

塩麹製造での熟成温度が残存酵素活性に及ぼす影響

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	前橋,健二 大戸,亜梨花 山本,達彦 浅利,妙峰 柏木,豊
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	62巻6号
掲載ページ	p. 290-296
発行年月	2015年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



研究ノート

塩麴製造での熟成温度が残存酵素活性に及ぼす影響

前橋健二^{1,2*}, 大戸亜梨花¹, 山本達彦², 浅利妙峰³, 柏木 豊^{1,2}

¹ 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科

² 東京農業大学大学院醸造学専攻

³ 有限会社糶屋本店

Effect of Temperature on Enzymatic Stability in Shio-Koji During the Maturation Process

Kenji Maehashi^{1,2*}, Arika Ohto¹, Tatsuhiko Yamamoto², Myoho Asari³ and Yutaka Kashiwagi^{1,2}

¹ Department of Fermentation Science, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

² Department of Fermentation Science and Technology, Graduate School of Tokyo

University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

³ Kojiya Honten Ltd., 14-29 Sendo-Machi, Saiki, Oita 876-0832

Shio-koji is a gruel-like fermented rice seasoning that is obtained from the digestion of rice under high-salt conditions. The average chemical composition of 14 commercially available shio-koji products was analyzed and determined as : 11.0% NaCl, 21.9% reducing sugar, 0.07% formol nitrogen, and 50.2% water. Amylolytic and proteolytic enzyme activities were detected in the majority of the shio-koji products, although they were not detected in others. It is currently accepted that maturation at 60°C for more than 6 hours is required for sufficient digestion of starch and proteins. However, maturation at either 50°C or 60°C for 6 hours resulted in increased formol nitrogen levels without loss of enzyme activity. Upon comparison of shio-koji and amazake, in a solution of 10% NaCl-containing koji extract, here we report that a 10% NaCl solution led to the decreased thermal stability of α -amylase while that of proteases was augmented. (Received Dec. 1, 2014; Accepted Feb. 2, 2015)

Keywords : shio-koji, rice koji, residual activity, α -amylase, protease
キーワード : 塩麴, 米麴, 残存活性, α -アミラーゼ, プロテアーゼ

塩麴は、麹菌 (*Aspergillus oryzae*) を蒸米に生育させて作った米麴を食塩存在下で消化させた米発酵調味料である。多くの製品が米粒の形を残した粥状のものであるが、他にもペースト状のもの、乾燥粉末状のもの、固形分を除いた液状のものなど様々な形状の塩麴が流通している。日本では古くから清酒や味噌等の醸造物製造におけるスターターカルチャーとしての他べったら漬けや三五八漬けなどの漬物製造や魚や肉の漬け床にも米麴を利用してきた。2010年ごろ、大分県の老舗麴メーカーが配合を整えて製造した塩麴を発売したのを契機に、家庭での塩麴作りがインターネット上で話題を呼ぶと新聞等¹⁾のメディアで数多く取り上げられるようになり、2012年をピークに全国的に大ブームとなった。現在では新たな市場を形成し味噌、醤油、みりんと並ぶ基本調味料として消費者に浸透しつつある²⁾。塩麴が既存の調味料と違って注目された特徴の一つに酵素の働きがある³⁾。自家製塩麴の場合加熱殺菌が行われずに調理に使用されることが多いため、麴の酵素が豊富に残存

し食材に働いて様々な調理効果を及ぼすことが期待される。本報では工業的な塩麴製造における最適条件を見出すことを目的とし、市販塩麴の成分および残存酵素活性を調査するとともに、塩麴製造における熟成温度と残存酵素活性の関係を調べた。

1. 実験方法

(1) 供試塩麴

日本国内で2012年に市販されていた塩麴製品A~Nの14点を成分分析および酵素活性測定に用いた。入手した塩麴製品は使用まで6°Cにて保管した。

(2) 塩麴および甘酒の小仕込み試験

研究室製塩麴の調製のため、市販の乾燥米麴(みやここうじ、株式会社伊勢惣製)100gに18.4%食塩水(並塩を使用)120gを混合し、恒温器内で所定の温度にて24時間保持して熟成させた。研究室製甘酒の調製のためには同米麴100gに水道水120mlを混合し以下同様に行った。仕込み2, 4, 6時間後および24時間後にサンプリングをし、分析に

¹ 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1, ² 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1, ³ 〒876-0832 大分県佐伯市船頭町14-29

