

# 味噌用酵母MY-8株の選抜と特性について

田中ゆかり\*・稲木幸夫\*\*・安田智慧子\*

## Selection and Properties of MY-8 yeast for Miso

Yukari TANAKA \*・Yukio INAKI and Chieko YASUDA

味噌の品質に、酵母は大きな影響を与えている。福井県産味噌の高品質化を目的とし、香気に富んだ味噌用酵母の選抜が目標に、県内産味噌から酵母を収集した。酵母の生理的性質、味噌ペースト培地における香気の生成、小仕込試験で選抜し、MY-8株を得た。MY-8株を用いた味噌は、官能評価に優れ、味噌にとって好ましい香気成分であるHEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone) が多い特徴がみられた。

key words: 味噌, 酵母, 香気

### I. 緒言

近年、県内の味噌の流通は、県外の量販店の進出により、県外産味噌の流入が増加傾向にある。このような状況では、製造者は、より品質向上に向けての努力を怠ることはできない。

味噌の品質には、酵母が大きな影響を与えており、味噌の生産量が多い地域ではそれぞれ独自の酵母を開発し使用している。一般的に、酵母の役割は、原料臭のマスクング、芳香の付与、塩なれの促進、産膜酵母の抑制等であるとされている<sup>1)</sup>。現在、福井県内では酵母の使用は進んでおらず、香気不足な味噌もあるため、味噌をさらに高品質化するためには、福井県産味噌に適応する酵母の開発が望まれている。

そこで、香気に富んだ味噌用酵母の開発を目標に、約200株の酵母を収集し、MY-8株を選抜した。さらに、その特性について検討したので報告する。

### II. 試験方法

#### 1. 酵母の選抜経過

##### 1) 酵母の分離

福井県の味噌製造条件に適合し、香気性成分の生成が多い酵母を目標とした。

1996年3月に、福井県醤油味噌組合、県内の各普及センターを通じ、銘柄の異なる福井県産味噌66点を収集した。収集した味噌の中で、香りなど、官能評価が良かった24工場の27サンプルを分離源とした。

分離源の味噌を無菌水に分散させ、食塩12%になるように調整した生醤油培地(生醤油128ml, 食塩98g, 水1000ml, 寒天20g, pH5.1)に混釈し、30℃, 5日間培養し、コロニーを分離した。1点の味噌から5~10株の分離を目標とした。分離後は食塩10%のYM培地(ポリペプトン5g, 酵母エキス3g, 麦芽エキス3g, グルコース20g, 食塩100g, 水1000ml, 寒天20g, pH5.8)で画線培養を行って、分離を完全にした。

##### 2) 生理的性質による酵母の選抜(第1次選抜)

分離、収集した酵母194株について、pH, 食塩濃度と増殖の関係、エタノール耐性について検討し、酵母の第1次選抜を行った。

###### (1) pH

今井<sup>1)</sup>らの方法により行った。

###### (2) 食塩濃度と増殖の関係

食塩0~20%に調整したカザミノ酸培地(グルコース5g, カザミノ酸1g, 酵母エキス0.2g, K<sub>2</sub>H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>0.2g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O0.05g, 食塩17.5g, 水100ml, pH4.8)で、30℃, 5日間培養し、生育を肉眼で判別した。

###### (3) エタノール耐性

エタノール0~5%に調整したカザミノ酸培地(食塩21.5%, pH4.8)で、30℃, 10日間培養し、生育を肉眼で判別した。

##### 3) 味噌ペースト培地による酵母の選抜(第2次選抜)

第一次選抜(pH, 食塩濃度と増殖の関係, エタノール耐性)により選抜した酵母55株を用いた。仕込み後15日の味噌200gに水500gを混合し、ホモジナイズし、食塩10.4%, 直接還元糖8.7%に調整した。これを試験管に10ml分注し、滅菌した。これに、酵母を5×10<sup>5</sup>個添加した。30℃, 20日間熟成させ、味噌製造業者3

