おからオンチョムの調製法と成分特性

松 尾 眞砂子*

Preparation and Components of Okara-ontjom, a Traditional Indonesian Fermented Food

Masako MATSUO*

* Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu-shi, 501-25

In order to utilize okara (the insoluble residue of homogenized soybean) as a food stuff, scientific preparation and specificity of chemical components of Okara-ontjom (*Ontjom*, a traditional Indonesian food which was fermented by *Neurospora intermedia*) were studied. Prepared *Ontjom* was a porous compact block as like as a sponge cake, the surface of which was covered with orange colored spores of *N. intermedia*. The mycelium of the mold proliferated on and in the wall of soybean cells and connected with each pieces of okara, and consumed some components of the cell wall of soybean. Fundamental conditions of *Ontjom*'s preparation were established as follows. Okara containing 60% moisture was pressed by 1.1 g/cm² to give 2.5 cm in thickness and was sterilized at 121°C for 20 min, and then ontjom starter containing *N. intermedia* mold spores was evenly sprinkled over okara. After germination of spores, at 30°C for 18 hours with a fitted cover, the incubator cover was changed with a double layer nylon gauze (30 denier, 105×99/inch²) and incubation was continued at 25°C in 65% humidity for about 11 hours. Detecting sporulation, the medium was inverted. After the change of surface color to orange, the medium was allowed to stand for about 35 hours more. The component changes from okara to *Ontjom* were as follows. The protein content increased to 27% from 22% and was digested to smaller particles. The fat content decreased to 9% from 15% and the insoluble dietary fiber content decreased also. *Ontjom* had not the soybean-like flavor. The touch in mouth was smooth. The taste of fried *Ontjom* was resembled that of chicken. Consequently, *Ontjom* should be useful as a new tasted low-energy food material.

(Received Feb. 7, 1997 ; Accepted Jun. 4, 1997)

豆腐粕であるおからは腐り易いとか、かさばるとの理由により、家畜の餌としても敬遠され、年間約100万トンが焼却もしくは産業廃棄物として処理されている。しかし、おからは一般に、乾重量で大豆タンパク質が約25%、脂肪が約20%残存しており¹⁾、その有効利用法の開発が必要である。

一方、インドネシアではおからを赤パンカビの一種 *Neurospora intermedia* (オンチョム菌) で発酵させたおからオンチョムと言う食品がある²⁾。オンチョムはオンチョム菌で発酵させた食品の総称で、おからの他にピーナッツオイルを搾ったピーナッツ粕も原料として頻用さ

れており、食品工業における産業廃棄物を発酵によって食用化させた世界に例を見ないユニークな食品である³⁾。しかも、肉のような風味がするため³⁾、肉や魚の安価な代替品として庶民の惣菜の材料として利用されている⁴⁾。食糧資源の有効利用法として、また、コレステロールを含まない植物性タンパク性食品として、日本でも、いな、世界中におからオンチョム (オンチョム) が広く普及することが望ましい。しかし、現在、オンチョムの生産地は主としてジャカルタやバンドンとその周辺地域に限られ、家内工業的に伝統的製法で小規模に生産されているに過ぎない。したがって、オンチョムに関する科

* 岐阜女子大学 (〒501-25 岐阜市太郎丸 80)

学的な研究はほとんどなされていない。そこで、著者はおからを食糧化する研究の一環として、オンチョムの調製に関する基本的条件を検討した。次いで、その成分特性を調べた。

実験方法

1. 試料

(1) おから：乾燥おから（商品名ピーンフラワー、みみずコーポレーション(株) 30 メッシュ）。

(2) オンチョムスターター：*Neurospora intermedia* FGSC 2559, Fungal Genetics Stock Center (U.S.A.) を純粋培養したおからを凍結乾燥し、細粉化したもの。

(3) 粗酵素液：新鮮なオンチョムに 12 倍の水冷純水を加え、ポリトロンで磨砕し、遠心分離して得られる上澄液を用いた。

(4) 物性測定用オンチョム：表層から 5 mm 以上内部を 20×20×10 mm の大きさに切り出した。

(5) 官能検査用オンチョム：20×20×3 mm にスライスし、2% 食塩水に 30 秒間浸し、水切りした後、じゃがいもでん粉をまぶして 180～190℃ の油でカラッとすするまで揚げた。

