

泡盛蒸留粕を利用した新規発酵調味料の開発

開発研究部 豊川哲也、福地香、山城利枝子、國吉和男、
鎌田靖弘、仲里尚子、笠原文子
技術支援部 田村博三

1. 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、平成9年度の蒸留粕の年間排出量は、泡盛の出荷量20,000kLに対し約40,000kLと推定される。現在、そのほとんどが養豚用飼料や畑地への特殊肥料として処理されているが、養豚業者の減少・集約化に伴う郊外への移転が進んでいることや、将来的に酒造所の規模の拡大や集約化が進んだ場合、蒸留粕の需給バランスの崩れが予想されることから新たな利用法を探索する必要がある。

泡盛の製造において、黒麹菌がクエン酸を生産することから麹およびもろみが酸性となり、醸造の過程で腐造を引き起こす微生物の繁殖を押さえることが知られているが、蒸留粕はこの黒麹菌に由来するクエン酸をはじめ、タンパク質や核酸等を豊富に含んでいる¹⁾。本研究では泡盛蒸留粕を食品原料としてとらえ、微生物による再発酵により調味料もしくは調味料原料として利用することをねらいとしている。

2. 実験方法及び実験条件

2-1. 菌株及び副原料の検討

前培養として、表1の菌株を8mℓの液体麹汁培地に1白金耳接種し、30℃、1日間、160rpmで振とう培養を行った。泡盛蒸留粕に表2の副原料を所定濃度となるように添加した後加圧滅菌し、前培養した菌株を接種して30℃、5日間160rpmで振とう培養し、官能評価及び成分分析に供した。菌株及び副原料の選定は試験員4人による官能評価及び成分的要素としてpH、酸度、アミノ酸度、全糖量を測定し、総合的に判断した。

表1 2次スクリーニングに用いた菌株

学名	菌株 ID	備考
1) <i>A.niger</i>	工業技術センター ID,1209	IAM2391
2) <i>A.ficum</i> (<i>A.bataus</i>)	" ,1304	IFO4218
3)	" ,8015	テンベより分離 (1986/10/16)
4)	東京農業大学 ID,A-21	中国ハムより分離

表2 副原料の検討に用いた試料

副原料
タイ産米粉 (沖縄県酒造協同組合、穀物破砕機で破砕)
小麦フスマ (沖縄製粉、強力粉用小麦)
ゼラチン (餅ニッピ、PBD)
鹿糖蜜 (中部製糖)
おから (赤野豆腐、1998年6月24日サンプリング)
パインアップル搾汁粕 (ミキサーにて破砕後、ガーゼにてろ過)

2-2. 発酵条件の検討

前節で選定された菌株および副原料を用いて発酵条件を検討した。発酵温度30℃、発酵日数5日間、振とう速度160rpmを基本条件として、温度、日数、添加量を所定量変化させ、酸度、アミノ酸度、全糖量を指標に最適条件を求めた。

2-3. 成分分析

①酸度・アミノ酸度

国税庁所定分析法注解²⁾に準じて行った。

②全糖量

フェノール硫酸法³⁾により測定した。必要に応じて希釈した試料0.4mlと5%フェノール溶液0.4mlの混合液に濃硫酸2mlを添加して10分間放置後振とう混合し、25~30℃で20分間放置後、490nmにおける吸光度（分光光度計、日本分光V-560型）を測定した。全糖量はグルコースで換算した。

③還元糖量

食品分析法⁴⁾によるSomogyi-Nelson法に従って求めた。

④有機酸

イオンクロマトグラフィー（イオンクロマトグラフDX-120、日本ダイオネクス株式会社）を用いて分析を行った。

測定条件	分離カラム	: Ionpac ICE-AS1
	溶離液	: 1.0mMヘプタフルオロ酪酸
	流量	: 1.0ml/min
	サプレッサー	: AMMS-ICE（再生液5.0mM TBAOH）
	検出器	: 電気伝導度検出器

⑤アミノ酸

試料を0.45 μmのフィルターで濾過し、日立工機製のL-8800型高速アミノ酸分析計にて分析を行った。

⑥水分

食品分析法⁴⁾による常圧加熱乾燥法で乾燥助剤（精製ケイ砂）を添加し測定した。

⑦灰分

食品分析法⁴⁾による乾式灰化法に従って測定した。

⑧粗タンパク質

ケルダール法窒素迅速分解装置、MRK自動式窒素/タンパク質定量装置（三田村理研工業）を用いて行った。分解チューブに試料を秤り入れて分解促進剤を投入し、硫酸及び過酸化水素を添加して分解を行った。分解終了後、定量装置にて定量を行った。

⑨粗脂肪

食品分析法⁴⁾におけるクロロホルム-メタノール混液抽出法に従って測定した。

⑩ミネラル類

日本食品標準成分表分析マニュアル⁵⁾に従い、Na、Kは希酸抽出法で、その他のミネラル（Ca、Mg、Fe、Cu、Zn、Mn、Pb、Cr、Cd）は湿式分解法に従って1%塩酸試験溶液を調製し、Z-8100形偏光ゼーマン原子吸光分光光度計（日立）を用いて測定した。尚、Pはバナドモリブデン吸光光度法⁴⁾により測定した。