* 連絡先 (Corresponding author), maehashi@nodai.ac.jp

Table 1 Physicochemical composition of commercial shio-koji products

Shio-koji	Aspect	W (%w/w)	pH	NaCl (%w/w)	FN (%w/w)	RS (%w/w)	Alc (%w/w)	Glu (mg/100g)
A	gruel	56.24	5.22	12.05	0.071	20.03	0.03	39.85
B	paste	38.46	5.40	14.86	0.017	29.11	0.02	5.72
C	gruel	46.44	5.14	12.75	0.072	25.31	2.26	34.58
D	gruel	55.38	5.25	8.89	0.222	22.03	0.12	135.71
E	gruel	48.77	5.51	11.82	0.051	25.13	1.71	11.44
F	gruel	52.42	5.14	11.00	0.101	25.91	1.50	68.60
G	gruel	62.18	4.94	6.44	0.098	11.89	0.21	70.57
H	paste	44.09	5.51	15.67	0.020	14.47	0.01	4.00
I	paste	48.36	4.99	9.84	0.042	27.82	2.57	17.37
J	gruel	46.42	5.26	3.05	0.031	26.12	0.06	15.75
K	gruel	49.49	4.84	13.38	0.078	28.76	3.25	71.27
L	gruel	50.45	4.96	11.96	0.048	13.85	0.06	18.87
M	gruel	48.37	5.28	11.21	0.037	10.17	0.06	8.08
N	gruel	55.87	4.77	11.25	0.052	26.01	2.28	20.91

W, moisture, FN, formol nitrogen ; RS, reducing sugar ; Alc, alcohol ; Glu, free glutamic acid.

使用するまで -20°C で保管した。

(3) 塩麴および甘酒の成分分析

成分分析のためには、塩麴 10g に 9 倍量の水を加えて乳鉢で磨り潰した後、遠心分離 (7000 rpm, 15 分間) により沈殿を除去し、これをさらに遠心分離 (13000 rpm, 5 分間) にて清澄にした上清を塩麴希釈試料とした。食塩、還元糖、ホルモール窒素およびアルコールの定量は基準みそ分析法⁴⁾に従った。水分量はメトラート株式会社製ハロゲン水分計 HB43 を用い 105°C 乾燥法にて求めた。pH は堀場ガラス電極 pH メーターを用いて測定した。遊離グルタミン酸の定量は L-グルタミン酸測定キット II (ヤマサ醤油株式会社) を用いて行った。

(4) 麴抽出液の調製

市販乾燥米麴 (みやここうじ, 株式会社伊勢惣製) 10g に対し、0.5% (w/v) NaCl-10mmol/l 酢酸ナトリウム buffer (pH5.5), 10% (w/v) NaCl-10mmol/l 酢酸ナトリウム buffer (pH5.5) 又は 10% (w/v) グルコース-10% NaCl-10mmol/l 酢酸ナトリウム buffer (pH5.5) をそれぞれ 50 ml 加え、室温にて 3 時間振とうした後、ろ紙でろ過して各抽出液を得た。

(5) 酵素活性測定

市販塩麴については、等重量の水を加えて乳鉢で磨り潰し、遠心分離により沈殿を除去した後、水で適宜希釈したものを酵素活性測定用試料とした。また、研究室製塩麴および甘酒については成分分析用に調製した試料を酵素活性測定に用いた。中性および酸性プロテアーゼ活性の測定は基準みそ分析法⁴⁾により行った。すなわち、15% カゼイン溶液 (pH6.0 または pH3.0) を基質として 30°C で 60 分間反応させた後にトリクロロ酢酸可溶部にフェノール試薬 (和光純薬工業株式会社) を加えて発色させ、その OD660 nm 値からチロシン生成量 (μg) を求めた。 α -アミラーゼ、

グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、および酸性カルボキシペプチダーゼ活性はキッコーマン醸造分析キット (キッコーマンバイオケミファ株式会社製) を用いて測定した。

