

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-198578

(P2005-198578A)

(43) 公開日 平成17年7月28日(2005.7.28)

(51) Int.CI.<sup>7</sup>

F 1

テーマコード(参考)

**C12P 13/00**  
**A23L 1/305**  
 $\text{//}(\text{C12P } 13/00$   
**C12R 1:24 )**  
**(C12P 13/00**

C 12 P 13/00  
A 23 L 1/305  
C 12 P 13/00  
C 12 R 1:24  
C 12 P 13/00

4 B O 1 8  
4 B O 6 4

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号  
(22) 出願日特願2004-8801 (P2004-8801)  
平成16年1月16日 (2004.1.16)

(71) 出願人 592134583  
愛媛県  
愛媛県松山市一番町4丁目4番地2  
(74) 代理人 100083806  
弁理士 三好 秀和  
(74) 代理人 100088797  
弁理士 岡崎 孝二  
(72) 発明者 大野 一仁  
愛媛県松山市久米窪田町487-2 愛媛  
県工業技術センター内  
(72) 発明者 首藤 審一  
愛媛県松山市久米窪田町487-2 愛媛  
県工業技術センター内

最終頁に続く

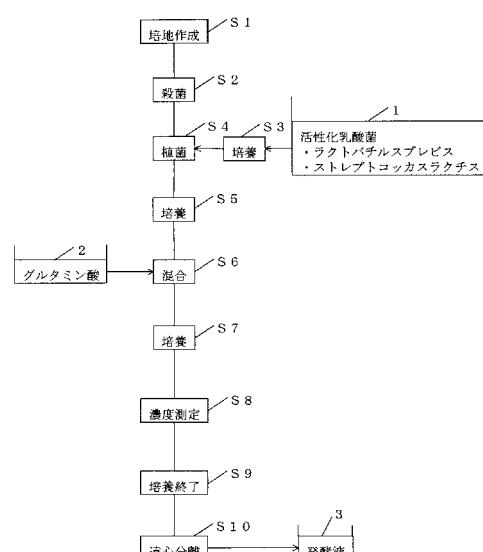
(54) 【発明の名称】  $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法及びそれより得られる発酵液

## (57) 【要約】

【課題】効率良く高濃度の  $\gamma$ -アミノ酪酸を含む発酵液を製造する方法及びその方法から製造された発酵液のナトリウム含量が1g/L以下である高濃度の  $\gamma$ -アミノ酪酸を含む発酵液を提供する。

【解決手段】液体の培地にグルタミン酸と、2種類以上の乳酸菌を混合培養して活性化させて成る活性化乳酸菌とを加え、グルタミン酸を前記活性化乳酸菌で発酵させることにより、 $\gamma$ -アミノ酪酸を高濃度で得ることを特徴とする  $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法及びその方法で得られたナトリウム含量が1g/L以下である高濃度の  $\gamma$ -アミノ酪酸を含む発酵液。

【選択図】 図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

液体の培地に、グルタミン酸及び2種類以上の乳酸菌を混合培養して活性化させて成る活性化乳酸菌を加え、前記グルタミン酸を前記活性化乳酸菌で発酵させ、 $\gamma$ -アミノ酪酸を高濃度で得ることを特徴とする $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法。

**【請求項 2】**

前記活性化乳酸菌は、野菜から単離されたラクトバチルスブレビスに属するものと、ストレプトコッカスラクチスに属する菌株とを混合培養して活性化させて成り、 $\gamma$ -アミノ酪酸生成能力を有するものであることを特徴とする請求項1に記載の $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法。

10

**【請求項 3】**

液体の培地に、グルタミン酸及び2種類以上の乳酸菌を混合培養して活性化させて成る活性化乳酸菌を加え、前記グルタミン酸を前記活性化乳酸菌で発酵させて製造された発酵液であって、 $\gamma$ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、ナトリウム含量が1g/L以下であることを特徴とする発酵液。

**【請求項 4】**

請求項3に記載の発酵液を加工食品の添加物として用いることを特徴とする発酵液。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は $\gamma$ -アミノ酪酸を高濃度で得る $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法及びその製造方法により製造されたナトリウム含量が1g/L以下の発酵液に関する。

