

米麴により栄養・機能性を高めた新しい発酵食品の開発

－魚介・畜肉米麴発酵物の特徴および製造方法－

辻篤史* 山崎裕也*

近年、伝統発酵食品に使用される米麴を応用した新しい製品の開発が盛んに行われている。本研究では、石川県らしい新たな製品の開発を目指し、魚介・畜肉を米麴で発酵させた際の栄養・風味・機能性成分変化について分析評価を行い、基礎データの蓄積を行った。その結果、遊離アミノ酸が相乗的に増加し、強い旨味とこくを有する発酵物となることを明らかにした。また、ブリ米麴発酵物について詳細に検討した結果、遊離アミノ酸の増加に比例してACE阻害活性が増加した。さらに、腐敗・食中毒モデル微生物の接種試験を行い、無塩かつ短時間でブリ米麴発酵物を製造する手法を考案するとともに、類似製品(魚醤)との特徴成分の比較を行った。

キーワード: 発酵食品, 米麴, 魚介, 畜肉, ACE阻害

The Development of Nutritious, Highly Functional, New Fermented Foods Made with Malted Rice

- The Characteristics and the Manufacturing Process of Fermented Foods Containing Seafood and Livestock Products -

Atsushi TSUJI and Yuya YAMAZAKI

Recently, many new fermented foods made with malted rice, an important ingredient in traditional Japanese fermented foods, have been developed. For our research, to create a new fermented food of Ishikawa Prefecture, we fermented some seafood and livestock products with several types of malted rice and analyzed the components related to nutritional value, flavor and functionality. Our results showed that fermentation with malted rice caused a remarkable increase in free amino acids, and the fermented product had *umami* and richness in taste. In addition, we confirmed that the ACE inhibitory activity of the fermented yellowtail positively correlated with an amount of free amino acids. Then, we suggested a manufacturing process for fermented yellowtail with malted rice based on the results of inoculation tests carried out using food-poisoning or food-spoiling model microorganisms, and compared the characteristic components of the fermented product with a similar product (fish sauce).

Keywords : fermented foods, malted rice, seafood, livestock products, ACE inhibitory

1. 緒 言

石川県には、その風土において培われてきた味噌、日本酒、かぶら寿し・大根寿し、魚介の糠漬けなど、米麴を使用する伝統発酵食品が数多く存在している。また近年、塩糍や甘酒に代表される米麴の酵素活性に改めて着目した古くて新しい発酵食品の開発が全国各地で行われている。米麴には、デンプンを分解するアミラーゼ群、タンパク質を分解するプロテアーゼ群を含む非常に多種類の酵素が多量に含まれている¹⁾。これまで、日本酒、醤油、味噌等の穀類・大豆発酵食品における米麴や麴菌の役割については、詳細に研究が

行われてきた。しかし、他の食材に米麴を作用させた際の知見は非常に少ない。

そこで本研究では、石川県らしい新しい発酵食品の創造を目指し、魚介・畜肉(タンパク質食材)を米麴で発酵させ、栄養・風味・機能性成分について分析を行い、発酵による特徴的な成分変化を検討した。さらに、ブリの米麴発酵物については、機能性や製法に関して、詳細な検討を行った。

2. 実験方法

2. 1 米麴による発酵試験

発酵食材として、市販のブリ、アマエビ、ブタばら肉を使用した。米麴は、清酒用(徳島製麴(株)・1-

*化学食品部

70A), 味噌用(徳島製麴(株)・T-90), 焼酎用(徳島製麴(株)・MKS)の乾燥麴を適宜使用した。発酵食材の生可食部をミキサーにてペースト化した後, ペースト/米麴/滅菌蒸留水を1/1/2重量比で混合し, 10-60℃に設定した恒温水槽にて保持した。対照試験区として, ペーストまたは米麴を同重量の滅菌蒸留水に置換した混合物を同条件にて保持した。また, ブリ米麴発酵物の比較品として, 市販魚醤(石川県産イカイしり)を使用した。

