



鹿児島県立錦江湾高等学校 (コア SSH 指定校)

有延龍志, 岸本裕成, 沢津橋由香, 新原絵美, 山角 愛, 丹治誠也, 松元克暢
(顧問: 中島 亮)

大根由来アミラーゼを利用した新しい焼酎開発

本研究は、平成 22(2010) 年度日本農芸化学会大会 (開催地東京) において開催された高校生による第 5 回「ジュニア農芸化学会」で発表され、その内容がきわめて高い評価を受けた。焼酎は、我が国を代表する伝統的アルコール飲料である。その醸造工程に着目し、桜島ダイコンに発酵原料と糖化酵素を求め「大根焼酎」を開発した点はユニークであり、農芸化学に相応しく興味深い研究内容となった。



研究の目的、方法および結果 (講演要旨を部分的に改変記載した。図はポスターより転載)

【目的】 鹿児島県では、古くから米などの穀類やサツマイモなどを発酵原料とした焼酎醸造が盛んであり、桜島ダイコンとともに全国に誇れる名産品である。焼酎は、発酵原料に含まれるデンプンの麹による糖化と酵母によるアルコール発酵を並行して行ない、蒸留することで製造する。一方、ダイコンにはアミラーゼが大量に含まれ、デンプンを糖化できる。本研究では、桜島ダイコンを用いた焼酎の製造を最終目的とし、ダイコンの糖を利用できるか、さらに麹アミラーゼの代わりにダイコンアミラーゼを使用できるかについて調べた。

【方法】

①切干ダイコンの調製：桜島ダイコン主根の他に青首ダイコンも使用した。細断後に、扇風機による送風乾燥で 72 時間以上の陰干しを行なった。また、熱風乾燥機も使用した。

②切干ダイコンからの糖の抽出量：5 g の切干ダイコンに蒸留水を加え、含有されている糖の抽出を行なった。加えた蒸留水の量 (20 ml, 50 ml, 100 ml) や抽出時間 (5~50 分) の影響を調べた。抽出された糖はソモギー法で求めた。

③ダイコン由来アミラーゼの最適温度：セロハンチューブを用いて新鮮ダイコンの磨砕液 (大根おろし液) と切干ダイコン抽出液を透析した。透析時間は、前者で 8 時間、後者は 3 日間であった。それぞれを 0~100°C でデンプンに作用させ、生成する還元糖量をソモギー法で測定し最適温度を調べた。

④醸造試験：醸造試験は、鹿児島大学農学部焼酎学講座で行なった。グルコース 2%, ポリペプトン 2%, 酵母エキス 1% から成る YPD 液体培地に酵母を植菌し、30°C で 2 日間静置培養し、 1.0×10^8 個/ml の酵母培養液を得た。調製した酵母を 1×10^6 個/ml になるように次に示す 7 種類の糖液に加え、30°C でアルコール発酵試験を行なった。i) 桜島ダイコンから調製した切干ダイコン 1 g 当たり蒸留水 5 ml を加えたもの (切干ダイコン：水 = 1:5 と表記), ii) 切干ダイコン：水 = 1:10, iii) 切干ダイコン：大根おろし液 = 1:5, iv) 切干ダイコン：大根おろし液 = 1:10, v) 切干ダイコン：大根おろし液 = 1:10, vi) ii) の搾汁液, vii) 細断したサツマイモ：大根おろし液 = 1:1。得られたもろみを蒸留し、焼酎を得た。

【結果と考察】

(1) ダイコン試料の調製：ダイコンそのものを材料に用いたが、腐敗の進行が著しく、以降の発酵試験に適さなかったため、①の方法で切干ダイコンを作製した。特に乾燥の際に送風することが重要であり、無風乾燥ではすぐに腐敗した。細断の形状 (切り方) は、糖の抽出量に影響しなかった。切干ダイコンの使用は、腐敗が抑えられる他に、試料の長期保存に優れ、貯蔵スペースの軽減、糖抽出のろ過作業が容易になるなど、操作上の利点が明らかになった。糖抽出用の切干ダイコンの最終的な調製条件は、熱風乾燥機を用いダイコンアミラーゼが

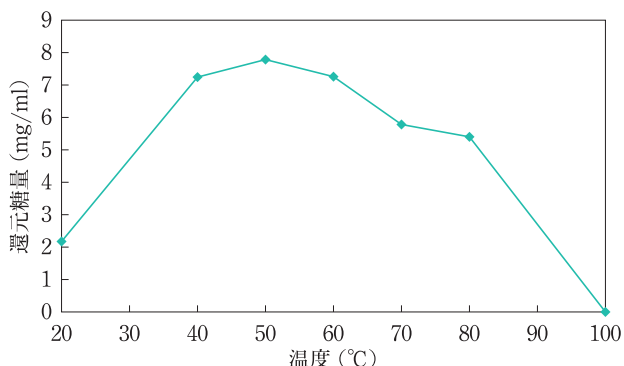


図1 ■切干桜島ダイコンに含まれるアミラーゼの温度活性曲線



図2 ■アルコール発酵試験 (左) と発酵中の切干桜島ダイコン糖液 (右)

