

醸造粕類の有効利用による調味料の製造

田代豊雄・武田真紀・藤田悦子
平野賢一*・平岡芳信**・篠原藤之助***

(愛媛大学教育学部食品化学研究室)

(平成2年10月1日受理)

Production of Seasonings from Brewing Residues by Use of Enzymes

Toyoo TASHIRO, Maki TAKEDA, Etsuko FUJITA, Kenichi HIRANO*,
Yoshinobu HIRAOKA**, and Tōnosuke SHINOHARA***

Laboratory of Food Chemistry, Faculty of Education,

Ehime University, Matsuyama-shi, Ehime 790

(Received October 1, 1990)

- (1) Seasoning solutions could be produced from *Sakekasu* (brewing residues of *Sake* (rice wine)) through the action of protease, autolysis solution of *Aspergillus oryzae*, and bacteriolytic enzyme, and in addition, of nuclease, and deaminase. The seasoning solutions possessed good flavor and taste.
- (2) The best condition of producing the seasoning solution from *Sakekasu* was found as follows : the protease (0.2% to material), the autolysis solution of *Komekōji* (20%), and the bacteriolytic enzyme (0.2%) are added to *Sakekasu*, and the mixture is kept for 24 hours at 50°C. Then, it is heated for 20 minutes at 100°C for inactivating phosphatase of impure substances contained in it. Further, the nuclease (0.3% to material) and deaminase (0.3%) are added into this solution, and the mixture is kept for 24 hours at 60°C. After being heated for 20 minutes at 100°C, the solution is centrifuged. In such a way, a good seasoning solution can be produced.
- (3) As for the chemical contents of the seasoning solutions, one example solution showed moisture of about 80%, total nitrogen of about 1%, free amino acids of about 4.5%, car-

* 天野製薬株式会社

Amano Pharmaceutical Co. Ltd. Nishiharu-cho, Aichi 481

** 愛媛県工業技術センター

Ehime Prefecture Industrial Research Center, Matsuyama-shi, Ehime 790

*** 桜うづまき酒造株式会社

Sakurazumaki Brewing Co. Ltd. Hōjō-shi, Ehime 799-24

bohydrates of about 10%, glucose of about 9%, and inosinic acid of 150 mg /100ml.

Free amino acids, nucleic acid related substances, and glucose seem to have a strong connection with good taste of the seasoning solution.

全国における清酒、味醂、焼酎など各種のアルコール飲料や醸造調味料の生産量は著しく多く、その際に副生する醸造粕類も多量である。従来から醸造粕類は、一部は粕取焼酎用、漬物用、食用、飼料用などとして使用され、又一部は調味液の製造原料にも利用されている。しかし、醸造粕類の殆んどは廃棄されている。

従来における醸造粕を利用して製造した調味液は香り、呈味において満足出来るものでなく、製造された調味液にアルコール、糖類、食塩などを加えて調味する必要があった。

そこで、筆者等は醸造粕類に蛋白分解酵素系、核酸分解酵素系の複数の酵素類を作用させることによって、従来には無い良好な調味液を製造することが出来たので報告する。

試料及び実験方法

1. 試料

醸造粕類：清酒、味醂等の醸造において圧搾濾過によって残った搾り粕である。

清酒粕（A社及びB社製）及び味醂粕（A社製）の冷凍保存したものを必要に応じて逐次解凍し実験に供した。

2. 酵素類

(1). プロテアーゼB（天野製薬KK製，酵素力価5,000 PU／g）：蛋白分解酵素。

Penicillium citrinum より得られた淡黄色の粉末で，至適温度45℃，至適 pH 7.0である。

(2). YL-5（天野製薬KK製）：溶菌酵素。*Acromobacter lunatus* より得られた淡黄色の粉末で，至適温度50～55℃，至適 pH 7.0である。

(3). ヌクレアーゼ（天野製薬KK製）：核酸分解酵素。*Penicillium citrinum* より得られた淡黄色の粉末で，至適温度70℃，至適 pH 5.3である。