2. 2 分析評価

遊離アミノ酸・低分子糖分析の前処理として, 各サンプル3gを蒸留水に懸濁し, 超音波による抽出と遠心分離して上清を回収する操作を繰返した後, 50mLに定容した。これをメンブランフィルター(0.45μm)にて濾過したものを適宜希釈し, 分析用サンプルとした。

遊離アミノ酸の測定は, アミノ酸分析計((株)日立製作所・L-8900)により測定した。遊離アミノ酸総量は, 生体を構成する主要な20種アミノ酸の合計量として算出した。低分子糖の分析は, LCワークステーション((株)島津製作所・CLASS-VP)にて下記条件で行った。

カラム: Asahipak NH2P-50 4E (昭和電工(株))

溶出液: アセトニトリル/水= 75/ 25

流速: 1 mL/min カラム温度: 30℃

検出器: 蒸発光散乱検出器 (ELSD)

揮発成分の分析は, GC/MS (アジレント・テクノロジー(株)・Agilent 7890A/5975C), 前処理装置 (ゲステル(株)・MPS2)を使用して行った。カラムはDB-WAX (アジレント・テクノロジー(株)・0.25 mmI.D.×60m, df=0.25μm)を使用し, GCの昇温プログラムは, 40℃ (10 min hold)→230℃ (12 min hold), rate 5℃/minで行った。前処理は, DVB/CAR/PDMSファイバー(アジレント・テクノロジー(株))による固相抽出法にて行った。

ACE (アンジオテンシン変換酵素)阻害活性は, ACE kit-WST ((株)同仁化学研究所)を用いて測定し, 各サンプルの遠心上清について, IC₅₀ (ACE阻害率が50%となる濃度)を求めた。

2. 3 食中毒・腐敗モデル微生物接種試験

食中毒・腐敗モデル微生物として, 大腸菌 (*Escherichia coli*, NBRC3806), ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*, NBRC12993), *Bacillus*属細菌(芽胞)(栄研化学(株)), 枯草菌芽胞液 (精度管理用)

を使用した。大腸菌とブドウ球菌は, LB培地にて前培養を行った。2.1と同じ混合比のブリ/米麴(味噌用)/滅菌蒸留水混合物に, 各微生物を10⁵ cells/gとなるよう接種し, よく混合後に10-60℃の恒温水槽中で保持した。各時間において採取したサンプルは, 食品衛生検査指針²⁾に従い, 生菌数の測定を行った。

3. 結果と考察

3. 1 魚介・畜肉の米麴発酵による変化

米麴は, 多種類のプロテアーゼを多量に含み, 味噌において大豆タンパクの分解による旨味・こく増強に利用されているが, 魚肉や畜肉への応用は一部でしか進んでいない。そこで, 石川県で捕獲・生産されるタンパク質食材として, ブリ, アマエビ, ブタを各種米麴と混合して50℃で6時間保持し, 発酵による栄養・風味成分の変化を検討した。ブリを味噌用米麴で発酵した際の遊離アミノ酸量変化を図1に示す。ブリと米麴を混合して保持すると, 旨味を呈するグルタミン酸とアスパラギン酸を含む遊離アミノ酸総量の顕著な増加が認められた。ブリまたは米麴単体でも, 自己消化によると推察される遊離アミノ酸の増加が認められたが, 6時間後の遊離アミノ酸量は, 混合物では各単体

