

酒饅頭の製造に用いる酒もとから分離した微生物の活用(第1報)

近藤真一、澤井美伯、吉村明浩、久松賢太郎、宮下美香*、日高皓平*、柴山洋翔*、北野英樹**

Utilization of Microorganisms Isolated from Sake Manju Moto

Shin-ichi KONDO, Yoshinori SAWAI, Akihiro YOSHIMURA, Kentaro HISAMATSU, Mika MIYASHITA, Kohei HIDAKA, Kaito SHIBAYAMA and Hideki KITANO

酒饅頭の生地を発酵に用いる酒もとから分離された微生物(計44株)のうち酵母を用いて酒饅頭の品質改善を検討した。まず分離された酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) 13株を用いて酒もとを作成し、アルコール発酵や有機酸生成の能力が高い2株を選抜した。選抜した酵母株に適した乾燥麹も選定し、これらを用いて製造現場で酒もとを作製したところ、従来の酒もとよりもアルコール濃度が高く、有機酸量が多いものとなった。

また、分離酵母株の清酒醸造特性についても検討した。分離株を用いて総米200 gの小仕込み発酵試験を行ったところ、きょうかい701号よりも炭酸ガス減量が多い株が2株見出された。清酒酵母に対するキラー性について確認したところ、全ての株においてキラー性は確認されなかった。

1. はじめに

酒饅頭は小麦粉の生地で餡を包み、これを蒸すことで製造する日本の伝統的な和菓子の一つである。大垣市にある和菓子の老舗においても、酒饅頭は主力商品となっており、その製法も百年以上前からの経験をもとに培われてきたものである¹⁾。

この酒饅頭の製法の中で、生地を発酵させて膨らませる工程があり、もち米と米麴を材料に作られた酒もとが用いられる。この酒もとは、材料に前日の酒もとの一部を加えて作製する、いわゆる「継足し」によって長年維持されてきた。夕方に継足しを行って一晩置いた酒もとはアルコールを含んでいるが、酒もとはアルコール発酵を促す微生物を意図して加えていない。したがって、微生物は継足しの際に添加された前日の酒もとに由来すると推定される。酒もとで生育する微生物は、継足しによって毎日継代され、一晩かけて増殖し、その一部が生地を膨らませる役目を担っていると考えられる。

このため、酒もとは毎日栄養源が与えられ、一晩のうちに微生物が増殖し、その一部が翌日に引き継がれるという微生物の特殊な生育環境でもあると捉えることができる。すなわち、長年の継足しの中で酵母など酒もとの環境で生存に有利な微生物によって、独自の菌叢が形成されたものだと見える。

したがって、この菌叢中から、酒饅頭の製造に特に有利な微生物のみを獲得できれば、酒饅頭の品質向上が期待できる。また、酒もとは長期に渡る食経験のある食品資源

でもあることから、分離された微生物を他の食品分野へ活用することが容易であると考えられる。

そこで、本研究では酒もと由来の微生物を酒饅頭の品質向上や他の食品等に活用することを目的とし、酒もとから微生物を分離し、得られた微生物の特性を調べた。

2. 実験方法

2.1 微生物の分離

2.1.1 分離源

継足しを行った直後の酒もと、継足して一晩置いた酒もと、酒もとを加えて発酵させた生地をそれぞれ採取した。

2.1.2 分離操作と菌株の提供

分離は(独)製品評価技術基盤機構(National Institute of Technology and Evaluation; NITE)によって行われ、得られた分離株の提供を受けて以下により各株の特性を検討した。

2.2 酒もと製造条件の検討

2.2.1 小規模の継足試験方法

実際の酒饅頭の製造方法を参考に小規模なモデル系を設計し、継足試験を行った。

容量1 Lの蓋付き瓶にもち米25 g、水200 mLを加え、105°Cで15分オートクレーブし、これに乾燥米麴25 gを加えたものを継足用培地(以下「酒もと培地」という。)とした。

試験初日に、10 mLのYPD培地で酵母を前培養したものと及び水10 mLを酒もと培地に添加して混合した。これを25°Cで17時間培養し、ネットで粗く濾したものを4°Cで保管し、その日の継足しに用いた。継足しは、酒もと20 mLを酒もと培地に添加し混合することで行い、以後は初日の操作と同様に行った。継足しの操作は3回繰り返した。

