

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2報)

吉村明浩、澤井美伯、水谷恵梨、久松賢太郎、北野英樹*

Utilization of Microorganisms Isolated from Sake Manju Moto (II)

Akihiro YOSHIMURA, Yoshinori SAWAI, Eri MIZUTANI, Kentaro HISAMATSU and Hideki KITANO

酒饅頭の生地発酵に用いる酒もとから分離された酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) 13株の特性を評価し、酒もとの安定的な製造方法を検討した。まず、酵母の培養試験、4-vinylguaiacol (4-VG) 生成能、TTC染色性および気泡吸着性を評価した。いずれの酵母も、4-VG生成は認められず、TTC染色性は赤、気泡吸着性は認められなかったことから、清酒酵母に近い性質であった。このうち7株について小仕込み試験を行い、製成酒の成分および香気成分を分析したところ、7株はそれぞれ異なる特徴を示し、また対照とした清酒酵母とも異なることがわかった。このうちの2株を用いて、酒饅頭に用いる酒もとを作製した。企業にて通常実施している、水、もち米および米麹からなる材料に前日の酒もとの一部を継代して作製する方法と、清酒の酒母育成法である中温速醸法で酒もとを調製した。継代酒もとと比較して中温速醸酒もとは、アルコール分等を多く得ることができた。また、供試した2株間には顕著な差は認められなかったが、清酒酵母とは差が認められ、特性の異なる酵母が酒もと微生物叢を構成していると推察された。

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¹⁾。酒饅頭の製造には、微生物の発酵力を利用して生地を膨らませる工程があり、もち米と米麹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。酒もとは、酵母や乳酸菌などから成る微生物叢を形成しており、継足しによって継代される。

酒もとは酒饅頭の香り、味、膨らみやテクスチャーに影響を及ぼすと考えられ、微生物が生成するアルコール、酸やアミノ酸などの発酵物は重要な要素となる。しかし、酒もとを維持する温度や湿度などの環境は日毎に異なり、原料の米麹等に由来する微生物を除外することはできないため、日毎継代により酒もとの微生物叢を維持することは難しい。酒饅頭の品質の安定化や香味の特徴付けには優れたスターター微生物の維持、保存や適切な酒もとの育成方法が必要となる。

昨年度の研究で、酒もとから酵母13株および乳酸菌17株を含む44株の微生物を分離した。このうち酒らしい風味に貢献すると考えられる酵母に注目し、酒もとを模した評価系で性能を調べ、アルコール生成能、酸度、アミノ酸度から、多様な酵母が存在することを報告した¹⁾。本年度は、スターターに適した酵母あるいは風味を特徴付けられる酵母を探索するため、これら13株の酒もと由来の酵母の性質、発酵力や発酵物の再評価を行った。また、清酒の酒母育成法の一つ、中温速醸法で酒もとを育成し日毎継代法との酒もととの違いを調べた。

2. 実験方法

2.1 使用酵母

令和5年度に分離した酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) 13株、岐阜大酵母GY38、清酒酵母K7およびK701を使用した。

2.2 4-VG生成能および増殖能

使用酵母の4-VG生成能は、Mukaiらの方法に従い測定した²⁾。4-VGの定量はMukaiらの方法でHPLCにより行った³⁾。また、酵母の増殖能として、培養液のOD660を適宜希釈して測定した。試験はn=3で実施し、平均値と標準偏差を求めた。

2.3 TTC染色

TTC下層培地に酵母培養液を塗布して、2日間培養後、TTC上層培地を重層し、30℃で2時間静置して呈色性を調べた。

2.4 気泡吸着性

培養酵母の気泡への吸着性は、秋山らの方法を参考に行った⁴⁾。培養液をスライドガラス上に滴下し、気泡を混入させた状態でカバーガラスで覆い、デジタルマイクロスコープ(キーエンス)で観察した。気泡周辺に酵母の凝集が観察されたものを吸着性ありと判定した。

2.5 発酵試験

発酵試験は、乾燥麹 19.2 g(精米歩合60%、徳島製麹(株))、掛米 72.8 g(精米歩合60%、α化米、徳島製麹(株))、汲水 170 ml、乳酸 0.1 mlの配合で、一段仕込みにより行った。各酵母は麹汁培地で培養し、 2.0×10^7 cells/mL-汲水となるよう加え、15℃一定で発酵させ日毎炭酸ガス減量が0.6 gに減じるまで発酵させた。対照株にはK701を用い、n=3で行った。上槽は12,000×g、10分間の遠心分離により行い、上清を製成酒として得た。

* 株式会社金蝶園総本家

2. 6 成分分析

製成酒の成分分析は酒類総合研究所標準分析法注解に従って行った⁵⁾。

2. 7 酒もと試作試験

2. 7. 1 継代法

昨年度の酒もと育成モデル系を一部改変して行った¹⁾。

容量1 Lの蓋付き瓶にもち米30 g、水200 gを加え、105℃で15分保持した後に放冷、ここに乾燥米麴（厚生産業（株））25 gを加えた酒もと培地を調製した。次いで、水10 gおよび酵母10 mLを加えて攪拌し、酒もと育成を開始した。これを30℃で一晩静置し、不織布ネットで濾したものを20 mLを新しい酒もと培地に継代し、30℃で一晩静置した。この継代操作を計3回繰り返した。得られた酒もとは、ろ過後、成分分析に供した。

