麹菌株の違いによるフィチンオリへの影響

醤油の鮮やかな色を引き出す裏には、火入れオリを除去して如何に清澄な液体にするかにある。その中のフィチンオリは未解明の部分が多かった。筆者らは麹菌酵素のフィターゼ活性の面から究明している。大いに参考となるであろう。

花 田 洋 一・佐 藤 潤 一

1. はじめに

醤油業界における火入れオリの問題は、半世紀以上にわたる研究を経た現在でも、完全な解決には至っていない。また、一口に火入れオリと言っても、その由来は多岐にわたっており、それぞれの発生原因も異なっている。大まかに分類すると、麹菌由来の酵素、大豆由来の未分解タンパク質（N性）、フィチンオリなどが挙げられる。そのうち、タンパク性の火入れオリである、麹菌酵素、N性に関する研究例は多く見受けられ、その発生メカニズムや、対処方法は幾つか確立されている¹⁻⁶⁾。一方、フィチンオリに関する研究はまだ十分とは言えず、知見も少ないのが現状である^{7,8)}。我々は火入れオリの問題を完全に解決するためには、フィチンオリについての更なる研究が不可欠であると判断し、検討を行った。

フィチンオリに関する知見として、原料大豆中に含まれるフィチンが未分解のまま残存すると加熱時に激しい混濁を生じることが知られている^{7,8)}。フィチンは冷却により再度可溶化するという特徴を持ち、通常の製成工程における除去は容易ではない。つまり、フィチンオリはN性タンパク質と同じく、その予防が重要となってくるのである。フィチンオリの防止策として、仕込初期の品温管理、適正な乳酸発酵の重要性が報告されているが、仕込管理に幅を持たせる意味でも、フィチン分解に適した麹菌の探索は有効な解決手段になると考えた。

一口にフィチン分解に適した株といっても、その優位性には、

- (1) フィチン分解酵素フィターゼの活性
- (2) フィターゼの安定性
- (3) フィチンの溶出速度

など幾つかの要因が考えられる。我々は醤油醸造への利用という観点から、まず諸味中でのフィチン分解能に優れた株を選択し、その優位性がどの要因からもたらされているかを明らかにした。さらにその知見をもとにして、フィチン分解に関する効果的な解決策を検討したのでここに紹介する。

2. フィチン高分解性株の選抜

フィチン高分解性株の選抜にあたっては、当社保有の麹菌株7株 (*Aspergillus sojae* 3株, *A. oryzae* 4株) について、諸味中におけるフィチン分解能を比較することから検討を開始した。条件を揃えるため、温度を一定に保持した仕込試験を実施し、諸味液汁中のフィチン量を経時的に測定した。フィチンの定量にはHPLCを使用し、フィチン (IP₆: イノシトール6リン酸) から高温酸処理により遊離するリン酸を測定した。仕込温度は15°C一定、30°C一定の2条件を設定した。実験の結果、*A. sojae* 3株を使用した諸味では、15°C仕込の初期において一部の株でフィチンの残存が見られたが、30°C仕込ではまったく残存せず、逆に*A. oryzae* 4株を使用した諸味は、15°C仕込においてフィチンが残存しないものの、30°C仕込ではすべての株でフィチンが残存した。また *A. sojae*, *A. oryzae* それぞれでフィチンの残存傾向は異なっており、15°C仕込でフィチンが残存する *A. sojae* の株は時間が経つにつれてフィチンの残存量が減少する傾向にあった

Comparative Effects of *Aspergillus sojae* and *Aspergillus oryzae* Phytase on the Formation of Phytic Sediments

Youichi HANADA, Junichi SATO (Production Division, Kikkoman Corporation.)

が、30℃仕込でフィチンが残存する *A. oryzae* の株は時間が経つほどフィチン残存量が増加していた（第1図）。

3. *A. sojae* S-1 と *A. oryzae* O-1 の小規模仕込試験

第1図の結果から、*A. sojae* と *A. oryzae* は異なるフィチン分解特性を持つことが推定された。そこで、*A. sojae* 3株、*A. oryzae* 4株の中からそれぞれ最も特徴的な性質を示す株 *A. sojae* S-1、*A. oryzae* O-1 を選抜し、通常の諸味管理に則した小規模仕込試験を行い、諸味液汁フィチン量を経時的に測定した。その結果、仕込30日目以降 *A. sojae* S-1 のフィチンが完全に分解されるのに対し、*A. oryzae* O-1 では分解が停止し、その後ほぼ一定量のフィチンが残存することが

明らかとなった（第2図）。

4. *A. sojae* S-1 と *A. oryzae* O-1 のフィターゼ活性の比較

このように、*A. sojae* S-1 と *A. oryzae* O-1 の諸味液汁フィチン量の減少過程に差が見られたのは、フィターゼの性質に差があるためであると推測した。そこで両菌株の麴粗酵素液を調製し、温度、食塩濃度、pH の異なる反応条件下で、フィターゼ活性を測定した。フィターゼの活性はAAM (Acetone - Ammonium - Molybdate) 法により測定した。実験の結果、いずれの条件においても、*A. sojae* S-1、*A. oryzae* O-1 間でフィターゼ活性に大きな差は見られなかった。また、フィチンの分解に対する溶出速度の寄与についても調べたが、*A. sojae* S-1 における優位性は見られ

