

乳酸菌を用いた醤油粕の利用

山本 忠*、小浜 恵子*、岸 敦*、
伊藤 良仁*、大澤 純也*

醤油粕を有効に利用するため、乳酸菌添加による乳酸の生成を試みた。醤油粕を温水処理して得られる可溶性成分をそのまま乳酸発酵の基質として利用した。醤油粕の温水抽出液の培地に乳酸菌が生育することから、醤油粕が生分解性素材としての可能性が示された。また、温水に難溶性の成分について、酸やアルカリで処理することで、一部ではあるが乳酸菌の基質とすることが出来た。

キーワード 醤油粕 分解 乳酸菌

Utilization of the Soy Sauce Lees Using the Lactic Acid Bacteria

YAMAMOTO Tadashi, KOHAMA Keiko, KISHI Atsushi,
ITO Yoshihito and OHSAWA Junya

We study to produce lactic acid from soy sauce lees by the lactic acid bacteria in order to effectively utilize the soy sauce lees. Lactic acid bacteria were grown on the soluble component of the warm water treatment of the soy sauce lees as a medium of lactic acid fermentation. This showed the possibility that the soy sauce lees was biodegradable material. By acid or alkali treatment, the component of the poor solubility in the warm water was partially used as a substrate of the lactic acid bacteria.

key words : soy sauce lees decomposition lactic acid bacteria.

1 緒 言

醤油粕などのような食品製造時の副産物の中には、タンパク質や糖質などの栄養素を含むものも多い。しかしながら、多水分で腐敗しやすかったり、セルロースなど微生物により分解されにくい成分を多く含んでいたり、これらの多くは有効な利用手段がないために産業廃棄物とされている。こうした未利用・低利用の副産物は、無償あるいは有償で処分されており、生産コストからも環境上からも問題となっている。

例えば、醤油粕は国内全体では年間 8 万 t と言われ¹⁾であり、岩手県内でも醤油は年間約 20 億円出荷され、製造企業の抱える問題として、醤油生産量の約 1 割を占める醤油粕の処分がある。現在、醤油粕の一部は家畜飼料として利用されるものの、大半は処理業者により有償で廃棄される。こうした家畜飼料としての用途も減少傾向にあり、食塩を含んでいる醤油粕の処理問題は一層深刻化していくと考えられる。

醤油粕のようなこれら未利用資源を資源化することで、廃棄物の削減、処理コストの低下を図るため、当センターでは漬け床への利用²⁾、酵素による調味成分の抽出³⁾などいくつかの方面から研究を進めている。

また、醤油粕中で血圧上昇抑制成分などは見いだされいるが、ペプチドを中心に考えると濃度的に実用化は難しい状況である。そこで、視点を切り替え、可溶性成分はそのまま乳酸発酵の基質の一部として利用できないか検討した。また、難溶性成分は酸やアルカリで処理することで低分子化して基質とすることを試みた。既に、でんぷんを素材として乳酸を生成⁴⁾させて、それを原料として生分解性プラスチックの生産が行われていることから、その手法を参考としながら実験を行った。ここでは、今回得られた若干の知見を報告する。

* 応用生物部

2 実験方法

2-1 使用原料

醤油粕は、岩手県内の企業から提供されたものを試験に使用した。醤油粕の標準的なデータを得るため、一般的な醤油の製法である脱脂大豆と国産小麦を50対50で配合、製麹後に仕込みをして、もろみを加温管理して約6ヶ月発酵させて製造した醤油もろみの醤油粕を用いた。

2-2 醤油粕及び抽出液の一般成分分析

醤油関連の一般成分の分析は、しょうゆ試験法⁵⁾により行った。その概要は以下の通りである。水分は105 乾燥法、タンパクは TECATOR 社のケルテックオートサンブラーシステム1035によるケルダール法、アミノ酸度はフォルモール法、全糖はフェノール硫酸法、直接還元糖はソモギー変法で行った。

2-3 醤油粕の調整

試料に用いた醤油粕の保存は-30 凍結で行った。また、一部については常温保存のため乾燥して微粉化した。乾燥・微粉化は、醤油粕を板状のまま、ステンレス製の網に乗せて、105 通風乾燥機で8時間乾燥して、高速粉砕器(KA-Universalmühle)で20,000rpm 3分間粉砕した。

2-4 醤油粕中の温水可溶性成分の抽出

醤油粕200gに温水を1 加え、60 で1時間浸漬してステンレス金網で濾過した。このろ液を温水可溶性成分とした。不溶性の部分はステンレス製の網に乗せて、105 通風乾燥機で8時間乾燥して、醤油粕と同様に粉砕した。

