost reduced completely in all the sample juice. Moreover, the smell became better in YJ•OC-2 (1d) of surface culture, while 2.4% (w/v) total FOS content was still retained in the juice. So, it was suggested that better yacon vinegar containing natural FOS was possibly developed from YJ•OC-2 (1d) juice of surface culture.

YJ; yacon juice. OC-2; Kyokai Yeast No.1. YJ•(Glc); YJ after 70 g glucose was added to one liter juice. YJ•OC-2 (1d); YJ after alcohol fermentation with OC-2 for one day. YJ•OC-2 (Glc•

1d); YJ•(Glc) after alcohol fermentation with OC-2 for one day. YJ•OC-2 (Glc•2ds); YJ•(Glc) after alcohol fermentation with OC-2 for 2 days. YJ•OC-2 (10ds); YJ after alcohol fermentation with OC-2 for 10 days.

(Received Apr. 25, 2000; Accepted Jul. 14, 2000)

ヤーコン (Yacon) は、南米アンデス高地原産のキク科の多年草で、塊根は多汁である。この中にフラクトオリゴ糖 (FOS) が多量含まれている。これを搾汁してフラクトオリゴ糖含有ジュースを調製し、食品への利用を図ることを目的としている。本研究では酵母によるアルコール発酵と酢酸菌による酢酸発酵の組合せにより、ヤーコンジュースの脱臭と清澄化を図り、同時にフラクトオリゴ糖含有ヤーコンビネガー開発の可能性を検討した。

一般的な原料を用いた醸造酢の製造法、規格や技術史等については柳田が総説^{1)~4)}で詳細に述べている。一方オリゴ糖酢としては大豆オリゴ糖酢調製の報告⁵⁾やまた既に商品化されているイソマルトオリゴ糖酢などが知られている。しかしヤーコンビネガーの開発事例は全くみられないため、以下得られた知見を報告する。

1. 実験方法

(1) 試料とジュースの調製

平成4年11月収穫の置戸町産ヤーコン塊根を試料に用いた。前報⁶⁾の方法に従いジュースを調製した。すなわち 54.0 kg の試料から 26.2 kg のジュースが得られた。収率は 48.4% (w/w) であった。また高速液体クロマトグラフィによる測定結果から、ジュースの糖質組成はフルクトース、グルコース、スクロースと FOS の 1-ケストース (3 糖)、ニストース (4 糖)、5 糖、6 糖、7 糖、8 糖、9 糖と 10 糖でそれぞれ、3.2, 1.9, 0.8, 1.8, 2.4, 1.5, 0.7, 0.4, 0.2, 0.1 と 0.1 (g/ジュース 100 ml) であった。全 FOS 含量は 7.2 g で全糖質の約 55% を占めた。

(2) 供試菌と使用培地

ジュースのアルコール発酵には、ワイン酵母の OC-2 (協会酵母 1 号) を用いた。OC-2 の液体培養にはグルコース、1%, ペプトン、0.5%, 酵母エキス、0.3%, 麦芽エキス、0.3% の培地組成の MY 培地を用いた。また OC-2 用斜面培地には同組成の 1.5% 寒天培地を用いた。次にジュースの酢酸発酵には酢酸菌の *Acetobacter pasteurianus* IFO 14814 (以後 *A. pasteurianus* IFO 14814 と略記) を用いた。*A. pasteurianus* IFO 14814 の液体培養にはポリペプトン、0.5%, 酵母エキス、0.5%,

* 北海道立食品加工研究センター (〒069-0836 江別市文京台緑町 589 番地 4)

グルコース, 0.5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1% の培地組成の酢酸菌増殖培地を用いた. 同斜面培地には同組成の 1.5% 寒天培地を用いた.

