発酵食品副生物の機能性成分と 再資源化技術の開発[†]

松田 茂樹*

Functional Substances and Utilization of Fermentation Food By-products

MATSUDA Shigeki*

* Kumamoto Industrial Research Institute

3-11-38, Higashi-machi, Kumamoto-shi, Kumamoto 862-0901

現在、わが国における食品産業への廃棄物排出規制はその質・量ともに厳しくなり、企業においては極力廃棄物を出さない工程の構築や素材の有効活用が求められている。一方、近年の高齢化や生活習慣病の増大から、人の健康や栄養にかかわる「食品機能」は重要な分野となっている。

本稿では食品工場における副生物のバイオサイクルのイメージを図1のように考え、特に発酵食品工場から排出されるものに含まれる機能性成分とそれらを活用する再資源化技術について述べる。

1. 乳酸菌を用いた大豆煮汁の有効利用

日本において大豆を原料とする食品産業では、年間約62万tの大豆を処理すると言われている。このうち大部分は豆腐、油揚げに利用されており、その他の23%が味噌

用、10%が納豆用である。味噌や納豆は日本古来の発酵食品であるが、原料大豆の蒸煮工程で大量の廃液（大豆煮汁）が生じる。この廃液は高濃度のBOD（数万ppm）を示すものであるが、大豆に含まれる水溶性の蛋白質やビフィダス菌の増殖を促進するオリゴ糖などの有用成分も存在している。現在、この大豆煮汁の一部は家畜の飼料などに利用されているが、腐敗しやすいことから全面的な利用はなされておらず排水処理の対象として扱われているのが現状である。特に、納豆工場から排出される大豆煮汁は高濃度の有機物を含むため、その処理には多大な経費と労力を要している。この大豆煮汁は高圧蒸煮の工程から排出されることからほとんど無菌の状態である。このことに着目して微生物処理をすることにより、新たな食品素材を開発することを試みた。

図1 食品工業におけるバイオサイクル構想図

[†] 平成15年度日本食品保蔵科学会技術賞

* 熊本県工業技術センター（〒862-0901 熊本県熊本市東町3-11-38）

E-mail: matsuda@kmt-iri.go.jp

(1) 納豆工場の大豆煮汁とその性質 納豆工場から排出される大豆煮汁の成分組成は表1に示したように水分は80~85%と少なく、高温かつ高濃度の可溶性固形分を含むものである。したがって、殺菌を兼ねて熱時に副原料を混合し、乳酸菌スターターを加えて乳酸発酵を行うことで固形化させ、チーズ様発酵食品を製造することが可能であった¹⁾。熟成したチーズ様発酵食品は淡褐色で固形状態であり、苦味などの異味・異臭は感じなく、ほのかな酸味を呈するものであった。これらの中には大豆に由来するラフィノースやスタキオースなどのオリゴ糖のほかカルシウムなどの無機質も含まれることが明らかになった。

(2) 乳酸発酵によるイソフラボンの変化 大豆に含まれるイソフラボンなどの配糖体成分はさまざまな生理

活性作用をもっていることから、近年注目されている有用成分であるが、大豆煮汁の中にも含まれており、乳酸発酵の過程で乳酸菌酵素によりイソフラボン配糖体が分解されることを明らかにした²⁾。大豆煮汁およびチーズ様発酵食品に含まれるイソフラボンの量と発酵過程の変化をHPLCで分析し、そのクロマトグラムを図2に示した。また、イソフラボン類の分析結果を表2に示した。大豆煮汁中には主にイソフラボンの配糖体であるダイジンとゲニスチンが含まれアグリコンの存在量はわずかであった。大豆煮汁の乳酸発酵におけるイソフラボンの経日変化を調べた結果を図3に示した。ダイジンは発酵前の原料100g中に28.1mgであったが3日後には13.2mgに減少した。また、ゲニスチンの量も32.4mgから2.4mgに著しく減少した。これに対応してそれぞれのアグリコンは増加する傾向が認められた。これらの現象は発酵1日目から急速に起こることから乳酸菌の生育と密接な関連があることが示唆された。また、乳酸菌自体も生体調節機能と密接な関連があることも指摘されており、このように大豆煮汁と乳酸発酵を組み合わせることは資源のリサイクルに有用な手段の一つであると考えられる。