2.2.2 継足しの環境に有利な酵母の選抜

* 独立行政法人製品評価技術基盤機構

(National Institute of Technology and Evaluation; NITE)

** 株式会社金蝶園総本家

酒もとから分離された全酵母株について継足試験を実施し、毎日酒もとのアルコール濃度、日本酒度、酸度及びアミノ酸度を測定した。なお、比較対照としてきょうかい701号(以下「701」という。)及び泡なしG酵母(岐阜県G酵母シリーズ。以下「NFG」という。)を用いて同様の操作を行った。

このうち、成分値に特徴のみられた6株について酒もとの有機酸量を測定した。測定は高速液体クロマトグラフを用いてポストカラム法により行った²⁾。

2. 2. 3 選抜した酵母を用いた実地試験

選抜した酵母株を800 mLのYPD培地で前培養したものを用いて、和菓子の製造現場で1週間継足試験を行った。継足の操作やレシピは、分離源となった製造現場の酒もと(オリジナル)の継足しに準じて行った。

使用する株は、酒もとのアルコール濃度、アミノ酸度、有機酸量をもとに選定し、A-9株及びB-33株の2種類とした。

2. 2. 4 継足しに適した麴の検討

市販の乾燥米麴4種類(麴A、麴B、麴K、麴I)を用いて継足試験を実施し、毎日酒もとのアルコール濃度、日本酒度、酸度及びアミノ酸度を測定した。なお、麴Aは味噌用、麴Bはみりん用、麴Kは甘酒用、麴Iは清酒醸造用として販売されている。酵母は2. 2. 3で使用したA-9株とB-33株を用いた。

2. 2. 5 分離株と乾燥麴を用いた実地試験

A-9株又はB-33株と麴Bを用いて和菓子の製造現場で1週間継足試験を行った。800 mLのYPD培地で前培養したものを用いて、和菓子の製造現場で1週間継足試験を行った。継足の操作やレシピは、オリジナルの酒もとの継足しに準じて行った。

2. 3 酵母の清酒醸造特性の検討

2. 3. 1 小仕込み試験

分離酵母株を用いて、総米200 gの小仕込み試験を行った³⁾。比較対照として、701及びNFGを用いて同様の操作を行った。

2. 3. 2 酵母キラー性の判定

分離酵母株とNFGをYPD培地(1%Agar)で共培養し、酵母キラー性の有無を確認した⁴⁾。

3. 結果と考察

3. 1 微生物の分離

酵母(*S. cerevisiae*)13株、乳酸菌17株、その他の微生物14株が分離された。

3. 2 酒もと製造条件の検討

3. 2. 1 継足しの環境に有利な酵母の選抜

継足試験におけるアルコール濃度の推移(図1)を調べた。酵母13株はいずれも継足しを2~3回繰り返せば濃度の大きな上昇は見られなくなることから、継足しを3回行った酒もとの分析結果から継足し環境における酵母の特性を考察することとした。分離酵母株を用いた酒もとのアルコール濃度(図2上段)は、1株を除き701よりも高かった。清

酒酵母は数週間という比較的長い期間における発酵能力が求められるのに対し、分離株は毎日継足しが行われるという特殊な環境で生き残ってきた酵母であり、一晚という短時間のうちに代謝し増殖する能力が高いものが生存に適している。このことが今回の試験の結果として表れたと考えられる。また、各酒もとの酸度、アミノ酸度について図2中段及び下段に示した。酸度及びアミノ酸度はそれぞれアルコール濃度が高い株ほど値が高くなる傾向があったが、酸度とアミノ酸度の分布(図3)は弱い相関関係があるに留まった。図3から特徴的な6株について有機酸量を調べたところ(表1)、有機酸量の組成が株ごとで異なることがわかった。分離酵母株の特性は一樣ではなく、多様性に富んでいる結果となった。これらのことから、使用する酵母によって作られる饅頭の皮の風味が変化することで、商品の幅を広げられるものと期待される。

