

# 未利用資源の発酵処理基本プロセスの開発\* 1

早 川 潔\* 2

河 村 眞 也\* 3

上 野 義 栄\* 4

手 塚 勝 利\* 5

## 【要 旨】

種麹から有効なものを選択して未利用及び低利用資源である鶏肉粉末、魚粉(ダシガラ)、大豆粕等の発酵処理(製麹)を行った。

麹菌は比較的乾燥状態でも繁殖するが細菌類は乾燥に弱いという性質を利用して、水分30～35%で製麹を行う乾燥製麹法を開発した。

麹菌の繁殖により発酵処理物中に消化酵素として有用なプロテアーゼやアミラーゼが生成した。有害物質については発酵前に比較して過酸化物質、ヒスタミン、悪臭物質のトリメチルアミンが減少した。

## 1 緒 言

食品廃棄物は食品原料である動、植物素材から有用部分を加工に用いた不要な残査である。おからをはじめとして、ダシガラ、醤油の絞りカス、魚腸骨、野菜屑、穀物の殻、皮などがあり、多くの食品加工分野にわたっておりそのほとんどが廃棄物として処分されている。また、廃棄物に準ずる利用度の低い未利用資源としては穀物の糠、酒造における白糠、酒粕、養鶏場の廃鶏、廃糖蜜やコーンスティプリカーなどがあり、一部で利用はされているが低付加価値の利用である。

これらの食品廃棄物の多くは豊富な栄養成分を含むため有価物質として利用する余地が残されて

いるが、反面、放置するとたちどころに腐敗し、悪臭を発生し、不衛生な腐敗菌や病原菌の温床となる。清潔で衛生的であることが常に求められている食品工場にとって、頭を悩ます存在である。さらに、一旦腐敗すると食品としての再利用は不可能になる。したがって、有効利用のためには迅速な腐敗防止の処理が必要である。

食品廃棄物はもともとが何らかの食用に適さない性状を持った素材であるので、それを食品にするためには大幅な品質改良が必要であり、微生物を用いた発酵処理が有効な方法の一つであると考えられる。有益な微生物を優先的に廃棄物に繁殖させることにより、食品としての味覚、物性、栄養価、吸収性や生理活性作用を高めることと共に腐敗菌や病原菌の増殖を抑止し、腐敗を防止することが可能と考えられる。

本研究では発酵処理に用いる微生物としては麹菌を用いた。麹菌は古くから日本の醸造工業で用いられてきており、安全性や生理活性等の有用性

\* 1 中小企業創造基盤技術研究事業

\* 2 応用技術課 課長

\* 3 同課 主任研究員

\* 4 同課 技師

\* 5 材料技術課 課長

が広く認められている。製麹により食品中の過酸化物質やヒスタミン等の有害物質が低減し、あるいは食品中にプロテアーゼやアミラーゼ等の消化酵素類、各種ビタミン類、アミノ酸類、さらには生理活性のある種々の有用物質を付加させることが可能と考えられる。ここでは低利用度資源として脱脂大豆、魚粉、白糖と廃鶏、廃棄物として魚腸骨、ダシガラの製麹を行い、その変化について検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 供試原料

魚粉はニチモウ（株）製の、湿式法により製造されたフィッシュミールを用いた。本フィッシュミールはまいわしの全魚体を原料とし、蒸煮、圧搾により水分と油脂を除去し、固形分を乾燥、粉碎し、粗粒状としたものである。

