

# 純米未利用資源のアレルギー対策用調味料生産への利用

野田正司\*1

河村真也\*2

原口健司\*2

## 〔要 旨〕

液化仕込みの日本酒製造工程から副生される酒粕と白糠（酒造原料白米の表面の削り粉）を原料とする大豆及び小麦アレルギー症状者用のしょうゆ代替調味料の試作を検討した。6ヶ月熟成後の溶出液中にうま味成分の指標となる全窒素は0.9～1.2%、エタノールは0.2～2.7%程度含まれていた。うま味成分濃度は、通常の大豆及び小麦を原料とするしょうゆと比較すると若干低いが、あわ、ひえなどの穀類を原料とする市販しょうゆ代替調味料と比較すると高かった。さらに、大豆及び小麦原料を使用しないしょうゆ代替調味料は、香りの点でしょうゆに劣ることから、しょうゆ特有の香気主成分のフラノン化合物HEMFの調味料への付加生成法を検討した。しかし、調味料中のHEMF含有量の増加は認められなかった。

## 1 はじめに

近年、アレルギー対策、減塩、機能性付与などを施した健康食品への関心は高まっており、その商品開発が望まれている。一方、我々は高タンパク質未利用資源を調味料化するプロセスを開発し、魚醤油の製品化や地域研究開発促進拠点支援事業（RSP事業）のなかでライス調味液の試作などを行ってきた<sup>1)～8)</sup>。

そこで、これまでに酒粕と小麦あるいは酒粕と白糠（酒造原料白米の表面の削り粉）とトウモロコシの皮を原料とするライス調味液を試作したが、これをアレルギー表示制度の対象品目に該当しない米由来のみの未利用原料に代えることにより、大豆及び小麦アレルギー患者用のしょうゆ代替調味料の試作を検討することとした。

さらに、大豆及び小麦原料を使用しないために、しょうゆ特有の香気主成分4-ヒドロキシ-2(or5)-

エチル-5(or2)-メチル-3(2H)フラノン（以下、HEMFと言う）の生成が少ないと予想されることから、小麦などに多く含まれる非アレルギー物質の5炭糖類（ペントース）を添加し、HEMF生成を助長する醸造方法も併せて検討することとした。

## 2 実験方法

### 2.1 供試原材料

タンパク質原料として月桂冠(株)から提供された液化仕込みの酒粕を用いた。この湿潤酒粕にはエタノールが乾重量当たり6.8%含まれ、製麴時に麹菌の繁殖を阻害することから、製麴前に前もってエタノールを除去する必要がある。そこで、でんぷん原料として用いる月桂冠(株)から提供された白糠を湿潤酒粕に等量（乾重量）加えて、EXCEL-AUTO HOMOGENIZER(株)日本精機製作所製)を用いて混合、粉碎した後、105℃でエタノールが0.1%以下になるまで乾燥した。この両原料を乾燥前に混合することにより、粉末化が容易になると共に、製麴時に水を加えてもダマ（固化）になり

\* 1 研究開発課専門員

\* 2 研究開発課主任研究員

にくい効果が認められた。調味料用原料にはならないが、製麴時に原料のかさ高性を増加させ、麴菌が増殖しやすい環境にするための製麴助剤として沸騰水中で殺菌、洗浄後、乾燥した無農薬栽培の米のもみ殻を用いた。さらに、風味を改善する目的で、沸騰水中で殺菌、洗浄後、乾燥したかつおダシ殻も用いた。また、種麴として(株)菱六製しょうゆ用麴菌である旭菌を用いた。

5炭糖類(ペントース)とアミノ酸とのメイラード反応によって前駆物質が生成され、その前駆物質が酵母によりHEMFに変化するという報告<sup>9),10)</sup>がある。そこで、HEMF生成を助長するための添加剤として、5炭糖類の和光純薬製試薬特級のD(+)-キシロース及び関東化学製試薬特級のL(+)-アラビノースをそれぞれ用いた。

