



## 塩麴の酵素活性と食味との関係

本研究は、日本農芸化学会2013年度大会(開催地:東北大学)の「ジュニア農芸化学会」で発表された。巷で塩麴ブームが起こっており、さまざまなメーカーからも販売されている。本研究では、市販の塩麴にどのような微生物が含まれているか、どのくらい酵素活性が残っているかを調べた。



### 本研究の背景、実験方法および結果

**【目的】**市販の塩麴および自家製の塩麴について、塩麴中のコウジカビの菌糸の様子、菌叢の形態、塩麴中のアミラーゼおよびプロテアーゼ活性、および塩麴で処理した豚肉の食味をそれぞれ調査し、製品間の違いを明らかにするとともに、酵素活性と食味との関係を検討した。

**【実験方法】**4種類の市販の塩麴および自家製の塩麴を用いて実験を行った。各塩麴の原材料を表1に示した。自家製塩麴は、乾燥米麴40gに60℃の湯24mLを加えて60℃で6時間放置した後に水を切り、これに水40mLおよび食塩11.2gを加え、常温で7日間放置して製造した。

**1. 塩麴中のコウジカビ菌糸および菌叢の観察** ジャガイモ培地で米麴および塩麴から糸状菌を分離し、培養して胞子を形成させた。塩麴または培養した糸状菌の菌叢を固定・脱水し、臨界点乾燥および金蒸着を行い、走査型電子顕微鏡MiniscopeTM3000(日立ハイテクノロ

ジーズ)で観察した。

**2. アミラーゼおよびプロテアーゼ活性の測定** 10gの各塩麴および米麴に1%食塩水30mLを加えて攪拌・ろ過し、粗酵素液を作製した。この粗酵素液を用い、以下に示す方法で両酵素の相対的な活性を調査した。

アミラーゼ活性:1%可溶性デンプン液200μLに粗酵素液50μLを加え保温後、Somogyi銅液250μLを添加、煮沸20分・急冷した。Nelson試薬500μLを加えて30分静置した後に2.5mLの蒸留水で希釈し、500nmの吸光度を測定した。

プロテアーゼ活性:2%ミルクカゼイン液2mL、0.1Mリン酸緩衝液2mLに粗酵素液1mLを加え、30℃、20分保温後、0.4Mトリクロロ酢酸5mLを加えて30℃、30分静置し、反応を停止した。ろ過後、ろ液1mLに0.4M炭酸ナトリウム5mL、2倍希釈フェノール試薬1mLを加えて、30℃、20分保温し、660nmの吸光度を測定した。

**3. 食味官能試験** 豚ロース肉を4種類の市販および自家製の塩麴にそれぞれ24時間漬け、余分な塩麴を落としてから約3分間焼いた。それを6人の生徒が試食し、柔らかさ、旨味、塩味および風味についてそれぞれ評価

表1 ■ 購入した塩麴の原材料

塩麴	原材料
A	米麴, 食塩, 酒精
B	米麴(国産), 食塩(沖縄産)
C	米麴(新潟産), 食塩, 酒精
D	米(国産), 玄米(国産), 食塩, 酒精

表2 ■ 酵素の吸光度および食味間の相関係数

項目	アミラーゼ	プロテアーゼ	柔らかさ	旨味	塩味
プロテアーゼ	0.8170				
柔らかさ	0.9051*	0.9493*			
旨味	0.7737	0.8213	0.76836		
塩味	0.7565	0.6746	0.7650	0.9012*	
風味	0.6571	0.6153	0.5333	0.3550	0.0744

\*:5%の有意差あり。

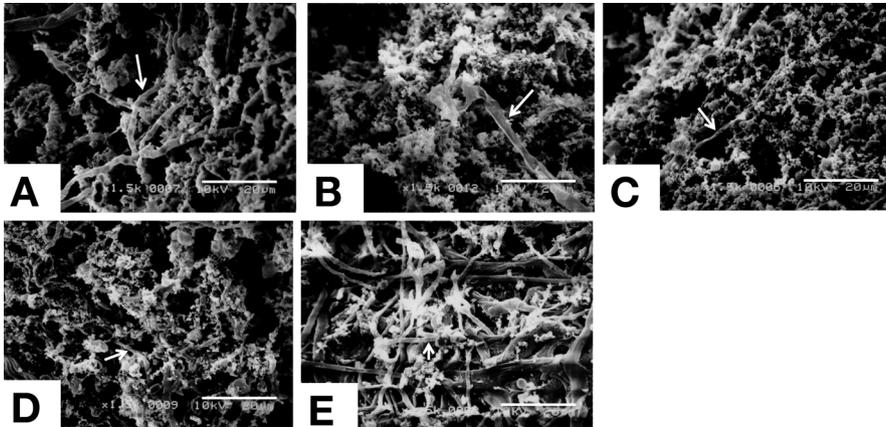


図1 ■ 塩麴中のコウジカビの菌糸 (矢印)

