

「せんだんご」製造工程中に生息する糸状菌の サツマイモの発酵における役割

熊谷浩一¹⁾, 岡 大貴²⁾, 梶川揚申³⁾, 佐藤英一³⁾, 田中尚人^{4)*}, 岡田早苗^{3,4)}

¹⁾ 東京農業大学大学院農学研究科農芸化学専攻, ²⁾ 東京農業大学応用生物科学部食品加工技術センター,

³⁾ 同生物応用化学科, ⁴⁾ 同菌株保存室 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

長崎県対馬地方には、サツマイモを原料とした固有の伝統発酵食品「せんだんご」がある。せんだんごを基に作られる「ろくべえ麺」は、原料であるサツマイモからは想像し得ないコンニャクに似た独特な食感を有する。この独特な食感、原料サツマイモ粉からは得られず、発酵によりサツマイモのデンプンと繊維質（特にペクチンの減少量が多い）が部分的に分解されたことに起因し、それらの分解に関わる微生物は製造農家や年度に関わらず製造工程中に生息しており、デンプンやペクチンの両分解能を有する糸状菌である *Mucor* 属や *Penicillium* 属であると報告されている。しかし、これら糸状菌がサツマイモのデンプンやペクチンに与える影響については、不明のままである。

そこで、本研究では *Mucor* 属や *Penicillium* 属の発酵によるデンプンやペクチンの分子量変化を検討した。はじめにせんだんごのデンプンやペクチンは原料サツマイモと比較して低分子量化していることを明らかとした。また、分離株のうち、*P. echinulatum* 38-1 株と *P. expansum* 13-3 株が、デンプンやペクチンを低分子量化することを明らかとした。*P. echinulatum* 38-1 株及び *P. expansum* 13-3 株を用いて、せんだんごを試作し、物性を評価した。その結果、試作せんだんごより調製したろくべえ麺の物性は、対馬産せんだんごから調製したろくべえ麺と同様の解析結果を得た。さらに、*P. echinulatum* 38-1 株及び *P. expansum* 13-3 株を用いて製造した試作せんだんごのデンプンとペクチンの分子量変化を検討した結果、両試作せんだんごのデンプンとペクチンは、対馬産せんだんごと同様に低分子量化していることを確認した。

以上のことから、せんだんご製造工程中に生息する *P. echinulatum* や *P. expansum* はろくべえ麺独特な食感形成に関与する主要微生物であることが示唆された。

キーワード：Sendango, *Penicillium* sp., fermentation food, amylolytic microbes, pectolytic microbes

序 文

長崎県対馬地方には、サツマイモを原料とした固有の発酵食品「せんだんご」がある。せんだんごを基に作られる「ろくべえ麺」は、原料がサツマイモであるとは思えないコンニャクに似た独特な食感を有する。この独特な食感、原料サツマイモ粉からは得られず、せんだんごに含まれるデンプンや繊維質が原料サツマイモのそれらに比べ、部分的に分解されていることに起因し、繊維質の中でも、ペクチンの減少量が多いと報告されている（岡ら, 2011）。また、このデンプンとペクチンに着目してせんだんご製造工程中に生息する微生物の調査が行われ、デンプンやペクチンの分解に関わる微生物は *Mucor* 属と *Penicillium* 属であると報告されている（熊谷ら, 2013）。しかし、せんだんご製造工程中に生じるデンプンやペクチンの部分的な分解による構造変化について、また糸状菌がサツ

マイモのデンプンやペクチンに与える影響については不明のままである。

そこで本研究では、サツマイモとせんだんごのデンプンとペクチンの分子量変化を検討すると共に、*Mucor* 属や *Penicillium* 属がデンプンやペクチンの構造に与える影響を検討することで、せんだんご製造に関与する糸状菌を明らかとすることを目的とした。

