

## 無添加みそ用酵母の培養技術の開発

河村大造, 住田 健\*, 塩野忠彦

Development of a Culture Technique for Miso Yeast Used in Brewing  
“Miso Free of Additives”

Daizo KAWAMURA, Ken SUMIDA\* and Tadahiko SHIONO

To produce “additive-free Miso”, glucose and silicone resin, which were typically added to culture miso yeast, cannot be added. We developed a culture technique for miso yeast without glucose and silicone resin. Replenishing sugar instead of adding glucose were achieved by two methods. One was to directly use filtrate from miso extracts without dilution. Another was adding koji juice. Silicone resin is added as an antifoam agent, but by varying the medium volume which is introduced into a jar fermenter, the aeration volume, and the revolution speed of agitator we could eliminate silicone resin.

味噌の表示に関する公正競争規約が公正取引委員会によって、平成16年5月12日に施行された。規約の施行期日に関して「規約は、平成16年5月12日から施行される。ただし、特定事項の表示基準の一部及び特定用語の使用基準の一部に係る表示については、平成17年5月11日まで、なお従前の例によることができる。」となっているが、みそ製造には数ヶ月を要することから、早急に対策を講じる必要が生じた。この規約の中には不当表示の禁止に関する「第7条 事業者は、みその取引に関し、次の各号に掲げる表示をしてはならない。」という項目があり、その中に(1)から(12)までの小項目が掲載されている。その一つに「(6)大豆、穀類(米、大麦、はだか麦等)、食塩、種麹菌及び発酵菌以外の原材料又はキャリアオーバー若しくは加工助剤を使用したものについて、「無添加」の表示」と記述されている。

「無添加」表示を行っていた従前のみそでは、上記の大豆、穀類(米、大麦、はだか麦等)、食塩、種麹菌及び発酵菌以外に、みそ酵母(発酵菌の中の一つ)を培養

## (A) 培地の調製

みそ20kg + 水40リットル + 食塩6kg  
↓  
溶解(100℃, 5分間)  
ろ過  
ろ液40リットル(総窒素0.1%, 直接還元糖4%, 塩分12%)  
↓  
160リットルの水で希釈  
食塩15kgとグルコース12kgを添加  
培地200リットル(総窒素0.1%, 直接還元糖7%, 塩分10%)

## (B) 培養

前々培養 培地100ml  
↓  
30℃, 2日間 しんとう培養  
2.0×10<sup>8</sup>cells/ml  
前培養 培地3リットル  
↓  
30℃, 5日間 静置培養  
5.0×10<sup>7</sup>cells/ml  
本培養 培地100リットル ジャーファーマンター  
(ミツワ KMJ-120MST-2U)  
↓  
30℃, 2日間, 通気110リットル/min, 攪拌110rpm  
シリコン樹脂添加  
2.0×10<sup>8</sup>cells/ml

図1 従前のみそ酵母培養法

する際にグルコースとシリコン樹脂を加えていた。従前のみそ酵母の調製法を図1に示した。みそを熱水抽出してろ過したろ液を水で希釈し、それに食塩とグルコースを添加して培地を調製し、前培養した酵母を植菌して発酵槽で培養を行っていた。みそ抽出ろ液の希釈液そのままでは、糖濃度が低いために、培養終了後の酵母密度が目的の密度に達しない。そこで、それを補う目的でグルコースを添加していた。また、シリコン樹脂は発酵槽で通気・攪拌培養するとき、泡立ちが激しいので、その消泡のために添加していた。このグルコースとシリコン樹脂を使用せず、みそ酵母を調製できれば、規約施行後も「無添加」表示が可能となる。

## 実験方法

### (1) 麴汁の調製法

蒸米に種麴菌を植菌して製麴操作によって作られた麴に水を加えて55℃で約18時間保温することによって糖化し、その後、ろ過して麴汁を得る。その直接還元糖濃度は10~15%程度である。

### (2) 酵母の培養と培養液中の酵母密度の計測

500ml容量の坂口コルベンに培地100mlを入れ、約 $1 \times 10^6$  cells/mlになるように酵母を接種し、30℃で48時間しんとう培養を行う。培養液中の酵母密度はヘマチトメーターを用いて計測した。培地の食塩濃度はいずれも約10%にそろえた。

### (3) みそ中の生酵母菌数の計測

みそ中の生酵母菌数の計測は、滅菌した10%食塩水で味噌を適当に希釈して10%食塩含有のポテトデキストロス寒天培地による希釈平板法<sup>1)</sup>で、30℃で7日間培養して出現したコロニー数を計測することによって

行った。

### (4) 直接還元糖と全窒素の測定

直接還元糖と全窒素の測定は、基準味噌分析法<sup>2)</sup>に準じて行った。

## 実験結果および考察

### (1) 糖補給法の検討

グルコース添加に代わる糖の補給法について考えた。一つは、ろ液をそのまま使用する方法である。これは図1においてろ液を水で5倍希釈しているが、希釈せずそのまま用いるものである。もう一つの方法はグルコース添加の代わりに麴汁を添加する方法である。上記二つの方法で調製した培地を用いて酵母を培養した。その結果を表1に示した。従前の培地での結果も併せて示した。