大豆粕は昭和産業（株）製を用いた。

生鶏肉は山城養鶏生産組合生産のかしわを用いた。鶏肉粉末はかしわをミンチにし、加熱後液体部分（液汁と鶏油）を分離、除去し、ヒーター加熱で乾燥物にしたものを用いた。

マグロ魚腸骨粉末は生のマグロ魚腸骨を加熱後液体部分を分離・除去し、ヒーター加熱で乾燥物にしたものを用いた。

ダシガラはかつおとジャコの混合物を熱湯抽出した残渣で、水切り後ヒーター加熱で乾燥物にしたものを用いた。

割砕小麦は小麦を全粒のまま約175 で2～3分間ばい焼し、割砕したものを用いた。

白糖は酒造原料白米を70%に精白したときの削り粕を用いた。

### 2.2 使用菌株

種麹メーカーである（株）菱六保存の麹菌の中

から75種類の分譲を受け、さらにその中から鰹節用麹菌として *Eurotium repens* HG-306、醤油用麹菌 *Aspergillus oryzae* HO-117、豆味噌用麹菌として *Aspergillus oryzae* H-1010、清酒用麹菌として *Aspergillus oryzae* H-3 および焼酎用麹菌として *Aspergillus usamii* HS-183をそれぞれ蒸米に繁殖させ、種麹として用いた。

### 2.3 製麹方法

鶏肉粉末、マグロ魚腸骨粉末、ダシガラ、魚粉または大豆粕にデンプン原料として割砕小麦または白糖を比率を変えて重量が合計4kgになるように混合し、所定の初発水分含量に水分調整し、水分蒸発を防ぐため高圧滅菌用ポリ袋にいれ、120で30分間蒸煮し滅菌した。この蒸煮物に冷却後種麹8gを混合し、ヤエガキ醸造（株）製自動製麹装置HK-15で最低温度30、最高温度40に調節し、72時間製麹した。

### 2.4 分析・測定方法

#### (1) 麹の酵素力価の測定

プロテアーゼおよびアミラーゼは国税庁所定分析法<sup>1)</sup>に準じて分析した。

#### (2) 麹の細菌数の測定

麹中の細菌数は、日本製薬（株）製の抗黴培地「ダイゴ」を用いて、希釈平板培養法により測定した。

#### (3) 原料、麹の一般成分分析

粗蛋白、粗脂肪等の栄養成分、全窒素、エキス分、食塩等の測定は衛生試験法注解<sup>2)</sup>により測定した。

#### (4) 麹のアミノ酸分析

麹1gを99mlのクエン酸バッファ（pH2.2）で抽出後、（株）島津製作所製液体クロマトグラフLC-9Aで強酸性陽イオン交換樹脂カラム

Shimpack Isc-07Na 型 (スルホン基を持つスチレンージビニールベンゼン共重合体) を用い分析した。

(5) 麹の水溶性タンパク質の測定

製麹した魚粉に10倍量の水を加え、30 で一定時間反応させ、麹菌のプロテアーゼで分解され水溶性となったタンパク質をろ過し、その全窒素を測定した。

(6) 油脂の脂肪酸組成

ガスクロマトグラフ法により行った。(日本食品分析センターに依頼)

(7) トリメチルアミンの分析

麹のトリメチルアミンの測定は馬場ら<sup>3)</sup>のガスクロマトグラフ法で行った。

### 3 実験結果

#### 3.1 製麹時の温度変化

図1はヤエガキ醸造(株)製自動製麹装置HK-15で魚粉と割砕小麦の等量混合物を水分含量35%に調整したものの製麹温度経過である。図より麹菌接種後10時間で麹菌増殖による温度上昇が始まり、22~23時間で発熱が激しくなり、増殖がピークに達することが判る。その後、50時間程度でほぼ増殖はおさまり製麹は終了した。なお、大豆粕、鶏粉、ダシガラ等についても同様の発酵経過をたどった。

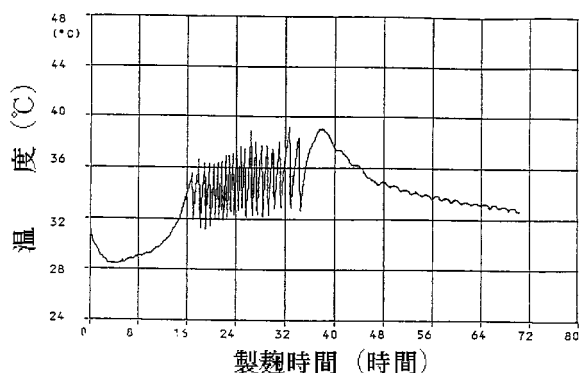


図1 製麹の温度経過

#### 3.2 各種麹菌の大豆粕中での酵素生産

種麹メーカーである(株)菱六保存の麹菌の中から75種類の分譲を受け、さらにその中から鯉節用麹菌として *E. repens* HG-306、醤油用麹菌として *A. oryzae* HO-117、豆味噌用麹菌として *A. oryzae* H-1010、清酒用麹菌として *A. oryzae* H-3 および焼酎用麹菌として *A. usamii* HS-183 を選定し、大豆粕に各種麹を接種し、酵素生産について検討した。表1に示すように、醤油用麹菌 *A. oryzae* HO-117 及び鯉節用麹菌 *E. repens* HG-306 が高い中性プロテアーゼ活性を示した。

