

明 細 書

発明の名称：うま味及び／又は塩味増強剤とそれを含む飲食品

技術分野

[0001] 本発明は、飲食品のうま味及び／又は塩味を増強するうま味及び／又は塩味増強剤、および該うま味及び／又は塩味増強剤を含有するうま味及び／又は塩味が増強された食品、飲料、または調味料等の飲食品に関する。

背景技術

[0002] 近年、食塩（塩化ナトリウム）の摂取量を低減して、高血圧、腎疾患、心疾患などの疾病を予防することが社会全体で要望されており、飲食品全般について低塩化の流れがある。ところが、従来品から単に塩分を低減すると、食味がぼけてまずくなり、また、塩化カリウムなどの代用塩を使用すると、苦味等の異味により食味が低下してしまう。だし等のうま味を増加させることで、塩味の低減を補って食味を満足させる減塩方法が知られているが、この方法は、うま味が重要な食味である飲食品に限定され、その場合うま味成分をかなり増加させる必要がある。

[0003] そのため、食塩量を低減しても、塩味を増強させて飲食品の塩味を増強できる塩味増強物質や、塩分が少なくても飲食品のうま味を増強できるうま味増強物質の研究開発が進められている。

そのような塩味増強物質として、特許文献1には、メチオナル、4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノン類、または3-ヒドロキシ-2(5H)-フラノン類を有効成分とする塩味増強剤が、特許文献2にはナイアシン、サリシン、またはヘリシンを含む塩味増強剤が記載されているが、これら塩味増強物質の多くは化学合成された物質であり、食品としての安全性は確認されていないものが含まれている。

[0004] また、うま味増強物質としては、特許文献3に、N-(1-デオキシ-D-フラクトス-1-イル)-ピログルタミン酸、N-(1-デオキシ-D-フラクトス-1-イル)-バリン、又はN-(1-デオキシ-D-フラクト

スー１－イル)－メチオニンを有効成分とするうま味増強剤が、特許文献４には、ピログルタミルジペプチドを有効成分とするうま味増強剤が記載されている。うま味に寄与する成分は、主にアミノ酸と核酸であり、一部の核酸はグルタミン酸と組み合わせると、うま味増強効果があることが知られている。

また、特許文献５には、トレハロースを有効成分とする塩味及び／又はうま味増強剤が記載されている、

[0005] 低塩化は、和食にかかせない醤油にとっても例外ではなく、食塩含有量が低くても塩味や呈味のよい醤油を製造する技術開発が進められている。

例えば、特許文献６には、メチオナルを含有させることにより、グルタミン酸のうま味が増強された醤油が記載され、特許文献７には、食塩０．５～５％（ｗ／ｖ）とアンモニウムイオンを０．２～４％（ｗ／ｖ）含有し、ｐＨが３．２～５．０である塩味と醤油らしさに優れた醤油が報告されている。

また、特許文献８には、トレハロースを有効成分とする塩味および／又はうま味増強剤により、塩化ナトリウムの持つ塩味とうま味を増強して、結果として食味が充実し味の優れた飲食品が製造できることが記載されている。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献１：特開２０１２－２２３１４７号公報
特許文献２：特開２０２３－１３５８６１号公報
特許文献３：特開２０１２－２９６１５号公報
特許文献４：特開２０１２－２９６１６号公報
特許文献５：特開平１０－６６５４０号公報
特許文献６：特開２０１４－１８１４６号公報
特許文献７：特許第５８１２８６４号公報
特許文献８：特開平１０－６６５４０号公報
特許文献９：国際公開第２０１９／２４０２４３号

特許文献10：国際公開第2023/234307号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY AND BIOCHEMISTRY (2019) Vol. 83, No. 1, p. 181 - 184

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の解決しようとする課題は、飲食品のうま味及び／又は塩味を増強することのできるうま味及び／又は塩味増強剤を提供することである。また、該うま味及び／又は塩味増強剤を含み、そのうま味及び／又は塩味増強効果によりうま味及び／又は塩味が増強された食品、飲料、または調味料等の飲食品を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、うま味及び／又は塩味を増強できる物質について鋭意研究を行った結果、キノコ、麹菌などの真菌類、放線菌、シアノバクテリアといった一部の微生物だけが産生できるエルゴチオネインが、うま味及び／又は塩味成分を含有する飲食品に含まれるとそのうま味及び／又は塩味を増強できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

[0010] 本発明は、以下〔1〕に記載のうま味及び／又は塩味増強剤、または〔2〕～〔7〕に記載の飲食品に関する。

〔1〕エルゴチオネインを有効成分とする、うま味及び／又は塩味増強剤。

〔2〕うま味増強剤であるエルゴチオネインが、飲食品中のうま味成分の含有量に対して0.005重量%以上含有される、うま味が増強された飲食品。

〔3〕塩味増強剤であるエルゴチオネインが、食塩を含有する飲食品に下記のいずれかの濃度で含有される、塩味が増強された飲食品。

（1）食塩含有量が0.1重量%以上5重量%未満の飲食品中において0.

5 p p m以上のエルゴチオネイン

(2) 食塩含有量が5重量%以上の飲食品中において0.1 p p m以上のエルゴチオネイン

[4] うま味及び／又は塩味が増強された飲食品が、醤油、味噌、魚醤、みりん、かつおだし、つゆ、うま味調味料、発酵うま味調味料、ケチャップ、ソース、またはマイコプロテインである、上記[2]または[3]に記載の飲食品。

[5] エルゴチオネイン高生産麹菌株を使用して製造される飲食品である、[2]ないし[4]のいずれかに記載の飲食品。

[6] エルゴチオネインを10 p p m以上含有する、うま味及び／又は塩味が増強された飲食品。

[7] エルゴチオネインを10 p p m以上含有する、レトルト食品用醤油、醤油を含むレトルト食品、および色素で着色されたエルゴチオネイン産生真菌発酵バイオマスまたはその上清を含む飲食品ではない、うま味及び／又は塩味が増強された飲食品。

[0011] また、本発明は、以下[8]、[9]に記載の醤油、[10]、[11]に記載の飲食品、[12]に記載のエルゴチオネイン高含有麹菌発酵物、[13]に記載のうま味及び／又は塩味を増強する方法、または[14]に記載のエルゴチオネインの使用に関する。

[8] エルゴチオネインを10 p p m以上含有する、レトルト食品用醤油ではない、醤油また醤油含有調味料。

[9] 醤油が減塩醤油である、上記[8]に記載の醤油。

[10] 上記[5]に記載の飲食品が、エルゴチオネイン高生産麹菌株を5～10%未満のタンパク質含量原料で構成される培地で培養して得られる、エルゴチオネイン0.3 g／乾燥麹菌発酵物1 kg以上のエルゴチオネイン高含有麹菌発酵物である米麹である飲食品。

[11] 上記[5]に記載の飲食品が、エルゴチオネイン高生産麹菌株を10%以上のタンパク質含量原料で構成される培地で培養して得られる、エル

ゴチオネイン0.4 g／乾燥麹菌発酵物1 kg以上のエルゴチオネイン高含有麹菌発酵物である、マイコプロテインまたは醤油麹である飲食品。

〔12〕エルゴチオネインを50～50,000 ppm含有する、エルゴチオネイン高含有麹菌発酵物。

〔13〕飲食品にエルゴチオネイン含有させることにより、飲食品のうま味及び／又は塩味を増強する方法。

〔14〕飲食品のうま味及び／又は塩味増強のための、エルゴチオネインの使用。

発明の効果

〔0012〕 本発明のうま味及び／又は塩味増強剤によれば、エルゴチオネイン極少量の添加でうま味及び／又は塩味を引き出すことができるので、風味を損なうことなく自然にうま味及び／又は塩味を増強できる。うま味のある飲食品に添加してうま味が増強されると、飲食品中の食塩の含有量を減らしても塩味をより感じるため、これを添加してうま味が増強された調味料、食品、飲料などの飲食品を喫食すれば、食味が維持されて、しかも無理なく食塩摂取量を減少させることができる。

無論、うま味成分であるL-グルタミン酸モノナトリウム、イノシン酸ナトリウム、またはグアニル酸ナトリウム等を含む飲食品にエルゴチオネイン極少量添加することにより、食塩を含まなくてもうま味を増強することができる。

