

## 発酵食品への誘い

### — 短期大学家政学科における「食品微生物学実習」の展開 —<sup>†</sup>

田中恵子

西村 顕

森下茂樹

杉森恒武

TANAKA Keiko, NISHIMURA Akira, MORISHITA Shigeki, SUGIMORI Tsunetake

短期大学家政学科開講科目である「食品微生物学実習」の教育目標は、食生活における微生物制御と利用ができるようになることであり、そのために、微生物の取り扱いの基本を学び、食品の細菌検査や発酵食品の試験製造を行う内容となっている。限られた実験設備で、理科系科目の学習履歴の少ない者を対象として、発酵食品の製造原理をできるだけ科学的にとらえつつ、その魅力を伝えることをねらった。

キーワード：食品微生物学実習、発酵食品

#### 1. はじめに

家政学科系で開講される食品微生物学実験・実習では、食品に関わる細菌、酵母、かびなどの培養や顕微鏡観察についての基本的な操作の習得、ならびに食品中の衛生指標菌や食中毒菌の検出、あるいは有用菌の培養などが主な内容となっている。発酵食品の製造については、食品加工実習に組み入れて、味噌や梅酒などのリキュール類、あるいは比較的簡単なヨーグルトの製造にとどまるものが多い。これに対して本実習では、微生物の取り扱いなどの基本操作に加えて、酒類として清酒、ワインおよびみりん、大豆発酵食品として醤油と納豆、乳製品として発酵乳（ヨーグルト）と加糖酸乳飲料の7種類の発酵食品の試験製造を実施している。微生物を扱う専門の設備がない条件で、生物や化学など基礎科学の知識や実験経験の少ない学生に、人の食生活に密接な関わりをもつ微生物の営みを、興味をもたせつつ理解させることをねらい様々な実習内容の改良を積み重ねてきた。本稿では、発酵食品ごとの実験室での製造工程の概要を報告して、実習中の学生の様子やレポートの記載内容を紹介しながら教育の効果を考察する。

#### 2. 授業の概要

発酵食品は、数時間から24時間程度で仕上がるものから、半年から1年以上の長期間の発酵・熟成時間を必要とするものまでである。半期授業の約4ヶ月間という限られた期間内で可能な限り仕上がりの完成度を高くすることを考えて、全体のスケジュールを組んだ(表1)。

##### 2.1 酒類の製造

###### 1) アルコール濃度測定方法

酒類の製造では、エタノール濃度の測定が不可欠である。測定方法は、アルコールデヒドロゲナーゼ・アルデヒドデヒドロゲナーゼ酵素法によるのが一般的であるが、酵素を用いた測定は、生化学などの基礎科目がカリキュラムにない本実習の受講生にとって理解しにくい内容である。そこで、わかりやすく、アルコール発酵  $[C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2]$  のしくみの理解にもつながる簡易法として、系の重量変化量からアルコール濃度を求める計算法を用いた。計算法では、発酵系重量の減少量を反応生成物である二酸化炭素量とし、発酵反応式の二酸化炭素とエタノールの量比からアルコール濃度に換算する。ワインの製造では、同時に糖度の減少値からもアルコール濃度を換算して求め、

表1 食品微生物学実習スケジュール

週	酒類	大豆発酵食品	乳製品	その他
1	みりん仕込み			オリエンテーション
2	ワイン仕込み	醤油仕込み		
3	観察			顕微鏡
4	ワイン仕上げ			顕微鏡
5	米麴作り(各自)		ヨーグルト仕込み(翌日仕上げ)	
6	清酒仕込み			
7	観察	観察		工場見学
8	清酒仕上げ	観察		
9		納豆菌植継ぎ		食品の細菌検査
10		納豆作り(翌日仕上げ)		細菌検査簡易検査
11			加糖酸乳飲料仕込み	観察
12			加糖酸乳飲料仕上げ 中和滴定	
13				工場見学
14	みりん仕上げ			
15		醤油仕上げ		



写真1

2) 果実酒(ワイン)の製造実習

赤ワインの原料には赤葡萄(ベリーA)を用いた。茎を取り除いて果皮ごと潰砕し、糖度が22~23%になるように砂糖を添加した。白ワインには、ワイン会社から提供の果汁を用いた。各々の果汁に、あらかじめ予備発酵させた葡萄酒酵母 (*Saccharomyces ellipsoideus*) を加え、2~3週間室温で発酵させた。この間に数回重量測定を行い、色、香り、味および状態を観察した。3週間後に、澄明になるまで吸引ろ過を繰り返した(写真1)。仕上がったワインのアルコール濃度は約12~13%となり、糖度は6~8%まで減少した。