2-4. スケールアップの検討

培養装置はジャーフェーマンター（杉山製作所製、ミニジャーフェーマンター）を用いた。表3に示した発酵条件で行い、通気量と酸度・アミノ酸度・全糖量の関係を測定した。

表3 ジャーフェーマンターでの発酵条件

通気量	1-4L(air)/L(蒸留粕)
プロペラ回転速度	150rpm/min
発酵温度	30℃
発酵日数	5日
米添加量	5%

2-5. 清澄化の検討⁶⁾

2-5-1. 遠心分離、ろ過による清澄化

圧搾による荒ろ過を想定して45 μ mのメッシュを通した試料を用いた。試料200mlを所定の遠心加速度ならびに時間で遠心分離（日立社製、PR-18RPM）を行い、底部から4cmの液層をピペットで1ml採取し、500nmの吸光度を測定した。また、所定の孔径を有するろ紙（ADVANTEC社製、5A、No.2、5B、No.6、5C）ならびにメンブレンフィルター（ユミクロン社製）にて試料を加圧ろ過（1kg/cm²）し、ろ液の500nmにおける吸光度を測定した。

2-5-2. ろ過助剤を用いた清澄化⁷⁾

発酵終了後の培養液を1,500 \times g、15分で遠心分離した上澄み150mlを試料として用いた。ろ紙（ADVANTEC社製、5B、 ϕ 47mm）の表面に0.5gのケイソウ土を吸着させ、所定のボディーフィード量（BF量）となるようにケイソウ土を添加した試料を1.0kg/cm²の圧力で加圧ろ過を行った。得られたろ液の500nmにおける吸光度を測定した。

2-6. 機能性の検討

2-6-1. 免疫担当細胞の制御機能の検討

発酵生成物を凍結乾燥し、リン酸緩衝液（PBS(-)）に溶解したものを試料とした。発酵生成物のU-937細胞に対する増殖能については、MTT（臭化3-(4,5-ジメチル-2-チアゾリル)-2,5-ジフェニル2H-テトラゾリウム）法⁸⁾を適用した。また、発酵生成物のU-937細胞に対する活性化能についてはニトロブルーテトラゾリウム（NBT）還元能の測定⁹⁾により検定を行った。

2-6-2. 抗酸化能の検討

発酵生成物を凍結乾燥し、所定量をPBS(-)溶液に溶解し0.45 μ mのメンブレンフィルターを通したものを試料とし、リノール酸のエマルジョン¹⁰⁾に対するTBA値を測定¹¹⁾した。

2-6-3. 逆転写酵素阻害活性の検討

ロシュ・ダイアゴノスティクス株式会社の“Reverse Transcriptase Assay, non-radioactive”を用いて、発酵生成物の逆転写酵素阻害活性を検討した。

2-7. 発酵生成物の利用法の検討

2-7-1. 浅漬けの素タイプの調味料の調製¹²⁾

発酵生成物に対し、食塩7.1%、ショ糖11.9%およびグルタミン酸ナトリウムを1.6%となるように添加し、漬け汁を調製した。キュウリ、ハクサイ、キャベツ、ナスを約3cm角にカットし、野菜重量と同量の漬け汁とともにビニール袋に入れ、空気を抜いて密封し、軽くもんで冷蔵庫中で約45分間漬け込んだ。漬け込みの後、ざるに移し、さっと水通しをして水切りを行った。

2-7-2. マヨネーズタイプのドレッシングの調製¹³⁾

鶏卵を割卵後、ろ紙上で転がして卵白を除去し、ガーゼでろ過して卵黄膜を除去した。卵黄20gに対し、食塩1.5g、発酵生成物20mlを添加し、ミキサー（ケンウッド社製、KENNEX MAJOR）にて5分間混合攪拌し、次にサラダ油200mlを10分間かけて徐々に添加した後さらに5分間混合攪拌した。

2-7-3. フレンチおよびノンオイルタイプのドレッシングの調製

フレンチドレッシングは、発酵生成物200gに対し、サラダ油140g、食塩3gおよびコショウ0.4gを添加して調製した。ノンオイルタイプのドレッシングは、発酵生成物200gに対しシソ葉を細切りしたもの2g、しょう油10g、乾燥バジル、食塩および鰹だし少々を添加して調製した。

3. 実験結果及び考察

3-1. 菌株及び副原料の検討

前年度の検討で¹⁾蒸留粕のシャーレ培地における生育および培養ろ液の酸度、遊離アミノ酸量を指標とした1次スクリーニングで有望株と選定された糸状菌4株について、官能的評価を中心とした2次スクリーニングを行った。また、風味の向上及び酸度の上昇を目的として副原料の選定を行った。結果を表4に示した。菌株No.1209およびNo.1304による発酵で味噌様の風味があり、その酸味・風味ともに良好の成績が得られた。菌株A21およびテンペ菌は、生ゴミのような腐敗臭が認められた。菌株No.1209を用いて副原料を蒸留粕に5%添加して培養した場合、タイ産米およびゼラチンで味噌様の香気や甘み、すっきりとした酸味が感じられた。蔗糖蜜では、原料に由来するミネラルの苦みが生じた。ただし、香気的には黒糖の香りがすることから、少量の添加は意義があるものと考えられる。pH、有機酸量、アミノ酸量および全糖量を測定した結果、菌株ではNo.1209の場合に有機酸量が1.36g/100mlとなり、副原料では、米またはゼラチンの場合に有機酸量がそれぞれ1.64、1.79g/100mlと高い値を示した。ゼラチンは米と比較して原料単価が高いことから、タイ産米が副原料として適当であると判断された。