## 2. 2 製麴方法

粉末状態で乾燥させた酒粕と白糠の混合品、製麴助剤(もみ殻)、かつおダシ殻、5炭糖類添加剤及び水を表1に示すように各々配合するNo.2~No.7の6試験区を作成した。コントロール(比較対照)として、一般のしょうゆ用原料である脱脂大豆と割砕小麦を用いるNo.1の試験区を作成した。各試験区の配合原材料の水分率は33~38%となっている。No.2~No.7試験区の配合原材料は、各々オートクレーブ中で121°C、15分間加熱殺菌した。No.1の試験区は、水240mlを加水してオートクレー

ブ中で121°C、15分間加熱殺菌した大豆に乾燥機で120°C、2時間加熱した割砕小麦を加え、混合した。各々放冷後、種麴0.8gを混合し、自動醗酵機(ヤエガキ醸造機械(株)製)を用いて30~40°Cで、72時間製麴した。

## 2. 3 諸味発酵方法

酵母と乳酸菌を含む既存諸味の添加時期が熟成諸味中成分の溶出量に及ぼす影響を調べるために、No.1~No.6の6試験区で製麴した各麴を2分割して12試験区を作り、各々18%の食塩水360mlに仕込んだ。添加時期Aの試験区は既存諸味約4gを仕込み22日後、添加時期Bの試験区は既存諸味約2gを仕込み9日後と30日後に添加した。分割しないNo.7の試験区は18%の食塩水720mlに仕込み、既存諸味約4gを仕込み14日後と30日後に添加時期Cとして添加した。仕込んだ諸味は室温で発酵、熟成し、熟成期間中に適宜攪拌した。

## 2. 4 分析方法

製麴後の麴の中性(pH6)及び酸性(pH3)のプロテアーゼ活性は、国税庁所定分析法<sup>11)</sup>に準拠して測定した。 $\alpha$ -アミラーゼ活性はキッコーマン(株)製 $\alpha$ -アミラーゼ測定キットを用いて測定した。

諸味中の溶出成分を測定するために、仕込んだ諸味の一部を採取し、遠心分離で得られた上澄液を0.45 $\mu$ mメンブランフィルターでろ過した液を検

表1 供試原材料

	No.1 (コントロール)	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7
タンパク質原料	脱脂大豆200g	酒粕200g	酒粕200g	酒粕200g	酒粕200g	酒粕200g	酒粕200g
でんぷん原料	割砕小麦200g	白糠200g	白糠200g	白糠200g	白糠200g	白糠200g	白糠200g
製麴助剤等	—	もみ殻80g	もみ殻80g	もみ殻80g	もみ殻80g	もみ殻80g	かつおダシガラ 40g
香気成分HEMFの 生成増強用添加剤	—	—	キシロース 4g(1%)	キシロース 8g(2%)	キシロース 2g(0.5%)	アラビノース 4g(1%)	—
水	240ml	240ml	240ml	240ml	240ml	240ml	240ml
原材料中の水分率	水分率38%	水分率33%	水分率33%	水分率33%	水分率33%	水分率33%	水分率35%

液とした。

JAS規格で定められた全窒素含量、食塩分及び無塩可溶性固形分の項目は、衛生試験法注解<sup>12)</sup>により全窒素を、JAS法<sup>13)</sup>により食塩分及び無塩可溶性固形分を測定した。エタノール及び酢酸はガスクロマトグラフィー<sup>4)</sup>、各アミノ酸は液体クロマトグラフィー<sup>1)</sup>により測定した。

HEMFは検液 1 ml を塩化ナトリウムで飽和させた後、林田らのみそ香气抽出液の調製方法<sup>9)</sup> に準拠して酢酸メチルで抽出し、2 ml の香气抽出液を調製した。検量線用各標準液も検液と同様に調製した。その 1  $\mu$ l をカラム DB-FFAP (30m $\times$ 0.25mm, 膜厚 0.25 $\mu$ m) を装着したガスクロマトグラフ質量分析計 (島津 QP5050) を用いて SIM モードで、質量数 142 をターゲットイオン、質量数 127、99 をモニターイオンとして HEMF を測定した。

### 3 結果及び考察

#### 3. 1 製麴後の酵素活性

一般にしょうゆ原料として用いられる大豆と割

砕小麦は、麴菌生成のための適度な形状と粒子の大きさを有する。しかし、乾燥酒粕と白糠は共に粉末のため、製麴時の水分調整のために加えられた水により固化しやすく、通気性や麴菌菌糸の粒子内部への伸張の点から麴菌の良好な生成を阻害する恐れがある。そこで、湿潤酒粕と白糠を乾燥前に混合して固化を防止するとともに、もみ殻及びかつおダシ殻を製麴助剤として用いた。

