

研究論文

花卉酵母を利用した柿米酢の開発

小野奈津子*¹、間野博信*¹、山本晃司*¹、竹内栞*²、江崎秀男*²

Development of Persimmon Rice Vinegar Brewing with the Yeast Isolated from Flowers

Natsuko ONO*¹, Hironobu MANO*¹, Koji YAMAMOTO*¹,
Shiori TAKEUCHI*² and Hideo ESAKI*²Food Research Center*¹ School of Life Studies, Sugiyama Jogakuen University*²

花酵母と米麴を利用した甘みのある柿米酢の開発を行った。アルコール発酵は米・米麴で行い、その後の酢酸発酵時に柿ペーストを添加した。焼酎麴を用いた白麴酒は清酒麴を用いた純米酒に比べ、アルコール分が低く、糖、有機酸及びアミノ酸が多かった。これらのベース酒に次郎柿（豊橋産）ペースト、種酢及び酢酸菌膜を加え、アルコール分 4.5%、酸度 2.0% に調整して酢酸発酵を行った。白麴酒を使用した試験区は純米酒を使用した試験区に比べ、糖、アミノ酸、クエン酸及びポリフェノールの含有量が多く、官能的にも甘くて飲み易く、特徴ある柿米酢を開発できた。

1. はじめに

愛知県は、全国 5 位の柿の産地であり、中でも豊橋市は次郎柿の特産地として有名である。しかし、柿は熟すのが早く傷み易く、少々キズでも商品価値が著しく低下する。そのため、このような市場価値の低い柿の高付加価値化が望まれている。一方で、果実酢類は、消費者の健康志向から調理目的でなく飲用としてその市場を着実に伸ばしている。そこで、柿を利用した新しいタイプの飲用醸造酢の開発に取り組むこととした。しかし、果実酢の中でも柿酢に関する研究報告は少なく、富山県の三社柿を利用した柿酢製造¹⁾²⁾及び柿酢への酵素利用³⁾、クエン酸充当目的の焼酎麴利用⁴⁾の研究がある程度である。また、柿酢は、柿の実ごと発酵させた自然発酵で造られていることが多く甘味がなく飲用に向かない。

近年、当センターでは、花から分離された花酵母を用いた、アルコール分が低い、甘酸っぱい等の特徴を有する清酒の醸造に取り組んできた⁵⁾。この花酵母の利用と米・米麴の使用により、甘さを有した飲み易い新しいタイプの柿米酢を試作し、成分分析、機能性及び官能評価を行った。

2. 実験方法

2.1 原材料

柿は、豊橋産の次郎柿を、へたを取り皮ごとジューサーでペースト状にして用いた。米は、乾燥 α 化米（70% 白米、徳島製麴(株)）を用いた。米麴は、焼酎用乾燥米

麴(MKS 白麴菌、徳島製麴(株))、清酒用乾燥米麴(70% 白米、徳島製麴(株))を用いた。

2.2 供試菌

酵母は、名城大学農場のカキツバタから分離した酵母（カキツバタ酵母）、庄内緑地公園のハナショウブから分離した酵母（ショウブ酵母）を使用した。酵母はともに *Saccharomyces cerevisiae* と同定されている。

酢酸菌は、自然発酵柿酢の表面から分離した酢酸菌 (*Acetobacter pasteurianus* と同定)を使用した。

2.3 柿米酢小仕込試験

麴エキス培地を用いて花酵母を 30℃で一晩前培養した。α 化米 144g に水 294mL を加え 15℃で 1 時間静置したのち、清酒用乾燥米麴 36g と酵母培養液 6mL を添加しアルコール発酵させ、純米酒を醸造した。また、焼酎用乾燥米麴 180g に水 294mL と酵母培養液 6mL を加えアルコール発酵させ白麴酒を醸造した。それぞれの酒もろみをろ過して得たるろ液 150mL に柿ペースト 120g、種酢 150mL を加え、酢酸菌膜を添加して、30℃で酢酸発酵を行った。もろみは、遠心分離 (5,000rpm、20 分) にて上槽し、得られた上清を分析用試料とした。

