

琉球大学学術リポジトリ

[報文]泡盛蒸留粕を利用した新規発酵調味料の開発

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 豊川, 哲也, 熱田, 和史, 金内, 誠, 洲鎌, あおい, 大城, 勤, 福地, 香, 鎌田, 靖弘, 田村, 博三, 角田, 潔和, 小泉, 武夫, TOYOKAWA, Tetsuya, ATTA, Kazusi, KANAUCHI, Makoto, SUGAMA, Aoi, OHOSIRO, Tsutom, FUKUCHI, Kaoru, KAMATA, Yasuhiro, TAMURA, Hiromi, KAKUTA, Kiyokazu, KOIZUMI, Takao メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016584

泡盛蒸留粕を利用した新規発酵調味料の開発

豊川 哲也**・熱田 和史*・金内 誠***・洲 鎌 あおい*
大城 勤*・福地 香**・鎌田 靖弘**・田村 博三**
角田 潔和***・小泉 武夫***

*忠孝酒造株式会社, **沖縄県工業技術センター開発研究部
***東京農業大学応用生物化学部醸造科学科

A development of fermented flavoring from distillery wastewater of Awamori making.

Tetsuya TOYOKAWA**, Kazusi ATTA*, Makoto KANAUCHI***
Aoi SUGAMA*, Tsutom OHOSIRO*, Kaoru FUKUCHI**, Yasuhiro KAMATA**
Hiromi TAMURA**, Kiyokazu KAKUTA***, Takao KOIZUMI***

*Chuko Shuzu Co., Ltd., **Okinawa Industrial Technology Center
***Laboratory of Procuotion of Alcoholic Beverages Department of Fermentation
Tokyo University of Agriculure.

緒言

泡盛蒸留粕とは、もろみを蒸留した後に派生してくる副産物であり、米や黒麹菌および酵母に由来するクエン酸やタンパク質、核酸等を豊富に含んでいる。近年の泡盛生産量の増加に伴いその排出量も増加しており、平成9年度には40,000kLほど発生していると推定される。現在、泡盛蒸留粕は養豚用飼料や畑地への特殊肥料としてほとんどが処理されているが、養豚業者の減少・集約化にともなう郊外への移転が進んでおり、都市部の酒造所では搬送代を支払って廃棄処理を行っている。焼酎産地である九州では、海洋投棄からの転換に迫られていることもあり、焼却法や飼料化法などの研究が進められており、すでに試験プラントから実用段階へ移行したメー

カーもいくつか存在する¹⁾。沖縄県においては、酒造所の規模が小さく県内各地に点在していることから、九州のような大規模プラントの導入は期待できないため、立地条件や生産規模等を考慮に入れた再利用法を検討することが望ましい。本島中南部の泡盛メーカーの生産規模は1日数トン程度がほとんどであり、さらに宅地化が進行しているため施設拡大にも限界があることから、少量生産かつ高付加価値型の商品開発が必要である。そこで我々は、比較的付加価値の高い食品としての利用を構想し、泡盛蒸留粕を微生物により再発酵し新規発酵調味料としての利用法を検討することとした。調味料は加工食品の伸びとともに年々市場が拡大しており、さらに消費者の天然指向、グルメ指向のなかで化学調味料に代わり、うま味だけでなくコク味、風味を併せ持つ種々の天然調味料が伸びてきている。微生物による醸造生産物が化学調味料、複合調味料だけでは発揮できない風味を食品に

*豊見城村字名嘉地132番地

**具志川市字州崎12-2

***東京都世田谷区桜丘1-1-1

表1 最終選択菌株と発酵液の官能評価

菌株	学名または履歴	官能評価
工業技術センター保有株 ID 1209	<i>A. niger</i>	酸味がまろやかで、風味良好
東京農業大学保有株 ID KSY-128-2	樹液より分離	うま味強く、コゲ臭や麴臭などの蒸留粕特有の香り軽減。しょう油様の香り。
東京農業大学保有株 ビール酵母	ビール醸造用酵母	穏やかな甘い香り、味は辛く酸味は感じられない。
東京農業大学保有株 無印 474	土壌より分離	甘い香りで、不快臭はほとんど感じられない。やや苦みがあり、酸味はあまり感じられない。