#### 3.3 水分含量の影響

麹菌は比較的乾燥状態でも繁殖するが細菌類は乾燥に弱いと思われるので、初発水分含量と雑菌汚染との関連について検討した。表2は大豆粕、表3は魚粉と割砕小麦の等量混合物について異なった初発水分含量に調整し製麹したときの酵素活性と汚染細菌数の比較である。両者共に初発水分含量35%以上になると汚染細菌数が増え始めた。酵素活性は25%以下では非常に低く、乾燥し過ぎて麹菌の増殖が抑制されるものと考えられる。高水分になると細菌増殖の影響を受けたためか、酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ共に低下した。

表1 各種麹菌の大豆粕中での酵素活性

麹菌の種類	(U / g)		
	中性プロテアーゼ	酸性プロテアーゼ	・アミラーゼ
<i>E. repens</i> HG-306	10,467	6,707	1,748
<i>A. oryzae</i> HO-117	10,564	5,819	1,570
<i>A. oryzae</i> H-1010	6,354	9,956	1,730
<i>A. oryzae</i> H-3	9,651	4,663	1,758
<i>A. usamii</i> HS-183	6,841	4,492	1,488

水分30~35%に調整し、30~40 で72時間製麹した。

表2 大豆粕の初発水分含量の違いによるプロテアーゼ生産と汚染細菌数

	水分含量 (%)				
	25.0	29.6	35.1	39.7	45.3
中性プロテアーゼ(U)	5417	11194	5819	5673	8377
酸性プロテアーゼ(U)	4675	7164	4164	2278	635
汚染細菌数(cells/g)	$9.1 \times 10^4$	$8.7 \times 10^4$	$2.4 \times 10^6$	$2.9 \times 10^8$	$9.5 \times 10^9$

大豆粕 2 kg を所定の水分に調整後 4 g の鯉節用麹菌を接種し、30 ~ 40 で 72 時間製麹した。

表3 魚粉の初発水分含量の違いによるプロテアーゼ生産と汚染細菌数

	水分含量 (%)				
	24.7	30.6	35.7	39.3	46.3
中性プロテアーゼ(U)	8280	9990	10284	12354	5760
酸性プロテアーゼ(U)	6462	6048	6162	8118	3408
汚染細菌数(cells/g)	$3.0 \times 10^4$	$3.2 \times 10^5$	$1.2 \times 10^6$	$2.2 \times 10^8$	$7.1 \times 10^8$

魚粉 1 kg と割砕小麦 1 kg を混合し、所定の水分に調整後 4 g の鯉節用麹菌を接種し、30 ~ 40 で 72 時間製麹した。

### 3.4 素材の製麹による成分変化

魚粉、鶏粉や大豆粕を製麹処理することによる成分変化について検討した。表4は魚粉を鯉節用麹菌で処理した結果である。栄養成分としては製麹前に比べ粗脂肪が73.6%、粗蛋白が98.5%に減少した。これは麹菌が繁殖に際してエネルギー源としてタンパク質よりも脂肪を優先的に質化するためと考えられる。脂肪は保存により酸敗することが多く、その減少は魚粉栄養価安定のために有効と思われる。また、毒性物質については発酵前に比較して過酸化物質は4.3%、ヒスタミンが38.3%、悪臭物質のトリメチルアミンが28.8%に減少した。このように製麹により素材の栄養価が向上することがあった。

また、表5の鶏粉についても同様の傾向が見られた。さらに、鶏粉麹の安定性を見るために75日間室温で保存しておいたところ、過酸化物質は製麹前の6.6が出麹時2.6、75日後に0.9に激減した。