(3) ヤーコンジュースのアルコール発酵処理

OC-2 酵母の前培養液の調製; 斜面培地の OC-2 コロニーより一白金耳鈎菌し, 121°C, 15 分で殺菌された液体培地 200 ml (1 l 容バッフル付三角フラスコ使用) に接種後, 30°C, 150 rpm で 2 日間振とう培養した. 無菌的に培養液を冷却遠心分離 (5,000 rpm, 20 分) 後, 得られた菌体を少量の滅菌水で洗浄した. 次に殺菌済目盛り付き遠心チューブ (10 ml 容) で遠心分離 (3,000 rpm, 10 分) 後, 滅菌水で一定量に定容した. これを OC-2 前培養液とした.

ヤーコンジュースのアルコール発酵処理; 3 l 容ステンレス製キッチンポットに未補糖ジュース 1 l 又は補糖ジュース 1 l (70 g 無水グルコース添加) を入れ, 80°C・15 分湯殺菌した後, 水道水で急冷した. これに OC-2 前培養液 (生菌数; 2×10^9 個/1 ml) 5 ml をそれぞれ添加した. 未補糖ジュースでは 1 日間と 10 日間, 補糖ジュースでは 1 日間と 2 日間それぞれ 25°C, 静置でアルコール発酵を行った. 冷却遠心分離 (5,000 rpm, 20 分) 後の菌体除去清澄ジュースをアルコール発酵処理ジュースとした. 以後それぞれ YJ・OC-2 (1d), YJ・OC-2 (10ds), YJ・OC-2 (Glc・1d) と YJ・OC-2 (Glc・2ds) と略記した.

(4) ヤーコンジュースの酢酸発酵処理

A. pasteurianus IFO 14814 の前培養液の調製; 斜面寒天培地の *A. pasteurianus* IFO 14814 コロニーより一白金耳鈎菌し, 殺菌済液体培地 200 ml (1 l 容バッフル付三角フラスコ使用) に接種後, 30°C, 200 rpm で 2 日間振とう培養した. これを前培養液 (種菌) とした.

試料ジュースの酢酸発酵条件; 試料ジュースとして未処理ジュース (YJ) と前述のアルコール発酵処理ジュースを用いた. 静置式の表面培養と三角フラスコを用いた振とう培養法で行った.

表面培養では 400 ml の試料ジュースを用いた. 最初に各試料ジュースのエタノール含量に応じて培養液量 500 ml に対して 5.5% (w/v) となるように必要なエタノール溶液 (試薬特級 99.5%) を添加した. ただし YJ・OC-2 (10ds) の試料ジュースはエタノール溶液無添加である. 次に 1 N-塩酸又は 1 N-水酸化ナトリウム溶液を用いて初発 pH を 5.0 に調整した後, 蒸留水を添加し 450 ml に定容した. これを 1 l 容バッフル付三角フラスコに入れ, 70°C の湯浴中還流冷却下で 65°C・15 分加熱

殺菌した. 速やかに水道水で急冷後, これに 10% (v/v) に相当する前培養液 50 ml を添加した. トータルの培養液量を 500 ml として 30°C で 32 日間静置培養した. 培養直前 (0 日), 培養 10 日後, 20 日後と 32 日後にそれぞれ約 8 ml ずつサンプリングし分析に供した.

振とう培養では 160 ml の試料ジュースを用いた. 表面培養と同様に初発エタノール濃度が 5.5%, 及び初発 pH が 5.0 になるようにそれぞれ調整後, 蒸留水を添加し 180 ml に定容した. これをバッフル付き三角フラスコ (1 l 容) に入れ同様に殺菌後, 前培養液が 10% に相当する 20 ml を添加し, 培養液量を 200 ml として 30°C, 200 rpm で 7 日間振とう培養した. 培養直前 (0 日), 培養 2 日後, 5 日後と 7 日後にそれぞれ約 4 ml ずつサンプリングし分析に供した.

いずれも培養終了後, 培養液を冷却遠心分離 (5,000 rpm, 20 分) し, 得られた清澄ジュースを酢酸発酵処理ジュースとした.