各試験区の72時間製麴後のプロテアーゼ活性及び $\alpha$ -アミラーゼ活性の測定結果を図1に示す。

しょうゆ醸造の際、タンパク質原料をペプチドさらにアミノ酸へ分解するために必要とされる中性プロテアーゼ活性は、大豆と割砕小麦を原料とするNo.1のコントロール試験区が27,000U/g $\cdot$ 麴であるのに対し、酒粕と白糠を原料とするNo.2~No.7の6試験区は56~130%の15,000~35,000U/g $\cdot$ 麴であった。一方、でんぷん原料を糖化させる $\alpha$ -アミラーゼ活性はNo.1コントロール試験区の1,200U/g $\cdot$ 麴と比較すると、No.2~No.7の6試験区は50~190%の600~2,300U/g $\cdot$ 麴であった。中性

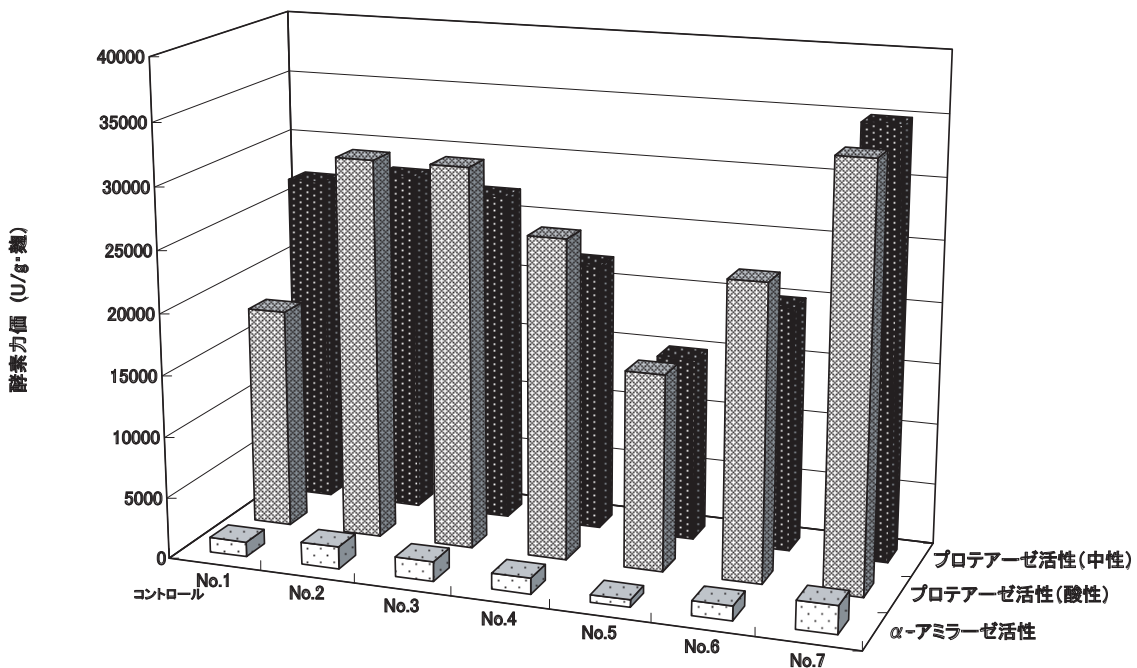


図1 製麴後の酵素活性

プロテアーゼ活性及び $\alpha$ -アミラーゼ活性は両活性ともにNo.5試験区が最低で、No.7試験区が最高であった。

各試験区の酵素活性は、一般にしょうゆの醸造に十分といわれる中性プロテアーゼ活性5,000U/g・麴を超えている<sup>8)</sup>ことから、次の仕込み工程を行った。