表4 菌株および副原料に関する発酵生成物の官能的評価および性状

菌株・副原料	評価	pH	有機酸量 (g/100ml)	アミノ酸量 (g/100ml)	全糖量 (mg/ml)
蒸留粕		3.7	0.80	0.58	12.51
1209	風味良、酸味良	2.9	1.36	0.54	5.82
1304	風味良、酸味良	3.7	0.80	0.38	4.38
テンペ菌	腐敗臭	4.5	0.74	0.43	36.94
A-21	腐敗臭	3.8	0.34	0.34	9.81
タイ産米	麴香、味噌様香、甘み、渋み	2.8	1.79	0.61	22.87
小麦フスマ	フスマ臭、カビ臭、ぬか臭	2.7	1.60	0.51	9.58
ゼラチン	酸味良、木様香、苦み、味噌様香、ほこり臭	3.0	1.64	0.69	4.65
おから	濁り、酸味弱い、のっぺりとした	2.8	1.30	0.67	7.71
蔗糖蜜	渋み、エグ味、後味不良、日向臭、カビ臭				
バインアップル		3.0	1.36	0.49	16.29

副原料の検討において、添加量は5%、菌株はNo.1209を用いた。

有機酸量はクエン酸換算、アミノ酸量はグリシン換算、全糖量はグルコース換算で表示した。

3-2. 発酵条件の検討

図1に発酵温度が発酵液の酸度、アミノ酸度、全糖量に与える影響を示した。発酵温度に関しては、30-35℃近辺で酸度が高くなることが認められた。逆にアミノ酸度、全糖量はその部分で低下した。これは、糖が資化されてクエン酸に代謝されている²⁾ものと考えられることから、発酵温度は30度付近が適当であると考えられる。

発酵日数に関しては、日数の経過に伴う酸度の上昇および全糖量の減少が認められた(図2)。官能評価を行ったところ、発酵日数が5-7日目においては蒸留粕特有の焦げ臭や麴臭が感じられず、風味の改善が認められた。また、酸度が25程度になると、官能的に市販の酢と同等の酸味を感じることから、発酵日数は7日が適当であると考えられる。

副原料に関しては添加量に伴って全糖量の増加が認められた(図3)。酸度は、5%以上の添加量では顕著な変化は認められず、アミノ酸度に関しては、ほとんど変化がないことが認められた。糖はマイルドさやコクを付与する役割があると考えられるため、米の添加量はある程度幅を持たせ、5-10%が適当であると判断した。

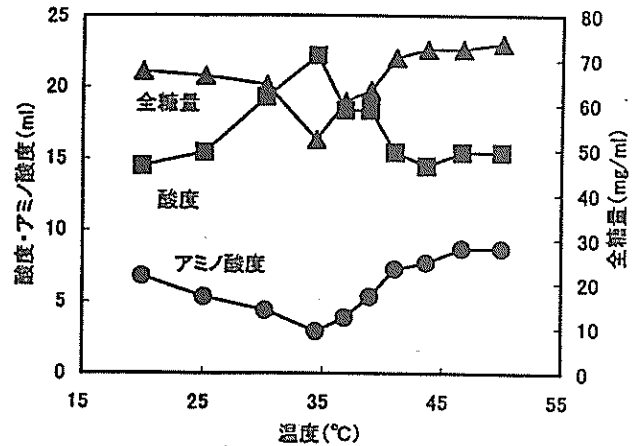


図1 発酵温度の変化が酸度、アミノ酸度、全糖量に及ぼす影響(発酵日数5日、米添付量5%)

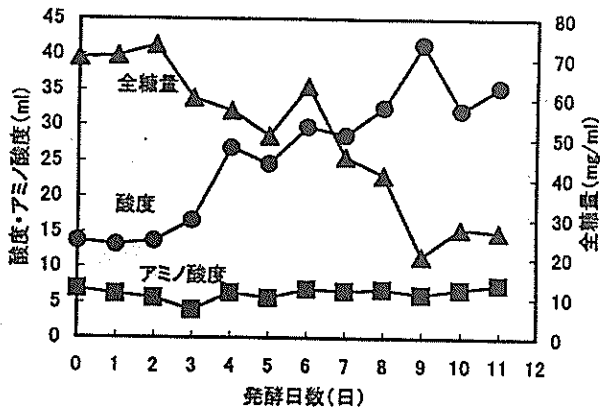


図2 発酵日数が酸度、アミノ酸度、全糖量に及ぼす影響(発酵温度30°C、米添加量5%)