〔0013〕 エルゴチオネインが極少量含有された醤油は、塩味とうま味が増強されているので、たとえ醤油の塩分を減らしても風味を損なうことなく自然な醤油の美味しさが引き出されるため、特に減塩醤油に有効であり、エルゴチオネインにより醤油の甘味も増強される。また、エルゴチオネイン高生産麹菌株を使用して製造される醤油は、呈味の向上だけでなく、その醤油製造の濾過工程において圧搾性が良くなり作業性が向上するという利点がある。

また、エルゴチオネイン高生産麹菌株を使用して製造される麹菌発酵物は、エルゴチオネイン含有量が高く、そのまま食してエルゴチオネインを十分

に摂取できる食品、食品素材、あるいは食品原料として使用でき、エルゴチオネイン含有量が高いことにより、うま味や甘味、塩味等の呈味が増強されたより美味しい食品となる。また、本発明の麹菌発酵物は、麹臭、糠臭、無精臭、酸化臭という麹菌発酵物特有の臭いが少ないため、香りがよい。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明は、エルゴチオネインを有効成分とする飲食品のうま味及び／又は塩味増強剤、および、うま味及び／又は塩味増強剤であるエルゴチオネインを含有するうま味及び／又は塩味が増強された飲食品に関する。

なお、本発明では、「%」とは単位を明記していなくとも「重量%」を意味し、1 ppmは0.0001重量%である。

[0015] エルゴチオネイン（以下、「ERG」ともいう。）は、ライムギ麦角菌（*Claviceps purpurea*）から単離された含硫アミノ酸として発見され、植物や動物の生体内にも存在することが確認されている。しかしながら、植物や動物は、エルゴチオネインを合成することはできず、生体内のエルゴチオネインは、担子菌類などの微生物により合成されたエルゴチオネインに由来するものと考えられている。担子菌類の一部のキノコ、例えば、ヒラタケ、シイタケ、マイタケ、エリンギなどの食用キノコに含まれており、特にタモギタケに多く含まれていることが知られている。また、麹菌がERGを生産することも知られている。

[0016] ERGは、微生物中ではヒスチジンからの生合成経路が知られており、硫黄原子はシステインから供給される。ERGは、高い抗酸化性を有しており、また、エラスターゼ阻害作用、チロシナーゼ阻害作用が報告されており、美白やしわ予防といった美容・食品分野で特に注目されている。また、ERGが生体酸化防御システムに関与することが判明されてきており、医療分野での応用も試みられている。ERGは、熱安定性やpH安定性が高く、高温でもその抗酸化作用を維持することができ、生理作用を期待して食品へ配合される他、抗酸化剤としての食品への使用も期待されている。

[0017] ERGの製造方法としては、タモギタケなどの担子菌からの抽出、化学合

成、および微生物を用いた発酵が行われている。タモギタケなどの担子菌からの抽出は、原材料の取得に時間がかかり、大量生産には適していない。大量生産には化学合成が適しているが、高価な合成試薬を用いる必要がある。そのため、C1化合物資化性の細菌や酵母を用いる発酵や、ERG生合成遺伝子を過剰発現させた微生物を用いる発酵や、ERG生合成遺伝子を導入してERGを過剰発現させた麹菌を用いる固体培養（非特許文献1）などの発酵による製造方法の研究が進められている。

[0018] 本発明のうま味及び／又は塩味増強剤として、化学合成による市販品のERGを用いてもよいし、ERGを含むキノコ類やERGを生産する麹菌及びその培養物、または麹菌を使用して製造した酒粕などからの抽出物やその精製品を用いてもよい。また、麹菌を原料として用いる飲食品に対しては、ERGを添加することなく、ERGを高生産する麹菌を用いることにより、飲食品中のERG量を増加させることができる。

ERGの抽出に用いるキノコ類としては、ヒラタケ科ヒラタケ属のキノコであるタモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*)、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、シイタケ (*Lentinula edodes*)、マイタケ (*Grifola Frondosa*) 等をERG含有量の多さから好ましく挙げることができ、これらの1種または複数種類を組み合わせ用いることができる。

[0019] また、ERGを生産する麹菌としては、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属に属する任意の菌を用いることができる。一例として、アスペルギルス オリゼ (*Aspergillus oryzae*)、アスペルギルス ソーヤ (*Aspergillus sojae*)、アスペルギルス ニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス リューキューエンシス (*Aspergillus luchuensis*)、アスペルギルス タマリ (*Aspergillus tamarii*) が挙げられる。麹菌の菌株としては、例えば、*Aspergillus oryzae*

a e R I B 3 2 6 株など寄託機関から入手可能な菌株、市販されている種麴に含まれる菌株、または清酒、醤油醸造蔵等の飲食品製造環境などから分離して得られる菌株を使用できる。

[0020] また、E R Gを生産する麴菌として、上記野生株の他に一般的な突然変異導入方法を用いて、E R G高生産の変異株を分離して使用できる。突然変異導入方法は、例えば、物理的にDNAを損傷し変異を導入する紫外線（UV）やX線照射、化学的にDNAを損傷し変異を導入するN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン（NTG）やエチルメタンスルホン酸（EMS）などのアルキル化試薬による処理などが挙げられる。

[0021] さらに、遺伝子組換えによりE R G生合成に関連する遺伝子を導入したE R G高生産麴菌株を使用することができる。例えば、e g t A遺伝子を導入した麴菌変異株（特許文献9、非特許文献1参照）や、G 4 2 8 S変異またはC 4 5 9 F変異を導入、または、W 4 0 4 ~ Q 5 1 5の領域のアミノ酸を1 ~ 1 1 2個欠失させる等の特定の遺伝子変異を導入したアスペルギルス属に特有のA 0 0 9 0 0 0 5 0 0 0 6 6 4遺伝子（コードするアミノ酸配列：配列番号1）およびそのオルソログ遺伝子を導入して、E R Gの発現を増加させたアスペルギルス属変異株（特許文献10参照）等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0022] 本明細書においてE R G高生産麴菌株とは、生産されるE R Gが、突然変異していないまたは形質転換していない菌株に比べて、20 ~ 30℃で3 ~ 14日間の液体培養（パフミンSM培地（パフミンSM（キッコーマン株式会社製）を5 ~ 10%、水に添加し懸濁した溶液）で5 ~ 10倍以上、好ましくは20倍以上であるものを指す。例えば、上記e g t A遺伝子を強制発現させたアスペルギルス ソーヤ株、または、上記変異A 0 0 9 0 0 0 5 0 0 0 6 6 4遺伝子およびそのオルソログ遺伝子のW 4 0 4 ~ Q 5 1 5の領域にアミノ酸変異またはアミノ酸欠失を含むアスペルギルス オリゼ変異株等が該当する。

A 0 0 9 0 0 0 5 0 0 0 6 6 4遺伝子は、アスペルギルス オリゼ R I

B 4 0 株からクローニングされ、他の種と高度に保存される複数の保存領域が存在する。特に、保存領域として配列番号 1 のアミノ酸 4 1 1 位～4 7 0 位に対応する領域が挙げられ、この保存領域中の 4 2 8 位および／または 4 5 9 位に対応する位置に置換変異を導入することにより、変異株の E R G の発現が 5 ～ 1 0 倍以上増加する。また、4 0 4 位～5 1 5 位に対応する領域のアミノ酸を 1 ～ 1 1 2 個欠失させた欠失変異を導入しても、同様に E R G の発現が 5 ～ 1 0 倍以上増加する。

[0023] また、飲食品が麹菌発酵物を原料とする、例えば醤油、酒、甘酒、みりん、味噌、などである場合には、製造時に E R G を添加しなくても、E R G 高生産麹菌株を使用して製麹することにより、飲食品中の E R G 含有量を高めることができる。特に、発酵食品、発酵飲料、発酵調味料の製造に E R G 高生産麹菌株を使用すると、E R G を添加した場合に比べて、うま味及び／又は塩味増強以外の効果も発揮する。

