

沖縄産海藻の新規利用法の開発

— アナアオサ酵素分解液の用途開発 —

比嘉賢一、山城利枝子

沖縄産海藻の高付加価値化と用途拡大を図るために、養殖による大量生産が可能な海藻を原料として、これまでに海藻の食品素材化を検討してきた。本年度はこれらの結果を利用し、海藻乳酸飲料及び海藻旨味調味料の開発を行った。その結果、乳褐色を呈するアナアオサ乳酸飲料を開発し、また本試作品のアンジオテンシン変換酵素阻害率（ACE 阻害率）60%の活性を見出した。副原料のスキムミルクの添加は、乳酸菌の増殖を補助し、乳酸発酵にみられる ACE 阻害活性の低下を抑制した。一方、アナアオサ旨味調味料は、岩海苔様の香りを基調とし、強い ACE 阻害活性（90%）を示すと共に、醤油等に比較して、アミノカルボニル反応による褐変変化を抑制した調味料の試作ができた。

1 はじめに

沖縄が属する亜熱帯の海域は、多種類の海藻が生育する海藻資源の宝庫であると同時に海藻養殖にも適した環境にある。しかし、現在の沖縄の海藻利用状況を見ると海藻生産量の95%以上をモズクが占めており、その他の、豊富な海藻資源を有効に利用しているとは言い難い。また、海藻の加工状況は塩蔵や乾燥などの1次加工品が主体であり、付加価値の高い加工品はあまり見られないのが現状である。

そこで本研究では、海藻の高付加価値化と用途拡大を図るために、養殖による大量生産が可能な海藻を軟化または液化した新素材の開発を行うとともに、海藻の有用成分の検索と分画を行い、新素材を活用して海藻由来の機能性を付加した食品の開発及び利用法について検討する。これまでに、アナアオサの酵素分解による液化及びペースト化条件の検討、海藻酵素分解液の香味の改善を目的として乳酸発酵の条件の検討を行ってきた¹⁾。本年度はこれらまでの結果を基に、アナアオサを用いた乳酸飲料、海藻旨味調味料及びその他加工食品開発の検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 アナアオサの酵素分解

原料海藻：アナアオサ (*Ulva* sp. 沖縄県水産試験場で養殖)

酵素製剤：XP-415、XP-425（ナガセケムテックス㈱社製）

アナアオサは、水洗いしてゴミ等の異物を除去した後、フードプロセッサ（MK-6000、松下電器産業㈱）で粉碎し、ペースト状（以後、海藻ペーストと表記）にした。海藻ペーストは塩酸でpH5.0に調製した後、原料に対し

て0.4%の酵素を添加し、40℃で4時間攪拌しながら酵素分解を行った。分解終了後、酵素は80℃、30分間の条件で熱失活させアナアオサ酵素分解ペーストとした。

2-2 アナアオサ乳酸飲料の試作

2-2-1 アナアオサ原料

主原料は、アナアオサ酵素分解ペースト及び遠心分離（10,000 rpm、20 min）後の上清を用いた。

2-2-2 副原料

副原料には以下に示す原料を用いた。

発酵の副原料：スキムミルク（森永乳業㈱）。

甘味料：ぶどう糖（ナカライテスク㈱）、果糖（キシダ化学㈱）。

香料：ピーチ、ストロベリー及びグレープフルーツフレーバー（長岡香料㈱）

沈殿防止剤：ペクチン（GENU pectin type YM-150-LJ）（三晶㈱）

2-2-3 供試菌株

乳酸発酵菌株として *Pediococcus acidilactici* IAM12283 及び *Lactobacillus plantarum* IFO15891 を用いた。

IAM菌株は東京大学分子細胞生物学研究所、IFO 菌株は（財）大阪発酵研究所より入手した（以後、菌株ナンバーで表記）。

2-2-4 培地

乳酸菌の前培養培地として MRS broth（関東化学㈱）、乳酸菌の生菌数測定培地として BCP 加プレートカウン ト寒天培地（栄研化学㈱）を用いた。

2-2-5 乳酸発酵の方法

前報¹⁾に従いスターター溶液は 1×10^5 CFU/mL に希釈調製して試験に供した。

三角フラスコにアナアオサの酵素分解液または酵素分解ペースト 50 mL を入れ、所定量の副原料を溶解させた後、80 °C、30 分間加熱殺菌した。冷却後、無菌的に所定濃度に調製したスターター溶液 1 mL を添加し、発酵日数 3 日間、発酵温度 30 °C の条件で乳酸発酵を行った。発酵後の乳酸菌数及び乳酸の定量は前報¹⁾に従った。

