

【論文】

尼崎の伝統野菜「尼いも」の製麹とその特性

渡 辺 敏 郎

I. 緒 言

サツマイモ（薩摩芋：*Ipomoea batatas*）は、ヒルガオ科サツマイモ属の植物で、一般に食用とされるのは塊根（養分を蓄えている肥大した根）の部分にあたる。サツマイモは繁殖能力が高く窒素固定細菌（*Klebsiella oxytoca*、*Pantoea agglomerans*）との共生により窒素固定がおこなえるため、痩せた土地でも育つ特性がある。比較的育てやすいため、江戸時代以降、飢饉対策として広く栽培されていた。サツマイモはデンプンが豊富で、エネルギー源として適しており、またビタミンCや食物繊維を多く含み、加熱してもビタミンCが壊れにくいという特長を有している。しかし、タンパク質の割合が低いなどの理由で、サツマイモばかりを食べているとカロリーベースで身体を支えることができても、タンパク質の欠乏に陥る欠点もあわせ持っている。単位面積当たりのカロリーベース収量は、米を上回るが、サツマイモが米に取って代わって主食の座につけなかったのは、米と比べて保存性に劣ることやタンパク質含量で米に比べて不利であったことが理由である。

園田学園女子大学が位置する尼崎市には、伝統野菜としてのサツマイモ『尼いも』がある。尼いもは、江戸時代から昭和初期まで尼崎市南部の臨海地域で栽培されていたサツマイモの一種であるが、1950年のジェーン台風で一度絶滅した。しかし、尼崎市南部再生プランの一環により復興プロジェクトが始まり、農業生物資源研究所（茨城県）から、尼いもの苗を取り寄せ、現在は尼いもの再生に向け、様々な取り組みがおこなわれている。尼崎市西本町の貴布禰神社の『尼いも奉納神事』も、その一つであり、貴布禰神社の境内でも尼いもは栽培され、尼いもを通して地域の方々と交流を深めている。

麹菌は日本の伝統的な発酵食品の製造に欠かすことができない微生物である。麹菌は日本を代表する微生物であり、2006年には日本醸造学会より『国菌』として認定された。麹菌は、学名を *Aspergillus oryzae* といい、一般に黄麹菌と称されるが、他にも、黄麹菌に分類される *Aspergillus sojae* と黄麹菌の白色変異株、黒麹菌に分類される *Aspergillus luchuensis* および黒麹菌の白色変異株である白麹菌 *Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii* が麹菌に該当している。この麹菌を穀類などに繁殖させたものが麹である。麹は、 α -アミラーゼやグルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼなど多くの酵素を産生する。特に穀類のデンプンを分解する α -アミラーゼやグルコアミラーゼの活性は、デンプン由来の甘味を引き出すためには必要不可欠であり、サ

ツマイモのデンプンから甘味を引き出すことも可能と考えられる。そこで、尼いもとゆかりのある貴布禰神社の境内から麴菌を単離して尼いもを麴にすることを考えた。

本研究では、製麴により尼いもの新たな用途開発を検討することで地域への貢献を考え、研究を進めることとした。

II. 実験方法

1 使用した試料および試薬

1-1 試料

園田学園女子大学内で栽培した尼いもを使用した。麴菌は貴布禰神社（兵庫県尼崎市）の境内から単離して使用した。

1-2 試薬

本研究で使用した試薬を以下に記す。

α -アミラーゼ測定キット、糖化力測定キット（キッコーマンバイオケミファ(株)）、グルコース CII テストワコー、0.2 M 酢酸緩衝液（pH 5.0）、0.01 M 酢酸緩衝液（pH 5.0）、0.5% 塩化ナトリウム溶液（塩化ナトリウム 5 g を水に溶かし、これに 0.2 M 酢酸緩衝液（pH 5.0）50 ml を加えて水で 1 L にする）

2 製麴法

200 g の尼いもの皮をむき、蒸し器を用いて 20 分間蒸煮した。室温まで放冷した後、蒸した尼いもを角バットに移し、種麴（ヒグチモヤシ：W-20）を用いて、0.15 g/kg-原料の割合で種付けした。次いで 30℃ のインキュベーターで、角バット上部を濡れ布巾で覆い 65 時間製麴し、出麴した。これを基本の製麴法とし、各種条件を検討することで最適な尼いも麴を得た。