2. 実験結果および考察

(1) 市販塩麴の成分

市販塩麴の成分分析結果を Table 1 に示した。市販塩麴の形状は緩い粥状のものとペースト状のものがあり、サンプル B は水分量が 38% (w/w) と最も低く硬いペースト状であった一方、サンプル G は水分量が 62% (w/w) と最も高く緩い粥状であった。14 サンプルの水分量の平均値は 50.2% となった。pH は平均 5.2 程度で、みその pH4.8~4.9 よりも若干高い値であった。尚、市販甘酒 3 点について pH を測定したところ平均 pH5.5 であった (data not shown) ため塩麴と甘酒の pH 値は同等であると判断された。サンプル G の pH はやや低かったがこのサンプルのみ原材料表示に酸味料が見られた。食塩濃度は極端に低いサンプル G と J や極端に高いサンプル H を除いて 8~13% (w/w) の間 (平均 11.0%) であり、多くが一般的な米みその食塩濃度とほぼ同じであった。還元糖は 11~28% (w/w) (平均 21.9%) と甘みそ (26~28%w/w)⁵⁾ と同等に高濃度であり、多くの製品が十分に米デンプンを糖化させていることが示されていた。しかし甘味料添加がラベルに表示されていたサンプル G は還元糖の値が低かった。食塩濃度と還元糖濃度の比率はサンプル H, L および M のようにほぼ同じものやサンプル J のように還元糖濃度のほうが極端に大きいものもみられたが、ほかの多くが 1:2 に近い傾向がみられた。この比率が塩麴特有の塩味と甘味のバランスに寄与していると推定された。アルコールはラベルに酒精添加表示のある 6 サンプル C, E, F, I, K および N では平均 2.26% (w/w) 検出されたが、酒精添加表示の

Table 2 Enzyme activities of commercial shio-koji products

Shio-koji	Protease (U/g)		ACP (U/g)	α A (U/g)	GA (U/g)	α G (U/g)
	pH6	pH3				
A	102.4	87.8	0.96	16.2	0.29	0.05
B	0.0	0.0	0.00	0.0	0.00	0.03
C	171.3	149.9	1.32	27.8	0.46	0.07
D	111.2	85.6	1.13	35.7	0.44	0.10
E	22.2	0.0	0.21	14.4	0.10	0.04
F	163.6	156.6	1.19	13.5	0.16	0.03
G	0.0	0.0	0.01	0.1	0.00	0.00
H	20.1	0.0	0.00	0.0	0.00	0.02
I	32.1	43.3	0.34	2.1	0.05	0.03
J	0.0	0.0	0.08	0.0	0.00	0.02
K	262.3	376.7	2.36	14.5	0.24	0.04
L	0.0	0.0	0.15	0.0	0.00	0.03
M	0.0	0.0	0.08	0.0	0.00	0.01
N	90.2	99.9	0.32	15.6	0.51	0.08

ACP, acid carboxypeptidase; α A, α -amylase; GA, glucoamylase; α G, α -glucosidase.

ないサンプルにはほとんど検出されなかった。ホルモール窒素濃度は平均0.07% (w/w)であったが、これはこいくちしょうゆ⁶⁾のおよそ1/10であり、大豆使用量の少ないしろしょうゆ⁷⁾と比較しても半分以下であった。尚、同じ米原料の発酵物である清酒⁸⁾と比較するとおよそ2倍程度のホルモール窒素濃度であった。遊離グルタミン酸濃度は平均37mg/100gでありこれは清酒⁹⁾のおよそ2倍であった。

(2) 市販塩麴の酵素活性

市販塩麴の各種酵素活性を測定した結果を Table 2 に示した。酵素活性には各製品間において大きな差がみられ、サンプル B は酸性カルボキシペプチダーゼ、 α -アミラーゼ、およびグルコアミラーゼは検出されず他の酵素活性も比較的低い値を示していた。またサンプル G もすべての酵素活性が非常に低かった。サンプル C および D はすべての酵素活性において高い値を示した。各酵素活性について14 サンプルの平均値との比率を算出して比較したところ、製品ごとの各酵素活性のバランスに特徴がみられた (data not shown)。例えば、サンプル D は α -アミラーゼ、グルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性がその他の酵素活性よりも平均値を大きく上回っており、サンプル N はグルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性が、サンプル F は中・酸性プロテアーゼ活性が相対的に高かった。サンプル K は α -アミラーゼ、グルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性は平均値並みだったにもかかわらず、中・酸性プロテアーゼおよび酸性カルボキシペプチダーゼ活性は極端に高く、酵素活性のバランスでも突出していた。塩麴を製造・販売している会社の多くが味噌メーカーであるため、使用されている米麴はタンパク質分解系

の酵素活性が高い味噌・甘酒用と思われるが、残存酵素活性は製造における熟成温度および殺菌条件に大きく依存しているものと推察された。各製品の殺菌条件や製造からの経過日数は不明であるが、酒精が添加されていた製品はサンプル E を除いていずれも酵素活性が高い傾向が見られたためこれらは加熱殺菌をしていないことが予想された。また、冷蔵で店頭販売されていたサンプル A, D および F が比較的高い酵素活性を保持していたことから、製造から購入までの温度履歴が残存酵素活性に影響を及ぼした可能性も考えられた。さらに、サンプル K のように常温での店頭販売でありながら高い酵素活性を保持していた製品もあったことから、食塩や還元糖等の成分が残存活性に影響を及ぼす可能性も考えられた。