[0024] うま味及び／又は塩味が増強されるとは、これらによるうま味及び／又は塩味が、本発明のうま味及び／又は塩味増強剤がない場合と比較して、より強く感じられることを意味する。具体的にはうま味及び／又は塩味増強剤の添加により、うま味及び／又は塩味成分を例えば 1 ～ 5 0 % 減らしても、同等のうま味及び／又は塩味を感じることができることを意味する。また、うま味及び／又は塩味増強剤の添加により、例えば 1. 1 ～ 2 倍の量のうま味及び／又は塩味成分を含んでいる場合と同等のうま味及び／又は塩味を感じることができることを意味する。あるいは、うま味成分及び／又は塩味を少量含んでいてもそれを感じられない場合に、うま味及び／又は塩味増強剤の添加によって、初めてうま味及び／又は塩味が感じられるようになることを意味する。

[0025] 本発明におけるうま味成分は、L-グルタミン酸モノナトリウム、イノシン酸ナトリウム、またはグアニル酸ナトリウムであり、本発明におけるうま味成分の含有量とは、飲食品中に含まれるこれら 3 成分のうちいずれかのうま味成分の含有量を意味する。

うま味成分を含有する飲食品において、うま味増強剤であるエルゴチオネインを、一うま味成分の含有量に対して0.005重量%以上含有させることにより、飲食品のうま味が増強される。具体的には、うま味成分であるL-グルタミン酸モノナトリウムが2%溶液では1ppm以上、イノシン酸ナトリウムまたはグアニル酸ナトリウム等の5%溶液では1ppm以上含有させると、うま味が増強される。うま味成分を2以上含有する飲食品においては、最小のうま味成分の含有量に対してERGを0.005重量%以上含有させればよい。

[0026] また、本発明のうま味増強剤は、飲食品一般に対して、10ppm以上、例えば、10ppm以上、15ppm以上、20ppm以上、または30ppm以上、あるいは、40ppm以上、50ppm以上含有させることにより、飲食品のうま味増強効果を発揮する。

本発明のうま味増強剤を多量含有させてもうま味増強効果が高まるわけではないことから、経済性を考慮すれば、飲食品中に、ERGを0.15重量%以下、例えば0.12あるいは0.09重量%以下、0.06あるいは0.03重量%以下含有させることができる。飲食品のうま味成分含有量に対しては、ERGを15重量%以下、例えば12あるいは9重量%以下、6あるいは3重量%以下含有させることができる。本発明のうま味増強剤は、飲食品中の種々のうま味成分に対して、これら下限値と上限値の全ての組み合わせの含有量で、飲食品のうま味増強効果を発揮する。

[0027] 本発明における塩味成分は食塩(NaCl)であり、本発明の塩味増強剤は、飲食品一般に対して、1ppm以上、例えば、1、5、10、15、20、または30ppm以上、あるいは40ppm、50ppm以上含有させることにより、飲食品の塩味増強効果を発揮する。

詳細には、食塩を含有する飲食品においては、塩味増強剤であるエルゴチオネインを、食塩含有量が0.1重量%以上5重量%未満の飲食品中に0.5ppm以上、または食塩含有量が5重量%以上の飲食品中に0.1ppm以上含有させることにより、飲食品の塩味が増強される。

また、本発明の塩味増強剤を多量含有させても塩味増強効果が高まるわけではないことから、経済性を考慮して、飲食品の中に、ERGを0.15重量%以下、例えば、0.12あるいは0.09重量%以下、0.06あるいは0.03重量%以下含有させることができる。本発明の塩味増強剤は、飲食品中の種々の塩味成分に対して、これら下限値と上限値の全ての組み合わせの含有量で、飲食品の塩味増強効果を発揮する。

[0028] また、ERGの濃度は、LCMSによって以下の条件で測定する。

(HPLC条件)

HPLC分析は以下の条件で行う。

装置：HPLC装置：HPLC：Nexeraシリーズ式（島津製作所社製）

カラム：COSMOSIL 2.5HILICカラム3.0×150 2.5 μ m 3.0mm I.D. ×15.0 cm（ナカライ社製）

流速：0.5 mL/min

温度：40℃

移動相：A) 0.1% (v/v) ギ酸水溶液、B) 0.1 (v/v) ギ酸アセトニトリル

アイソクラティック：0-10分 (B: 80%)

注入量：5 μ L

(質量分析)

装置：LCMS-2020（島津製作所社製）

(質量分析 (LC-MS) 分析条件)

イオン化条件：ESI+

MS条件：SIM ERG: m/z 230.1 ($[M+H]^+$)

保持時間：5分付近

[0029] 本発明の飲食品は、食品、飲料、または調味料である。

食品は、あらゆる食品、好ましくはうま味成分を含有する食品に使用可能であり限定されない。例えば、カレー、シチュー、ミートソース等のレトル

トパウチ食品、サラダ、漬物等の野菜加工品、サケ、マグロ、イワシ、エビ、カツオ、サンマ、イカ、ホタテ、カニ、カキ等の水産物、かまぼこ、ハンバーグ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品、乳製品、おにぎり、ピラフ、チャーハン、雑炊、お茶漬、親子丼、中華丼、かつ丼等の米飯調理品、春巻き、シュウマイ、餃子、カレー、煮物、揚げ物等の調理食品、マイコプロテイン、ペットフード、医療食品などが例示される。マイコプロテインとしては、酵母由来タンパク質、糸状菌由来タンパク質、キノコなど菌類由来のタンパク質等が挙げられる。

[0030] 飲料も限定されず、例えば、清涼飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料、スポーツ飲料、卵スープ、ワカメスープ、中華風スープ、コンソメスープ、ポタージュスープ等のスープ類、お吸い物、味噌汁、ビール、焼酎、カクテルなどの酒類、医薬部外品の栄養ドリンク等が例示される。液状のものだけでなく、ゼリー飲料のようなゲル状、半固形状のもの含まれる。

調味料も限定されず、醤油、減塩醤油、みりん、味噌、魚醤、料理酒、つゆ、かつおだし、昆布だし等のだし、うま味調味料、発酵うま味調味料、すし酢、たれ、ソース、オイスターソース、その他の各種ソース類、ケチャップ、ドレッシング、マヨネーズ等が例示される。

[0031] うま味調味料とは、うま味を有する化合物を精製した化学調味料であり、具体的には、アミノ酸系調味料、核酸系調味料などが挙げられる。アミノ酸系調味料としては、グルタミン酸及びその塩（グルタミン酸ナトリウム等）などが挙げられる。核酸系調味料としては、イノシン酸ナトリウム及びグアニル酸ナトリウムなどが挙げられる。発酵うま味調味料とは、小麦グルテン、大豆などのタンパク質酵素分解物をいう。

また、上記飲食品を製造する工程において、本発明のうま味増強剤を飲食品に添加する場合には、その添加時期はいずれの工程で添加してもよく、最終製品である飲食品に必要量含まれていれば、添加方法も限定されない。

[0032] 醤油は、大豆や小麦などの植物性原料を加熱処理してこれに麹菌を繁殖させた後、食塩水中で発酵、熟成させて製造される醸造醤油が代表的なもので

あり、塩分濃度は一般に15～18重量%である。醤油にはその他にも、植物性原料を酸や酵素で分解して造られる化学醤油、魚介類を発酵させた魚醤、蓄肉類を発酵させた肉醤等があるが、本発明の醤油は、麹菌を使用する醸造醤油が好ましい。

醸造醤油には、原料の大豆と小麦との比率、原料処理の方法、塩分濃度等の製法の違いによる種類があり、例えば、こいくち、うすくち、たまり、しろ、さいしこみ等が挙げられる。また、普通の醤油の塩分を半分近く減らした減塩醤油があり、本発明の醤油には、減塩醤油も含まれる。

[0033] 本発明のERGは、醤油に対して、5ppm以上、例えば、10ppm、15ppm、25ppm、30ppm以上、あるいは35ppm、40ppm、45ppm、50ppm以上含有させることにより、醤油の塩味とうま味等の呈味が増強される。また、減塩醤油でも同じく5ppm以上、例えば、上記濃度以上含有させることにより、減塩醤油の塩味とうま味等の呈味が増強される。

さらに、醤油を含む醤油含有調味料に対しても、ERGを5ppm以上が含有させることにより、塩味とうま味等の呈味が増強される。

また、ERGを多量に含有させても醤油に対するうま味塩味増強効果が高まるわけではないことから、経済性を考慮して、醤油中に、ERGを0.15重量%以下、例えば0.12、0.09重量%以下、あるいは0.06重量%以下含有させることができる。本発明の醤油は、これら下限値と上限値の全ての組み合わせのERG含有量で、うま味塩味増強効果を発揮する。