2. 測定法

(1) 電子顕微鏡観察：日立走査電子顕微鏡 (JSM-T 300 型) を使用した。

(2) 菌体量：0.5 N の過塩素酸により抽出される核酸類を 260 nm の吸光度から求めた⁵⁾。

(3) 生地の硬さ：クリープメーター（山電 RE-3305）を用い、円形プランジャー 8 mm、ロードセル 2 kg、圧縮スピード 5 mm/s で測定した。

(4) α -アミラーゼ (E.C. 3.2.1.2 1,4- α -D-Glucan maltohydrolase)：アミロースを基質にして反応させ、基質の青色ヨウ素呈色の減少を 700 nm で測定した⁶⁾。

(5) グルコアミラーゼ (E.C. 3.2.1.3 Exo-1,4- α -D-glucosidase)：可溶性デンプンを基質にして反応させ、グルコースの増加量をソモギー・ネルソン法で測定した。

(6) セルラーゼ (E.C. 3.2.1.4 1,4-(1,3; 1,4)- β -D-Glucan 4-glucanohydrolase) 活性：0.5% CM セルロース (pH 4.8) に粗酵素液を 40℃ で 30 分間反応させ、遊離したグルコースを定量した⁷⁾。

(7) キシラーゼ (E.C. 3.2.1.32 Endo-1,3- β -D-xylanase)：1.25% キシラン (pH 5.5) に粗酵素液を 40℃ で 30 分間反応させ、遊離したキシロースを定量した⁶⁾。

(8) ベクチナーゼ (E.C. 3.2.1.15 Poly (1,4- α -D-galacturonide) glycanohydrolase)：0.5% ベクチン酸 (pH 5.5) に粗酵素液を反応させ、235 nm の吸光度を測定した⁶⁾。

(9) プロテアーゼ (E.C. 3.4.21.14)：0.5% カゼイン (pH 7.0) に粗酵素液を反応させ、TCA 可溶物を Folin 法で測定した⁸⁾。

(10) 生地の硬さ：クリープメーター（山電 RE-3305）を用い、円形プランジャー 8 mm、ロードセル 2 kg、圧縮スピード 5 mm/s で測定した。

(11) 官能的嗜好度：女子大生 20 名をパネラーにして最も好ましい食味と感じられたオンチョムを選ばせた。

(12) 統計処理法：得られたデータは Student の t テストにより有意差を $p < 0.05$ で検定した。

(13) 食物繊維：難水溶性食物繊維、水溶性食物繊維、遊離糖は AOAC 法⁹⁾で分画・定量した。

(14) 遊離アミノ酸：乾燥オンチョムに 10 倍量の 75% エチルアルコールを加え、80℃ で 15 分間還流して抽出した液を Shim-pack ISC-07/S 1504 Na (4.0×15 cm) を用い、Ex. 348 nm, En. 450 nm で検出した¹⁰⁾。

(15) タンパク質のゲル濾過：タンパク質は大久保¹¹⁾の方法で抽出し、透析、凍結乾燥したものを、Shim-pack Diol-150, 7.9 mm ϕ 50 cm を用いてゲル濾過した¹⁰⁾。

(16) 脂肪の組成：GC により脂肪を炭素数の大きさと共に分析した。カラム；Silicon OV-1, 1% Uniport HP, 100/120 mesh, 3 mm ϕ × 0.5 m, カラム温度；260～340℃, 昇温速度；3℃/min, 検出器；FID, キャリアガス；N₂, 50 ml/min で行なった。

実験結果及び考察

1. 外観と組織構造

Fig. 1 はオンチョムの外観写真である。左図は 48 時間発酵させた未熟なオンチョムで、おからが *N. intermedia* の菌糸によってブロック状に固められている。培地の表面に菌糸が長く伸び、未熟胞子が少量発生し、菌糸全体が淡黄色を呈していた。右図は 64 時間発酵した成熟オンチョムで、萎えて倒れた菌糸を多数の成熟胞子が覆い、オレンジ色を呈していた。内部は多孔質でスポンジ状構造をしており、薄くスライスしても崩れなかった。この状態のオンチョムが食品として官能的に最も好まれた。

Fig. 2 は成熟したオンチョムの走査型電子顕微鏡写真である。上図はオンチョムの表面で、オンチョム菌の菌糸が匍匐し、凹型の胞子嚢が密生していた。大豆の細胞

Fig. 1 Photographs of *ontjom*

Left, appearance of premature *ontjom*; Light, surface and cross sections of mature *ontjom*. Bars indicate 10 mm.