(3) 高温消化における塩麴の成分の消長および酵素活性の安定性

一般家庭での塩麴作りは常温で7日間~10日間かけて行うのが普通であるが、効率化のためには高温短時間で製造するのが望ましい。そこで塩麴製造温度の酵素活性への影響を調べるため、市販米麴を用いて食塩10% (w/w) とする配合で塩麴を仕込み、50°C, 60°C, および70°Cで24時間保持した際の成分および残存酵素活性の消長を調べた結果を Fig. 1 に示した。還元糖については50°Cおよび60°Cにおいては6時間目までに急激な増加がみられ、その後24時間目までにかけては緩やかな増加がみられた。しかし70°Cにおいては2時間目までにかけて急激な増加が見られ6時間目以降は変化が見られなかった。 α -アミラーゼ活性およびグルコアミラーゼ活性は50°Cおよび60°Cのいずれにおいても6時間後までは変化が見られなかったが60°Cにおいては24時間後にはほぼ失活していた。70°Cでは2

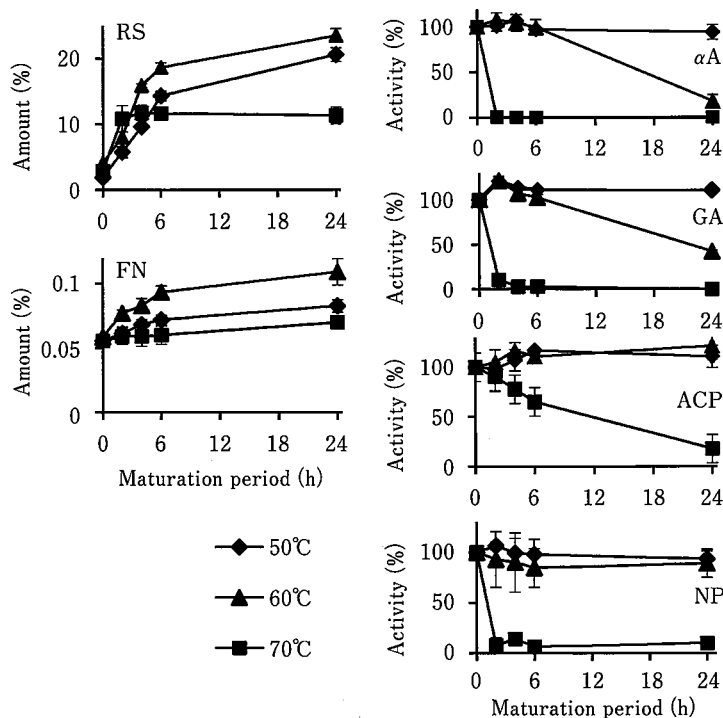


Fig. 1 Changes in chemical components and enzyme activities during maturation of shio-koji at various temperatures

RS, reducing sugar ; FN, formol nitrogen ; α A, α -amylase ; GA, glucoamylase ; ACP, acid carboxypeptidase ; NP, neutral protease. Shio-koji was prepared by mixing of rice koji (100 g) with 18.4% NaCl solution (120 g) followed by incubation at various temperature for 24 hrs. Enzyme activities were represented as a percentage of residual activity against the activity of 0 hr sample. Each symbol indicates the mean \pm SE ($n=3$).

時間後には失活していたため、初期の2時間で α -アミラーゼの反応は急速に進行したと考えられた。ホルモール窒素の消長は、70°Cにおいてやや増加速度は緩やかだったものの、いずれの温度においても24時間をかけて徐々に増加しており、増加率は60°Cにおいて最も大きかった。中性プロテアーゼ活性は50°Cおよび60°Cでは安定であったが70°Cにおいては2時間後にはほぼ失活していた。酸性カルボキシペプチダーゼ活性も50°Cおよび60°Cでは安定であったが70°Cにおいては6時間後までは50%以上の活性が保持されていたものの24時間後にはほぼ失活していた。米味噌中では30°Cでの発酵60日間を通じて α -アミラーゼ、プロテアーゼともに活性に変化がみられないことが報告されている⁹⁾。一般家庭で塩麴を製造する場合は室温で行われることが多く、30°C、10日間の熟成においては塩麴の α -アミラーゼおよび酸性・中性プロテアーゼ活性に変化がないことを著者らは認めている¹⁰⁾。しかし塩麴は味噌よりも水分量が多いため、室温や30°Cで熟成させると微生物汚染の危険性が高くなりアルコール等の保存料が必要となる。本実験結果から、還元糖およびホルモール窒素量の消長の点では60°Cで6時間以上の消化が必要であり、残存酵素活性の点からは50°C~60°Cで6時間程度の短時間消化による方が適当であると判断された。