最もよく作用する 50°C で 1 日の送風乾燥とした。

(2) 切干ダイコンからの糖液の調製：切干ダイコンから糖度が高い糖液を得るためには、少ない量の蒸留水で抽出することが望ましい。切干ダイコンの吸水量が大きく、効率の良い抽出を行なうためには、ある程度以上の量の蒸留水が必要であった。②の抽出実験から、切干ダイコンの乾燥重量の 10 倍に当たる加水（切干ダイコン 1 g に対し蒸留水 10 ml）を行ない、抽出時間を 50 分とした。本条件で青首ダイコンと桜島ダイコンから 5.4% および 4.45% の糖がそれぞれ抽出された。

(3) ダイコン由来のアミラーゼの性質：麴アミラーゼの代わりにダイコンアミラーゼを利用するため、酵素の性質を調べた。試料に含まれる還元糖が解析を妨害し

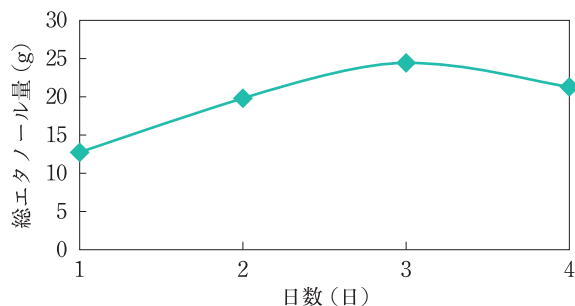


図3 ■もろみ重量減少量によるエタノール推定生成量の経日変化

たため、③に示した透析操作で除き最適温度を調べた（図1）。切干ダイコンに含まれるアミラーゼは 50°C で最大の活性を示し、新鮮ダイコンから抽出したアミラーゼの最適温度と同じであった。穀類デンプンなどを利用する場合であっても、糖化は 50°C で行なえることが明らかになった。

(4) アルコール発酵と焼酎製造：④に示した各種の糖液を原料にアルコール発酵を試みた（図2）。切干ダイコン 1 g 当たり蒸留水 5 ml を加えたものに酵母を加え、30°C で発酵を行なった結果、3 日間の培養で 3.9% のエタノールが生産され、頭打ちになった（図3）。したがって、最適培養時間を 3 日とした。蒸留を行ない、エタノール濃度 23.6% の「桜島ダイコン焼酎」が完成した（図4）。

【協力】 鹿児島大学農学部生物資源化学科焼酎学講座：高峯和則 准教授，鮫島吉廣 教授。



本研究の意義と展望

人類とアルコール発酵の出会いとは古く、微生物を利用する古の英知に脱帽する。その仕組みは、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) に対しアルコール転換可能な糖質を与えることと理解できる。酵母は単糖のブドウ糖や二糖の麦芽糖などをアルコール発酵に利用できるが、デンプンのような多糖は利用できない。したがって、デンプ

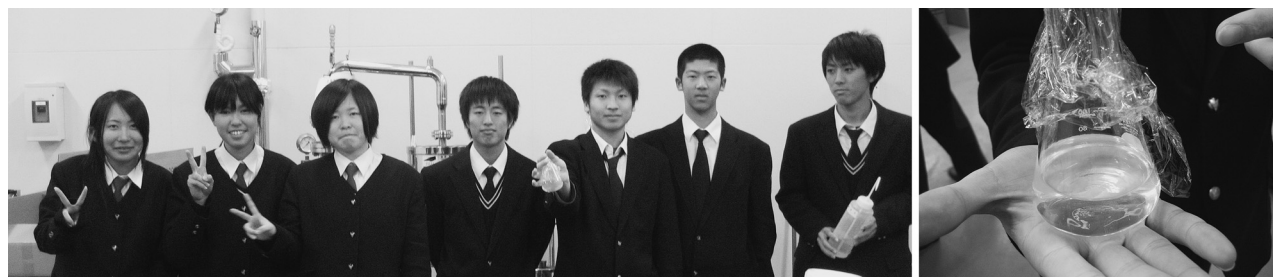


図4 ■研究メンバー (左) と完成した桜島ダイコン焼酎 (右)

ンはブドウ糖や麦芽糖に転換せねばならず、糖化工程は重要である。今日的な課題であるバイオエタノール生産において酵母を用いる場合、基本的に同様な技術が求められ、糖化技術の確立が大切になる。

本研究のユニークな点は、桜島ダイコンの主根に存在する大量のアミラーゼ活性をデンプン糖化に利用したことである。新鮮ダイコン磨砕液を用いることで遭遇した問題（腐敗）を、切干ダイコンの使用で克服した。発酵食品など食品の製造工程において腐敗は最も留意すべき事柄であるが、伝統的なダイコン貯蔵法である切干ダイコンで問題解決を図った点は優れており、高校生らしい研究となった。また切干ダイコンの乾燥をダイコンアミラーゼの最適作用温度で行ない、ダイコンに含まれるデンプン糖化を同時に進めた点も本研究における優れたアイデアの1つである。