仕込みの翌日に、気泡が激しく発生している状態や、2週間の間に色や香り、味が変化して重量が減少していく様子を観察することは、「葡萄果汁が変化していく様子がとても不思議で面白かった。」という感想に代表されるように学生にとって大変興味深かったようで、出来上がったワインの色調の美しさに感動した者や、ワイン作りが楽しかったという感想を記した者が多かった。次第にアルコールが強くなる様子を香りや味でとらえたうえで最終的に重量減少値からエタノール濃度を求めたことや、赤ワインが白ワインに比べて渋み等の雑味が強いという結果を両者の製造方法の違いに結びつけて考察したことは、実験的な学習履歴の少ない本コースの学生にとって、現象を分析的、論理的にとらえるよい経験になったと考えている。

3) 清酒の製造実習

清酒製造用の米麴と蒸米を実験室環境で調製することは困難であるため、酒造会社から提供を受けたものを用いた。ただし、事前に各自が少量の米麴を、 $\alpha$ 化米と実験室所蔵のコウジカビ (*Aspergillus oryza*) を

二酸化炭素減量から求めた値とほぼ一致することを確かめた。計算法を採用するにあたっては、酵素法によるエタノール濃度の測定も併せて実施し、大きな誤差が生じないことを確認した。重量を測定した結果から、生成したアルコールの濃度が求められることは、学生にとって「不思議」であり「驚き」であったようだ。

用いて試験的に調製して観察することで米麴についての理解を深めた。通常の清酒づくりでは、米麴、蒸米、汲水、清酒酵母 (*Saccharomyces sake*) を混ぜて20~30日培養して酒母をつくり、これに米麴と蒸米を4日間で3回にわけて加える三段仕込(初添、仲添、留添)の工程をとる。本実習では、限られた授業時間の中での仕込みであることから、正式な製造工程を講義で理解した上で、簡便法として米麴、蒸留水、乳酸、清酒酵母を混合した液に蒸米を混ぜ込む「酵母仕込み」で行った。清酒酵母は、実験室で植え継ぎ保存しているものを振とう培養で増殖させて使用した。発酵は室温で2週間行い、その間に重量測定と観察を行った。2週間後、さらして粗絞りをした後に吸引ろ過して仕上げ、色、香り、味および状態を観察して、市販の清酒と比較した。火入れによる殺菌は省略した。重量の減少分から算出したアルコール濃度は15~17%であった。

仕込み翌日に気泡が激しく発生して発酵している様子が観察され、1週間の間に味や香りが大きく変化して清酒ができていく様子は、ワインの時と同様に学生にとって大変興味深く感じられたようだ。コウジカビや清酒酵母の顕微鏡観察も同時に行うことで、微小な微生物の存在とその生命力の強さを改めて実感できたと考えている。また、「米からお酒をつくるのはとても興味深く楽しかった」や、最後の工程で得られた酒かすについて、「自分で酒かすをつくったことで、今後もっと食材として有効に利用しようと思った」という感想をあげた者もあった。

清酒の製造は、米のデンプンを米麴で糖化しながら同時に酵母でアルコール発酵させる並行複発酵であり、原料混合物の粘度が高く、反応条件を制御しにくいいため比較的製造が難しいとされている。一方、清酒は日本特有の酒類であり、古来より神事に欠かせないものとして、日本の文化に深い関わりを持つ発酵食品である。また、本学は灘五郷のひとつである西宮郷に近く、地元の食文化を学ぶ意味でも、本実習で清酒の試験製造を行う意義は高いと考えた。さらに、工場見学として酒造会社を訪れることで、実習で行った試験製造の原理をより深く理解することができ、併せて清酒の歴史、文化、バイオ産業での展開など幅広い学習をすることができた。

#### 4) みりんの製造実習

みりんは長期間の熟成が必要であるため、第1週に仕込みを行った。洗米したもち米を12時間以上浸漬し

て水きり後、105℃で20分間蒸し、冷却後に米麴(乾燥麴)と焼酎を混ぜた。20℃で熟成させる間に、毎週、色、香り、味の観察を行い、ほぼ4ヵ月後に吸引ろ過で分離し、最終的な観察と糖度の測定をおこなった。仕上がったみりんの色は濃い琥珀色で、糖度は35%程度まで上昇した。