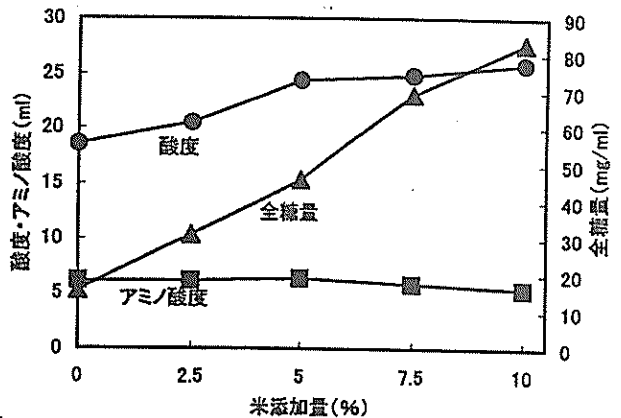


図3 米添加量の変化が酸度、アミノ酸度、全糖量に及ぼす影響(発酵温度30°C、発酵日数5日)

3-3. 発酵生成物の成分分析

前節で決定した発酵条件における発酵生成物の一般成分分析を表5に示した。有機酸は発酵後、65%の増加が認められた。全糖量、還元糖量とも発酵により約3倍の増加が認められた。これらは、発酵によって酸味・コク味が付与されたことを示している。

有機酸の増加が認められたことから、その構成成分を検討した(表6)。有機酸の主成分はクエン酸であり、発酵によってクエン酸の増加が認められたことから、目的としている酸味の増加が達成できたと考えられる。また、麴菌の代謝産物として知られるシュウ酸も増加しており、その濃度は茶の浸出液と比べると約48倍であったが¹⁴⁾、調味料の摂取量としては問題ないと考えられる。

ミネラル類の成分変化を表7に示した。発酵による差はほとんど認められなかった。重金属の鉛、クロム、カドミウムはいずれも検出されなかったことから、飲食品として安全性は確保されていると考えられる。

表8にアミノ酸組成の変化を示した。発酵により、必須アミノ酸

表5 発酵前後における成分の変化

	発酵生成物	蒸留粕
有機酸 (g/100ml)	1.87	1.13
アミノ酸 (g/100ml)	0.57	0.57
全糖量 (mg/ml)	12.9	4.04
還元糖量 (mg/ml)	2.48	0.95
水分 (g/100g)	93.5	94.6
灰分 (g/100g)	0.13	0.14
粗タンパク質 (g/100g)	2.28	2.30
粗脂肪 (g/100g)	N.D.	N.D.

有機酸量:ケソ酸換算、全糖量:グルコース換算
アミノ酸量:クリソ換算
N.D.=not detected

表6 発酵前後の有機酸組成の変化

構成成分	発酵生成物 (g/100ml)	蒸留粕 (g/100ml)
クエン酸	0.90	0.78
シュウ酸	0.48	0.03
リンゴ酸	0.12	0.10
乳酸	0.15	0.26
酢酸	0.04	0.02
Total	1.73	1.20

表7 発酵前後のミネラル類の変化

元素名	発酵後 (mg/100g)	蒸留粕 (mg/100g)
Na	11.14	8.20
K	9.01	16.12
Ca	0.07	0.59
Mg	0.84	0.99
Fe	N.D.	N.D.
Cu	0.03	0.05
Zn	0.49	0.60
Mn	0.22	0.21
P	351	437
Pb	N.D.	N.D.
Cr	N.D.	N.D.
Cd	N.D.	N.D.

N.D.=not detected

表8 発酵前後における遊離アミノ酸組成の変化

呈味	アミノ酸名	発酵生成物 (mg/100g)	蒸留粕 (mg/100g)
甘い	Glycin	23.3	28.6
	Alanin	43.1	65.1
	Treonine	15.8	16.4
	Proline	30.3	42.9
	Serine	17.7	26.8
	Lysine	56.9	49.1
苦い	Phenylalanine	42.2	37.5
	Tryptophan	N.D.	N.D.
	Arginine	82.0	128
	Isoleucine	15.0	16.2
	Valine	33.1	33.8
	Leucine	39.8	N.D.
	Methionine	6.88	16.1
Histidine	23.6	32.1	
甘い	Aspartic acid	39.6	15.1
	Glutamic acid	21.6	67.7
その他	Tyrosine	N.D.	50.0
	Cystine	1.26	2.11
	Taurine	23.6	16.5
	Sarcosine	N.D.	6.63
	Citrulline	2.10	2.91
	Cystathionine	2.76	3.18
	Hydroxylysine	0.31	0.11
	Ornithine	11.0	6.62
	3-Methylhistikine	0.25	0.72
	Anserine	9.33	17.5
	GABA	21.2	17.9
	計	541	682

