

平成24年度戦略的基盤技術高度化支援事業

「無塩味噌醸造技術及び新規穀類発酵食材の製造技術の開発  
ならびに発酵物の利用特性の把握」

研究開発成果等報告書

平成25年3月

委託者 関東経済産業局

委託先 公益財団法人新潟市産業振興財団

## 目次

### 第1章 研究開発の概要

1-1	研究開発の背景・研究目的及び目標	
1-1-1	研究開発の背景	1
1-1-2	研究目的及び目標	1
1-2	研究体制 (研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者)	2
1-3	成果概要	6
1-4	当該研究開発の連絡窓口	7

### 第2章 本論

2-1	酵母等を利用した発酵物の特性及び発酵方法の把握 (ラボスケール)	
2-1-1	発酵方法の検討	8
2-1-2	酵母と発酵物の特性把握	10
2-2	酵母等を利用した発酵物の特性及び発酵方法の把握 (プラントスケール)	
2-2-1	適正仕込条件の設定	12
2-2-2	調整条件の設定	13
2-2-3	安定流通条件の設定	14
2-3	醸造技術高度化のための用途別性状の把握	
2-3-1	発酵物の食材としての適性把握 (成分・物性等)	15
2-3-2	発酵物の食材としての適性把握 (調合等)	16
2-3-3	発酵物と米粉との複合利用についての検討	18

### 第3章 全体総括

3-1	研究開発成果	23
3-2	研究開発後の課題・事業化展開	24

## 第1章 研究開発の概要

### 1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

#### 1-1-1 研究開発の背景

**消費者ニーズの多様化と食のバラエティ化** 総務省家計調査によると、米の購入推移は減少傾向にある。これは、消費者の食に係る嗜好が伝統的な米を中心とした粒食から、食の欧米化嗜好に合わせパンや麺類といった小麦を中心とした粉食へと拡張し、食のバラエティ化が進んでいるためと考えられる。さらに消費者は、食に対し、楽しみや健康といった要素も重要視するようになった。この多様化したニーズに対応するため、消費者に直結した最終製品を製造する食品製造業者（川下食品製造業者）は、絶えず新しい味や健康イメージの高い調味料、素材を求めている。

**日本食の見直しと味噌の用途** 食のバラエティ化の一方で、古来からの日本食が見直され、伝統食品である発酵食品が有する栄養価や機能性についての再認識も進んでいる。大豆と米を主原料とする味噌は、発酵過程で分解が進むことでアミノ酸化が促され大豆本来の機能性に加え消化吸収性の向上など優れた特性を有しており、「ご飯に味噌汁（米と大豆の組合せ）」は、科学的にみてもアミノ酸バランスに優れ、機能性成分との相乗効果も期待できる。

しかしながら味噌は、醸造過程で繁殖する品質劣化微生物等を抑制している食塩の存在により、その用途が味噌汁等の調味料としての利用にほぼ限定される。

#### 1-1-2 研究目的及び目標

**目指したのは無塩味噌の川下食品製造業者への提供** そこで、塩分を全く含まない味噌製造技術を開発することができれば、従来の味噌のカテゴリーを超えた新しい発酵食品（無塩発酵物）が製造でき、川下食品製造業者に提供することで用途拡大や新製品開発が進み食品産業全体の活性化につながると考え、本研究に取り組むこととした。

**概要** 本研究開発の目的は、醸造過程での品質劣化微生物等の繁殖を、食塩を使用せずに抑制する技術を確認することである。さらに、従来の味噌とは異なる原料配合比や麹菌を使用し、無塩であるからこそ使用できる各種酵母及び乳酸菌との組合せによる発酵及びその発酵特性と利用特性を研究することである。

表1 発酵微生物や麹歩合等の組合せ例

(1)原料配合比	水分(50%~70%)、麹歩合(3~50歩)
(2)発酵微生物	ワイン酵母・パン酵母・植物性乳酸菌etc.
(3)熟度	短熟~超長熟

※通常味噌:水分(50%)、味噌用酵母菌、麹歩合(10歩)、熟度(短熟)

発酵物の利用特性については、成分や機能性評価とともに、全く新しい食品を想定し「味」

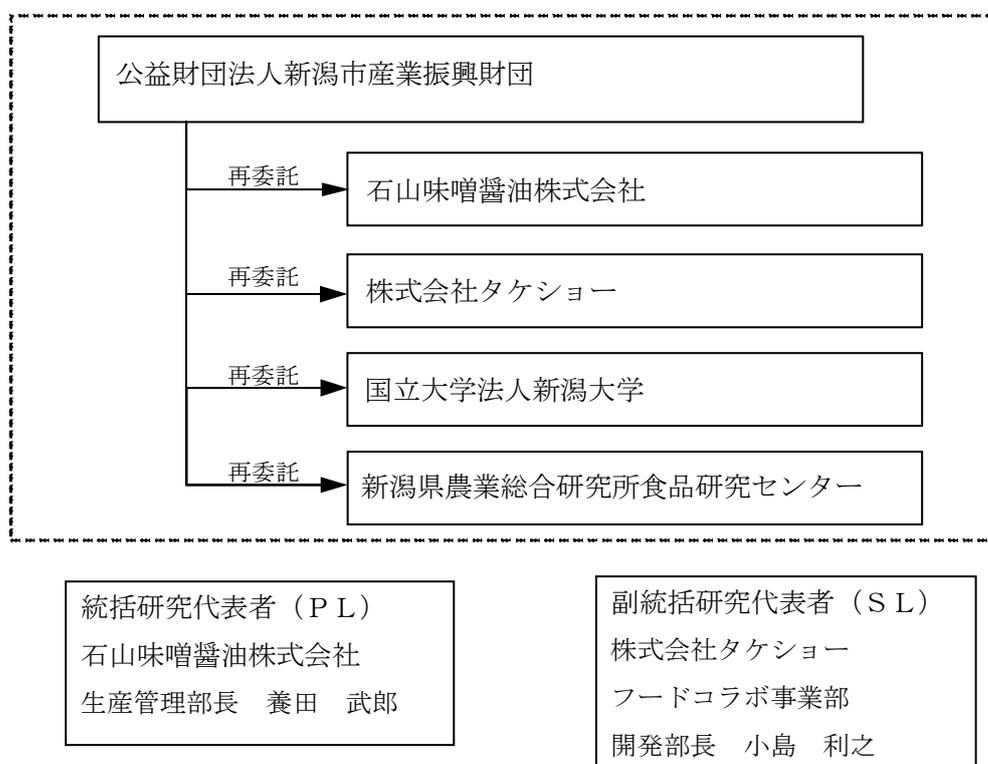
の分析も行った。また、米粉の利用普及が盛んである地域性や機能性の向上を念頭に、米粉との複合利用による新規の機能性食品の開発にも取り組むこととした。