20

**【背景技術】****【0002】**

$\gamma$ -アミノ酪酸はアミノ酸の一種で、発芽玄米、茶、野菜類、穀類に含まれている。人体では特に脳内の黒質、大脳基底核、視床下部等に高濃度に存在している。

**【0003】**

これまでの研究で $\gamma$ -アミノ酪酸が脳代謝促進作用、血圧上昇抑制作用等を有することがわかっている。日本食品科学工学会誌第47巻8号岡田ほかによる「 $\gamma$ -アミノ酪酸蓄積脱脂コメ胚芽の径口投与における更年期障害及び初老期精神障害に対する効果」では $\gamma$ -アミノ酪酸を含む脱脂コメ胚芽の摂取により更年期障害及び初老期精神障害を緩和させることができたと報告されている。

30

**【0004】**

$\gamma$ -アミノ酪酸を効率良く得る製造方法や $\gamma$ -アミノ酪酸を含有する食品の製造方法が提唱されている。例えば特開2002-360289号公報（ $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法）、特開2003-70462号公報（ $\gamma$ -アミノ酪酸生産能を有する乳酸菌、および、それを使用した食品の製造方法）に示されるものの例がある。

40

**【0005】**

特開2002-360289号公報に示される $\gamma$ -アミノ酪酸の製造方法では、アルコール製造廃液を用いた $\gamma$ -アミノ酪酸製造方法が示されている。これは、食品の廃棄物を有効利用したものであり、食品素材を原料としているので製造により得られたものをそのまま摂取することができるとされる。この製造方法によると、グルタミン酸ナトリウムを基質として用いて、約1.6~3.3重量%の $\gamma$ -アミノ酪酸を含む培養液が得られる。

**【0006】**

特開2003-70462号公報に示される製造方法では、キムチ由来の乳酸菌を用いて製造した $\gamma$ -アミノ酪酸を用いた食品の製造方法が示されている。この製造方法によると、グルタミン酸ナトリウムを基質として用いて、5重量%の $\gamma$ -アミノ酪酸を含む培養液が得られる。

**【0007】**

このように、従来の $\gamma$ -アミノ酪酸製造方法では、グルタミン酸ナトリウムが基質とし

50

て用いられていた。グルタミン酸ナトリウムが基質として用いられた場合、乳酸菌がもつ脱炭酸酵素によりグルタミン酸のカルボキシル基が離脱して -アミノ酪酸になる反応が進むにつれ、pHが上昇する。よって、反応の途中で乳酸菌が好む環境を保つため、pH調整剤を加えなければならなかった。

#### 【0008】

従来の方法では、pH調整剤を用いても、やがて反応が停止し、 -アミノ酪酸の最終濃度は約6重量%が最高であった。このため、 -アミノ酪酸を大量生産するには、大量の培地、基質であるグルタミン酸ナトリウムが必要であった。

#### 【0009】

さらに、グルタミン酸ナトリウムを基質として用いた場合には、添加したグルタミン酸ナトリウムの約13%のナトリウムが残存するため、食塩の過剰摂取に対する弊害が指摘されていた。

#### 【0010】

またさらに、製造された発酵液を食品に添加して用いた場合、反応せず製造物に残存するグルタミン酸が及ぼす味への影響を無視することができなかった。

【特許文献1】特開2002-360289号公報、第1頁

【特許文献2】特開2003-70462号公報、第1頁

【非特許文献1】日本食品科学工学会誌第47巻8号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

#### 【0011】

本発明は上記従来技術に鑑みて高濃度の -アミノ酪酸を含む発酵液を効率良く製造する方法と、その方法から製造された発酵液のナトリウム含量が1g/L以下である高濃度の -アミノ酪酸を含む発酵液、食品に添加でき、健康食品とすることができる発酵液を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

#### 【0012】

本発明は、液体の培地に、グルタミン酸及び2種類以上の乳酸菌を混合培養して活性化させて成る活性化乳酸菌を加え、グルタミン酸を前記活性化乳酸菌で発酵させ、 -アミノ酪酸を高濃度で得ることを特徴とする。乳酸菌は、反応の多様性及び効率化の点から2種類以上のものを混合して使用する。また、前記活性化乳酸菌は、野菜から単離した菌株であって、ラクトバチルスプレビスに属するものと、ストレプトコッカスラクチス( *Str. lactis* 527)に属する菌株と、を混合培養して活性化させたものとする。

