

平成17年度新商品開発情報収集学術研究事業申請書

スキム発酵調味料の開発

東京農業大学 醸造科学科 講師 東 和 男
宮坂醸造(株) 相談役 宮 坂 正 昭
(株)ユニカフェ R&Dセンター長 中 村 豊 郎

要 約

脱脂粉乳を利用し、栄養価と機能性を高めた乳性の新規発酵調味料、即ち「スキム発酵調味料」は麹菌酵素によって脱脂粉乳を分解させ、仕込後は乳酸菌・酵母により発酵し熟成させる。ストレス緩和・免疫向上・抗疲労・抗骨そしょう・高血圧抑制等により、人類の健康長寿に大きな貢献が期待される。

本年度は醸造の根源である麴の製造に主眼を置いた。脱脂粉乳を麴化し粉乳麴を製造し、原料臭を抑制し、機能性を向上させる粉乳加工処理を可能とし、乳蛋白から分解された各種アミノ酸、或いは各種機能性成分の豊富な「スキム発酵調味料」の開発を行った。

本年度、特に製麴の必須条件である微粉状の脱脂粉乳の固形状化への造粒に力点を置いた。造粒の要点として第一点は原料であり、脱脂粉乳の賦形剤として糖質・澱粉・白糠を使用した。造粒の第二点として造粒原理・装置であり、以下の3装置が在る。1) 成長様式の自足造粒（転動造粒・流動層造粒・噴流層造粒・攪拌造粒）、2) 圧縮様式の強製造粒（解砕造粒、圧縮造粒、押出造粒）、3) 滴下・噴霧し固化させる液滴固化造粒であり、各装置で製造される固形粒を比較検討した。

極めて可溶性の高い脱脂粉乳の造粒に関し、脱脂粉乳：白糠＝95：5、そして50：50 比率で、押出造粒により粉乳の固形粒の製造（特許出願中）を可能とした。

粉乳の固形粒に散水（水分40%）し製麴を可能とした。

粉乳麴と同時に製麴した比較対照の米麴、麦麴、味噌玉麴の酵素力価と比較検討し、基質の成分比率に由来する酵素組成比の差異が推察された。

粉乳の固形粒の製造を可能とした事で、粉乳麴の製麴を実現し、健康な食生活に貢献する「スキム発酵調味料」開発の糸口を見出した。

キーワード

脱脂粉乳、カルシウム、骨密度、骨粗鬆、高血圧抑制、造粒、流動層造粒、押出造粒、麴、粉乳麴、米麴、麦麴、味噌玉麴、麹菌、麹菌体量、酵素力価、発酵調味料、味噌、発酵、醸造、熟成

目 的

発酵調味料の原料の一部に脱脂粉乳を利用し、従来には無い乳性の発酵調味料、即ち栄養価と機能性を高めた乳性の新規発酵調味料の開発が強く望まれる。平成16年、六車等^{1,2)}により脱脂粉乳を利用した「ミルキィみそ」が開発され、宮崎県内の味噌醸造メーカーから市販されているが、更なる開発と消費拡大が望まれる現状である。

日本の調味料は大豆の蛋白質を主原料とする味噌・醤油の穀醬であり、東南アジアの調味料は魚体の蛋白質を自己消化させたナンプラ、ニョクナム等の魚醬であり、畜肉を原料とする肉醬は少ない。

脱脂粉乳の乳蛋白を原料とした調味料は肉醬に相当し、特異な「うまみ」と「こく」で新規調味料としての発展が期待される。

脱脂粉乳を原料とした調味料では、麹菌酵素によって分解・熟成が進行し、乳酸菌・酵母が発酵するので、「スキム発酵調味料」と命名する。「スキム発酵調味料」は和洋折衷の構成であり、各種の加工食品の品質向上に利用可能な他、肉漬・魚漬での組織軟化、或いは半固体ドレッシング形状での製品化による市場拡大等、あらゆる用途開発の可能性を有する。

日本の和食に於いて、「スキム発酵調味料」が併用されれば、植物性から動物性食品に至る幅広の多品目による食事構成で日本人の健康増進に寄与する他、酪農・乳業界では牛乳・脱脂粉乳の消費拡大の福音がもたらされる。

牛乳には蛋白質・乳糖・カルシウム・リン・ビタミンなど、ヒトの成長や健康維持に必須の栄養素が豊富にバランス良く含まれ、他方で脂肪を除去した脱脂粉乳は製菓・製パン・乳飲料などの加工食品原料として広く利用されている。乳の成分の内、特に乳蛋白にはヒトの生命維持に不可欠な必須アミノ酸が全て含まれる。