【川下の抱える課題及びニーズ】◎食料品製造業に関する事項：多様化

【高度化目標】発酵微生物等の多様化・改良に係る技術の高度化

## 1-2 研究体制（研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者）

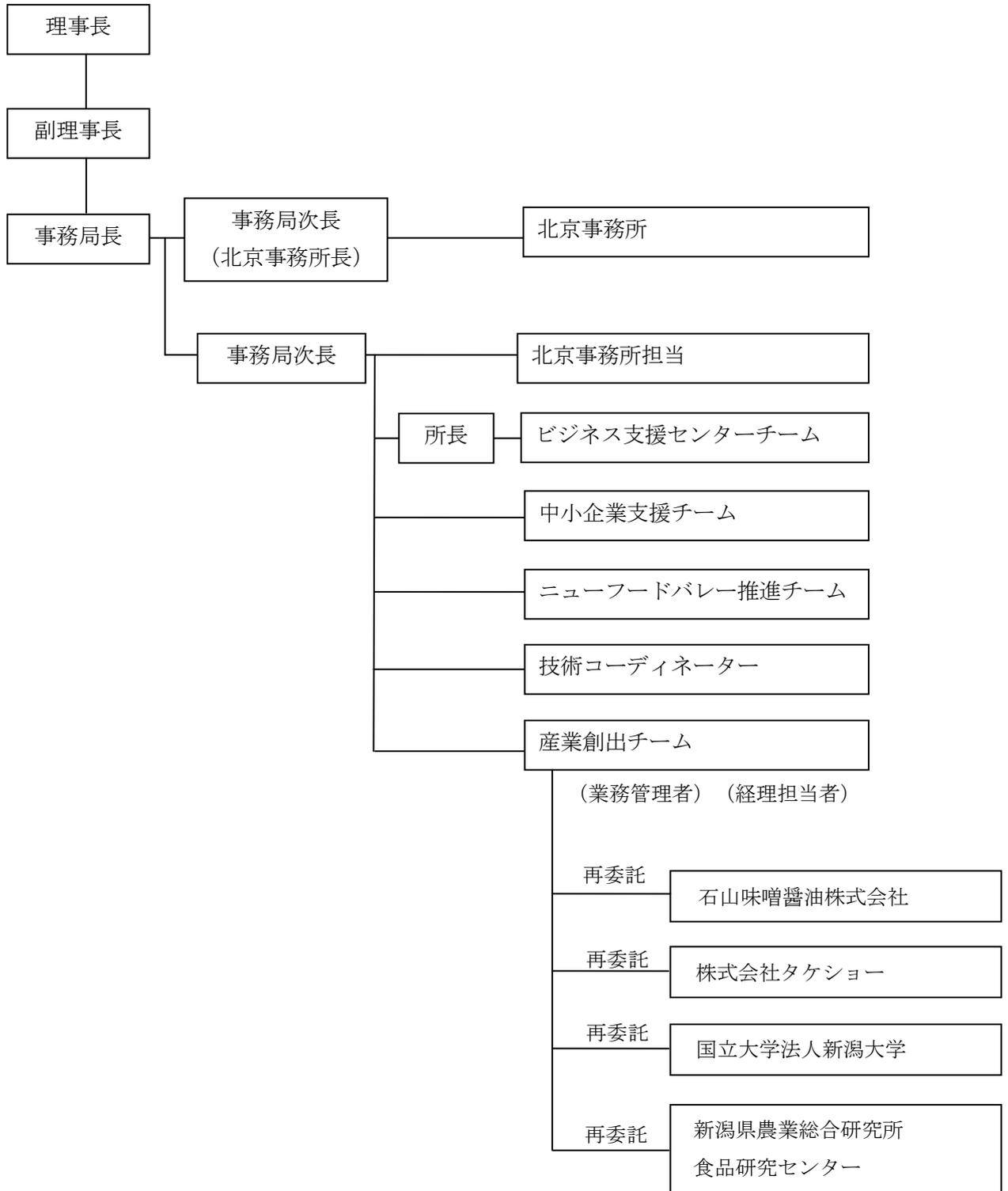
### 1) 研究組織



2) 管理体制

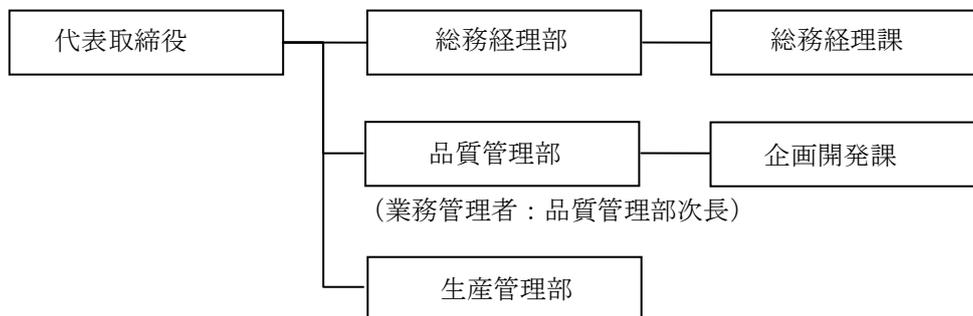
①事業管理機関

【公益財団法人新潟市産業振興財団】

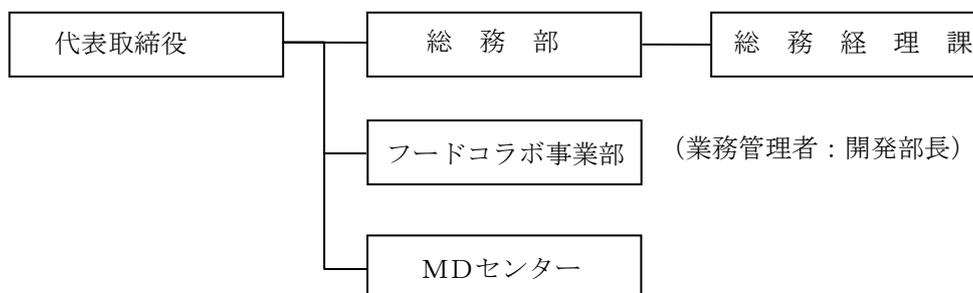


②再委託先

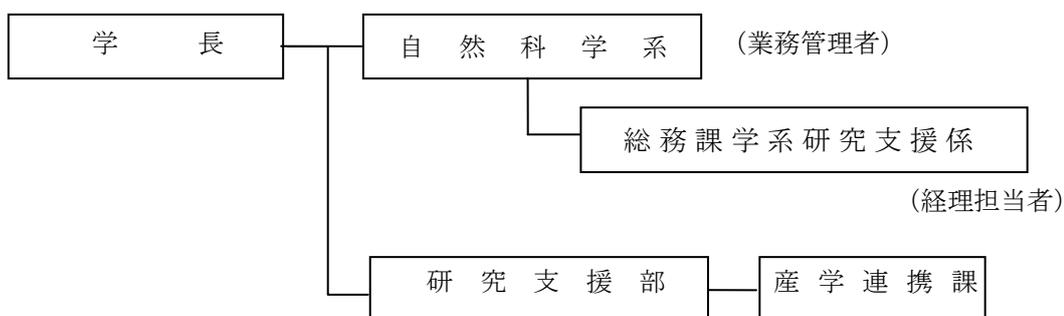
【石山味噌醤油株式会社】



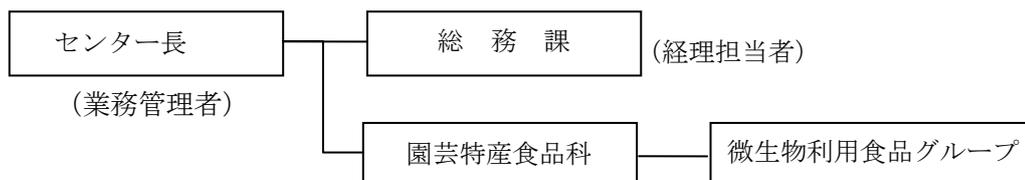
【株式会社タケショー】



【国立大学法人新潟大学】



【新潟県農業総合研究所食品研究センター】



3) 研究者氏名

【石山味噌醤油株式会社】

氏名	所属・役職
養田 武郎	生産管理部 部長
伊藤 武史	品質管理部

【株式会社タケショー】

氏名	所属・役職
小島 利之	フードラボ事業部 開発部長
今井 悠貴	MDセンター 研究員

【国立大学法人新潟大学】

氏名	所属・役職
大坪 研一	自然科学系（農学部） 教授

【新潟県農業総合研究所食品研究センター】

氏名	所属・役職
渡辺 聡	園芸特産食品科・専門研究員
小林 和也	園芸特産食品科・研究員

4) 協力者

研究開発推進委員会 委員

氏名	所属・役職	備考
養田 武郎	石山味噌醤油株式会社 営業部特販課長	P L
小島 利之	株式会社タケショー フードラボ事業部開発部長	S L
渡邊 睦人	株式会社タケショー 理事	
大坪 研一	国立大学法人新潟大学自然科学系（農学部） 教授	
中島 正晴	新潟県農業総合研究所食品研究センター 園芸特産食品科長	
渡辺 聡	新潟県農業総合研究所食品研究センター 園芸特産食品科 専門研究員	
笠原 明夢	公益財団法人新潟市産業振興財団 事務局長	
江川 和徳	公益財団法人新潟市産業振興財団 技術コーディネーター	

### 1-3 成果概要

本研究開発は、仕込みの段階から食塩を使わずに発酵させるというこれまでにないアプローチによる実用化を目指した。

新規の製造法について、工程毎の微生物菌叢を遺伝子工学的的手法により詳細に把握し管理点 (CCP) を設定することで、工場規模において安定的に製造可能な無塩化技術を確立した。

本確立技術が有塩下では使用できなかった多様な発酵微生物にも適用可能であること及び無塩下における旺盛な発酵により、従来の味噌と比較し大量の呈味成分や機能性成分を生成可能であることを明らかにした (表 2、図 1、2)。

表 2 本研究開発技術の優位性

	通常味噌	★本研究開発技術 無塩味噌、無塩発酵物 (多種あり)
塩分 (%)	12	0
耐熱性菌数 (個/g)	100~10000	100未満
高級アルコール (イソamilアルコール) (カウント)	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^7 \sim 3 \times 10^8$
遊離アミノ酸類 (mg/100g)	3000	1000~4500
GABA その他機能性アミノ酸etc. (mg/100g)	25	25~250

★発酵微生物や麹歩合の組合せを変えることで、川下食品製造業者の要望に応じた発酵物を提供することが可能である。

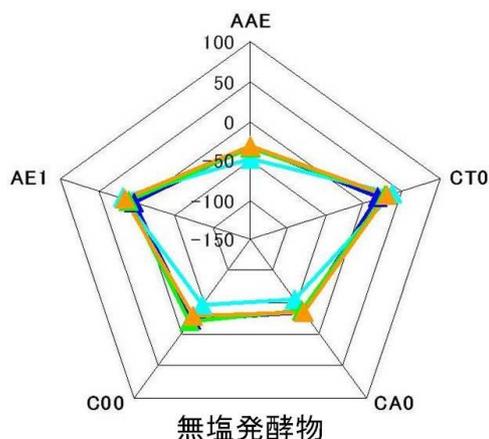


図 1 試醸風景



図 2 無塩発酵物のサンプル例

さらに、試醸品や試醸品を添加した加工品の味覚データを取得、評価し、無塩発酵物がバラエティに富む味を表現する新規食材となる可能性も見出した (図 3)。



センサー名	出力方向	名称	特徴
AAE	-	旨味	アミノ酸、核酸由来の出汁味
CT0	-	塩味	食塩のような無機塩由来の味
CA0	+	酸味	クエン酸、酒石酸、酢酸が呈する味
C00	-	苦味雑味	苦味物質由来で、低濃度ではコク、雑味、隠し味
AE1	-	渋味刺激	渋味物質由来で、低濃度では刺激味、隠し味