\*福井県農業試験場 食品加工研究所

\*\*現 ふじや食品株式会社

第1表 生育pH

	全体に占める割合 (%)
Aグループ	54
Bグループ	40
Cグループ	6

注) Aグループ: pH6.0, 5.5, 4.8に生育  
Bグループ: pH5.5, 4.8に生育  
Cグループ: pH4.8のみに生育

名による官能評価を行った。

また、吉川らの方法<sup>1)</sup>によりエタノールなどの香気性アルコールの測定を行った。各成分は味噌3gあたりの濃度で示した。

これら官能評価、香気性アルコール量から6株を選抜した。

#### 4) 小仕込試験による酵母の選抜(最終選抜)

第2次選抜(味噌ペースト培地試験)により選抜した酵母6株、対照として協会酵母(日本醸造協会)、また無添加区で小仕込試験を行った。麹歩合10、食塩12.4%、水分46.9%の条件で総量3kgを仕込み、30℃、76日間熟成した。酵母は味噌1gに対し $1 \times 10^5$ 個添加した。この7点の味噌を、無添加区を対照に味噌製造業者10人で評価し、MY-8株を得た。

#### 2. 味噌用酵母MY-8株の特性

小仕込試験における、無添加区、協会酵母、選抜されたMY-8株の区について、一般成分、香気成分の分析を行い、MY-8株の特性を把握した。分析方法は次のとおりである。

##### 1) 一般成分

基準味噌分析法<sup>9)</sup>によった。

##### 2) 香気成分分析

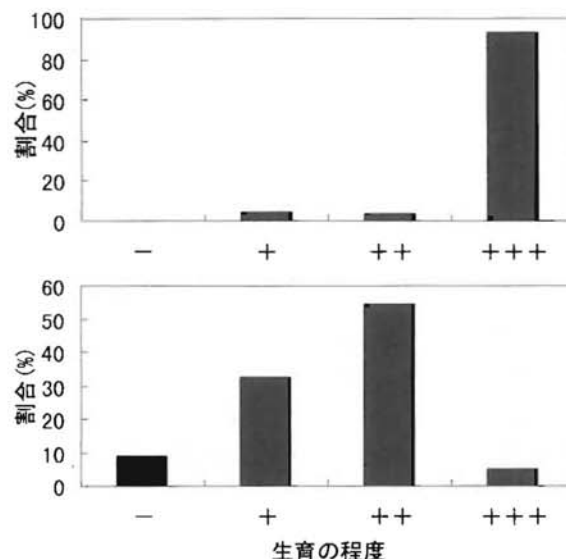
香気濃縮物の調整には、ポーラスポリマーを用いたカラム濃縮法を用いた。香気成分の分離には、ガスクロマトグラフ、同定にはガスクロマトグラフに直結したマススペクトロメーターを用いた。分析条件は菅原らの方法<sup>9) 3) 4)</sup>に準じた。各香気成分の濃度は内部標準物質(n-decyl alcohol)とピーク面積の比をもとに、味噌の重量に対する重量(ppm)で計算した。これを3回反復し、濃度は平均値で示した。

### Ⅲ. 結果および考察

#### 1. 酵母の選抜経過

##### 1) 酵母の分離

収集した味噌には、多いもので味噌1gあたり $10^7$ 個の酵母が検出されるものもあった。しかし、一方で、酵



第1図 食塩濃度と増殖の関係

注) - : 生育が認められない  
+ : 生育がみとめられる  
++ : かなり生育が認められる  
+++ : 旺盛な生育が認められる

母数が少なく、酵母の分離が困難な味噌もあった。

酵母の分離後、コロニーの形状、顕微鏡による観察等から産膜酵母は除外した。さらに、同一試料においてコロニーの形状が類似している株も除外した。

分離菌株総数は194株であった。

#### 2) 生理的性質による酵母の選抜(第1次選抜)

pHについて検討した結果を第1表に示した。pH6.0, 5.5, 4.8に生育できるものをAグループ、pH5.5, 4.8に生育できるものをBグループ、pH4.8のみに生育できるものをCグループとした。生育は、はっきりと培養液が懸濁することをグルーピングの基準とした。Aグループが54%、Bグループが40%、Cグループが6%であった。生育pHの幅が広い酵母は、味噌中での増殖が速く、対水塩分濃度の比較的高い味噌に適しているといわれている<sup>9)</sup>。福井県の味噌は対水塩分濃度が平均21.5%と高いことから、Aグループの菌株が適している。そこで、Aグループに属するもの105株、またBグループに属するものなかで、pH6.0においてははっきりと培養液の懸濁は見られないものの、若干の生育がみられたもの34株、合計139株について、食塩濃度と増殖の関係について検討した。