醸造と発酵の酵素分解と有用微生物の増殖するプロセス工程³⁻⁶⁾は、動物・植物性の食品原料の消化吸収性・機能性などの向上に不可欠であり、食品の効率的なヒトへの摂取を可能とする。

本年度は醸造の根源である麹の製造に主眼を置く。即ち粉乳麹の製麹を行い、原料臭を抑制し、機能性を向上させる粉乳加工処理を可能とし、乳蛋白から溶解される各種アミノ酸、或いは各種機能性成分の豊富な「スキム発酵調味料」を開発する。

今回、特に製麹の必須条件である微粉状の脱脂粉乳の固形状化への造粒に力点を置き試験を行った。

方 法

1. 造 粒

1) 原料

脱脂粉乳の他、糖質原料そして賦形剤として米糠（搗精70%__白糠）、澱粉、乳糖、蔗糖、ブドウ糖等、また其の他、炭酸カルシウム等を使用した。

脱脂粉乳と澱粉質原料は、比率 50:50 ~ 95:5 で段階的に混合した。

2) 造粒装置

3種の造粒原理⁷⁻¹⁶⁾が存在する。1) 成長様式の自足造粒、2) 圧縮様式の強製造粒、3) 滴下・噴霧し固化させる液滴固化造粒である。

2-1) 自足造粒

転動、振動、攪拌等で運動する湿潤粉体を凝集させる、又は流動層中の乾燥粉体に凝集用のバインダーを噴霧し凝集させる。

転動造粒・流動層造粒・噴流層造粒・攪拌造粒を試みた。

2-2) 強製造粒

圧縮様式の造粒で乾燥粉体、又はバインダーを含む湿潤粉体を押出し、ロール間圧縮、打錠など圧縮力により円柱状ペレット（顆粒）、錠、ブリケット等に加工する。

解砕造粒、圧縮造粒、押出造粒を試みた。

2-3) 液滴固化造粒

滴下、又は噴霧により溶融液を冷却気流中に分散させ、此れを固化させる液滴固化造粒を試みた。

3) 乾燥

固形粒を加温下で送風し、乾燥させた。

2. 製 麴

1) 原料

粉乳と澱粉質原料を各種比率で混合した固形粒を製麴原料とした。

尚、粉乳麴の酵素組成を検討する為、粉乳麴と同時に製麴した一般的な米麴・麦麴・味噌玉麴の酵素力価も測定した。

2) 種麴

味噌・醤油・清酒・焼酎用の各種麴菌を用いた。

3) 水分調整（散湯）

固形粒の水分を30~40（%）に段階的に設定した。

4) 製麴条件

麴室にて加温加湿し、足掛け三日麴を調製した。

3. 出麴の菌体量・酵素力価の測定

1) 麴菌体量の測定

麴を6N塩酸中で封管し、100℃で4時間、加水分解した。

塩酸分解液を水酸化ナトリウムにて中和し濾過後、Elson-Morgan の Blix 変法¹⁷⁾で菌体構成成分であるグルコサミンを定量した。

2) 酵素力価の測定

麴の酵素力価として α アミラーゼ、糖化力を酵素測定キット（キッコーマン(株)）で、酸性・中性・アルカリ性プロテアーゼを基準味噌分析法¹⁸⁾ に依り測定した。

2-1) 酵素液の抽出

麴を各種の燐酸緩衝液（pH 3・pH 6・pH 9）中で3時間、振とう抽出し濾過後、其の濾液を酵素抽出液とした。

2-2) 酵素力価の測定

2-2-1) α -amylase（液化型アミラーゼ）

α -amylaseは澱粉を分解してデキストリンを生成し、液化を進行させる。測定キットでは基質に1%澱粉を用い、酵素反応進行によるヨウ素デンプン反応の青紫色の減少を求める。

