

博士學位論文

内容の要旨

及び

審査の結果の要旨

第 15 集

平成 30 年度
(2018 年度)

実践女子大学

は し が き

本篇は、学位規則（昭和28年4月1日文部省令第9号）第8条による公表を目的として、平成31年3月5日日本学において学位を授与した者の、論文内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を収録したものである。

学位記番号に付した甲は、学位規則第4条第1項（いわゆる課程博士）によるものであることを示す。

目 次

課程の修了によるもの（課程博士）

甲第9号 博士(食物栄養学) 阿部真紀 5

麹菌の生態学的研究と麹菌酵素の調理効果に関する研究

課程の修了によるもの
(課程博士)

氏名（本籍）	アベ マキ（東京都）
学位の種類	博士（食物栄養学）
学位記番号	甲第9号
学位所授与年月日	平成31年3月5日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項 該当
論文題目	麹菌の生態学的研究と麹菌酵素の調理効果に関する研究
論文審査委員	主査 教授 秋田 修 副査 教授 澤山 茂 副査 山田 修（独立行政法人酒類総合研究所 醸造微生物研究部門 部門長）

序論

日本の醸造産業に利用されている麴菌（黄麴菌 *A. oryzae* や、焼酎麴菌 *A. luchuensis*）は使用目的に適した性質の株が選抜されて使用されている。黄麴菌、焼酎麴菌の生態として、ともに有性世代が見いだされていないことがある。2005年に黄麴菌¹⁾、2016年に焼酎麴菌²⁾の全ゲノム解析がなされ、両菌株とも有性生殖に関わる接合型遺伝子を有することが明らかにされた。黄麴菌では、それぞれ MAT1-1 と MAT1-2 の接合型遺伝子を有する菌株が見いだされ³⁾、両株間での有性生殖の研究が進められている⁴⁾。一方、焼酎麴菌については、醸造用株も含めて片方の接合型遺伝子（MAT1-2）を有する菌株しか見いだされていなかった⁵⁾。しかし、最近になり MAT1-1 を有する菌株が発見され、醸造用株が MAT1-2 しか有していないことが醸造特性と関連するの否かについて課題となっている。そこで本研究第1部では、接合型の異なる菌株で麴を製造し酵素生産性や活性の比較、それぞれの麴を用いた焼酎もろみにおける発酵性や生成成分の比較により、焼酎麴菌における接合型と醸造特性の関連について明らかにすることを目的とした。

麴菌が日本の醸造産業に利用される最大の理由は、その旺盛な酵素生産力にある。近年は伝統的醸造産業への利用だけでなく、塩麴や甘酒として調理にも利用されている。塩麴は麴と食塩水を混合し熟成させて調製する調味料である。使用される食材は様々であるが食肉への利用が多い⁶⁾。塩麴に食肉を漬け込むと、肉が「やわらかくなる」「うまみが増す」といった効果があるとされている⁷⁾。一方で、市販塩麴の中には加熱殺菌処理をしたと推定される酵素活性の低い製品も存在しており⁸⁻¹⁰⁾、塩麴の麴由来酵素の食味改善効果については定かではなかった。本論文の第2部では、塩麴中の麴菌由来酵素の食肉の食味向上への寄与について明らかとすることを目的とした。

第1部 麴菌の生態学的研究 焼酎麴菌の接合型と醸造特性の関連について

接合型の異なる菌株 23 株で製造した各麴の菌体量と酸度、酵素活性を測定した。麴の生育状態を示す菌体量は、MAT1-1、MAT1-2 に差があり ($p < 0.05$)、MAT1-1 が多かった。しかし、MAT1-2 の醸造用以外の菌株では極端に生育の悪い株もあり、分離源の違い(焼酎醸造用か否か)が影響したと考えられた。MAT1-1 の青ヶ島焼酎麴由来菌株と、MAT1-2 の醸造用種麴株との間に有意差はなかった。焼酎醸造用株は麴の生育が良好な菌株が選抜されてきたと想定される。出麴酸度は MAT1-1 が MAT1-2 に比較して有意に高かった ($p < 0.01$)。麴 1 g あたりの酵素活性比較では、測定した酵素のうち糖質分解系の酵素活性および中性プロテアーゼ (NP) 活性は MAT1-1、MAT1-2 両者間の差はなかった。一方、酸性カルボキシペプチダーゼ (ACP) 活性、酸性プロ

