

発酵食品の開発に関する研究

—麹菌を用いた発酵食品の開発—

東 原 史 華

Study on development of fermented foods

—Development of fermented foods using by *Aspergillus oryzae*—

Fumika Tsukahara

This study, was attention to the point where different fermented foods of Amazake and Bonito can be produced from the same Koji fungi. Koji fungi belong to *Aspergillus oryzae*.

The first half was examined Amazake milk as the use of Amazake as a health drink. First, Amazake and milk and water compounding ratios and the selection of inorganic salts based on the taste test of about 8 subjects. The results were Amazake (20%), milk (30%), and the addition of calcium chloride (0.05 g) in the mixture of water (50%) was the best.

The second half was considered to produce fermented food for meat using *Aspergillus oryzae* isolated from Bonito. The growth of the bacterium was promoted as a result of the inoculation of Bonito *Aspergillus oryzae* on the raw meat of the pig. Then, it was possible to become aged meat as a result of inoculation of bonito *Aspergillus oryzae* on the meat sterilized by autoclave. In addition, in this experiment, cultivation was carried out in a non-electrified state, charged and earth. The result was that the meat cultured in the energized state is the best.

Also, I was cultured using Miso and soy-sauce derived *Aspergillus oryzae*. As a result, the meat did not ferment.

This experiment pursued a different taste of sweetness and umami from the same *Aspergillus oryzae*, but each fungal strains have different emzyme.

緒 言

世界には空気、水、土壌や生物の体表面及び体内など至る所にカビや細菌などの微生物が存在している。この微生物は人間に対して感染症といった病気を引き起こすなど悪い点もある一方、人間の健康を保つ手助けをするなどの良い点もある。例えば、人間の腸管内には約数兆個の腸内細菌が存在する。これらの腸内細菌は人間の消化酵素では栄養態までに加水分解できなかった食物繊維を消化して、栄養態として吸収したり、外部から侵入した他の細菌と競合して腸内細菌叢（腸内マイクロバイオータ）を守り、健康を保つ機能を持つ¹⁾。腸内細菌叢のバラ

ンスが崩れると体にとって様々な不具合が発生する。

最近の研究で多くの病気がヒトの腸内細菌の乱れによるものだということが判明した。例えば、遅発性自閉症の原因に細菌が関与しているという研究結果が報告された。自閉症の患者の腸内には健常者と比べ、クロストリジウム属の菌(破傷風菌)が約10倍多く存在していた。この細菌が腸内に増殖した原因は、2歳以前に抗生物質を使用したため、未成熟だった腸内細菌に大きなダメージを与え、クロストリジウム属の細菌が増殖したと考えられた²⁾。すなわち腸内細菌の乱れは下痢などの消化器官の不調だけではなく全身の不調につながる。腸内細菌叢は微妙なバランスで成り立っているため、細菌の殺菌や滅菌が健康につながるとは限らない。このように人間と微生物は切っても切れない関係にあり、人間は歴史の中で微生物を研究し、様々な形で利用してきた。その利用方法の一つが発酵食品である。

人間の肉眼では見えない微生物が持つ能力を利用し、人間がそのままでは利用できない物質を有用に利用できる物質に変換することを発酵と言いい、発酵を利用した加工食品が発酵食品である。日本の味噌醤油、韓国のキムチやヨーロッパのチーズなど、世界にはそれぞれの気候、風土に適した発酵食品が数多く存在する。微生物、カビや細菌によって作られる発酵食品の利点は、保存性が高く嗜好性や栄養価が良いことである。更に、たんぱく質などの栄養素が分解されているため消化性が良く、からだに負担をかけずに吸収される。また微生物がヒトの生育に必要なビタミン、補酵素などを産生しているため栄養価が通常の商品より良い³⁾。それに加えて、発酵食品中の微生物が腸内環境を整え免疫力を向上させたり、老廃物の排出を促したり、などの生態調整機能も知られている⁴⁾。すなわち発酵食品は人の美容と健康に対して良い働きを持つ加工食品である。今回は日本において甘酒や鰹節などの製造に使用される麹カビを用いて二つの実験を行った。この実験は同じ麹カビから甘みと旨味、別々の味覚を追求した。