[0034] 本発明のERG高含有麹菌発酵物は、麹菌を培養する通常の固体培地または液体培地のいずれかで発酵することにより調製される。産業上用いられる麹の形態として、大豆や小麦、米などに麹菌を直接生育させて得られる固体麹と、大豆や小麦、米などを懸濁させた液体培地中で麹菌を生育させて得られる液体麹の2つの形態が存在する。本発明の麹菌発酵物は、固体麹または液体麹が含まれる。発酵条件は、本技術分野において用いられる通常の条件を使用することができる。

[0035] 固体麴を製麴するのに用いる固体培地には、固形分中5～10%未満のタンパク質含量原料（食品栄養成分表のタンパク質量）で構成される固体培地と、固形分中にタンパク質10%以上含むタンパク質含量原料（食品栄養成分表のタンパク質量）で構成される固体培地がある。このような固体培地の原料として、例えば、5～10%未満のタンパク質含量原料である米（タンパク質含量6%）や、タンパク質10%以上含むタンパク質含量原料であるタンパク質20%以上を含む豆類、魚、肉、藻類並びにそれらの加工物を利用することができる。タンパク質20%以上を含む加工物として、脱脂大豆、魚粉、肉粉、スピルリナ粉が挙げられる。固体培地は、上述の原料を沸騰したお湯で蒸すか又は煮込み、場合により破碎することで調製することができる。

また、液体麴を製造するのに用いる液体培地に使用する原料としては、小麦ふすま、米、脱脂大豆、トウモロコシ、おから、酵母エキス、デキストリン等が挙げられる。

[0036] 発酵終了後のERG高含有麴菌発酵物は、培地から液体を固液分離して回収して、用途に応じてイオン交換樹脂等で濃縮し、そのままあるいは乾燥して、必要に応じて味付けをして、ERG含有食品素材として他の食品の原料とすることができる。

また、固体培地または液体培地を特定の材料とすることにより、また必要に応じて味付け等をして得られるERG高含有麴菌発酵物は、例えば、マイコプロテインである食品として、あるいは米麴や醤油麴として食品材料に用いることができ、このように、本発明のERG高含有麴菌発酵物は、食品や麴菌発酵物を原料とする食品、例えば発酵食品、発酵飲料、発酵調味料の中間原料として用いることができる。

[0037] 本発明のERG高生産麴菌株でERG高含有麴菌固体発酵物を製造した場合、例えば、0.3gまたは0.4g／麴菌固体発酵物1kg以上、好ましくは0.5g／麴菌固体発酵物1kg以上、より好ましくは0.6g／麴菌固体発酵物1kg以上、さらに好ましくは0.8g／麴菌固体発酵物1kg

以上のERGを含むERG高含有麹菌固体発酵物を製造することができる。

5～10%未満のタンパク質含量原料である米から構成される培地で得られる米麹は、ERG0.3g/乾燥麹菌発酵物1kg以上含有するERG高含有麹菌発酵物となり、また、大豆と小麦を原料とするタンパク質含量が25%の培地で得られる醤油麹や、10%以上のタンパク質含量原料で構成される培地で得られるマイコプロテインは、ERG0.4g/乾燥麹菌発酵物1kg以上のERG高含有麹菌発酵物となる。

[0038] 本発明のERG高生産麹菌株でERG高含有麹菌液体発酵物を製造した場合、50～50,000ppmのERGを含むERG高含有麹菌液体発酵物を製造することができる。例えば、50ppm以上、100、300、500、または1,000ppm以上のERGを含有し、かつ5%以下、4、3、2、または1%以下のERGを含有する麹菌発酵物が得られる。

実施例

[0039] 以下、実施例を示して本発明の詳細を具体的に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

なお、実施例中で単に「%」と記載した場合、「重量%」を意味する。また、官能評価には常温のサンプルを用いた。

[0040] [試験1：ERGによるグルタミン酸ナトリウム溶液のうま味増強効果]

純水に0.2%NaClを混合した。それにL-グルタミン酸モノナトリウム（以下、「MSG」ともいう。）を添加して、0%、0.75%、1%、1.25%、1.5%、1.75%の6つの濃度のMSGサンプル、および7番目のサンプルとして、1%MSGに精製エルゴチオネイン（純度99.5%以上、Tetrahedron社）を終濃度が60ppmになるように添加したものを調製した。0.2%NaClは、MSGのみでは味がぼけるため、官能評価のために添加した。

5名の訓練されたうま味感受性対象者である専門パネルにより、うま味を官能評価した。5名の専門パネルに対し、7番目の60ppmERG添加1%MSG溶液のうま味に関して、1～6番目のMSGサンプル（パネルに対

して濃度は非開示)の中から、同等のうま味であるサンプルを選択させた。
各サンプルを味見した後次のサンプルを味見する前に、口内を常温の水で完全に洗浄して行った。

官能評価では、7番目のサンプルについて、5名のパネルのうち4名が1.25%MSG溶液と同等と、1名が1.5%MSG溶液と同等のうま味と評価し、結果として、5名のパネル全員が60ppmERG添加によりうま味が増強されたと評価した。

[0041] [試験2:MSGのうま味を増強するERG添加量]

(1) 2%MSGサンプル(0.2%NaCl添加)の場合

試験1と同様に純水に0.2%NaClを混合した2%MSGサンプルに、エルゴチオネインを終濃度が0.5ppm、1ppm、3ppm、5ppm、10ppm、20ppmになるように添加した試料(下記表1のERG0~20であり、以下「ERG X」とは、ERGをXppm添加した試料を意味する。)を調製した。

[0042] [表1]

	ERG0	ERG0.5	ERG1	ERG3	ERG5	ERG10	ERG20
MSG	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
NaCl	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
ERG	0ppm	0.5ppm	1ppm	3ppm	5ppm	10ppm	20ppm

[0043] 各濃度のERGを添加した2%MSGサンプル(パネルに対して濃度は非開示)について、エルゴチオネイン無添加の2%MSGサンプルを対照として、4名の専門パネルによる飲用試験を実施し、うま味を官能評価した。各サンプルを味見した後次のサンプルを味見する前に、口内を常温の水で完全に洗浄して行った。

専門パネルに対し、対照の2%MSGサンプルと各濃度のエルゴチオネイン添加2%MSGサンプルを組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表2に示す。

[0044] <2点識別試験の評価方法>

対照と比較しての試験品のうま味の評価結果

○：対照と比較してうま味が増強している。

◇：対照と同様のうま味である。

なお、2点識別試験の評価方法とその評価結果の表示は、他の試験でも同様である。

[0045] [表2]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG1	○	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○
ERG0	ERG40	○	○	○	○

ERGを1ppm以上添加した2%MSGサンプルは、パネル全員がうま味が増強されていると評価した。うま味成分であるMSG含有量に対してERGを0.005重量%以上添加することに相当する。

[0046] (2) 1%MSGサンプル(0.2%NaCl添加)の場合

純水に0.2%NaClを混合した1%MSGサンプルに、エルゴチオネインを終濃度が15ppm、20ppm、40ppm、60ppm、80ppm、100ppm、400ppm、900ppmになるように添加した試料(ERG15~900)ものを調製した。各濃度のERGを添加した1%MSGサンプルについて、試験2と同じ4名の専門パネルによる飲用試験を実施し、うま味を官能評価した。4名の専門パネルに対し、濃度が順次異なるERG添加1%MSGサンプル(例えばERG20ppmと40ppmのペア)を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表3

に示す。

[0047] [表3]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG15	ERG20	○	○	◇	○
ERG20	ERG40	○	○	○	○
ERG40	ERG60	◇	○	○	○
ERG60	ERG80	◇	◇	○	◇
ERG80	ERG100	◇	◇	◇	◇
ERG100	ERG400	◇	◇	◇	◇
ERG400	ERG900	◇	◇	◇	◇

[0048] E R Gを8 0 p p m添加したM S Gサンプルは、E R Gを6 0 p p m添加したものとうま味の程度は同等であると3名のパネルが評価したことから、E R Gを8 0 p p m添加しても、うま味増強の程度は6 0 p p m添加したものとは変わらないと評価し、E R G 6 0 p p mでうま味増強効果が一定になることが確認された。