(5) 分析方法

全窒素含量; ケルダール窒素分解法⁷⁾ によった.

pH; 試料液の pH をデジタル式 pH メータで測定した.

エタノール, 酢酸と糖質含量; 試料液を遠心分離 (3,000 rpm, 10 分) して得られた上澄液を 0.45 μm のフィルターでろ過したろ液をエタノール, 酢酸と糖質含量の測定用試料とした. エタノールはゲルろ過分離モード用の TSKgel G-Oligo-PW カラムで, 酢酸は有機酸分析用カラムを用いた BTB 反応法で, 各糖質は順相分配分離モード用の TSKgel Amide-80 カラムを用いてそれぞれ HPLC 法⁸⁾ で測定した.

(6) 酢酸発酵処理ジュースの官能評価

酢酸発酵が十分に行われた FOS 含有酢酸発酵処理ジュースを用いた. 試料ジュースの香りの良否を評価した.

2. 実験結果と考察

(1) 未処理とアルコール発酵処理ジュースの pH, エタノールと糖質含量

Table 1 に各試料ジュースの pH, エタノールと糖質含量を示した. pH はアルコール発酵処理ジュースで 4.6~4.9 に低下した. エタノール生成量はアルコール発酵処理ジュースで 3.9~6.3% であった. また全 FOS 含量は YJ で 7.2% 含まれていたが, アルコール発酵処理ジュースの未補糖の YJ・OC-2 (1d) と YJ・OC-2 (10ds) ではそれぞれ 3.9% と 0.4% に低下した. 補糖した YJ・OC-2 (Glc・1d) と YJ・OC-2 (Glc・2ds) ではそ

Table 1 pH, ethanol and soluble sugar content of various yacon juice after alcohol fermentation with OC-2

(g/100 ml-juice)						
Before alcohol fermentation			After alcohol fermentation			
Sample juice name	YJ	YJ·(Glc)	YJ·OC-2 (1 d)	YJ·OC-2 (10 ds)	YJ·OC-2 (Glc·1 d)	YJ·OC-2 (Glc·2 ds)
Juice pH	6.1	6.0	4.9	4.8	4.7	4.6
Ethanol produced	—	—	3.9	6.1	3.7	6.3
Fructose	3.2	3.2	0.4	0.0	2.0	0.1
Glucose	1.9	8.1	0.2	0.0	1.5	0.0
Sucrose	0.8	1.0	0.0	0.0	0.3	0.1
Total FOS	7.2	7.0	3.9	0.4	7.2	5.5
Total sugars	13.1	19.3	4.5	0.4	11.0	5.7

OC-2, Kyokai Yeast No. 1; FOS, fructooligosaccharides; YJ, yacon juice; YJ·(Glc), YJ after 70 g glucose was added to one liter juice; YJ·OC-2 (1 d), YJ after alcohol fermentation with OC-2 for one day; YJ·OC-2 (10 ds), YJ after alcohol fermentation with OC-2 for 10 days; YJ·OC-2 (Glc·1 d), YJ·(Glc) after alcohol fermentation with OC-2 for one day; YJ·OC-2 (Glc·2 ds), YJ·(Glc) after alcohol fermentation with OC-2 for 2 days.

れぞれ7.2%と5.5%を示した。YJは灰茶褐色で濁り、青臭みがあったが、アルコール発酵処理ジュースはいずれも茶褐色透明で、青臭みがまだ若干残存した。以後これら5つの試料ジュースを用い、酢酸発酵処理を検討した。

(2) 酢酸発酵中の酢酸含量の変化

Fig. 1-(1)に表面培養の結果を示した、酢酸含量はYJ·OC-2 (10 ds)では22日後に4.2%、YJ·OC-2 (1 d)では32日後に4.2%を示した。いずれも十分に酢酸発酵が行われた。一方YJ, YJ·OC-2 (Glc·2 ds)とYJ·OC-2 (Glc·1 d)では、酢酸含量は32日後にそれぞれ、2.1%、1.7%と0.1%を示し、十分に酢酸発酵が行

Fig. 1 Changes in acetic acid content of various yacon juice during acetic acid fermentation with *Acetobacter pasteurianus* IFO 14814

—□—, YJ; —◇—, YJ·OC-2 (1 d); —△—, YJ·OC-2 (Glc·1 d); —○—, YJ·OC-2 (Glc·2 ds); —■—, YJ·OC-2 (10 ds).