材料と方法

1) サツマイモとせんだんご中に含まれるデンプン及びペクチンの分子量変化の検討

(1) 試料

試料は対馬にて栽培されたせんだんご製造に用いる原料サツマイモとせんだんごを用いた。

(2) デンプン画分とペクチン画分の調製

デンプン画分の調製はサツマイモを細片化し、純水に懸濁後、遠心分離した（3500 rpm, 10 min, 4℃）。その沈殿物に 0.1% 水酸化ナトリウム溶液を加え、篩（mesh No. 100 及び 300）に通した。再び遠心分離を行い、沈殿物を回収した。その後、沈殿物を純水にて

*Corresponding author

E-mail: n3tanaka@nodai.ac.jp

Accepted: January 5, 2015

pH 7.0 になるまで洗浄し、再び遠心分離を行い、2層に分かれた沈殿物上層の褐色部（繊維画分）と沈殿物下層の白色部（デンプン画分）を掻き分け、デンプン画分を85%メタノールにて脱脂後、自然乾燥させたものをサツマイモデンプンとした（Yadav *et al.*, 2006）。

ペクチン画分の調製は、はじめに前述で得られた繊維画分と篩に通らなかった繊維質を用いて、酵素法（印南ら, 1988）により繊維画分を抽出した。この繊維画分より、2.5%シュウ酸アンモニウムを用いて、ペクチン画分を抽出した（辻井ら, 2009）。

また、せんだんごデンプン及びペクチンにおいても同様に抽出・調製した。

(3) デンプンの分子量解析

デンプン試料2 mgに100%メタノール50 μ lを加え懸濁後、6.25 M水酸化ナトリウム溶液300 μ l、純水200 μ lを加え攪拌した。その後、沸騰水浴中にて加熱し完全に糊化させたものを試料とした（中村ら, 1986）。分子量分布はTSKgel GMPWXL+G5000PWXL（東ソー社製）を用いたゲル濾過クロマトグラフィーにより解析した。溶出液には0.01 M水酸化ナトリウム溶液（0.02% アジ化ナトリウム, 0.15 M 塩化ナトリウムを含む）を用い、流速0.2 ml/minにて溶出した。その溶出液を0.4 mlずつ分画し、全糖量をフェノール硫酸法で測定した（Dubois *et al.*, 1956）。また、1試料につき3回分子量解析を行った。分子量マーカーはDextran（平均分子量 \sim 2,000,000, 425,000 \sim 575,000, 64,000 \sim 70,000, 35,000 \sim 45,000 : Sigma-Aldrich社製）を用い、上記の試料と同様の条件にて溶出させ、フェノール硫酸法にて検出した。

(4) ペクチンの分子量解析

ペクチン試料5 mgを0.5 M水酸化ナトリウム溶液500 μ lに溶解し、フィルター（Advantec Cellulose Acetate 0.45 μ m）に通したものを試料とした。分子量分布はTSKgel G5000PWXL+G3000PWXL（東ソー社製）を用いたゲル濾過クロマトグラフィーにより解析した。溶出液には0.01 M水酸化ナトリウム（0.02% アジ化ナトリウム, 0.15 M 塩化ナトリウムを含む）を用い、流速0.2 ml/minにて溶出した（辻井ら, 2009）。その溶出液を0.4 mlずつ分画し、全糖量をフェノール・硫酸法にて測定した（Dubois *et al.*, 1956）。また、1試料につき3回分子量解析を行った。分子量マーカーはDextran（平均分子量 \sim 2,000,000, 425,000 \sim 575,000, 64,000 \sim 70,000, 4,000 \sim 6,000 : Sigma-Aldrich社）を用い、上記の試料と同様の条件にて溶出させ、フェノール硫酸法にて検出した。

2) *Mucor* 属及び *Penicillium* 属により発酵させたデンプン及びペクチンの分子量変化の検討

供試菌株は、せんだんご製造工程中より分離した *M. circinelloides* 37-1 株, *P. crustosum* 14-4 株, *P. echinulatum* 38-1 株, *P. expansum* 13-3 株, *P. roqueforti* 40-6 株を用いた。

デンプン（松谷化学工業社製）またはペクチン（和光純薬工業社製）を1%加えたLCA培地 [yeast extract（オリエンタル酵母社製）0.02 g, NaNO₃ 0.2 g, KH₂PO₄ 0.1 g, KCl 0.02 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.02 g, water 100 ml, pH 4.0] に供試菌株を接種後、15°Cで14日間培養した。

