

畜産未利用資源からの有用成分の抽出 (第Ⅱ報)

岸 敦*、大澤 純也*

特有の臭気を持つ内臓を試料とした場合の調味液調整を目的として、消臭のために醤油麹菌による肉麴の調製を行った。醤油を調製する場合の窒素源となる大豆の代わりに牛内臓(心臓、肝臓、腎臓、肺臓)を用いて、糖源である小麦との量比、培養時間を検討した。その際の麹菌プロテアーゼ活性を測定し麹菌による内臓の分解が良い条件を検討した。その結果、麹菌プロテアーゼ活性が上昇するためには糖源(小麦)と、2日以上培養時間が必要であることが判明した。麹菌を繁殖させることにより内臓臭気がかなり減少した。

キーワード: 臭気、肉麴、麹菌プロテアーゼ

Extraction of Available Components from Meat Processing Waste

KISHI Atushi and OHSAWA Junya

Smell of intestines is a big problem for using them as seasonings materials. To remove the stench we used shoyu koji kinn (*Aspergillus sojae*) and prepared niku koji which is similar to shoyu koji. In this study, the population of wheat as glucose source and intestines as nitrogen source is examined. Finally, conditions for preparing niku koji which has a little smell of intestines and high activity of shoyu koji kinn to make enough amino acids from intestines are determined.

key words: smell of intestines, shoyu koji kinn, niku koji

1 結 言

畜肉加工の際に生じる骨、血液、一部の内臓等はほとんど利用されず廃棄物扱いされているが、組成的にはタンパク質を多く含むことからアミノ酸へと変換することにより調味液として利用することができる。しかし内臓を原料とした場合はその特有の臭気が問題となり調味液原料とはなりにくい。消臭には原料を塩溶液に浸漬するあるいは最終産物を活性炭等で脱臭するなどの方法がある。魚を原料とした魚醤に見られるように、原料の不快感を押さえ独特な風味を持つ調味液を調製することも出来る。魚醤は魚自身の持つ酵素による分解であるが、微

生物による発酵で同様に消臭とタンパク質の分解の同時進行が可能である。このような技法を応用し、醤油麹菌の作用により内臓臭を軽減するような発酵調味料である肉麴の調製について検討した。

2 実験方法

2-1 原材料

原料は、醤油用小麦麹 ST(W)、大豆(S)、牛心臓(H)、牛肝臓(L)、牛腎臓(K)、牛肺臓(Lu)。牛内臓類は、共同研究者である(株)岩手畜産流通センターからの供与物を使用した。

* 応用生物部

2-2 肉麴の調製

上記材料を用いて表1の方法で肉麴を調製した。麴麦はそのままで、大豆は一晩水に浸漬後オートクレーブ処理して粉碎し、牛内臓類は粉碎後オートクレーブ処理して使用した。混合比は表1に示したように小麦のみ(W100)、大豆のみ(S100)、小麦と大豆(W/S)=50/50、内臓と小麦(H/W)=100/0、75/25、50/50、25/75とし、それぞれに醤油麹菌(Aspergillus sojae)を1/500重量加え培養した。

表1 肉麴調製手順

(g)	麴麦	大豆	内臓	麹菌
W100	200	-	-	0,4
S100	200	-	-	0,4
W/S=50/50	100	100	-	0,4
H/W=100/	-	-	200	0,4
=75/25	50	-	150	0,4
=50/50	100	-	100	0,4
=25/75	150	-	50	0,4

↓25℃、湿度90%、48hr

肉麴

2-3 肉麴のプロテアーゼ活性分解度測定

醤油分析法¹に従いミルクカゼインを基質とし、肉麴中のプロテアーゼ活性を測定した。

2-4 肉麴のプロテアーゼ活性の経時変化の検討

a 酵素による分解度

図1(a)に示すように、調製した肉麴に水のみ(SD)又は水と酵素(フレーバーザイム)を加え(FD)50℃で一晩攪拌分解した。遊離したアミノ酸をオルトフタルアルデヒド(OPA)複合体とし、Serを定量する方法^{2,3,4}により分解度を測定した。これによりSDでは肉麴に繁殖した麹菌のプロテアーゼのみによる分解を、FDでは麹菌の

肉麴(0, 24, 48hr)10g+水30ml

↓

+フレーバーザイム(Flavorzyme Digestion=FD)

or none(Self Digestion=SD)

↓50℃、O/N

sup → 500ul

↓濾過、希釈 ↓

OPA法分解度測定 +1vol 6N HCl, 110℃、O/N

=酵素による分解(a) ↓乾燥溶解500ul, 希釈

OPA法分解度測定

=HClによる完全分解(b)