2.4 柿米酢スケールアップ試験

焼酎用乾燥米麴 720g に水 1,176mL と酵母培養液 24mL を加えアルコール発酵させ白麴酒を醸造した。もろみをろ過して得たるろ液 700mL に柿ペースト 300g、種酢 700mL を加え、酢酸菌膜を添加して、1,500mL 規模で 30℃で酢酸発酵を行った。遠心分離(8,000rpm、20

*¹ 食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 *² 椋山女学園大学 生活科学部

分)にて上槽し、得られた上清を分析用試料とした。

2.5 ベース酒の成分分析

アルコール分はアルコメイト（理研計器（株））を使用して測定した。日本酒度、酸度、アミノ酸度は、国税庁所定分析法注解⁶⁾に従って行った。

2.6 柿米酢の酸度

醸造酢の日本農林規格⁷⁾に従って測定した。

2.7 糖分析

全糖は、フェノール硫酸法で測定した。グルコース及びフルクトースの分析は、高速液体クロマトグラフを用いて測定した。試料を蒸留水で適宜希釈し孔径 0.45 μm のセルロースアセテートフィルターでろ過したものを分析試料とした。カラムは KS-801(昭和電工)を、検出器は示差屈折検出器を用いた。

2.8 ポリフェノール量

フォーリンデニス法を用いてポリフェノール量(タンニン酸当量)を測定した。

2.9 遊離アミノ酸分析

試料をクエン酸リチウム緩衝液 (pH=2.2) で 10 倍希釈し、孔径 0.20 μm の親水性 PTFE フィルターを通してろ過したものを分析試料として、アミノ酸自動分析装置 (L-8500 型 日立計測器サービス(株)) を用いて測定した。

2.10 有機酸分析

試料を蒸留水で 50 倍希釈後、孔径 0.45 μm のセルロースアセテートフィルターでろ過したものを分析試料として、有機酸分析システム((株)島津製作所)を用いて測定した。カラムは Shimadzu SCR101H を、検出器は電気伝導度検出器を用いた。

2.11 DPPH ラジカル消去能

脂質過酸化実験法⁸⁾に従い、試料による DPPH の退色を測定し、Trolox 当量として算出した。

2.12 SOD 様活性

蒸留水で 50 倍希釈した試料の SOD 様活性を SOD Assay Kit-Wst((株)同仁化学研究所)を用いて測定した。

2.13 官能評価

柿米酢の官能評価は、1 対 2 比較法で香り、酸味、甘み、総合的評価の項目について当センター職員及び椛山女学園大学学生からなるパネラー 32 名で行った。なお、官能評価は、柿米酢及び市販柿酢を軟水で 7 倍希釈して行った。

3. 実験結果および考察

3.1 柿米酢の小仕込試験及び成分評価

予備試験として、柿と米麴の混合物をアルコール発酵させて酒をつくり、その後に酢酸発酵する方法で柿米酢の試作を行った。得られた酒は糖濃度が低く、酢酸発酵後の柿米酢の全糖濃度が 1%未満であった。アルコール発酵時に酵母によって、柿及び米中のグルコースを含む糖類がほとんど消費されてしまったと考えられた。この仕込方法では残糖が少なく目標とする甘くて飲み易い柿米酢を製造することができないため、甘味を残すための別の発酵方法を検討することとした。

そこで酢酸発酵源となるアルコールベース酒として米のみを原料とした甘い酒を造り、酢酸発酵時に柿ペーストを添加して、酢酸発酵時の初発アルコール分 4.5%、酢酸 2%に調整する方法で仕込を行った。

得られたベース酒の成分分析結果を表 1 に示す。本仕込方法に変更したことによりすべての試験区で全糖濃度が高くなった。純米酒は、ショウブ酵母を用いたものの方がカキツバタ酵母を用いたものに比べてアルコール分が低く、全糖濃度が高かった。白麴酒は、酵母による差はほとんどないが、純米酒に比べて、アルコール分が低く、酸度、アミノ酸度が高く、糖分が多かった。

表 1 ベース酒(小仕込試験)の成分分析結果

		アルコール分 (%)	日本酒度	酸度 (mL)	アミノ酸度 (mL)	全糖 (g/100mL)
カキツバタ酵母	純米酒	15.7	-19.7	4.8	1.0	6.7
	白麴酒	11.1	-76.1	19.4	3.0	14.9
ショウブ酵母	純米酒	14.4	-28.6	4.8	1.0	9.8
	白麴酒	11.0	-82.6	16.6	2.4	15.9