前半は健康飲料としての甘酒の活用として甘酒ミルクを検討した。甘酒はビタミンB群やアミノ酸などが豊富に含まれ、飲む点滴という異名を持つ日本特有の甘味飲料である⁵⁾。甘酒は様々な機能を有し、美容に良い効果だけではなく、近年の研究でアレルギーの発症予防、整腸作用、肥満・血圧上昇・健忘症の予防・改善の機能などの生活習慣病の予防機能を有する報告があった^{6) 7)}。この様に甘酒は種々の健康に良い機能を有するが、甘酒には独特の風味がありそれが苦手という人もいる。更に、現在は生活習慣病の中でも2型糖尿病が問題となっている。そのため、甘酒はその原因となるブドウ糖が主体であることを考慮しなければならない。そこで甘酒が飲めない人も飲みやすくなるように、免疫系の調整や不眠の解消といった様々な三次機能を持つ牛乳⁸⁾を混合した甘酒ミルクを検討した。この研究では特に夏の暑い時期、栄養補給ができるバランスの良い栄養飲料として位置付けることをねらった。

後半は日本で多くの発酵食品に使用されている麹を使用し、食肉の発酵食品の検討をした。使用する麹は肉に接種することを考慮し、酒作りに使用するアマラーゼ活性が強いものは使用

しなかった。プロテアーゼ活性やタンパク質を分解する酵素の力が強いと考えられる鰹節用の麴を中心に使用した。鰹節から単離した鰹節カビを食肉に接種して冷蔵庫及び氷感庫で培養し、熟成肉の作成の検討をした。

実験方法

①栄養補給飲料甘酒ミルクの検討

試料の作成は定量の甘酒、牛乳、水を、電動攪拌機で約30～40秒攪拌した。

分析方法は、各センサーの部分にキムワイプを敷きそこに混合試料液を乗せ、数値を測った。Brixsの測定は濁りを除くため薄いろ紙でろ過した試料を直接センサーに乗せて測定した。

官能検査は紙コップに試料を約20ml入れ、郡山女子大学の学生及び教諭7～10人に試飲してもらい、無言で紙に結果を書いてもらった。番号を振った数種類のサンプルを用意し、それぞれの項目に最も当たっていたサンプルを選んでもらい、そのほかに気になることがあった場合、コメントしてもらうという方法で行った。評価は、ポジティブな項目および総合評価で多くの人が選んだサンプルを高評価と判定した。

②鰹節カビを利用した熟成肉作成の検討

最初に肉に接種するカビを鰹節から単離した。鰹節から採取された黄色、茶色、緑色の3種類の麴カビ(アスペルギルス類)を単離・培養し、これらのカビを押し麦と大豆に接種培養した。これを乾燥させ、カビ胞子を大量に作成したものを実験に使用した。

このカビを生肉や加熱肉に接種し、冷蔵庫、氷感庫帯電状態、氷感庫通電状態で培養し、五感による経過の観察、標準寒天培地(ニッスイ)を用いて細菌検査、ハンディにおいモニター(OMX-LR)によるおい検査などを行った。

結果・考察

①栄養補給飲料甘酒ミルクの検討

甘酒と牛乳と水の混合比率に関する官能検査では甘酒20%、牛乳30%、水50%の試料が官能検査で高評価であった。この試料の成分分析結果は、Brix 13.8%、pH6.3、Na⁺150 mg/kg、K⁺570 mg/kg、Ca²⁺110 mg/kg、NaCl 0.02 g/mlだった。次に添加する無機塩類の種類を検討した。NaClを添加した試料とCaCl₂を添加した試料を官能検査で比較した。その結果CaCl₂添加の試料はNaCl添加の試料よりも後味がさわやかになった。CaCl₂添加試料の成分分析の結果はBrix 13.1%、pH6.3、Na⁺210 mg/kg、K⁺750 mg/kg、Ca²⁺350 mg/kg、NaClとして0.02 mg/