N.D.=not detected

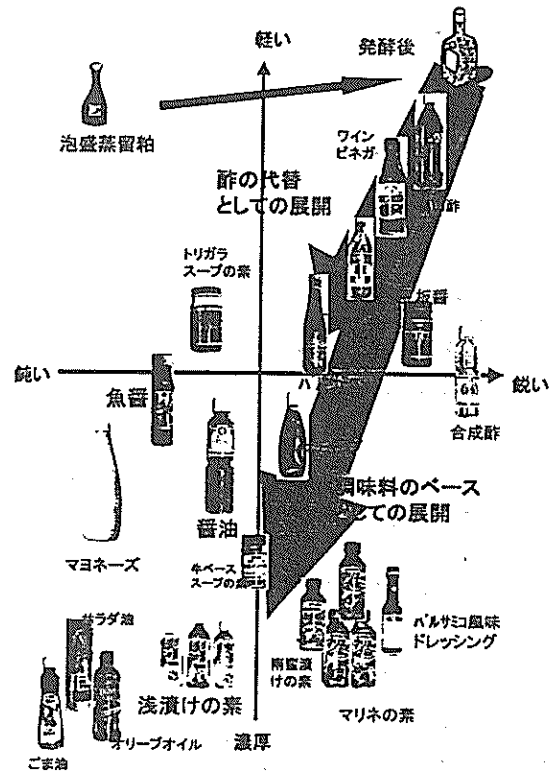


図4 官能評価による発酵生成物のマッピング

であるロイシンやフェニルアラニンおよびタウリンやGABAの増加が認められた。タウリンは高血圧や高脂血症の予防に有用であると示唆されている¹⁵⁾。またGABAは神経の主要な抑制性伝達物質として重要であり、嫌気処理によってGABAを蓄積した茶葉を加工して得られるギャバロン茶は血圧降下作用を有することが知られている¹⁶⁾。以上のことより、発酵生成物は高血圧の人に対する食品への展開が期待できる。

3-4. 官能的評価によるマッピング

泡盛蒸留粕および発酵生成物の特性を官能的に評価するために、種々の市販調味料との比較を

行った。すなわち、縦軸を「軽い←→濃厚」、横軸を「鈍い←→鋭い」にとり、調味料23種の官能的評価をもとに座標軸上に相対的にプロットした(図4)。その結果、蒸留粕は調味料として必要な濃厚さ(甘み、うま味、コク味等)や鋭さ(塩味、酸味、辛味等)をいずれも欠いていたが、発酵生成物は醸造酢系列の延長上に属し「軽く鋭い」味を特徴とするものとなった。官能的には醸造酢とは異なりクエン酸の酸味を主体としているため、醸造酢や柑橘類の搾汁液の代替としての基礎調味料および各調味料グループのベースとして活用できると考えられる。

3-5. スケールアップの検討

フラスコ規模(100ml)の発酵から3L規模へのスケールアップを行った。培養槽が大きくなると培地中の溶存酸素量が重要なファクターとなると考えられることから、通気量の違いによる酸度・アミノ酸度・全糖量への影響を検討した(表9)。その結果、ジャーフェーマンターでは通気量に関わらず、酸度の上昇は認められなかった。これは、蒸留粕は発酵が進むにつれ高粘度となるため、攪拌が不十分となり酸素の供給量と酸度の変化に相関がとれなかったものと考えられる。また、通気量4L/1Lにおいて全糖量が増加していたが、これは菌体の増殖とともに副原料の米が分解したために増加したと考えられる。通気量の検討に関しては、培養装置を含めた検討が必要だと考えられる。

表9 通気量の検討

通気量 (L/L)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	全糖量 (mg/ml)
4	21.3	12.4	82.27
3	22.0	12.4	26.57
2	20.5	11.2	34.79
1	19.1	10.7	34.40
フラスコ培養	32.1	6.2	22.41

全糖量：グルコース換算

3-6. 清澄化の検討

蒸留粕および発酵生成物は粘調質でろ過が困難であり、黒麹菌の孢子により黒色を呈している。製品化に向けては清澄化法を確立することが重要であるため、ここでは遠心法やろ過法による清澄化の検討を行った。

3-6-1. 遠心およびろ過による清澄化

蒸留粕または発酵生成物を遠心分離した場合の遠心加速度と500nmにおける吸光度の関係を図5に示す。このとき遠心時間は10分間とした。遠心力の増加に伴い、吸光度は対数的に低下した。目視により透明と感じられる吸光度が0.5以下であったことを目安とすると、蒸留粕は約3,900×g以上、発酵生成物は12,500×g以上の場合に清澄化を達成できることが認められた。発酵生成物が蒸留粕に比べて沈降が困難なのは、約12%の糖分を含み、液性も粘調になるためであると考えられる。そこで、ろ過の併用による清澄化を検討する意味でメンブランフィルターおよびろ紙を用いて清澄化の検討を行った(図6、図7)。ろ紙ではNo.6および5Cで吸光度が0.5以下となったが、未だに孢子が存在することから(図8)、更なる処理が必要であることが示唆された。メンブランフィルターの場合、孔径が10μm以下のいずれの場合においても目標の吸光度0.5以下となり、孢子の存在は認められなかった。