得られた柿米酢の成分分析結果を表2に、有機酸組成を表3に示す。白麴酒を用いた柿米酢のポリフェノール量は、純米酒を用いた柿米酢に比べて、高い値を示した。本試験に用いたフォーリンデニス法はフェノール性水酸基を有する物質に対する反応であり、芳香族アミノ酸など影響を受けやすい。白麴酒の遊離アミノ酸組成は純米酒に比べて芳香族アミノ酸であるチロシン、フェニアラニン、トリプトファンを多く含んでいた(データ省略)。白麴酒を用いた柿米酢も同様に芳香族アミノ酸を多く含んでいると考えられるため、芳香族アミノ酸のフェノール基に反応し、高い数値となった可能性も考えられた。白麴酒を用いた柿米酢のクエン酸量は、純米酒を用いた柿米酢に比べ、高い値を示した。甘さの指標となる糖分析では、主要なピークとしてグルコースとフルクトースが検出された。原料の次郎柿には、グルコース 6.5g/100g、フルクトース 6.6g/100g とほぼ等量含まれており、柿米酢でグルコースの方が多量なのは、米成分に由来するものである。

市販柿酢(柿の実ごと発酵させた自然発酵で製造)に比べると、柿米酢のどの試験区も全糖が10倍以上となっており、甘みのある柿米酢が製造できた。特に、白麴酒をベース酒として用いると、甘味と、クエン酸の酸味を有したポリフェノールの多い特徴あるものとなった。以上から、白麴酒をベース酒として用いると、甘味と、クエン酸の酸味を有した特徴ある柿米酢が試作できた。

3.2 柿米酢のスケールアップ試験及び成分評価

本仕込方法で焼酎用乾燥米麴による白麴酒を用いると特徴ある柿米酢が造られることがわかったため、スケールアップ試験を行った。得られた柿米酢の成分分析結果を表4に、有機酸組成を表5に、遊離アミノ酸組成を表6に示す。スケールアップしても順調に酢酸発酵が行われた。小仕込試験と同様に、甘味と、クエン酸の酸味を有したポリフェノールの多い特徴ある柿米酢が製造された。これらの指標である全糖、クエン酸及びポリフェノールの量が、市販柿酢を上回ることも示された。遊離アミノ酸量も、市販柿酢と比較して約8倍と多かった。

表2 柿米酢(小仕込試験)の成分分析結果

		酸度 (%)	全糖 (g/100mL)	ポリフェノール (mg/100mL)	グルコース (g/100mL)	フルクトース (g/100mL)
カキツバタ酵母	純米酒	5.6	9.3	69	8.8	2.4
	白麴酒	5.4	12.5	108	10.9	3.5
ショウブ酵母	純米酒	6.4	9.7	75	8.8	2.5
	白麴酒	4.4	11.5	112	9.2	2.2

表3 柿米酢(小仕込試験)の有機酸組成

有機酸(mg/100mL)		クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
カキツバタ酵母	純米酒	< 20	74	21	5	4,970
	白麴酒	330	65	11	2	4,490
ショウブ酵母	純米酒	< 20	77	21	5	5,200
	白麴酒	440	74	20	2	3,430

表4 柿米酢(スケールアップ試験)の成分分析結果

	酸度 (%)	全糖 (g/100mL)	ポリフェノール (mg/100mL)
カキツバタ酵母	4.5	12.8	104
ショウブ酵母	4.7	13.4	109
市販柿酢	4.5	1.2	33

表5 柿米酢(スケールアップ試験)の有機酸組成

有機酸(mg/100mL)	クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
カキツバタ酵母	510	58	27	2	3,920
ショウブ酵母	530	62	25	2	4,090
市販柿酢	70	2	21	25	4,670

表 6 柿米酢(スケールアップ試験)の遊離アミノ酸組成

アミノ酸(mg/100mL)	カキツバタ酵母	ショウブ酵母	市販柿酢
アスパラギン酸	14	13	0
スレオニン	10	9	3
セリン	12	11	2
アスパラギン	0	0	0
グルタミン酸	41	39	4
グルタミン	12	10	0
プロリン	10	10	2
グリシン	14	13	2
アラニン	36	33	8
バリン	21	19	5
システイン	3	3	0
メチオニン	11	11	0
イソロイシン	15	14	2
ロイシン	40	39	4
チロシン	34	32	2
フェニルアラニン	30	29	3
γ-アミノ酪酸	7	6	9
トリプトファン	2	0	0
リジン	25	24	2
ヒスチジン	13	13	1
アルギニン	71	74	0
合計	420	403	50