- ① 基質溶液0.5ml・酵素溶液0.5mlを試験管に加え攪拌し、37℃で15分間、保持した。
- ② 酵素抽出液0.1mlを加え、攪拌混合した。
- ③ 37℃で反応後、反応停止液2mlを加え攪拌し、反応を停止させた。
- ④ 反応終了液を400nmで吸光度（Es値）を測定した。
- ⑤ 対照は上記反応液①を37℃で15分加温後、反応停止液2mlを加え攪拌し、酵素抽出液0.1mlを加え攪拌し、吸光度（Eb値）を測定した。
- ⑥ 酵素力価の算出

$$\alpha\text{-アミラーゼ (Unit/麴g)} = (E_s - E_b) \times 0.179 \times 25 \times 10$$

2-2-2) 糖化力

基質4-ニトロフェニル β -マルシド（G2- β -PNP）はグルコアミラーゼ、及び α -グルコシダーゼによって分解され、4-ニトロフェニル β -グルコシド（G1- β -PNP）を生ずる。（G1- β -PNP）は共有酵素として添加の β -グルコシダーゼで更に分解され、4-ニトロフェノール（PNP）を生ずる。炭酸ナトリウムの添加により、反応を停止させると同時にアルカリ下でPNPの発色（440nm）が上昇される。

- ① 基質溶液0.5ml、酵素溶液0.5mlを試験管に採り、37℃で予備加温した。
- ② 酵素抽出液0.1mlを添加・混合し、酵素反応させた。
- ③ 37℃に正確に10分間、保持後、反応停止液2mlを加え攪拌した。
- ④ 反応終了液の吸光度（Es値）を波長400nmで測定した。
- ⑤ 吸光度測定の対照は蒸留水で、上記反応液①に反応停止液2mlを加え攪拌し、更に酵素抽出液0.1mlを加え攪拌し、吸光度（Eb値）を測定した。
- ⑥ 酵素力価の算出

$$\text{糖化力 (Unit/麴g)} = (E_s - E_b) \times 0.171 \times 2 \times 10$$

2-2-3) Protease

pHは酵素蛋白の立体構造を変化させると同時に、酵素反応にも重大な影響を及ぼす。従って、緩

衝液で酵素の至適pHに調整後、Protease力価を測定する。

2-2-3-1) 試薬の調製

① 緩衝液

M/5リン酸2Na (A液) : $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 71.63gを蒸留水で1Lに定容した。

M/10クエン酸 (B液) : $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 21.0gを蒸留水で1Lに定容した。

M/10ホウ砂 : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 38.2gを蒸留水で1Lに定容した。

N/20塩酸 : 塩酸0.507mlを蒸留水で100mlに定容した。

pH3 McIlvaine緩衝液 : A液4ml、B液16mlを混合した。

pH6 McIlvaine緩衝液 : A液13ml、B液7mlを混合した。

pH9.0 Sorensenホウ砂塩酸緩衝液 : M/10ホウ砂85ml、N/20塩酸15mlを混合した。

② 2%カゼイン溶液 (pH3・pH6・pH9)

10倍稀釈乳酸 : 乳酸10mlを蒸留水で100mlに定容した。

N/10水酸化ナトリウム : NaOH 4gを蒸留水に溶解し1Lに定容した。

③ カゼイン溶液 (pH3・pH6・pH9) の調製

カゼイン2gを10倍稀釈乳酸5ml、蒸留水50mlに溶解し、白濁状となるまで加温溶解し、目的とする3種のMcIlvaine緩衝液 (pH3・pH6・pH9) を個別に20ml宛を添加し、蒸留水で各100mlに定容し、三種のカゼイン溶液 (pH3・pH6・pH9) を調製した。

③ 0.4Mトリクロロ酢酸 (TCA)

CCl_3COOH 65.4gを蒸留水に溶解し1Lに定容した。

④ フェノール試薬

市販フェノール試薬を蒸留水で2倍稀釈した。

⑤ 0.4M炭酸ナトリウム

Na_2CO_3 42.4gを蒸留水に溶解し1Lに定容した。

2-2-3-2) 酵素力価測定

① pH3.0カゼイン溶液1.5ml、pH3.0緩衝液1.0ml、酵素抽出液0.5ml (対照 : 蒸留水0.5ml) を試験管に採り、混合した。

② 恒温槽にて30℃、60分間、反応させた。

③ 0.4Mトリクロロ酢酸 (TCA) 3mlを加え攪拌し、反応を停止させた。

④ 反応液を濾過した。

⑤ 試験管に濾液1ml、0.4M炭酸ナトリウム5ml、フェノール試薬1mlを採り、充分に混合した

⑥ 恒温槽で38℃、30分間、反応させた。

⑦ 対照液で零調整し、試料の吸光度Eを測定 (660nm) した。

2-2-3-3) 酵素力価の算出 (酵素抽出液1ml、酵素反応1時間当りのE値に換算)