100mlであった。

作成した試料液を比較すると高評価の試料液のナトリウム／カリウム比は0.26～0.28と、牛乳の値に近いことがわかった。また、完成形試料のカルシウム／ナトリウム比及びカルシウム／カリウム比は高評価試料の約2倍となり、牛乳の比に近づいた。このことから、おいしいと感じる試料はカルシウムの影響があることか考えられた。カルシウムは人体にとって必要不可欠で、筋収縮やホルモン分泌、神経伝達物質の放出などに関わる⁹⁾。生物の心筋細胞が活動するためにはカルシウムは重要な役割をもつ。心臓は電気信号(活動電位)と筋細胞内のカルシウムイオンによって活動する。心臓から発した活動電位が心臓全体に伝わると、心筋細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇し、心筋細胞が収縮する。これが心臓全体の心筋細胞で順次に起こり、心臓が拍動し、血液が体全体に送り出される。自律神経の働きにより心臓からの電気信号とカルシウムイオン濃度が調節され、必要に応じて心臓の拍動の頻度と強さは変化する¹⁰⁾。すなわちカルシウムが不足するという事は生存の危機に直結するため、生物には骨というカルシウムの貯蔵庫を人体に有し、体液のカルシウム濃度を調節している。カルシウムは人体にとって必要不可欠であるため、エネルギー源となる糖やアミノ酸を摂取したときと同様においしいと感じる可能性が考えられる。ゆえに、塩分や糖度の変化ではなくカルシウムで味を調整することができれば、健康飲料の新しい可能性になると考えた。

また、試料液のBrixsを比較すると高評価の試料液のBrixsはすべて13%以内で牛乳から大きく逸脱していない範囲にあった。すなわちBrixsとカルシウムとの比という二つの条件を満たした試料液がおいしいという評価を得たのだと考えた。甘酒ミルクもBrixsが近い牛乳も強力な甘味はなかった。これは、牛乳の主な甘味は乳糖で、甘酒の甘味はブドウ糖であることが理由として考えられた。糖の種類別による甘味度はショ糖を1とすると、乳糖は0.39、ブドウ糖は0.69と比較的低い値である。牛乳以外の飲料の主な甘味は砂糖と果糖ブドウ糖液糖であるため、Brixsが低値でも強い甘みを感じることができると考えた。それに対して甘酒ミルクの甘味の主成分はブドウ糖と乳糖であるから、Brixsが高値でありながら、強い甘味はせず、しつこくない味になったのだと考えた。

②鰹節カビを利用した熟成肉作成の検討

最初に生肉に3種類の鰹節カビをそれぞれ接種し7℃の冷蔵庫、氷感庫帯電状態、氷感庫通電状態で培養した。その結果、何もつけていない生肉よりもカビをつけた肉のほうが細菌が増殖した。3種類のカビでは鰹節緑カビ(Gカビ)をつけた肉が最も細菌増殖が少なかった。細菌とカビが同じ場所にあるとお互いの増殖を阻害するため、カビを接種した豚肉は細菌の増殖が弱くなると予測していたが、結果はカビを接種した豚肉の方が細菌の増殖が促進していた。この実験条件では、カビの増殖のために温度を7℃(冷蔵)と、やや高めに設定していた。この

ため、カビの増殖だけではなく、細菌の増殖も活発になってしまった可能性があると考えた。また、カビを付けた肉のほうが細菌が多く増殖したことについては、カビが肉の脂肪やたんぱく質を分解して、細菌の餌になる物質に作り替えたため、細菌が多く増殖したのではないかと考えた。

次の実験は、鯉節のカビには抗細菌作用が示されなかったことから、最初に豚肉を加熱処理し、鯉節カビを接種して2℃条件下で培養した。肉に接種する鯉節カビは3種類単離したが、ある鯉節製造会社では最後に緑灰色のカビが発生すること¹¹⁾、生肉に接種した時、細菌の増殖が少なかったカビであったことから、Gカビを選択した。結果は全ての条件下でカビを付けた肉は無接種の肉と比べて褐変が進み、香ばしい独特の匂いも発生した。20日以上培養しても腐敗臭が発生せず、細菌検査の結果も菌数0であった。特に氷感庫通電状態のカビ付き肉は一番褐変が進んでいた。カビをつけていない肉もカビを接種した肉も褐変は氷感庫通電状態で培養したものが一番褐変が進んだ。このことから、熟成肉の作成には氷感庫通電状態が適しているのではないかと考えた。この実験では豚肉の表面上のカビの増殖が見られなかった。