以上から、1 %M S G溶液では、E R Gを6 0 p p mまで添加した場合に、添加量が増加すると順次うま味が増強されていると評価された。6 0 p p mを超えると、うま味増強効果は6 0 p p mの添加の場合と変わらなかった。

[0049] (3) 1 0 %M S Gサンプル (N a C l なし) の場合

試験2の(1)と同様の試験を1 0 %M S G (N a C l なし) に対して行った。1 0 %M S Gサンプルに、エルゴチオネインを終濃度が1 p p m、3 p p m、5 p p m、1 0 p p m、2 0 p p mになるように添加した試料(下記表4のE R G 0 ~ 2 0) を調製した。

4名の専門パネルに対し、対照の1 0 %M S Gサンプルと各濃度のエルゴチオネイン添加1 0 %M S Gサンプルを組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表5に示す。

[0050]

[表4]

	ERG0	ERG1	ERG3	ERG5	ERG10	ERG20
MSG	10%	10%	10%	10%	10%	10%
ERG	0ppm	1ppm	3ppm	5ppm	10ppm	20ppm

[0051] [表5]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG1	◇	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○

[0052] 10%MSG（NaClなし）に対してERGを1ppm以上添加した10%MSGサンプルは、パネル3人がうま味が増強されていると評価し、ERGを3ppm以上添加した10%MSGサンプルは、パネル全員がうま味が増強されていると評価した。

[0053] [試験3：イノシン酸のうま味増強効果]

（1）5%イノシン酸サンプルの場合

純水に0.2%NaClを混合した5%イノシン酸サンプルに、エルゴチオネインを終濃度が0.1ppm、0.5ppm、1ppm、3ppm、5ppm、20ppmになるように添加した試料（ERG0.1～20）を調製した。

各濃度のERGを添加した5%イノシン酸サンプル（パネルに対して濃度は非開示）について、エルゴチオネイン無添加の5%イノシン酸サンプルを対照として、4名の専門パネルによる飲用試験を実施し、うま味を官能評価した。各サンプルを味見した後次のサンプルを味見する前に、口内を常温の水で完全に洗浄して行った。

専門パネルに対し、対照の5%イノシン酸サンプルと各濃度のエルゴチオネイン添加5%イノシン酸サンプルを組み合わせたペアを提示し、パネルは

提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表6に示す。

[0054] [表6]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0.1	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○	◇	○
ERG0	ERG1	○	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○

ERGを0.5ppm添加した5%イノシン酸サンプルは、3名のパネルがうま味が増強されたと、ERGを1ppm以上添加した5%イノシン酸サンプルは、パネル全員がうま味が増強されたと評価した。

[0055] [試験4：ERGによるNaCl溶液の塩味増強効果]

純水にNaClを添加して、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%の5つの濃度のNaClサンプル、および6番目のサンプルとして、0.4%NaClに精製エルゴチオネイン（純度99.5%以上、Tetrahedron社）を終濃度が60ppmになるように添加したものを調製した。

5名の訓練された塩味感受性対象者である専門パネルにより、塩味を官能評価した。5名の専門パネルに対し、6番目の60ppmERG添加0.4%NaCl溶液の塩味に関して、1～5番目のNaClサンプル（パネルに対して濃度は非開示）の中から、同等の塩味であるサンプルを選択させた。各サンプルを味見した後次のサンプルを味見する前に、口内を常温の水で完全に洗浄して行った。

官能評価の結果、60ppmERG添加0.4%NaCl6番目のサンプルについて、5名のパネル全員が0.45%NaCl溶液と同等の塩味と評価し、結果として、5名のパネル全員が60ppmERG添加により塩味が増強されたと評価した。

[0056] [試験5：NaClの塩味を増強するERG添加量]

(1) 0.1～20%NaClサンプルの場合

0.1～20%NaClサンプルに、エルゴチオネインを終濃度が0.05ppm、0.1ppm、0.25ppm、0.5ppmになるように添加した試料（下記表7のERG0.05～0.5であり、以下「ERG X」とは、ERGをXppm添加した試料を意味する。）を調製した。

[0057] [表7]

	ERG0	ERG0.05	ERG0.1	ERG0.25	ERG0.5
NaCl	0.1～20%				
ERG	0ppm	0.05ppm	0.1ppm	0.25ppm	0.5ppm

[0058] 各濃度のERGを添加した0.1～20%NaClサンプル（パネルに対して濃度は非開示）について、エルゴチオネイン無添加の0.1～20%NaClサンプルを対照として、4名の専門パネルによる飲用試験を実施した。専門パネルに対し、対照の0.1～20%NaClサンプルと各濃度のエルゴチオネイン添加0.1～20%NaClサンプルを組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルが塩味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表8に示す。

[0059] <2点識別試験の評価方法>

対照と比較しての試験品の塩味の評価結果

○：対照と比較して塩味が増強している。

◇：対照と同様の塩味である。

なお、2点識別試験の評価方法とその評価結果の表示は、他の試験でも同様である。

[0060]

[表8]

パネラーA

NaCl濃度	対照	試験品				
	ERG0	ERG0.05	ERG0.1	ERG0.25	ERG0.5	
0.10%	◇	◇	◇	○	○	
0.25%	◇	◇	◇	○	○	
0.50%	◇	◇	○	○	○	
1%	◇	◇	○	○	○	
5%	◇	◇	○	○	○	
10%	◇	◇	○	○	○	
15%	◇	◇	○	○	○	
20%	◇	◇	○	○	○	

パネラーB

NaCl濃度	対照	試験品				
	ERG0	ERG0.05	ERG0.1	ERG0.25	ERG0.5	
0.10%	◇	◇	◇	◇	○	
0.25%	◇	◇	○	○	○	
0.50%	◇	○	○	○	○	
1%	◇	○	○	○	○	
5%	◇	○	○	○	○	
10%	◇	○	○	○	○	
15%	◇	○	○	○	○	
20%	◇	○	○	○	○	

パネラーC

NaCl濃度	対照	試験品				
	ERG0	ERG0.05	ERG0.1	ERG0.25	ERG0.5	
0.10%	◇	◇	◇	○	○	
0.25%	◇	◇	◇	○	○	
0.50%	◇	◇	○	○	○	
1%	◇	○	○	○	○	
5%	◇	○	○	○	○	
10%	◇	○	○	○	○	
15%	◇	○	○	○	○	
20%	◇	○	○	○	○	

パネラーD

NaCl濃度	対照	試験品				
	ERG0	ERG0.05	ERG0.1	ERG0.25	ERG0.5	
0.10%	◇	◇	◇	○	○	
0.25%	◇	◇	◇	○	○	
0.50%	◇	◇	○	○	○	
1%	◇	○	○	○	○	
5%	◇	○	○	○	○	
10%	◇	○	○	○	○	
15%	◇	○	○	○	○	
20%	◇	○	○	○	○	

[0061] 官能評価の結果は、0.1%以上0.5%未満のNaClサンプルでは、ERGを0.5ppm以上添加した場合、全員が塩味が増強されていると評価された。0.5%以上のNaClサンプルでは、ERGを0.1ppm以上添加した場合、全員が塩味が増強されていると評価された。

[0062] (2) 3%NaClサンプルの場合

3%NaClサンプルに、エルゴチオネインを終濃度が0.5ppm、12ppm、24ppm、60ppm、72ppm、100ppmになるように添加した試料(ERG0.5~100)を調製した。各濃度のERGを添加した3%NaClサンプルについて、4名の専門パネルによる飲用試験を実施し、塩味を官能評価した。4名の専門パネルに対し、濃度が順次異なるERG添加3%NaClサンプル(例えばERG24ppmと60ppmのペア)を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルが塩味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表9に示す。

[0063] [表9]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0.5	○	○	○	○
ERG0.5	ERG12	○	○	○	○
ERG12	ERG24	○	○	○	○
ERG24	ERG60	○	○	○	○
ERG60	ERG72	◇	◇	◇	○
ERG72	ERG100	◇	◇	◇	◇

[0064] ERGを0.5ppm以上添加した3%NaClサンプルは、パネル全員が塩味が増強されていると評価した。

また、ERGを72ppm添加した3%NaClサンプルは、ERGを60ppm添加したものと塩味の程度は3名のパネルが評価したことから、ERGを72ppm添加しても、塩味増強の程度は60ppm添加したものと変わらないと評価し、ERG60ppmで塩味増強効果が一定になることが確認された。