図1 肉麴のプロテアーゼ活性の経時変化測定

プロテアーゼと添加した酵素による分解を測定した。な

お経時変化を測定するため0hrを1日目として、2, 3日目それぞれについて検討した。

b 塩酸による完全分解

図1(b)に示すように、肉麴を麹菌プロテアーゼ又は麹菌プロテアーゼと酵素により分解した物をさらに塩酸で完全分解し、それを(a)と同方法で分解度を測定した。

2-5 肉麴エキスの培養細胞に対する影響

肉麴分解物(SD, FD)を熱処理酵素失活させ、乾燥後PBSに溶解しL-Ser量0.1mg/mlを指標として希釈後、図2のように培養細胞に加えWST-1法により細胞増殖影響を検討した

U-937細胞 5×10³個/100μl 培地

↓+SD or FD液 10μl

37℃、培養 3日

↓+WST-1試薬 10μl

37℃、3hr

↓

吸光度測定450nm

図2 細胞増殖に対する影響検討手順

3 結果

3-1 肉麴原料混合比の比較

肉麴調整時の糖源(小麦)と窒素源(畜肉シチ:内臓)の量比検討のため麹菌のプロテアーゼ活性を比較(図3)した結果、醤油麹を調整する際の条件(W/S=50/50)と比較して同程度の麹菌のプロテアーゼ活性を得ることができる条件(H/W=75/25, 50/50)が判明した。予備実験の結果から窒素源としての内臓の種類による麹菌の生育には違いが見られなかったことから今回は心臓シチを使用した。心臓のみ(H/W=100/0)では麹菌の発育も悪くプロテアーゼ活性も無いことから糖源は最小限必要であることが解った。このことから内臓シチ/小麦=90/10、50/50の割合で肉麴を調整し、以後の実験を行うこととした。

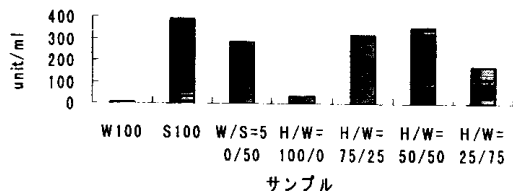


図3 異なる原料比の肉麴のプロテアーゼ活性 (48hr) W:小麦, S:大豆, H:牛心臓

3-2 肉麩のプロテアーゼの経時変化

2-4に示したように肉麩を肉麩自身の麩菌プロテアーゼで分解した場合(図4-1)とさらに酵素フレーバーザイムを添加し分解した場合(図4-2)のそれぞれについて、OPA測定値aとbを求めた。測定値aは麩菌プロテアーゼにより分解され遊離されたアミノ酸量または麩菌プロテアーゼ+フレーバーザイムにより分解され遊離されたアミノ酸量を表している。一方測定値bは塩酸によって完全分解され遊離したアミノ酸量を示している。したがって、測定値aとbの比率(b/a)の値が1.00であれば麩菌プロテアーゼまたは麩菌プロテアーゼ+フレーバーザイムによる分解が完全に行われていることを示し、b/aの値が大きくなるほど分解は進んでいないことを示す。

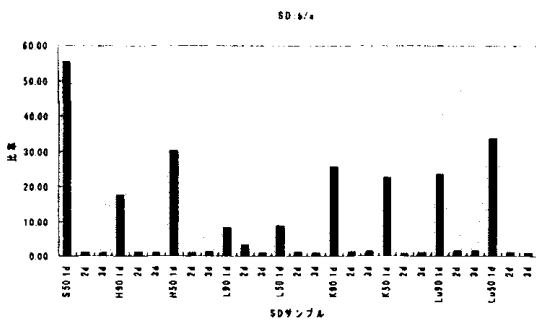


図4-1 肉麩アミノ酸遊離度: SD

S:大豆, H:牛心臓, L:牛肝臓, K:牛腎臓, Lu:牛肺臓
 サンプル名例 S50 1d =大豆50%(小麦50%)1日
 H90 3d =牛心臓90%(小麦10%)3日