### 3. 2 熟成諸味中の溶出成分

製麴した各試験区の麴を食塩水で仕込み、既存諸味を加えて発酵、熟成した。熟成諸味溶出液中の全窒素、エタノール、酢酸及びpHの1ヶ月毎の経時変化を図2に示す。

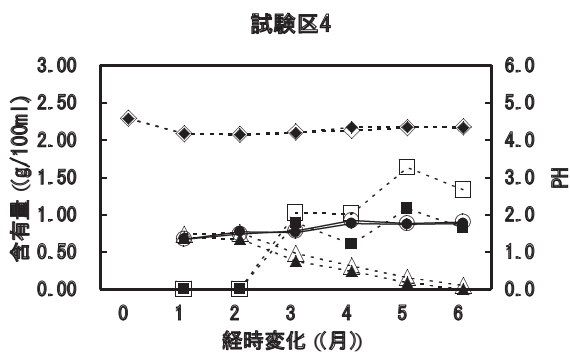
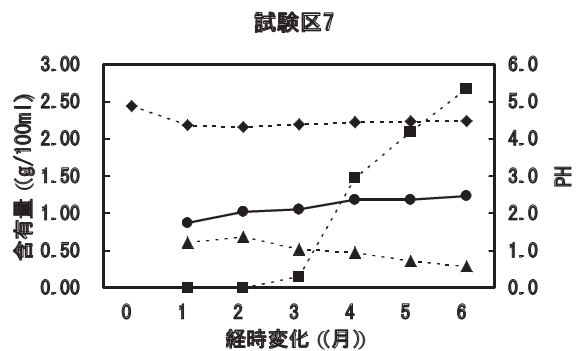
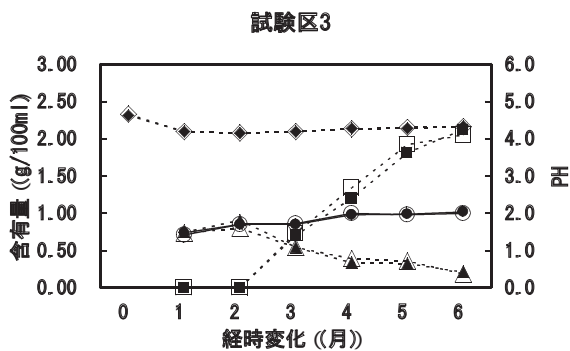
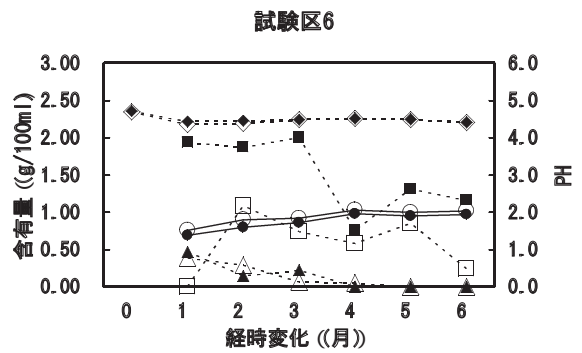
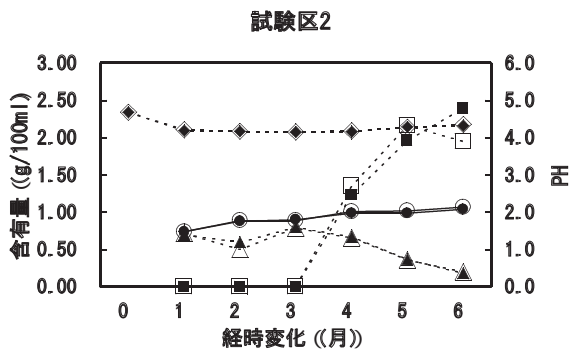
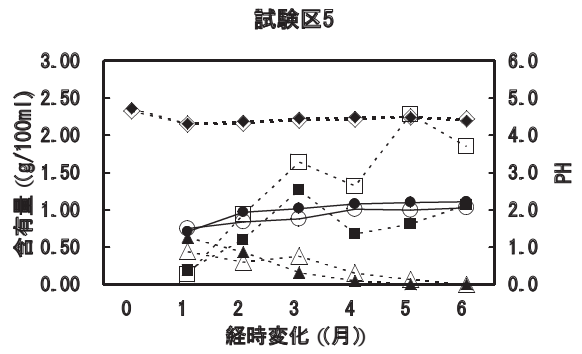
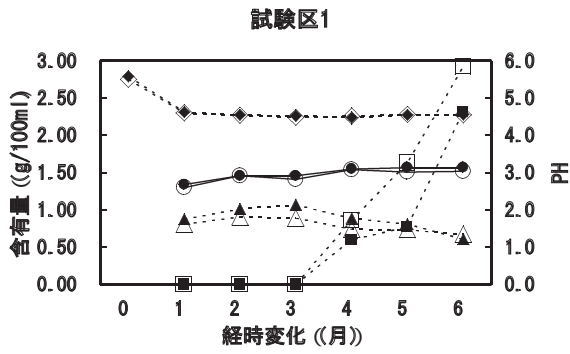
しょうゆの格付けを決める最も重要な指標成分である全窒素は、各試験区とも熟成1ヶ月目までに急増した後、徐々にしか微増しなかった。タンパク質のペプチド、アミノ酸への分解はNo.1の大豆と割砕小麦を原料とするコントロール試験区が1ヶ月目までに85~86%分解していたのに対し、酒粕と白糠を原料とするNo.2~No.7の6試験区は64~76%しか分解しなかった。熟成諸味中のpHが4.6以下になると窒素利用率が低下するという報告<sup>14)</sup>がある。大豆と割砕小麦を原料とする諸味のpHが仕込み直後5.5~5.6から一ヶ月後に4.6に低下したのに対し、酒粕と白糠を原料とするNo.2~No.6の諸味のpHは仕込み直後から4.6~4.7と低く、それから一ヶ月後に4.2~4.4に低下した。No.7の諸味のpHは4.9から4.4に低下した。原料となる粉末乾燥化させた酒粕と白糠混合品の水溶液中のpH自体が4.8と低く、さらに、もみ殻水溶液もpH5.1と低いことから、今後、窒素利用率を高めるために仕込み直後のpHを5.5以上に調整する必要があると考えられる。