図 3 味認識装置による味覚パターン例

また、無塩発酵物を食材として米粉生地に練り込む技術を確認し米加工品の物性改善効果を確認したほか、機能性評価を行った（図4、5）。



図4 無塩発酵物を添加した米粉パン



図5 無塩発酵物を添加した米粉麺

なお、3年間の研究開発の成果については特許出願も済んでいる。製造方法の確立のみでなく、無塩味噌及び無塩発酵物の有する様々な特性についてもデータを蓄積しており、早期の事業化を目指せる状態に至った。

#### 1-4 当該研究開発の連絡窓口

##### 1) 事業管理機関

公益財団法人新潟市産業振興財団

産業創出チーム スタッフ 生浦 純

電話025(224)0550 FAX025(224)4347

Eメール [j.moura@niigata-ipc.or.jp](mailto:j.moura@niigata-ipc.or.jp)

##### 2) 統括研究代表者

石山味噌醤油株式会社

生産管理部 部長 養田 武郎

電話025(371)4100 FAX025(371)4101

Eメール [takero@ishiyama-miso.co.jp](mailto:takero@ishiyama-miso.co.jp)

## 第2章 本論

### 2-1 酵母等を利用した発酵物の特性及び発酵方法の把握（ラボスケール）

#### 2-1-1 発酵方法の検討

##### 1) 目的

無塩発酵物製造上の課題は、米麴や製造ライン等から混入する乳酸菌による酸敗や衛生微生物の増殖である。味噌は塩分が12%程度含まれており水分活性が低いいため、製造過程での混入微生物が増殖する恐れはないが、塩分による微生物制御が欠かせないため、味噌はペースト状かつ耐塩性の高い酵母による発酵に限定されている。一方で無塩発酵物の製造が技術的に困難であるが、水分量や使用する微生物に制限がないという利点がある。

そこで我々は、微生物混入の低減や混入した微生物の減菌処理を実施することで、米麴と大豆を原料にした無塩発酵物の安定的な製造技術の開発に取り組む。無塩発酵物は①性状：P（ペースト）、L（液状）、②麴：M（味噌用麴, *Asp. oryzae*）、K（クエン酸麴, *Asp. kawachii*）、③麴歩合：50、20、10、5、3歩、④微生物：M（酵母1）、Pa（酵母2）、LB（乳酸菌1）、LM（乳酸菌2）の製造条件を組み合わせせて試醸した。また、試醸品の情報は上記の順で示した。上記の組み合わせで製造した無塩発酵物の特性のライブラリー化を行い、試醸品のうち有望な素材になり得る組み合わせを探索する。

##### 2) 成果

**無塩発酵物の安定的製造技術の開発** 当初は米麴へ加熱やアルコール処理を行い雑菌数を減らすことで、酸敗を防止する手法を確立したが、非常に厳格な微生物制御が求められるため、多用途化に沿う技術ではなかった。そこで原料を混合し、高温消化処理を行うことで混入した微生物を殺菌する手法を確立した（図6）。ペースト区の一般細菌数は乳酸菌添加を除く8試験区のうち、7試験区で3000cfu/g未満、耐熱性菌数は全ての試験区で100cfu/g未満であった（図7）。液状区の一般細菌数はペースト区と比べて多い傾向にあったが、コロニーの形態から多数が乳酸菌と推定された。耐熱性菌数は低く、衛生上問題にはならない程度であった。また、麴歩合が高くなるほど細菌数は低い傾向が見られた。以上の結果から、開発した製造技術により安定的に無塩発酵物を製造できることを確認した。

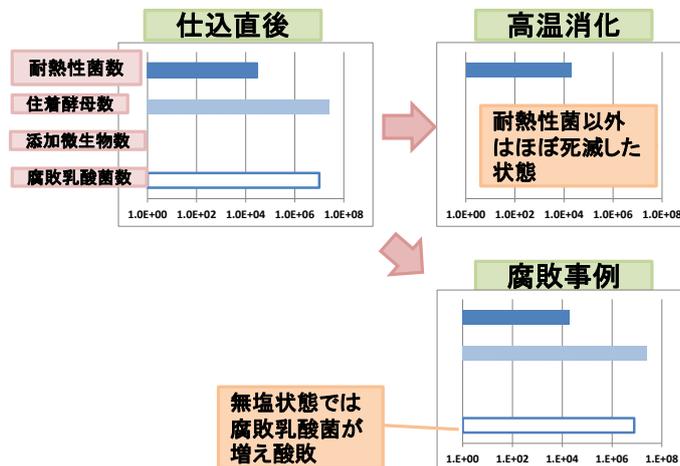


図6 無塩発酵物の製造フロー及び制菌原理

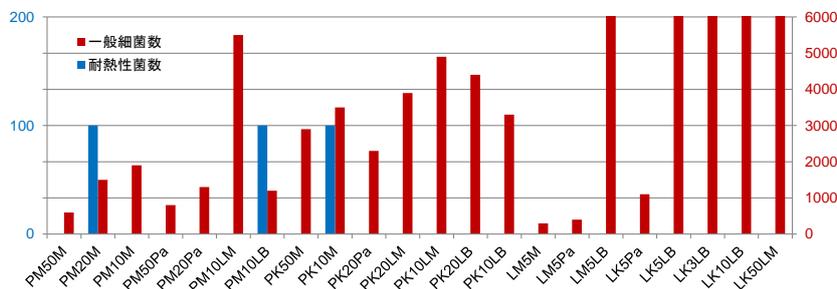


図7 無塩発酵物中の生菌数

**無塩発酵物のライブラリー化** ペースト区では麴歩合が10～20歩で総遊離アミノ酸量が高く、麴歩合15歩程度が良好と考えられた(表3-1)。液状の乳酸菌区では低麴歩合のものほど総遊離アミノ酸量が高かった(表3-2)。また、グルコース量は麴歩合の高いものほど多く、PM20Pa、PK20Paのように麴歩合20歩の酵母添加区でグルコース量とアルコール量が多かった(図8)。PM10LB、PK20LBでは、アルコールよりも乳酸発酵が旺盛であった。液状区の酵母添加区は発酵が旺盛であるため、糖のほとんどが資化され、エタノールへ変換されて、イソアミルアルコールのような高級アルコールも多量に生成していた(データ省略)。液状区の乳酸菌添加区は、乳酸生成が旺盛でグルコースが減少していた。以上の結果から、無塩発酵物の特性は水分、麴歩合及び添加微生物と対応することが認められ、本技術は酵素反応が制御可能であることが確認された。

表 3-1 無塩発酵物（ペースト区）の配合とアミノ酸の関係

形態	糖菌	糖歩合 歩	発酵菌種	発酵方法	仕込水分 %	遊離アミノ酸 (mg/100g)																
						Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Trp	Lys	His	Arg	
ペースト	味噌	50	酵母1	2段	44	468	99	171	507	101	201	155	37	120	211	119	135	12	82	19	123	
	味噌	20	酵母1	2段	46	496	97	173	532	92	212	155	36	122	222	90	140	8	98	19	104	
	味噌	10	酵母1	2段	48	523	123	205	621	99	250	179	43	147	269	94	170	14	141	34	155	
	味噌	50	酵母2	2段	44	449	96	169	524	101	196	149	38	116	209	116	128	13	81	14	114	
	味噌	20	酵母2	2段	46	588	113	198	671	110	244	183	43	146	286	15	160	8	120	22	150	
	味噌	10	乳酸菌2	2段	48	500	108	188	548	93	247	166	39	132	271	20	143	10	148	35	13	
	味噌	10	乳酸菌1	2段	48	275	76	139	357	59	187	144	52	93	268	25	149	7	166	35	182	
	ケエン酸	50	酵母1	2段	44	242	62	106	240	53	145	122	43	74	195	103	125	0	114	27	193	
	ケエン酸	10	酵母1	2段	48	280	77	141	364	59	190	146	52	94	273	25	151	7	170	35	184	
	ケエン酸	20	酵母2	2段	46	294	78	138	362	58	183	148	53	90	257	120	157	5	161	31	248	
	ケエン酸	20	乳酸菌2	2段	46	290	77	138	351	58	178	138	51	84	247	117	152	7	150	30	241	
	ケエン酸	10	乳酸菌2	2段	48	327	92	169	456	80	245	176	79	106	315	0	158	13	234	50	125	
	ケエン酸	10	乳酸菌1	2段	46	367	106	210	439	106	265	192	83	125	357	0	176	14	263	67	7	
	ケエン酸	10	乳酸菌1	2段	48	346	103	196	495	101	258	192	84	126	343	9	173	13	27	182	9	
ペースト	味噌	50	酵母1	低温	44	472	153	239	676	174	247	239	79	183	318	153	177	38	229	67	105	
	味噌	10	乳酸菌1	低温	48	654	198	358	475	233	352	275	86	217	466	168	287	37	444	112	7	
	ケエン酸	10	乳酸菌1	低温	48	359	124	239	374	130	272	193	77	129	395	150	243	25	382	104	36	