(4). デアミザイム（天野製薬KK製）：デアミナーゼ。*Aspergillus melleus* より得られた淡黄褐色の粉末で，至適 pH 5.6である。

3. 麴菌自己消化液^{1,2)}

ペプチダーゼ（エキソペプチダーゼ）の酵素剤として麴菌自己消化液を使用した。麴菌自己消化液は米麴又は醤油麴1kgに対し食塩濃度10%の冷食塩水1.5ℓを加え，低温（10℃以下）にて熟成させ，7～10日後に濾過して得られる。

4. 醸造粕類の一般成分分析

清酒粕，味醂粕について一般成分及びエチルアルコールの分析を行った。蛋白質はマイクロケルダール窒素定量法（窒素係数6.25），脂質はエチルエーテル抽出法，繊維はAOAC法，灰分は直接灰化法等の常法によって，又，エチルアルコールは酸化法³⁾によって定量した。水分は乾燥法による定量値からアルコール定量値を差引いて求めた。糖質は水分，蛋白質，脂質，

繊維，灰分，エチルアルコール以外のものとして控除法で算出した。

5. 蛋白分解酵素系の利用による調味液の製造

(1). 米麴自己消化液の添加による調味液

試料に清酒粕，味醂粕を用い，図1に示す実験操作にて調味液を作った。

これらの醸造粕類に蛋白質含量が多いことから，呈味成分のアミノ酸類，低分子ペプチド類を生成させる目的で，市販の蛋白分解酵素を作用させ，更に，粕中の酵母菌の蛋白質を利用する観点から酵母細胞膜を溶解させる目的で，市販の溶菌酵素も作用させた。なお，市販の蛋白分解酵素はエンドペプチダーゼが主成分で，エキソペプチダーゼの含量が少ないことから，蛋白分解生成物が苦味を呈する可能性がある。そこで，麴菌自己消化液（エンドペプチダーゼ，エキソペプチダーゼ含有）を同時に添加，作用させた。

これらの酵素作用過程における腐敗防止と酵素作用の最適温度を勘案して，酵素作用は50℃にて行った。

酵素作用後の生成物，即ち調味液について色，におい，味を調べた。

(2). 米麴自己消化液又は醤油麴自己消化液の添加による調味液の比較

試料に清酒粕を用い，試料50gに対し米麴自己消化液又は醤油麴自己消化液の10ml（試料に対し20%）を添加する条件にて，図1に示す実験操作によって調味液を作った。

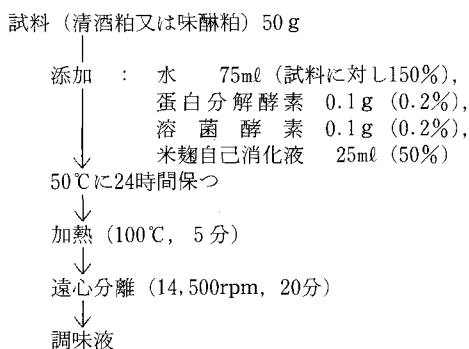


図1. 蛋白分解酵素系の利用による調味液の製造法

6. 核酸分解酵素系の利用による調味液の製造

試料に清酒粕を用い，図2に示す実験操作にて調味液を作った。

清酒粕に含まれる酵母菌の核酸を分解し，5'-アデノシンリン酸（5'-AMP）を生成させる目的で，市販の核酸分解酵素を作用させ，更に，5'-AMPを旨味呈味物質の5'-イノシンリン酸（5'-IMP）に変える目的で，市販のデアミナーゼを作用させた。

試料に対し核酸分解酵素及びデアミナーゼの添加量0.2%又は0.5%のものについて実験を行った。

なお，5'-IMP生成後に，混在するホスファターゼにより5'-IMPが脱リン酸されて，旨味のないイノシンに変化するのを防ぐ目的で，即ち試料の清酒粕中のホスファターゼを不活性化させ