A ~ D: 購入塩麴, E: 自家製塩麴.  
バーは20 μmを表す。

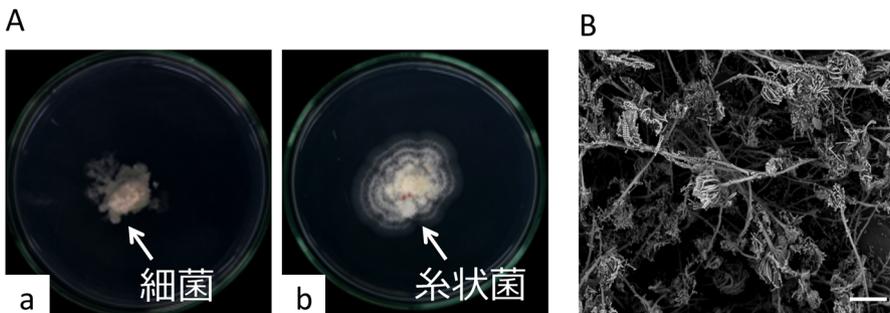


図2 ■ (A) 購入米麴 (a) および自家製塩麴 (b) の培養, (B) 自家製塩麴から分離されたコウジカビの電子顕微鏡写真

バーは100 μmを表す。

3を高評価とする3段階で評価した。6人の生徒の評価値平均と酵素活性を表す吸光度の間で単相関解析を行い、相関係数を表2にまとめた。

**【結果と考察】** すべての購入および自家製塩麴中に多数のコウジカビと思われる菌糸が確認された。いずれの菌糸も太さは均一ではなく、萎れているように見えた (図1)。ジャガイモ培地に置いた自家製の塩麴からは糸状菌の菌糸および細菌のコロニーが形成された。一方、購入した4種類の塩麴からは細菌のコロニーのみが形成され、糸状菌のコロニーは観察されなかった (図2A)。自家製塩麴から分離した糸状菌を観察したところ、コウジカビに似た分生子頭を形成していた (図2B)。

すべての購入および自家製塩麴中に多数のコウジカビの菌糸が確認されたが、いずれの菌糸も萎れているように見え、菌糸は死滅していると考えられた。塩麴の培養の結果、自家製塩麴中にのみコウジカビの生存が確認できた。購入塩麴では長期間塩に漬けられていたため胞子も死滅していたのであろう。そのため、購入塩麴に使われているコウジカビの菌叢の形態を明らかにすることはできなかった。