まず、ろ液を希釈せずそのまま培地として用いた場合、ろ液の直接還元糖濃度は4%程度(図1(A)培地の調製)で、それでは目的の酵母密度を得るには不十分である。そこで、培地の原料として用いるみそを3種類用いてそれぞれ調製した(表1の培地A,B,C)ところ、直接還元糖濃度が高い培地を得ることができた。それは麴歩合が高く、熟成期間が長いみそを用いた培地Bと培地Cであった。これらの培地を用いて酵母を培養すると従前の培地を用いた場合と同等の酵母密度が得られた(表1)。次に、麴汁を添加する方法を検討するために、培地Cを基にしてこれに水あるいは麴汁を加えて表1に示したような成分を持つ培地(C-1,C-2,C-3)を調製した。その培地を用いて酵母を培養すると培地C-1,C-2では従前の培地に比べて酵母密度が少なくなったが、直接還元糖濃度が高い培地C-3では従前と同等以上の酵母密度が得られた。このことから、グルコースの代わりに麴汁を添加することにより、高い酵母密度の培

表1 培地調製法が培養後の酵母密度に及ぼす影響

	従前の培地調製法	ろ液を希釈せずそのまま培地として用いる方法			グルコースの代わりに麴汁を添加する方法		
		培地 A	培地 B	培地 C	培地 C-1	培地 C-2	培地 C-3
培地中の直接還元糖 (%)	7.0	3.6	5.6	6.2	5.6	6.9	7.8
培地中の総窒素 (%)	0.13	0.43	0.26	0.37	0.19	0.12	0.25
培養後の酵母密度* (cells/ml)	$2.0 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$2.2 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$2.2 \times 10^8$

\*酵母を約 $1 \times 10^6$  cells/mlとなるように植菌した培地100mlを30℃で2日間しんとう培養後、培養液中の酵母密度をヘマチトメーターで測定した。

表2 工場規模みそ醸造での生酵母菌数の推移

発酵熟成期間 (日)	生酵母菌数 (cells/g miso)	
	従前の方法で培養した酵母を用いた仕込み	無添加培地*で培養した酵母を用いた仕込み
0	$1.8 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$
8	$3.8 \times 10^6$	$9.1 \times 10^6$
22	$2.0 \times 10^6$	$8.5 \times 10^6$

\*ろ液を希釈せずにそのまま培地として用いた

麹歩合10割、総重量1,000kgで仕込み、酵母密度は希釈平板法で生酵母菌数として求めた。

養液が得られることがわかった。また、表1から培地中の総窒素濃度は培養後の酵母密度に影響を与えないと考えられた。

以上をまとめると、ろ液を希釈せずそのまま培地として用いても、麹汁を添加した培地を用いても、従前の調製法と同等の酵母密度を得ることが可能であるとわかった。

## (2) 培養条件の検討

つぎに、表1の培地Cで発酵槽を用いて酵母の培養を行い、シリコーン樹脂無添加でも泡が発酵槽の外部に吹き出さずに培養できる条件を検討した。その結果、発酵槽に容れる培地の量を80リットル（従前は100リットル）、通気量を50~60リットル/min（従前は110リットル/min）、かくはんを60~80rpm（従前は110rpm）とし、培養時間は従前と同じく2日間の培養を行うことによって、泡が吹き出すことなく $1.3 \times 10^8$  cells/mlの酵母密度の培養液を取得できた。これは従前の調製法による酵母密度と比較するとやや低めではあるが、 $10^8$ オーダーを維持していることから、みそ醸造には十分であると判断した。

## (3) 実用規模製造による検証

最後に、こうして培養した酵母を用いて実用規模でみその仕込を行った。麹歩合10割、総重量1000kgで、対照として従前の方法で調製した酵母を用いて同時に仕込みを行った。仕込み後初期の酵母の増殖の様子を表2に示した。従前の方法で調製した酵母に比べて、ろ液をそのまま培地として用いる方法で調製した酵母による仕込みにおいて酵母の増殖が早期に起こっているのが確認された。みそ製品の品質も官能的に従前のものと同等であった。以上のことから、ろ液を希釈せずそのまま培地として用いて酵母を調製しても実用に供せられることが明らかになった。また、麹汁を添加した培地を用いる方法については、今回は培地100mlでの培養までしか行わなかったが、ろ液をそのまま培地として用いる方法と同様、実用規模で使用できる可能性が高いと考えている。

## 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局：食品衛生検査指針 微生物編，p.262-266，日本食品衛生協会（1990）。
- 2) みそ分析法検討委員会：基準みそ分析法，p. 1-44，全国味噌技術会（1995）。