

酵母細胞壁溶解酵素による白味噌の防湧

川 野 一 之

Inhibitive Effect of Cell Wall Lytic Enzyme on Yeast Growth in Sweet White Miso

Kazuyuki KAWANO

An attempt was made to improve the preservation of sweet white miso (shiro miso in Japanese) with the use of cell wall lytic enzyme (LE). Glucose consumption and growth rate of yeast in culture medium were decreased by pretreatment of yeast with LE. Though the growth of yeast could not be completely prevented, the fermentative phenomenon could be inhibited during the storage of sweet white miso for 30 days at 30°C by the addition of LE (0.1%).

緒 言

広島県の特産品である白味噌は典型的な低塩多糖型味噌であり、食塩のみで微生物の増殖を抑制し、製品化後の再発酵（湧き）を防止することは困難である。また、その色調が商品価値を決定するため、色の濃化を伴う加熱殺菌も条件的に制限を受ける。このため、従来より、ソルビン酸塩等の合成保存料を添加して製品の防湧を行ってきた¹⁾。

一方、最近の消費者のニーズに対応して合成保存料無添加の製品が増加し、白味噌の防湧はアルコール添加による方法が主流となってきている²⁾。しかし、アルコール添加の手法や量によっては防湧効果が不安定であったり、製品の物性や色調、風味の劣化を伴うことがある。

これらの問題を改善する一方法として、白味噌の製造工程において酵母細胞壁溶解酵素を添加し、その防湧効果について検討した。

実 験 方 法

1. 材 料

(1) 酵素剤

用いた酵母細胞壁溶解酵素（天野製菓株式会社製、以下LEと略す）の特徴を表1³⁾に示した。なお、本酵素剤は清酒、ビール、パン、ぶどう酒製造用酵母に対して強い活性（細胞壁溶解能）を示すが、カビ、バクテリア

に対しては作用しないこと、および動物試験等において急性毒性を呈さないことが確認されている³⁾。

表1 酵母細胞壁溶解酵素 (Lytic Enzyme)

起 源	Arthrobacter luteus
最適温度	35°C (25~40°Cの範囲で活性)
最適pH	7.2 (6~9のpH範囲で活性)
pH安定性	5~11のpH範囲で安定

(2) 供試菌株

味噌発酵用の耐塩性酵母 (*Saccharomyces rouxii*) を別に培養して用いた。

2. 方 法

(1) 発酵試験

麴エキス培地 (15° Brix, 食塩10%) 中で供試菌株を72時間静置培養し、菌数が 10^8 cells/mlに達したことを確認後、培養液に対してLEを0.1%および0.2%添加した。直ちにマグネチックスターラーで10分間攪はんしたのち、一夜 (30°C) 静置して酵素処理を行った。酵素処理終了後、遠心分離 (2000rpm, 5分) により集菌し、10%食塩水に再けんだくした。

これより、初発菌数が 1×10^5 cells/mlとなるよう所定量を麴エキス培地に接種し、Meissel 発酵管を用いて発酵試験を行った。発酵能は培地の重量の減少量から換

算した糖の消費率で表した。なお、対照としてLE未処理の菌体を接種して同様の試験を行った。

(2) 白味噌の仕込み

広島県下の味噌製造企業で標準的に行われている方法に準じ、その工程の概略を図1に示した。実験的な仕込みは1Kg規模で行い、熟成した白味噌の性状を表2に示した。また実際の規模の仕込み試験は味噌製造企業において200Kg規模で行った。なお、白味噌の成分分析は基準味噌分析法に従った⁴⁾。



図1 白味噌の製造工程
麴歩合; 20割 予定食塩濃度; 6%

表2 供試した白味噌の性状

水分	41.0%
食塩	5.5%
たんぱく質	11.5%
直接還元糖	23.2%
pH	6.47

(3) 防湧試験

i) 実験室規模試験

図1において、熟成が終了した時点で別に培養した酵母を 10^3 cells/g, LEを0~0.3%の範囲で添加し、ミートチョッパー(3mm目)でらい砕した。この白味噌を大型のシャーレ(300×80mm)に詰め、30℃の恒温器中で保存し、酵母数の変化を平板培養法(麴エキス)により経時的に計測した。これと並行して白味噌30gを100mlのメスシリンダーに密に充填し、30℃で保存して