3 酵素活性測定法

3-1 α -アミラーゼ

尼いも麴 10 g に 0.5% 塩化ナトリウム溶液（pH 5.0）を 50 ml 加え、低室温（5℃ 以下）で一晩または室温（15～20℃）で 3 時間ときどき振り混ぜながら浸出した後、濾紙（No.2）を用いて濾過した。この抽出液を 50 倍に希釈したものを測定試料とした。 α -アミラーゼ測定キットの測定法を以下に記す。

試験管に基質 N3-G5- β -CNP 0.5 ml、酵素 グルコアミラーゼ β -グルコシダーゼ 0.5 ml を分注し、37℃ で 5 分間予備加熱した後、測定試料を 0.1 ml 加え、混合して反応を開始した。37℃ で正確に 10 分間反応させた後、反応停止液を 2.0 ml 加え、混合して反応を停止させた。この反応停止液を吸光度測定セルに入れ、波長 400 nm における吸光度を測定した。ブランク値の測定は、基質溶液と酵素溶液を 37℃ で 15 分間加熱後、反応停止液を 2.0 ml 加えて良く混合し、さ

らに測定試料を 0.1 ml 加えて再び混合した。この液をブランクとし、吸光度を測定した。これらの吸光度を用いて、次式により、 α -アミラーゼ活性 (U/g 麴) を算出した。

$$\alpha\text{-アミラーゼ活性 (U/g 麴)} = (E_s - E_b) \times 0.179 \times D_f \times \text{抽出率}$$

E_s : 測定試料の吸光度

E_b : ブランクの吸光度

D_f : 測定試料の希釈倍率

3-2 糖化力

前述した麴抽出液を 2 倍に希釈したものを測定試料とした。糖化力測定キットの測定法を以下に記す。

試験管に基質 G 2- β -PNP 0.5 ml、酵素 β -グルコシダーゼ 0.5 ml を分注し、37°C で 5 分間予備加熱した後、測定試料を 0.1 ml 加え、混合して反応を開始した。37°C で正確に 10 分間反応させた後、反応停止液を 2.0 ml 加え、混合して反応を停止させた。この反応停止液を吸光度測定セルに入れ、波長 400 nm における吸光度を測定した。ブランク値の測定は、基質溶液と酵素溶液を 37°C で 15 分間加熱後、反応停止液を 2.0 ml 加えて良く混合し、さらに測定試料を 0.1 ml 加えて再び混合した。この液をブランクとし、吸光度を測定した。これらの吸光度を用いて、次式により、糖化力 (U/g 麴) を算出した。

$$\text{糖化力 (U/g 麴)} = (E_s - E_b) \times 0.171 \times D_f \times \text{抽出率}$$

E_s : 測定試料の吸光度

E_b : ブランクの吸光度

D_f : 測定試料の希釈倍率

4 甘酒の試作

尼いも麴 200 g に白飯 (包装米飯: イオン(株)) 360 g と水 500 g を加え、55~57°C で 8 時間加温した。その後、Brix、グルコース量を測定し、食味評価をおこなった。

5 グルコース測定法

試作した甘酒はそのまま濾紙 (No.2) にて濾過し、その濾液 (試料) に含まれるグルコース含量を以下の方法で定量した。

試料 0.02 ml と発色試液 3.0 ml を加えた試験管を検体、ブドウ糖標準液 II 0.02 ml と発色試液 3.0 ml を加えた試験管を標準、発色試液 3.0 ml の試験管を試験盲検とした。それぞれの試験管をよく混合し、37°C で 5 分間加温した。試験盲検を対照とし、505 nm における検体の吸光度および標準の吸光度を測定した。

グルコース濃度 (mg/dl) = Es/Estd × 500

Es：検体の吸光度

Estd：標準の吸光度

ブドウ糖標準液Ⅱ：500 mg/dl

Ⅲ. 結果および考察

1 芋いもの栽培と収穫

園田学園女子大学キャンパス内に畑を作り、6月に12株の芋いもの苗を植えて栽培した。そして10月に芋いもの収穫を実施した。その結果、大小の芋いものを計18個、収穫することができた(図1)。

2 麹菌の単離

貴布禰神社の境内 A から E の5か所にポテトデキストロース寒天培地のプレートを一時間静置し、30℃で5日間培養した。その結果、多数のカビのコロニーが出現した。

この中で麹菌として可能性がありそうな孢子色の黒いカビ、黄緑色のカビ、ベージュのカビについて純化した。孢子色の黒いカビは、*Aspergillus luchuensis* の可能性があり、ベージュのカビは、*Aspergillus kawachii* の可能性が考え