酵素力価 = (U/g 麴) = $E \times 60 / \text{反応時間} \times 1 / 0.5 \times 6 / 1 \times 100 / 10 \times \text{稀釈率}$

反応時間 = 60min

1/0.5 = 緩衝液/酵素液

6/1 = 反応液/ろ液

結果及び考察

1. 造粒

1) 原料

造粒の賦形剤として、そして麹菌の澱粉質原料として糖質・澱粉・白糠を用いた。原料の混合比率は粉乳：澱粉質原料が、50：50 で良好であり、95：5 の造粒性はやや低下した。

澱粉質原料として、資源の有効利用の観点から澱粉、糖質以外に、白糠での造粒も可能であった。今後は造粒の副原料として、白糠を利用する。

以降の製麹段階では原料配合として、脱脂粉乳：白糠 = 95：5、そして50：50 比率の固形粒を試験した。

2) 造粒装置

自足造粒として転動造粒・流動層造粒・噴流層造粒・攪拌造粒を、強製造粒として解砕造粒、圧縮造粒、押出造粒を、そして液滴固化造粒を試みたが、各種の手法に一長一短があった。

原料混合後の練れ、造粒形状、熱固化を考慮し、より良好な固形粒を得た噴流層造粒（図1）と押出造粒（図2・3）の固形粒を示す。

図1. 噴流層造粒 [粉乳+糖質]

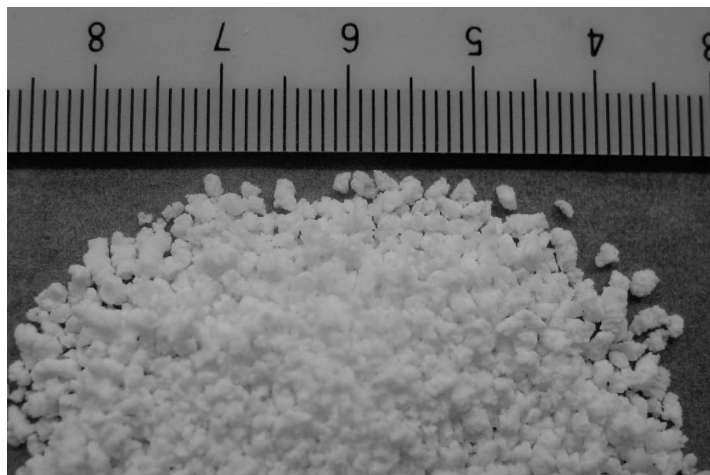


図 2. 押出造粒（整形） [粉乳：澱粉=50：50]



図 3-1. 押出造粒 [粉乳：米糠=95：5]



図 3-2. 押出造粒 [粉乳：米糠=50：50]



2. 製麴

脱脂粉乳：白糠=95：5、そして50：50 比率の固形粒で製麴試験を行った。

水分35%、40%で3日間の製麴試験を行い。水分35%の出麴を図4（上段：対照。下段：粉乳麴。左 [粉乳：白糠=95：5]、右 [50：50]）、水分40%の出麴を図5（上段：対照。下段：粉乳麴。左

[粉乳：白糠=95：5]、右 [50：50]) に示した。

水分40%で破精回りのより良好な粉乳麴を得た。数値的な根拠は、菌体由来のグルコサミン量から示され、今後、検討を要する。

図4： 水分35%で製麴した粉乳麴
(上段：対照。下段：粉乳麴。左 [粉乳：白糠=95：5]、右 [50：50])

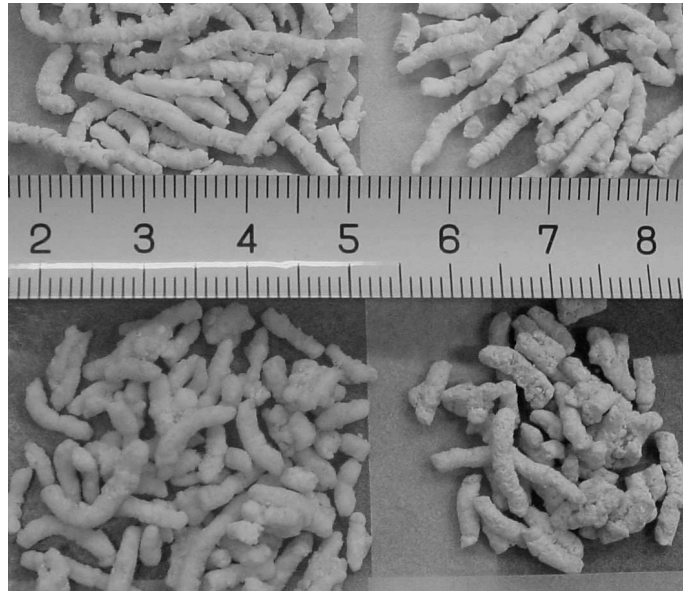


図5： 水分40%で製麴した粉乳麴
(上段：対照。下段：粉乳麴。左 [粉乳：白糠=95：5]、右 [50：50])