2. 7. 2 中温速醸法

白米120 gを蒸きょう後、乾燥米麴40 g、水208 g、乳酸1.4 mLおよび酵母3.8 mLと混合し、20℃で4日間静置した。得られた酒もとは、ろ過後、成分分析に供した。

3. 結果と考察

3. 1 分離酵母の性質

分離酵母の性質を表1にまとめた。増殖はA-36、B-19およびB-33が良好であった。4-VG生成能は対照株のGY-38を除き、認められなかった。TTC染色は全て赤色で

あった。気泡吸着性はK7を除き、認められなかった。

酒饅頭を製造するための酒もとは、清酒醸造における酵母の役割に類似する。昨年度の研究で、分離された13株はいずれも清酒酵母と同等にアルコールを生産することを報告した¹⁾。野生の出芽酵母はフェルラ酸を原料に燻製様の香りを持つ4-VGを生産するが、きょうかい清酒酵母は4-VG生成能を欠落している²⁾。分離した13株の4-VG生成能を評価したところ、対照のGY-38はフェルラ酸が減少し、4-VGの生成が認められたのに対して、分離株とK701は、4-VGの生成は検出できなかった。また野生酵母であれば、TTC染色で白色あるいはピンクを示すが、全て赤色であったことから、13株は清酒酵母に近縁であると推察された。きょうかい酵母には、清酒の製造効率を改善するため、高泡形成能を消失した泡なし酵母がある。泡あり酵母が気泡に吸着するのに対し、泡なし酵母は気泡に吸着しない。分離した13株は、気泡吸着性が認められなかったことから、全て泡なし酵母であることがわかった。

3. 2 選抜株の発酵試験

分離酵母の性質と昨年度の研究結果から、性質の異なると考えられた7株（A-9、A-38、B-16、B-33、C-2、C-7、C-20）を選出し、発酵試験により酵母の特徴を比較した。得られた製成酒の成分分析の結果を表2に示した。

表1 分離酵母の性質

酵母		OD660	フェルラ酸	4-VG	TTC 染色	気泡吸着性
分離株	A-9	12.0±0.1	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	A-36	13.6±0.0	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	A-38	12.4±0.1	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	B-2	13.2±0.2	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	B-8	12.1±0.1	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	B-16	13.1±0.1	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	B-19	13.6±0.0	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	B-33	13.6±0.1	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	C-2	13.3±0.3	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	C-3	13.2±0.1	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	C-7	13.0±0.0	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	C-16	11.7±0.1	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
	C-20	11.7±0.1	1.7±0.0	N. D.	Red	認められない
対照株	K701	12.0±0.1	1.6±0.0	N. D.	Red	認められない
	GY-38	11.7±0.2	0.9±0.0	0.5±0.0	—	—
	K-7	—	—	—	—	認められる

試験はn=3で行い、平均値と標準偏差を示した。

表2 選抜株の発酵試験

	アルコール (%)	日本酒度	酸度	アミノ酸度	酢酸エチル (ppm)	酢酸 イソアミル (ppm)	イソアミル アルコール (ppm)
A-9	18.3±0.1	7.0±2.4	3.2±0.0	2.6±0.0	44.4±13.4	1.6±0.5	163.7±2.9
A-38	18.6±0.2	4.6±0.6	3.1±0.0	2.5±0.0	74.0±12.0	2.8±0.5	172.1±2.3
B-16	18.0±0.1	3.6±2.7	3.5±0.2	2.5±0.1	58.7±17.9	2.2±0.7	174.4±5.0
B-33	18.1±0.0	6.1±3.3	3.6±0.0	2.4±0.1	51.9±14.1	1.8±0.5	177.2±2.4
C-2	18.5±0.1	9.9±0.0	3.3±0.1	2.3±0.0	61.3±5.5	2.3±0.2	200.8±2.5
C-7	18.3±0.3	7.3±2.5	3.4±0.1	2.5±0.0	58.9±16.4	2.1±0.6	177.4±3.8
C-20	18.0±0.4	5.8±2.9	3.4±0.1	2.5±0.1	47.4±19.5	1.7±0.7	158.3±7.8
K701	18.9±0.1	10.4±0.3	3.6±0.0	2.6±0.0	70.0±4.4	3.4±0.2	201.9±2.7

試験はn=3で行い、平均値と標準偏差を示した。

上槽の目安とした日毎炭酸ガス減少量に達するまでの発酵日数を比較したところ、K701が27日間で最も短く、次いでA-38、C-2の順であった。アルコール生成量はK701が最も高く、次いでA-38、C-2、C-7の順であった。日本酒度はK701が最も高く、次いでC-2、A-9、C-7の順であった。酸度はK701が最も高く、次いでB-33、B-16、C-7であり、アミノ酸度はA-9が最も高く、次いでC-20、K701の順であった。選抜した7株はそれぞれ成分の特徴が異なっていた。また、K701と比較してアルコール発酵力は低く、酸度やアミノ酸度に違いがあり、清酒とは異なる環境で育成されたため異なる特徴を備えていると推察された。