図1 収穫した芋いも

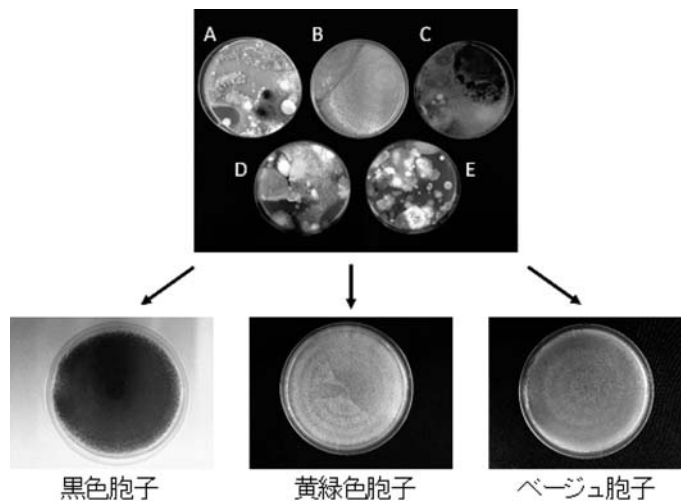


図2 貴布禰神社からのカビの単離

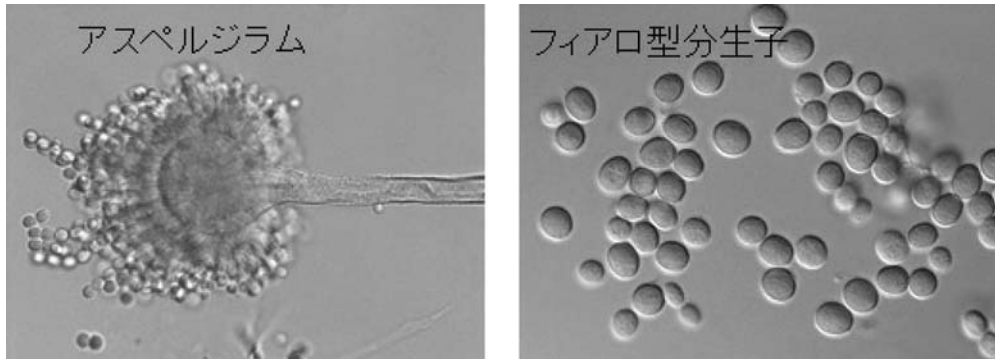


図3 単離したカビの形態観察

られた (図2)。また黄緑色のカビは、黄麹菌 *Aspergillus oryzae* の可能性が示唆されたことより、ターゲットをこの黄緑色のカビに絞って同定することにした。

3 カビの同定

単離した黄緑色のカビは、ITS-5.8 S rDNA 塩基配列を解析することで同定を試みた。国際塩基配列データベースに対する BLAST 検索の結果、*Aspergillus oryzae* の複数の塩基配列に対し、高い相同性 (99.8~100%) を示し、また *Aspergillus flavus* の複数の塩基配列に対しても高い相同性 (99.5~100%) を示したことから、可能性としては *Aspergillus oryzae* もしくは *Aspergillus flavus* のいずれかであると考えられた。また、コロニー性状および形態観察では、*Aspergillus oryzae* の特徴にみられるアスペルジラムやフィアロ型分生子の形成の様子 (図3) から *Aspergillus flavus* よりも *Aspergillus oryzae* の可能性が高いと考えられた。しかし、これでは十分な同定結果といえないため、次にアフラトキシン生合成遺伝子解析を実施した。

黄麹菌アフラトキシン生合成遺伝子ホモログ (AFL) クラスタの解析は、独立行政法人酒類総合研究所の報告に従い、以下の分類による推定を実施した。

【*Aspergillus oryzae* group の分類】

(*Aspergillus oryzae* group 1)

afIR-afIJ 遺伝子領域の構造が RIB group 1 株と一致し、AFL クラスタは発現しない

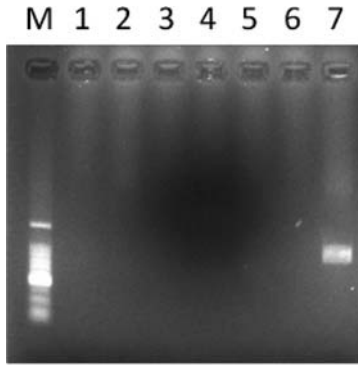
(*Aspergillus oryzae* group 2)