その後、デンプン含有LCA培地に残留するデンプンは、培養液を遠心分離後、沈殿したデンプンを回収後、85%メタノールにて洗浄し自然乾燥させたものを試料とし、ペクチン含有LCA培地に残留するペクチンは可溶性のため、培養液をフィルター（Advantec Cellulose Acetate 0.45 μ m）に通したものを試料とし、それぞれの分子量分布を前述と同様の方法で検討した。また、対照には供試菌株未接種のデンプンやペクチン（以下、未接種デンプンまたは未接種ペクチンとする）を用いた。

3) *Penicillium* 属を用いたせんだんごの試作及びろくべえ麺の評価

せんだんごの試作は、実際の製造工程に沿って行った（小崎・岡田, 2005 ; 熊谷ら, 2015）。つまり、サツマイモをスライスし（サツマイモ切片）15°C, 7日間の浸漬後、浸漬液を除去した。その後、サツマイモ切片に供試菌株 *P. echinulatum* 38-1 株または *P. expansum* 13-3 株を接種し、15°Cにて10日間発酵させた。その後、ソフトボール状に成型し、さらに30日間発酵させた。最後に多量の水で洗浄し、団子状に成型・乾燥させ、試作せんだんごとした。また、対照として供試菌株を未接種で同様の作業工程を経た試作せんだんごを調製した。

以下、各試作せんだんごを *P. echinulatum* 38-1 株せんだんご, *P. expansum* 13-3 株せんだんご, 未接種せんだんごとした。

また、試作せんだんごを用いて、ろくべえ麺を調製し（以下、試作ろくべえ麺）、テンシプレッサーにより物性（低圧縮硬さ, 高圧縮硬さ, 低圧縮付着性, 高圧縮付着性, こし）の解析を行った。ろくべえ麺は、口径3 mmに調整したシリンジを用いて押し出して調

製したものを試料とし、楔型プランジャー（幅1 mm×20 mm）を用い、Table 1に示す条件にて各試料20本をそれぞれ1本ずつ解析した（岡ら、2011）。同時に対馬産せんだんごを用いてろくべえ麺を調製した（以下、対馬産ろくべえとする）。この対馬産ろくべえの物性を100とした場合の相対値として、各試作ろくべえ麺の物性を検討した。

結果

1) サツマイモとせんだんご中に含まれるデンプン及びペクチンの分子量変化

サツマイモとせんだんごから調製したデンプンのゲル濾過クロマトグラムをFig. 1に示した。せんだんごはサツマイモに比べ、主要なデンプンのピークが低分子量化していることが確認され、3回の繰り返し測定においても溶出パターンが同様であった。また、サツマイモとせんだんごから調製したペクチンのゲル濾過クロマトグラムをFig. 2に示した。せんだんごのペクチンもデンプン同様に主要なピークが低分子量化していることが確認され、3回の繰り返し測定においても溶出パターンが同様であった。

2) *Mucor* 属及び *Penicillium* 属により発酵させたデンプン及びペクチンの分子量変化

Distance (mm)	30.0	Plunger area (cm ²)	1.0
2nd Distance (mm)	3.0	Deformation (%)	30.0
Clearance (mm)	0.1	2nd Deformation (%)	95.0
Thickness 1	10.0	Static time (sec)	0
Thickness 2	13.0	2nd Static time (sec)	0.5
Bite speed (mm/sec)	2.0	Loadcell (kg)	5.0

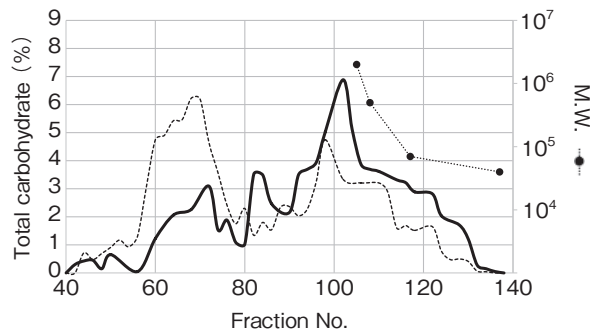


Fig. 1 Distribution of molecular weight of *Sendango* starch and Sweet potato starch
 — *Sendango*, sweet potato, molecular-weight marker