この醤油粕温水可溶性成分を、121、15分加熱殺菌して乳酸菌生育培地とした。

2-5 酸・アルカリでの醤油粕分解

醤油粕あるいは温水抽出した醤油粕の不溶性の部分に酢酸あるいは水酸化ナトリウムで分解した。分解条件は、もみ殻について検討した戸枝ら⁶⁾の条件を参考にして、酢酸濃度は、0.01M、0.1M、1M、10Mの4濃度で、水酸化ナトリウム濃度は、5%、10%、15%、20%の4濃度で行った。対照として蒸留水を用いた。醤油粕 5gに処理用の液を50m 加えた。分解反応は、試料を耐熱試験瓶に入れ、オートクレーブで121、60分を行った。

分解反応後にそれぞれ、水酸化ナトリウム、塩酸で中和して、乳酸菌培地として使用した。

2-4 微生物

培養試験に用いた乳酸菌は、キシロース資化性が高い

Lactococcus lactis subsp. *Lactis* JCM 1158(以下 *L.Lactis* XYと記載)、*Lactis* のタイプカルチャーである *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* JCM 5805(以下 *L.Lactis* TPと記載)、乳酸発酵のタイプが異なる *Lactococcus lactis* JCM 7638(以下 *L.Lactis* IO-1 と記載)の3株である。

2-5 微生物の測定

市販のBCP 加プレートカウントアガール(日水製薬製)で、30、48時間の培養で検出された生酸菌数を乳酸菌として測定した。

3 結 果

実験に使用した醤油粕の一般成分の分析結果は、表1の通りである。醤油粕(A)は、A社のもので、現在は新しい圧搾機を導入することで圧搾効率が大幅に改善されており、醤油粕の水分も少なくなっている。また、醤油粕(B)は、B社の醤油粕である。

表1 醤油粕の成分 (%)

試 料	水分	直接還元糖	粗タンパク	食塩
醤油粕(A)	36.7	1.2	36.4	5.5
醤油粕(B)	35.0	1.0	24.3	5.0

温水による醤油粕の可溶性成分の抽出による変化を見るために、繰り返し5回温水抽出を行った。醤油粕(A)を例に温水可溶性のろ液成分の分析結果を表2に示した。

表2 醤油粕温水可溶性ろ液の成分

試 料	洗浄回数	全窒素 (%)	直接還元糖 (%)	pH	食塩 (%)
醤油粕(A)	(回)	(%)	(%)		(%)
醤油粕ろ液	1	0.106	1.00	4.12	0.80
醤油粕ろ液	2	0.040	0.21	4.17	0.05
醤油粕ろ液	3	0.036	0.17	4.28	0.04
醤油粕ろ液	4	0.035	0.11	4.28	0.01
醤油粕ろ液	5	0.028	0.10	4.29	0.00

醤油粕(B)の温水抽出ろ液を滅菌したものに、3種類の乳酸菌を 1.00×10^4 cfu/ml 添加して、30 で1週間静置培養した結果を表3に示した。

乳酸菌を用いた醤油粕の利用

表 3 醤油粕温水抽出液培地での乳酸菌の生育
(cfu/ m l)

乳酸菌	試 料	1 週間後
<i>L.Lactis</i> XY	醤油粕抽出液	1.00×10^2 以下
<i>L.Lactis</i> TP	醤油粕抽出液	1.00×10^2 以下
<i>L.Lactis</i> IO-1	醤油粕抽出液	6.25×10^4

L.Lactis XY : *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* JCM 1158

L.Lactis TP : *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* JCM 5805

L.Lactis IO-1 : *Lactococcus lactis* JCM 7638

醤油粕 (B) の乾燥微粉化試料を酢酸あるいは水酸化ナトリウムで分解した液の成分を表 4 に示した。

表 4 醤油粕の酸・アルカリ分解液の成分 (%)

試料処理条件	直接還元糖	アミノ酸度
Distilled Water	0.217	1.75
Acetic Acid 0.01M	0.145	1.33
Acetic Acid 0.1M	0.261	1.13
Acetic Acid 1 M	0.565	0.87
Acetic Acid 10 M	1.029	
Sodium Hydroxide 1 %	0.507	1.37
Sodium Hydroxide 5 %	0.275	2.87
Sodium Hydroxide 10 %	0.449	

醤油粕 (B) を温水で 1 回抽出し残渣を乾燥微粉化した試料を酢酸あるいは水酸化ナトリウムで分解した液の成分を表 5 に示した。

表 5 醤油粕を温水で 1 回抽出した残渣の
酸・アルカリ分解液の成分 (%)

試料処理条件	直接還元糖	アミノ酸度
Distilled Water	0.145	0.83
Acetic Acid 1 M	0.464	0.80
Acetic Acid 10 M	0.797	0.78
Sodium Hydroxide 1 %	0.406	1.27
Sodium Hydroxide 10 %	0.304	3.62