3. 麴の酵素力価

今回、粉乳の造粒に多大なる時間を要し、粉乳麴の製麴段階で時間的な制限があった。

今回は粉乳麴と同時に製麴した比較対照の米麴、麦麴、味噌玉麴の酵素力価を表1に示すに留めた。

澱粉質主体の米麴・麦麴は、 α -Amylase・糖化力ともに高いが、蛋白質含量の高い味噌玉麴は

Proteaseが米麴より顕著に高く、澱粉質主体の米麴・麦麴と比較し、Protease (pH9) が極めて高かった。

粉乳麴も乳蛋白含量が高く、粉乳麴は味噌玉麴と同様、澱粉質主体の麴（米麴・麦麴）に比較し、特異な酵素組成を示す事が推察された。又、粉乳固形粒の粉乳と米糠の比率の差異が、酵素組成に及ぼす影響に関しても、興味深い。

粉乳の固形粒の製造を可能とし、粉乳麴の製麴を実現し、従来の酵素組成と異なる可能性を秘める粉乳麴を駆使する事で、健康な食生活に貢献する「スキム発酵調味料」開発の糸口を見出した。

表 1. 各種麴の酵素力価 (Unit/麴 g)

	米麴	麦麴	味噌玉麴
α -Amylase	44.4	63.0	36.2
糖化力	2.6	3.4	0.8
Protease(pH3)	439.0	962.0	926.0
Protease(pH6)	326.0	780.0	749.0
Protease(pH9)	144.0	218.0	682.0

参考文献

- 1) 六車三治男：脱脂粉乳の新しい用途開発に成功－脱脂粉乳を利用したニュータイプの機能性みその開発－；畜産コンサルタント、No.476 (8)：57-63 (2004)
- 2) 六車三治男、森栄裕、河原聡、丸山真杉、工藤真豪、久寿米木一裕、大谷啓一、脇能広、菱沼毅、中村豊郎：スキムミルクを利用したニュータイプの機能性みその動物試験について：第104回日本畜産学会大会講演要旨集 (2005)
- 3) 東和男 編著：発酵と醸造Ⅰ 味噌・醤油の生産ラインと分析の手引き、(株)光琳 (2002)
- 4) 東和男 編著：発酵と醸造Ⅱ 酒類の生産ラインと分析の手引き、(株)光琳 (2003)
- 5) 東和男 編著：発酵と醸造Ⅲ 発酵食品・調味料の製造技術と生産ライン、(株)光琳 (2004)
- 6) 東和男 編著：発酵と醸造Ⅳ 食用作物の醸造適性 (醸造は微生物と農業の結束帯)、(株)光琳 (2006)
- 7) 粉体工学会編：粉体工学用語辞典、日刊工業新聞社 (1981)
- 8) 粉体工学会編：粉体工学便覧 (第2版)、日刊工業新聞社 (1998)
- 9) 粉体工学会編：粒子径計測技術、日刊工業新聞社 (1994)
- 10) 粉体機器・装置ハンドブック編集委員会編：粉体機器・装置ハンドブック、日刊工業新聞社 (1995)
- 11) 神保元二編：粉体 (その機能と応用)、(財)日本規格協会 (1991)
- 12) 神保元二ほか：微粒子ハンドブック、朝倉書店 (1991)

- 13) 神保元二：粉体の科学、講談社（1987）
- 14) （社）日本粉体工業技術協会編：不思議な粉の世界（粉を科学する）、日刊工業新聞社（1996）
- 15) （社）日本粉体工業技術協会編：粉体工学概論、粉体工学情報センター（1995）
- 16) （社）日本粉体工業技術協会編：粉じん爆発、オーム社（1991）
- 17) Blix G. : Acta Chem. Scand., 2, 467（1948）
- 18) 全国味噌技術会編：基準味噌分析法（1995）