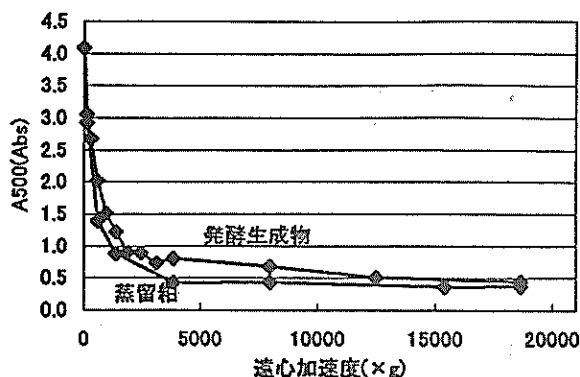


図5 遠心力による吸光度の変化

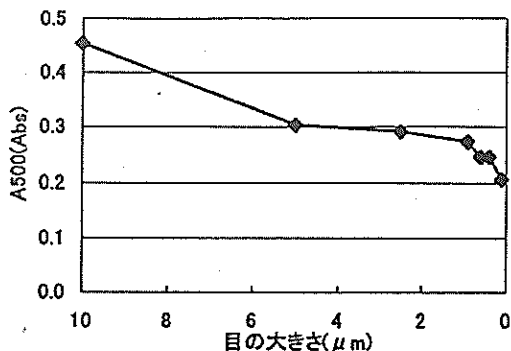


図6 各種メンブレンフィルター通過後吸光度の変化

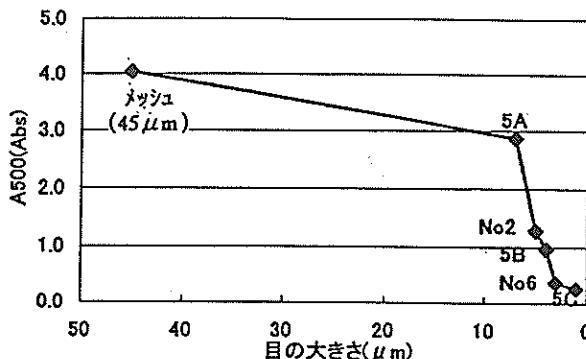


図7 各種ろ紙による吸光度の変化

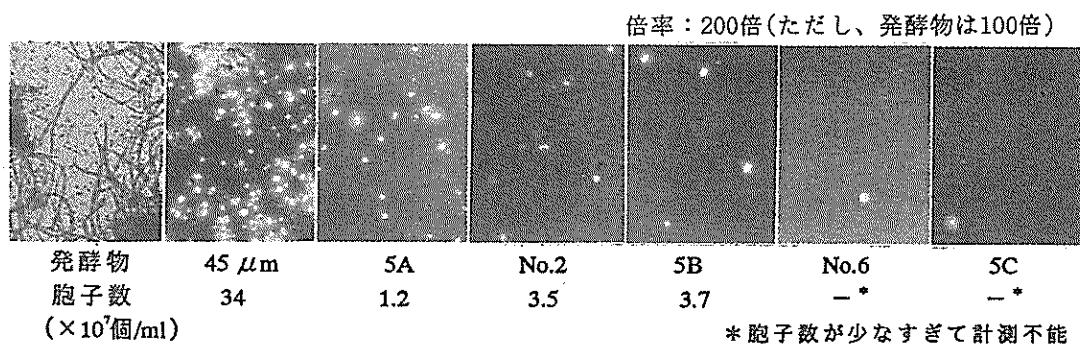


図8 各種ろ紙を通過後の発酵生成物の顕微鏡写真と胞子数

3-6-2. ろ過助剤を用いた清澄化

遠心分離またはフィルターろ過による単独での清澄化の効率が思わしくないことから、両者を組み合わせた清澄化を試み、さらにろ過助剤を使用することとした。ケイソウ土は、食品分野で広く使用されているろ過助剤であり、ランニングコストの面からも優れていることから⁷⁾、清澄化の一方法として検討した。表12に、発酵生成物をろ紙だけでろ過した場合と、ケイソウ土を用いてろ過した場合のろ液の吸光度を示した。このとき、ろ過前の発酵生成物に加えたケイソウ土の量をボディーフィード量として示した。その結果、ケイソウ土の使用により吸光度の減少が認められ、清澄化に効果があることがわかった。また、BF量1g/L以上では吸光度の変化は認められなかった。

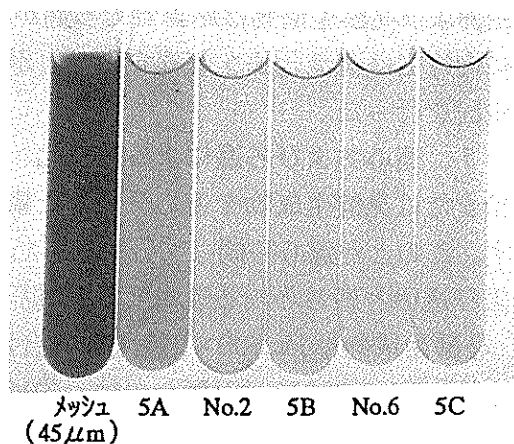


図9 各種ろ紙を通過後の発酵生成物の写真

表12 BF量と吸光度の関係

BF量 (g/L)	吸光度 (500nm)
0	0.966
1.0	0.415
10	0.545
50	0.452

* BF: ボディーフィード

3-7. 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。このような食品の機能に着目した製品開発が、多数の食品メーカーによって行われており、今後機能性を主張した商品がさら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の付加価値としてアピールすることが戦略的に重要だと考えられることから、免疫担当細胞の制御機能、生活習慣病との関連が指摘されている抗酸化能などを検討した。