(4) 高温消化における塩麴および甘酒の成分の消長および酵素活性の安定性

甘酒は米麴に水を加え45~60°Cで数時間糖化して作られる甘味飲料である¹¹⁾。塩麴と甘酒の違いは食塩の有無であるので、米麴の糖化に及ぼす食塩の影響を見るため塩麴と甘酒の60°Cでの製造における成分の消長および酵素活性の安定性を比較しその結果をFig. 2に示した。還元糖は塩麴と甘酒と同様に仕込み後6時間までに著しく増加しほぼ最高値に達していた。一方、ホルモール窒素は塩麴と甘酒の両方で仕込み後6時間までに著しく増加したが甘酒の方が塩麴よりも約1.5倍量となった。 α -アミラーゼは仕込み後6時間は塩麴および甘酒の両方とも大きな活性低下はみられず、24時間後には塩麴では失活し甘酒ではおよそ30%にまで活性が低下していた。酸性カルボキシペプチダーゼ活性は塩麴および甘酒の両方とも仕込み後24時間大きな変動はみられなかった。麴に含まれるプロテアーゼおよびペプチダーゼは食塩によって著しく活性阻害を受けることが知られている。従って、塩麴と甘酒で共に酸性カルボキシペプチダーゼ活性が安定であったにもかかわらず両方のホルモール窒素の消長に大きな差がみられた要因は塩麴における食塩の活性阻害であると推察された。しかし甘酒と塩麴で最終的なホルモール窒素量に大きな差が見

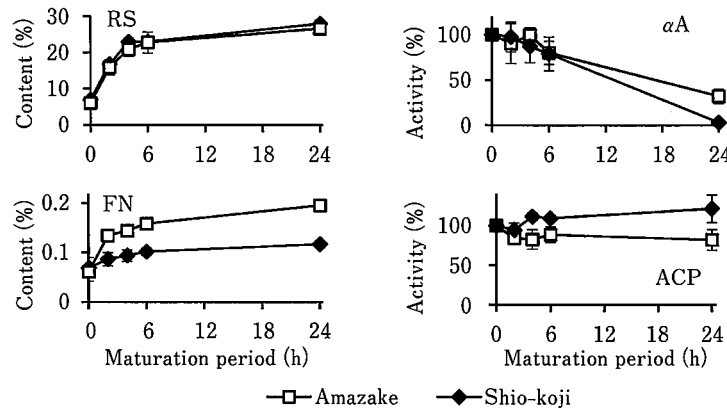


Fig. 2 Changes in chemical components and enzyme activities during maturation of shio-koji and amazake during maturation

RS, reducing sugar; FN, formol nitrogen; α A, α -amylase; ACP, acid carboxypeptidase. Amazake and shio-koji were prepared by mixing of rice koji (100 g) and water (120 ml) or 18.4% NaCl solution (120 g), respectively, followed by incubation at 60°C for 24 hrs. Enzyme activities were represented as a percentage of residual activity against the activity of 0 hr sample. Each symbol indicates the mean \pm SE ($n=3$).

られた理由については不明である。岡田ら¹²⁾はたまりしょうゆのタンパク質分解率の上昇が18%食塩では3ヶ月目以降見られなかったのに対し無塩では6ヶ月まで上昇し高い値となったことを報告している。無塩たまりでは全遊離アミノ酸量は増加したが、個々のアミノ酸についてみると増加したものと減少したものがあり、これらを微生物による消費の影響と考察している。高温・短期間熟成の甘酒や塩麴では微生物の影響は考えにくい、食塩濃度および温度が酵素作用に及ぼす影響は複数種存在するタンパク質分解酵素の個々に対して異なる可能性があるため、今後詳細な検討の余地があると思われる。