表 3-2 無塩発酵物（液状区）の配合とアミノ酸の関係

形態	糖菌	糖歩合 歩	発酵菌種	発酵方法	仕込水分 %	遊離アミノ酸 (mg/100g)																
						Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Trp	Lys	His	Arg	
液状	味噌	5	酵母2	2段	70	381	116	200	545	147	224	184	70	143	308	71	179	22	298	86	4	
	味噌+酵素	5	酵母2	2段	70	439	134	225	609	167	264	210	80	167	347	70	202	19	328	94	0	
	味噌	5	乳酸菌1	2段	70	421	138	231	71	157	243	206	76	170	349	82	207	15	335	96	3	
	ケエン酸	5	酵母2	2段	70	259	110	194	502	134	210	186	79	139	340	27	191	35	301	86	0	
	ケエン酸	3	乳酸菌1	2段	70	250	138	234	252	160	250	195	88	150	419	35	229	10	362	104	25	
	ケエン酸	5	乳酸菌1	2段	70	238	102	201	98	134	251	166	83	125	376	67	205	19	341	99	6	
	ケエン酸	10	乳酸菌1	2段	70	246	91	172	88	115	234	170	77	121	316	76	168	30	286	85	5	
	ケエン酸	50	乳酸菌2	2段	70	240	90	170	87	113	220	165	72	118	312	75	167	29	287	86	6	
	液状	ケエン酸	10	乳酸菌1	低温	70	277	128	239	379	154	260	183	99	128	428	133	274	69	409	122	86

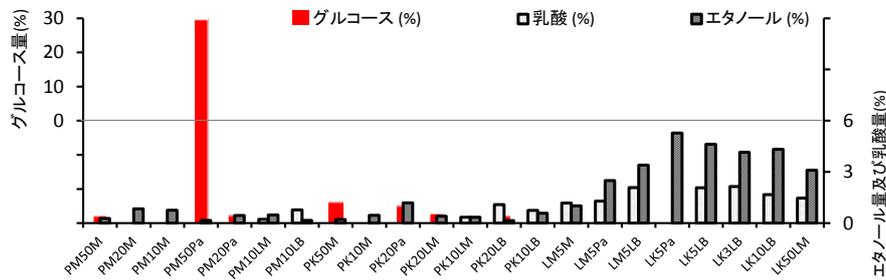


図 8 発酵とグルコース、乳酸及びエタノールの関係

## 2-1-2 酵母と発酵物の特性把握

### 1) 目的

発酵食品はラボスケールでは微生物制御が容易であっても、スケールアップによりその制御が困難になる場合が多い。特に味噌工場は通常開放系であるため、製造途中に一般細菌や耐熱性菌の混入が懸念される。そこで、工場規模製造に向け、PCR- (変成剤濃度勾配ゲル電気泳動) DGGE 法による発酵物の製造過程における菌叢解析を実施することで、無塩発酵物の製造過程における必須管理点 (CCP) の設定を行った。

### 2) 成果

**菌叢解析による CCP の設定** 図 9 にラボスケール及びプラントスケール試醸の製造過程

での細菌 DNA を PCR-DGGE 法により分離、検出した泳動写真を示した。米麴、処理大豆及び仕込直後（レーン 1~3）からは細菌は検出されなかった。高温消化温度をそれぞれ 30、45、60°C と違えたところ、30°C ではバンド数が多く（レーン 4）、雑菌が増殖していることが推定され、官能検査により酸敗していることが認められた。また、適切な温度で高温消化を 24 時間実施したが酸敗したサンプル（レーン 7）に、レーン 4 と同様に *Lactobacillus pentosus* (4-b,7-b) が検出されたため、この乳酸菌が酸敗の原因と推定された。高温消化を 48 時間行い酸敗の認められなかったレーン 8~10 からは、*Lactobacillus pentosus* は検出されなかった。

プラントスケールでは高温消化処理を 1~2 日実施した無塩発酵物（PM10M、PK50M）の仕込直後、菌添加後、発酵後の菌叢解析を行った。高温消化を 1 日だけ行った PM10M（レーン 7~9）は酸敗しており、仕込直後から菌添加後、発酵後に至るまで *Lactobacillus brevis*(7-c、8-c、9-c) が検出された。一方、高温消化を 2 日間行った PM10M（細菌；レーン 1~3）からは *Lactobacillus brevis* はわずかに検出されただけだった。また、高温消化が短期であると *Staphylococcus gallinarum* と推定されるバンド(10-b、11-b、12-b)が発酵後まで検出された。これらの結果から、酸敗の防止及び衛生細菌の低減には高温消化が有効であることが示された。したがって、CCP は高温消化の温度及び時間が相当すると考えられた。

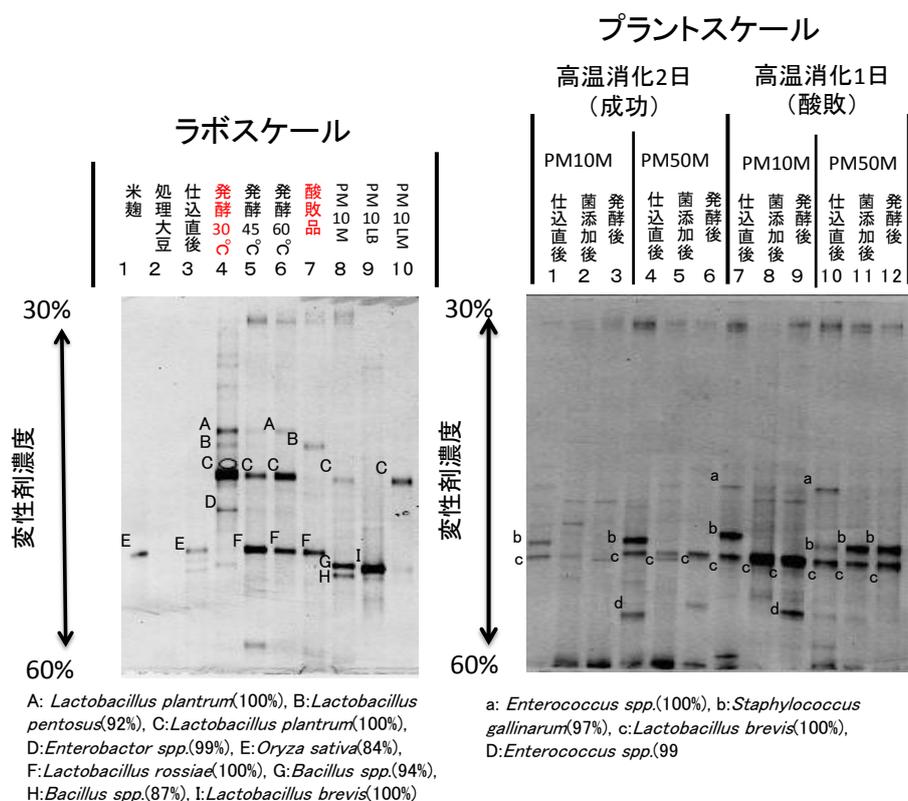


図 9 無塩発酵物製造過程での菌叢解析（左：ラボスケール、右：プラントスケール）

## 2-2 酵母等を利用した発酵物の特性及び発酵方法の把握（プラントスケール）

### 2-2-1 適正仕込条件の設定

#### 1) 目的

無塩発酵物を実際に稼働している味噌工場の環境下で製造する場合、可能な限り持込み微生物を低減させること、各作業工程におけるコンタミネーションを極力少なくすることがポイントとなる。具体的には基本原材料である大豆、米の処理工程での微生物汚染を低減する方法、仕込み時及び発酵微生物添加混合時のコンタミネーション対策に重点を置き、最適な方法について検討した。

#### 2) 成果

米麴製造工程において、酢酸添加装置付き米蒸装置を導入し、米浸漬時に酢酸水を使用することで原料米より持ち込まれる耐熱性菌の低減をはかった。米麴の品質を損なうことなく耐熱性菌数 $<10/g$ で安定生産可能なことを確認した。

処理大豆は、洗穀を良くして蒸煮することにより蒸煮直後の細菌数は極めて少ない。また、平成24年度の成果で仕込時の重要管理点（CCP）として仕込み温度をできるだけ高く保つことが重要であることが明確となった。よって処理大豆は冷却やチョッパー漉しなどの前処理を行わず、煮あがった大豆をそのまま仕込むこととなり、 $50^{\circ}\text{C}$ 以上の高温状態のまま仕込まれるので、仕込み時の微生物汚染の危険性はより小さくなった。

次の工程である高温消化では、仕込温度と高温消化時間により、表4に示したとおり殺菌効果が異なる。高温消化は24時間よりも48時間のほうが一般細菌、乳酸菌の減少割合が高かった。

表4 仕込温度、高温消化時間と生菌数（プラントスケール）

試験区	仕込温度	仕込直後			60℃高温消化後		
		耐熱性菌	一般細菌	乳酸菌	耐熱性菌	一般細菌	乳酸菌
PM10M-1	45℃	50	$4.8 \times 10^3$	$4.8 \times 10^3$	50	$3.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^3$
PM10M-H-1	55℃	50	$2.0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	50	$1.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^3$
PM10M-H-2	55℃	50	$2.0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	50	$1.0 \times 10^2$	$<10$
PM50M-1	40℃	80	$6.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$	80	$2.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$
PM50M-H-1	51℃	80	$5.0 \times 10^3$	$2.5 \times 10^2$	80	$1.0 \times 10^3$	$2.0 \times 10^2$
PM50M-H-2	51℃	80	$5.0 \times 10^3$	$2.5 \times 10^2$	80	$8.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$