以上から、3%NaCl溶液では、ERGを0.5ppm～60ppm添加した場合に、添加量が増加すると順次塩味が増強されていると評価された。60ppmを超えると、塩味増強効果は60ppmの添加の場合と変わらなかった。

[0065] [試験6：醤油のうま味を増強するERG添加量]

(1) 濃口醤油の場合

濃口醤油原液に、エルゴチオネインを添加濃度が5ppm、10ppm、50ppm、100ppm、200ppmになるように添加した試料（ERG5～200）を調製した。

各濃度のERGを添加した濃口醤油（パネルに対して濃度は非開示）について、エルゴチオネイン無添加の醤油を対照として、5名の専門パネルによる飲用試験を実施し、専門パネルに対し、対照の醤油と各濃度のエルゴチオネイン添加醤油を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表10に示す。

[0066] [表10]

		パネラー				
対照	試験品	A	B	C	D	E
ERG0	ERG5	○	○	○	◇	○
ERG0	ERG10	○	○	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○	○	○
ERG0	ERG100	○	○	○	○	○
ERG0	ERG200	○	○	○	○	○

ERGを5ppm以上添加した醤油は、パネル4名がうま味が増強されていると評価し、10ppm以上添加した醤油は、パネル全員がうま味が増強されたと評価した。

[0067] 濃口醤油に、エルゴチオネインを添加濃度が5ppm、10ppm、50ppm、100ppm、200ppmになるように添加した試料（ERG5～200）を調製し、それらをそれぞれ純水で10倍希釈した。各濃度のE

R Gを添加した醤油について、同じ5名の専門パネルによる飲用試験を実施し、うま味を官能評価した。5名の専門パネルに対し、濃度が順次異なるE R G添加醤油（例えばE R G 1 0 p p mと5 0 p p mのペア）を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表11に示す。

[0068] [表11]

		パネラー				
対照	試験品	A	B	C	D	E
ERG0	ERG5	○	○	○	◇	○
ERG5	ERG10	○	○	○	○	○
ERG10	ERG50	○	○	○	○	○
ERG50	ERG100	○	◇	○	○	◇
ERG100	ERG200	○	◇	◇	◇	◇

E R Gを2 0 0 p p m添加した醤油は、E R Gを1 0 0 p p m添加したものとうま味の程度は同等であると4名のパネルが評価したことから、E R Gを2 0 0 p p m添加しても、うま味増強の程度は1 0 0 p p m添加したものと変わらないと評価された。

以上から、濃口醤油では、E R Gを5 p p m～1 0 0 p p m添加した場合に、添加量が増加すると順次うま味が増強されていると評価された。1 0 0 p p mを超えると、うま味増強効果は1 0 0 p p mの添加の場合と変わらなかった。

[0069] (2) 特選丸大豆醤油、うすくち醤油、または減塩醤油の場合

市販の特選丸大豆醤油（キッコーマン株式会社）に、エルゴチオネインを添加濃度が5 p p m、1 0 p p m、5 0 p p m、1 0 0 p p m、2 0 0 p p mになるように添加した試料（E R G 5～2 0 0）を調製して、上記（1）と同じく、5名の専門パネルによる飲用試験を実施し、専門パネルに対し、対照の醤油と各濃度のエルゴチオネイン添加醤油を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルがうま味を感じるか、2点識別試験により評価した。

また、同様の2点識別試験を市販のうすくち醤油および減塩醤油に対しても実施した。

結果は、特選丸大豆醤油、うすくち醤油、および減塩醤油のいずれも、ERGを5ppm以上添加した醤油は、パネル全員がうま味が増強されたと評価した。

[0070] [試験7：醤油の塩味を増強するERG添加量]

(1) 特選丸大豆醤油の場合

市販の特選丸大豆醤油（キッコーマン株式会社）に、エルゴチオネインを添加濃度が5ppm、20ppm、50ppmになるように添加した試料（ERG5～50）を調製した。

各濃度のERGを添加した特選丸大豆醤油（パネルに対して濃度は非開示）について、エルゴチオネイン無添加の醤油を対照として、4名の専門パネルによる飲用試験を実施し、専門パネルに対し、対照の醤油と各濃度のエルゴチオネイン添加醤油を組み合わせたペアを提示し、パネルは提示されたペアのうちどちらのサンプルが塩味を感じるか、2点識別試験により評価した。結果を表12に示す。

[0071] [表12]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○	○

ERGを5ppm以上添加した醤油は、パネル全員が塩味が増強されたと評価した。

[0072] (2) うすくち醤油の場合

同様の2点識別試験を市販のうすくち醤油に対しても実施した。結果を表13に示す。

[表13]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○	○

ERGを5ppm以上添加した醤油は、パネル全員が塩味が増強されたと評価した。

[0073] (3) 減塩醤油の場合

同様の2点識別試験を市販の減塩醤油に対しても実施した。結果を表14に示す。

[表14]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○	○

ERGを5ppm以上添加した醤油は、パネル全員が塩味が増強されたと評価した。

[0074] [試験8：調味料のうま味を増強するERG添加量]

(1) 酵母エキス

酵母エキス（スプリンガー0402／20-MG-L）の1%溶液に、エルゴチオネインを添加濃度が0.5ppm、1ppm、3ppm、5ppm、10ppmになるように添加した試料（ERG0.5～10）を調製して、ERGを添加していない対照と比較して試験品のうま味と塩味がどうなったか、3名の専門パネルによる2点識別試験により評価した。官能評価の結果を、以下の表15と表16に示す。

[0075]

[表15]

うま味

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○	○
ERG0	ERG1	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○

[0076] [表16]

塩味

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○	○
ERG0	ERG1	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○

酵母エキスのうま味と塩味は、両方ともERGを0.5ppm以上添加することにより、パネル全員が増強されたと評価した。

[0077] [試験9：酵母エキスの塩味を増強するERG添加量]

酵母エキス（スプリンガー0402／20-MG-L）の1％溶液に、エルゴチオネインを添加濃度が0.5ppm、1ppm、3ppm、5ppm、10ppmになるように添加した試料（ERG0.5～10）を調製して、ERGを添加していない対照と比較して試験品の塩味とうま味がどうなったか、3名の専門パネルによる2点識別試験により評価した。官能評価の結果を、以下の表17と表18に示す。

[0078]

[表17]

塩味

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○	○
ERG0	ERG1	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○

[0079] [表18]

うま味

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○	○
ERG0	ERG1	○	○	○
ERG0	ERG3	○	○	○
ERG0	ERG5	○	○	○
ERG0	ERG10	○	○	○

酵母エキスの塩味とうま味は、両方ともERGを0.5ppm以上添加することにより、パネル全員が増強されたと評価した。

[0080] [試験10：ERGの各種飲食品に対する呈味増強効果（その1）]

飲食品にERGを添加した試験品と、ERGを添加していない対照の飲食品について、対照と比較して試験品の呈味（うま味、甘味、苦味）がどうなったか、専門パネルによる2点識別試験により評価した。官能評価の結果を、以下の表19～表24に示す。

なお、試験品の「ERG X」とは、ERGをXppm添加した試験品を意味する。

官能評価

- ：対照と比較して呈味が増強している。
- ◇：対照と同様の呈味である。

[0081] (1) 本つゆ

本つゆ（キッコーマン株式会社）の原液にERG5ppm添加後、4倍希釈して官能試験を行った。

[表19]

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

ERG5ppmの添加により、本つゆのうま味と甘味が増強された。

[0082] (2) ざるそばつゆ

ざるそばつゆ（ストレートつゆ：キッコーマン株式会社）にERG5ppm添加後、官能試験を行った。

[表20]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

ERG5ppmの添加により、ざるそばつゆのうま味と甘味が増強された。

[0083] (3) 味噌

味噌（プラス糀無添加糀美人、株式会社マルコメ）18g／お湯200m
lに、ERG0.5ppm添加後官能試験を行った。

[表21]

うま味

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○

甘味

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG0.5	○	○

ERG0.5ppmの添加により、味噌のうま味と甘味が増強された。

[0084] (4) ソース

ソース（デリシャスソースとんかつ、キッコーマン株式会社）にERG5
ppmを添加後、官能試験を行った。

[表22]

