

企業講演 II

壺づくり黒酢の発酵と微生物

坂元醸造株式会社 専務取締役 長野 正信

黒酢は陶製の壺（胴径 43cm、高さ 62cm、内容量 54L）に蒸し米・米麴・地下水を加え、水面を覆うように米麴を粒一層の厚さで振り撒き（振り麴）、屋外で発酵を 3~6 ヶ月、熟成に 6 ヶ月以上かけるので仕込みから収穫まで 1 年以上の時間をかけて製造される。使用される麴は黄麴菌であり、一般の醸造酢は、原料を糖化・アルコール発酵した後、種酢を加えて酢酸発酵を行い製造されるが、黒酢は酵母・酢酸菌の添加が一切行われない伝統的な製法で製造される。特筆すべき点は振り麴が発酵の前期（糖化・アルコール発酵）では蓋となり外界からの微生物の侵入を防ぎ、後期（酢酸発酵）ではこれが液中に沈み、空気が必要な酢酸菌の菌膜が水面に張ることができる状況を作り出すことである。この結果、黒酢の製法は糖化・アルコール発酵・酢酸発酵が一つの壺で連続して行われる世界でも稀な独特なものになっている。麴菌による糖化が始まると生成したブドウ糖を乳酸菌が乳酸発酵し、発酵液の pH は乳酸濃度の上昇により急激に低下する。このため、多くの微生物の生育が抑えられ、壺を屋外に設置していても発酵が安定的に進行し得ると考えられる。ブドウ糖濃度は 0.5% を超えることはなく、エタノール濃度は発酵開始 7 日目では 5.5% となり、その後減少していきエタノール濃度の減少に対応するように酢酸濃度が直線的に増加する。最終的な酢酸濃度は酸度 6% 程度に達する。このことから、壺の中で糖化、乳酸発酵、アルコール発酵、酢酸発酵が順に生じていることが確認される。

微生物を単離することなく壺から直接微生物の DNA を抽出し同定する DGGE 法（変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）で 16SrRNA 遺伝子を調べると、1 日目以降には多種の乳酸菌が検出され 15 日目まではこれらの乳酸菌が主要になっている。このことから、発酵開始当初に検出された乳酸はこうした乳酸菌群により生成される。真核微生物の 26SrRNA 遺伝子を対象とした DGGE 解析を行なうと、発酵開始時には麴菌のみが検出され、その後 *Saccharomyces cerevisiae* (酵母) が検出される。麴菌が検出されたのは、米麴中の孢子が発酵液中に存在していたためと推測され、酵母が検出されたことは、発酵液のエタノール濃度が発酵開始後速やかに上昇していることに合致している。酢酸菌については *Acetobacter pasteurianus* が発酵開始後 15 日目以降で検出される。酢酸菌の DGGE 解析での出現時期は、酢酸濃度が直線的に上昇し始める時期と一致しており、*Acetobacter pasteurianus* が酢酸生成に主として寄与していると考えられる。また、黒酢製造に関わる微生物の由来について解析すると、発酵初期の乳酸菌は米麴から検出され、また、アルコール発酵過程の主要酵母である *Saccharomyces cerevisiae* も米麴から検出される。一方、乳酸菌 *Lactobacillus acetotolerans* と酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* は、醸造に使用する壺の内壁から検出される。