#### 【0013】

活性化乳酸菌は、酸性溶液の厳しい環境下でも活発に活動する。よってグルタミン酸が溶けてpHが約4.0になった酸性の水溶液中であっても、活性化乳酸菌はグルタミン酸を分解して -アミノ酪酸を製造することができる。

#### 【0014】

グルタミン酸を基質として用いた場合は、グルタミン酸が乳酸菌がもつ脱炭酸酵素により -アミノ酪酸になる反応の際、生成する -アミノ酪酸の緩衝作用により、pHが緩やかに上昇し、反応終了時のpHは約5~5.5である。よって、反応の途中でpHを調整する必要がなく、一度に大量の -アミノ酪酸を製造することができる。pH調整剤を加える作業工程を省略することができ、細菌汚染の危険性も回避できる。

#### 【0015】

本発明の発酵液は、液体の培地に、グルタミン酸及び2種類以上の乳酸菌を混合培養して活性化させて成る活性化乳酸菌とを加え、グルタミン酸を前記活性化乳酸菌で発酵させ製造された発酵液であって、 -アミノ酪酸を高濃度に含有し、ナトリウム含量が1g/L以下であることを特徴とする。前記発酵液を食品に添加し、健康食品とすることができます。

#### 【0016】

10

20

30

40

50

グルタミン酸と活性化乳酸菌とを用いて -アミノ酪酸を製造すると、約10重量%の -アミノ酪酸を含む発酵液が得られる。一度の反応工程で、大量の -アミノ酪酸を効率良く得ることができる。

#### 【0017】

また、純グルタミン酸を基質として用いると、発酵液におけるナトリウムの含有量がゼロとなる。実際には、ナトリウム含有の材料を混入することもあるので、ナトリウム含有量を1g/L以下とすることができます。食塩の過剰摂取に対する弊害を解消でき、塩分の摂取を控えなければならない人にも安心して摂取することができる。

#### 【0018】

グルタミン酸を基質として用いると、グルタミン酸から -アミノ酪酸への変換率が98%以上と非常に高いので、発酵液におけるグルタミン酸の残存量が少ない。よって、グルタミン酸が及ぼす味の影響が少ないので、本発明の発酵液は食品に幅広く利用できる。

#### 【発明の効果】

#### 【0019】

以上の通り、本発明の -アミノ酪酸の製造方法によると、一度に大量の -アミノ酪酸を製造することができ、 -アミノ酪酸を10重量%含む発酵液を得ることができる。

#### 【0020】

酸性水溶液中でも活発に活動する活性化乳酸菌を用いることにより、pHを調節する必要がなくなり、作業工程を短縮でき、細菌汚染の危険も回避できる。また、水溶液中で酸性を示すグルタミン酸を基質とすることができます。グルタミン酸ナトリウムを基質とする場合に比べてグルタミン酸を用いると、発酵液中のナトリウムの残存量が各段に少なく、食塩の過剰摂取の弊害がない。また発酵液中のグルタミン酸の残存量も少なくすることができ、味への影響を抑えることができ各種食品に幅広く利用することができる。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0021】

以下、添付図面及び実施例を参照して発明を実施するための最良の形態を説明する。図1に本発明の -アミノ酪酸の製造方法のフローチャートを示す。各工程にステップ符号(S1~S10)を付けて示す。

#### 【0022】

まず初めに、ステップS1で液体培地を作成する。 -アミノ酪酸を約100g/L得るために必要な液体培地の材料と分量を示すと、カゼインペプトン10g/L、酵母エキス5g/L、ブドウ糖10g/L、野菜ジュース100mL/Lである。

#### 【0023】

野菜ジュースは、市販の無塩トマトミックス野菜ジュースを1,500Gで10分遠心分離し夾雑物を取り除いた後の上澄み液である。

#### 【0024】

上記培地をステップS2で、殺菌する。殺菌条件は15℃で20分程度で良い。

#### 【0025】

一方、本発明では、2種の乳酸菌、ラクトバチルスブレビスとストレプトコッカスラクチス527の混合物で活性化乳酸菌1を構成し、これをステップS3で35℃で24時間培養しておく。前記ラクトストレプトコッカスラクチス527は、常法でグルタミン酸を含む培地で培養し、活性化された商品である。また、ラクトストレプトコッカスラクチスは、野菜から単離したものである。