うま味

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

甘味

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

ERG5ppmの添加により、ソースのうま味と甘味が増強された。

[0085] (5) 塩麴

塩麴（プラス糀 生塩糀、マルコメ株式会社）に E R G 5 p p m を添加後、
官能試験を行った。

[表23]

うま味

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

甘味

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

E R G 5 p p m の添加により、塩麴のうま味と塩味と甘味が増強された。

[0086] （6）トマトケチャップ

トマトケチャップ（デルモンテ）に E R G 5 p p m を添加後、官能試験を
行った。

[表24]

うま味

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

甘味

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

E R G 5 p p m の添加により、トマトケチャップのうま味と甘味が増強さ
れた。

[0087] [試験 1 1 : E R G の各種飲食品に対する呈味増強効果（その 2）]

飲食品にE R Gを添加した試験品と、E R Gを添加していない対照の飲食品について、対照と比較して試験品の塩味がどうなったか、専門パネルによる官能評価を行った。官能評価の結果を、以下の表25～表29に示す。

なお、試験品の「E R G X」とは、E R GをX p p m添加した試験品を意味する。

官能評価

○：対照と比較して塩味が増強している。

◇：対照と同様の塩味である。

[0088] (1) ざるそばつゆ

ざるそばつゆ（ストレートつゆ：キッコーマン株式会社）にE R G 5 p p m添加後、官能試験を行った。

[表25]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

E R G 5 p p mの添加により、ざるそばつゆの塩味が増強された。

[0089] (2) 味噌

味噌（プラス糀無添加糀美人、株式会社マルコメ）に、E R G 5 p p m添加後官能試験を行った。

[表26]

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

E R G 5 p p mの添加により、味噌の塩味が増強された。

[0090] (3) ソース

ソース（デリシャスソースとんかつ、キッコーマン株式会社）にE R G 5 p p mを添加後、官能試験を行った。

[表27]

		パネラー	
対照	試験品	A	B
ERG0	ERG0	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○

ERG5 ppmの添加により、ソースの塩味が増強された。

[0091] (4) 塩麴

塩麴（プラス糀 生塩糀、株式会社マルコメ）にERG5 ppmを添加後、官能試験を行った。

[表28]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

ERG5 ppmの添加により、塩麴の塩味が増強された。

[0092] (5) トマトケチャップ

トマトケチャップ（デルモンテ）にERG5 ppmを添加後、官能試験を行った。

[表29]

		パネラー			
対照	試験品	A	B	C	D
ERG0	ERG0	◇	◇	◇	◇
ERG0	ERG5	○	○	○	○

ERG5 ppmの添加により、トマトケチャップの塩味が増強された。

[0093] [試験12：醤油の甘味増強効果]

(1) 特選丸大豆醤油

市販の特選丸大豆醤油（キッコーマン株式会社）にエルゴチオネイン添加濃度が10 ppm、20 ppm、50 ppm（EGR10、20、50）になるように添加した醤油を調製した。

各濃度のERGを添加した醤油（パネルに対して濃度は非開示）について

、エルゴチオネイン無添加（E R G 0）の醤油を対照として、3名の専門パネルによる飲用試験を実施し、2点識別試験により甘味を官能評価した。結果を表30に示す。

[0094] <2点識別試験の評価方法>

対照と比較しての試験品の甘味の評価結果

○：対照と比較して甘味が増強している。

◇：対照と同様の甘味である。

なお、2点識別試験の評価方法とその評価結果の表示は、他の試験でも同様である。

[0095] [表30]

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG10	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○

E R Gを10ppm以上添加した醤油は、パネル全員が甘味が増強されていると評価した。

[0096] (2) 甘口醤油

市販の甘口醤油（ゴールデン紫、フンドーキン醤油）にE R Gを添加して、上記（1）と同じ試験を行った。結果を表31に示す。

[表31]

		パネラー		
対照	試験品	A	B	C
ERG0	ERG0	◇	◇	◇
ERG0	ERG10	○	○	○
ERG0	ERG20	○	○	○
ERG0	ERG50	○	○	○

E R Gを10ppm以上添加した甘口醤油は、パネル全員が甘味が増強されていると評価した。

[0097] [試験 13 : 醤油の製造]

蒸煮変性した脱脂大豆と割砕した焙煎小麦とを等量混合し、これに種麴を接種し、常法により42時間製麴して醤油麴を得た。種麴には、4コピーの *egtA* 遺伝子を導入し、かつ、該挿入された遺伝子を過剰発現させた *Aspergillus sojae* 変異株（実施例1）、A0090005000664 遺伝子にG428S変異が導入された *Aspergillus oryzae* 株（実施例2）をそれぞれ用いた。得られた醤油麴100質量部を、130質量部の食塩水（食塩濃度26%（w/v））に仕込み、25～30℃で、適宜攪拌しながら150日間常法に従った諸味管理を行い、発酵および熟成させた。得られた熟成後の諸味を圧搾および濾過して生醤油を得た。得られた生醤油を80℃で1時間火入れした後、清澄濾過して醤油を得た。上記清澄濾過して得られた醤油におけるERGの濃度は、実施例1が566ppm、実施例2が250ppmであった。

実施例の醤油は市販品と比べて、うま味、塩味、甘味が増強されていた。さらに実施例2の醤油は、その製造時の濾過工程において、圧搾性が良くなり作業性が向上した。

[0098] [試験 14 : みりんの製造]

常法により精白米を水洗い、水浸漬、水切り、蒸きょう、放冷などの原料処理を行った後、これに種麴を米重量の0.1%接種混合し、恒温恒湿器で32～38℃の製麴適温にて製麴管理して麴を得た。種麴には、A0090005000664 オルソログ遺伝子にG428S変異が導入された *Aspergillus oryzae* 株（実施例）およびその野生株（比較例）をそれぞれ用いた。みりん製造の常法に従い、上述の米麴48g（生の精白うるち米として約40g）を仕込容器に採り、常法により洗浄、水浸漬、水切り、蒸きょう、放冷したもち米（掛米）290gを混和した。次に、中性アルコール（アルコール分35%（v/v））155mlを30℃で1ヵ月間糖化させ、熟成みりんもろみを得た。次いで、熟成みりんもろみを常法により圧搾し、みりん粗ろ液を得た。これを90℃達温にて加熱殺菌した後、

清澄濾過してみりんを得た。

上記清澄濾過して得られたみりんにおけるE R Gの濃度は、実施例が11 ppm、比較例が2 ppmであった。

実施例のみりんは、比較例のみりに比べて、うま味だけでなく甘味も増強されていた。

[0099] [試験15：マイコプロテインの製造]

発酵は30Lジャー（株式会社丸菱バイオエンジニアリング製）で行った。おからパウダー1.5kgに水を加えて15Lにメスアップし、消泡剤である信越シリコン（登録商標）KM72F（信越化学工業株式会社製）2.25gを加え、123℃、60分で殺菌した。孔径0.22μmのフィルターでろ過した酵素溶液を、アラビナーゼの最終濃度が0.6U/ml、セルラーゼの最終濃度が0.1U/mlとなるように添加し、60℃で2時間攪拌反応させた。反応後30℃に冷却した。

前培養は次のように実施した。各菌株に対して500mlバッフル付き三角フラスコ1本に、おからパウダー5gと水100mlずつを加え、オートクレーブ（121℃、30分）した。種麹には、A0090005000664オルソログ遺伝子に遺伝子変異G428S変異が導入された*Aspergillus oryzae*株（実施例1）、および、A0090005000664オルソログ遺伝子が野生型の*Aspergillus oryzae*株（比較例1）をそれぞれ用いた。種菌のグリセロールストック、0.5-1mlずつ添加し、前培養液の初発の孢子数が 5×10^5 /mlとなるように植菌した。この前培養液を24時間振とう培養（30℃、160rpm）した。その後、この前培養液を30Lジャーに植菌し、30℃、3日間培養した。通気速度と攪拌速度は、0.5vvm、250rpmで開始し、18時間後に1vvm、330rpmに上げた。培養後、発酵物を加熱殺菌処理（80℃、30分）した。