炭酸ガス発生に伴う容量変化を湧きとして、30日間経時的に観察した。

ii) 実際の規模実験

味噌製造企業において熟成が終了した白味噌にLEを0.1%添加し、らい砕(3mm目)した。これより試料を採取し、前述と同様の方法で酵母数および容量変化を経時的に測定した。

結果と考察

1. 酵素処理による酵母の発酵能の変化

LE処理が酵母の発酵能に及ぼす影響を検討するため糖の消費率の経時変化を調べた。その結果を図2に示した。

試験期間を通じて、LEで処理を行った酵母の糖消費率は無処理のものより10~15%低く推移した。しかし、LEの添加量による差は明確には認められなかった。LEは0.1%程度の添加量でも酵母の発酵能を抑制する傾向が見られた。しかし、発酵を完全に阻止するには至らず、その原因として、LEの活性が食塩により阻害されるものと考えられる。

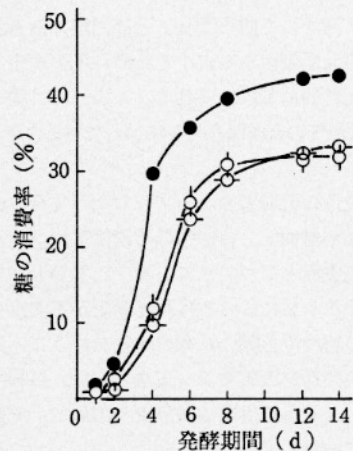


図2 酵素処理を行った酵母による発酵試験

●, 無処理; ○, 0.1%; □, 0.2%

2. 白味噌の防湧試験

(1) 実験室規模試験

酵母およびLEを添加した白味噌の保存試験中の菌数変化を図3に示した。図3から明らかなようにLE無添加区では試験開始直後から著しい菌数の増加が認められ、9日後には 10^6 cells/gに達したのち、次第に減少する

傾向が認められた。これに対して、LE添加区では初期の4日間は菌数が若干減少し、その後無添加区と同様のパターンで増加を続け、10日後に 10^5 cells/gに達した。しかし、保存期間を通じて添加区の菌数は無添加区の菌数以上に増加することはなかった。その際、LEの添加