Fig. 2 Scanning electron micrographs of *ontjom*

Upper, surface of *ontjom*; Lower, inner of *ontjom*. $\times 500$, bars indicate $100\ \mu\text{m}$.

壁は網状と化し、細胞壁成分の一部がオンチョム菌により資化されていた。下図はオンチョムの内部で、菌糸がおからの組織内まで侵入・繁茂していた。大豆の細胞壁は膜状を保ち孢子囊が少なかった。

2. 調製法の検討

(1) 水分と pH の検討

オンチョムの培養に適する水分量と pH の検討を目的にして、水分を 50, 60, 70% に調整したおからと水分 60% で pH を 4.3, 5.0, 5.8 に調整したおからを 121°C で 20 min 滅菌後、オンチョムスターターを接種し、 30°C で 34 時間培養し、オンチョム菌の増殖状況とその活性を知るために菌体量とセルラーゼ活性を測定した。その結果は Fig. 3 に示すように、菌体量は水分 60% 時に最高値となり、70% の時は低下した。一方、セルラーゼ活性は 60% 以上にしても変化しなかった (左図)。また、培地の pH は微酸性時より中性時の菌体量が多かった (右図)。したがって、以後、オンチョム用培地は水分が 60% になるように水を加えるにとどめ、pH の調整は行わなかった。

(2) 培養温度の検討

インドネシアではおからを $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ の室温で調製している³⁾。また、オンチョム菌は生育可能な最高温度が 32°C である¹²⁾ことから、 $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ と $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ でオンチョムを培養して菌体量とセルラーゼ活性を比較した。ただし、最初の 18 時間は $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ で培養して孢子の発芽を

Fig. 3 Effect of moisture and pH of okara on *ontjom* fermentation

■, mycelium production; ●, cellulase activity. Mean $\pm$ SE, $n=3$.

Fig. 4 Effect of temperature on *ontjom* fermentation

Bars without a common superscript letter in the figure were significantly different by Student's t-test at $p < 0.05$. Mean $\pm$ SE, $n=3$.

促進した。その結果、Fig. 4 に示す如く、菌体量とセルラーゼ活性はいずれも 25°C 培養時の方が高かった。したがって、以後、オンチョムは 25°C で培養した。

(3) 培地の厚みと植菌法の検討

インドネシアではオンチョムの製造時、スターターを培地と混合せず、培地上に散布している³⁾。そこで、深さ 7 cm の容器を用い、おからの厚さを 2.5 cm (1.1 g/cm²)、4.0 cm (1.5 g/cm²) あるいは 6.0 cm (2.0 g/cm²) の 3 段階に変化させ、スターターを上から散布した場合と全体に混合した場合について菌の増殖速度とセルラーゼ活性を比較した。その結果は Fig. 5 に示すように培地の厚みに関しては、オンチョム菌の増殖速度とセルラーゼ活性はいずれも培地が薄いほど値が高かった。また、植菌法に関しては混合法より散布法の値が高かった。これらの現象はオンチョム菌の酸素要求性に基づくものと思われた。以後のオンチョムの培養は、培地の厚みを 2.5 cm とし、スターターを散布法で接種した。また、培地上面に胞子が発生した時点 (約 39 時間) で上下を反転して

Fig. 5 Effect of okara's thickness and inoculation style of starter on *ontjom* fermentation

Inoculation style, *ontjom* starter was mixed with okara at ■, ● and ▲; *ontjom* starter was sprinkled over okara at □, ○ and △. Thickness of okara, 2 cm at ■ and □; 4 cm at ● and ○; 6 cm at ▲ at and △. Mean $\pm$ SE, $n=3$.