YJ, YJ·OC-2 (1 d), YJ·OC-2 (Glc·1 d), YJ·OC-2 (Glc·2 ds) and YJ·OC-2 (10 ds) were represented in Table 1.

われなかった。一般的に醸造酢の酸度は酢酸換算で 4.0% 以上¹⁾ 必要とされるため、表面培養法では YJ・OC-2 (10 ds) と YJ・OC-2 (1 d) の試料ジュースが適していた。

Fig. 1-(2) に振とう培養の結果を示した。YJ・OC-2 (10 ds) は 2 日後には酢酸が多く生産され、表面培養法と同様発酵性が最も良好であった。5 日後に、YJ・OC-2 (10 ds), YJ, YJ・OC-2 (1 d) と YJ・OC-2 (Glc・1 d) の酢酸含量はそれぞれ 4.4%, 4.8%, 4.8% と 4.2% 生成され、いずれも十分に酢酸発酵が行われた。振とう培養法では空気が十分供給されたため、酢酸発酵が十分に行われたと考えられた。

(3) 酢酸発酵中の全 FOS 含量の変化

Fig. 3-(1) に表面培養の結果を示した。酢酸発酵が不十分であった pH が 3.7 の YJ では全 FOS 含量が約 80% 残存した。酢酸発酵が良好で pH が 3.6 を示した YJ・OC-2 (1 d) では全 FOS 含量が約 83% 残存した。酢酸発酵がほとんど行われなかった pH が 4.6 の YJ・OC-2 (Glc・1 d) では全 FOS 含量の変化は小さかった。

Fig. 3-(2) に振とう培養の結果を示した。いずれも十分に酢酸発酵が行われ、pH が 3.3~3.5 に低下した試料ジュースである。YJ では全 FOS 含量が約 80% 残存した。YJ・OC-2 (1 d) では全 FOS 含量に変化がなかった。YJ・OC-2 (Glc・1 d) では全 FOS 含量が約 94% 残存した。

以上の結果よりいずれの培養法においても全 FOS 含量の減少は概して少なく約 80% 以上は残存した。

(4) 酢酸発酵処理ジュースの官能評価と主要成分値

Table 2 に酢酸含量が 4.0% 以上で、FOS が含有されている酢酸発酵処理ジュースの香りの官能評価と主要成分値を示した。いずれも色は茶褐色を呈し、今後脱色を検討する必要があった。青臭みはいずれの酢酸発酵処理ジュースもほとんどなかった。その中で、表面培養法で得られた YJ・OC-2 (1 d) の酢酸発酵処理ジュースでは、香りが比較的良好であった。また、まだ 2.4% (w/v) の全 FOS が残存した。

(5) ヤーコンビネガー調製法の検討結果

Table 2 の官能評価結果から、OC-2 酵母で 1 日間アルコール発酵させた試料ジュース、すなわち YJ・OC-2 (1 d) を用い、酢酸発酵処理条件として温度 30℃、初発 pH 5.0、初発エタノール濃度 5.5% (w/v) と前培養液添加率 10% (v/v) に設定し、約 1 カ月間、表面培養法で酢酸発酵処理を行った方法が、FOS 含有ヤーコンビネガーの調製法としてよりベターな方法と考えられた。

3. 要 約

酢酸菌の *Acetobacter pasteurianus* IFO 14814 を用い、ヤーコンジュースの酢酸発酵処理を行った。ヤーコンジュースの青臭み除去とフラクトオリゴ糖 (FOS) 含有ヤーコンビネガー開発の可能性を検討した。