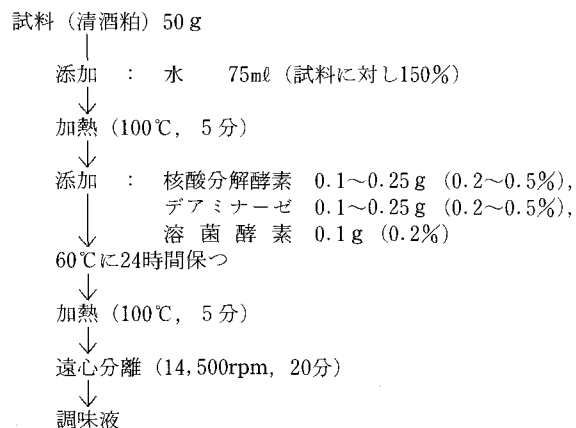


図2. 核酸分解酵素系の利用による調味液の製造法

るために、酵素類を添加する前に試料を加熱（100℃，5分）した。

又、市販の核酸分解酵素に混在するホスファターゼの作用を防止するためと、これらの酵素作用の最適温度を勘案して、酵素作用は60℃にて行った。

酵素作用後の生成物、即ち調味液について色、におい、味を調べた。

7. 蛋白分解酵素系と核酸分解酵素系の二段階利用による調味液の製造

試料に清酒粕を用い、図3・1～2に示す実験操作にて調味液を作った。

試料（清酒粕）100 g

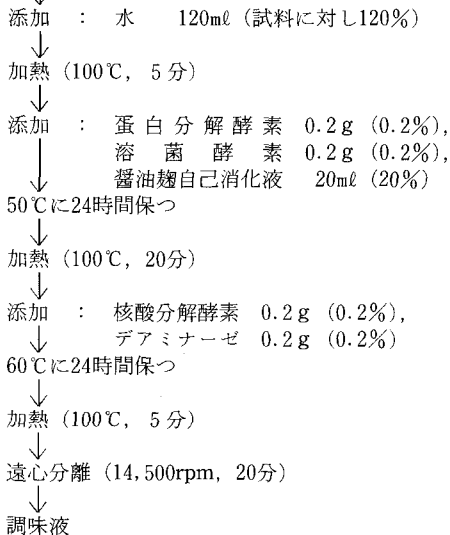


図3・1 蛋白分解酵素系及び核酸分解酵素系の二段階利用による調味液の製造法

試料（清酒粕）500 g

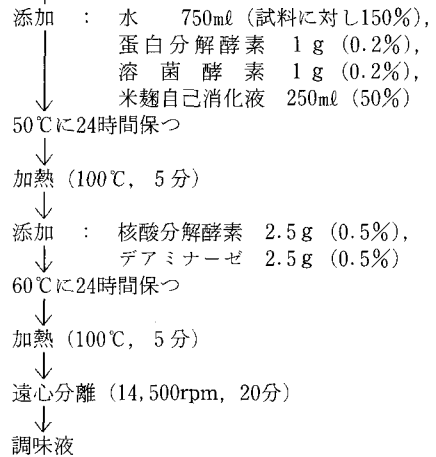


図3・2 蛋白分解酵素系及び核酸分解酵素系の二段階利用による調味液の製造法

清酒粕に、初段階として、前記の実験5の例に従って、蛋白分解酵素、溶菌酵素、麹菌自己消化液を作用させ、その後、混在するホスファターゼを不活性化するために加熱し、二段階として、実験6の例に従って、核酸分解酵素、デアミナーゼを作用させた。ただし、初段階で溶菌酵素を作用させてあるので、二段階の時にはこの酵素は添加しなかった。

これらの酵素作用後の生成物、即ち調味液について、色、におい、味を調べた。又、この調味液について一般成分及び遊離アミノ酸類を常法⁴⁾により定量した。

図3・2の実験操作において、清酒粕に対して蛋白分解酵素系及び核酸分解酵素系の酵素類を二段階にて作用させて得られる調味液、蛋白分解酵素系のみの酵素類を作用させて得られる調味液、何れの酵素系も作用させずに得られる調味液について、呈味を比較して調べるとともに、呈味成分のグルコース、イノシン酸などを分析した。グルコースは酵素法であるグルコースBテスト（和光純薬製）を使用し、イノシン酸は酵素法⁵⁾によって定量した。