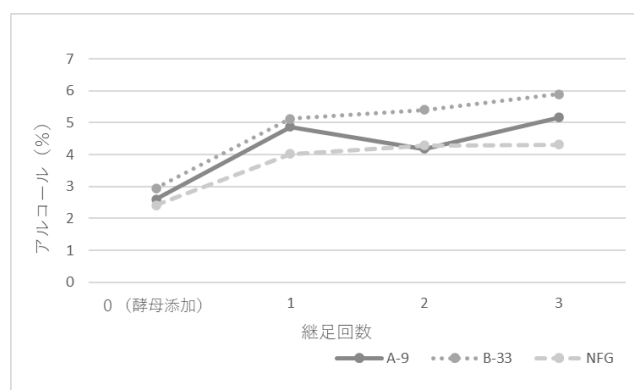


図1 継足試験におけるアルコール濃度の推移 (一部のみ表示)

3. 2. 2 選抜酵母を用いた実地試験

酒もとの有機酸量を測定した(表2)ところ、乳酸が当研究所で行った試験結果(表1)と比較して40倍以上の量が検出された。オリジナルの酒もとは乳酸菌を含む菌叢であるため、乳酸が高値となった。一方、クエン酸、ピルビン酸及びリンゴ酸の生成が確認されなかった。この要因として乳酸菌が増殖して乳酸を生成し、酒もとのpHが低下したことで酵母の活動が低下した可能性が考えられた。オリジナルの酒もとは分離株を用いた酒もとよりも2倍近くの乳酸を含んでおり、もともと乳酸菌が優勢になりやすい条件が整っているとみられるが、分離株を用いた酒もとは乳酸菌を加えていないことから、何らかの微生物の作用が推測された。

3. 2. 3 継足しに適した麴の検討

3回継足した酒もとの分析結果を図4に示す。有機酸の生成量は、酵母株の違いよりも麴の違いを強く反映していた。麴Bはアルコール濃度や有機酸の生成量が他の麴よりも高い傾向にあったことから、今回用いた麴の中では麴Bが継足しという環境に一番適していると結論付けた。

3. 2. 4 分離株と乾燥麴を用いた実地試験

1週間継足しを行った酒もとの有機酸量の分析結果を表3に示す。まず、オリジナル以外の酒もとの乳酸の量は、当研究所の実験値に近いものとなった。2. 2. 3との違いは米麴を従来品から乾燥麴に変更したことのみであることから、乳酸菌の主な供給源は米麴であると考えられた。

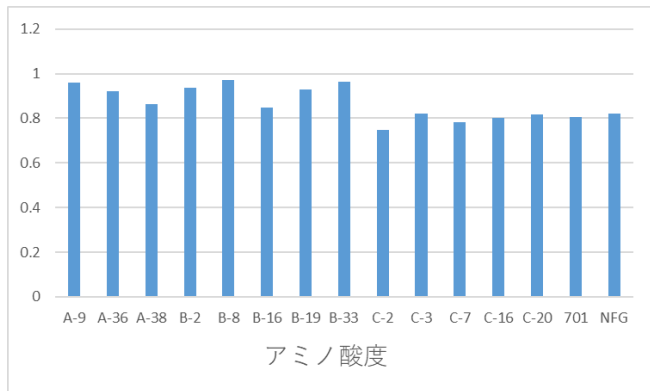
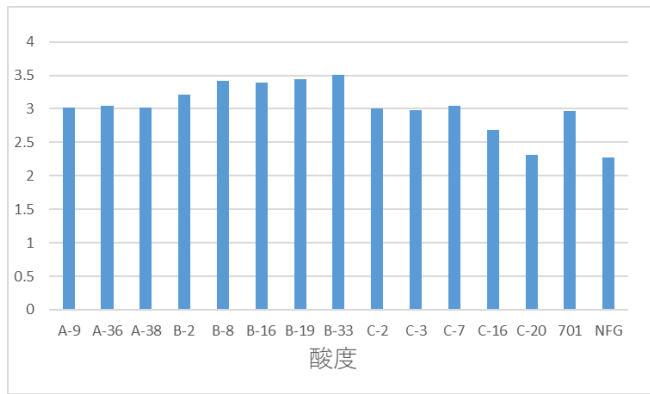
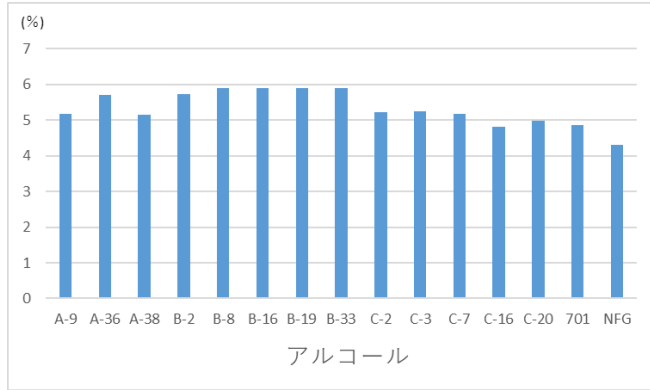