(5) 米麴抽出液の酵素の熱安定性に及ぼす食塩および糖の影響

米麴から3種類のbufferで調製された各抽出液A(0.5% NaCl抽出液), B(10% NaCl抽出液)およびC(10% グルコース-10% NaCl抽出液)を用い, 30°Cを対照として50°Cから70°Cの各温度にて120分間保持した際の残存酵素活性の消長を調べた。尚, 調製された各抽出液の食塩および還元糖について実際に分析して得られた値はFig. 3aの説明文中に示した。全体的な傾向としては, いずれの抽出液においても多くの酵素が50°Cでは大きな活性低下を示さず, 60°Cでは速やかに活性低下し70°Cでは30分後にほぼ失活していた。しかし残存活性に及ぼす温度の影響は酵素ごとおよび抽出液ごとに若干の特徴が見られた。デンプン分解系酵素についての結果をFig. 3aに示した。 α -アミラーゼはA抽出液においてよりもBおよびC抽出液中では若干活性の低下が大きかった。一方グルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼにおける60°C, 30分後はC抽出液においてはA抽出液よりも若干高い残存活性が見られた。これらの結果から, 高温下での α -アミラーゼ活性は

食塩の存在により安定性が低下する傾向があるがグルコアミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性は食塩の影響を受けず且つグルコースの存在によって安定性が高まると考えられた。この結果からFig. 2の実験において塩麴のほうが甘酒よりも24時間後の α -アミラーゼの残存活性が若干高かったこととの関連性が示唆された。また, α -アミラーゼの熱安定性には糖の存在は影響しないと思われた。

タンパク質分解系酵素についての結果をFig. 3bに示した。酸性カルボキシペプチダーゼのみはいずれの抽出液においても50°Cおよび60°Cでは活性の低下はみられなかった。酸性および中性プロテアーゼについては, 50°CにおいてはA抽出液で30分後から大きな活性低下がみられたもののBおよびC抽出液では比較的安定であった。60°CにおいてはAおよびB抽出液では30分後からほぼ失活していたがC抽出液では若干の活性が残存していた。これらの結果から, 酸性プロテアーゼ活性は食塩の存在により熱安定性が著しく向上すると考えられた。また, C抽出液における中性プロテアーゼ活性については50°Cにおいての安定性がB抽出液においてと比べると若干向上していたことから, グルコースの存在は中性プロテアーゼ活性に対しては若干保護的に働く可能性が考えられた。また中性プロテアーゼ活性の熱安定性は塩麴や甘酒における酵素の熱安定性は麴抽出液での試験結果と一致しなかったが, これは液体の麴抽出液とペースト状の塩麴とで熱伝導効率や温度分布に違いがあることに起因するのではないかと考えられた。

A. oryzae EI 212株由来の部分精製 α -アミラーゼ¹³⁾の活性は55°Cではわずかに低下し60°C・60分間処理では30%にまで活性が低下することが報告されている。また, 米麴から精製されたグルコアミラーゼは60°C・10分間処理で