中性プロテアーゼは出麹時8822U/gが75日後には8561U/gになったが、保存中の失活は少なく、麹中にはほぼ安定して保存されることが判った。他の粗蛋白等の成分は水分減少に伴って相対的な増加が見られたが、粗脂肪のみに実質的な減少が見られた。乾燥状態においては出麹の長期間の室温での安定保存が可能であることが判った。

次に、栄養成分として製麹による減少が大きな脂肪について脂肪酸組成変化の比較をおこなった(表6、7)。魚粉中の脂肪酸は製麹によりパルミチン酸(16:0)やステアリン酸(18:0)等の飽和脂肪酸が減少し、オレイン酸(18:1)、リノール酸(18:2)、リノレン酸(18:3)やアラキドン酸(20:4)等の不飽和脂肪酸の比率が増加した。EPA(20:5)とDHA(22:6)については大きな変化はなかった。鶏粉については同様に飽和脂肪酸の比率が減少し、不飽和脂肪酸の比率が増加した。麹菌は増殖に際し飽和脂肪酸を優先

表4 魚粉と製麹魚粉の成分比較

	製麹前	製麹後
水分(%)	11.5	12.2
粗蛋白(%)	68.1	67.1
粗脂肪(%)	9.1	6.7
灰分(%)	13.3	14.0
過酸化価(meq/kg)	3.5	0.5
ヒスタミン(ppm)	49.3	18.9
トリメチルアミン(ppm)	16.0	4.6
中性プロテアーゼ(U/g)	0	1195

表5 鶏粉と製麹鶏粉の成分比較

成分	製麹前	製麹後	製麹後
			(75日間保存後)
水分(%)	33.0	18.4	9.2
粗蛋白(%)	47.0	60.0	66.1
粗脂肪(%)	7.0	6.0	5.9
粗繊維	0.7	0.9	1.3
灰分(%)	1.3	1.7	1.8
過酸化価(meq/kg)	6.6	2.6	0.9
中性プロテアーゼ(U/g)	0	8822	8561

鶏粉 3 kg に白糖 1 kg を混合し、初発水分を 30 ~ 35% に調整し、8 g の醤油用麹菌を接種後、30 ~ 40 で72時間培養した。出麹は30 で紙袋に入れ開封状態で保存した。

的に資化するものと思われる。

素材中にもともと含まれている遊離アミノ酸の製麹による変化について検討した。表8は魚粉を製麹した時の遊離アミノ酸の変化である。グルタミン酸、アスパラギン酸等のように増加するアミノ酸も見られたが全体としては製麹により遊離アミノ酸は減少した。麹菌の増殖に使われたものと考えられる。

次に、製麹魚粉を飼料として動物が摂取した場合の麹菌の生産した蛋白分解酵素の働きを見るた

表6 魚粉と製麹魚粉の脂肪酸組成の比較

脂肪酸	製麹前	製麹後 ( % )	
		(醤油麹)	(鯉節麹)
14 : 0	3.3	3.7	2.0
16 : 0	35.5	25.1	27.2
16 : 1	3.9	5.4	5.4
18 : 0	7.9	6.8	6.4
18 : 1	12.5	16.1	15.7
18 : 2	1.3	2.3	2.5
18 : 3	-	4.0	4.9
20 : 2	-	0.5	-
20 : 4	2.6	4.2	5.1
20 : 5	9.9	9.8	8.1
22 : 5	-	-	-
22 : 6	23.0	22.0	22.6
* 飽和脂肪酸合計	46.7	35.6	35.9