2℃で培養したときカビの増殖が少なかったため、生肉を121℃ 15分の高圧蒸気滅菌し、無菌状態で放冷後Gカビを摂取して25℃で無電状態、帯電状態、通電状態で7日間培養した。結果、すべての条件でGカビが肉の表面全体を覆うほど増殖した。匂いは肉の腐敗臭とは異なる香ばしい独特の匂いが発生した。また、この肉を切断したところ、いずれも切り口の色がやや赤みがかっていた。また切断面は、脂身の部分が赤身の部分と同化し、区別がつかなくなっていた。この肉片を80℃で30分加熱して食してみたところ、塩味のないジャーキーのような味がし、苦みやえぐ味など危険を思わせる味はしなかった。このことから、塩を添加し、同じ方法で培養すれば、ハムのような熟成肉を作成することができるのではないかと考えた。また、今回使用した鯉節カビを同じ麴カビを使用しても同じような肉ができるのではないかと考えた。

鯉節のカビが食品の熟成を促すことから、鯉節カビを鯉の切り身に接種し、25℃で培養し鯉節の作成の検討を行った。その結果、開始から1～4週間の培養初期は独特の香りが発生したが、徐々に匂いが薄くなり、培養7週間前後の長期間培養後はかなり匂いが薄くなった。また、この鯉を切ったところ中身は香ばしい匂いになっており、切り身の色は黄色と茶色が混ざった鯉節様の色であった。鯉の中身の香りは、通電状態で培養したものが、最も良い香りがした。皮をつけたままの鯉と皮を剥いだ2種類の切り身で実験したが、皮をつけたままの切り身のほうが良い香りがし、ナイフで切断しやすかった。鯉節カビを鯉に接種した鯉節作成の検討では、今までの実験同様に通電状態で培養した検体が最も良い変化が起こったことから、通電状態で食品を培養すると熟成が進むと考えた。また、皮つきの鯉のほうが皮を剥いだ鯉のほうがより、良い変化が起こった。これはカビの浸透の違いのためと考えた。加熱した鯉は崩れやすく、特に皮を剥いだ鯉は身に亀裂が入ってしまった。しかし皮がついたままの鯉は比較的形を保ち、

亀裂も少なかった。鰹節カビを接種した鯉の中身は良い匂いと色をしていたが、カビがついた部分は良い匂いとは言えない香りだった。皮を剥いだ鯉は亀裂からカビが内部に浸透したため、皮ありの鯉よりも良い匂いと色が少なくなったと考えた。鰹節カビは内部に浸透しやすい食品、鯉のように火を通すと崩れやすく、亀裂が入りやすい食品に使用することは難しいと考えた。しかし、崩れにくい食品、カツオ以外の堅い身の魚や豚肉以外の肉に使用すれば新しいタイプの発酵食品ができるのではないかと考えた。

最後の実験は鰹節カビ以外の麹カビを高圧滅菌した肉に接種し25℃通電状態で培養した。麹菌は秋田今野商店から購入した醤油用優印、醤油用誉印、醤油用2号菌、豆味噌用、白麹雪こまち、月光、山吹3号の7種類を使用した。麹菌はいずれも味噌や醤油を製造する際に使用されるものを使用した。その結果、7日～14日かけてほぼ全ての肉の表面で麹カビが生育した。匂いは、初期は腐敗臭とは異なるが鰹節カビの時とも異なる匂いで、良い匂いとは言えない独特の匂いがした。しかし、時間経過で徐々に匂いが弱くなった。カビの生育も肉の匂いの変化も鰹節カビを接種した時より良くなかった。これは、麹と食品の組み合わせが良くなかったと考えた。本来鰹節カビは鰹、すなわち動物性食品に接種する。この麹の酵素は動物性食品に適すると考えられる。一方味噌や醤油用の食品は豆や米などの植物性食品に接種される。すなわち、味噌や醤油用の麹の酵素は植物性食品に適する。味噌や醤油用の麹は豚肉のような動物性食品に適さないため鰹節カビを接種した時より、カビの生育が遅く、良くない匂いが発生したと考えた。