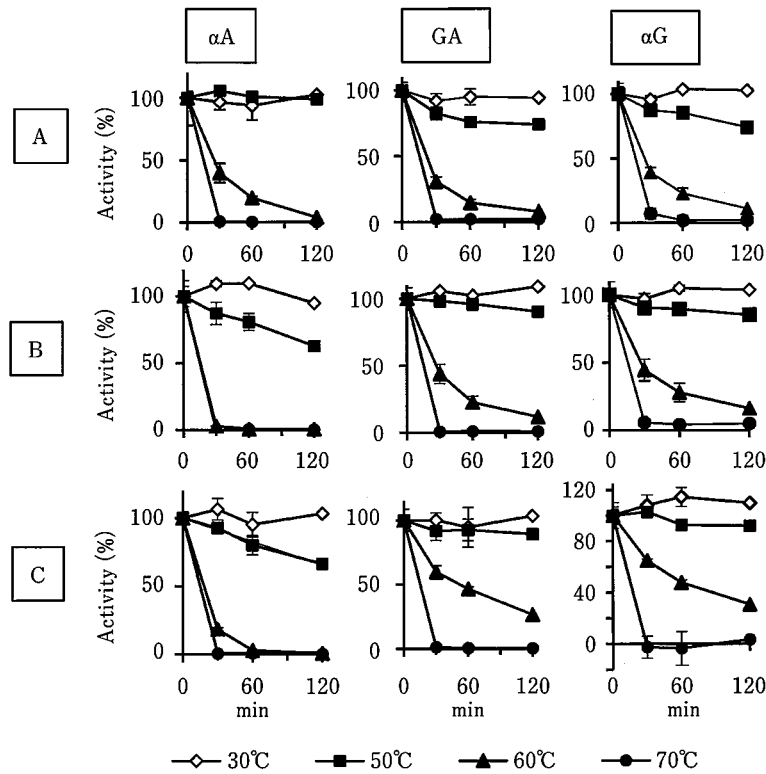


Fig. 3a Effect of temperature on the stabilities of amylolytic enzymes of various koji extracts
 αA , α -amylase ; GA, glucoamylase ; αG , α -glucosidase. A, 0.5% NaCl extract (NaCl 0.49%, RS 3.43%) ; B, 10% NaCl extract (NaCl 9.16%, RS 3.96%) ; C, 10% glucose-10% NaCl extract (NaCl 7.31%, RS 10.61%). NaCl and reducing sugar (RS) contents in each koji extracts prepared by different solutions were determined. Each extract was incubated at various temperatures for 120 min, and the enzyme activities were measured and represented as a percentage of residual activity against the activity of 0 min sample. Each symbol indicates the mean \pm SE ($n=3$).

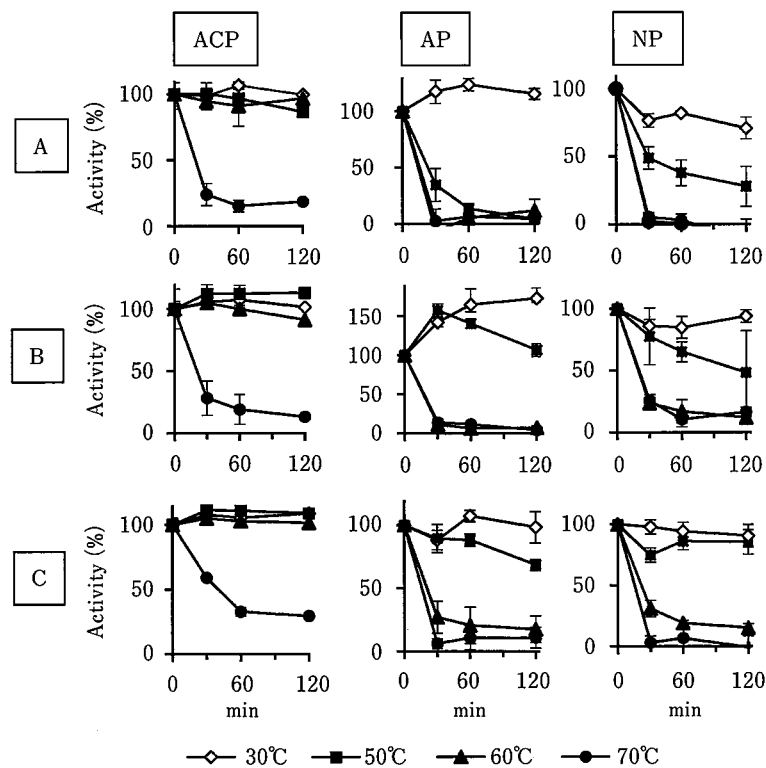


Fig. 3b Effect of temperature on the stabilities of proteolytic enzymes of various koji extracts
ACP, acid carboxypeptidase ; AP, acid protease ; NP, neutral protease.

20%にまで活性が低下することが報告されている¹⁴⁾。Nakadaiらは*A. oryzae*から精製された中性プロテアーゼ I⁵⁾の活性は50℃では安定であるが60℃では著しく低下するが、中性プロテアーゼ II⁶⁾は90℃・10分間の加熱によっても70%以上の活性を保持する耐熱性プロテアーゼであることを報告している。*A. oryzae* MTCC 5341由来酸性プロテアーゼの活性は、50℃では15分間安定であるが60℃では著しく低下している¹⁷⁾。Moritaら¹⁸⁾は3種の組換え酸性カルボキシペプチダーゼの熱安定性について調べ、45℃または55℃においては60%の活性が残存することを認めている。*A. oryzae*の酵素生産量は、製麴工程での水分量や培養温度および培養時間等の環境因子の影響を受けることが知られている¹⁹⁾。さらに、*A. oryzae*のタンパク質分解系酵素に関しては、ゲノム解析から複数のホモログ遺伝子の存在が明らかにされている²⁰⁾。従って製造条件の違いだけでなく菌株の遺伝子発現プロファイルの違いによっても麴に含まれる酵素の組成に違いが生じる可能性があり、それは麴の酵素活性に及ぼす熟成温度の影響に反映されると考えられる。塩麴製造の最適条件の検討にあたって、麴に使用される菌株の遺伝子情報や個々の酵素遺伝子の性質も把握することができればさらに精細な品質コントロールが可能と思われる。