図2 各酒もとの分析結果

表1 継足試験で得られた酒もとに含まれる有機酸量

	クエン酸 + ビルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
A-9	379	52	129	58	7
A-38	381	49	128	54	0
B-16	251	55	161	70	16
B-33	225	46	142	59	13
C-12	301	51	114	57	0
C-20	346	53	129	57	9

単位: ppm

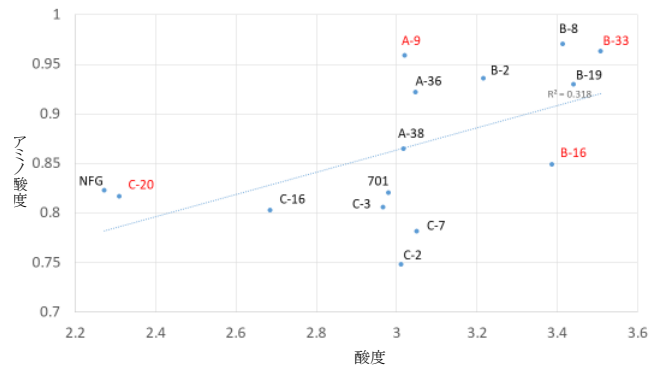


図3 分離株で作製した各酒もとの酸度-アミノ酸度の分布

表2 酒もとに含まれる有機酸量の比較

	クエン酸 + ビルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
オリジナル	0	0	106	5783	195
A-9	0	0	139	2474	1015
B-33	0	0	125	2457	1032

単位: ppm

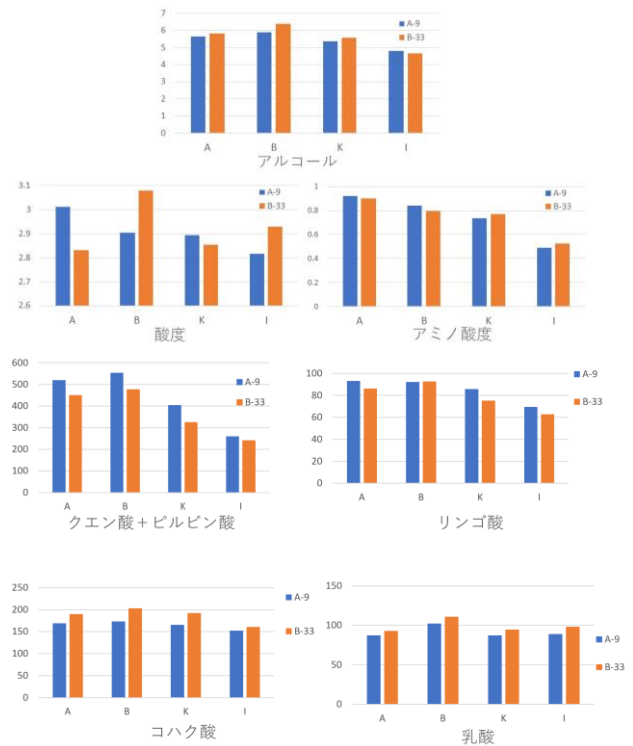


図4 麴選定のための継足試験結果

表3 酒もとに含まれる有機酸量の比較(麴変更後)

	クエン酸 + ビルビン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
オリジナル	0	0	75	3558	126
A-9	187	36	155	116	57
B-33	260	61	154	75	24