要 約

この研究は、同じ麹から甘酒と鰹節という異なる発酵食品が生産できる点に注目した。

前半は健康飲料としての甘酒の活用として甘酒ミルクの検討を行った。最初に被験者の味覚試験を基準に甘酒と牛乳と水の配合比、無機塩類の選択、含有率を検討した。結果は甘酒(20%)、牛乳(30%)、水(50%)の混合に塩化カルシウム(0.05g)を添加したものが、最も良かった。甘酒ミルクの検討はカルシウムによって味が調整された。塩分や糖度の変化ではなくカルシウムで味を調整することができれば、高血圧や糖尿病など制限がある人にも使用できる健康飲料の新しい可能性になると考えた。

後半は鰹節由来の麹カビを使用した食肉の発酵食品の作成し検討した。鰹節から主な *Aspergillus oryzae* 3菌株を単離して接種菌とした。豚の生肉に鰹節由来の *Aspergillus oryzae* を接種した結果、細菌の増殖が促進した。そこで、高圧滅菌した肉に同菌株を接種した結果、熟成肉になる可能性が出た。また、この実験は無電状態と帯電状態と通電状態で培養を行った。結果は、通電状態で培養した肉が最も良くなった。

次に、鯉の切り身に鯉節由来の*Aspergillus oryzae*を接種し培養した。結果、通電状態で培養した加熱した身の形が崩れにくかった皮付きの鯉が一番良くなった。

最後に味噌や醤油由来の*Aspergillus*を用いて培養した。結果、肉は発酵しなかった。

麹による熟成肉の検討は、鯉節カビのように動物性の食品に使用される*Aspergillus*を使用すれば、可能性が考えられた。鯉節カビは、白身魚のような加熱すると崩れやすくなる魚に使用することは難しいが、鯉のように身が固い魚や、肉などにも利用ができるのではないかと考えた。

この実験は同じ麹から甘味と旨味の別々の味を追求した。

謝 辞

本研究を行うにあたり終始御指導を頂きました本学家政学部、諸岡信久教授に深く感謝致します。また、本研究に御助言頂きました影山志保先生と御意見頂きました郡山女子大学の学生の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 坂本卓「発酵食品の科学」p40-42 日刊工業新聞社出版(2012)
- 2) アランナ・コリン著 矢野真知子訳「あなたの体は9割が細菌 微生物の生態系が崩れ始めた」p74, 230-232, 237-239, 107-115 株式会社河出書房新社出版(2016)
- 3) 協和発酵工業(株)編「トコトンやさしい発酵の本」p54-55 日刊工業新聞社出版(2008)
- 4) 小泉武夫, 金内誠, 館野真知子監修「すべてがわかる!『発酵食品』辞典」p16-23 株式会社世界文化社出版(2013)
- 5) ウィキペディア「甘酒」<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E7%94%98%E9%85%92>
- 6) 日本薬科大学 http://www.nihonyakka.jp/images/material/10/files/amazake_References.pdf
- 7) 大浦新, 鈴木佐知子, 秦洋二, 川戸章嗣, 阿部康久「マウス試験による甘酒の機能性評価」: J.Brew. Japan. 102, 10, 781-788 (2007)
<http://www.morinaga.co.jp/public/newsrelease/web/fix/file58324fa1e4c07.pdf>
- 8) 一般社団法人Jミルク 牛乳に備わる三次機能の効果
<https://www.jmilk.jp/tool/kiso/berohe0000000hft-att/8d863s000003hg74.pdf>
- 9) 木村修一, 小林修平翻譯監修「専門領域の最新情報最新栄養学」p283-284 建帛社出版(2002)
- 10) 東邦大学メディアネットセンター 心筋—心臓は電気とカルシウムで動いている— <http://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/shinkin/ion/ion-2-1.html>
- 11) 中平商店 <http://nakahei.jp/katsuo-bushi/fungus>