供試菌株をデンプン含有培地で培養し、残留したデンプンのゲル濾過クロマトグラムをFig. 3~5に示した。*M. circinelloides* 37-1株、*P. crustosum* 144株、*P. roqueforti* 40-6株においては、未接種デンプンと同様の分子量分布を示した。一方、*P. echinulatum* 38-1株と*P. expansum* 13-3株においては、未接種デンプンに比べ、主要なピークが低分子化していることを確認した。

また、同様にペクチン含有LCA培地で培養した際のペクチンにおいても、デンプン同様に*P. echinulatum* 38-1株と*P. expansum* 13-3株において、未接種ペクチンに比べ、主要なピークが低分子量化していることを確認した（Fig. 6~8）。

以上より、*P. echinulatum* 38-1株と*P. expansum* 13-3株は、デンプンとペクチンを低分子量化することが明らかとなった。

3) *Penicillium* 属を用いて試作したせんだんごより調製したろくべえ麺の評価

P. echinulatum 38-1株せんだんご、*P. expansum* 13-3株せんだんご、未接種せんだんごを用いて、各試作ろくべえ麺を調製し、その食感について検討した。その食感値をFig. 9に示した。

未接種せんだんごより調製した試作ろくべえ麺は、対馬産ろくべえ麺と比較して硬さ、付着性が有意に高く、対馬産ろくべえ麺とは大きく異なる食感値を示すことを確認した。

一方、*P. echinulatum* 38-1株せんだんご、*P. expansum* 13-3株せんだんごから調製した試作ろくべえ麺は、対馬産ろくべえ麺と比較して、硬さに若干の

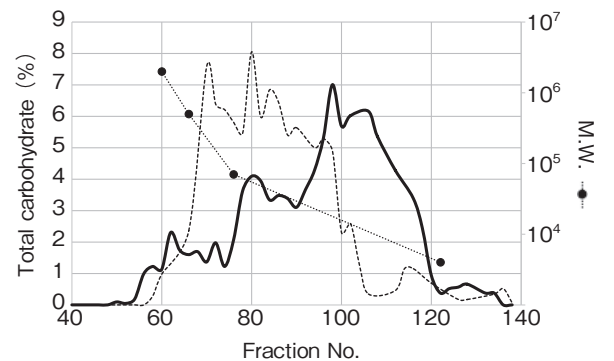


Fig. 2 Distribution of molecular weight of *Sendango* pectin and Sweet potato pectin
 — *Sendango*, sweet potato, molecular-weight marker

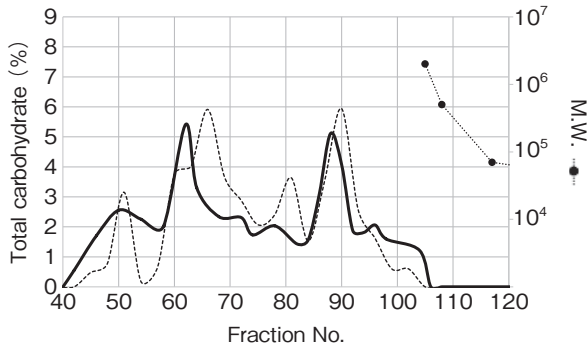


Fig. 3 Distribution of molecular weight of starch fermented by *Mucor* sp.
 — *M. circineroides* 37-1, none, - - - molecular-weight marker

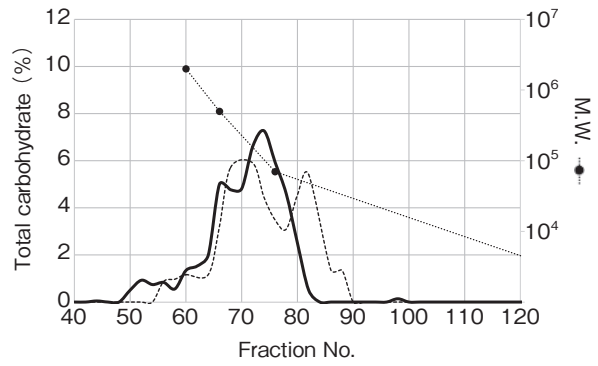


Fig. 6 Distribution of molecular weight of pectin fermented by *Mucor* spp.
 — *M. circineroides* 37-1, none, - - - molecular-weight marker