2-3 アナアオサ旨味調味料の試作

2-3-1 黒麹の製麹

市販米（北海道産ほしのゆめ、沖縄食糧㈱）500 g を泡盛の製麹方法にしたがい浸漬、蒸煮後、43 °C まで放冷し、種麹（㈱ビオック）1 g を散布して、製麹を行った。製麹には恒温恒温機（EC-43HHP、㈱日立製作所）を用い、表 1 に示した培養温度で行い、3 種類の麹（No.1 ~ No.3）を調製した。出麹酸度は国税庁所定分析法²⁾に準じた。

表 1 黒麹製麹温度

	0~18時間	18~34時間	34~42時間	出麹酸度	備考
黒麹No.1	38°C	36°C		0.31	製麹34時間目に出麹
黒麹No.2	38°C	36°C	36°C	3.41	製麹後半を高温経過
黒麹No.3	38°C	36°C	32°C	5.22	製麹後半を低温経過

2-3-2 副原料

塩は市販塩（(有)与根製塩所）を用い、小麦粉グルテンは市販麹（㈱富久寿）をフードプロセッサーにて粉碎して用いた。

2-3-3 アナアオサ旨味調味料の発酵

アナアオサ旨味調味料の仕込配合を表 2 に示した。

1 L 容の三角フラスコに黒麹を除く各原料を配合後、121 °C、15 分間加熱殺菌した。室温まで冷却後黒麹を添加した。室温にて 20 日発酵を行い、遠心分離機（CR-26H、日立工機㈱）により 10,000 rpm、30 分間処理後、No.5A の濾紙で濾過して上清を得た。瓶詰後 80 °C、30 分間加熱殺菌を行いアナアオサ旨味調味料とした。

表 2 アナアオサ旨味調味料の仕込配合

	配合1	配合2	配合3	配合4
酵素分解ペースト (mL)	500	500	500	500
黒麹 (g)	50	50	50	50
塩 (g)	75	75	75	0
小麦粉グルテン (g)	50	50	50	50
備考	黒麹No.1	黒麹No.2	黒麹No.3	黒麹No.4

2-3-4 遊離アミノ酸の測定

各試料 100 μ L に 5% トリクロロ酢酸 900 μ L を添加後、遠心分離（10,000rpm、15 分間）により除タンパクしたものを測定試料とし、高速アミノ酸分析計（L-8800、日立製作所）にて測定を行った。

2-4 機能性の評価

アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性既法³⁾に従い測定した。コントロールに蒸留水を用い、ACE 阻害活性（%）は次式にて求めた。

$$\text{ACE阻害活性(\%)} = 100 - \frac{\text{サンプルを添加した場合の馬尿酸の生成量}}{\text{コントロールにおける馬尿酸の生成量}} \times 100$$

α -グルコシダーゼ阻害活性及びスクラーゼ阻害活性出口らの方法⁴⁾に準拠して行い、コントロールは蒸留水を用いた。

3 実験結果及び考察

3-1 アナアオサ乳酸飲料の試作

3-1-1 酵素分解ペーストの前処理の検討

前報¹⁾で、香味の改善を目的として、酵素分解ペーストの乳酸発酵を行った。その結果、海藻特有の臭いが低減し、IAM12283 株は官能的にほのかな海藻の香りを基調とし、IFO15891 株は酸の香りを基調とした発酵液が得られた。しかし、アナアオサの色素は 70 °C の穏やかな加熱によっても退色するため、殺菌時に褐変が発生し、緑色を生かした乳酸飲料の開発は困難であった。また酵素分解残滓により飲料にざらつき感が認められた。これらの問題を解決するために、遠心分離により酵素分解残滓を除去した濾液を原料とする乳酸飲料の試作を行った。

ことが推測された。Nakamura らは発酵乳中の ACE 阻害物質として2種類のトリペプチド（ラクトリペプチド：Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro）を報告している⁵⁾。また Yamamoto らはこのトリペプチドの配列が、乳タンパクカゼイン中に認められることから、発酵に用いた乳酸菌 *Lactobacillus helveticus* が乳タンパクからトリペプチドを分解生成し、その活性は他の乳酸菌に比較して強いことを示している⁶⁾。今回用いた両菌株は、スキムミルクを添加しても ACE 阻害活性の増加が認められないことから、乳酸菌のタンパク分解活性は低く、ACE 阻害活性を有するペプチドの生産が少ないことが示唆された。