テアーゼ (AP) 活性では MAT1-1, MAT1-2 両者間で差があり ($p<0.01$), MAT1-1 が高値であった。これらの性質は麴の菌体量の多さに由来する可能性がある。そこで、菌体 1 mg あたりの酵素活性を比較した。ACP 活性は菌体 1 mg あたりの結果も MAT1-1 が MAT1-2 に比較して有意に高かった ($p<0.05$)。菌体 1 mg あたりの AP 活性は MAT1-1, 1-2 の両者間に有意差はなかったことから、麴 1 g あたりの MAT1-1 の AP 活性の高さは菌体量の多さが影響したと考えられる。一方、菌体 1 mg あたりの α -アミラーゼ (α A) 活性では、焼酎醸造用株を含む MAT1-2 が MAT1-1 より有意に高かった ($p<0.05$)。MAT1-2 醸造用菌株の結果は、 α A 活性が高い性質の菌株が選抜されているものと考えられた。MAT1-1 菌株は、 α A 活性が高くなくても焼酎麴上での生育が旺盛なため、結果として麴 1 g あたりでは MAT1-2 と差がない酵素活性が得られている。測定した α A 以外の 5 種類の酵素についても MAT1-2 より活性が極端に低いものはなかった。

次に、製造した麴で焼酎仕込み試験を実施し、もろみ上槽液で酸度測定、有機酸分析、アルコール分析、香気成分分析を行った。発酵経過は、MAT1-2 の海外由来の 2 株が発酵不良となったが、その他の菌株は MAT1-1 と同等の発酵経過を示した。MAT1-1 はもろみ酸度も MAT1-2 に比較して有意差があり ($p<0.01$), 高値であった。アルコール分析の結果、MAT1-1 は MAT1-2 と同等のアルコールを生産した。香気成分分析の結果、イソアミルアルコール ($p<0.05$), n-プロパノール ($p<0.05$), ノルマルブタノール ($p<0.01$) の 3 成分が MAT1-1 に比較して MAT1-2 で有意に高い傾向があった。以上示したように接合型の異なる MAT1-1 と MAT1-2 各菌株の間には醸造特性に若干の差があることがわかった。

第 2 部 麴菌酵素の食品分野における効果についての研究 塩麴漬け調理が豚ロース肉に与える影響

豚肉の塩麴漬け調理において塩麴に含まれる酵素や食塩の影響を検討した。酵素活性の異なる各試料に漬けた豚肉の遊離アミノ酸は、無処理の対照試料 a に比較して塩麴試料 b では遊離アミノ酸総量が 2.3 倍、酵素 1.2% を添加した試料 c ②では 3.0 倍増加したことによって、塩麴中のタンパク質分解酵素が遊離アミノ酸の増加に寄与していることを明らかにした。加熱後肉の破断強度測定における歪率 40% 中間点の荷重の比較結果では、糸状菌由来プロテアーゼを約 1.2% 添加した試料 c ②が無処理の試料 a や塩麴試料 b より有意に低値となった。官能評価の各項目で高い評価となったのは塩麴試料 b と酵素 1.2% 添加試料 c ②であった。破断強度試験と官能評価 (やわらかさ) 結果とは有意水準 5 % で相関があった。加熱損失率が大きいと肉が硬くなる傾向があるが、官能評価での肉のジューシーさと加熱損失率との間には有意水準 5 % の相関がみられた。以上の結果より豚肉への塩麴漬け調理は、うま味成分であるグルタミン酸、アスパラギン酸といった遊離アミノ酸の増加や、官能評価におけるテクスチャーの向上に効果があることが示された。塩麴の調理性向上効果における寄与成分としては米麴由来の酵素の働きが大きいものと

考えられる。さらに塩麴に含まれる食塩が加熱損失率を小さくする効果を担っていることが示唆された。肉の組織観察の結果から、塩麴漬け後の肉の組織には「崩れ」部分が確認された。

参考文献

- 1) M. Machida, K. Asai, M. Sano, O. Akita et al. ; Nature, **438**, 1157-1161(2005)
- 2) Osamu Yamada, Masayuki Machida, Akira Hosoyama, Masatoshi Goto et al.; Genome sequence of *Aspergillus luchuensis* NBRC4314, DNA Reseach, **23**, 507-515(2016)
- 3) Ryuta Wada, Jun-ichi Maruyama, Haruka Yamaguchi, Nanase Yutaka , Wagu Mathieu Paoletti, David B. Archer, Paul S. Dyer, Katsuhiko Kitamoto ;Presence and Functionality of Mating Type Genes in the Supposedly Asexual Filamentous Fungus *Aspergillus oryzae*, Applied and Environmental Microbiology, **78**, (8), 2819-2829(2012)
- 4) 北本勝ひこ編著；改訂版分子麹菌学，麹菌にも有性世代がある？ゲノム解析から明らかになったこと，公益財団法人日本醸造協会， p.217-225（2012）
- 5) Anbazhagan Mageswari, Jeong-seon Kim, Kyu-Ho Cheon, Soon-Wo Kwon, Osamu Yamada, Seung-Beom Hong ; Analysis of the MAT1-1 and MAT1-2 gene Ratio in Black Koji Molds Isolated from Meju ,Mycobiology, **44**, 269-276（2016）
- 6) 植田和美，渡邊幾子；市販塩麴の利用効果，四国大学紀要，(B)39, 39-45(2014)
- 7) 前橋健二；塩麴が教える麹菌の酵素力とその効果，温故知新，**51**, 80-88（2014）
- 8) 阿部真紀，小針清子，秋田修；市販塩麴製品と自家製塩麴中の酵素活性比較，実践女子大学生生活科学部紀要，**50**, 171-176（2013）
- 9) 前橋健二，大戸亜梨花，山本達彦，浅利妙峰，柏木豊；塩麴製造時での熟成温度が残存酵素活性に及ぼす影響，日本食品科学工学会誌，**62**, 290-296（2015）
- 10) 圓口智子，湯川夏子，中西洋子；自家製塩麴のカゼイン分解活性，日本調理科学会誌，**49**, 166-171（2016）