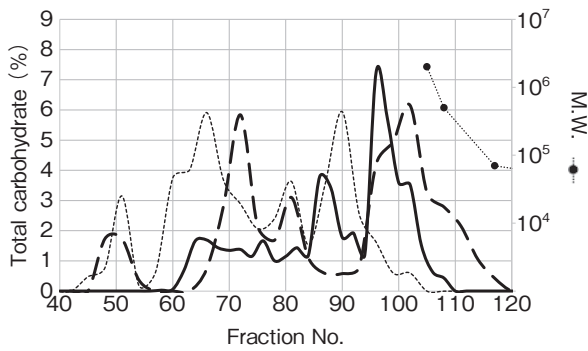


Fig. 4 Distribution of molecular weight of starch fermented by *Penicillium* spp.
 — *P. echinulatum* 38-1, - - - *P. expansum* 13-3, none, - - - molecular-weight marker

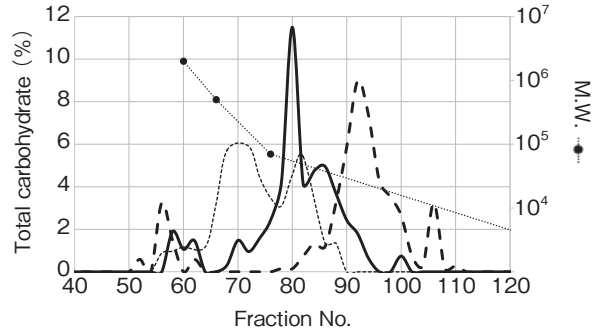


Fig. 7 Distribution of molecular weight of pectin fermented by *Penicillium* spp.
 — *P. echinulatum* 38-1, - - - *P. expansum* 13-3, none, - - - molecular-weight marker

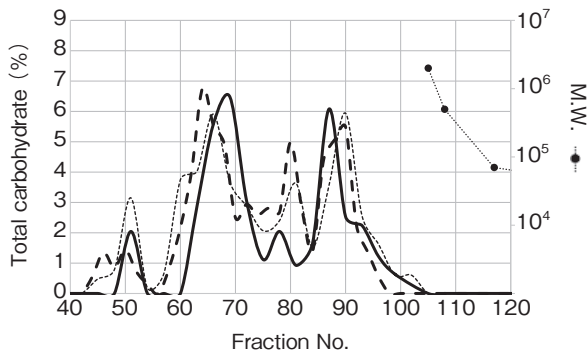


Fig. 5 Distribution of molecular weight of starch fermented by *Penicillium* spp.
 — *P. crustosum* 14-4, - - - *P. roqueforti* 40-6, none, - - - molecular-weight marker