結果及び考察

1. 醸造粕類の一般成分含有量

清酒粕及び味噌粕の一般成分及びエチルアルコールの分析値を表1に示した。

何れの醸造粕にも窒素含量が多く、粗蛋白質として清酒粕に約16%、味噌粕に約34%も含まれている。なお、清酒粕には繊維以外の糖質が多く、約29%も含まれる。醸造粕類は蛋白質が多いことから、蛋白分解酵素を使用すれば、調味液に再生利用が可能と判断された。

表1 醸造粕類の成分含量 (%)

成分	試料		
	清酒粕A	清酒粕B	味噌粕
水分	42.8	50.6	33.1
蛋白質	15.9	12.7	34.4
脂質	1.2	—	5.0
糖質	28.9	—	16.4
繊維	1.3	1.3	4.3
灰分	0.5	0.4	0.8
アルコール	9.4	9.8	6.0

2. 蛋白分解酵素系利用による醸造粕原料調味液

図1の操作によって得られた調味液の色、におい、味について表2に示した。

又、清酒粕に対し米麴自己消化液又は醤油麴自己消化液を20%に添加して、図1の操作によって得られた調味液の色、におい、味について表3に示した。

表2、3から分かるように、蛋白分解酵素（エンドペプチダーゼ）の添加により旨味成分（アミノ酸類、低分子ペプチド類）が生成され、麴菌自己消化液（エキソペプチダーゼ、エンドペプチダーゼを含有）の添加により、苦味の感じない、旨味、甘味のある調味液が得られた。米麴自己消化液添加では、清酒粕原料の

方が味噌粕より味の良い調味液が得られ、味噌粕原料では味にくせがあり、そのまま調味液として利用するには問題がある。米麴自己消化液の添加の調味液は淡黄色の甘酒臭を持つが、醤油麴自己消化液添加の調味液は淡黄色で比較的濃い色になり、多少ながら醤油醗酵臭がある。

米麴自己消化液20%添加調味液では50%添加のものより味がうすい。

表2 醸造粕原料の調味液（蛋白分解酵素系・米麴自己消化液添加による）の呈味

試料	色	におい	味
清酒粕A	淡黄色	甘酒臭	甘味強い、味良い
味噌粕	淡褐色	甘酒臭	甘味あり、味うすい、多少酸味、くせ味、清酒粕より味おちる

表3 清酒粕原料の調味液（蛋白分解酵素・米麴自己消化液又は醤油麴自己消化液添加による）の呈味

試料	色	におい	味
清酒粕A、米麴自己消化液添加のもの	淡黄色	甘酒臭	甘味強い、旨味あり、苦味なし
清酒粕A、醤油麴自己消化液添加のもの	淡黄色	麴醗酵臭	甘味強い、旨味強い、苦味なし、米麴の場合より味濃厚

3. 核酸分解酵素系利用による清酒粕原料調味液

図2の操作によって得られた調味液の色, におい, 味について表4に示した.

表4 清酒粕原料の調味液(核酸分解酵素系添加による)の呈味

試料	色	におい	味
清酒粕A, 酵素0.2% 添加のもの	淡黄色	甘酒臭	甘味, 旨味, 酸味あり
清酒粕A, 酵素0.5% 添加のもの	淡黄色	甘酒臭 強い	甘味, 旨味, 酸味あり, 味濃厚

表4に記載のように, 核酸分解酵素系のヌクレアーゼ及びデアミザイムの添加により, 旨味のある調味液が得られた. これらの酵素類の添加量の味への影響を調べた結果, 0.2%添加の場合よりも0.5%添加によって得られた調味液の方が濃厚な味であった. しかし, これらの調味液

について, 核酸関連物質の定量分析を行ったが, 高速液体クロマトグラフィーによる分析方法⁶⁾では呈味成分の5'-イノシンーリン酸(5'-IMP)及び5'-グアノシンーリン酸(5'-GMP)は何れの調味液にも検出されなかった. このことは, 酵素作用の前に粕中のホスファターゼを不活性化するために清酒粕を100℃5分加熱しているが, この加熱条件が不十分なためであろう. 別報⁷⁾によれば, ホスファターゼを不活性化するためには100℃20分の加熱が必要である.