〔関連する業績〕

1. 阿部真紀，小針清子，秋田修；市販塩麴製品と自家製塩麴中の酵素活性比較，実践女子大学生生活科学部紀要，**50**, 171-176（2013）
2. 阿部真紀，澤山茂，秋田修；塩麴漬けが豚ロース肉の調理性に及ぼす影響，日本調理科学会誌 **51**, (3), 142-150（2018）

平成 30 年度 食物栄養学専攻 博士後期課程（博士）論文
主査・副査講評要旨

氏 名 阿部 真紀

論文名 「麹菌の生態学的研究と麹菌酵素の調理効果に関する研究」

講 評

本論文は、日本の醸造食品製造に使用されている麹菌(実用株)について、その起源を探る研究と麹菌の機能として最も重要な酵素生産およびそれら酵素の食品分野における効果に関するものであり、第 1 部は、焼酎麹菌の接合型が焼酎もろみの醸造特性にどのように関係するのか、第 2 部は、塩麹中の麹菌酵素が塩麹の調理効果にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした研究である。

焼酎麹菌(*Aspergillus luchuensis*)には異なる接合型遺伝子(MAT1-1 と MAT1-2)を有する菌株が存在し、醸造用株では MAT1-2 を有する菌株しか見いだされていなかったが、近年 MAT1-1 を有する菌株が発見されたことから、第 1 部では、接合型の異なる菌株で麹を製造し酵素生産性や活性の比較、それぞれの麹を用いた焼酎もろみにおける発酵性や生成成分の比較を行った。その結果、MAT1-1 株は出麹酸度及び酸性カルボキシペプチダーゼ活性が高く、MAT1-2 株では α -アミラーゼ活性が高いことを見出した。また焼酎もろみでは、イソアミルアルコールや n-プロパノール濃度が MAT1-2 株で有意に高いという結果が得られた。以上より MAT1-1 株でも醸造に利用可能であることや香气成分生成の差が焼酎麹菌の選抜に影響を与えてきた可能性が示唆された。しかし、MAT1-2 株でも海外由来の株では焼酎もろみ発酵が遅れる等の知見も得られたことから、接合型の違いと醸造特性の関係については今後より詳細な解析を進めることで新たな知見が得られものと思われる。

第 2 部では、塩麹中の麹菌由来の酵素が塩麹を用いた豚ロース肉の調理においてどのような効果があるのかについて詳細な実験を行っている。塩麹漬け肉が「やわらかくなる」「うまみが増す」といった効果について詳細な調理科学的解析をした例は少なく、また豚肉を対象とした研究報告は殆どないことから、塩麹、酵素失活塩麹、酵素添加塩麹、無塩塩麹(甘酒)を調整し比較解析した。酵素力価測定により各試料はタンパク質分解酵素活性に差が見られることを確認するとともに、漬け込みにより麹菌タンパク質分解酵素がグルタミン酸など遊離アミノ酸量の増加に寄与していることを明らかにした。さらに漬け込み肉の加熱後の加熱損失率測定結果から食塩が保水性の向上に寄与していること、また官能評価結果から塩麹中のタンパク質分解酵素が漬け込み肉の“ジューシーさ”“なめらかさ”などの食感向上に寄与していることを明らかとした。レーザー顕微鏡による観察からも、麹菌タンパク質分解酵素が肉の“やわらかさ”に影響していることが示唆された。

本研究の成果は、今後の麹菌及び麹菌酵素の食品利用への可能性やその機能性向上に大きく資するものと思われる。

以上より、本論文は博士論文として学位授与に値するものと評価する。

博士学位論文 内容の要旨及び審査の結果の要旨 第15集 平成30年度

2019年 4月 1日

編集・発行 実践女子大学大学院
東京都日野市大坂上4-1-1
〒191-8510 Tel 042(585)8817

機関リポジトリにより公表