3-7-1. 免疫担当細胞の制御機能の検討

発酵生成物の細胞増殖促進作用の検定は、マクロファージ系の細胞であるU-937細胞を用いてMTT法により行った。この測定で、食品成分の細胞増殖促進・阻害・致死効果等が判定できる。結果を図10に示した。蒸留粕及び発酵生成物のいずれの濃度においても吸光度がコントロールを上回り、細胞増殖効果が認められた。また、添加濃度の上昇に伴って細胞増殖効果も高くなる傾向が認められ、量-応答効果が示唆された。以上のことより、発酵生成物ならびに蒸留粕はU-937細胞に対して細胞増殖効果が認められた。

マクロファージなどの細胞は、食品成分による温和な活性化によってモノカインといわれる生理活性物質を適度に産生し、生体防御反応や免疫系に関与していることが知られている¹⁷⁾。そこで蒸留粕及び発酵生成物のU-937細胞に対する活性化能の検定をNBT還元能を測定することで行った(図11)。残念ながら、蒸留粕ならびに発酵生成物ともにNBT還元能は認められなかった。

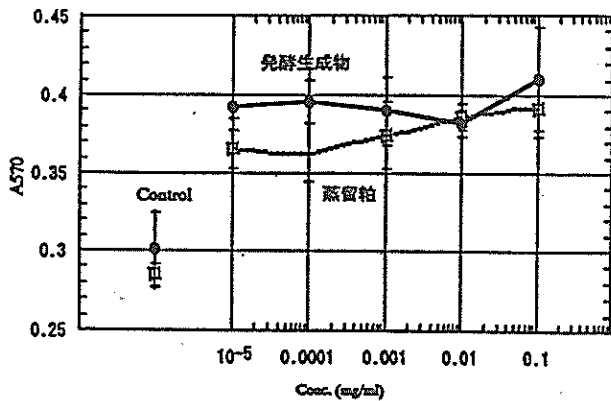


図10 発酵生成物がU-937細胞の増殖に与える影響

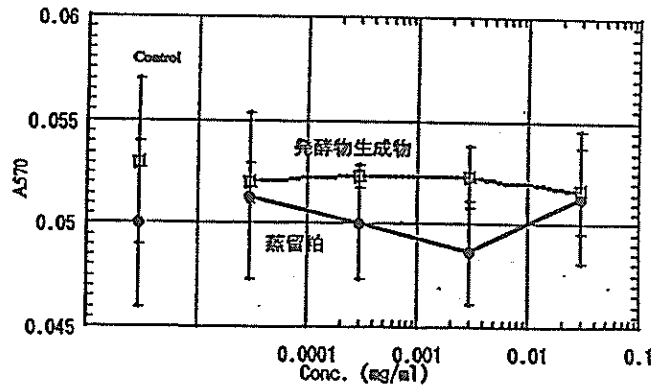


図11 発酵生成物がU-937細胞のNBT還元能に与える影響

3-7-2. 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。結果を図12に示した。発酵生成物を添加した場合、リノール酸の酸化は有意に抑制され、凍結乾燥した発酵生成物の濃度が0.02%の場合には、18日目においても0日目とほとんど変化が認められなかった。また、対象区では古いピーナッツの

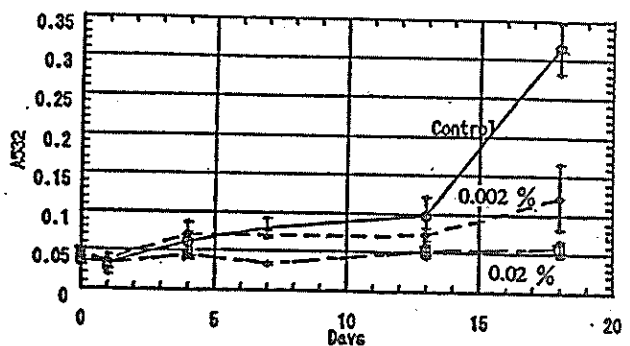


図12 発酵生成物の抗酸化能

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。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が、シネルギストは単独では抗酸化作用を示さないことから、発酵生成物中には何らかの抗酸化作用を示す物質が含まれていると考えられるが、その同定に関しては今後の検討課題である。

3-7-3. 逆転写酵素阻害活性の検討

本アッセイは、*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ビオチンがマイクロプレートに結合し、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。発酵生成物の逆転写酵素阻害活性を測定した結果を図13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。これより、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。