培養時間の短縮をはかった。

(4) 容器カバーの検討

インドネシアではオンチョムを覆いをかけず開放系で調製している。覆いの要、不要を検討するため、ピーカーを培養容器にしてシャーレの片身で蓋をして培養し、肉眼的に菌糸の発生を確認した後 (約 18 時間後)、半数のピーカーを無蓋に、残り半数のピーカーは有蓋にして培養し、経時的に菌体量とセルラーゼ活性を比較した。その結果、Fig. 6 の上図に示すように無蓋時は 28 時間まで菌体量とセルラーゼ活性のいずれも増加したが、28 時間以後は胞子を形成して菌体量が増殖せず、セルラーゼ活性も低下した。有蓋時は 28 時間以後も菌体量とセルラーゼ活性が共に増加し続けた。水分量を測定すると無蓋で調製したオンチョムは 53%、有蓋で調製したオンチョムは 57% であった。無蓋時は水分の蒸発量が多く、培地が乾燥して胞子の早期形成を促進したと思われる。有蓋時は蓋がピーカーの注ぎ口の位置で密着せず通気口になり、菌の増殖に必要な通気量が確保され、しかも水分の蒸発量が少なく、適度の水分が保たれ、長時間にわたり菌糸の増殖が継続したと思われる。オンチョムの培養には覆いが必要であった。

次に、シャーレの蓋を有孔ポリエチレンフィルム (5 mm 間隔、径 1 mm の小穴) と二重のナイロンガーゼ (30 デニール、99×105 n/inch²) に交換し、容器カバー材としての適性を比較した (下図)。ナイロンガーゼを使

Fig. 6 Effect of incubator covers on *ontjom* fermentation

Left, mycelium production; Right, cellulase activity. ○, without incubator cover; ●, glass cover; ■, nylon gauze cover; □, pored polyethylene film cover. Mean $\pm$ SE, $n=3$.

用すると菌体量とセルラーゼ活性のいずれも有孔ポリエチレンフィルム使用時より高くなった。ナイロンガーゼはオンチョム培養用カバー材として適していた。以後、オンチョムの培養器用カバーにはナイロンガーゼ(紗)を二重にして使用した。

(5) 食品の嗜好性の高いオンチョムの培養時間と生地 hardness

オンチョム菌は温度と湿度が適度に保たれると培地上で菌糸増殖→孢子形成→孢子発芽を繰り返して菌体量を増加させた。したがって、発酵完了時を菌体量で決定することは困難であった。そこで、発酵度による官能的嗜好性を比較した。発酵に伴うオンチョムの生地(非加熱)の硬さと薄くスライスして油で揚げたオンチョムチップスの官能的嗜好度の変化を調べ、その結果を Fig. 7 に示す。オンチョムの硬さは培養 52 時間で、食品としての嗜好度は培養 64 時間で最高になり、以後、低下した。すな

Fig. 7 Change of rheologic hardness and sensory favorite of *ontjom* during its fermentation

■, rheologic hardness of fresh *ontjom*; samples (20×20×10 mm) were cut off from the inner of *ontjom* of which fermentation time was different. Mean $\pm$ SE, $n=6$. ●, sensory favorite; twenty female students (21-22 years old) chose the most favorable fried *ontjom* from 4 kinds of that.

わち、表面がオンチョム菌の孢子でうっすらと覆われ、淡いオレンジ色になってから更に 12 時間経過し、熟成により生地が多少軟化した状態のオンチョムが味覚的に最も好まれた。

オンチョムは大豆臭が無く、おからのザラザラした舌触りが消えて滑らかになっていた。オンチョムのオレンジ色は油で揚げると完全に褪色し、オンチョムチップスは鶏肉の唐揚げのような味がした。現実には、インドネシアでオンチョムが肉や魚の代替品として活用されている⁴⁾事実が味覚的に理解できた。オンチョムは動物性食品のような風味を持ちながら植物性食品のためコレステロールを含まず、食物繊維が多いため低エネルギーである。成人病予防の観点からも注目すべき食品であろう。

3. 成分組成

(1) 成分組成

オンチョムの成分組成を Table 1 に示す。乾物の成分組成をおからと比較すると粗タンパク質が 125% に増加したが、これは脂肪の減少に基づく相対比率の上昇によ