3.3 柿米酢の機能性評価

ポリフェノールは抗酸化性成分として期待されている。そこで、市販柿酢を対照として柿米酢の機能性評価を行った。抗酸化性評価として行った SOD 様活性及び DPPH ラジカル消去能の結果を表 7 に示した。DPPH ラジカル消去能は、市販柿酢の Trolox 当量 0.9mM/assay に対して、柿米酢のカキツバタ酵母で 2.9mM/assay、ショウブ酵母で 2.7mM/assay と約 3 倍高かった。SOD 様活性は市販柿酢の阻害率 23%に対して、カキツバタ酵母で阻害率 69%、ショウブ酵母で阻害率 73%と約 3 倍高かった。このように、DPPH ラジカル捕捉能、SOD 様活性ともに市販柿酢よりも高い機能性が認められた。

これは、市販柿酢よりポリフェノール量、アミノ酸量が多いことによって抗酸化性が高くなったと考えられた。

表 7 柿米酢の機能性評価

	SOD様活性 阻害率(%)	DPPHラジカル消去能 Trolox当量(mM/assay)
カキツバタ酵母	69	2.9
ショウブ酵母	73	2.7
市販柿酢	23	0.9

3.4 柿米酢の官能評価

柿米酢の官能評価結果を表 8 に示す。1 対 2 比較法で柿米酢と市販柿酢の識別を目的とした官能評価を行ったところ、のべ 32 名のパネリストのうち 23 名が正しいサンプルを選択し、 $p < 0.05$ で有意差があった。

酸味の強さは、市販柿酢が強いと感じたものが 27 名

と多く、甘味の強さは柿米酢が強いと感じたものが 23 名、香りは、柿米酢の方が好ましいと答えたものが 21 名と多かった。総合評価では、柿米酢が好ましいと感じたものが 24 名と市販柿酢が好ましいと思った 6 名を上回った。また柿米酢は市販柿酢に比べフルーティさが感じられ、酢が苦手でも飲みやすかったという意見が得られた。

表 8 柿米酢の官能評

(人)	柿米酢	市販柿酢	その他
酸味の強さ	4	27	1
香りの好ましさ	21	10	1
甘味の強さ	23	7	2
総合的な好ましさ	24	6	2

4. 結び

本研究の結果をまとめると、以下のとおりである。

- (1) 柿と米麴の混合物をアルコール発酵させて酒をつくり、その後に酢酸発酵する方法で柿米酢を試作すると甘味のない柿米酢となった。
- (2) 焼酎米麴に花酵母を加えアルコール発酵後、酢酸発酵時に柿を加えることで、市販柿酢に比べて、糖、クエン酸、遊離アミノ酸が多く、市販柿酢に比べてポリフェノール量が多く、抗酸化性 (SOD 様活性及び DPPH ラジカル消去能) が高い柿米酢が試作できた。
- (3) 官能評価では市販柿酢よりも柿米酢が酸味を強く感じず香りも好ましく甘味を有しており飲み易いと評価を得た。

文献

- 1) 中川秀幸, 中島 實, 山下市仁, 青木章平: 日本食品工業学会誌, **33**, 786-790(1986)
- 2) 中嶋実, 中川秀幸, 本江薫, 山下市仁, 青木章平: 日本食品工業学会誌, **34**, 818-825(1987)
- 3) 山下浩一, 山中信介: 奈良県工業技術センター研究報告, **29**, 17-21(2003)
- 4) 田中健, 清水浩美, 松澤一幸: 奈良県工業技術センター研究報告, **34**, 28-35(2008)
- 5) 三井俊, 小野奈津子, 安田(吉野) 庄子, 伊藤彰敏, 山本晃司: あいち産業科学技術総合センター研究報告, **3**, 68-71(2015)
- 6) 日本醸造協会: 第四回改正国税庁所定分析法注解 (2007)
- 7) 農林水産省: 醸造酢の日本農林規格 (2008)
- 8) 福沢健治, 寺尾純二: 脂質過酸化実験法 (1990)