[0100] 上記加熱殺菌処理した発酵物を、空隙0.3mm、表面温度150℃に設定したドラムドライヤー（カツラギ工業株式会社製、製品名「ドラムドライ

ヤーD-00」)で1分乾燥した。これを発酵おからと称する。エルゴチオネインの含有量は、1.70g/kg乾燥麹菌発酵物(実施例1)、および0.1g/kg乾燥麹菌発酵物(比較例1)であった。

上述の手順で得られた発酵おからを用いて、乾燥物を16.7g用い、乾燥物と水が重量基準で1:2の割合となるように混合し、さらに、醤油を3%、酵母エキスを1%混合し、捏ね機(タイガー魔法瓶株式会社製、製品名「マイコンフードプロセッサー SKF-H101」)で10秒捏ねた。その後、捏ねた試料を厚さ1.8cm、内径7.5cmの大きさに成形した。フライパンに5mlの油を入れ、弱火で、上記成形した試料を、片面1分20秒ずつ、合計2分40秒焼成した。エルゴチオネインの含有量は、1g/kg乾燥麹菌発酵物(実施例1)、および0.05g/kg乾燥麹菌発酵物(比較例1)であった。

比較例1と実施例1であるマイコプロテインの味について、5名の専門パネルによる官能評価を行ったところ、パネル全員が、実施例1のマイコプロテインの方がうま味が強く美味しいと評価した。また、実施例1は、比較例1に比べて臭みが弱いため、加工に適している。

[0101] [試験16:塩麴の製造]

米麴の製造

白米1250gを一晩浸水させ、ザルに移し2時間水切りを行った。その後テترون(登録商標)布(東レ株式会社)で包み、100℃で40分間蒸煮した。蒸米を45℃まで冷まし、種麴を接種した。種麴には、A0090005000664オルソログ遺伝子に遺伝子変異G428S変異が導入された*Aspergillus oryzae*株(実施例2)およびA0090005000664オルソログ遺伝子が野生型の*Aspergillus oryzae*株(比較例2)をそれぞれ用いた。パイレン布で包み、35℃、湿度95%条件下で製麴を開始した。製麴開始19時間後に米麴をほぐし、再びパイレン布で包んだ。品温が40℃に達した時点で、パイレン布を広げ米麴を平らにならした。さらに40時間後に米麴をよくほぐし、再び静

置した。42時間後に出麴を行った。エルゴチオネインの含有量は、0.35 g/kg 乾燥麴菌発酵物（実施例2）、および0.03 g/kg 乾燥麴菌発酵物（比較例2）であった。

[0102] 塩麴の製造

得られた米麴50 gに食塩20 g、50℃のお湯100 mlを加え、50℃、130 rpmで14時間反応を行った。エルゴチオネインの含有量は、0.1 g/kg 乾燥麴菌発酵物（実施例2）、および0.01 g/kg 乾燥麴菌発酵物（比較例2）であった。

比較例2と実施例2である塩麴の味について、4名の専門パネルによる官能評価を行ったところ、パネル全員が、実施例2の塩麴の方がうま味が強く美味しいと評価した。

[0103] [試験17：甘酒の製造]

甘酒の製造

比較例2と実施例2で得られた米麴800 gに2.5倍量の60℃のお湯を加え、55℃、200 rpmで糖化反応を行った。16時間後、ブリックスを18%に調製し耐熱容器に移し、85℃、30分で殺菌した。得られた甘酒のERG含有量は115 ppm（実施例3）、および7 ppm（比較例3）であった。実施例3は、比較例3に比べて、甘味が強く色が白く栗香が強く、麴臭や糠臭が少ないため香りがよく、また粒径が大きいものがより少ないため、口当たりがなめらかであった。

[0104] [試験18：醤油漬け米麴の製造]

醤油漬け米麴の製造

比較例2と実施例2で得られた米麴50 gに食塩4 g、醤油75 mlを加え、50℃、130 rpmで14時間反応を行った。エルゴチオネインの含有量は、0.14 g/kg 乾燥醤油漬け米麴（実施例4）、および0.01 g/kg 乾燥醤油漬け米麴（比較例4）であった。

比較例4と実施例4である醤油漬け米麴の味について、4名の専門パネルによる官能評価を行ったところ、パネル全員が、実施例4の醤油漬け米麴の

方がうま味が強く美味しいと評価した。

[0105] [試験19：醬（ひしほ）の製造]

醬の製造方法

蒸煮変性した脱脂大豆と割砕した焙煎小麦とを等量混合し、これに種麴を接種し、常法により42時間製麴して醤油麴を得た。種麴には、A0090005000664オルソログ遺伝子にG428S変異が導入された*Aspergillus oryzae*株（実施例5）およびA0090005000664オルソログ遺伝子が野生型の*Aspergillus oryzae*株（比較例5）をそれぞれ用いた。得られた醤油麴100質量部を、130質量部の食塩水（食塩濃度26%（w/v））に仕込み、25～30℃で、適宜攪拌しながら150日間常法に従った諸味管理を行い、発酵および熟成させた。エルゴチオネインの含有量は、0.23g/kg醬（実施例5）、および0.04g/kg醬（比較例5）であった。

比較例5と実施例5である醬の味について、4名の専門パネルによる官能評価を行ったところ、パネル全員が、実施例5の醬の方がうま味が強く美味しいと評価した。また、実施例5は、比較例5に比べて、無精臭や酸化臭が軽減していた。

[0106] [試験20：麴菌発酵調味液の製造]

麴菌発酵調味液の製造方法

2.15%デキストリン、4.5%酵母エキス培地にA0090005000664オルソログ遺伝子にG428S変異が導入された*Aspergillus oryzae*株を接種し、26℃、7日間液体培養し、得られた培養液をタンク内で、90℃、30分間加熱後、培養液を濾過した。得られた濾過液をイオン交換樹脂UBK08（三菱ケミカル社製）にERGを吸着し、安水で溶出し、麴菌発酵調味液を得た。得られた麴菌発酵調味液のERG濃度は、30,000ppmであった。

麴菌発酵調味液は、塩味、甘味、うま味の増強効果が認められた。

請求の範囲

- [請求項1] エルゴチオネインを有効成分とする、うま味及び／又は塩味増強剤。
- [請求項2] うま味増強剤であるエルゴチオネインが、飲食品中のうま味成分の含有量に対して0.005重量%以上含有される、うま味が増強された飲食品。
- [請求項3] 塩味増強剤であるエルゴチオネインが、食塩を含有する飲食品に下記のいずれかの濃度で含有される、塩味が増強された飲食品。
- (1) 食塩含有量が0.1重量%以上5重量%未満の飲食品中において0.5ppm以上のエルゴチオネイン
- (2) 食塩含有量が5重量%以上の飲食品中において0.1ppm以上のエルゴチオネイン
- [請求項4] うま味及び／又は塩味が増強された飲食品が、醤油、味噌、魚醤、みりん、かつおだし、つゆ、うま味調味料、発酵うま味調味料、ケチャップ、ソース、またはマイコプロテインである、請求項2または3に記載の飲食品。
- [請求項5] エルゴチオネイン高生産麹菌株を使用して製造される飲食品である、請求項2または3に記載の飲食品。
- [請求項6] エルゴチオネインを10ppm以上含有する、うま味及び／又は塩味が増強された飲食品。
- [請求項7] エルゴチオネインを10ppm以上含有する、レトルト食品用醤油ではない、醤油また醤油含有調味料。
- [請求項8] 醤油が減塩醤油である、請求項7に記載の醤油。
- [請求項9] 請求項5に記載の飲食品が、エルゴチオネイン高生産麹菌株を5～10%未満のタンパク質含量原料で構成される培地で培養して得られる、エルゴチオネイン0.3g／乾燥麹菌発酵物1kg以上のエルゴチオネイン高含有麹菌発酵物である米麹である飲食品。
- [請求項10] 請求項5に記載の飲食品が、エルゴチオネイン高生産麹菌株を10

%以上のタンパク質含量原料で構成される培地で培養して得られる、エルゴチオネイン 0.4 g / 乾燥麹菌発酵物 1 kg 以上のエルゴチオネイン高含有麹菌発酵物である、マイコプロテインまたは醤油麹である飲食品。

[請求項11] エルゴチオネインを 50～50,000 ppm 含有する、エルゴチオネイン高含有麹菌発酵物。

[請求項12] 飲食品にエルゴチオネイン含有させることにより、飲食品のうま味及び／又は塩味を増強する方法。