Table 1 Composition of okara and *ontjom*

Chemicals	Wet matter		Dry matter	
	Okara (%)	<i>Ontjom</i> (%)	Okara (%)	<i>Ontjom</i> (%)
Moisture	60.0	50.9	0	0
Protein	8.8	13.1	22.0	27.2
Fat	5.9	4.5	14.7	9.3
Insoluble fiber	12.7	12.9	31.7	26.6
Soluble fiber	10.0	13.3	24.9	27.6
Sugar	1.8	3.5	4.6	6.8
Ash	0.8	1.8	2.1	2.5

と思われた。総糖質量は変化しなかったが、難水溶性食物繊維が減少し、水溶性食物繊維と遊離糖が増加した事実から繊維の低分子化が示唆された。したがって、消化性の向上が期待できた。松尾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾はおからの食糧化策としておからを *Rhizopus oligosporus* や *Aspergillus oryzae* で発酵させて「おからテンペ」や「おから麴」に加工したが、いずれのタンパク質も相対比率は増加しなかった。オンチョム化はタンパク質の相対比率を増加させるおからの加工法として注目すべきである。

オンチョム菌の一種である *Neurospora sitophila* でピーナッツを発酵させてもピーナッツオイルは量・質ともに変化しなかったとの報告がある⁽¹⁵⁾。本研究で使った *N. intermedia* はおからの脂肪を減少させた。この相違は菌種による脂肪資化能力の差によるものと思われる。

(2) タンパク質

おからをオンチョム化すると水溶性タンパク質が7 mg%から70 mg%へと10倍に増加し、遊離アミノ酸は90倍に増加し (Table 2)、タンパク質の分解が示唆された。アミノ酸の種類ではスレオニンとグルタミン酸が多く、この2つのアミノ酸だけで全アミノ酸量の7割近くを占めていた。

オンチョムのタンパク質の分解程度を推定する目的で、オンチョムとおからのタンパク質についてゲルクロマトグラフィーを行った。オンチョムのタンパク質はおからのタンパク質に比較して分子量が300 000以上の区分が減少し、300 000から10 000の区分が増加し、おからのタンパク質より分子量が小さくなっていた (Fig. 8)。この結果からオンチョムタンパク質の易消化性が示唆された。

Table 2 Free amino acids of okara and *ontjom*

	Amino acid (μg/dry g)	
	Okara	<i>Ontjom</i>
Aspartic acid	ND	47.2
Threonine	ND	201.4
Serine	0.4	33.7
Glutamic acid	0.7	245.2
Proline	ND	1.1
Glycine	ND	ND
Alanine	ND	98.2
Cysteine	ND	9.8
Methionine	ND	0.9
Isoleucine	ND	3.8
Leucine	ND	ND
Tyrosine	ND	12.3
Phenylalanine	ND	ND
Histidine	2.1	ND
Lysine	ND	ND
Arginine	3.8	ND
Total	7.3	653.6

(3) 脂肪

おからのオンチョム化に伴う脂肪の質的变化を調べるために、発酵に伴う脂肪量の変化を炭素鎖の長さごとに分析し、オンチョム菌の菌体量の変化と比較した (Fig. 9)。オンチョムの発酵に伴いおからには存在しなかったC₃₄、C₃₆とC₄₀の脂肪の生産が確認された。C₃₄とC₃₆の脂肪はオンチョム菌の増殖期の前半に増加したが、後半期には減少した。C₄₀の脂肪は後半期に増加し、定常期に減少した。おからの油中主要脂肪であるC₄₆とC₄₈の脂肪は増殖期に激減した。これらの結果はおからの脂肪はオンチョム菌の増殖に伴って低分子化されながら消費されたことを示唆していた。炭素鎖の長さによって減少速度が異なることからオンチョムの脂肪組成はおからの脂肪組成とは多少異なることが予測された。しかし、脂肪含量が減少 (Table 1) していたことからその影響は少ないと思われる。

4. 酵素活性

オンチョムの各種酵素活性を測定し、Table 3に示す。オンチョムは「おからテンペ」や「おから麴」に比べ、セルラーゼとペクチナーゼの活性が強力であった⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾。これらの食物繊維分解酵素活性が高いことが大豆の細胞壁を網状にした (Fig. 2 上図) 原因なのであ

Fig. 8 Gel permeation chromatograms of proteins of okara and *ontjom*

Column, Shimpack Diol-150 (7.9 × 500 mm); Mobile phase, 0.02 M Tris · HCl-0.2 M NaCl (pH 7.0); Flow rate, 0.8 ml/min. Abbreviation; M.W., molecular weight.