みりんは、酵母等を使わず米麴のみの酵素力で糖化して作られる再製酒である。日常的に調理でよく用いられる調味料であるが、その製造方法を知る学生は少ない。みりんの製造では、麴以外の微生物の繁殖を抑制するために焼酎(エタノール)を加えて系のエタノール濃度を14~15%に保つため、酵素の作用が弱くなり糖化に長期間を要する。このような製造原理を学び、もち米に米麴と焼酎を加えた状態から、しだいに着色して甘味や旨味が増していく様子を毎週観察した後に、琥珀色のみりんに仕上がった時には、「すごい」と感動を表現する学生が多かった。

#### 5) アルコール試験製造免許

アルコールを1%以上含む飲料(調味料を含む)は酒税法により酒類と定義され、その製造や販売には免許が必要となっている。実習での酒類の製造は、夙川学院法人として西宮税務署から酒類試験製造免許を取得した上で実施した。本学で試験製造が認められている種別は、清酒、みりん、果実酒およびリキュール類であり、試験製造場所は、10号館の3階と4階の実習室に限られている。また、各年度の酒類ごとの試験製造期間、原料とその入手先、製造量、味などの検査使用量、廃棄量、廃棄年月日の記録をつけ、年度末には数量報告を税務署に行っている。

#### 2.2 大豆発酵食品

##### 1) 醤油の製造実習

醤油製造は、蒸煮した脱脂大豆と焙炒して割り砕いた小麦の混合物に、種麴 (*Aspergillus oryzae* または *Aspergillus sojae*) を植え付け、25~30℃で40~50時間通気培養させて醤油麴を作ることから始まる。本実習では、実験室で最適な麴を調製することが困難であることから、マルキン忠勇株式会社から醤油麴の提供を受けた。醤油麴の大豆や小麦の形状を観察した後、23%の食塩水を加えて室温で発酵・熟成を開始した。仕込みから1週間後に醤油製造用の乳酸菌 (*Pediococcus halophilus*) を添加して30℃で1週間培養を行い、さらに醤油酵母 (*Zygosaccharomyces*

soya) を添加して実習の最終日まで、毎週攪拌して空気を送り込む(糶入れ)作業を行い、発酵・熟成を続けた。時に、白い膜状の産膜酵母が生成することもあるが、比較的量が少ない場合は攪拌して内部に混ぜこんだ。実習最終日に、諸味をさらして絞りを、生醤油と醤油粕に分離したのち、色、香り、味および状態を観察した。

醤油の発酵過程においては、まず醤油麹の麹カビが産生するアミラーゼやプロテアーゼの作用によって、穀物のデンプンやたんぱく質が分解されてブドウ糖やアミノ酸が生成する。高濃度食塩水の中では、麹カビは繁殖できず死滅し、次に耐塩性の醤油製造用の乳酸菌が増殖して系は酸性となる。さらに、チゴサッカロミセス・ルキシー等の醤油酵母が増殖してアルコール発酵が盛んになり、旨み成分や芳香成分が増して熟成が進む。蔵での醤油製造では、麹カビを除くこれらの微生物は、原材料に由来するか蔵に住み着いたものが、諸味の状態によって自然に増殖しながら発酵・熟成が進むが、本実習においては、実験室環境での短期間による製造という条件の中で、できるだけ完成度の高い醤油を製造するために、乳酸菌と醤油酵母を随時添加した。添加の工程をいれることにより、学生に対して、醤油が複数種類の微生物の発酵現象により生成されることを印象づけることができ、また、安定して美味しい醤油の仕上がりが可能となった。

同じ大豆発酵食品である味噌は手作りをする家庭もあり、材料も広く市販されている。一方、醤油については、比較的容易に製造できることを知らない学生が多く、実習での醤油作りに期待と楽しみを感じているようであった。小麦や大豆の原型が次第に無くなり、旨味や芳香が生成して醤油らしくなっていく様子は、学生にとって興味深いようで、「面白い」、「不思議」と感想を述べる者が多かった。また仕上がった生醤油の赤紫色は美しく、発酵・熟成の過程を観察してきた後に味わう醤油に、「美味しい」、「すごい」という感想が多く見られた。

## 2) 納豆の製造実習

1人50gの大豆を浸漬し、120°Cで30分蒸煮した後に納豆菌を接種した。納豆菌は(*Bacillus natto*)、事前に市販納豆表面糸状部分を白金耳で少量採取し、普通寒天斜面培地に植菌したものを37°Cで24時間培養して用いた。培地試験管に蒸留水を加えて作成した納豆菌水を、煮豆が熱いうちに全体にふりかけ、滅菌ガ