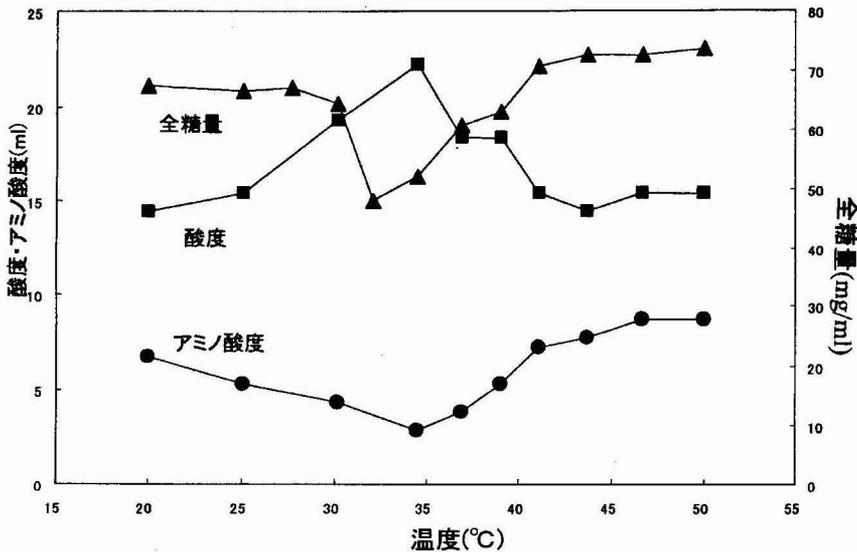


図1 培養温度の変化が酸度・アミノ酸度・全糖量に及ぼす影響(培養日数5日)

付与することは昔からよく知られており、清酒、本みりんなどの酒類は、まとも味、隠し味として家庭での料理や加工食品に広く使われてきた。調味料の市場規模は2000億円に達するといわれており、その内訳として、しょう油・味噌・醸造酢といった基礎調味料をおさえて、あらかじめ基礎調味料、抽出型分解物調味料などを混合させ調味を終了させた“配合型”の伸びが著しい。このような背景をふまえ、本研究では発酵型かつ配合型の醸造調味料の開発を目指すこととした。また、より高付加価値化を図るため、発酵生成物の機能性についても検討した。

優良菌株の選抜

泡盛蒸留粕は、*Aspergillus awamori* 由来のクエン酸や米由来のタンパク質およびもろみ中で生成されるペプチドなど多くの成分に富んでいる。しかしながら、泡盛蒸留粕のpHは約3.5と低く微生物の成育には不向きであるため、東京農業大学および沖縄県工業技術センター保有の酵母1080株および糸状菌208株より、泡盛蒸留粕を培地とした生育性を指標に1次スクリーニングを行った。その結果、酵母では223株、糸状菌では22株で良好な生育が認められた。次に、調味料として重要な酸味やうま味を作り出