食塩濃度と増殖の関係を第1図に示した。食塩0~10%までは一様に良好に生育し、株による差は認められなかった。食塩15%では、生育の劣るものが3%出現した。食塩20%で良好な生育を示すものは7%にすぎず、全く生育しないものが10%あった。福井県内の味噌の対水塩分濃度の平均は21.5%であることから、食塩20%で生育できない株は適さないので除外した。

第2表 エタノール耐性

エタノール (%)	全体に占める割合(%) 生育の程度		
	++	+	-
0	100	0	0
2	98	2	0
3	82	11	7
4	8	36	56
5	0	0	100

注) - : 生育が認められない  
+ : 生育がみとめられる  
++ : かなり生育が認められる

食塩 20 %で生育できた 125 株について、エタノール耐性を検討し、第2表に示した。82 %の株がエタノール濃度 3 %でも生育した。また、すべての菌株は 5 %のエタノール濃度では生育できなかった。味噌は、第3表に示すとおり、発酵によりある程度、エタノールを生成したものが、官能評価が良い。そのため、エタノールを多く生成する株が望ましい。しかし、エタノール 4 %で生育可能な菌株は、製品に、湧き防止のエタノール添加をしても、湧きが防止できない懸念がある。このことから、エタノール 4 %で生育可能な菌株は、味噌用酵母として適さないのを除外した。

以上、生育 pH、食塩濃度と増殖の関係、エタノール耐性の 3 点の生理的性質から、最終的に 55 株を選抜した。

### 3) 味噌ペースト培地による酵母の選抜(第2次選抜)

第1次選抜により選抜された 55 株について、味噌ペースト培地における香気性アルコールの生成、官能評価を検討した。

香気性アルコールである n-プロパノール、i-ブタノールの生成は、香気に良い影響がある<sup>12)</sup>。味噌ペースト培地における香気性アルコールの生成量を第4表に示した。無添加と比較すると、どの酵母も、おおむね香気

第4表 味噌ペースト培地における香気性アルコール生成量

	エタノール (ppm)	n-プロパノール (ppm)	i-ブタノール (ppm)
無添加区	43.4	0.0	0.0
酵母添加区 平均	738.4	2.0	15.9
最小	36.0	0.0	2.7
最大	2199.6	7.4	39.1

第5表 味噌ペースト培地におけるエタノールと香気性アルコール生成量の関係

エタノール生成量	点数	n-プロパノール 平均値 (ppm)	i-ブタノール 平均値 (ppm)
100ppm未満	8	0.0	3.8
100ppm以上	47	2.8	19.5

第3表 エタノール含量の異なる味噌の官能評価

エタノール含量 (%)	官能評価
0.0~0.5	-1.30
0.5~1.0	0.20
1.0~1.5	0.50
1.5~2.0	0.10

官能評価の尺度：1 良い, 0.5 やや良い, 0 差がない, -0.5 やや悪い, -1 悪い

注) 県内産から各エタノール含量の味噌を 3 点づつサンプリングし、味噌製造業者 3 人で官能評価を行った。

性アルコールの増加がみられた。エタノールの生成量は 40 ~ 2200ppm と差が大きかった。

第5表に示すように、エタノール生成量が 100ppm 未満と少ない株には、他の香気性アルコールの生成も少なく、原料臭が感じられるものが多かった。今回の試験においては、n-プロパノール、i-ブタノール生成にはエタノールが少なくとも 100ppm 以上生成することが必要であると考えた。

一方、エタノール生成量 1500ppm 以上を示す区では、アルコール臭が強すぎ、香気バランスに欠けた。

供試した 55 株から、エタノールの生成が 100ppm ~ 1500ppm の生成量で、官能評価に優れた 6 株を選抜した。

### 4) 小仕込試験による酵母の選抜(最終選抜)

味噌ペースト培地により選抜された 6 株、対照として協会酵母について、小仕込試験を行った。供試した 6 株の味噌ペースト培地試験におけるエタノール生成量は MY-1 株 100ppm、MY-2 株 250ppm、MY-8 株 700ppm、MY-3 6 株 900ppm、MY-3 8 株 1000ppm、MY-4 2 株 1200ppm であった。

