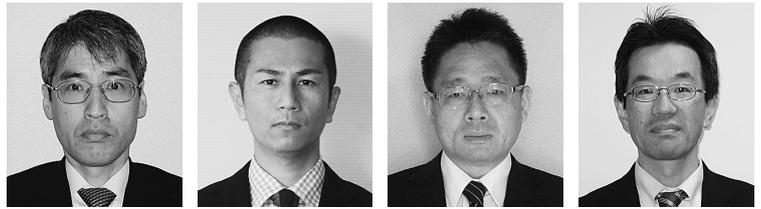


納豆菌の系統的育種による商品の 差別化と品質向上



①

株式会社ミツカングループ本社
株式会社ミツカングループ本社
株式会社ミツカン

②

中央研究所主席研究員
中央研究所
MD本部
館林工場品質管理課課長

③

竹 村 浩①
加 田 茂 樹②
市 瀬 秀 之③

④

山中 幸 人④

はじめに

納豆は、代表的な無塩大豆発酵食品である。筆者らの所属するミツカングループは、1997年に多角化の一環として納豆の製造販売に参入した。われわれが参入した当時、納豆製造販売を行う会社は、大手から中小まで数百社あったが、販売されている納豆の品質は、比較的均一であり、個性の強い、特徴のある納豆はあまり販売されていなかった。納豆の品質が均一であった原因の一つに、同一の納豆種菌が広く使われていたことが挙げられる。当時も、多くの納豆製造業者により、納豆の品質差別を図る努力が続けられていたが、多くの製品は、使用する大豆(品種、形状(小粒、大粒、ひきわり、など)、産地、栽培方法(有機栽培、など)、容器、添付のたれ、などを切り口にしたものであり、納豆自体に特徴のあるものが少なかった。われわれミツカングループは、食酢醸造を行う食品メーカーとしては200年近い歴史があったが、納豆に関しては後発メーカーであったため、特徴ある差別化された納豆を製造販売することにより存在感を発揮する必要があった。そのため、食酢醸造で培った微生物を扱う技術を生かし、納豆メーカーが従来あまり行っていなかった納豆菌の育種改良を通じた特徴のある納豆の開発、商品化を15年以上継続し、ミツカン「金のつぶ」ブランドの納豆を「一工夫された納豆」として市場に定着させるとともに、納豆の多様化が進むきっかけを作った。

以下、われわれが行った、1. 差別化品質納豆開発の事例として、低臭納豆、柔らかい納豆、ビタミンK₂高含有納豆の開発商品化、2. 納豆の基本品質を向上させた事例として、品質劣化の少ない納豆の開発に関して紹介する。

1. 差別化品質納豆の開発と商品化

①低臭納豆の開発と利用

一般にもよく知られているとおり、納豆は臭いの強い食品であり、この臭いが特に西日本では嫌われ、納豆の普及の妨げになっている。その対策として、低臭納豆開発の試みが過去にも行われており、それらの多くは添加物や発酵時間の適正化に

よってアンモニア発生の抑制を図ることを目的としていたが、アンモニア臭はいわゆる納豆臭とは官能的に明らかに異なると考えられた。われわれは、短鎖分岐脂肪酸(イソ吉草酸、イソ酪酸、2-メチル酪酸)に注目し、その非生産納豆菌の分離を試みた。短鎖分岐脂肪酸は、分岐脂肪酸の合成系を介してバリン、ロイシン、イソロイシンから合成されたイソブチリル-CoA、イソバレリル-CoA、2-メチルブチリル-CoAが加水分解されて生じると推測し、その最初の反応を触媒するロイシン脱水素酵素欠損株を当社保有の納豆菌O-2株から化学変異法により分離した。得られた納豆菌で作製した納豆は、仮説どおり、短鎖分岐脂肪酸をほとんど含まず、納豆臭が弱い低臭納豆と呼べる品質であった。これにより、短鎖分岐脂肪酸が納豆臭の本体であることも検証できた。本低臭納豆は、2000年に気になる臭いを抑えた納豆「金のつぶにおおなっとう」として商品化され(図1)、納豆のおいが気になり納豆が苦手だった人に、納豆を食べる機会を提供した。さらに、納豆の臭いが苦手ではないが、納豆を食べた後の口臭が気になっていた人にも、朝から気兼ねなく納豆を食べられる環境を提供した。また、臭いが少ないのでたれの風味が生きるといふ低臭納豆の特徴を利用し、梅風味の黒酢たれ、たまご醤油たれなど(図1)、特徴的なたれを添付した納豆を商品化し、新たな納豆の食べ方を提案することができた。