3. 要約

(1) 市販塩麴製品14点の成分の平均値は、水分50.2%、食塩11.0%、還元糖21.9%、ホルモール窒素0.07%であった。酵素活性は全く検出されないものも見られたが多くの製品にデンプン分解系酵素やタンパク質分解系酵素が検出された。

(2) 塩麴の製造条件として、還元糖およびホルモール窒素量の消長の点では60℃で6時間以上の消化が必要であるが、残存酵素活性を考慮すると50℃~60℃で6時間程度の短時間消化による方が適当であると判断された。

(3) 麴抽出液での試験では、10%食塩の存在で α -アミラーゼ活性の熱安定性は低下しプロテアーゼの熱安定性は若干向上する傾向が見られた。また、10%グルコースの存在ではプロテアーゼ活性の熱安定性がさらに向上する傾向が見られた。

実験にご協力頂いた柳川雅美氏並びに奥平由里子氏に感謝致します。

文 献

- 1) 読売新聞 (2012), 2012年2月27日付朝刊.
- 2) 旭 利彦, ハナマルキに見る塩こうじビジネス, 食品工業, 2013-4.15, 54-59 (2013).
- 3) 朝日新聞 (2012), 2012年4月21日付土曜日版.
- 4) 新・みそ技術ハンドブック付基準みそ分析法, (全国味噌技術会), (2006).
- 5) 中野政弘編著, 味噌の醸造技術, (日本醸造協会), p.133 (1982).
- 6) 日本醸造協会編, 醸造物の成分, (日本醸造協会), p.409 (1999).
- 7) 日本醸造協会編, 醸造物の成分, (日本醸造協会), p.449 (1999).
- 8) 日本醸造協会編, 醸造物の成分, (日本醸造協会), p.65 (1999).
- 9) 和久 豊, 味噌熟成中の酵素活性について, 日本醸造協会誌, 88, 433-438 (1993).
- 10) 前橋健二, 伊藤正貴, 徐 載薫, 柳川雅美, 田中由太郎, 浅利妙峰, 柏木 豊, 塩こうじの成分及び熟成における酵素活性の消長, 日本食品科学工学会第59回大会講演要旨, p.180 (2012).
- 11) 麻生 清, 渡辺敏幸, 半野敬夫, 渡辺捷栄, 甘酒の糖組成について, 醗酵工, 8, 464-469 (1960).
- 12) 岡田安司, 天野武雄, 竹内徳男, 好井久雄, 低食塩たまりの試作について, 日本食品工業学会誌, 28, 201-207 (1981).
- 13) Kundu, A.K. and Das, S., Production of amylase in liquid culture by a strain of *Aspergillus oryzae*. *Applied Microbiology*, 19, 598-603 (1970).
- 14) Ono, K., Shigeta, S. and Oka, S., Effective purification of glucoamylase in koji, a solid culture of *Aspergillus oryzae* on steamed rice, by affinity chromatography using an immobilized acarbose (BAY g-5421). *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1707-1714 (1988).
- 15) Nakadai, T., Nasuno, S. and Iguchi, N., Purification and properties of neutral proteinase I from *Aspergillus oryzae*. *Agric. Biol. Chem.*, 37, 2695-2701 (1973).
- 16) Nakadai, T., Nasuno, S. and Iguchi, N., Purification and properties of neutral proteinase II from *Aspergillus oryzae*. *Agric. Biol. Chem.*, 37, 2703-2708 (1973).
- 17) Vishwanatha, K.S., Appu Rao, A.G. and Singh, S.A., Characterization of acid protease expressed from *Aspergillus oryzae* MTCC 5341. *Food Chem.*, 114, 402-407 (2009).
- 18) Morita, H., Okamoto, A., Yamagata, Y., Kusumoto, K., Koide, Y., Ishida, H. and Takeuchi, M., Heterologous expression and characterization of CpI, OcpA. and novel serine-type carboxypeptidase OcpB from *Aspergillus oryzae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85, 335-346 (2009).
- 19) 奈良原英樹, 岩田全旦, 米麴の製麴に関する研究 (第2報) 麴菌の酵素生成に関与する環境因子, 味噌の科学と技術, 31, 358-363 (1983).
- 20) Kusumoto, K., Genomic analysis of koji mold *Aspergillus oryzae* and investigation of novel peptidases by post-genomic approach. *Jpn. Agric. Res. Q.*, 46, 1-6 (2012).

(平成26年12月1日受付, 平成27年2月2日受理)