

資 料

赤外分光による西条柿の柿酢発酵過程の評価

松林 和彦*・小林 こずえ*・竹本 美保**

1. 目 的

赤外分光法は測定対象物の分子構造に関する情報を取得できることから、特に有機物の定性分析によく利用されている。しかし食品分野では試料に含まれる多量の水分により、分析が困難な場合がある。近年、赤外分光分析を行うための代表的な測定手法の1つである全反射減衰法(ATR法: Attenuated total reflection)の普及によりこのような問題も解決しつつあることから、食品や農産物の評価にこの方法を用いた研究が報告されている¹⁻³⁾。そこで赤外分光法の県内食品製造業への活用を目的とし、発酵食品の工程管理への適用の可能性について検討した。

検討を行う発酵食品は醸造酢の一種である柿酢とし、発酵中の赤外分光スペクトルの変化を追跡するため試験醸造を実施した。さらに実際に島根県の特産品である西条柿を使った柿酢製造を行う事業者の協力を得て、実際の製造醪に対する評価技術の適用可能性についても検討した。

2. 方 法

2.1 分析試料

柿酢は原料の柿に含まれるグルコースやフルクトースなどの糖類を酵母がエタノールに変換し、そのエタノールを酢酸菌が酢酸に変換することで完成する。そこでこれら4種類の化合物を発酵モニタリングの追跡対象物質に設定し、それらの標準品の10%水溶液を作成し、赤外分光スペクトル測定を実施した。

試験醸造は既報⁴⁾を参考に実施した。柿酢の原料は、島根県産西条柿のヘタを36度のホワイトトリカーに少量浸し、ビニール袋に入れ15℃、14日間置くことで脱渋したものをを用いた。脱渋した柿の種子、ヘタを除去し、ブレンダーで破碎し、ペースト状に加工した。ペースト加工後の果汁の糖度は約15(Brix%)となった。ペースト状果汁を85℃達温で加熱殺菌し、品温が50℃まで低下したところでペクチナーゼ(ヤクルト薬品工業株式会社製ペクチナーゼ3S)を0.01%(w/v)添加し、30℃、4時間処理した。酵素処理物を布で濾過し、梅花酵母⁷⁾を添加した。アルコール発酵は15℃で10日間行った。酢酸発酵に用いる酢酸菌

は、日本醸造協会より購入したものを拡大培養して用いた。拡大培養用培地は、ポリペプトン0.5%(w/v)、酵母エキス0.5%(w/v)、グルコース0.5%(w/v)、硫酸マグネシウム・七水和物0.1%(w/v)を含む水溶液を滅菌し、終濃度6%(v/v)となるようエタノールを加えて調製した。この培地に酢酸菌を植菌し、30℃、24時間、通気、攪拌条件で培養したものを遠心分離し、デカンテーション後の残渣を拡大培養物とし、醪に添加した。酢酸発酵は30℃で22日間行った。アルコール発酵期間中および酢酸発酵期間中にサンプリングを行い、赤外分光測定を実施した。

実際の柿酢製造醪は、浜田市内で西条柿を使った柿酢を製造する交流施設「たばせ屋」から提供を受けた。

2.2 分析方法

赤外分光測定はフーリエ変換赤外分光光度計(Perkin Elmer社製Spectrum100)を用い、サンプル溶液約10 μ Lを1回反射ATRアクセサリのクリスタル(ダイヤモンド)上に滴下し測定を行った。積算回数は4回、分解能は4 cm^{-1} 、測定範囲は4000~650 cm^{-1} とし、結果の解析には1500~900 cm^{-1} の領域を用いた。

3. 結 果

3.1 標準品の赤外分光スペクトル

図1~4に標準品の10%水溶液の赤外分光スペクトルを示した。縦軸の吸光度(Absorbance)は濃度が高くなるほど大きな値を示すことが知られている。グルコースとフルクトースは1000~1100 cm^{-1} 付近の領域に複数のピークを示した。エタノールは1045 cm^{-1} と1085 cm^{-1} にピークを示し、酢酸は1277 cm^{-1} 、1390 cm^{-1} 、1014 cm^{-1} にピークを示した。いずれの標準品も1500~900 cm^{-1} の領域にはC-H変角、C-O伸縮、C-O-H変角等の振動に由来する吸収が全体的に広がっているため、それぞれの物質に由来するピークを混合物の状態で完全に分離して定量することは困難である。しかし図1~4に示したそれぞれのスペクトル形状は明確に異なることから、定性的に状態を把握することは可能である。

3.2 試験醸造の発酵モニタリング

図5に試験醸造における発酵過程の赤外分光スペクトル変化を示した。0d~10d(発酵開始0日目~10日目)のアルコール発酵の期間では1000~1100 cm^{-1} 付近のピーク