2. 醤油粕に含まれる有用成分とその利用

醤油工場の副産物である醤油粕の処理については、表3に示したように従来から調味料副資材としての再利用³⁾や食茸菌類生産培地への利用化研究^{4),5)}などが数多くなされてきた。最近では、より高度な利用を図るべく、土壌改良剤への利用⁶⁾、生理活性物質の検索⁷⁾、あるいは微生物を用いた処理技術の研究⁸⁾が進められている。し

表1 大豆煮汁およびチーズ様発酵食品の成分組成

成分	大豆煮汁	チーズ様発酵食品
水分 (%)	80.5	69.5
たんぱく質 (%)	3.8	6.6
炭水化物 (%)	12.7	20.0*
灰分 (%)	3.0	2.8
脂質 (%)	—	1.1

*スタキオース：1.56%，ラフィノース：0.2%

図2 大豆煮汁中のイソフラボンのHPLCクロマトグラムおよび乳酸発酵における変化

(A) イソフラボン標準物質 (B) 大豆煮汁 (C) チーズ様発酵食品

表2 大豆煮汁およびチーズ様発酵食品のイソフラボン

イソフラボン	大豆煮汁	チーズ様発酵食品
ダイジン (mg/100g)	35.1	13.2
ダイゼイン (mg/100g)	1.8	6.2
ゲニスチン (mg/100g)	40.5	2.4
ゲニステイン (mg/100g)	trace	9.6

図3 チーズ様発酵食品中のイソフラボンの経日変化

表3 醤油粕の有効利用に関するこれまでの主な研究

研究区分	研究内容	利用分野
廃棄物 処理技術	飼料化研究	家畜の配合飼料, 濃厚飼料
	肥料化研究	麹菌による製麹(脱臭, 乾燥)
	肥料化研究	余剰汚泥の乾燥助材, 堆肥
	燃焼試験	焼却処理, 熱回収, 省エネルギー
	コンポスト化	炭化物の土壌改良材
素材 再利用 技術	養殖資材の研究	ミジンコ培養, 稚魚養殖
	菌床栽培用培地	食用茸の栽培
	諸味のペースト化	ソース, 漬け物の調味料材料
	農業資材化の研究	脱塩後, 活性炭製造
	微生物・酵素利用 食物繊維増強技術	発酵基質の製造 クッキー, パン等への添加
有用物質 抽出技術	薬効成分の抽出	サポニンの回収

かしながら, 醤油粕の処理実態は焼却や畜産用飼料としての再利用が主体であり, 有効利用の技術開発が望まれている。年間に排出される醤油粕は9~11万tと推計され, 地域的にみても1カ所で集中的に処理することも困難と思われるので, 今後とも未利用の資源として, さまざまな手法について検討すべき課題であると考えられる。一方, 大豆を酸分解して得られる分解アミノ酸は濃厚な旨味と独特のフレーバーを有しており, 新式醸造やアミノ酸液混合方式の醤油製造において独特の風味を付与する点から重要な原料である。この製造過程で排出されるアミノ酸液分解粕は産業廃棄物として処理されている。これらの副生物について, 醤油粕については食物繊維の製造方法, アミノ酸液分解粕については光合成細菌による生理活性物質の生産方法をそれぞれ検討した。

(1) 醤油粕食物繊維の製造法とその性質 醤油粕を構成する成分としては, 表4に示したように, 原材料や微生物菌体由来する未消化の炭水化物や窒素化合物のほか, 食塩を主体とする灰分などが含まれている。これらは総じて発酵残渣であり, セルロース, リグニンなどの高分子物質と考えられる。また, 醤油粕はそれ自体の着色が著しく脱色が困難なため, ほかの用途への利用が制限されている。

近年, 消費者の健康への関心が高まるとともに, 食物繊維や低カロリー食品への期待が大きくなり, 食物繊維を多く含む食品素材や加工食品が開発されている。食物繊維は第六の栄養素として, その意義が認識されるようになってきており, 人間の消化酵素で消化されない食物中の難消化性成分として理解され, 消化系酵素に対する抵抗性をもつ物質の総体として定義されている⁹⁾。