次に各塩麴中のアミラーゼおよびプロテアーゼ活性を調べてみた。その結果、塩麴Bのアミラーゼおよびプロテアーゼ活性がほかの塩麴に比べて低かった (図3)。

B以外の塩麴のアミラーゼ活性には大きな差異がな

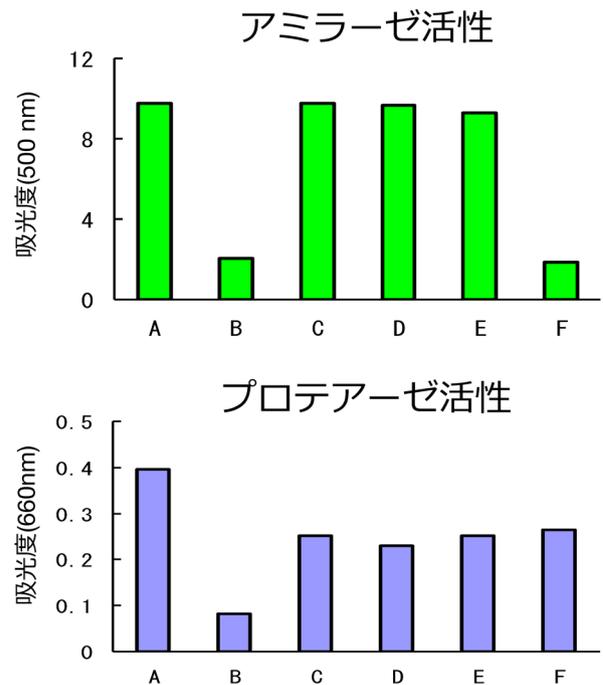


図3 ■ 塩麴および米麴のアミラーゼ活性およびプロテアーゼ活性

A ~ D: 購入塩麴, E: 自家製塩麴, F: 米麴。

かったが、プロテアーゼについては塩麴Aの活性が特に高かった。また、米麴のアミラーゼ活性はBと同程度に低かった。

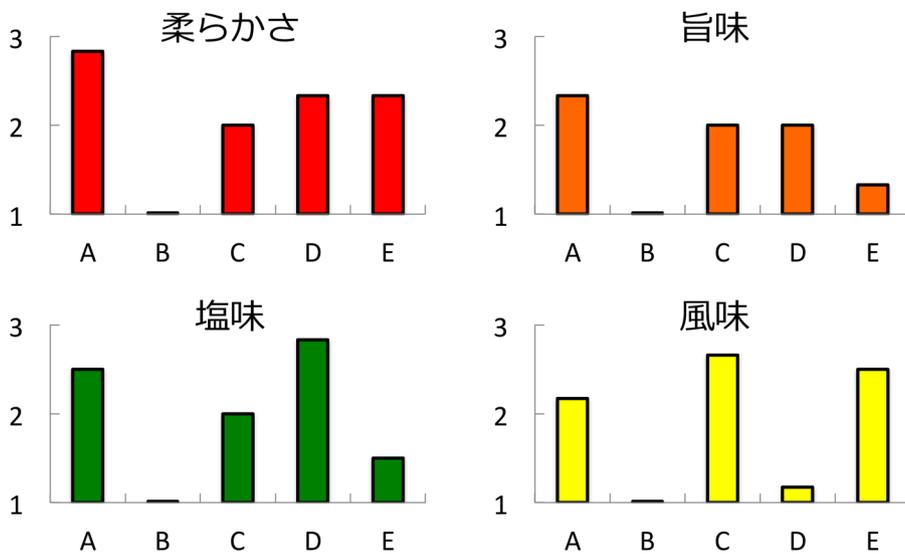


図4 ■ 処理した塩麴の違いによる肉の官能評価試験  
A～D: 購入塩麴, E: 自家製塩麴.

次に各塩麴で処理した際の食味を調べてみた。その結果、異なる塩麴で処理した豚肉の食味には違いがあり、塩麴Aで処理した肉は全体的に評価が高く、塩麴Bで処理した肉は全項目で評価が低かった(図4)。また、アミラーゼ活性とプロテアーゼ活性の間には有意ではないが高い正の相関が見られ、両酵素活性の高さと塩麴に漬けた肉の柔らかさには有意な正の相関が見られた(表2)。また、塩味と旨味の間には有意な正の相関が認められた。

以上の結果から、酵素活性は塩麴の種類によって異なり、酵素活性が高い塩麴で処理した肉ほど食味の評価が高くなった。アミラーゼおよびプロテアーゼはそれぞれデンプンを分解して糖を、タンパク質を分解してアミノ酸を作る。肉の主成分はタンパク質であり、旨味の主成分はアミノ酸であるため、本実験で食味の評価に関係したのは主にプロテアーゼであると考えられる。また、アミラーゼは肉の食味の評価には関与しないと予想されるが、食味の評価が高い塩麴Aのアミラーゼ活性が高かったことから、アミラーゼ生産とプロテアーゼ生産の制御に何らかの関連性がある可能性が示唆された。

つ酵素の生化学的解析、塩麴で処理した肉の官能試験を通して、市販の塩麴の評価を行った。

市販の塩麴の電子顕微鏡観察からはコウジカビの菌叢が確認できたが、培養では検出できず、本来の「菌叢を調べる」という目的は達成できなかった。しかし、コウジカビが死滅していると考えられた塩麴からでもアミラーゼやプロテアーゼの活性を検出することができ、肉の旨味を引き出すことができることを見いだしている。食味には酵素活性だけでは説明がつかないさまざまなファクターが関与していることが想像できるので、より一層の解析が必要となってくるだろう。高校生が「塩麴」に対して抱いた関心から始まった本研究は、ブームを鵜呑みにせずに科学的検証を行うことが重要であることを示唆しており、今後の積極的な研究にも期待したい。

(文責「化学と生物」編集委員)



## 本研究の意義と展望

2011年後半頃から、「塩麴」がブームとなっている。塩麴は日本の伝統的な調味料であり、麴と塩・水を混ぜて熟成させるだけで簡単に自宅でも作れる食品である。肉や魚と混ぜるだけで旨味が増すと謳われているが、本当だろうか？

本研究では、高校生がそのブームに関心を持ち、培養および電子顕微鏡観察などの微生物学的解析、塩麴のも