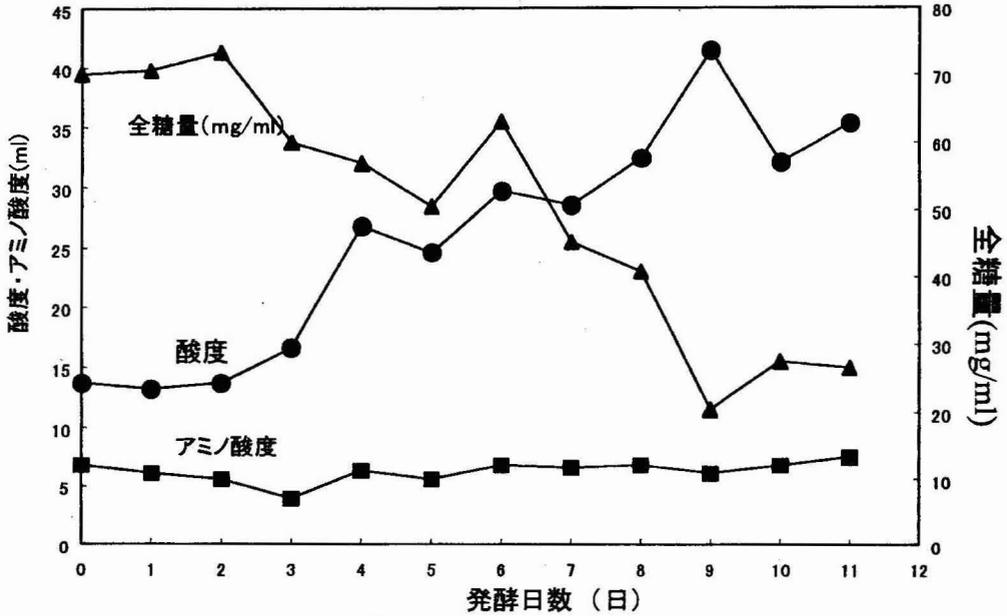


図2 発酵日数が酸度・アミノ酸度・糖度に及ぼす影響

表2 発酵前後における成分の変化

	泡盛 1209	
	蒸留粕	発酵生成物
有機酸 (g/100ml)	1.13	1.87
アミノ酸 (g/100ml)	0.57	0.57
全糖量 (mg/ml)	4.04	12.88
還元糖量 (mg/ml)	0.95	2.48
水分 (g/100g)	94.55	93.49
灰分 (g/100g)	0.14	0.13
粗タンパク質 (%)	2.303	2.281
粗脂肪 (%)	0.00	0.00

発酵条件：培養温度 30℃、培養時間 7日、副原料 米（蒸留粕の5%添加）

す菌を選抜する目的で、培養ろ液の酸度、アミノ酸度およびアミノ酸組成等を指標とした2次スクリーニングを行った。その結果、酵母20株、糸状菌4株が有望株として選抜された。最終選抜として官能評価を行った結果、酵母3株および糸状菌1株が最終的に選抜された。選抜株および培養液の官能評価を表1に示す。酵母では、しょう油様の香りけうま味が強いKSY-128-2および甘い香りが特徴のビール酵母と無印474が選抜された。糸状菌では、まろやかな酸味を特

徴とする黒麹菌株1209が優良株として最終選抜された。

副原料および発酵条件の検討

官能評価により最終選抜した4株は、香りの点では良好な成績を示したが既存の調味料と比較してみると、調味料として必要なうま味、酸味、甘みなどが弱いことが感じられた。そこで、うま味の主成分であるグルタミン酸、酸味を示すクエン酸、甘みを代表するブドウ糖やショ糖を増加させる目的で副原料の添加を検討した。副原料として酵母ではグルコース、シュクロース、ゼラチン、米麴、黒糖等を、黒麹菌ではタイ産米、小麦フスマ、おから、廃糖蜜等を添加して官能評価により副原料を選定した。その結果、KSY-128-2ではグルコースとゼラチンの添加で、ビール酵母および無印474株ではショ糖の添加で官能的評価が高かった。黒麹菌では、米を副原料とした場合に酸度が最も高くなり、官能評価も好結果が得られた。小麦フスマやおからでは添加量が多くなるに伴い、ほこり臭、ぬか臭およびカビ臭等が感じられた。それぞれ