#### 【0026】

次いで、ステップS2で殺菌された培地に、ステップS3で培養した活性化乳酸菌1を2mL程度植菌し、ステップS5で培養する。培養条件は、35℃で24時間程度が好ましい。

#### 【0027】

次にステップS6でグルタミン酸2を所要の -アミノ酪酸を得るのに必要な理論値以上の値、例えば100g~150gを添加する。このグルタミン酸は、135℃で2時間程度、十分に殺菌したものを用いる。

10

20

30

40

50

## 【0028】

ステップS6の混合後、ステップS7で、35度8~10日の培養を行う。その後、ステップS8で、残留グルタミン酸が一定の値、例えば1~2%になつたらステップS9で培養を終了し、ステップS10で遠心分離し、夾雑物を取り除いて発酵液3を得る。

## 【0029】

以上により、本発明の製造方法によれば、活性化乳酸菌1を用いて、純グルタミン酸2から効率良く-D-アミノ酪酸を得ることができる。反応課程でpHが急激に上昇することがないので、pH調整剤を用いる必要がない。発酵液中に残存するグルタミン酸は-D-アミノ酪酸の2.9%以下となり、食品に利用した際グルタミン酸が及ぼす味への影響が少ない。また、従来の方法では、グルタミン酸ナトリウムを基質として100g/L用いた場合、約13g/Lのナトリウムが発酵液に残存していたが、本発明の方法では、ナトリウム残存量を1g/L以下に抑えることができ、食塩の過剰摂取の弊害も回避できる。さらに、これらの結果から、発酵液3を加工食品の添加物とすると、味、風味良く、-D-アミノ酪酸の豊富な加工食品を得ることができる。

## 【実施例1】

## 【0030】

-D-アミノ酪酸70g/Lを含む発酵液を得るために、液体培地の分量を、カゼインペプトン10g/L、酵母エキス5g/L、ブドウ糖10g/L、野菜ジュース100mL/Lとした。野菜ジュースは、市販の無塩トマトミックス野菜ジュースを1,500Gで10分遠心分離し夾雑物を取り除いた後の上澄み液を用いた。活性化したストレプトコッカスラクチス527とラクトバチルスプレビスV3の培養液から成る活性化乳酸菌1を2mL/200mL植菌し、35度24時間培養した。この培養液に135度2時間乾熱殺菌した固体のグルタミン酸2を103g/L加え、培養液中のグルタミン酸含有量が1g/L以下になるまで8日~10日培養した。この培養液をそのまま、1,500Gで遠心分離して夾雑物を除き発酵液3とした。

## 【0031】

本実施例における発酵液は、わずかな苦味と特有の香りがあり、pH5.3、水分91g/100mL、窒素分1.1g/100mL、-D-アミノ酪酸7.1g/100mL、グルタミン酸0.2g/100mL以下で、全固形分に対する-D-アミノ酪酸の割合は、約79%、グルタミン酸から-D-アミノ酪酸への変換率は98.5%であった。グルタミン酸が発酵により、-D-アミノ酪酸と炭酸ガスになる反応において、炭酸ガスが約30%放出するので、重量比69%の-D-アミノ酪酸を得ることができた。ナトリウムは31.6mg/100mL、食塩(NaCl)としては80.3mg/100mLであった。よって、ナトリウム1g/Lの値として十分に管理できる。食塩当量=ナトリウム×2.54として計算し、管理する。

## 【実施例2】

## 【0032】

強力粉480g、薄力粉120g、ドライイースト9g、砂糖48g、食塩6g、スキムミルク12g、バター48g、鶏卵90g、水252g、-D-アミノ酪酸2.3g/100mLを含む発酵液18mLを混合し、発酵、分割、成型する。成型した生地を180度10分焼成してギャバロールを製造した。これにより得られたギャバロールは、ギャバロール100g当たり-D-アミノ酸を約40mg含む健康食品である。