無添加区を対照にした、味噌製造業者 10 人の官能評価の結果を第6表に示した。香り、色、味、総合評価のすべてで、MY-8 株が良い傾向を示し、味噌用酵母として MY-8 株を選抜した。

第6表 小仕込試験における官能評価

	香り	色	味	総合
協会酵母	0.30	0.40	0.40	0.40
MY-1株	-0.30	0.10	0.10	0
MY-2株	-0.10	0.20	0.25	0.20
MY-8株	0.40	0.55	0.65	0.65
MY-36株	0.30	0.40	0.50	0.35
MY-38株	-0.35	0.40	0.60	0.40
MY-42株	0.40	0.20	0.30	0.35

第7表 小仕込試験における一般成分

	pH	色調		蛋白溶解率 (%)	蛋白分解率 (%)	糖分解率 (%)
		Y(%)	x			
無添加	5.24	17.3	0.436	56.5	21.8	94.9
協会酵母	5.19	17.5	0.438	56.1	21.2	100.0
MY-8株	5.23	16.8	0.441	56.2	21.7	88.2

## 2. 味噌用酵母MY-8株の特性

MY-8株の特性を明らかにするため、MY-8株、対照となる協会酵母、無添加区について、小仕込試験を行った味噌の一般成分、香气成分の違いを検討した。

### 1) 一般成分の特性

味噌の一般成分の結果を第7表に示した。pH、蛋白溶解率、蛋白分解率は使用酵母で差はあまり認められなかった。MY-8株を用いた味噌は、他にくらべY(%)が低く、x値が高かった。また、糖分解率が低かった。このことから、MY-8株は糖を消費し、発酵が旺盛なことがわかった。

### 2) 香气成分の特性

ガスクロマトグラフにより分離され、マススペクトロメーターで同定された香气成分の含量を第8表に示した。

HEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone) は、甘いカラメル様の香气を持つ化合物で、味噌の他に多くの発酵食品から分離されている。また、官能閾値も 0.04ppb 以下と低く、低い濃度でも味噌の香气に大きく寄与する<sup>10)</sup>。また、抗腫瘍性などが明らかにされ<sup>9)</sup>、機能性の点からも注目されている成分

である。今回、カラム濃縮法によるHEMF含量の差は、無添加とMY-8株では 0.35ppm、協会酵母とMY-8株では 0.14ppm であった。HEMFのカラム濃縮法による回収率は約 20%であることから、実際の味噌には、無添加とMY-8株では 1.75ppm、協会酵母とMY-8株では 0.7ppm の差があることが換算される。一方、HEMFの味噌への添加試験においては、含量の差が 0.2ppm 以上ある場合、味噌の香りには、官能的に明らかかな差が認められると報告されている<sup>7)</sup>。このことから、MY-8株は無添加、協会酵母と比較して、明らかに味噌特有の甘い香りを有する。

また、HEMF以外の他の香气成分含量にも明らかかな差が認められた。

安平は、1-Butanol の量が多いほど味噌の官能検査の結果が良かったと報告している<sup>8)</sup>。1-Butanol は、無添加では発生が認められず、協会酵母よりMY-8株の方が含量が多かった。

果実または花様の香气を有する 2-Phenylethyl acetate は、MY-8株を用いた味噌には発生が認められたが、無添加、協会酵母ではこれらの生成は認められなかった。

2-Phenyl-2-butenal は、HEMFと共に官能評価に良い

第8表 小仕込試験における香气成分含量

化合物名	無添加 (ppm)	協会酵母 (ppm)	MY-8株 (ppm)
1-butanol	N.D.	0.040	0.113
2-phenylethyl acetate	N.D.	N.D.	0.177
2-phenyl-1-ethanol	3.048	2.674	2.977
2-phenyl-2-butenal	N.D.	N.D.	0.030
HEMF	0.182	0.393	0.536
ethyl (Z, Z)-9,12-octadecadienoate	N.D.	0.121	0.561
香气成分含量合計	14.437	12.220	24.543

注)N.D.:検出感度以下

影響を与えると報告されている<sup>9)</sup>。2-Phenyl-2-butenal は 2-Phenylethyl acetate の発生と同様、MY-8株を用いた味噌には発生が認められ、無添加、協会酵母では発生が認められなかった。2-Phenyl-2-butenal は、熟成の後期に生成することから、後熟香に寄与すると考えられている<sup>8)</sup>。このことから、MY-8株は、協会酵母に比べて、熟成が早期に進むことが推察できた。