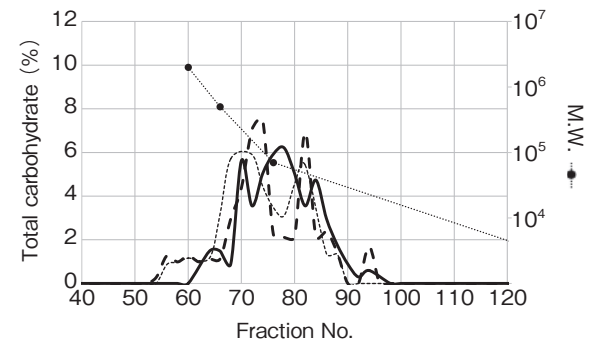
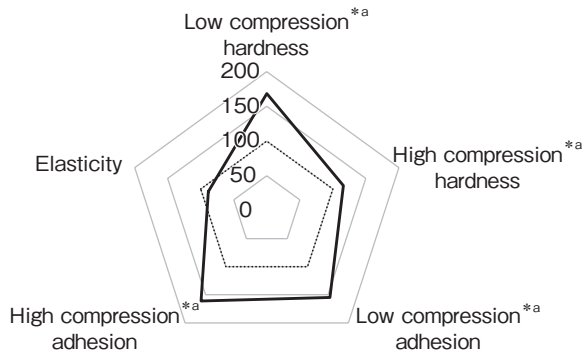
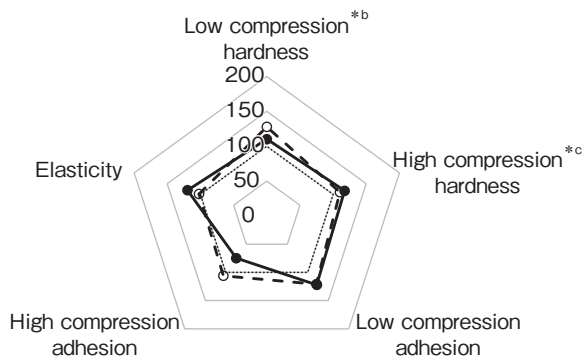


Fig. 8 Distribution of molecular weight of pectin fermented by *Penicillium* spp.
 — *P. crustosum* 14-4, - - - *P. roqueforti* 40-6, none, - - - molecular-weight marker



— none, *Rokube* (The relative value when the value of *Rokube* is 100, *: $p < 0.05$, Tukey's test, *a: Differ significantly between *Rokube* and *Rokube* that was produced not using *Penicillium* sp.)



—●— *P. echinulatum* 38-1, -■- *P. expansum* 13-3, *Rokube* (The relative value when the value of *Rokube* is 100, *: $p < 0.05$, Tukey's test, *b: Differ significantly between *Rokube* and *Rokube* that was produced using *P. expansum* 13-3, *c: Differ significantly between *Rokube* and *Rokube* that was produced using *P. echinulatum* 38-1 or *P. expansum* 13-3)

Fig. 9 Texture value comparison of *Rokube* that was produced using or not using *Penicillium* sp.

相違が確認されるが、その食感値においては対馬産ろくべえ麺と同様の傾向を示すことを確認した。

4) 試作せんだんご中に含まれるデンプン及びペクチンの分子量変化

P. echinulatum 38-1 株せんだんご, *P. expansum* 13-3 株せんだんごから抽出したデンプンとペクチンのゲル濾過クロマトグラムを Fig. 10, 11 に示した。

P. echinulatum 38-1 株せんだんご, *P. expansum* 13-3 株せんだんごのデンプンとペクチンはせんだんご同様に低分子量化していることを確認した。

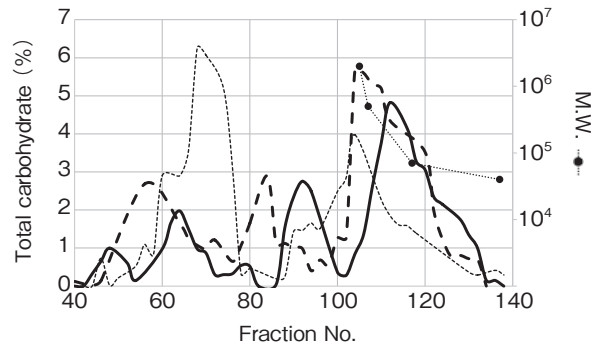


Fig. 10 Distribution of molecular weight of starch of reproduction *Sendango* made by *Penicillium* spp. — *Sendango* made by *P. echinulatum* 38-1, --- *Sendango* made by *P. expansum* 13-3, none, molecular-weight marker