魚粉中の脂質含量は、魚粉9.1%、醤油麹製麹魚粉8.1%、鯉節製麹魚粉6.7%であった。それぞれの試料から脂質を抽出して測定した。製麹は72時間行った。

\* 飽和脂肪酸合計は 14:0 + 16:0 + 18:0 を表す。

表7 鶏粉と製麹鶏粉の脂肪酸組成の比較

脂肪酸	製麹前	製麹後 (75日間保存後)	
		製麹後	製麹後
8 : 0	0.1	-	-
14 : 0	1.1	0.9	1.0
15 : 0	0.3	0.3	0.3
16 : 0	24.3	22.9	23.6
16 : 1	2.9	2.9	3.0
17 : 0	0.4	0.4	0.4
18 : 0	8.1	7.3	7.4
18 : 1	44.2	44.4	44.1
18 : 2	13.5	15.9	15.5
18 : 3	0.3	0.3	0.3
20 : 0	0.2	0.2	0.2
20 : 1	0.7	0.6	0.6
20 : 4	0.3	0.2	0.2
未同定	3.6	3.8	3.4
* 飽和脂肪酸合計	34.6	32.0	32.9

\* 飽和脂肪酸合計は 8:0 + 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0 を表す。

表8 魚粉の製麹における遊離アミノ酸の変化

アミノ酸	(g/100g)	
	製麹前	製麹後
アスパラギン酸	0.0228	0.0396
スレオニン	0.0366	0.0282
セリン	0.0320	0.0147
グルタミン酸	0.0795	0.1112
プロリン	0.0360	-
グリシン	0.0432	0.0228
アラニン	0.1191	0.0380
シスチン	-	0.0129
バリン	0.0546	0.0188
メチオニン	0.0120	-
イソロイシン	0.0033	0.0116
ロイシン	0.0716	0.0066
チロシン	0.0332	0.0291
フェニールアラニン	0.0917	0.0270
ヒスチジン	0.2697	0.1223
リジン	0.0765	0.0618
アルギニン	0.0723	0.0260
合計	1.0541	0.5706

100 g 中のアミノ酸 g 数

めに、製麹魚粉に10倍量の水を加えビーカー中で水溶性タンパク質の変化を調べた。図2に示すように発酵魚粉は蛋白分解酵素の作用で未発酵魚粉に比べ37%、6時間で40%、18時間で60%水溶性タンパク質が増大した。

#### 4 考察

本共同研究の大テーマである「未利用資源精密発酵処理飼料・食料化システム」の研究概略図を図3に示した。この研究の中心部は原料に微生物、特に、麹菌を繁殖させ、原料の改質とプロテアーゼ等の酵素類の効率的な生産を行うことである。当センターではこれらの基本プロセスの開発を担当した。

未利用資源原料を微生物により発酵処理し、家畜飼料や食料に変換するためには、いくつかの要

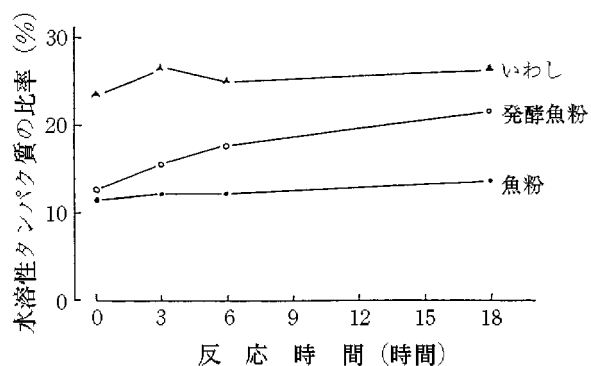


図2 製麹魚粉のタンパク質消化実験

件を満たす必要がある。原料の腐敗の防止、安全な微生物の使用と発酵による効果が明確なことである。

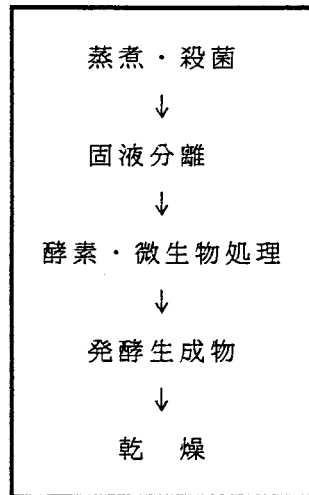
まず、原料を腐敗させないことである。一旦腐敗した原料は腐敗微生物等による毒素や有害物質が含まれているため、発酵処理用の原料としては使用できない。腐敗していない原料であっても、種々の微生物が原料には付着しておりそれらが発酵処理を妨害する。したがって、有効微生物を接種する前に殺菌工程が必要である。そこで、通常は加熱殺菌で汚染微生物の殺菌を行うことにした。この加熱殺菌は魚肉や鶏肉等のタンパク質原料には特に有効であった。つまり、加熱により殺菌と同時にタンパク変性もできるので、続く工程の発酵処理も非常に効率よく行われることになった。共同研究者であるヤマシロファーマメントの実施した精密発酵機の試作においても、この殺菌処理を効率的に行えることが必要条件であった。