※試験区-1：高温消化1日、試験区-2：高温消化2日

高温消化後は、一旦冷却し、発酵微生物を添加する。添加混合に際しては解放環境で混合するとコンタミネーションの危険性が大きいので、発酵菌添加装置付き真空ニーダーを導入し、密封環境下ですばやく添加混合する方式を採用した（図10）。



図 10 発酵菌添加装置付真空斜軸ニーダー

発酵菌を添加した無塩発酵物は、仕込桶に入れ、低温から発酵をスタートさせ、徐々に温度を上げ最終的に発酵適温の 30℃に持っていく。低温から発酵させることで、添加した発酵菌が優先的に増殖し、衛生細菌等の増殖を抑えるはたらきがある。30℃での発酵時間は、発酵物の出来上がり目標により調節する。30℃の時間が短ければ、色合いの淡いタイプとなり、長くすれば褐色が強くなり、旨みも強くなる。

## 2-2-2 調整条件の設定

### 1) 目的

無塩発酵物の特性を把握し、川下ユーザーの使用用途にあわせた形状及び殺菌条件などを考慮して商品形態を検討した。

### 2) 成果

最終製品形態として、ペースト区の場合は、仕込時から発酵途中は、大豆が丸のままもしくは半割れの形態となる。この状態のままだと使用用途が極端に限られてしまうので、発酵終了後にチョッパー漉しをしてペースト状の製品とした（図 11）。液状区は固液分離し、液相部はろ過をかけ透明な状態にしたものを基本形態とした（図 12）。また、固相部については、ペースト区と同様にチョッパー漉しをしたものを製品の基本形態とした。



図 11 ペースト区のサンプル



図 12 液状区のサンプル

平成 23 年度の結果から、無塩発酵物は通常味噌と比べて発酵生成物である炭酸ガス含有している率が高く、完成品をそのまま密封し加熱殺菌をかけると炭酸ガスをリリースし、包装容器が膨れてしまうことがわかっている。真空斜軸ニーダーを利用し、脱気処理を行う

ことにより、以後の加熱殺菌処理が可能となった（図 13）。



図 13 80°C20 分処理の比較写真

### 2-2-3 安定流通条件の設定

#### 1) 目的

実際の商品物流を考慮し、流通条件と保存性について検討した。

#### 2) 成果

流通条件については、保存試験を参考にし、表 5 のとおり設定した。賞味期限については、生タイプ冷蔵 6 か月、冷凍 1 年を想定している。

表 5 各試験区の終了時の細菌検査及び官能評価と設定流通条件

試験区		pH	最終菌数					官能評価	想定される流通条件
			耐熱	一般	乳酸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌		
PM10M	生	4.8	<10	1000	200	陰性	陰性	酵母発酵、旨み増える	冷蔵 or 冷凍
	80°C	4.9	<10	<10	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	常温 or 冷蔵
	レト		<10	<10	<10	陰性	陰性	苦みが増す	常温
PM50M	生	5.3	<10	2000	2000	陰性	陰性	酵母発酵、風味増す	冷凍
	80°C	5.6	<10	<10	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	冷蔵
	レト		<10	<10	<10	陰性	陰性	甘苦い感じが増す	常温
PM20Pa	生	5.3	40	40	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	冷蔵 or 常温
	80°C		40	40	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	常温
	レト		<10	<10	<10	陰性	陰性	苦みが増す	常温
PM20LM 長熟タイプ	生	4.5	20	20	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	常温
	80°C		20	20	<10	陰性	陰性	熟成度が進み旨み増加	常温
	レト		<10	<10	<10	陰性	陰性	苦みの中にも酸味あり	常温

## 2-3 醸造技術高度化のための用途別性状の把握

### 2-3-1 発酵物の食材としての適性把握（成分・物性等）

#### 1) 目的

無塩発酵物の製造法を確立し、微生物ごとの発酵能などをライブラリー化する過程で、呈味性以外に機能性食材としての用途化の可能性が見出された。そこで機能性食材化を目的として、オルニチン(Orn)の生成条件の検討と動物試験による機能性評価を行った。また、無塩発酵物の特性に合わせた用途開発を行うため、川下製造業者からの評価収集を行い、改良及び用途開発へフィードバックする。

#### 2) 成果

**オルニチン増強試験** モデル試験を行ったところ、乳酸菌を添加して無塩で発酵させるとアルギニンから Orn へ変換されることが見出された。Orn 増強試験を行ったところ、Orn 量は発酵 5 日目では少量だったが、発酵 9 日目で増加した。機能性アミノ酸量は遊離アミノ酸量と同様に高温消化を行うことで低減した。また、Orn 量は水分量に依存することが示された。

**マウスを用いた機能性解析** マウスへ Orn を豊富に含む無塩発酵物の凍結乾燥物を 10%混合した飼料を 7 日間摂食させた後に、強制遊泳試験を実施し、血中アンモニア濃度を測定したところ、無塩味噌群において血中アンモニア濃度が対照群よりも有意に低かった(図 13)。激しい運動を行うと血中アンモニア濃度が上昇するため、血中アンモニア濃度は疲労の指標となる。したがって、強制遊泳試験後の血中アンモニア濃度に差が認められたことから、Orn を豊富に無塩発酵物は運動時の疲労軽減効果を有することが示唆された。

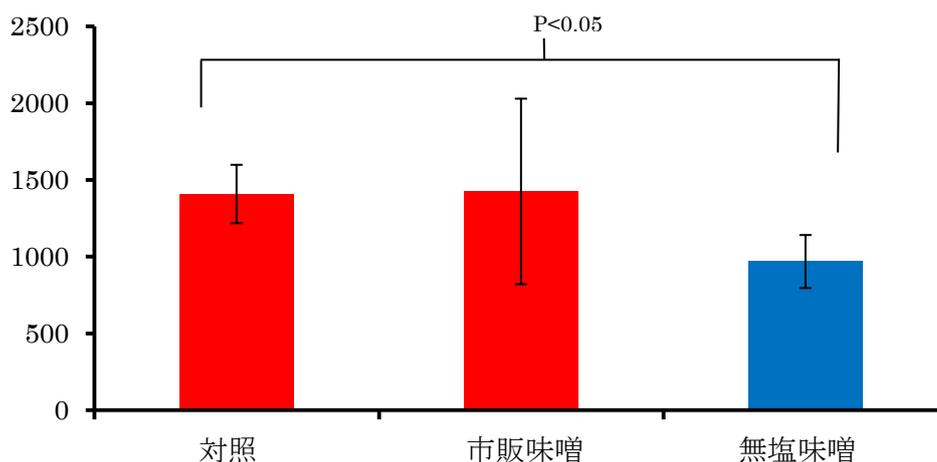


図 13 遊泳試験後の血中アンモニア濃度 (μg/dL)

**川下製造業者からの評価収集** 実際のパン職人の意見として「PM50M を練り込むことで風味改善及び劣化防止の効果が確実にある。PM20LM は、使う量の加減がむずかしいが、料

理に加えることで確実にプロの味を引き出せる。」と我々の狙い通りの意見が得られた。また、消費者を対象とした調査においても、非常に期待感の広がる調査結果を得ており、無塩発酵物は今までにない調味料なので、どんな戦略で世に出すかが鍵となりそうである。

## 2-3-2 発酵物の食材としての適性把握（調合等）

### 1) 目的

本項では、特に他食材と調合を念頭に発酵物の「味」を味認識装置により、数値化、マッピングすることで、新規発酵物の調味素材等食材としての適性を把握する。

### 2) 成果

**各調味料の全体的な特徴や旨味の傾向** 各種調味料の分析により得られた数値データからレーダーチャートを作成し全体的な特徴や旨味の傾向などを比較評価した結果、各調味料に特有のパターンがあることを確認した（図 14）。また、濃度を段階的に変えた場合、濃度の変化にほぼ相関した数値を示すことが確認できた。以上のことから、発酵物のパターンとの比較により、発酵物の味の傾向が類推できることが示された。