ラス棒で攪拌した後、37°Cで24時間培養した。培養後冷蔵庫で数日間熟成させたものを試食した。

納豆菌は、発酵食品からの単離、培養が比較的容易な細菌である。そこで、納豆から釣菌して斜面培地で培養することで納豆菌をコロニー(集落)としてとらえ、これを顕微鏡で観察することにより、発酵食品における微生物の存在を視覚的に印象づけることをねらった。また、煮豆が熱いうちに納豆菌を接種するのは、耐熱性の納豆菌をヒートショックで活性化させるとともに、熱に弱い腐敗菌などを死滅させるためであることを実際の操作を通して理解させた。発酵・熟成後では、大豆表面に、まぜると糸をひく白色物質が形成していることや、味、におい及びやわらかさが煮豆と異なることを確かめ、これらの変化を納豆の優れた消化性や栄養価に関連付けて考察させた。また、実際に納豆を作ることで、自分の好みの味や香り、あるいは糸引き状態にするためには、発酵時間を調整すると良いことに気づき、発酵現象には温度や時間などの条件が大きく影響することまで考察する学生もあった。

## 2.3 乳製品の製造

### 1) 発酵乳(ヨーグルト)

ヨーグルトの製造では一般的に原料として牛乳を用いることが多いが、本実習では、乳酸菌発酵をより確実に進行させるために脱脂粉乳を用い、これに砂糖を添加して原料液とした。85~90°Cで20分間加熱殺菌して直ちに冷却し、好みでヨーグルトエッセンス(ストロベリー・パイナップル・バナナ・アプリコット)を少量添加した。これに市販ヨーグルトをスターターとして加え攪拌したのち37°Cで約18時間程度培養した。作成したヨーグルトのpHを測定し、数種類の市販品の味や外観の違いを比較した。

ヨーグルトは家庭でも手作りが容易な発酵食品であるが、実際に作ったことがある学生は少なかった。脱脂粉乳と砂糖の混合液がスターターのヨーグルトを少量加えると数時間で凝固し始める様子を観察し、試食により、原料に比べて甘味が減り酸度が増すなどの変化を確かめ、分析値と比較することで、乳酸発酵の製造原理を体験的に理解することができた。さらに乳酸菌の種類が異なる数種の市販ヨーグルトの味や外観の比較を行ったうえで、「乳酸菌は乳酸をつくる一群の細菌の総称であり、ヨーグルトの製造には発酵の協力効果を期待して複数の乳酸菌を組み合わせ用いるのが一般的である。市販品では製品によって利用する乳酸

菌の種類が異なるためにそれぞれの風味や形状に違いがある。実習でスターターとして用いたブルガリアヨーグルト（明治乳業）には、FAO/WHO国際規格でヨーグルト製造での必須乳酸菌として示されている *Lactobacillus bulgaricus* と *Streptococcus thermophilus* が含まれている。」という説明をうけて、ヨーグルト製造に用いられる乳酸菌についての理解を深めることができた。

## ②加糖酸乳飲料

脱脂粉乳液を作成して 80～85℃で 20 分間加熱殺菌した後、放冷後にスターターとしてブルガリアヨーグルトを加え、37℃で 20 時間程度培養して乳酸発酵させた。ここで生じた発酵乳の一部を精希してとり、中和滴定法により発酵乳の酸度(乳酸)を求めた。ミキサーで均質化して発酵乳重量の4/3倍量の砂糖を加えた後、仕上がり品の酸度が 1.3%となるように乳酸を補い、好みの香料（ストロベリー・パイナップル・バナナ・アプリコットなど）を加えて仕上げた。

発酵生成物の乳酸の濃度を中和滴定により求めて、足りない量を算出して補う操作は多少難しく感じられたようであるが、この操作により、身近な乳製品の製造も「食品成分が微生物の代謝により変化する」という発酵現象によることを、実験を通して確かめることができたと考えている。また、仕上がった加糖酸乳飲料の味は良く、学生にとって印象的で楽しい実習であったようだ。

## 3. まとめ

食生活コースでは、基礎科学に関わる科目が一部開講されているが、在籍している学生は、実験を含めて生物や化学の履修歴が少ない者がほとんどである。このような学生にとって、発酵現象を化学反応的に理解することは難しい。しかしながら、学生達は、発酵食品の製造過程で、幾度も「驚き」、「すごい」、「不思議」、あるいは「おもしろい」、「楽しい」という感情に関わる反応を示した。このような感情を伴った体験は、発酵の反応式にあてはめた分析的な考察を行うことへの意欲につながったと考えている。また、それぞれの発酵食品の製造原理を頭で理解するだけでなく、実際に、たとえばみりんや醤油のように数ヶ月の観察を経て仕上がる過程を体験することは、日本の伝統発酵食品の魅力や食文化としての価値を見出す貴重