このようなことから醤油粕を原料としてアルカリ加熱処理による食物繊維を抽出する方法を検討し, 得られた食物繊維の性質を調べた。この結果, 表5に示したように醤油粕をアルカリによる一次処理および過酸化水素を

表4 醤油粕の成分組成

成 分	醬 油 粕*
たんぱく質	32
脂 質	13
灰 分	16
糖 質	8
食物繊維 (水溶性)	3
食物繊維 (不溶性)	28

* 乾物重%

表5 醤油粕食物繊維の成分組成

成 分	醬 油 粕*
たんぱく質	5
脂 質	0
灰 分	5
糖 質	8
食物繊維 (水溶性)	1
食物繊維 (不溶性)	81

* 乾物重%

表6 醤油粕食物繊維の構成糖

構 成 糖	醤油粕食物繊維*
アラビノース	4.1
ガラクトース	1.6
グルコース	8.8
キシロース	4.2
N-アセチルグルコサミン	3.6

* 乾物重%

併用した二次加熱処理により, 無臭かつ白色で不溶性食物繊維に富む食物繊維を抽出することができた。この抽出物には80%以上の不溶性食物繊維が含まれ, N-アセチルグルコサミンも含まれることがわかった¹⁰⁾。

食物繊維の抽出方法としては, 一次加熱処理において5%水酸化ナトリウムを用いて, 85℃で30分間処理し, さらに二次加熱処理においてアルカリ存在下で, 1.5%過酸化水素で処理することにより, 良好な食物繊維が得られた。食物繊維の構成糖比率を分析した結果, 表6に示したようにグルコースが最も多く, キシロースとアラビノースはほぼ等量含まれ, ガラクトースはやや低い値を示した。

食物繊維を含む醤油粕の食品への利用として, 醤油粕の乾燥粉末を豆菓子衣に混合することにより, 食物繊維およびイソフラボンを強化したピーナッツ菓子の製造が可能であり, 試作を実施している。

(2) 醤油粕の抽出液による光合成細菌の培養と5-アミノレブリン酸の生産 光合成細菌が生産する生理活性物質として5-アミノレブリン酸が注目されている¹¹⁾。この5-アミノレブリン酸は光合成細菌の光合成経路に

表7 醤油粕およびアミノ酸液分解粕の有機酸組成

成 分	醬 油 粕*	アミノ酸液分解粕*
クエン酸	0.060	0.873
リンゴ酸	0.019	0.087
コハク酸	0.332	0.830
乳 酸	0.425	0.040
ギ 酸	0.035	0.493
酢 酸	0.065	0.120
レブリン酸	N. D	0.314
ピログルタミン酸	0.160	0.121

* 乾物重%

において重要なテトラピロール化合物の前駆体とされている。さらに5-アミノレブリン酸は種々の生理活性作用を有し、双子葉植物に対して、除草効果があり、低毒性の除草剤としての応用が期待されている¹²⁾。また、低濃度の場合には植物に対する生長促進効果や増収効果があることも報告されている¹³⁾。しかしながら、醤油粕の利用方法として光合成細菌による5-アミノレブリン酸の生産については検討された例はみられない。このようなことから、醤油粕およびアミノ酸液分解粕の抽出液を培養基質として光合成細菌の培養と5-アミノレブリン酸の生産条件を検討した。光合成細菌である *Rhodobacterium sphaeroides* IFO12203の菌体外に5-アミノレブリン酸を蓄積させるには、培地中にコハク酸が必要なこと、さらに5-アミノレブリン酸デヒドラターゼを阻害するレブリン酸の添加が必要である。したがって、醤油粕およびアミノ酸液分解粕に含まれるこれらの有機酸の組成を調べた。表7に醤油粕およびアミノ酸液粕に含まれる有機酸の分析値を示す。有機酸組成および含有量は醤油粕とアミノ酸液粕で異なり、醤油粕では乳酸(0.43%)、ピログルタミン酸(0.16%)が多いのに対し、アミノ酸液分解粕にギ酸が0.49%、酢酸が0.12%含まれていた。特にレブリン酸はアミノ酸液分解粕にのみ1.31%含まれていた。このことから、アミノ酸液分解粕の抽出液は光合成細菌の培地として利用できることがわかった。