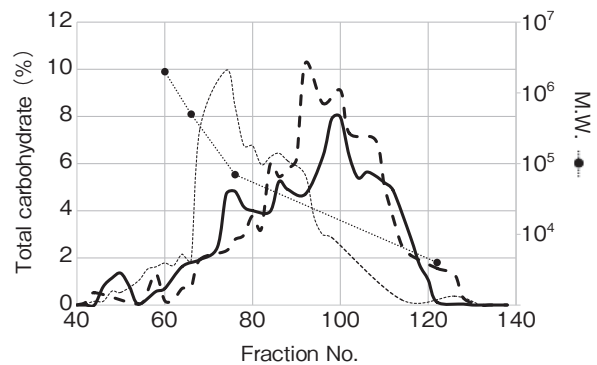


Fig. 11 Distribution of molecular weight of pectin of reproduction *Sendango* made by *Penicillium* spp. — *Sendango* made by *P. echinulatum* 38-1, --- *Sendango* made by *P. expansum* 13-3, none, molecular-weight marker

考 察

「せんだんご」から作られる「ろくべえ麺」は、原料サツマイモ粉からは得られない独特な食感を有する。穀物食品の食感には、デンプンや食物繊維が影響すると報告されている(遠山ら, 1997; 武山ら, 2002)。ろくべえ麺の独特な食感も、サツマイモのデンプンや繊維質が部分的に分解されていることに起因し、さらに繊維質の中では、ペクチンの減少量が多いことがせんだんごの特徴として報告されている(岡ら, 2011)。

これらのことから、サツマイモとせんだんごとの間でのデンプンとペクチンの分子量分布を調べ、せんだんごに含まれるデンプンとペクチンは、原料サツマイモに含まれるそれらと比較して、低分子量化している

ことを明らかとした。

また、筆者らはせんだんご製造において、せんだんご製造農家や年度に関わらず発酵工程に生息しており、デンプンとペクチンの両分解能を有することから、*Mucor* 属や *Penicillium* 属の糸状菌が重要な役割を果たしていると考えてきた (熊谷ら, 2013)。そこでこれら糸状菌がもたらすデンプンとペクチンの分子量変化を培養法により検討し、*P. echinulatum* 38-1 株と *P. expansum* 13-3 株において、それぞれがデンプンやペクチンの低分子量化に作用していることを見出した。次に、これらの株を用いて、せんだんごの試作を行った。両株により作られたそれぞれのせんだんごを用いてろくべえ麺を調製した。それぞれのろくべえ麺は対馬産せんだんごから調製したろくべえ麺と同様の食感値を示した。さらに、両株から試作したせんだんごのデンプンやペクチンの分子量変化を検討した結果、せんだんご同様にそれぞれが低分子量化していることを確認した。

以上のことから、せんだんご製造工程中においてサツマイモのデンプンとペクチンを低分子量化し、ろくべえ麺の独特な食感に寄与する微生物は、せんだんご製造中に生息し、デンプン及びペクチン分解活性を有する *P. echinulatum* と *P. expansum* であると考えられた。また、本実験に用いた *P. echinulatum* 38-1 株と *P. expansum* 13-3 株ばかりでなく、同時に分離された同種の糸状菌全株においても同様の活性が見られた。

本研究によって得られた結果は、せんだんご製造に関与する微生物を特定した初めての報告となる。さらに本研究で明らかにしたように、せんだんご製造に不可欠な微生物は *Penicillium* 属であった。*Penicillium* 属が発酵に関与する食品としてはブルーチーズやロックフォールチーズがある。チーズ製造における *Penicillium* の役割はタンパクや脂肪の分解であるが (川端, 2010)、せんだんご製造では、デンプンやペクチンの分解に関与していた。また、*Penicillium* 属の役割は、デンプンの糖化 (小崎・内村, 1990) やペクチンの分解であるが、せんだんごのように部分的な分解に留めることで物性を変化させる発酵食品の例は少ない。これらのことから、*Penicillium* 属によるデンプンやペクチンなどの繊維質の低分子量化による新食感創造という新たな研究の発展に繋がると考えられる。