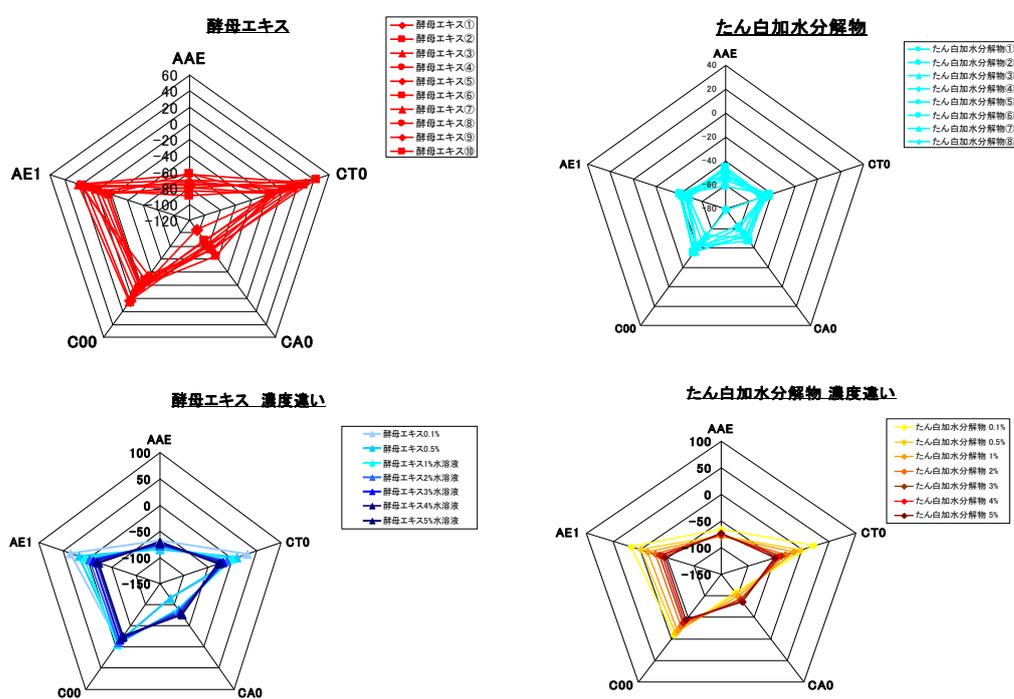


図 14 各種調味料のレーダーチャートパターン

**発酵物と各種調味料との相関の検証** 試醸品について、試醸条件ごとに電位に特徴があることが確認できた。また、一般的な調味料の分析結果と比較を行った結果、酵母エキスのパタ

ーンに酷似していることが見出された (図 15) が、官能評価では調味素材としての利用は難しいことが明らかであり、データパターンと官能評価はすべてが一致するわけではなく、グルタミン酸含量等の内容成分の絶対量も加味して判断しなければならないことが確認された。そこで無塩味噌としての適性を検討した結果、試醸品への塩分添加により、かなり通常の味噌に近いデータパターンと官能評価を得ることができた (図 16)。このことから塩分コントロールのできる「無塩味噌」としての商品化の可能性が示唆された。

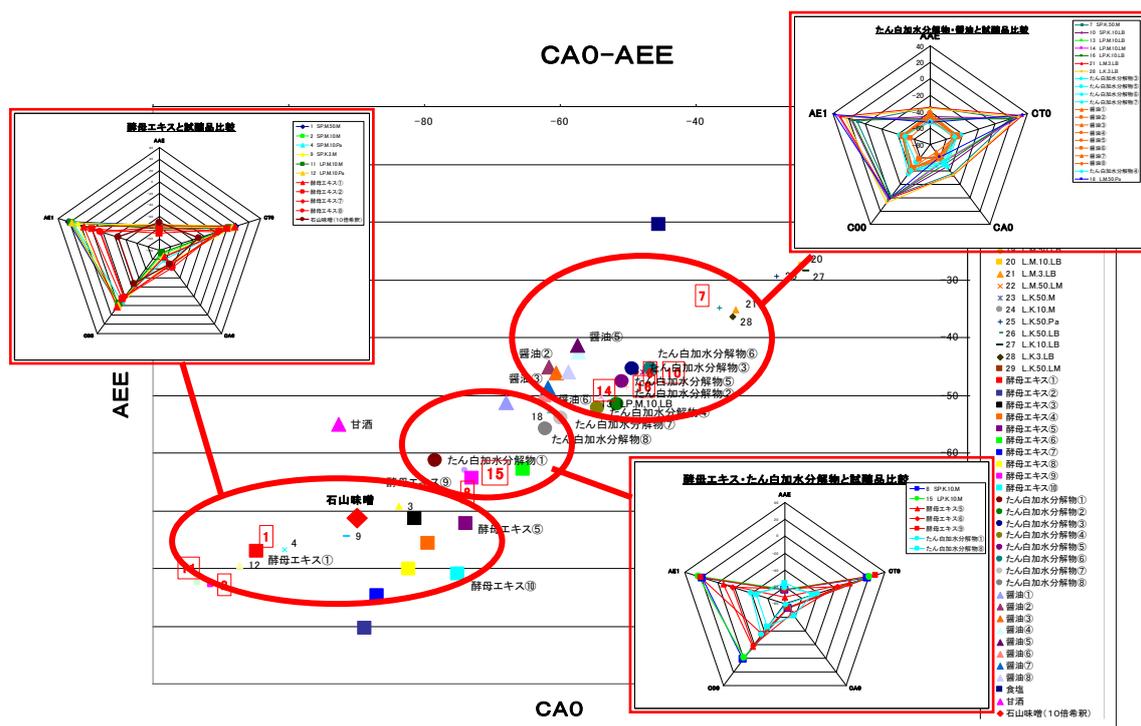


図 15 各種調味料と試醸品

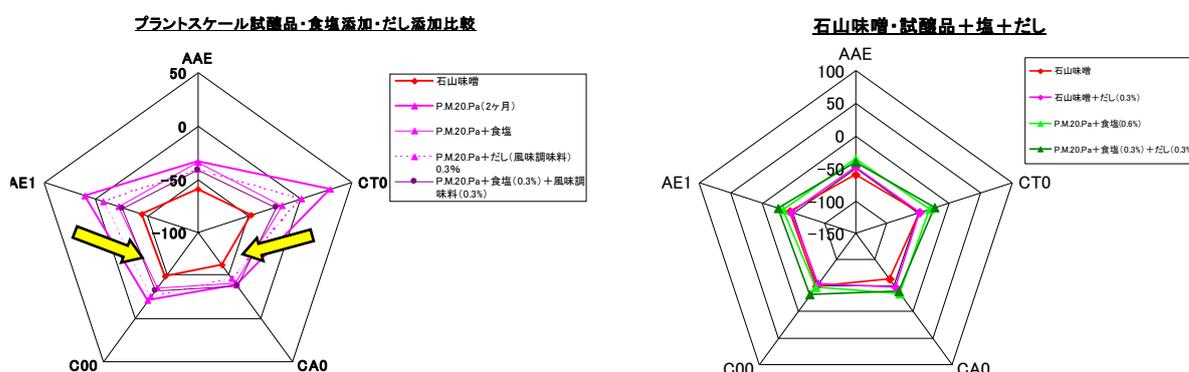


図 16 試醸品への食塩とだしの添加によるパターン変化

発酵物の特性を活かす素材としての検討と添加効果の検証 従来から通常の味噌は米麹製

造工程の洗浄や塩分による腐食や「こげ」等の問題から、生地に直接練り込んで使用されることはほとんど見られなかった。そこで無塩である試醸品を新潟県の特産品のひとつである「米菓（せんべい）」への添加による効果を検討した。

その結果、「味噌せんべい」的風味を醸しだし、今までに無い新規素材としてその可能性を見出した。

また、焼成時の火力低減による省エネの可能性（焼きあがり早く火力を2割程度抑えられた）、または焼成時間の短縮等のメリットが確認され、生産効率に貢献できる可能性を見出した。

**発酵物を添加した加工食品の味覚分析と評価** シチューやみたらし団子（タレ）、クッキーなどへの添加試験により、機能性の付与を目的とした加工食品への添加について、食品本来の味のバランスを変えることなく、さまざまな加工食品へ応用できる可能性を見出した（図17）。