*食品技術科, **無機材料・資源科

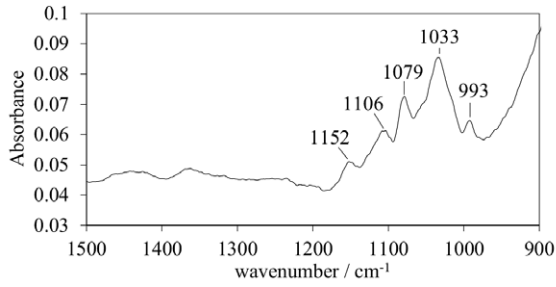


図1 グルコースの10%水溶液の赤外分スペクトル

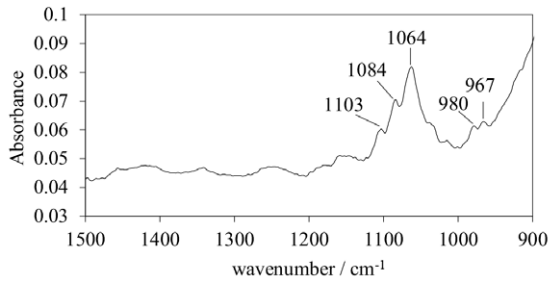


図2 フルクトースの10%水溶液の赤外分スペクトル

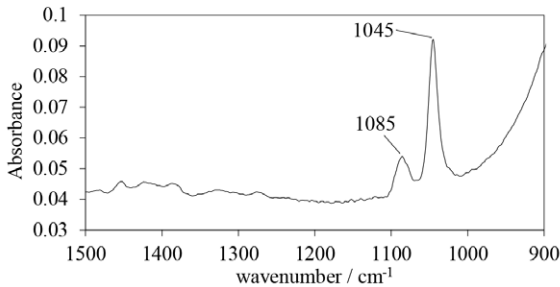


図3 エタノールの10%水溶液の赤外分スペクトル

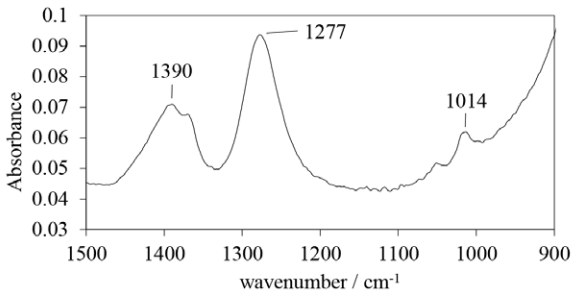


図4 酢酸の10%水溶液の赤外分スペクトル

ク形状が大きく変化した。0dでは複数の波形が重なった形状をしていたが、10dではエタノールの波形に近い形に変化した。この期間は糖類がエタノールに変換されたと考えられ、その様子が明確にとらえられた。10～32dの酢酸発酵の期間ではエタノールの波形から酢酸の波形への変化が観測された。標準品のスペクトル測定から得られたそれぞれの物質の代表的なピーク波長（グルコース：1033 cm^{-1} 、フルクトース：1064 cm^{-1} 、エタノール 1045 cm^{-1} 、酢酸：1277 cm^{-1} ）の吸光度の推移を図6に示した。発酵の進行により、それぞれの物質が変換していく様子が観測された。