ダイコンの主根には β -アミラーゼが大量に含まれ、デンプン糖化は β -アミラーゼにより行なわれたと推察できる。デンプンは、アミロース(D-グルコースが α -1,4結合で連なった長い直鎖分子で、 α -1,6結合の分岐がごくわずかに存在)とアミロペクチン(短鎖アミロースが α -1,6結合を介して樹枝状に分岐した巨大分子)から成る混合多糖である。 β -アミラーゼは α -1,4結合に作用し、これら2つの多糖の非還元末端からマルトース単位に加水分解する。しかし、 α -1,6結合を分解できないため、特にアミロペクチンを完全にマルトースに転換できず、 β -限

界デキストリンとして残す。完全分解を達成するためには、 α -1,6結合を分解する枝切り酵素が必要である(ダイコンアミラーゼを穀類やイモ類のデンプンの糖化に利用する場合も同様)。ダイコンの発芽種子など、主根以外の組織に枝切り酵素が存在する可能性もあり、さらなる研究を期待する。また完成した「桜島ダイコン焼酎」について、指導された先生から「独特の臭いが強すぎ、臭いをもう少し抑えないと飲めない」との感想があった。熟成工程で風味の向上を図るなど改善の余地があり、この点についても今後の研究を期待したい。

農家の方々が丹精こめて育てた作物には、残念ながらいわゆる「規格外」のものがあり、出荷ができない。野菜などの集積施設を訪れるとその量が膨大であることに驚かされ、農芸化学的な立場から利用法を考案し貢献せねばならないと痛感する。本研究は、鹿児島県の名産品である桜島ダイコンと焼酎に着目したものであるが、ダイコン自体の新規用途を開発する性格も併せもち、出荷できない天の恵みの活用につながる提案も含まれている。地域の身近なテーマから出発した研究であるが、実はそのような研究がむしろグローバルな社会問題への解決に寄与することを示す好例となった。角度の違う視点から研究の効果を見つめることも大切であり、研究の醍醐味の1つでもある。最後に、丁寧な指導をなされた先生方のご尽力に敬意を表したい。

(文責「化学と生物」編集委員)

プロフィール

池西 史生 (Fumio Ikenishi) <略歴>
2010年信州大学農学部応用生命科学科卒業、現在、東北大学大学院生命科学研究科博士課程前期2年在学中<研究テーマと抱負>根粒菌圏からの N_2O 発生

出雲 貴幸 (Takayuki Izumo) <略歴>
1997年岡山大学大学院薬学研究科修了/同年日研化学(株)/2003年サントリー(株)/2009年サントリーウエルネス(株)(転籍)、現在にいたる<研究テーマと抱負>乳酸菌の機能・効能研究と商品への応用<趣味>キャンプ、バスケットボール

井田 正幸 (Masayuki Ida) <略歴>
2005年京都大学大学院生命科学研究科博士後期課程修了/同年(独)理化学研究所/2008年サントリー(株)/2009年サントリーウエルネス(株)(転籍)、現在にいたる<研究テーマと抱負>乳酸菌の機能解析と食品への応用<趣味>スポーツ観戦

板倉 学 (Manabu Itakura) <略歴>
1999年東北大学大学院農学研究科博士課

程前期2年修了/2000年同大学大学院生命科学研究科非常勤職員/2007年同研究科産学官連携研究員、現在にいたる<研究テーマと抱負>ダイズ根粒菌を利用した亜酸化窒素低減化、ダイズ根粒菌のゲノム進化<趣味>音楽鑑賞、ラーメン食べ歩き、オートバイ

伊藤 崇敬 (Takayuki Itoh) <略歴>
2004年東京大学薬学部卒業/2006年同大学大学院薬学系研究科修士課程修了/2009年同博士後期課程修了/同年味の素(株)発酵技術研究所/2010年同社バイオ・ファイン研究所研究員、現在にいたる<研究テーマと抱負>アミノ酸発酵<趣味>スポーツ観戦

稲葉 尚子 (Shoko Inaba) <略歴>
2005年名古屋大学大学院生命農学研究科博士課程(後期課程)満期退学後、北海道大学大学院農学研究科ポスドク、東北大学大学院生命科学研究科ポスドクを経て、現在、育児休業中<研究テーマと抱負>毎晩子供が寝静まった後、これまでの論文を書

いています<趣味>パンづくり

井上 和秀 (Kazuhide Inoue) <略歴>
1971年九州大学薬学部卒業/1973年同大学大学院薬学研究科修士課程修了/1975年厚生省国立衛生試験所(現 国立医薬品食品衛生研究所)(この間、米国 NIH、英国ロンドン大学ロンドン単科大学留学)/2000年九州大学大学院薬学研究院化学療法分子制御学分野教授(併任)/2002年国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部長/2005年九州大学大学院薬学研究院薬理学分野教授、現在にいたる<研究テーマと抱負>ATP受容体の生理機能の解明、ニューロン-グリア連関の研究、痛み情報伝達におけるグリア細胞の関与、世の中の役に立つような基礎研究をする<趣味>読書、音楽鑑賞、映画

大山 莞爾 (Kanji Ohyama) Vol. 48, No. 9, p. 613 参照、現在、石川県立大学生物資源工学研究所特任教授