血糖値上昇抑制作用の指標となる α -グルコシダーゼ阻害活性およびスクラーゼ阻害活性等、二糖類分解酵素阻害活性の測定も行ったが、各乳酸飲料とも阻害率 20% の低阻害活性であった。

3-1-3 乳酸飲料の香味調製及び沈殿抑制の検討

甘味料は糖液の利用を想定して、ぶどう糖と果糖を等量混合して用いた。乳酸発酵後の酸度は IAM12283 株が 5.5、IFO15891 株が 6.3 を示しており、甘味料の添加は表3に示した様に、糖無添加では酸味が強く、5% 添加では IFO15891 株において酸味がやや強い傾向を示し、15% 糖添加では、甘味が強い結果となった。両菌株の発酵液に適した糖添加量は 10% の添加量であった。

前述のように乳酸発酵により独特の海藻臭は低減したが、清涼飲料に特有の華やかなエステル系の香りが本乳酸飲料には少ない。そこで、華やかな香りを付与するとともにアナアオサ乳酸飲料の種類を増やす目的で、香料の添加と酵母菌による香りの付加を試みた。香料は食品添加用のストロベリー、ピーチおよびグレープフルーツを用いたが、海藻の香りが強いために調和をさせることは困難であった。また、酵母菌を用いた再発酵においても同様に海藻の香りが強く、調和をさせることは困難であった。以上の結果より、本乳酸飲料に香りの付与には、乳酸発酵液の希釈が必要だと思われる。

試作乳酸飲料は、冷蔵保存2日目にたんぱく質による沈殿が起きたが、酸性乳酸飲料用のペクチンを 0.3% 添加後、ホモゲナイズにより沈殿防止を行うことが可能であった。

3-2 アナアオサ旨味調味料の試作

乳酸飲料は加熱殺菌時の退色が問題になるため、酵素分解ペーストを固液分離後、その濾液を飲料として利用した。海藻の有効利用の観点から考えると、残滓はできるだけ少ない利用方法の開発が必要である。本試験では

アナアオサ酵素分解ペーストを全量用いることを目的に、アナアオサ旨味調味料の試作を検討した。

旨味調味料は昆布ダシ入り醤油等海藻を利用した類似調味料と差別化を図るために、沖縄県で伝統的に泡盛製造に用いられている黒麹菌の利用を前提に品質設計を行った。黒麹菌は、黄麹菌と比較してタンパク質分解酵素である酸性プロテアーゼ活性が高く、糖類生成酵素である α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ活性は低い。これらの性質はアミノ酸およびペプチドを多く含み、コク味を持つ一方で、糖類の生成が少ないためアミノカルボニル反応による褐変、黒色化の抑制が期待できる。従って、調味料の副原料に小麦粉ではなく、小麦粉グルテンを用いた。また酸味、香气成分等、調味料の風味に及ぼす黒麹菌の影響が大きいことが予想されたため3種類の出麹を用いて仕込を行った（表1）。配合1に用いた麹（黒麹 No.1）は酵素生産の終了した仕舞仕事時（培養時間 34 時間）に出麹を行い、酸および孢子形成をしていない麹である。配合2に用いた麹（黒麹 No.2）は製麹後半に、高温経過をとり、麹酸度を抑さえた麹である。配合3および4に用いた麹は（黒麹 No.3）通常の泡盛製造で用いられる温度経過をとった麹であり、配合4は塩無添加の仕込である（表3）。

表3 甘味料の検討

菌株	添加糖量 (%)			
	0	5	10	15
IAM12283株	酸味強い	調和	調和	甘味強
IFO15891株	酸味強い	やや酸味強	調和	甘味強

発酵後、遠心分離にて固液分離を行い、残滓量を測定した結果、各配合とも総重量の約 20% が発酵残滓として残された。今後原料利用率の効率化を検討する必要があった。アナアオサ旨味調味料は岩海苔様の香りを基調とし、紅褐色の透明感のある調味料であった。麹酸度が高くなるしたが、黒麹菌特有の香りが強い傾向を示し、官能評価の結果、培養時間 34 時間の麹（黒麹 No.1）を用いた配合1の仕込が香りが良いと判断された。また図5に示したように ACE 阻害活性は酵素分解ペーストの