3.3 柿酢製造醗の発酵モニタリング

図7に「たばせ屋」から提供を受けた柿酢製造醗の発酵

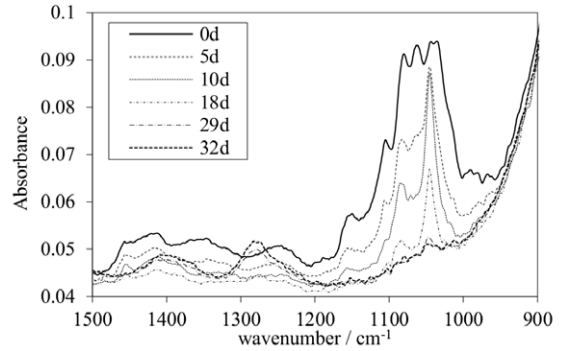


図5 柿酢発酵過程における赤外分光スペクトル変化

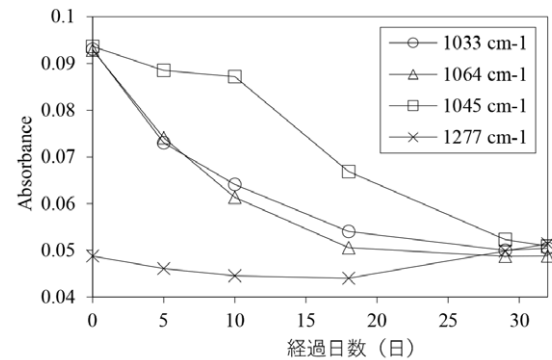


図6 柿酢発酵過程における吸光度変化

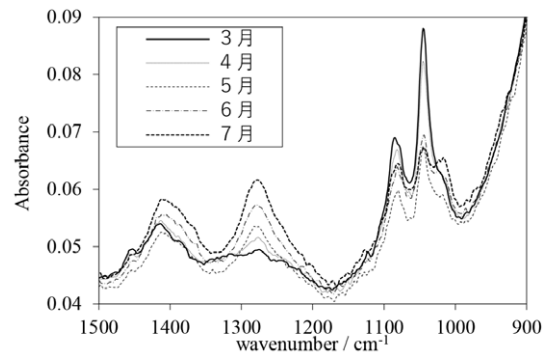


図7 柿酢発酵過程における赤外分光スペクトル変化

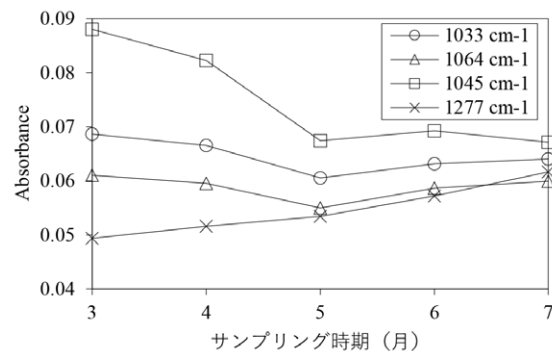


図8 柿酢発酵過程における吸光度変化

過程の赤外分光スペクトル変化を示した。測定開始時の3月時点では発酵開始からすでに約3ヶ月経過していたため、糖類よりもエタノールの特徴を示すスペクトルが観測された。その後の毎月の測定により、エタノールから酢酸

へスペクトル形状が徐々に変化する様子が観測された。図8に図6と同様にそれぞれの物質の代表的なピークの吸光度の推移を示した。エタノールに由来する 1045 cm^{-1} の吸光度が徐々に減少しながら、酢酸に由来する 1277 cm^{-1} の吸光度が増大しており、少しずつ酢酸発酵が進行している様子が観測された。

3.4 まとめ

試験醸造と実際の柿酢製造醪の分析により、赤外分光測定による柿酢の発酵過程の評価が可能であることが示された。この方法は1回の測定時間が3分以内と短時間で完了すること、分析に必要なサンプル量が $10\mu\text{L}$ 程度と少量であること、複雑な前処理が不要であることなどから、発酵工程での簡易モニタリング手法としての有用性が示された。さらに簡易に取得したデータとはいえ、単なる対象成分の定量数値ではなく「分光スペクトル」という解析可能な情報を持っていることから、そのデータの蓄積は製造工程の検証や改良において多くの活用の可能性を秘めていると考えられる。今後は赤外分光の発酵食品以外への活用の可能性も検討する予定である。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、試料提供および有益なご助言をいただいた交流施設「たばせ屋」の小川泰昭様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 亀岡孝治, 橋本篤. 農産物・食品の赤外分光分析とその応用. 農業情報研究. 2003, vol.12, no.3, p.167-188.
- 2) 末原憲一郎, 亀岡孝治, 橋本篤. 赤外分光情報に基づいた嗜好飲料のスペクトル特性把握. 日本醸造協会誌. 2018, vol.133, no.3, p.133-141.
- 3) 中嶋悟, 有田真香. ヨーグルト生成過程における乳酸発酵速度の赤外分光その場観測. 日本調理科学会誌. 2024, vol.57, no.2, p.89-99.
- 4) 山崎幸一, 土佐典照, 杉中克昭, 堀江修二. 西条柿の有効利用(柿酢の製造). 鳥根県工業技術センター研究報告. 1989, no.26, p.11-14.
- 5) 渡部忍, 土佐典照, 山崎幸一, 大坪陸己. 西条柿の有効利用乳酸菌を利用した発酵調味料の開発. 鳥根県産業技術センター研究報告. 2006, no.43, p.11-15.
- 6) 松林和彦, 小林こずえ, 田畑光正. 柿及びブルーベリーを用いた果実酢の製造. 鳥根県産業技術センター研究報告. 2020, no.56, p.21-22.
- 7) 土佐典照, 房薇, 石見銀山梅花酵母, 及びそれを用いて製造される発酵飲食品または飼料. 特許第 4899138 号. 2012-01-13.