Ethyl(Z,Z)-9, 12-octadecadienoate は、これ自体は特徴的な強い香りを持たないが、エステルに共通する芳香をもっており、他の香気の保留や引き立て等に役立つ重要な成分であると考えられている<sup>10)</sup>。無添加では発生が認められず、協会酵母よりMY-8株の方が含量が多かった。

味噌の香り成分の一つであり、バラ様の香気を呈する 2-Phenyl-1-ethanol については、酵母添加区が無添加区よりも低かった。MY-8株を用いた味噌は、他の香気成分含量が多いことから、2-Phenyl-1-ethanol についても含量が高くなることが予想された。しかし、協会酵母よりも含量は多いが、無添加区より低かった。

全体として、ガスクロマトグラフで確認できた香気成分含量の合計は、無添加、協会酵母と比較して、MY-8株の方が多く、MY-8株は香気が発生量が多かった。

#### IV. 結 言

味噌用酵母としてMY-8株を選抜し、官能評価、香気成分含量の違いなどから、MY-8株は味噌醸造にとって、好ましい香気を生成することがわかった。このことから、生産現場においても、MY-8株を用いて香りの高い味噌を製造できる。

今回、ひとつの仕込み条件における、MY-8株の特性を検討した。福井県は、地域により原料の配合条件が多岐にわたる。このことから、さらに今後、麹歩合など仕込み条件を変え、MY-8株の特徴を把握する必要がある。

終わりに、香気分析法全般にわたり、終始アドバイス頂きました岩手大学教育学部、菅原悦子助教授に深く感謝いたします。また、試料を提供し、試験において数々のご協力を頂きました味噌製造業者のみなさんにお礼申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 今井誠一(1984). 味噌醸造における酵母の利用に関する研究. 新潟食品研究所研究報告特別号: 2-7.
- 2) M. W. Pariza(1994) Fermentation - Derived Anticarcinogenic Flavor Compound. Amer. Chem. Soc. Sym. Series. 546: 349-352.
- 3) 菅原悦子(1991). みそ香気成分としてのHEMF (4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone)の単離. 日食工誌 38: 491-493.
- 4) 菅原悦子(1991). みそ熟成中の香気成分の変化. 日食工誌 38: 1093-1097.
- 5) 菅原悦子・雑賀 優・小林彰夫(1992). みその香気成分と官能評価の解析. 日食工誌 39: 1098-1104.
- 6) 菅原悦子・伊藤哲雄・小田切敏・久保田紀久枝・小林彰夫(1990). 異なる調整法によるみそ香気成分の比較. 農化 64: 171-176.
- 7) 菅原悦子・米倉裕一(1998). 各種味噌の香気成分組成の比較. 日食工誌 45: 323-329.
- 8) 安平仁美(1980). 味噌の香り. 醸協 75: 506-515.
- 9) 好井久雄(1995). みそ技術ハンドブック(全国味噌技術会編). 全国味噌技術会, 東京. pp. 46-62.
- 10) 好井久雄(1995). 食品微生物ハンドブック. 技報堂出版, 東京. pp. 147.
- 11) 吉川茂利(1997). 味噌酵母の芳香性アルコール高生成機構と味噌の試醸. 味噌の科学と技術 45: 54-58.
- 12) 吉川茂利・小栗 勇(1992). 味噌用酵母の育種. 醸協 11: 780-787.
- 13) 吉沢 淑(1966). 酵母による Phenylethylalcohol と tyrosol 生成の特徴について. 醸協 61: 952-954.

# Selection and Properties of MY — 8 yeast for Miso

Yukari TANAKA · Yukio INAKI and Chieko YASUDA

## summary

Yeasts influence a quality of miso. For the purpose of being a high quality of miso, the yeasts were collected from miso produced in Fukui. The MY — 8 yeast is selected by the physiological properties of the yeast, the quality of fermented miso-paste medium, and the bench-scale miso production. 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2*H*)-furanone (HEMF) is considered to be a very important flavor compound of miso. In bench-scale miso production, the concentration of HEMF increased by using MY — 8 yeast.