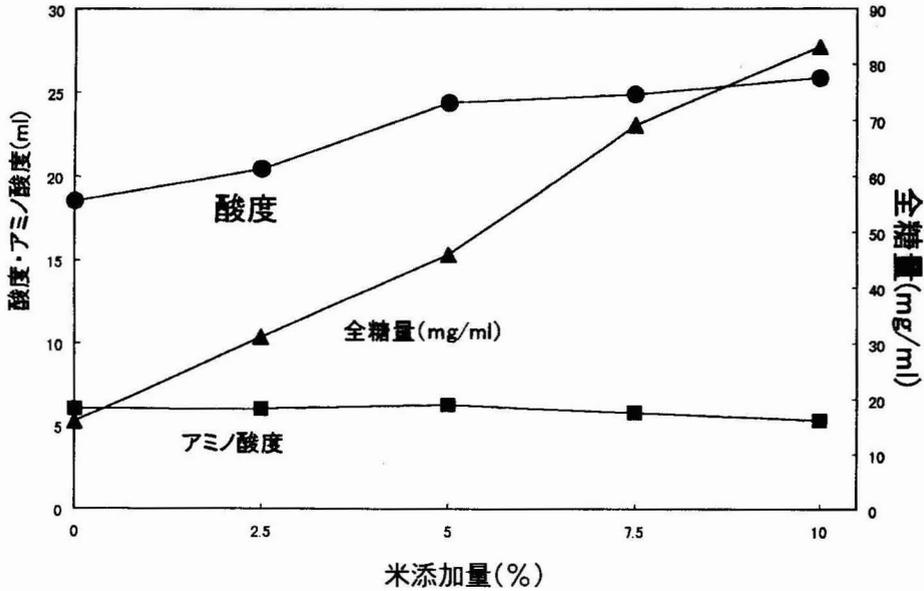


図3 副原料の添加が酸度・アミノ酸度・糖度に与える影響

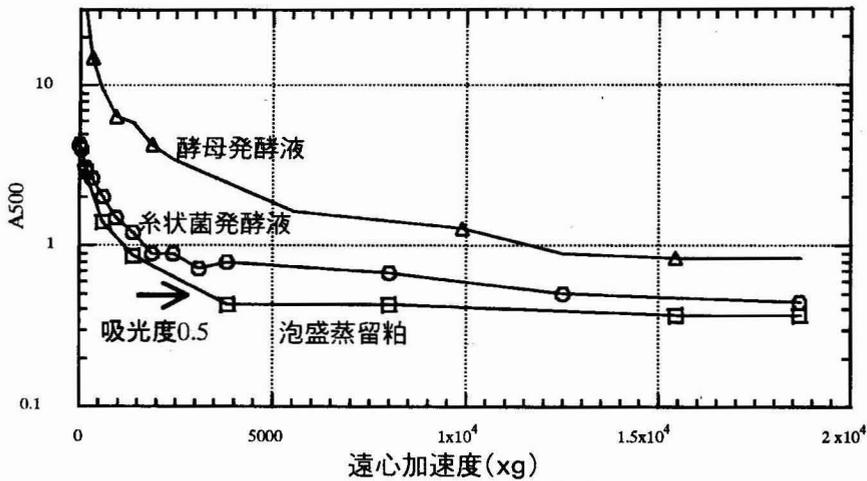


図4 遠心加速度と吸光度の関係

の菌株に適した副原料が判明したことから、その培養条件（温度、時間、副原料添加量）を酸度²⁾、アミノ酸度²⁾ および全糖量³⁾を指標として決定した。図1-3に黒麹菌における温度、時間、副原料添加量の変化が酸度、アミノ酸度および全糖量に与える影響を示す。温度に関しては、約30℃付近で酸度が最も高くなることが認められた。また、酸度は発酵時間が経過する

に伴って増加し、5-7日目から泡盛蒸留粕特有のコゲ臭や麴臭が認められなくなった。副原料の添加に伴って全糖量の増加が認められたが、酸度は5%以上の添加でも顕著な差は認められなかった。以上の結果より、黒麹菌の場合、培養温度30℃、培養時間が7日間、副原料の添加量は5-10%が最適と判断された。このときの成分分析結果⁴⁾を表2に示す。黒麹菌による発