AFL クラスタに RIB group 2 株と共通する欠失があり、AFL クラスタは発現しない

(*Aspergillus oryzae* group 3)

AFL クラスタに RIB group 3 株と共通する欠失があり、AFL クラスタは発現しない

その結果、図4に示すようにアフラトキシン生合成遺伝子のうち、1つの遺伝子 (vbs) の増幅が確認された。1遺伝子の PCR 増幅が認められたことから、単離した黄緑色のカビは *Aspergillus oryzae* group 3 に属する可能性が示唆され、これより AFL クラスタは発現しないことが明らかとなった。



M: 100bpマーカー
 1: *aflT*, 2: *nor-1*, 3: *arlR*, 4: *norA*,
 5: *avnA*, 6: *verB*, 7: *vbs*
 図4 単離したカビの PCR 増幅結果

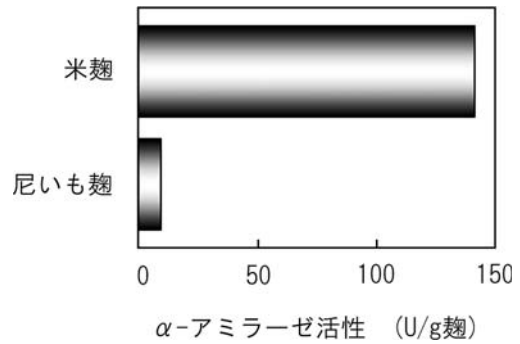


図5 実験①で得られた麴の α -アミラーゼ活性

以上より、本菌株は、*Aspergillus oryzae* と同定し、これを『kifune 72』株と命名した。

4 尼いもの製麴

4-1 実験①

尼いもを 1 cm 角のダイス状に切断し、そのまま蒸し器を用いて 20 分間蒸煮した。室温まで放冷した後、尼いもを角バットに移し、種麴菌 (kifune 72) を用いて、0.15 g/kg-原料の割合で種付けした。次いで 30℃ のインキュベーターで、角バット上部を濡れ布巾で覆い製麴し、65 時間後に出麴した。その結果、この条件では製麴中に腐敗を起こした。サツマイモの水分量は「日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) 準拠」によると 65.6 g/100 g であり、米の水分量の 14.9 g/100 g と比較するとかなり高いため、製麴中に腐敗を起こしたと考えられた。図 5 に示すように α -アミラーゼの活性は著しく低かった。

4-2 実験②

尼いもを 1 cm 角のダイス状に切断し、60~65℃ で乾燥させて乾燥尼いもを得た。この乾燥尼いもに吸水歩合 30~35% となるように散水した。以下は、実験①と同様にして尼いも麴を製麴した。吸水歩合 30~35% は、一般に米麴を製麴する場合の条件に合わせている。それゆえ製麴中に腐敗を起こすことなく、尼いもの表面にも麴菌の白い菌糸が生育する様子も確認できた。しかし、図 6 に示すように α -アミラーゼの活性は、米麴の活性の約 1/2 であった。

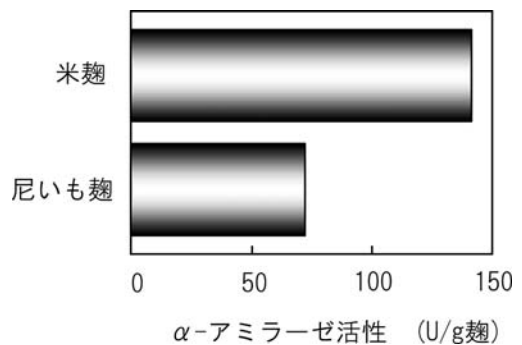


図6 実験②で得られた麴の α -アミラーゼ活性

4-3 実験③

尼いもを 3 cm 角のダイス状に切断し、そ



図7 ミンチ状の尼いも

のまま蒸し器を用いて20分間蒸煮した。室温まで放冷した後、スリット幅4mmのミートミンサー（貝印）を用いてミンチ状にし（図7）、以下は、実験①と同様にして尼いも麴を製麴した。その結果、製麴前（0時間）の尼いもは黄色いミンチ状であったが、製麴後（65時間）には尼いもの表面全体に麴菌が生育して色もベージュに変化した。 α -アミラーゼ活性も図8に示すように、米麴以上の高値を示した。ミンチ状にすることで尼いも全体にムラがなくなり、またミンチ後の尼いもが粒状になることから表面積が増え、麴菌が均一に生育できるため良好な麴になったと推測された。