4. 蛋白分解酵素系と核酸分解酵素系の二段階利用による清酒粕原料調味液

図3・1の操作によって得られた調味液の色, におい, 味について表5に示した.

表5に記載のように, 清酒粕に蛋白分解酵素系及び核酸分解酵素系の酵素類を二段階で作用させることによって, 濃厚な旨味の強い調味液が得られた. この調味液の一般成分分析値を表6に, 又遊離アミノ酸類の含有量を表7に示した.

表6にあるように, これらの清酒粕原料調味液には水分含量が多いので, 今後は, 調味液の製造に当って清酒粕に対し水分添加量を減ずる必要がある. 清酒粕調味液には粗蛋白質が多く, 表7にある

ように, 遊離アミノ酸類が多量に含まれ, 調味液の良好な呈味に関与している. 又, 糖質も多く含まれ, グルコース, 麦芽糖として存在し, 調味液に甘味を付与している.

図3・2の操作によって得られた調味液の場合に, 酵素類無添加の調味液はすっぱ味, 刺激味があり, 調味液として使用不可能であった. 蛋白分解酵素系のみ作用の調味液は前記の表2

表5 清酒粕原料の調味液(蛋白分解酵素系・核酸分解酵素系の二段階添加による)の呈味

試料	色	におい	味
清酒粕A	黄褐色	甘酒臭	旨味強い, 甘味強い, 酸味多少あり, 複合的な味

表6 清酒粕原料調味液の成分含量 (%)

成分	試料	清酒粕A原料調味液	清酒粕B原料調味液
	水分		84.3
蛋白質		6.3	5.8
脂質		0.2	0.2
糖質		8.4	12.3
灰分		0.8	1.1

表7 清酒粕原料調味液の遊離アミノ酸の含量 (mg/100ml)

試料 アミノ酸	清酒粕A原料調味液	清酒粕B原料調味液
アスパラギン酸	310	420
スレオニン	540	450
セリン	310	170
グルタミン酸	470	350
プロリン	230	190
グリシン	210	190
アラニン	240	190
シスチン	—	—
バリン	280	180
メチオニン	170	120
イソロイシン	290	210
ロイシン	360	260
チロシン	250	160
フェニルアラニン	260	160
リジン	310	190
ヒスチジン	100	50
アルギニン	410	210
総計	4,740	3,500

に示されたように甘味、旨味があり、良い味であるが、更に二段階で核酸分解酵素系の酵素類添加の調味液は、表5に示されたように、イノシン酸(5'-IMP)、その他の核酸関連物質の味も加わり濃厚な味になった。

これらの調味液のグルコース、イノシン酸などの分析値を表8に示した。

清酒粕に蛋白分解酵素、米麹自己消化液、更には核酸分解酵素、デアミナーゼなどの酵素類を作用さすことにより、フォルモール態窒素(アミノ酸類)、グルコース、イノシン酸(5'-IMP)などの呈味成分が増加している。

表8 清酒粕原料調味液のフォルモール態窒素、グルコース、イノシン酸の分析値

項目	酵素系		蛋白分解酵素系・核酸分解酵素系の添加		
	無添加	蛋白分解酵素系の添加	無添加	蛋白分解酵素系の添加	蛋白分解酵素系・核酸分解酵素系の添加
全 N	%	0.70	0.70	0.73	
フォルモール態N	%	0.36	0.41	0.44	
フォルモール態N/全N	%	52.0	58.1	59.5	
グルコース	%	7.5	9.9	9.4	
イノシン酸	mg/100ml	—	70	150	
エチルアルコール	%	2.3	2.2	2.4	
B r i x		16.9	20.9	20.5	

5. 清酒粕原料調味液の製造条件

清酒粕原料調味液の製造における酵素剤添加等の基本的条件は図3・2に記載のものであるが、更に麹菌自己消化液の添加量、核酸分解酵素系酵素類の添加量などについて検討した。しかし、これらの実験は図3・2における清酒粕及び添加物の量はすべて10分の1にして行った。