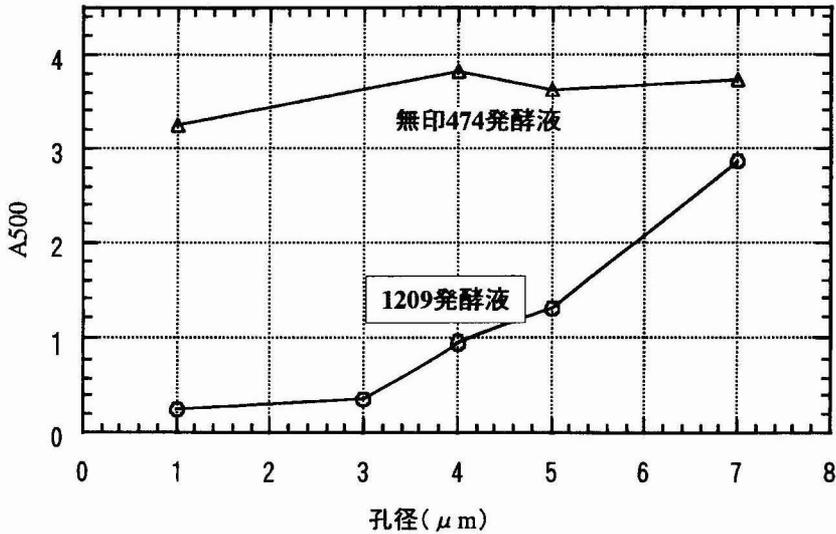


図5 ろ紙孔径と吸光度の関係

酵生成物は、泡盛蒸留粕と比較して有機酸量が約1.7倍、全糖量も約3倍の増加が認められた。官能的にも市販酢と同等の酸味が感じられ、さらにクエン酸が主成分であることから、クエン酸の爽やかな酸味を特徴とする差別化商品への展望が期待される。また、同様に酵母でも最適条件を決定したところ、KSY-128ではアミノ酸が約1.5倍の増加が認められた。ビール酵母および無印474では有機酸やアミノ酸は増加しなかったものの、甘い香りの特徴とする発酵生成液が得られ、調味料原料としての展望が期待された。

清澄化の検討

発酵生成液は、菌体や胞子を主体とする不溶性部分を約5%ほど含むが、この不溶性部分は粘調質で多量の水分を抱え込むため、ろ過が困難である。また、黒麹菌の胞子により黒色を呈しており、製品化にむけては清澄化法を確立することが重要である。ここでは、清澄化に関する基礎データを得ることを目的として実験を行った。清澄化の評価⁶⁾は500nmの吸光度を測定して、吸光度で0.5以下を清澄であると判断した。なお、吸光度が2.0を超える場合は適宜

希釈し希釈倍率を乗じた。まず、遠心機を用いて遠心加速度と吸光度の関係を調べたところ(図4)、黒麹菌発酵液では12500xgで清澄化が可能であることが認められた。ビール酵母では18000xgでも清澄化は達成できなかった。食品産業ではろ紙を用いた清澄化が多く用いられていることから、孔径の異なるろ紙を用いて清澄化を検討した(図5)。黒麹菌発酵液では孔径が3μm以下で清澄化が達成可能であったが、酵母発酵液では吸光度は3-4の間であり、ろ紙による完全な清澄化は困難であると考えられた。そこで、ケイソウ土を使用したところポディーフィード量として3g/Lの添加で吸光度が約0.6まで低下した。さらに、0.45μmのメンブレンフィルターを処理を行うことにより吸光度は0.5以下となった。

発酵生成液の利用法の検討

得られた発酵生成液は、用いた酵母や黒麹菌によりそれぞれ特徴のあるものでありその特長を生かした配合型調味料を開発できると考えられることから、浅漬けの素やドレッシング等への利用法を検討した。浅漬けの素では、いずれの発酵生成液を用いた場合も官能的に良好な製