醤油粕およびアミノ酸液分解粕それぞれの20倍抽出液、グルタメート・マレート培地を用いて光合成細菌の5-アミノレブリン酸の生産性について調べた。*R. sphaeroides* IFO12203をグルタメート・マレート培地で2日間培養した後、グリシン(20mM)およびコハク酸(20 mM)を加えたそれぞれの培地で培養を行い、24時間経過後にレブリン酸(15mM)を添加して、5-アミノレブリン酸の生産量を測定した。この結果、図4に示したように、5-アミノレブリン酸の生成量はアミノ酸液分解粕の抽出液が最もよく、次いでグルタメート・マレート培地、醤油粕抽出液の順であった。以上のことから、アミノ酸液分解粕は光合成細菌の培地として適していることが確認された¹⁴⁾。

図4 光合成細菌による醤油粕抽出液での5-アミノレブリン酸の生産

Rhodobacterium sphaeroides IFO 12203, 33°C, 5 klux

食品工場副生物は、本来有機性の原料を加工したものが多く、場合によっては原料由来の種々の有用成分を含むバイオマスである。今後、これらの未利用バイオマスを資源化することは食品産業の大きな課題となっていくものと考えられる。これらの課題を克服するために産学官の連携体制のもと技術開発を進めることが必要であると考えられる。

謝 辞 本研究の実施に協力された当センターの湯之上雅子研究参事、また、研究の遂行に貴重なご助言をいただきました熊本工業大学(現、崇城大学)の上田誠之助名誉教授、広島国際学院大学の佐々木健教授に感謝いたします。

文 献

- 1) MATSUDA, S., MIYAZAKI, T., MATSUMOTO, Y., OHBA, R., TERAMOTO, Y., OHTA, N. and UEDA, S.: Hydrolysis of Isoflavones in Soybean Cooked Syrup by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* IFO 3425, *J. Ferment. Bioeng.*, **74**, 301 (1992)
- 2) MATSUDA, S., NORIMOTO, F., MATSUMOTO, Y., OHBA, R., TERAMOTO, Y., OHTA, N. and UEDA, S.: Solubilization of a Novel Isoflavone Glycoside-Hydrolyzing β -Glucosidase from *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*, *J. Ferment. Bioeng.*, **77**, 439 (1994)
- 3) 通商産業省編：再資源化技術の開発状況調査報告書, p.289 (1988)
- 4) 田畑武夫・野村文雄・兼重勲二：醤油粕利用による食用茸の培地適性, 日醬研, **5**, 10 (1979)
- 5) 佐々原浩幸：脱塩醤油粕等を用いた食用茸の栽培, 香川県発酵食品試験場報告第84号, p.6 (1991)
- 6) 遠藤勝之：醤油粕の炭化による資源化について, 醸協, **90**, 512 (1995)

- 7) 宮城県醤油醸造協同組合編：宮城県中小企業高度化事業報告書，p. 40 (1987)
 - 8) 河原秀久・高橋宏幸・木幡 齊・岡村英喜・片岡二郎： *Aspergillus* 属菌を用いた醤油粕の可溶化について，日醤研， **22**， 116 (1996)
 - 9) 印南 敏・桐山修八：食物繊維（第一出版，東京），p. 199 (1982)
 - 10) 松田茂樹・湯之上雅子：醤油粕食物繊維の製造法とその性質，日醤研， **26**， 89 (2000)
 - 11) 佐々木健・田中 徹・堀田康司：光合成細菌を用いた有機性廃棄物からの 5-アミノレブリン酸の生産および除草剤，植物生長調節剤への応用，水処理技術， **26**， 135 (1995)
 - 12) SASIKALA, C., RAMANA, V. and RAO, P. R.: 5-Aminolevulinic Acid: A Potential Herbicidal/Insecticide from Microorganisms, *Biotechnol. Prog.*, **10**, 451 (1994)
 - 13) 堀田康司：新しい植物生長調節物質“5-アミノレブリン酸”，化学と工業， **46**， 936 (1993)
 - 14) 松田茂樹・湯之上雅子：醤油粕の抽出液による光合成細菌の培養と 5-アミノレブリン酸の生産，日醤研， **24**， 197 (1998)
-