な経験になりえたのではないかと思う。

短期大学家政学科で開講される「食品微生物学実習」には様々な課題が生じる。本来、微生物の発酵は、数日にわたり、あるいは数週間から数ヶ月にもわたって、昼夜の別なく営まれている。この微生物の働きを、継続的ではなくて週に一度の授業でどのようにして把握するのか、ということが微生物の本質を理解する上での悩みとなる。さらに、実験では、試験管からフラスコ、ビーカー程度の小規模な環境条件で微生物の活動を設定して結果をとらえるため、工業規模での経過、結果との間にかかなりの差異が生じることは避けようがない。ごく試験的にかつ学究的に解析するのが目的である場合はそれで有意義であるが、短期大学の生活科学関連学科では、家庭的な食生活での発酵食品の理解と利用を念頭において「食品微生物学実習」を学ぶのが本来の目的である。実験・実習の経過や結果と市販食品の性質との間の差異を的確に理解できるように授業をはこばなければ、いたずらに不達成感や疑念をもたせることになる。これらの課題を常に意識しつつ、実験室での試験製造において可能な限り完成度を高くすることを試み、また、発酵段階での観察日程の調整や、講義とビデオなどの映像、あるいは工場見学による市販品としての発酵食品の製造過程を学ぶことをあわせて実施した。

稿を終えるにあたり、本実習がめざしていたことを改めて述べておきたい。本実習の教育目標は、食生活における微生物制御と利用ができるようになる、ことである。そのために、微生物の取り扱いの基本を学び、食品の細菌検査や発酵食品の試験製造を行う内容となっている。このような教育目標に加えて、微生物の営みを科学的にかつ感覚的にとらえるという本実習での体験を、さらに根幹的な学びにつなげることを意識してきた。即ち、我々人間が、46億年の歴史をもつ地球上にあって、35億年の生物の歴史の上に人類として生きているということ、我々人類は、地上の動物、植物および微生物といった膨大な種類の生物種の中のただ一種であり、生態系にあるこれら無数の生物との共棲によってはじめてその生命を維持できるものであること、つまり、人類は、水、空気(酸素)と膨大な数の生き物を摂取することで次世代につながっていける、そういう自然の摂理を生活科学関連学科の学生には、特に徹底して学んで欲しいと願うのである。

人間は、自分を取り巻く他の生物のみならず、体内(消化器官)に百万種にもおよぶ微生物を共生させてお

り、これらを無くせば人としての生命現象が失われる。地上生物の一種としての人類としては、生活する環境によって取り巻く生物類の種類も個体数も異なるのは当然であり、それがひいては摂取する食品の種類や量比にも影響する。食品微生物学を考えるにあたっては、地球上の環境の違いによって動植物の種類には違いがあり、さらに微生物の種類にも違いがあるのは当然のことであるから、動植物に取り付く微生物によって、生ずる変化(発酵や腐敗・変敗)にも地域ごとに違いが生じるわけである。地上の国別、地域別によって微生物と食品の関係に違いがあり、それがそれぞれの地域における特色のある発酵食品や醸造技術となっていく所以である。このような自然の命の深い広がりをもつ発酵食品の魅力を学生達に少しでも伝えることができればと思う。

#### 4. 謝辞

本実習は、以下の方々のきめ細かな準備と協力があつて実施することができた。担当された梶原久子元職員、富山久代職員、久本美亜元特任助手、則木ゆかり職員、吉村真理子元アルバイト職員、宮本有香元特任助教、阪本祥子特任助手に厚くお礼申し上げます。

#### 5. 参考文献

杉森恒武：『夙川学院短期大学家政学科食物栄養専攻食生活コース「食品微生物学実習」プリント』(1991-2009)  
村尾澤夫 他：『くらしと微生物』 培風館 (1993)

#### <ピアスーパーバイザーからのコメント>

自分たちの知っているものには興味を示すが、なじみのないものには興味を抱かない学生が増えている。この点で、難解な微生物の特性を、身近な発酵食品の製造という形を通して理解させることで、学生の学習意欲を引き出すことに成功している。また、発酵食品の製造実習の授業形態ではあるが、常にその根底には自然界における分解者としての働きを意識して授業が進められている。他の授業においても、このような視点で見直しをすることが教育効果の向上に有効と思われる。

(担当：児童教育学科 片山雅男)