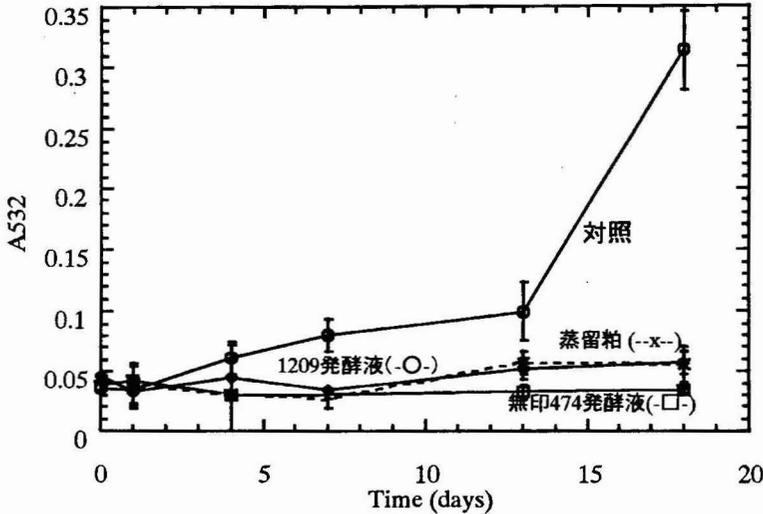


図6 TBA法による発酵生成物の抗酸化能の評価

品に仕上がった。酵母を用いた場合は、香りに特徴がありKSY-128-2では、「しょう油様の香りがすばらしい」、「サラダ感覚で食べられる」、「柑橘のような爽やかな酸が心地よい」といった官能評価によるコメントが得られた。ビール酵母や無印474では、市販の浅漬けの素と同程度の塩分及びショ糖添加量⁷⁾では「味が濃すぎる」、「塩辛い」などのコメントが得られたことから、添加量を半分程度に抑えたところ官能的に良好であり、発酵生成液を使用したことで風味の広がりが得られ、市販品と比べ低塩化が期待できることが明らかとなった。黒麹菌1209では、強い酸味を特徴とすることからハクサイやキャベツの様な甘みのある野菜を用いた場合に、発酵生成物の酸味とぬか様の香りが引き立ち良好な風味を示すことが認められた。オリーブオイルを用いてドレッシングを調製したところ、KSY-128-2では「オイルの香りが酸味によってすがすがしく、味が調和している」、「爽やかな酸が心地よい」等の回答が得られた。しかしながら、無印474酵母、ビール酵母および黒麹菌では、「油臭さが前面に出ている」、「ぬか臭い」等の回答が得られ、油との相性が悪いことが認められた。そこで、発酵生成液に紫蘇・しょ

う油・食塩を添加してノンオイルタイプドレッシングを調製したところ、「酸味がちょうど良い」、「レモン汁をかけた感じ」等の回答が得られたことから、ノンオイルドレッシングでの利用は可能であると考えられる。以上のように、発酵生成物は風味に優れた配合型調味料として利用できることが明らかとなった。

機能性の検討

近年の研究の進展により、食品中に生体機能を調節する物質が存在し栄養の吸収・免疫機能・物質代謝などを制御していることが明らかになりつつある。こうした食品の機能を、従来の栄養（1次機能）や味覚（2次機能）と区別して食品の第3次機能とよび、農芸化学・栄養学・生化学等の分野で精力的に研究が行われている。また、多くの食品メーカーがこのような食品の3次機能に着目した商品開発を行っており、今後機能性を謳い文句にした商品が更に市場に出回るものと考えられる。本製品でも機能性を商品アピールの原動力として活用することが戦略的に重要だと考えられることから、疾病に関係が深いとされる抗酸化活性、AIDSウイルス等の増殖を阻害するリバーストランスクリプターゼ