本報告で得られた知見が *Penicillium* 属の新たな利用方法に繋がることが期待する。

文 献

- Dubois, M. Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chm.* **28**: 350-356.
- 印南 敏, 池上幸江, 中村カホル, 土橋文江, 綾野雄幸, 菅原龍幸, 森 文平, 中村尚夫, 石原英子, 手島節三, 米川 智, 金田よしみ, 金谷健一郎, 山田浩平, 吉岡敏夫 1988. 食物繊維定量法の検討. *日本栄養・食糧学会誌* **41**(1): 43-49.
- 川端史郎 2010. 白カビチーズに特徴的な香り成分とその生成経路. *ミルクサイエンス* **59**: 303-307.
- 熊谷浩一, 田中尚人, 佐藤英一, 岡田早苗 2015. 対馬伝統発酵食品「せんだんご」の各地域における製造方法. *東京農大農学集報* **59**: 274-282.
- 熊谷浩一, 田中尚人, 渡辺麻衣子, 梶川揚申, 佐藤英一, 小西良子, 岡田早苗 2013. せんだんごに生息する食物繊維分解微生物. *日本微生物資源学会誌* **29**: 47.
- 小崎道夫, 内村 泰 1990. フィリピン産餅麹ブボッドおよび米酒の微生物相. *日本醸造協会誌* **85**: 818-824.
- 小崎道夫, 岡田早苗 2005. 対馬の保存食品“せん”. *日本食品保蔵科学会誌* **31**: 29-34.
- 中村道徳, 貝沼圭二 1986. 澱粉・関連糖質実験法 (生物化学実験法), p. 211-212, 学会出版センター, 東京.
- 岡 大貴, 入澤友啓, 野口智弘, 内野昌孝, 岡田早苗, 高野克己 2011. サツマイモを原料とする対馬の伝統食品『せんだんご』より調製する麺帯「ろくべえ」のテクスチャー. *日本食品保蔵科学会誌* **37**: 17-21.
- 武山進一, 笹島正彦, 関村照吉, 遠山 良 2002. 冷麺の茹で伸び防止の検討. *岩手県工業技術センター研究報告* **9**: 177-180.
- 遠山 良, 三浦 靖, 種谷真一 1997. 冷麺の食味特性におよぼすでんぷん原料の影響. *日本調理科学会誌* **30**: 213-225.
- 辻井良政, 清瀬紀子, 立田奈緒美, 矢口行雄, 内野昌孝, 高野克己 2009. 米飯食味形成に関わる炊飯中の胚乳細胞壁の変化. *日本食品保蔵科学会誌* **35**: 127-134.
- Yadav, A.R., Guha, M., Tharanathan, R.N. & Ramteke, R.S. 2006. Changes in characteristics of sweet potato flour prepared by different drying techniques. *LWT-Food Science and Technology* **39**: 20-26.

Role of fungi in the *Sendango* production on sweet potato fermentationKoichi Kumagai¹⁾, Daiki Oka²⁾, Akinobu Kajikawa³⁾, Eiichi Satoh³⁾, Naoto Tanaka⁴⁾ and Sanae Okada^{3,4)}¹⁾ Department of Agricultural Chemistry, ²⁾ Food Processing Center,³⁾ Department of Applied Biology and Chemistry, ⁴⁾ NRIC, Tokyo University of Agriculture

Sendango is a traditional delicacy this is made by fermentation of sweet potato and is produced exclusively in Tsushima, Nagasaki, Japan. A noodle-type derivative of *sendango*, *rokube*, has a unique texture somewhat similar to that of konnyaku. A previous study has demonstrated that partial degradation of starch and fiber and especially a reduction in pectin levels is associated with this specific texture. In our preceding report we isolated *Mucor* sp. and *Penicillium* spp. with amylolytic and pectolytic activity. These organisms were present during the manufacturing process, regardless of the manufacturing farmer or the year, but it is not known whether they actually contribute to degradation within the sweet potato. Here, we attempted to reproduce *sendango* by fermentation with selected strains of *Mucor* sp. and *Penicillium* spp. Upon propagation of either *Penicillium echinulatum* 38-1 or *Penicillium expansum* 13-3 on sweet potato we observed partial degradation of starch and pectin. In addition, texture profiling showed that the simulated *rokube* made from the fermented sweet potato mix had physical properties similar to those of the original *rokube* form Tsushima. These results suggest that the unique texture of *rokube* is attributable to the action of specific strains of *P. echinulatum* and *P. expansum*.