6ヶ月間熟成した諸味溶出液（以下、調味料と言う）中の成分定量結果を表2に示す。全窒素含

量はうま味成分の指標であるが、No.7のかつおダシ殻を製麴助剤とする酒粕と白糠の調味料は、No.1の大豆と割砕小麦のしょうゆと同様に、JAS規格<sup>13)</sup>による標準こいくちしょうゆの基準値1.2%以上含まれていた。また、もみ殻を製麴助剤とする酒粕と白糠の調味料はNo.4を除くと、標準うすくちしょうゆの基準値0.95%以上含まれていた。酒粕と白糠の調味料中の全窒素は大豆と割砕小麦のしょうゆと比較すると、全般に6~8割程度で、うま味の点で劣っていた。しかし、市販されているあわ、ひえ、きびを原料とするアレルギー対策用のしょうゆ代替調味料の全窒素分0.16~0.25%<sup>15)</sup>と比較すると、うま味のある調味料と言える。さらに、うま味成分であるグルタミン酸含有量を比較すると、酒粕と白糠の調味料はあわ、ひえ、きびのしょうゆ代替調味料0.039~0.065g/100g<sup>15)</sup>より一桁近く高いが、大豆と割砕小麦のしょうゆの半分以下であった。原料のアミノ酸組成におけるグルタミン酸の占める割合から類推すると、米を原料とする調味料は大豆及び小麦を原料とするしょうゆに比べ、グルタミン酸含有量は少なくなると予想される。グルタミン酸含有量を増加させるには米以外の原料の併用も検討する必要がある。

エタノールはしょうゆの風味を引き立たせるとともに、保存性を高める作用がある。JAS規格<sup>13)</sup>によるアルコール分の基準値は特級こいくちしょうゆと特級うすくちしょうゆにそれぞれ0.8%以上、0.7%以上と設定されている。しかし、通常の市販しょうゆの場合、防かび効果を発揮する2%前後に調整するためのエタノール添加が多く行われている。試験区4~6の調味料は酵母によるアルコール発酵が不十分で、保存性向上のためにエタノールの添加が必要であると考えられる。