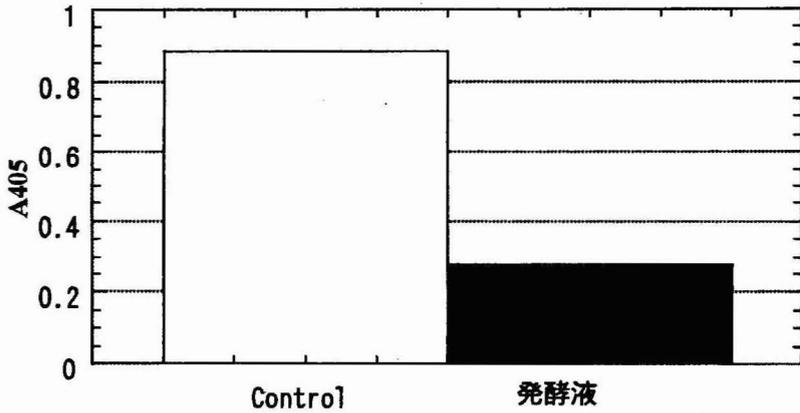


図7 黒麹菌1209株発酵液のリバーストランスクリプターゼ阻害作用

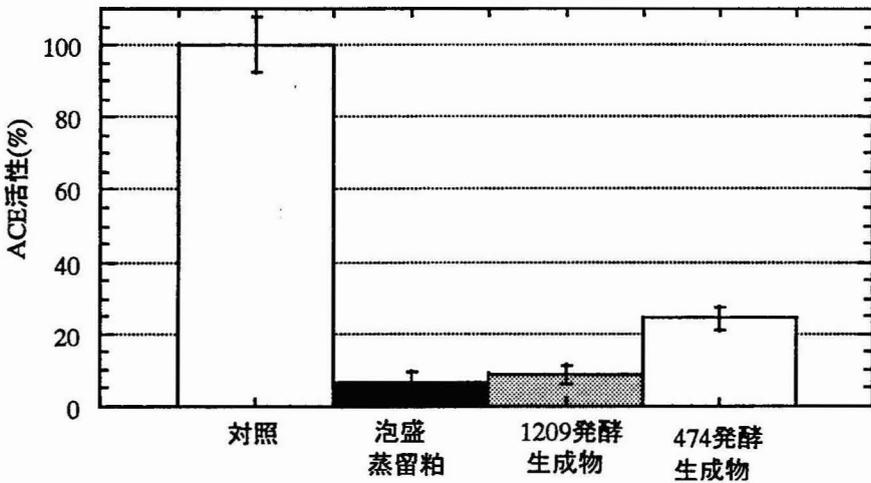


図8 発酵生成物のACE活性に与える影響

泡盛蒸留粕(4 ml)、1209発酵生成物(4 ml)および474発酵生成物(1.3ml)は、限外ろ過(文画分子量5 KL)を行い、溶出画分を減圧乾固したのち1 mlの蒸留水に溶解したものを被検液とした。

阻害活性、血圧上昇に関するアンジオテンシン変換酵素阻害活性などを検討した。

抗酸化能の検討

酸化の最終段階で生成するマロンジアルデヒドを測定するTBA法^{8,9)}により、発酵生成物のリノール酸に対する抗酸化能を測定した(図6)。泡盛蒸留粕、酵母(無印474株)・黒麹菌による発酵生成物を添加したいずれの場合にも、リノール酸の酸化は抑制され18日目においても0

日目と有意差は認められなかった。また、対照区では古いピーナツのような酸化臭が認められたのに対し、発酵生成物を添加した区では酸化臭が認められなかった。食品中の抗酸化物質としては、赤ワインのポリフェノールがよく知られており、いわゆるフレンチパラドックスの問題とともに、その機能性がクローズアップされている。そこで、泡盛蒸留粕およびKSY-128-2の発酵生成物中の全フェノール量を測定したところ約1000-1100mg/L程度含まれているこ

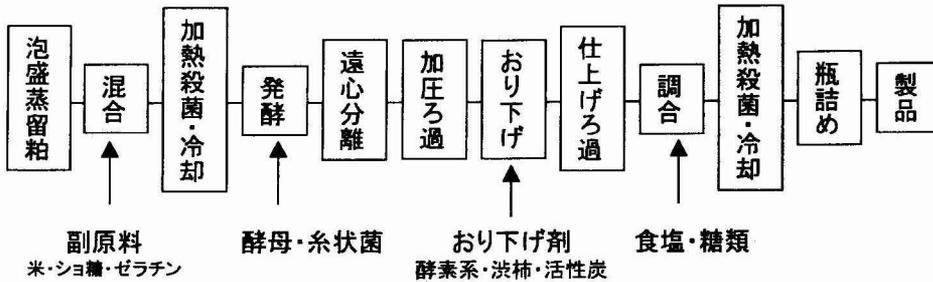


図9 発酵調味料製造フロー

表3 1209発酵生成物中のGABA濃度

試料	GABA (mg/100g)
1209発酵生成液	21.2
泡盛蒸留粕	17.9
ギャバロン茶*	3.5-4.0

*ギャバロン茶は3gを200mlの沸騰水で5分間浸出させた量

とが明らかとなった。一般に全フェノール量は赤ワインでは2000mg/L、白ワインでは360mg/L程度が含まれているとされていることから、発酵生成物は、赤ワインの約半分、白ワインの約3倍の全フェノールを含有している。さらに、発酵生成物には比較的高い濃度でクエン酸が含まれている。クエン酸は抗酸化剤に対して相乗的な働きをするシネルギストとして知られている。発酵生成物の高い抗酸化性は、このような相乗効果により発揮されたのではないかと考えられる。