②柔らかい納豆の開発と商品化

当社にて、収集保管している納豆菌の評価をする中で、納豆が柔らかく仕上がる納豆菌を見だし、本菌を用いて製造した納豆を「金のつぶ 超柔らか納豆とろっ豆」として2007年に商品化した(図1)。従来、柔らかすぎる納豆はおいしくないといわれていたが、実際に商品化することにより、柔らかい納豆に商品価値があることが確認できた。現在のところ、納豆がなぜ柔らかくなるのか、メカニズムは不明であるが、今後明らかにしていきたいと考えている。

③ビタミンK₂高含有納豆の開発と骨強化機能検証、特定保



図1 「金のつぶ」ブランド納豆

健用食品許可取得，商品化

ビタミン K₂ は納豆菌によって作られ、納豆に多く含まれるビタミンである。ビタミン K₂ は、骨形成に関与するタンパク質であるオステオカルシンを活性化するカルボキシラーゼの補酵素として働くため、骨粗しょう症の治療薬として利用されている。われわれは、ビタミン K₂ を高生産する納豆菌を開発して、ビタミン K₂ 高含有納豆を実現するとともに、その骨形成に対する促進効果を実証して特定保健用食品の表示許可を受け商品化した。

i) ビタミン K₂ 高生産納豆菌の開発

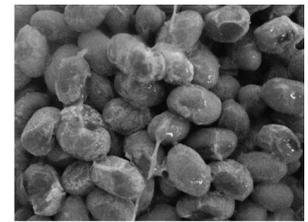
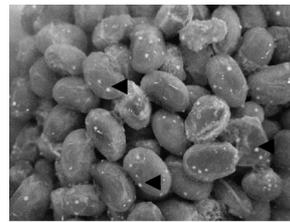
単純に、醗酵によるビタミン K₂ の高生産を目指すならば、培地、醗酵条件を改善することもできる。しかし、ビタミン K₂ 高含有納豆の開発を目的とした場合、培地は煮豆に限定され、食品なので特殊な栄養源の使用も不可能である。さらに、納豆の品質に悪影響を与えるので、醗酵温度や時間を極端に変更することもできない。そのため、ビタミン K₂ 高生産納豆菌を分離することとした。枯草菌のビタミン K₂ 合成経路に関する知見をもとに、ビタミン K₂ 生合成中間体のアナログ化合物に対する耐性株（ジヒドロキシナフトエ酸アナログ耐性変異、芳香族アミノ酸アナログ耐性変異）を化学変異法で納豆菌 O-2 株から分離した。得られた株について納豆を試作し、ビタミン K₂ 生産性と納豆品質の両立している株（OUV23481 株）を選択した。本納豆菌を用いて製造した納豆は、通常の納豆の 1.5 倍（1,300 μg/100 g 納豆）以上のビタミン K₂ を含有している。