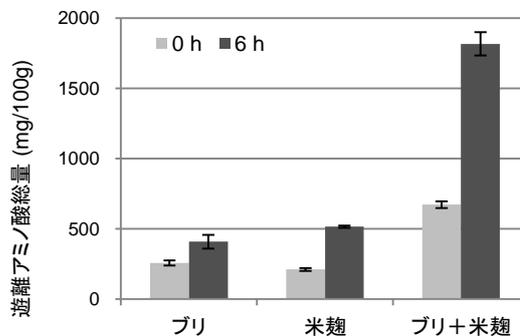


図1 ブリ米麴発酵時(50℃)の遊離アミノ酸量変化

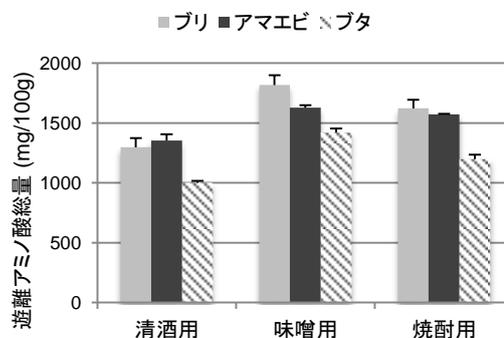


図2 各種米麴発酵時(50℃, 6h)の遊離アミノ酸量

の合計量の2倍以上であった。このことから、ブリ米麴混合物では、米麴とブリの相互作用により遊離アミノ酸生成が促進されたと考えられる。アマエビとブタでも同様に、米麴混合物の方が単独よりも遊離アミノ酸生成が促進される傾向を確認した。

次に、米麴の種類が発酵による成分変化に与える影響を検討した(図2)。その結果、ブリ、アマエビ、ブタのいずれにおいても、味噌用米麴の使用時に発酵後の遊離アミノ酸量が最大となった。これは、味噌用米麴は、タンパク質分解活性が高くなるように設計されていることが理由と考えられる。

また、これら食材の米麴混合物はいずれも、発酵中に米麴の自己消化に起因すると考えられるブドウ糖濃度の急上昇が生じ、発酵後のブドウ糖濃度は10 wt%以上となった。各々の食材は、原料のタンパク質組成が異なるため、発酵により生じる遊離アミノ酸の組成は異なっていたが、いずれも官能的に強い旨味とこく、甘味を有する点では共通していた。

3. 2 ブリ米麴発酵物のACE阻害活性

魚介の加水分解物や魚醤は、血圧降下作用の指標であるACE阻害活性が高いことが報告され、さらに単離されたペプチドの摂取による高血圧自然発症性ラットの降圧効果が確認されている³⁾⁻⁵⁾。そこで、ブリ米麴発酵物のACE阻害活性について評価を行った。

ブリ単体、味噌用米麴単体、混合物を50℃で保持した時のACE阻害活性の変化を図3に示す。ブリまたは米麴単体においてもIC₅₀は1日後に減少したが、混合物においては混合直後で既に各単体よりIC₅₀値が低く、1日後にはさらに約1/10量となり、この時点で活性はほぼ飽和に達した。尚、ブリ米麴混合物の発酵1日目のACE阻害活性は、いしり(魚醤)と同レベルであった。

様々な発酵条件(米麴の種類、温度)でブリ米麴発酵物を調製した際の遊離アミノ酸量とACE阻害活性の相関を図4に示す。遊離アミノ酸総量とIC₅₀値には高い負の相関が認められた(r=-0.77)。このことから、プロテアーゼによるタンパク質の分解で生じた産物(遊離のペプチドやアミノ酸)がACE阻害活性増加の原因であることが示唆された。遊離アミノ酸量は、ACE阻害活性を増加させる際の指標として利用可能である。

3. 3 ブリ米麴発酵物の製造方法と特徴

ブリや米麴などの原材料は、様々な食中毒・腐敗微

生物に汚染されるリスクがあり、発酵過程における衛生面の安全性を確保できることが非常に重要である。

そこで、汚染が懸念される大腸菌、ブドウ球菌、*Bacillus*属芽胞(病原性のないモデル微生物)について、ブリ米麴混合物発酵時の接種試験を行った。大腸菌を接種したブリ米麴混合物を10-60℃で発酵した結果を図5に示す。生菌数は、10℃と50℃で微増、20-40℃で急増したが、60℃では減少し、1日後には検出限界以下となった。また、ブドウ球菌についても同様の傾向が認められ、60℃では6時間後に検出限界以下となった。一方、*Bacillus*属芽胞を接種した場合(図6)は、全