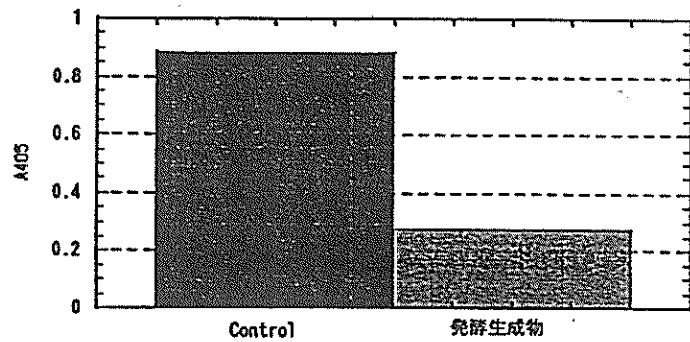


図13 発酵生成物のリバーストランスクリプターゼ阻害作用

3-8. 発酵生成物の利用法の検討

発酵生成物をベースとして、浅漬けの素タイプの調味料およびサラダドレッシング（マヨネーズタイプ、フレンチドレッシングタイプ、ノンオイルタイプ）を調製し、発酵生成物の応用に向けた検討を行った。

浅漬けの素タイプの調味料において、官能的コメントとしては、強い酸味、ぬか漬けのような、などが挙げられた。キャベツやハクサイのようなやや甘みのある野菜を漬け込んだ場合に発酵物のぬか様の香りが引き立ち、良好な風味となることが認められた。ダイコンを漬けた場合は、わずか30分の漬け込みにも関わらずダイコンが溶解していた。これは発酵生成物中の酵素などの作用によりダイコンの組織が破壊されてしまったためだと考えられる。

マヨネーズタイプのドレッシングにおいては、発酵生成物を使用した場合および蒸留粕を使用した場合ともにO/W型のエマルジョンが得られマヨネーズタイプのドレッシングは作成可能なことが認められた。しかしながら、風味の面ではぬか様の発酵臭が強く感じられ、さらにサラダ油との協調性が感じ取れなかったことから、マヨネーズタイプのドレッシングへの利用は困難との印象を与えた。フレンチドレッシングも同様に、発酵臭および油とのなじみの悪さから利用の困難さがうかがえた。一方、ノンオイルタイプのドレッシングでは、「レモン汁をかけた感じ」、「酸味がちょうどよい」などのコメントがあり、同じ発酵調味料であるしょう油のうま味と発酵生成物の酸味が調和がとれていた。

4. 結 言

泡盛蒸留粕の食品への利用を目指して、微生物発酵により蒸留粕の風味の改善および食品としての機能を検討した。

- ①発酵に用いる糸状菌株の2次スクリーニングおよび副原料の検討を行った結果、菌株としては工業技術センター保有の菌株No.1209を使用し、副原料としてタイ産米を利用することとした。
- ②先に選定した菌株ならびに副原料を用いて発酵の最適条件を検討した結果、培養日数7日、温度30℃、副原料の添加量は5-10%が適当であると判断した。
- ③発酵生成物の成分的特徴として、蒸留粕と比較すると有機酸量が65%増加していることが認められ、また全糖量、還元糖量とも発酵により約3倍の増加が認められた。
- ④発酵生成物の清澄化を、ろ過法、遠心法により検討した結果、約12,000×gの遠心加速度、ポアサイズが0.4μm以下のろ紙および10μm以下のメンブレンフィルターにより清澄化が可能であることが明らかとなった。さらにろ過助剤の併用が効果的である。
- ⑤発酵生成物の機能性を検討した結果、U-937細胞に対する増殖促進効果、抗酸化性および逆転写酵素阻害活性が認められた。活性物質の同定が今後の検討課題である。
- ⑥泡盛蒸留粕は糸状菌による発酵によって風味の改善がなされたことから、その応用面を検討した。その結果、発酵生成物は浅漬けの素およびノンオイルタイプのドレッシングなどへの利用が期待できることが明らかになった。

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、東京農業大学および忠孝酒造株式会社との共同研究で実施したものである。

参考文献

- 1) 忠孝酒造株式会社、平成9年度中小企業創造基盤技術研究事業 研究成果報告書「泡盛蒸留粕を利用した新規発酵調味料の開発」、(1998)
- 2) 注解編集委員会編、「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) 松本幹治、食品産業の分離・ろ過、食品と開発、Vol.29、No.10、p5-7
- 8) Denizot, F. and Lang, R. : J. Immunological Methods, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Vol.39 No.1, 79~87(1992)
- 9) Z-L. Kong *et al.*, In Vitro Cell. Develop. Biol., 26, 949(1990)
- 10) 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)
- 11) 日本薬学会編、衛生試験法・注解、金原出版株式会社、p.340、1990

- 12) 前田安彦、日本人と漬物、全日本漬物協同組合連合会、1996
- 13) 押田一夫、マヨネーズの製造に関する基礎的研究(第2報) 卵黄の乳化力に及ぼす食塩および酢酸の影響について、日本食品工業学会誌、第22巻、第4号、1975
- 14) 堀江秀樹、緑茶の硬水浸出液に生じる白色沈殿、日本食品化学工学会誌、Vol. 45, No.6, 364~367 (1998)
- 15) 科学技術庁資源調査会・資源調査所編、日本食品アミノ酸組成表、大蔵省印刷局、p.275、1986
- 16) 村松敬一郎編、茶の科学、朝倉書店、p.210、1996
- 17) 村上浩紀・上野川修一編、食品と生体防御、講談社、p. 128、1996

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。