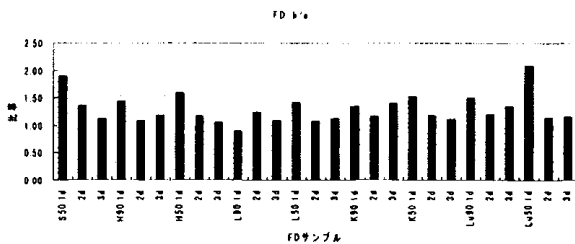


図4-2 肉麩アミノ酸遊離度: FD

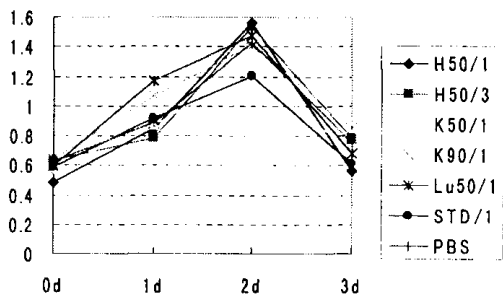


図5 WST-1 assayによるu-937細胞増殖に対する影響

- ・サンプルは全て麩菌プロテアーゼ分解物(SD)
- ・スタンダード(STD)はW/S=50/50

3-3 肉麩エキスが培養細胞に与える影響

ほとんどのサンプルで増殖阻害が見られ、図5に示した一部のSDサンプルでやや増殖促進が見られた。

4 考 察

肉麩に繁殖する麩菌のプロテアーゼ活性の経時変化を検討した結果、図4-1のb/a値から、SD(肉麩に繁殖した麩菌プロテアーゼのみによる分解)の場合麩調整1日目(0hr)では塩酸で分解した場合遊離するアミノ酸量は麩菌プロテアーゼ分解により遊離する量の数十倍となっている。これは麩菌プロテアーゼ分解由来の遊離アミノ酸が限界値の数十分の1しか含まれていないことを示す。しかし2日目(24hr)、3日目(48hr)ではb/aの値は1~2であり麩菌プロテアーゼによりほぼ限界まで分解されている。図4-2からFD(肉麩に繁殖した麩菌プロテアーゼ+添加した酵素剤フレーバーザイムによる分解)では酵素剤フレーバーザイムによりほとんどアミノ酸まで分解が進むため、麩調整1日目(0hr)でもHCl分解との比率はほとんど1である。更に肉麩の2日目以降を麩菌プロテアーゼで分解した結果遊離してくるアミノ酸量(SDのa値)は、フレーバーザイムを添加した場合(FDのa値)と変わらないという結果を得ている。よって肉麩を調整した場合、2日目以降であれば麩菌プロテアーゼによる自己分解(SD)でも酵素剤フレーバーザイムを併用した場合(FD)と同程度の遊離アミノ酸を得ることができる。しかし、麩菌プロテアーゼによる自己分解物は酵素剤フレーバーザイムを使用した場合と比較すると苦味を感じることから苦味を呈する短鎖ペプチドが生成されている可能性がある。

調製した肉麩は麩菌の生育がよい物ほど内臓臭が減少していた。これは麩菌の臭いにより内臓臭がマスキングされているためであろうと考えられる。また、湿度90%中での調製にも関わらず最終的にかなり乾燥するため雑菌の繁殖が抑さえられ、腐敗防止になっているようである。

実際に肉麩を分解し、調味液として利用することを考えた場合、上述の苦味、臭気の問題からフレーバーザイムを併用して分解する方法が望ましいと考えられる。

図5から1日目での麩菌プロテアーゼ分解物(SD)中にいくつか増殖促進傾向が見られたが、1日目肉麩では麩菌プロテアーゼ活性はほとんど無いと考えられるので畜肉自体に何らかのアミノ酸やペプチドが含まれていたであろうと考えられる。肉麩エキスの機能性については使用する細胞、検索目標などを検討し今後の課題としたい。

5 結 語

今回の実験結果から、微生物を利用することは内臓臭

を押さえた調味液調に有効であることがわかった。

今後、原料となる内臓について、臭気の強い物と弱い物を混合し全体の臭気を弱くするなどの検討も必要である。また、使用する麹菌の種類も検討する予定である。

調製した調味液を実際にソーセージ等に添加し試食試験を行った結果(平成10年度センター公開)特に不評は無く十分に使用できると考えられた。今後調製条件を検討することにより更に良い製品が出来るものと期待される。

本研究を実施するに当たり、原料を提供して下さった共同研究者(株)岩手畜産流通センター、種麹、麹麦を提供して下さった八木沢醤油に感謝いたします。

また、本件級は農林水産省地域先端技術共同研究促進事業の一環により実施した。

文 献

- 1) (財) 日本醤油研究所しょうゆ試験法編集委員会.
しょうゆ試験法p. 286-289., (1985)
- 2) J. Adler-Nissen, Enzymic Hydrolysis of Food Proteins.
Elsevier Applied Science, New York., (1986)
- 3) K. Pommer, % DH Determination Based on TNBS
Analysis. EF9415317/KPo, Novo Nordisk A/S. DK.,
(1994)
- 4) C. Dambmann, Proteinase Determination using Casein
as a Substrate .CPU-Determination. AF 228/1-GB,
Novo Nordisk A/S. DK., (1988)