次に、発酵処理する微生物の選択の問題がある。病原性を持たず、毒性物質をつくらない、安全性の高い微生物を発酵処理に用いなければならない。家畜飼料は直接は食料ではないが、一旦家畜の口から摂取され、肉、牛乳や卵等の畜産食品を経て食料になる。有害物質等が含まれていると、餌等を通しての生物濃縮が起こる可能性がある。従って、食料と同様に飼料においても発酵処理に使用

未利用資源 (廃鶏、魚腸骨、米ぬか、おから…)



精密発酵機 (初年度開発)

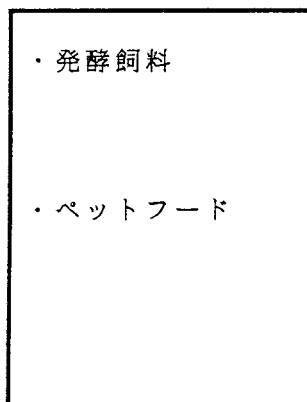


コンピュータでの発酵制御を行い  
多機能を1台で処理できる

餌料効率の向上  
環境汚染の防止  
家畜の健全化

栄養価の向上  
安全性の確保  
嗜好性の向上

飼料化 (2年度開発)



食料化 (2・3年度開発)

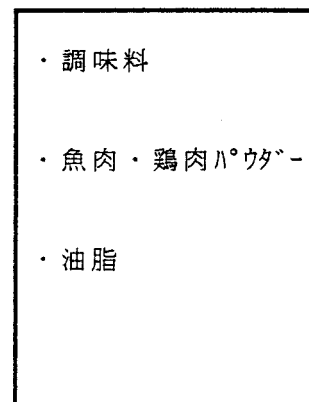


図3 未利用資源飼料・食料化システムの研究概略図

できる微生物の種類は限定されて来る。科学的にあるいは経験的に信頼性のある安全な微生物を用いることが必要であり、古くから発酵食品に用いられてきた微生物の中から選択することが最も合理的である。本研究においては微生物としては主として麹菌を用いることにした。麹菌は日本の醸造食品である清酒、甘酒、味噌、醤油、鰹節、麹漬け等の多くの食品に古来より用いられてきており、日常的に食品として摂取してきたものであり、その安全性はほぼ確立されていると考えられる。本研究においては(株)菱六の保有する種麹から有効なものを選択して発酵処理（製麹）に用いた。

原料に麹菌のみを優先的に増殖させることが重要であった。そこで麹菌は比較的乾燥状態でも繁殖するが細菌類は乾燥に弱いという性質を利用して、水分30～35%で製麹を行う乾燥製麹法を開発した。これにより *Bacillus* 属や *Micrococcus* 属等の細菌汚染を少なくすることができた。

さらに、原料を発酵処理することにより優良な飼料となること、即ち、原料中の栄養的に有効な物質が増大し、また、毒性物質や栄養障害物質が減少することも重要である。有効物質としては、麹菌の繁殖により発酵飼料中にプロテアーゼやアミラーゼが生成した。市販の飼料中には家畜の消化を高めるためにこれらの酵素類を添加している場合もあるので、発酵処理により酵素が生成することは大きなメリットといえる。具体的に、製麹魚粉を飼料として動物が摂取した場合を想定して10倍量の水を加えビーカー中での水溶性タンパク質の変化を調べたところ、発酵魚粉は未発酵魚粉に比べて蛋白分解酵素の作用で水溶性タンパク質が顕著に増大した。また、毒性物質については発酵前に比較して過酸化物質、ヒスタミン、悪臭物質のトリメチルアミンが減少した。以上、製麹により素材の栄養価が向上することが判った。