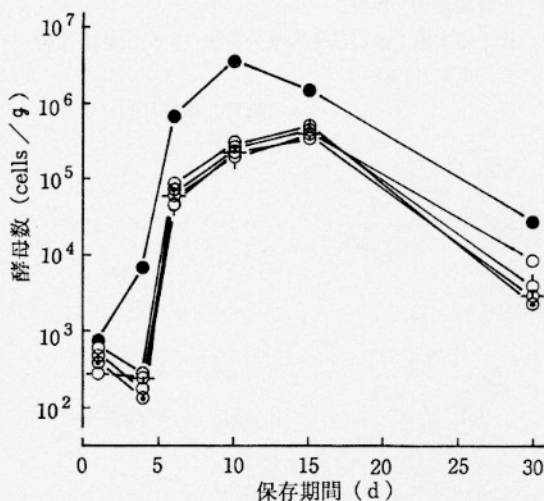


図3 白味噌中の酵母数の経時変化

●, 無添加; ○, 0.05%; □, 0.1%;
◇, 0.2%; ●, 0.3%

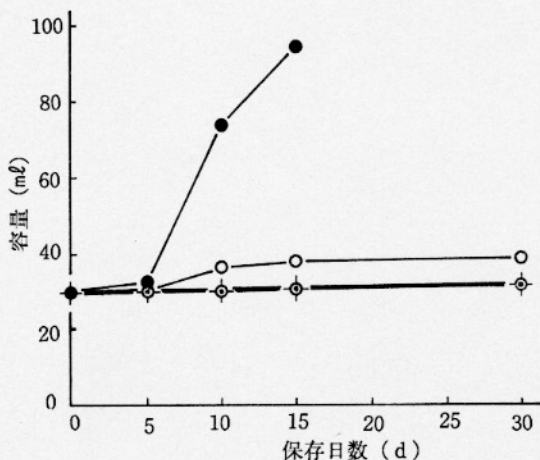


図4 白味噌の見掛けの容量の経時変化

●, 無添加; ○, 0.05%; □, 0.1%;
◇, 0.2%; ●, 0.3%

次に、見掛けの容量変化を図4に示した。無添加区では保存開始より5日後に菌数が 10^4 cells/gに達し、ガス発生が認められた。発酵に伴う炭酸ガスの発生のため

見掛けの容量の増加(湧き)が始まり、15日後には初発容量の3倍以上となった。なお、30日後には炭酸ガスが噴き抜けたため容量の測定ができなかった。これに対して、LEを添加した試験区では全体的に顕著な容量変化は認められなかった。ただ、0.05%添加区において約10日経過後、菌数が 10^5 cells/gに達した時点より緩やかな容量の増加を開始した。また、0.1~0.3%添加区では試験開始後15日間は、いずれの区も容量の変化は認められなかった。

0.05%添加区の30日後の見掛けの容量の増加率は33%で、僅かに湧き現象が認められた。

一方、0.1~0.3%添加区では容量の変化は減少であり、湧き現象と判定することは困難であった。

このように、白味噌の湧き防止にはLEを添加することが効果的であり、添加量はLEのコスト等を考慮すると0.1%程度が適当と考えられた。また、LEを添加した直後は酵母の増殖を抑制するが、4日後にはLEの抑制力が失われて酵母の増殖が認められた。いずれにしても、LEが酵母の発酵機能になんらかの阻害作用を与えたことが予想されるが、詳細については不明な点が残る、今後検討を加える余地がある。

(2) 実際の規模試験

実際の200Kg規模の白味噌の製造工程においてLEを0.1%添加し、防湧試験を実施した。その結果、30℃で60日間保存しても湧きは認められず、酵母も検出されなかった。なお、試料の初発酵母数は 4.3×10^6 cells/gであった。

以上の結果から、他の味噌より菌数が少なくシェルフライフも短い白味噌の防湧にはLEを0.1%程度添加することが有効と考えられる。しかも、この方法はアルコールを添加する従来法に比べて風味の変化(アルコール臭)を生じない利点がある。LEの添加効果をより確実にするためには温和な加熱殺菌操作等を組み合わせ、初発菌数を低減する必要がある。

要 約

酵母細胞壁溶解酵素(LE)による白味噌の防湧効果について検討した。

(1) LEで処理を行った酵母の糖消費率は無処理のものより10~15%低く推移した。

(2) LEを0.05~0.3%添加した白味噌中の酵母数の変化は初期の4日間は若干減少し、その後増加に転じた。しかし、保存期間を通じて添加区の菌数は無添加区の菌

数以上に増加することはなかった。

(3) LE添加を行った白味噌は30℃, 30日間の保存試験でわずかな容量変化しか認められなかった。

(4) 実際規模である200kg仕込み試験においてLEを0.1%添加した場合, 湧きは認められず, 酵母も検出されなかった。

本研究は第34回全国味噌技術会(昭和61年5月28日, 東京)で発表した。

文 献

- 1) 中野政弘編:味噌の醸造技術(財団法人醸造協会, 東京) P. 131 (1982).
- 2) 望月 務:味噌の科学と技術, 270, 2 (1972).
- 3) 天野製菓(株):社信.
- 4) 松本憲次編:改訂基準味噌分析法(財団法人味噌技術会, 東京)(1968).

(昭和63年11月30日受理)