う。また、プロテアーゼ活性が強力でタンパク質の低分子化 (Fig. 8) を裏付けていた。

要 約

おから (豆腐粕) を食糧資源として活用するため、おからオンチョム (オンチョム, *Neurospora intermedia* でおからを発酵させたインドネシアの伝統食品) の科学的調製方法と成分特性を調べた。

オンチョムはスポンジのように多孔質なブロックに固められており、その表面は *N. intermedia* のオレンジ色の胞子によって覆われていた。菌糸はおからの組織内まで浸透・繁殖し、大豆の細胞壁成分の一部を資化していた。

Fig. 9 Change of triglycerides and mycelium during *ontjom* fermentation

■, ●, ▲, △, □, and ○, triglycerides of C₃₄, C₃₆, C₄₀, C₄₄, C₄₈ and C₅₂; The small figures beside C show the carbon number of triglyceride. ◆, mycelium production.

Table 3 Enzyme activity of *ontjom*

	Activity (U/wet g)
α-Amylase	13 000
Glucoamylase	1 300
Cellulase	775
Xylanase	3
Pectinase	45
Protease	500
Phytase	10

オンチョムの基本的調製法は次のようであった。水分を60%含むおからを1.1 g/cm²で加圧して厚さを2.5 cmにし、121℃で20分間滅菌した後、*N. intermedia*の胞子を含むオンチョムスターターを均一に散布し、30℃で18時間保った。菌糸が発生したら培養容器の蓋を二重のナイロンガーゼ (30 denier, 105 × 99/inch²) と交換し、湿度65%、25℃で約11時間培養した。胞子が発生したら培地の上下を反転し、新しい上面が淡いオレンジ色になってから更に12時間培養した。おからのオンチョム化による成分変化は次のようであった。タンパク質は22%から27%へ増加し、かつ低分子化していた。脂肪は15%から9%へ減少し、難水溶性食物繊維も減少していた。

オンチョムは大豆臭が無く、口当たりが滑らかで、油で揚げると鶏肉の唐揚げのような味がした。

オンチョムは新たな風味を持った低エネルギー食品素材として有用であろう。

文 献

- 1) 科学技術庁資源調査会：四訂食品成分表，女子栄養大学出版社，1996，p. 108.
- 2) Ho, C. C. : Abstracts of Fifth International Fermentation Symposium, Berlin, 1976, p. 36.
- 3) SHURTLEFF, W. and AOYAGI, A. : The Book of Tempeh, Harper and Row , New York, 1979, p. 205.
- 4) 野白喜久雄・吉澤 淑・鎌田耕造・水沼 武・蓼沼 誠編：醸造の事典，朝倉書店，東京，1988，p. 546.
- 5) 大内弘造・石戸輝雄・管間誠之助・野白喜久雄：醸協，62，1029 (1967).
- 6) 寺田 勝・林 和也・水沼武二：醬研，6，75 (1980).
- 7) 菊池忠昭・石井茂孝・福島男児・横塚 保：農化，45，228 (1967).
- 8) 中台忠信：醬研，11，67 (1985).
- 9) 武田秀敏：「非栄養素と生体機能」，吉田 昭・杉本悦朗編，光生館，東京，1987，p. 10.
- 10) 松尾真砂子：食科工，43，1059 (1996).
- 11) 大久保一良：食品開発，19，11 (1984).
- 12) STEINKRAUS, K. H. : *Food Technology*, 119, 1301 (1965).
- 13) 松尾真砂子：栄養誌，42，173 (1989).
- 14) 松尾真砂子：農化，63，1765 (1989).
- 15) BEUCHAT, L. R. and WORTHINGTON, R. E. : *J. Agri., Food Chem.* : 22, 509 (1974).

(平成9年2月7日受付，平成9年6月4日受理)