醤油粕を酢酸あるいは水酸化ナトリウムで分解した液で、3 種類の乳酸菌の生育試験をした。酸あるいはアルカリで分解後中和処理した培地 5 ml を 15 ml の培養チューブに入れ、 1.00×10^4 cfu/ ml の乳酸菌を添加して、30 で静置培養した。1 週間後に BCP 加プレートカウントアガールで菌数を測定した。この培養結果を表 6 にまとめた。

表 6 醤油粕の酸・アルカリ分解液培地での乳酸菌の生育
(cfu/ m l)

試料処理条件	乳 酸 菌		
	<i>L.Lactis</i> XY	<i>L.Lactis</i> TP	<i>L.Lactis</i> IO-1
Distilled Water	-	-	4.17×10^6
Acetic Acid 1M	-	-	-
Acetic Acid 10M	-	-	-
Sodium Hydroxide 1 %	7.00×10^3	1.52×10^5	9.04×10^6
Sodium Hydroxide 10 %	-	-	-

醤油粕を温水で 1 回注した残渣を酢酸あるいは水酸化ナトリウムで分解した液で、3 種類の乳酸菌の生育試験を醤油粕の分解液と同様に行い、培養結果を表 7 にまとめた。

表 7 醤油粕温水 1 回抽出した不溶性成分を酸・アルカリで
分解した液での乳酸菌の生育 (cfu/ m l)

試料処理条件	乳 酸 菌		
	<i>L.Lactis</i> XY	<i>L.Lactis</i> TP	<i>L.Lactis</i> IO-1
Distilled Water	7.20×10^4	1.00×10^3	1.26×10^6
Acetic Acid 1M	4.06×10^5	9.40×10^4	8.54×10^6
Acetic Acid 10M	-	-	-
Sodium Hydroxide 1 %	5.00×10^4	-	-
Sodium Hydroxide 10 %	-	-	-

4 考 察

醤油粕の微生物利用については、脱塩液を利用した醤油酵母培養の試みが牧野ら⁷⁾によって行われている。しかし、塩分が高いため発酵原料としてはあまり考えてこられなかった。今回、醤油粕の抽出液及び酸やアルカリによる分解物は乳酸菌が生育できることで、乳酸を利用できる可能性を見いだすことができた。これは、今までネックとなっていた食塩も多量の温水で抽出することで、濃度が低くなり、適切な培地となるためと考えている。

ただし、乳酸発酵を行なわせる素材化での利用を考える場合、分解試薬の種類や濃度条件などを検討して、発酵原料の糖やアミノ酸濃度を高くする手段の開発が必要である。特に、分解用の酸やアルカリの濃度を上げると直接還元糖の値は大きくなるが、アミノ酸の濃度が下がり、pHを調整しても乳酸菌が生育してこない、あるいは逆にアミノ酸濃度が高くなっても糖濃度が下がり乳酸菌が生育してこないなどの問題が生じてくるため、酵素剤の利用を含めてさらに検討が必要である。

発酵試験に用いた乳酸菌については、石崎ら⁸⁾によって *L.Lactis* IO-1 : *Lactococcus lactis* JCCM 7638 がキシロースからもっとも効率よく乳酸を生産すると報告されており、温水抽出液での生育も他に比べよかった。ただし、素材化研究を進めるためには、さらに効率的な発酵を行う菌株をスクリーニングするなど微生物源を含め検討したいと考えている。

本研究は岩手県事業の「食品バイオテクノロジー研究開発事業」の中で進めた。なお、実施するに当たり、醤油粕を提供いただいた八木沢商店株式会社、佐々長醸造株式会社の関係者にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 牧野義雄、谷川善弘、竹上伊津子、白川武志 : 廃棄物論文誌、9,208(1998)
- 2) 伊藤良仁、成島千文、米倉裕一、櫻井 廣、荒川善行、大澤純也 : 岩手工技セ研報、5,139(1998)
- 3) 畑山 誠、大沢美千代、大澤純也、荒川義行、櫻井 廣 : 岩手工技セ研報、5,209(1998)
- 4) 食品産業環境保全技術研究組合編 : 未利用資源の有効利用技術を探る、食品産業環境保全技術研究組合、p.243(1999)
- 5) しょうゆ試験法編集委員会編 : 「しょうゆ試験法」、(財)日本醤油研究所(1985)
- 6) 戸枝一喜、川端康之、柴本憲夫 : 酵素利用技術及び高圧・高熱処理技術を応用した新しい食品の開発に関する研究 平成7年度中小企業庁技術開発研究成果テキスト」中小企業庁(1997)
- 7) 牧野義雄、白川武志 : 第10回廃棄物学会研究発表会講演論文集、p.325(1999)
- 8) 田中賢二、小宮山昌子、園元謙二、石崎文彬 : 農化、73,258(1999)