HEMFはしょうゆの香りを特徴づける香气成分



試験区 1 ~ 6 の場合

- 全室素 : 既存諸味の添加時期 A
- 同上 : 既存諸味の添加時期 B
- エタノール : 既存諸味の添加時期 A
- 同上 : 既存諸味の添加時期 B
- △-- 酢酸 : 既存諸味の添加時期 A
- ▲-- 同上 : 既存諸味の添加時期 B
- ◇-- PH : 既存諸味の添加時期 A
- ◆-- 同上 : 既存諸味の添加時期 B

試験区 7 の場合 : 既存諸味の添加時期 C

- : 全室素
- : エタノール
- △ : 酢酸
- ◇ : PH

図2 諸味の溶出成分の経月変化

表2 調味料中の成分分析結果表

製麹条件の異なる試験区 既存調味添加時期	No.1		No.2		No.3		No.4		No.5		No.6		No.7
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	C
全窒素 (g/100ml)	1.52	1.57	1.07	1.04	1.00	1.02	0.90	0.88	1.03	1.11	1.02	0.97	1.23
総アミノ酸 (g/100ml)	5.65	5.68	3.74	3.71	3.60	3.55	2.99	2.90	3.33	3.64	3.42	3.26	4.91
グルタミン酸 (g/100ml)	1.11	1.13	0.41	0.40	0.39	0.38	0.38	0.36	0.42	0.45	0.44	0.41	0.53
エタノール (g/100ml)	2.9	2.3	2.0	2.4	2.1	2.1	1.3	0.8	1.9	1.1	0.2	1.2	2.6
食塩分 (g/100ml)	14.4	14.3	16.4	16.0	16.4	16.1	16.3	16.3	16.2	19.2	17.1	16.4	15.8
無塩可溶性固形分 (g/100ml)	24.9	26.5	13.9	14.0	13.6	13.9	13.0	12.7	13.2	13.6	12.3	12.4	15.4
酢酸 (g/100ml)	1.4	1.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.6
PH	4.6	4.6	4.4	4.3	4.3	4.3	4.4	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.5
HEMF (×10 <sup>8</sup> g/100ml)	56	39	16	10	22	11	19	9	27	18	22	16	29

で、含有量が多いほど官能評価も高いと言われている。キシロース及びアラビノースの5炭糖類を添加し、HEMFの強化を図る実験を行ったが、結果は表2に示すとおり生成効果は認められなかった。

#### 4 結論

液化仕込みの酒製造工程から副生される酒粕と白糠を原料とする大豆及び小麦アレルギー症状者用のしょうゆ代替調味料を試作した。市販されているあわ、ひえ、きびを原料とするしょうゆ代替調味料と比較すると、うま味のある調味料ができた。しかし、大豆及び小麦を原料とするしょうゆと比較するとうま味成分及びしょうゆ特有の香りが不足していた。今後、しょうゆと遜色のないアレルギー対策用調味料として商品化するには、引き続き検討する必要がある。

#### 文献

- 1) 早川潔 他：京都府中小企業総合センター技報, 18, 1 (1990)
- 2) 早川潔 他：京都府中小企業総合センター技報, 22, 21 (1994)
- 3) 早川潔 他：京都府中小企業総合センター技報, 27, 14 (1999)

- 4) 早川潔 他：京都府中小企業総合センター技報, 28, 11 (2000)
- 5) 早川潔 他：京都府中小企業総合センター技報, 28, 21 (2000)
- 6) 宮島直人 他：京都府中小企業総合センター技報, 29, 50 (2001)
- 7) 宮島直人 他：京都府中小企業総合センター技報, 30, 63 (2002)
- 8) 文部科学省「地域研究開発促進拠点支援事業」けいはんな発RSP 可能性試験成果報告集 p. 3 (2002)
- 9) 林田安生：日本醸造協会誌, 93, 730 (1998)
- 10) 柳沼淳夫 他：日本醸造協会誌, 97, 608 (2002)
- 11) 日本醸造協会：第四回改正国税庁所定分析法注解、日本醸造協会 (1993)
- 12) 日本薬学会：衛生試験法注解、金原出版 (1995)
- 13) しょうゆの日本農林規格：昭和55年3月7日農林水産省告示第288号 (1980)
- 14) 枥倉辰六郎編著 増補醤油の科学と技術 p.144 日本醸造協会
- 15) 大西茂彦 他：香川県産業技術センター研究報告, 4, 83 (2003)