5 甘酒の試作

尼いも麴の利用法を見出すため、甘酒を試作した。しかしながら、グルコースの生成はわずか1,020 mg/100 mlで、食味評価によってもほのかな甘味を呈するだけで満足のいくものではなかった。この原因を追究したところ、尼いも麴の α -アミラーゼは、米麴よりも高い活性を示したものの、糖化酵素の活性が著しく低く、これにより甘酒の甘味を示すグルコースを十分生成することができず、甘味が弱かったと推測された（図9）。糖化力を高め、甘酒の甘味を増強させることが今後の課題である。

IV. ま と め

尼崎の伝統野菜である尼いもを麴にすることで新たな用途開発を試みた。大学キャンパス内で尼いもを栽培し、製麴条件を検討したが、尼いもはミンチにすることで最も酵素活性が高くなっ

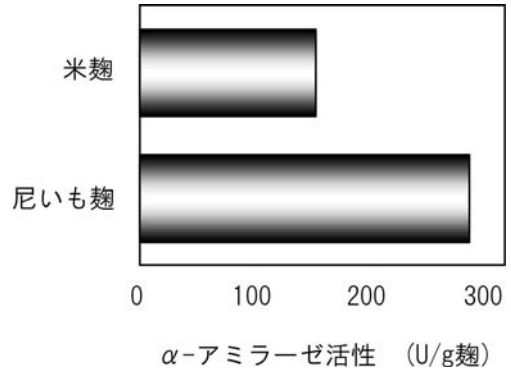


図8 実験③で得られた麴の α -アミラーゼ活性

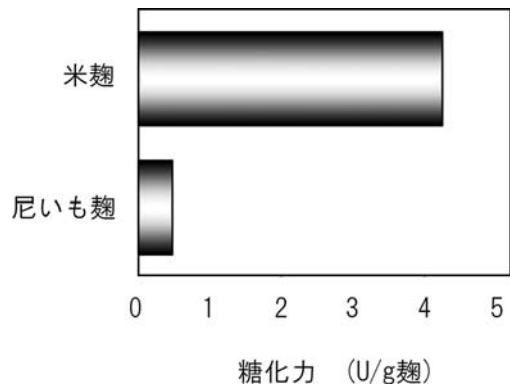


図9 尼いも麴の糖化力

た。貴布禰神社の境内よりカビを単離し、同定およびアフラトキシン生合成遺伝子解析の結果より、このカビは *Aspergillus oryzae* と確認され、これを kifune 72 株と命名した。尼いも麴で甘酒を試作したが、糖化力が米麴よりも低いため、甘味が弱く、更なる改善が必要とされた。

謝辞

本研究をまとめるにあたり、園田学園女子大学キャンパス内で尼いもの栽培管理および収穫にご協力いただいた学生（森本真帆、青野恵里香、飯田恵理香、上浦葵、松井梓、湯浅萌、吉川絢子）に深く感謝申し上げます。また尼いもの苗をご提供いただいた(株)地域環境計画研究所、網本武雄様、麴菌の単離にご協力いただいた貴布禰神社宮司、江田政亮様に深くお礼申し上げます。

参考文献

- ・「麴（こうじ）」：一島英治、法政大学出版、2007年発行
- ・「発酵食品学」：小泉武夫、講談社、2012年発行
- ・「酒類総合研究所標準分析法」：平成22年11月4日（独）酒類総合研究所、平成27年5月21日 一部改訂
- ・瀬戸口眞治：焼酎麴について（3）さつまいも麴、焼酎の特徴香、Sake Utsuwa Research、14、10-16
- ・瀬戸口眞治ほか：米麴の糖化力を利用したサツマイモペースト製造技術の開発、鹿児島県工業技術センター、24、7-12（2010）
- ・鈴木 聡ほか：生馬鈴薯デンブン滓上にて生育可能な麴菌株、食総研報、73、47-52（2009）
- ・岩崎 功ほか：芋麴の利用による純芋焼酎の開発について、醸協、98、690-699（2003）
- ・山田 修：麴菌 *Aspergillus oryzae* のアフラトキシン生合成遺伝子ホモログクラスタの解析－麴菌がアフラトキシンを作らない理由、醸協、103、665-669（2008）

[わたなべ としろう 食品学]