(1) 未処理ジュース (YJ) とアルコール発酵処理ジュース、すなわち未補糖で 1 日と 10 日、グルコースを補糖して 1 日と 2 日、OC-2 酵母でアルコール発酵させたジュースを用いた。それぞれ YJ・OC-2 (1 d), YJ・OC-2 (10 ds), YJ・OC-2 (Glc・1 d) と YJ・OC-2 (Glc・2 ds) と略記した。酢酸発酵処理条件を温度 30℃、初発 pH 5.0、初発エタノール濃度 5.5% (w/v) と前培養液添

Fig. 2 Changes in total fructooligosaccharides content of various yacon juice during acetic acid fermentation with *Acetobacter pasteurianus* IFO 14814

—■—, YJ; —◆—, YJ·OC-2 (1 d); —▲—, YJ·OC-2 (Glc·1 d);

Table 2 A sensory evaluation and major components of yacon vinegar

(g/100 ml-vinegar)

Cultivation method Sample juice	Surface culture		Shaking culture	
	YJ・OC-2 (1 d)	YJ	YJ・OC-2 (1 d)	YJ・OC-2 (Glc・1 d)
Grassy odor from yacon juice	—	—	—	—
Smell after acetic acid fermentation	○	×	×	×
pH	3.6	3.3	3.5	3.4
Total nitrogen	0	NT	NT	NT
Acetic acid	4.2	4.8	4.8	4.2
Ethanol	0.1	0	0	0
Fructose	0.8	3.3	0.8	1.7
Glucose	0	0	0	0
Sucrose	0.2	1.2	0.2	0.4
Total FOS	2.4	5.3	3.0	5.1

—, Little ; ○, good ; ×, somewhat bad ; NT, Not tested.

加率 10% (v/v) に設定し、表面培養と振とう培養法を比較検討した。その結果、表面培養法では YJ・OC-2 (1 d) は 32 日後に、YJ・OC-2 (10 ds) は 20 日後にそれぞれ 4.0% 以上の酢酸が生成された。振とう培養法では 5 日後に全試料ジュースで、すなわち YJ, YJ・OC-2 (1 d), YJ・OC-2 (10 ds) と YJ・OC-2 (Glc・1 d) でそれぞれ 4.0% 以上の酢酸が生成された。

(2) 酢酸発酵が正常に行われた FOS 含有酢酸発酵処理ジュースを用い、香りを官能評価した。その結果、いずれの試料ジュースもヤーコンジュースの青臭みがほとんどなかった。その中で、表面培養法で得られた YJ・OC-2 (1 d) の酢酸発酵処理ジュースの香りが、比較的良好であった。また全 FOS 含量が 83% 残存し、まだ 2.4% (w/v) 含まれた。

(3) 以上の結果から、YJ・OC-2 (1 d) の試料ジュースを用い、表面培養法で約 1 カ月間、酢酸発酵処理を行う

方法が、FOS 含有ヤーコンビネガー調製法としてよりベターな方法と考えられた。

文 献

- 1) 柳田藤治：醸協，**80**，450 (1985)。
- 2) 柳田藤治：醸協，**80**，534 (1985)。
- 3) 柳田藤治：醸協，**80**，798 (1985)。
- 4) 柳田藤治：醸協，**80**，851 (1985)。
- 5) 沖 裕治・橋本 香・松本貴至・久保田昭正・江本三男・小橋恭一：農化，**66**，727 (1992)。
- 6) 本堂正明・中野敦博・奥村幸広・山木 携：日食科工，**47**，148 (2000)。
- 7) 永原太郎・岩尾裕之・久保彰治：全訂食品分析法 (柴田書店，東京)，p. 99 (1977)。
- 8) 本堂正明・宇野豊子・奥村幸広・山木 携：北海道立食品加工研究センター研究報告，**2**，35 (1996)。

(平成 12 年 4 月 25 日受付，平成 12 年 7 月 14 日受理)