(1). 米麹自己消化液の添加量

米麹自己消化液の添加量、清酒粕に対し0%~50%、即ち、0、10、15、20、25mlについて検討した。その結果、米麹自己消化液の無添加では苦味があり、実用的でなかった。10ml以上の添加量では苦味はなく、殆んど同じ様な好呈味であった。なお、米麹自己消化液の食塩濃度は約10%であり、基本的条件で製造された調味液では2.5%の食塩濃度になっているが、米麹自己消化液の添加量を10mlにすると食塩濃度は1%となる。

(2). 米麴自己消化液に代わる酵素剤の検討

米麴自己消化液の代わりに苦味消去能の強い酵素剤であるアマノ・ペプチダーゼRを添加して検討した。0.2%の添加について調味液の呈味を調べたが、苦味の生成を抑えることが出来なかった。

(3). ヌクレアーゼとデアミザイムの添加量

これらの核酸分解酵素系酵素の添加量について検討したが、その結果を次の表9に示した。この表9から分かるように、ヌクレアーゼ及びデアミザイムは何れも清酒粕に対して0.3%

表9 ヌクレアーゼ，デアミザイムの添加量 (試料に対する%)

ヌクレアーゼ %	デアミザイム %	呈 味 性
0	0.2	味深みなし，甘味強い
0.2	0.2	甘味強い
0.3	0.2	良
0.5	0.2	良
0	0.3	味深みなし，甘味強い
0.2	0.3	甘味強い
0.3	0.3	良
0.5	0.3	良
0	0.5	味深みなし，甘味強い
0.2	0.5	甘味強い
0.3	0.5	良
0.5	0.5	良

の添加で，十分に味の良い調味液が得られる。

(4). 醸造粕中のホスファターゼの不活性化

別報⁷⁾によれば，醸造粕中のホスファターゼを不活性化させるためには100℃20分以上加熱する必要がある。

要 約

(1) 清酒粕に蛋白分解酵素系（市販蛋白分解酵素，麴菌自己消化液，市販溶菌酵素）及び核酸分解酵素系（市販核酸分解酵素，市販デアミナーゼ）の酵素類を添加，作用させることによって，旨味，甘味のある良好な味の調味液を製造することが出来た。

(2) 清酒粕原料調味液の最も良い製造条件は次の通りである。原料に蛋白分解酵素（エンドペプチダーゼ）（原料に対し0.2%），米麴自己消化液（20%），溶菌酵素（0.2%）を添加し，50℃にて24時間作用させる。次いで，加熱（100℃20分）後，核酸分解酵素（0.3%），デアミナーゼ（0.3%）を加え，60℃にて24時間作用させる。これを加熱（100℃20分）後，遠心分離し，調味液を得る。

(3) 製造された清酒粕原料調味液には，一例として，水分約80%，全窒素約1%，遊離アミノ酸約4.5%，糖質約10%，グルコース約9%，イノシン酸150mg/100ml含まれていた。これらの遊離アミノ酸類，核酸関連物質が調味液の旨味に，グルコースを主体とした糖類が甘味に関与している。

文 献

- 1) 田代豊雄・白方智子・藤田悦子・松下至・平岡芳信：愛媛大学教育紀要，10，52（1990）。
- 2) 調味液の製法，特許出願人：上田化学工業KK，出願日：昭和62.9.17。
- 3) 日本醤油研究所編：醤油試験法，p 9，醬協通信社（1985）。

醸造粕類の有効利用による調味料の製造

- 4) 田代豊雄・田坂京子・安藤幾代・岡弘康・藤田悦子：愛媛大学教育紀要， **9**， 54 (1989)。
- 5) H. U. BERGMEYER： *Methods of Enzymatic Analysis*, 2 English Ed. **1**, p 2168, Acad. Press, Inc. (1974)。
- 6) 食品科学研究会編：食品分析データブック， No.1， p 43, 尚文社 (1988)。
- 7) 田代豊雄ほか：第208回日本農芸化学会西日本支部大会講演要旨 (平成2年10月， 於熊本工業大学)。