## 【実施例3】

## 【0033】

バター70g、粉糖40g、水10g、薄力粉90g、コーンスター・チ20g、-D-アミノ酪酸2.3g/Lを含む発酵液5mLを混合し、成型し、成型した生地を170度15分焼成してギャバクッキーを得た。これにより得られたギャバクッキーは、ギャバクッキー100g当たり-D-アミノ酪酸を約48mg含む。味、風味の良いギャバクッキーとすることことができた。

## 【0034】

焼成条件により-D-アミノ酪酸の残存量が異なるが、例えば170~180度10~15分焼成した場合でも、70~90%の-D-アミノ酪酸が残存する。

## 【0035】

10

20

30

40

50

培地作成と共に、グルタミン酸 2 を培地へ同時混合し、通常pHの低いジュースを殺菌する場合と同様に、90 の達温で殺菌し、冷却しステップ S 4 に移行することもできる。途中で、pH調節も必要なく、かつグルタミン酸を投入する手間も必要ないので、効率良く製造できる。

#### 【実施例 4】

##### 【0036】

- アミノ酪酸 70g/Lを含む発酵液を得るため、カゼインペプトン 10 g /L、酵母エキス 5 g /L、ブドウ糖 10 g /L、野菜ジュース 200mLで作成した培地へグルタミン酸 105g/Lを加えた。液体培地野菜ジュースは、市販の無塩トマトミックス野菜ジュースを 1,500G で 10 分遠心分離し夾雑物を取り除いた後の上澄み液 100mL/Lを用いた。沸騰水中で 90 に達するまで加熱殺菌し、実施例 1 の乳酸菌を植菌して 8 日 ~ 10 日間培養した。この培養液をそのまま 1,500G で遠心分離し夾雑物を取り除き発酵液 3 とした。

10

##### 【0037】

本実施例においては、発酵中の微生物汚染による障害は観察されなかった。得られた発酵液の組成は pH 5.4、水分 91g/100mL、窒素分 1.1g/100mL で、実施例 1 と同様の発酵液を得た。

##### 【0038】

本発明は、上記実施形態に限定されず、本発明の要旨を逸脱しない範囲で適宜変形して実施することができ、各種態様で実施できる。

20

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【0039】

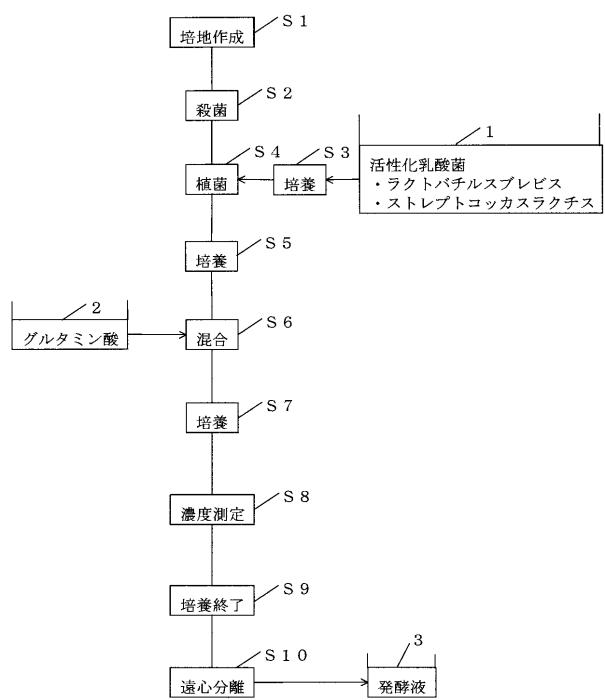
【図 1】本発明の -アミノ酪酸の製造方法のフローチャートを示す。

##### 【符号の説明】

##### 【0040】

- 1 活性化乳酸菌
- 2 グルタミン酸
- 3 発酵液

【図1】



---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
C 1 2 R 1:46 )

F I  
C 1 2 R 1:46

テーマコード(参考)

(72)発明者 串井光雄  
愛媛県松山市久米窪田町487-2 愛媛県工業技術センター内  
Fターム(参考) 4B018 MD19 MD91 ME04 ME10 MF13  
4B064 AE01 CA02 CD22 DA10