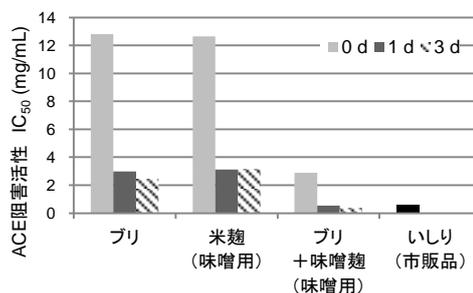


図3 ブリ米麴発酵時のACE阻害活性変化

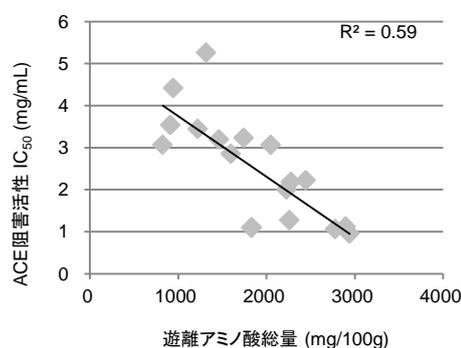


図4 遊離アミノ酸量-ACE阻害活性相関

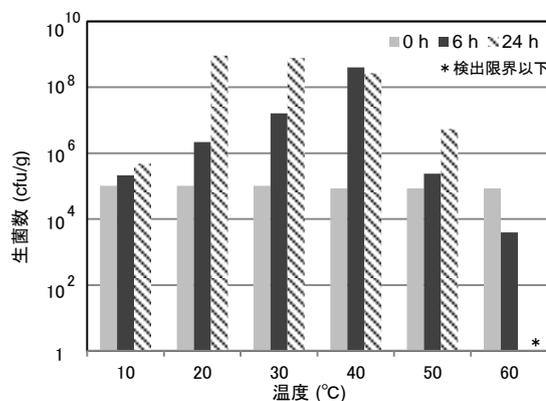


図5 ブリ米麴発酵における大腸菌接種試験

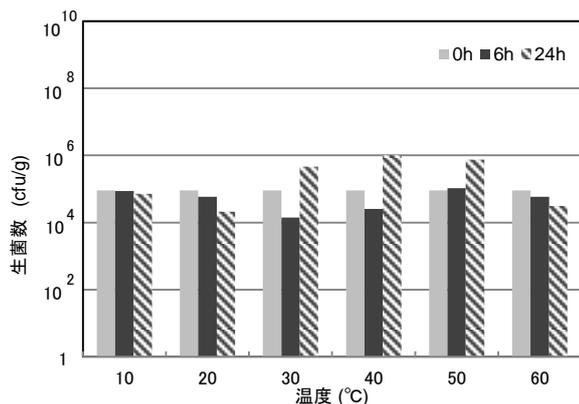


図6 ブリ米麴発酵における芽胞接種試験

温度で急激な生菌数(芽胞および栄養細胞を含む)の急激な増減は認められなかった, 60°Cの発酵物を煮沸処理後に生菌数を測定しても, 煮沸前より減少しなかったことから, 60°Cでは芽胞の状態が残存することが明らかとなった。

以上の結果から, 発酵時の微生物増加を抑制するには, 60°C以上での発酵が好ましいと考えられた。近年, 魚醬において, プロテアーゼによる自己消化を促進するために, 55°Cでの短時間無塩消化による製法が報告されている⁶⁾。ブリ米麴発酵時においては, 遊離アミノ酸量が最大化する温度条件は50°Cであったが, 風味と衛生面の両方を考慮すると, 60°Cにおける発酵が最も好ましいと考えられる。また, 発酵工程以後は, 芽胞対策として加塩, 高温加熱などの検討が必須である。

