

「鹿児島壺造り黒酢」醸造に関わる酢酸菌  
— 「蔵つき酵母」ならぬ「壺つき酢酸菌」はいるのか? —

東京農業大学応用生物科学部醸造科学科  
貝沼（岡本） 章子

【目的】鹿児島県霧島市で生産される「鹿児島壺造り黒酢」は、江戸時代より伝わる伝統的な製法で造られる。その醸造法は、現在普及している食酢醸造法とは異なり独特で、陶器製の壺の中に、混ぜ麹・蒸し米・地下水・振り麹を順に仕込み、露天に静置しておくというものである。麹菌以外の微生物の添加を一切行なわないにも拘わらず、その後、壺の中で糖化・アルコール発酵・酢酸発酵が自然に進行し、酢が生成する。このような一連の発酵過程には、麹菌以外に乳酸菌・酵母・酢酸菌の関与が必要であるが、このうち乳酸菌と酵母については、仕込み時に用いる麹由来であることが既に明らかになっている。<sup>1)</sup> しかし、酢酸菌については、*Acetobacter pasteurianus* の関与が報告されているものの、麹からは検出されない一方、壺の内壁より検出されており、<sup>1)</sup> 壺中に棲息し、環境が至適化されると増殖して酢酸発酵を行なうというモデルが考えられている。

本研究では、坂元醸造（株）の酢酸発酵中の複数の壺より酢酸菌を分離し、ゲノム解析を行なうことにより、同社の黒酢醸造を支えている酢酸菌について精密な調査を行なった。すなわち、清酒における「蔵つき酵母」のような「壺つき酢酸菌」が存在するののかについて解析・考察を行なったので、その概要を解説する。

【方法および結果】坂元醸造（株）で仕込みを行った壺のうち、酸度が 2~3%程度に上昇した酢酸発酵期の壺より菌膜および発酵液をサンプリングし、集積培養を経て酢酸菌の分離を行った。サンプリングは、壺種・壺畑・仕込み時期の異なる計 8 壺について行った。分離された酢酸菌は、コロニー性状に多様性は観察されたものの、16S rRNA 配列を解析した結果、いずれも *Acetobacter pasteurianus* と同定された。これらの酢酸菌 19 株についてドラフトゲノム解析を行い、得られたゲノム情報を用いて 1) SNPs 連結配列準拠 2) オルソログ連結配列準拠 3) 全塩基配列間の相同値準拠という、三種類の手法で解析したところ、全て同様の結果となり、出現頻度の高い 17 株は同一の株を起源とする極めて近い系統関係にあることが判明した。また、これらの株は、既に全ゲノム配列が公開されている *A. pasteurianus* 既存株（3283-01, 386B）とは異なるユニークな系統にあることも明らかになった。

以上より、同社の黒酢製造においては、醸造過程で種酢や酢酸菌の添加を伴わないにも拘わらず、酢酸発酵に関わる酢酸菌は常に同系統であり、壺種・壺畑・仕込み時期に関係なく同系統の株、すなわち同社の「壺つきの酢酸菌」と言える株が発酵に寄与していることが強く示唆された。分離株のうち一株についてコンプライートゲノム解析を行った結果についても併せて報告する。

1) 石井ら：つば造り黒酢, 醸協, 104, 652 (2009).