ii) ビタミン K₂ 高含有納豆の骨強化機能の検証と特定保健用食品許可取得

納豆は、いわゆる健康機能がマスコミなどによりさまざまに語られており、健康イメージの強い食品である。しかし、その根拠の科学的検証は必ずしも十分になされていなかった。また、納豆の骨強化機能に関しては、疫学的研究データはあったものの、直接的にその効果を検証した試験はなされていなかった。そこで、ビタミン K₂ 高含有納豆の商品化に先立ち十分な科学的根拠をもっておくため、納豆菌の作るビタミン K₂ の骨強化機能について、動物実験、ヒト介入試験による検証を進めた。そして、本納豆を 1 日 1 パック食べることにより、血中のビタミン K₂ 濃度が上昇し、その結果、オステオカルシンのグルタミン残基が γ-カルボキシル化され、活性型のオステオカルシンが増えることを検証した。得られた検証結果をもとに、上記ビタミン K₂ 高含有納豆に関し、納豆初の特定保健用食品の表示許可を受け、「金のつぶ ほね元気」として 2000 年に商品化した（図 1）。「金のつぶ ほね元気」は、昨今の健康志向に合致する商品として納豆消費者に受け入れられ、発売から 12 年経過した現在も納豆市場に定着している。

2. 納豆の基本品質の向上

納豆は、生きた納豆菌、納豆菌が作った菌体外酵素を含むため、長時間常温に置くと、納豆菌の活動や、酵素反応による急速な品質変化が起こる。そのため、納豆の流通や、保存は、冷蔵状態で行う。しかし、冷蔵状態であっても、酵素反応による品質変化が起こる。このような品質変化は、熟成といわれる工程でもあるため、一定の範囲で起こる分には問題ないが、進みすぎると品質劣化を引き起こす。冷蔵中に起こる代表的な品質



従来『におわなっとう』

新『におわなっとう』

図 2 シヤリ対策

過酷な条件におけるシヤリ対策効果の一例
シヤリの代表的な部分を矢頭で示した。

劣化に、ストラバイト ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) およびチロシンの結晶生成がある。これらの結晶は、「シヤリ」と呼ばれ、食感を損ねたり、白い粒子として析出し、納豆の外観を損ねたりする。一方、納豆が適切に冷蔵されなかった場合、納豆菌が活動を再開し、アンモニアを発生させることがある。アンモニア臭は、通常の納豆臭とは異なり、異臭と認識されるため、その発生は納豆の代表的な品質劣化といえる。

われわれは、納豆菌の改良により、ストラバイト、アンモニア発生の抑制を実現し、納豆の保存性を高めることにより、基本品質を向上させることに成功した。

i) ストラバイト対策

納豆菌が作る菌体外酵素であるフィターゼは、大豆由来のフィチン酸を分解し、ストラバイトの原料となるリン酸を遊離させる。納豆菌のフィターゼ活性を欠失させることにより、シヤリの生成を抑制できることを明らかにした。

ii) アンモニア臭防止

普通の納豆からは、ほとんどアンモニア臭がしない。しかし、適切な醗酵管理がなされず、醗酵温度が上がりすぎたり、醗酵時間が長くなりすぎたりすると、アンモニア臭のする納豆ができる。また、醗酵過程に問題がなくても、納豆を長時間常温に放置するとアンモニア臭が発生する。このアンモニアが、アルギニンから生じた尿素の分解および、グルタミン酸脱水素酵素によるグルタミン酸の酸化的脱アミノ反応により生じていることを明らかにした。

iii) 実用菌への導入

実用納豆菌の一つである低臭納豆菌にフィターゼ欠損変異、アルギニン非資化性変異（尿素由来のアンモニア抑制）、プロリン非資化性変異（グルタミン酸由来のアンモニア抑制）を導入した。得られた変異株で製造した納豆では、冷蔵中のシヤリ生成が抑制された（図 2）。また、製造後納豆を常温に放置したときに生じるアンモニア発生も抑制された。現在、本納豆菌は「金のつぶ におわなっとう」などの低臭納豆に使用されている。今後、そのほかの実用菌にも同様の形質を付与し、順次納豆生産に導入して納豆の基本品質向上を図る予定である。

謝 辞 本研究を行うにあたり、元 静岡県立大学 山口正義先生、浜松医科大学 梅村和夫先生、神戸大学 吉田健一先生に、ご指導いただきました。ここに深く感謝の意を表します。また、本研究開発に携わった、ミツカングループ関係者の皆様に深謝申し上げます。