今回得られたブリ米麴発酵物はその成分特徴から, 類似品として魚醬が考えられ, 調味料素材としての活用が想定される。ブリ米麴発酵物を使用した調味料の製造方法を図7に, 魚醬(いしり)との特徴成分の比較を表1に示す。ブリ米麴発酵物は, いしりに比べて遊離アミノ酸量は少ないが, ブドウ糖の甘味といしりとは異なる揮発成分を有することが風味上の特徴である。また, いしり同様の高いACE阻害を持つことから, 今後の応用展開が期待される。

4. 結 言

魚介・畜肉を米麴で発酵させ, その栄養・風味・機能性について分析評価を行い, 特徴的な成分変化を把握した。またブリに関しては, 製造方法の検討と特徴付けを行った。以下に概要を示す。

(1)ブリ, アマエビ, ブタを米麴と混合して発酵することで, 各原料の自己消化だけでなく, 相互的な作用により遊離アミノ酸が生成し, 強い旨味とこくを有

する発酵物を得られた。

- (2)ブリを米麴と混合して1日発酵することで, ACE阻害活性が顕著に高くなった。また, 遊離アミノ酸量とACE阻害活性には高い正の相関が認められた。
- (3)食中毒・腐敗モデル微生物の接種試験を行った結果より, 無塩かつ短時間で強い旨味・こくを有するブリ米麴発酵物を製造する手法を考案した。
- (4)ブリ米麴発酵物はいしりと比較した結果, 強い旨味や高いACE阻害活性に加え, 高濃度のブドウ糖や特徴的な揮発成分を有することが明らかとなった。

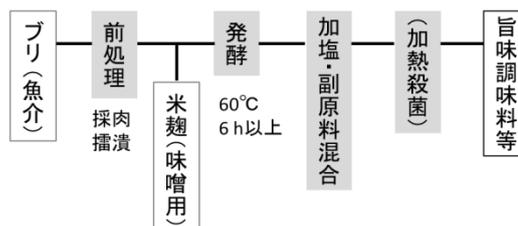


図7 ブリ米麴発酵調味料の製造方法

表1 ブリ米麴発酵物と魚醬油(いしり)の比較

	ブリ米麴発酵物	いしり
遊離アミノ酸総量	≒ 2,000 mg/100g	7,200 -13,300 mg/100mL ⁴⁾
グルタミン酸 + アスパラギン酸量	≒ 200 mg/100g	1,200 -2,800 mg/100mL ⁴⁾
ブドウ糖量	≒ 13g/100g	不明
塩分量	無塩(製造後添加可)	> 14 g/100mL ⁴⁾
特徴的な揮発成分	フラン(甘い, カラメル) ヘキサナール(青臭い)	硫黄化合物(磯の匂い) ピラジン(焦げ, 香ばしい)
ACE阻害活性 (IC ₅₀)	0.60 mg/mL	0.61 mg/mL

謝 辞

本研究の遂行に当たり, 終始適切なご助言を頂いた金沢工業大学教授尾関健二氏に感謝します。

参考文献

- 1) 村上英也. 麴学. 財団法人日本醸造協会. 1986.
- 2) 厚生労働省 監修. 食品衛生検査指針 微生物. 社団法人日本食品衛生協会. 2004.
- 3) 受田浩之 他. “イワシ蛋白質加水分解物からのアンジオテンシンI変換酵素阻害ペプチドの調製とその分離”. 日本農芸化学会誌. 1991, vol. 65, no. 8, p. 1223-1228.
- 4) 道島俊英. “国内外の魚醬油と能登の魚醬油いしりについて”. 醬油の研究と技術. 2015, vol. 41, no. 5, p. 307-316.
- 5) 笹木哲也 他. “イカ魚醬油(イシル)に含まれるアンジオテンシンI変換酵素阻害ペプチドの単離と血圧降下作用”. 日本補完代替医療学会誌. 2013, vol. 10, no. 1, p. 45-49.
- 6) 宇田川隆. “速醸魚醬の開発とその利用”. 日本醸造協会誌. 2012, vol. 107, no. 7, p. 477-484.