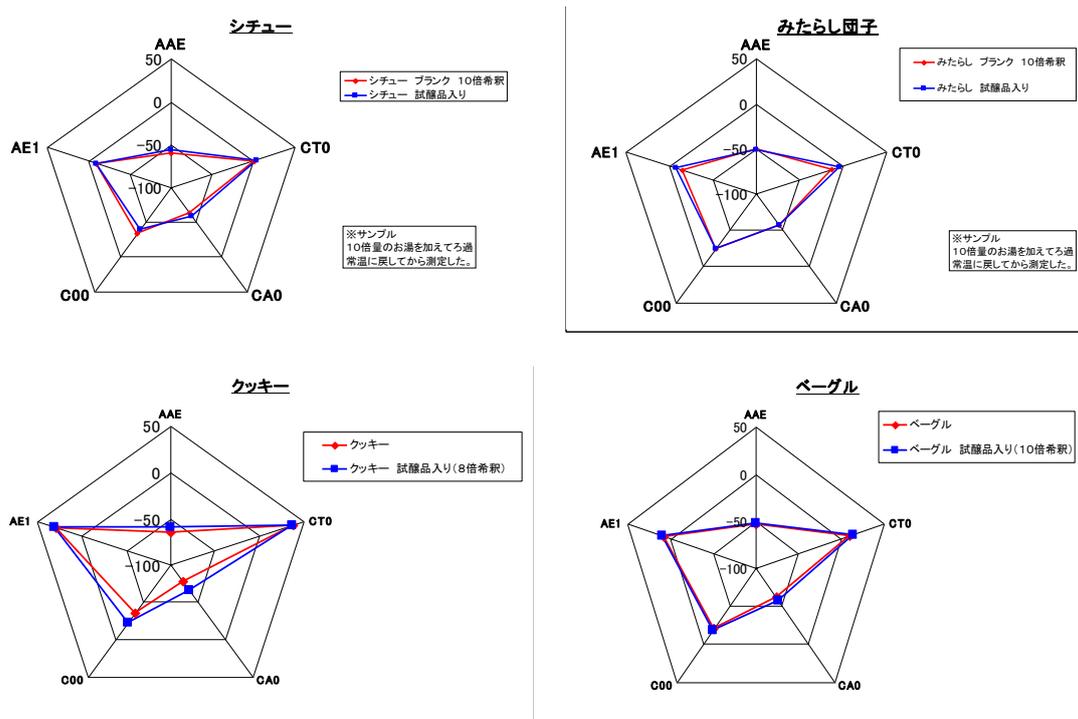


図17 加工食品への添加によるパターン

### 2-3-3 発酵物と米粉との複合利用についての検討

#### 1) 目的

新規無塩発酵物の機能性成分の評価を行い、新潟県の主要農産物である米と発酵物とを複合利用することで新規の機能性食品を開発することである。

## 2) 成果

**無塩発酵味噌の原料の検討** 一般米、赤米、紫黒米、巨大胚芽米などの各種の米を原料として、マルチバイオインキュベーターによって発芽玄米やスプラウトを調製し、発酵への適性やポリフェノール、γ-アミノ酪酸などの機能性成分の観点から、紫黒米「おくのむらさき」の発芽玄米（スプラウト）及び巨大胚芽米「越車」の発芽玄米を好適なものとして選定した（図 18、19）。



図 18 各種の原料米の発芽試験及び紫黒米「おくのむらさき」のスプラウト

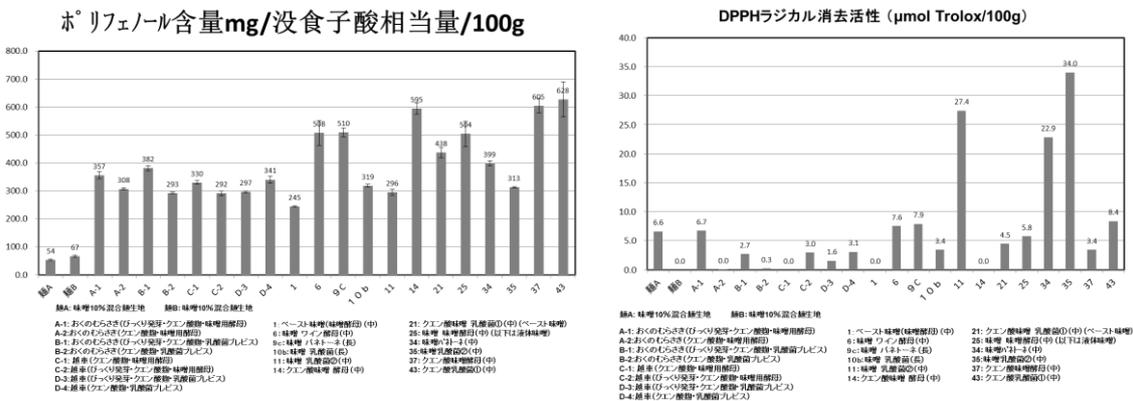
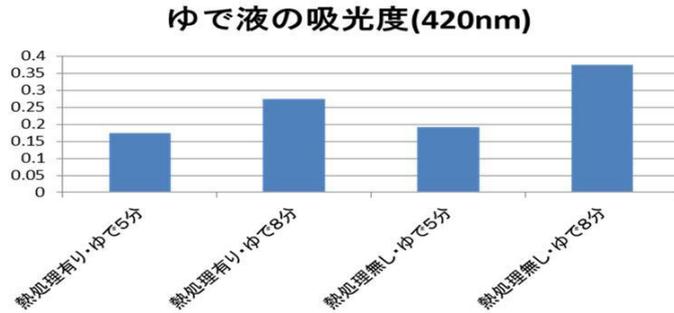
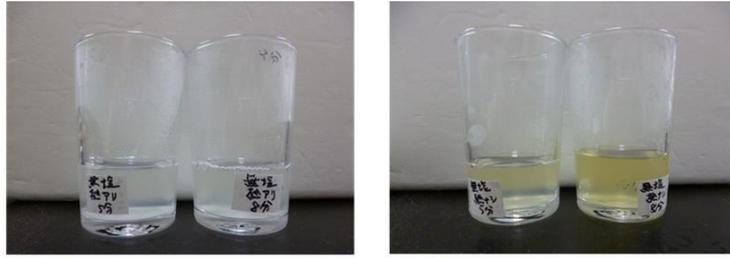


図 19 各種の原料による試作味噌の機能性の検討結果

**新規発酵物を米粉麺等の加工食品に添加するための技術開発** 加工食品として、食パン、ベーグル、ホットケーキ、麺などを候補とし、新規発酵物を添加するための技術について検討した。

(1) 発酵物は味噌と同様に、アミラーゼなどの酵素活性が強く、パンや麺の生地物性を低下させる。そこで、新規発酵物を予備加熱して酵素を失活させてから添加混合する技術を開発した（図 20）。



味噌を予備加熱してから製麺することで、ゆでにおける溶出が抑制される

図 20 味噌の予備加熱の有無と茹で溶出量の相違

(2) 乾麺製造装置の適正乾燥条件を設定することにより、折れやゆがみの少ない乾麺を製造することを可能にした(図 21)。

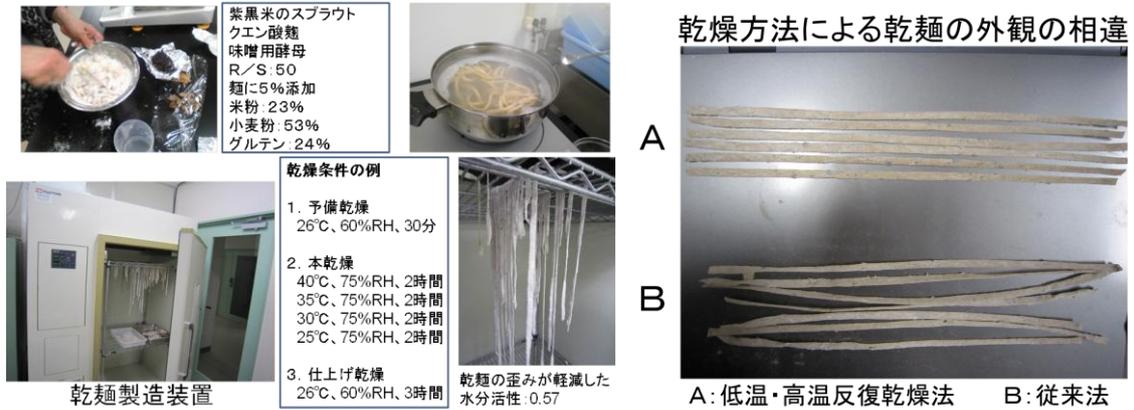


図 21 乾麺製造装置の適正乾燥条件設定による試作乾麺の形状の向上

### (3) パン、ベーグルの製造条件の検討

無塩発酵物を小麦粉や米粉に配合してパンやベーグルを製造するための適正配合条件及び製造条件を検討し、決定した。味噌の酵素を失活させ、グルテンを強化することで良好なベーカリー製品の製造が可能となり、アミノ酸や糖の増加及び乾麺製造装置による水分調整によって、製品の水分活性を低下させることが可能となった(図 22)。

## 味噌含有パンの試作

### 製パンのレサイプ

1. 無塩発酵味噌 30g  
(紫黒米スプラウト)
2. コシヒカリ 84g
3. 小麦粉(カリア) 140g
4. グルテン 56g
5. 砂糖(三温糖) 30g
6. 脱脂ミルク 20g
7. だし素材 60g

↓  
家庭用製パン機で直捏ね法



水分活性: 0.95  
↓  
乾種製造装置で調湿  
0.78  
↓  
乾種製造装置で調湿  
0.67



A



B

越前赤玉発芽玄米30%混合  
越前(びっぴり発芽・クエン酸糖・乳酸菌プレビス)味噌 10%混合  
温州ミカンジュース150cc

EM10赤玉発芽玄米30%混合  
おくの心らさき(びっぴり発芽・クエン酸糖・味噌用酵母)味噌 10%混合  
温州ミカンジュース150cc

各種の味噌10%混合パン

図 22 無塩発酵物を添加したパンの製造方法の検討結果

## 試作発酵物を混合した米加工品の物性、食味や機能性の検討

### (1) 試作発酵物の機能性の検討

生化学試験及び動物試験によって試作発酵物の抗酸化性や高血圧予防などの機能性を検討した。生化学試験では、抗酸化成分であるポリフェノールや高血圧予防成分であるγ-アミノ酪酸などの増加が示された(図 23)。