3. 2 酒もと試作試験

発酵試験の結果から、上槽までの発酵期間が短く、アルコール生成量と日本酒度の高いC-2と日本酒度が中程度で酸度が最も高いB-33を選び、酒もと試作試験を行った。C-2はアルコールの高さから酒饅頭の魅力の一つである香りの高さを、B-33は日本酒度が他と比べて低いことで、糖が残り、酸も多いことから味の濃さを期待した。

酒もとは、継代法および中温速醸法の2つの方法で調製した。継代法によると、アルコール分はB-33とC-2は、K701よりも多く得られたが、中温速醸法では、アルコール分は大きな差は認められなかった(図1)。継代法と比べると中温速醸法のアルコール分は多くなった。香気成分として、酢酸エチル、酢酸イソアミル、イソアミルアルコールの量を測定したところ酵母間での明確な差異はないものの、継代法と比べて中温速醸法が多くなった(図2A, B, C)。酒もと試作試験ではC-2とB-33に顕著な差異は認められなかった。中温速醸法の育成期間は4日間であり、継代法の1晩と比べて期間が長い成分量は当然多くなるが、製造効率性は低い。

天野らはエタノール生成量の多い発酵生地ほど香りは良好であったと記載している⁶⁾。中温速醸法は継代法と比べてアルコール分が多いことから、香りの改善に寄与できると期待された。

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調査し、清酒酵母の性質に類似していることがわかった。発酵試験を実施し、製成酒を分析したところ、供試した7株はそれぞれ異なる特性を有することがわかった。中温速醸法によりアルコールや発酵物は継代法より多く得られることから、これを活かした方法を検討する。

【参考文献】

- 1) 近藤真一ら, 岐阜県食品科学研究所研究報告, No.5, pp.8-11, 2024
- 2) N. Mukai *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, 118, pp. 50-55, 2014
- 3) N. Mukai *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, 109, pp. 564-569, 2010
- 4) 秋山裕一ら, 醸協, 66(5), pp.516-522, 1971
- 5) 標準分析法注解委員会, 酒類総合研究所標準分析法注解, (公財) 日本醸造協会, 2017
- 6) 天野武雄ら, 日本食品工業学会誌, 32(12), pp.906-910, 1985

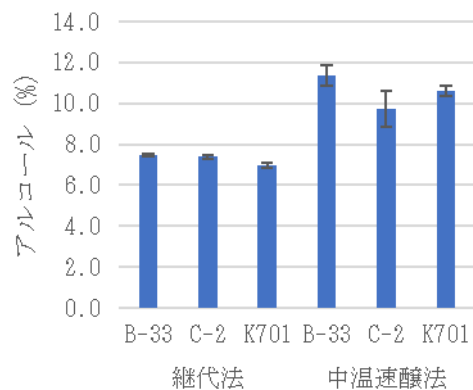
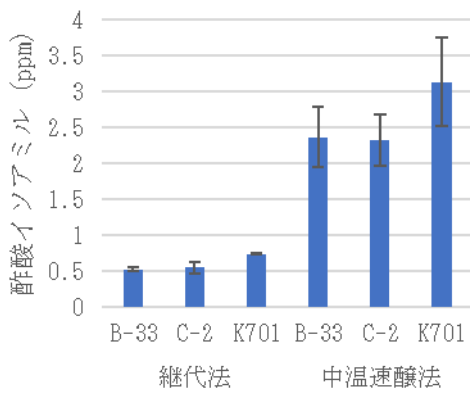
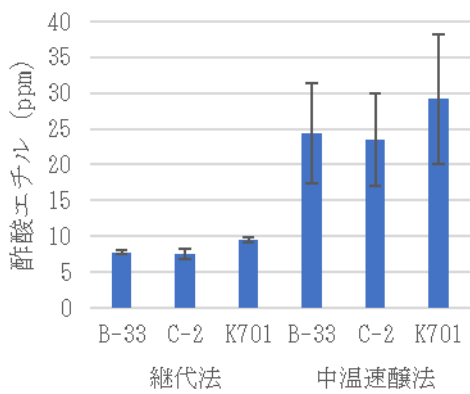


図1 酒もとのアルコール濃度

A



B



C

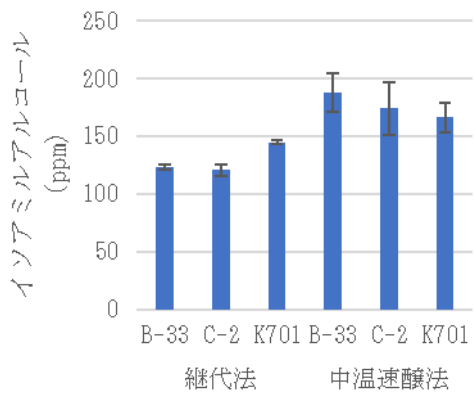


図2 酒もとの香気成分