逆転写酵素阻害活性の検討

本法は、*in vitro*のレトロウイルス増殖のテストに広く用いられており、ヒト後天性免疫不全症候群（AIDS）のような病気の抗レトロウイルス治療薬のスクリーニングにも適用されている。ここで用いたキット（ロシュ・ダイアゴノスティクス社製、Reverse Transcriptase Assay）はサンドイッチELISA法を原理とするもので、鋳型に取り込まれたデオキシ核糖核酸がマイクログロブレットに結合し、鋳型中のペルオキシダー

ゼ標識抗ジゴキシゲニンにより発色産物が生成される原理を利用したものである。1209発酵生成物の逆転写酵素阻害活性を測定した結果を図7に示した。発酵生成物を添加した区では吸光度が有意に低下し、リバーストランスクリプターゼ阻害活性が認められた。しかしながら、泡盛蒸留粕および酵母発酵液にはこのような効果は認められなかった。阻害機構および阻害物質の解明が今後の課題であるが、1209発酵生成物はレトロウイルス増殖阻害効果を有することが示唆されることから、消毒液や医薬品等への利用の展望が示唆される。

アンジオテンシンI変換酵素阻害活性の検討

現在、死亡数の高い三大疾病は脳血管疾患、心疾患及び悪性新生物となっており、前二者は高血圧疾患と極めて高い関係が有るといわれている。アンジオテンシン変換酵素（ACE）は、強い血圧上昇作用を引き起こす引き金の役割を担っている酵素であり、ACEを阻害するペプチドが高血圧の治療の市販薬として広く利用されている。泡盛蒸留粕には米タンパク由来するペプチドが含まれており、ACE阻害活性が期待できることからCushman¹⁰⁾らの方法に準じてACE阻害活性を測定した（図8）。その結果、泡盛蒸留粕、1209および無印474発酵生成物を添加した試験区ではACE活性がそれぞれ、6.5%、8.52%、24.4%と低下し、ACE阻害活性が認められた。また、泡盛蒸留粕および発酵生成物中には血圧降下作用があるγ-アミノ酪酸

(GABA)が多く含まれている(表3)ことから、血圧が高めの人の健康維持に役立つ食品の開発が期待できる。

製品化へむけて

これまで述べてきたように、実験室規模では風味に優れた発酵調味料が調製できることが明らかとなった。さらに、種々の機能性を有することから健康食品などへの応用も可能である。現在、我々は製品化へむけて200L規模の発酵槽を用いた試験を継続中であり、セミプラント規模での生産には一応の目途がついた段階にある。プラントレベルでは図9に示すような製造フローによる生産が考えられる。今後は発酵原液の新たな利用法を探るとともに、市場展開へむけて更なる調査研究を行っていく予定である。

なお、本研究は中小企業事業団の平成10年度中小企業創造基盤技術研究事業により実施したものである。

参考文献

- 1) 泡盛蒸留粕乾燥システムの開発、下田雅彦、長野壮一、和田久継、日本醸造協会誌、第90巻、第12号、p.897-900 (1995)
- 2) 国税庁所定分析法注解、日本醸造協会 (1993)
- 3) Dabus M, Colorimetric method for determination of sugars and related Substances. *Analytical Chemistry*, Vol. 28, 350-356, (1956)
- 4) 日本食品工業学会・食品分析法編集委員会編、「食品分析法」、光琳、(1992)
- 5) 科学技術庁資源調査会食品成分部会編、「五訂日本食品標準成分表分析マニュアル」、資源協会、(1997)
- 6) Makoto Hattori, Functional improvement of alginic acid by conjugating with β -lactoglobulin, *Journal of Food Science*, Vol. 61, No.6, 1996
- 7) 前田安彦、日本人と漬物、全日本漬物協同組合連合会、1996
- 8) 津志田藤二郎 他、各種野菜類の抗酸化性の評価および数種の抗酸化成分の同定、日本食品工業学会誌、Vol.41、No.9、611~618 (1994)
- 9) 日本薬学会編、衛生試験法・注解、金原出版株式会社、p.340、1990
- 10) D. W. Cushman and H. S. Cheung, *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 20, 1637-1648 (1971)