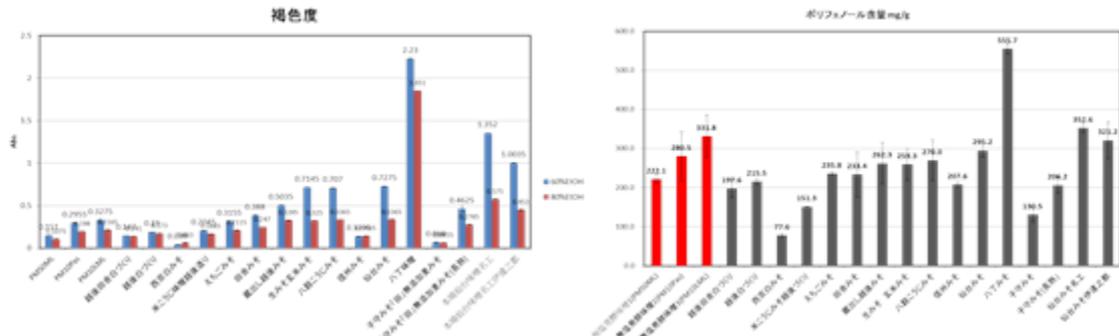


図 23 無塩発酵物や味噌のポリフェノール含量

動物飼育試験では、有意差の現れる場合と有意差の認められない場合があったが、発酵物は血圧を低下させる結果が得られた(図 24)。

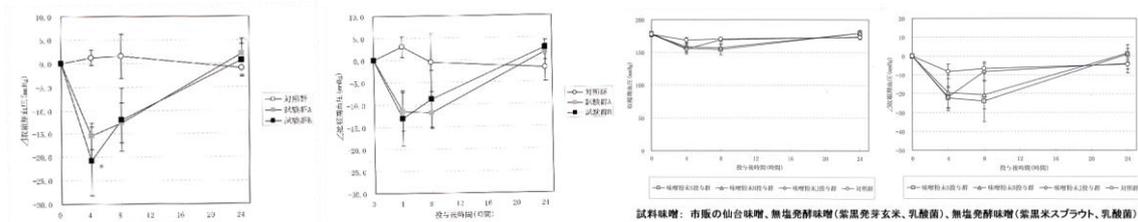


図 24 無塩発酵物及び味噌の高血圧予防に関する動物試験結果

(2) 加工食品の物性、食味の検討

発酵物を添加して試作したパン、ベーグル、麺などは食味が良好で、物性も優れていた。学生による試食試験や発表会で試食した結果も良好であった (図 25)。

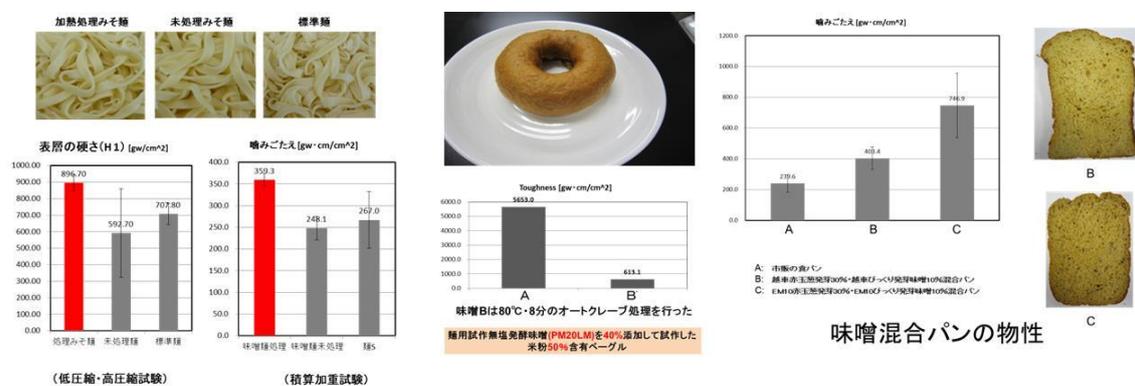


図 25 試作した麺、ベーグル、パンの物性測定結果

(3) 発酵物を添加した加工食品の機能性の検討

発酵物を添加して試作した麺及びベーグルのポリフェノールは添加しない物より多く、DPPH ラジカル証拠活性も添加しないものより強かった (図 26)。

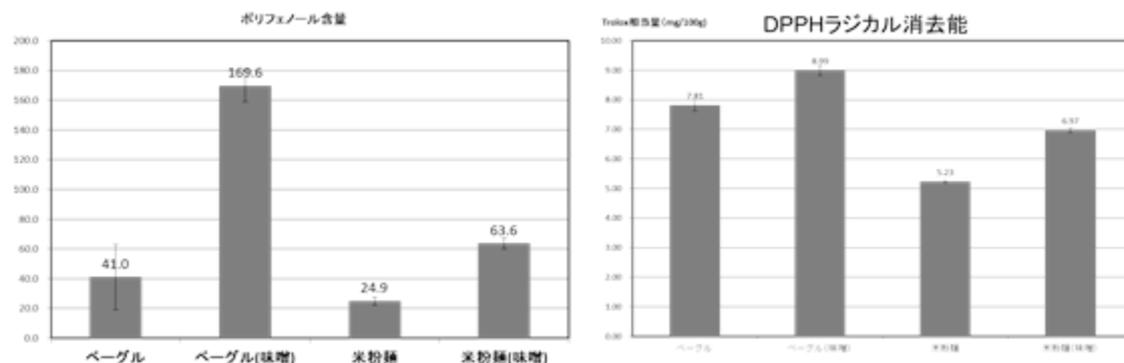


図 26 発酵物添加及び未添加試作品の機能性 (抗酸化性) の評価

## 第3章 全体総括

### 3-1 研究開発成果

3年間の研究開発により、従来実現しなかった仕込の段階から食塩を使わずに発酵させ、工場規模においても安定的に製造可能な無塩化技術を確認した。

本確立技術が有塩下では使用できなかった多様な発酵微生物にも適用可能であること及び無塩下における旺盛な発酵により、従来の味噌と比較し大量の呈味成分や機能性成分を生成可能であることを明らかにした（表6）。

表6 従来技術との違い

#### 通常味噌

- × 機能性は高いが、高塩分のため摂取量の制限や負のイメージがある
- × 耐塩性酵母(味噌用酵母)しか使用できず、風味が単一
- × 有塩のため素材調整や製品調整が難しく、加工食品に向かない
- × ペースト状のみのため、加工用途に制限がある

#### 従来の低塩化・無塩化技術(味噌、醤油)

製造法	具体的手法	参考	味噌適応	無塩化	発酵タイプ	
<b>A</b> 脱塩法	イオン交換膜電気透析	海水濃縮	×	○	○	A. 膜によりろ過する方式のため、半固形の味噌には適用できない
	限外濾過(UF)膜法		×	○	○	
	逆浸透(RO)膜法	海水淡水化	×	○	○	
<b>B</b> (濃厚低塩)	再仕込み法	再仕込み醤油	△	×	×	B. 味噌は醤油ほどにタンパク質が高くないため、実質的に適用は難しい
	タンパク質原料多量仕込み	溜醤油	△	○	△	
	掛方式濃厚低塩仕込み	味噌・清酒	×	×	○	
	溜麹併用法	溜醤油	△	△	○	
直接製造法	低汲水低塩仕込み	溜醤油	×	×	○	C. 味噌では技術例が多いが、無塩や工場規模での確立例は乏しい
	アルコール利用法	味噌	○	○	△	
<b>C</b> (低塩仕込)	酵母利用法	清酒	○	△	○	
	高温仕込み	低塩固体発酵	△	○	×	
	低温仕込み	清酒	△	△	△	
	低塩仕込み	低塩固体発酵	△	△	△	

#### ★本研究開発技術(無塩味噌、無塩発酵物)

- 無塩である
  - 塩分コントロールが可能
- 種々の微生物が使用でき、大量の呈味成分や機能性成分が生成可能
  - 多様な風味・香りにより食のパラエティ化に対応可能
- 工場規模でも適用可能
  - 事業化が容易

さらに、試醸品や試醸品を添加した加工品の味覚データを取得、評価し、無塩発酵物がバ

ラエティに富む味を表現する新規食材となる可能性も見出した。

また、無塩発酵物を食材として米粉生地に練り込む技術を確立し米加工品の物性改善効果を確認したほか、機能性評価を行った。

上記のとおり、発酵特性に加え利用特性をライブラリー化し、川下食品製造業者の幅広く多様なオーダーに応えることが可能となった。

### 3-2 研究開発後の課題・事業化展開

早期の事業化に向けて、量的・質的な生産体制の整備と具体的な利用方法の拡充、売り込み先別に適したマーケティング資料及び手法の検討を開始している。

現在、具体的に想定している用途例は表7の通りである。

表7 具体的な用途例

無塩発酵物の種類(一例)	見込み新商品	販売対象
通常味噌配合比率発酵品	味噌代替・塩分コントロール味噌 味噌風味惣菜の超減塩タイプ 超減塩タイプの味噌漬け	病院・病者食(塩分摂取制限者) 惣菜加工業者・コンビニエਂダー 漬物業界
超高麹歩合発酵品	発酵甘味素材	和菓子・洋菓子業界
パン酵母単独発酵品	米粉製品物性・機能性改善用素材 生地練り込み用風味素材	製麺業界・製パン業界 米菓業界
乳酸菌単独発酵品	コクだし発酵調味素材(隠し味)	外食産業・中食産業

無塩味噌及び無塩発酵物の塩分摂取コントロール性や栄養価、機能性付与という健康に寄与する特性が、これからの食生活の未来に大いに貢献できると考えている。新規の食材として川下食品製造業者に提供し、用途の拡大や新製品開発の促進、食品産業全体の活性化につなげていきたい。