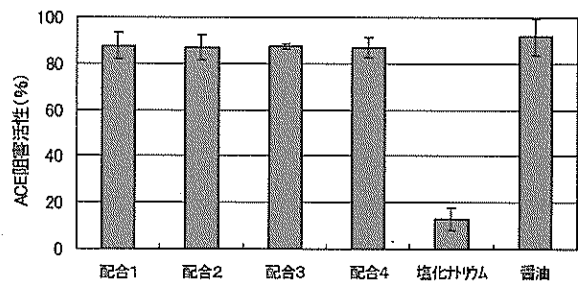


図5 旨味調味料のACE阻害活性
活性値 (60%) に比較して、旨味調味料の発酵により各配合とも 87% まで増加していた。この値は市販濃口醬

油と同等の活性値を示し、副原料として添加した塩化ナトリウムの影響ではないことが確認された。ACE 阻害活性の増加は海藻中のタンパク質および副原料として添加した小麦粉グルテンが、麴由来のプロテアーゼの作用により ACE 阻害活性物質へと変換された結果によることが推定された。表4に示したように、総アミノ酸量ならびに旨味成分であるグルタミン酸含有量は市販醤油に比較してかなり低い値を示した。これは製麴方法または発酵条件に起因することが予想された。製麴時の麴酵素生産量、麴歩合及び発酵温度等の問題点を検討することで、更に旨味アミノ酸及びペプチドの含有量を増加できることが推測された。呈味アミノ酸の組成は図6に示すように、苦味を呈するアミノ酸が各配合とも約35%、旨味、甘味を呈するアミノ酸が約50%を占めていた。試作したアナアオサ旨味調味料は香り、呈味成分及び色調の点から、今後サラダドレッシングまたはめんつゆ等の用途拡大に期待ができる。

表4 遊離アミノ酸量の比較

	mg/100ml				市販醤油
	配合1	配合2	配合3	配合4	
グルタミン酸	67	80	74	106	1777
総遊離アミノ酸量	846	910	893	1219	7588

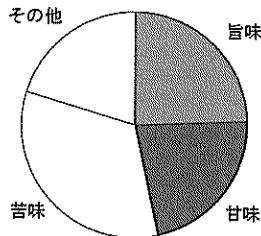


図6 旨味調味料中の呈味アミノ酸の組成比

4 まとめ

沖縄産海藻の高付加価値化と用途拡大を図るために、養殖による大量生産が可能な海藻を原料として、酵素剤による食品素材化中間原料を開発した。また開発素材を用いて乳酸飲料及び旨味調味料の開発を行い、以下に示す有用な知見を得た。

①アナアオサの色素は退色しやすく 70℃の穏やかな加熱によっても退色するため、緑色を生かした乳酸飲料の開発は困難であった。しかし、アナアオサ酵素分解ペーストを遠心分離にて処理後、上清を乳酸発酵に用いることで、乳褐色の色彩を持ち且つ ACE 阻害活性を示す飲料を試作できた。

②乳酸飲料の副原料であるスキムミルクは飲料の香味改善効果だけではなく、乳酸発酵における ACE 阻害活性の低下を抑制する効果が認められた。

③アナアオサ旨味調味料は岩海苔様の香りを基調とし、ACE 阻害活性を示した。また、アミノカルボニル反応による褐変化を抑制した調味料の試作に成功した。

謝辞

この研究は農林水産庁の平成14年度新技術地域実用化研究促進事業により実施したものである。

この研究を行うに当たり、海藻を提供していただいた沖縄県水産試験場ならびに、ペクチンを提供していただいた三晶株式会社に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 山城利枝子、比嘉賢一、鎌田靖弘 沖縄県工業技術センター研究報告第2号 pp.13-18 (2001)
- 2) 注解編集委員会 第四回改正国税庁分析注解(日本醸造協会) pp.7-33 (1993)
- 3) 豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子 沖縄県工業技術センター研究報告第2号 pp.35-57 (2000)
- 4) Y. Nakamura, N. Yamamoto, K. Sakai, A. Okubo, S. Yamazaki and T. Takano. J. Dairy Sci. 78 pp.777-783 (1995)
- 5) N. Yamamoto, A. Akino, and T. Takano Biosci. Biotech. Biochem. 58 pp.776-778 (1994)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。