第1図 仕込保持温度の違いによるフィチン残存量の差

第2図 小規模仕込試験

15°Cで5日間保存した諸味から液汁を採取し、2%塩酸を用いて pH を調整した。
 サンプル A は-20°Cで保存、サンプル B は 30°Cで7日間保存したのちフィチンを
 1 mg/ml 添加し、30°Cで2晩反応させて残存フィチン量を測定した。

第3図 諸味中におけるフィターゼの安定性試験

第4図 O-1 小規模仕込試験

第1表 O-1 小規模仕込試験における残存フィチン量

仕込温度	残存フィチン量(mg/ml)
15°C一定	0.00
30°C一定	0.36

なかった。

酵素活性，溶出速度の比較からは，*A. oryzae* O-1 に対する *A. sojae* S-1 の優位性，特に 30°C一定条件におけるフィチン分解能の差を説明することができない。そこで酵素の安定性について比較を行った。諸味環境を再現するため，諸味液汁に一定量のフィチンを添加し，一定時間反応させてフィチンの残存量を測定する方法を用いた。フィチンの残存量が多いほどフィターゼが失活していると考えられる。結果を第3図に示す。*A. sojae* S-1 の諸味液汁においては，-20°Cで

A. oryzae O-1 麹、*A. sojae* S-1 麹を仕込時に混合し、30°Cで仕込を行い、7日目に液汁を採取した。pH を 5.5 に調整しさらに 30°Cで10日間液汁を保存した後フィチンを 1mg/ml 添加し、残存フィチン量を経時的に測定した。フィチン添加時を0日目とした。

第5図 混合仕込試験

7日間保存した試験区 A と 30°Cで7日間保存した試験区 B のフィチン残量に差はほとんどなく，いずれの pH 条件においてもほぼ完全にフィチンが分解されていた。一方 *A. oryzae* O-1 諸味液汁の場合，pH による差は若干見られるものの，試験区 A ではほぼフィチンが分解され，試験区 B では多量のフィチンが残存する傾向にあった。

以上の結果から，諸味中の *A. sojae* S-1 フィター

ぜは熱及び pH 安定性に優れており、*A. oryzae* O-1 フィターゼは諸味中の 30°C という温度条件において急速に失活することが示唆された。この熱に対する酵素安定性の差が、第 1 図の 30°C 保持条件に於けるフィチン残存量の差の主要因であると考えられる。

5. フィチン低減法の検討

以上の知見をもとに、次の 2 つの観点から、*A. oryzae* O-1 使用時のフィチン低減法を検討した。

(1) 低温仕込試験

諸味中における *A. oryzae* O-1 のフィターゼは熱に対する安定性に乏しいことから、低温仕込が効果的であると予想される。そこで 15°C 一定仕込及び 30°C 一定仕込試験を実施した。その結果、30°C 一定条件で仕込を行った試験区ではフィターゼの失活及びフィチンの残存が見られたが、15°C 一定条件で仕込を行った試験区ではフィターゼの失活は緩やかであり、フィチンも完全に分解された。このことから、低温仕込の有効性が確認された (第 4 図、第 1 表)。

(2) 混合仕込試験

諸味中において *A. sojae* S-1 のフィターゼは安定性に富んでいることから、少量でも活性が持続し、フィチンの分解に効果を発揮すると考えられる。そこで *A. oryzae* O-1 と *A. sojae* S-1 の混合仕込試験を実施した。その結果、*A. oryzae* O-1 麴のみで仕込んだ諸味ではフィチンが残存するのに対し、*A. sojae* S-1 麴を 1 割混合するだけでフィチン分解能が大幅に向上し、

速やかにフィチンを分解することが可能であった (第 5 図)。

6. お わ り に

醤油醸造技術の進歩に終わりはなく、永きにわたって蓄積された科学的知見は、技術開発における新時代の扉を開けつつある。我々技術者としては、原料利用率や旨み成分の向上に着目した従来の研究方針に加え、今回報告したフィターゼのような、これまでその役割が特に重要視されていなかった酵素にも注意を払っていくべきであろう。今後これらの要因が直接あるいは間接的に醤油醸造に関わっているという事実が解明されていけば、工程を論理的に組み立てていくことが可能になり、醤油醸造はさらに面白さが増すのではなかろうか。

参考文献

- 1) 橋本彦堯：醸工，**55**，294 (1977)
- 2) 曾根原豪志，林 和也：醬研，**8**，16 (1982)
- 3) 茂田井宏，林 和也，石山 孝，曾根原豪志：農化，**57**，27 (1983)
- 4) 相羽富夫：醸協，**88**，677 (1993)
- 5) 佐々木正治，内田一生，吉野 宏：醬研，**6**，24 (1980)
- 6) 田村順一，相羽富夫：醬研，**8**，202 (1982)
- 7) 大友一宏，山家一夫，若生隆信，内海信雄：醬研，**20**，75，85 (1994)
- 8) 山下 勝：醸協，**86**，794 (1991)