単位: ppm

3.3 酵母の清酒醸造特性の検討

3.3.1 小仕込み試験

発酵開始から14日経過後の累計炭酸ガス減量(図5)を比較すると、C-2株、C-7株が701を上回った。他の株も701には及ばなかったもののこれに近い減量となった。分離酵母株は、清酒醸造での活用が期待できるため、今後は試験醸造のスケールアップを検討したい。

また、酒もと用酵母選抜のために行った継足試験(2.2.2)の炭酸ガス減量を図6に示す。系が異なるため単純に量の比較はできないが、図5の結果と異なりC-2株やC-7株の炭酸ガス減量が少ないことから、酒もとの継足しのように短期間での発酵に向く株と清酒醸造のように長期間での発酵に向く株は別であるという結果が得られた。

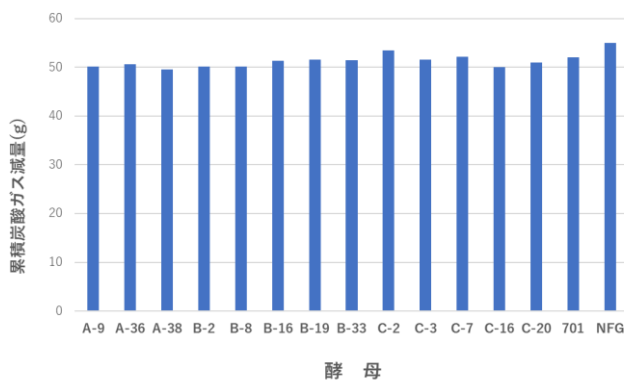


図5 小仕込み試験における累計炭酸ガス減量

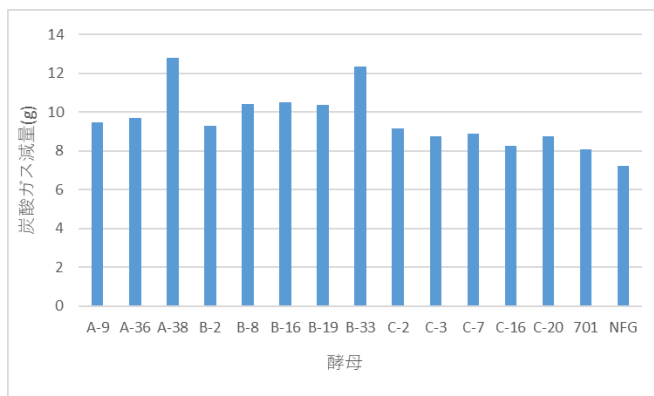


図6 継足試験における炭酸ガス減量

3.3.2 酵母キラー性の判定

分離酵母株13株について、NFGに対するキラー性は確認されなかった。もともと酒もとで複数の株が共存していた中から得られた株であるためキラー性を有しないことが想定されたが、これを補強する結果となった。本結果から、分離した13株は清酒等の醸造への利用も可能と考えられる。

4. まとめ

酒饅頭の製造に使用する酒もとから分離された酵母の

特性を検討し、オリジナルの酒もとと同等の条件で酒饅頭の品質改善が可能な酵母の選抜を行った。選抜した酵母を用いて製造現場でも酒もとの作成及び継足しを行ったが、乳酸量が実験値よりも40倍以上多く検出され、期待どおりの酒もとができないという新たな課題が見つかった。

その要因として、使用している米麴から乳酸菌が持ち込まれた可能性が考えられたため、選抜酵母と相性が良い乾燥麴を選定し、再度製造現場での試験を実施したところ、乳酸含有量は減少しオリジナルの酒もとよりもリンゴ酸やコハク酸などの有機酸の量に富む酒もととなった。

その一方で、清酒醸造特性についても評価したところ、701よりも炭酸ガス減量が大きい株が2株あり、全ての分離酵母株は酵母キラー性が無かったことから、酒饅頭の製造のみならず、清酒醸造での活用も期待できる。

【参考文献】

- 1) 本多由紀子, 老舗饅頭, 小学館, pp.76-77, 1995
- 2) 堀江祐範ら, 美味技術学会誌, 15(1), pp.12-20, 2016
- 3) 澤井美伯ら, 岐阜県産業技術センター報告書, No.19, pp.37-39, 2019
- 4) 奥村真衣ら, 美味技術学会誌, 21(1), pp.27-31, 2022