小麦たんぱく(グルテン)を配合した 醤油の味と色

醤油の原料は大豆と小麦は良く知られているが小麦たんぱくの使用はあまり知られていない。小麦たんぱくの利用は麹菌の酵素作用により旨味が増強され、さらに褐変反応抑制効果が期待できるという。それらのメカニズムを詳しく解説していただいた。

岡田 崇・桂 晴美・古林 万木夫

1. はじめに

小麦たんぱく(グルテン)は小麦粉に水を加えて混捏した生地(ドウ)から、塩水によって糖質や水溶性タンパク質を洗い落としした後に残る粘弾性に富む塊という¹⁾。小麦たんぱくは小麦中に約10%含まれ、その構成アミノ酸の約40%がグルタミン(Gln)である。Glnは、醤油醸造中に麹菌の生産するグルタミナーゼにより旨味成分であるグルタミン酸(Glu)に変換されるため、小麦たんぱくを小麦の副原料として用いた醤油はGluを多く含むことが期待される。しかしながら、醤油醸造中にGluやGlnの一部が、非呈味性のピログルタミン酸(pGlu)に化学的に変換されてしまうことが知られている。一方、最近のペプチド研究では、小麦たんぱくの酵素分解物から様々な機能性ペプチドが単離されており^{2,3)}、遊離のGluやGlnと同様に、N末端のGluやGlnが化学的変換を受けてピロ化されたピログルタミン酸ペプチド(pGluペプチド)に呈味増強効果があることが報告されている⁴⁾。

また、小麦たんぱくの酵素分解物からは、抗酸化作用をもつペプチドも単離されている。醤油の褐変着色物質であるメラノイジンを生成させるアミノカルボニル反応は、温度の上昇や酸素の存在で著しく促進されるが、特に酸化条件下で進行する褐変は、使用中の色の濃化などの品質劣化をもたらす主な要因である。それゆえ、醤油中に存在する抗酸化ペプチドは、醤油の

抗酸化力を高めることで醤油の褐変抑制に寄与している可能性が考えられた。

本稿では、特に呈味の増強や褐変抑制の観点から醤油原料に小麦たんぱくを配合することの意義について述べる。実験方法など詳細については、原著論文を参照いただきたい^{5,6)}。

2. 醤油中のpGluペプチドと呈味性

長期にわたる醤油醸造では、遊離アミノ酸であるGluやGlnの一部がピロ化されるが³⁾、ペプチドにおいてもN末端でピロ化が進行することが予想され、呈味増強効果の高いpGluペプチドは、特に小麦たんぱくを副原料に用いた醤油の呈味性に大きく寄与していることが推察された。pGluペプチドの定量は、醤油試料をpyroglutamate aminopeptidaseで処理することにより、N末端のpGluを切除し、酵素処理前と処理後の遊離pGlu量の差から算出することができる(以下、ペプチド結合型pGlu)⁷⁻⁹⁾。そこで、小麦たんぱくを副原料(原材料重の0-20%)として用いた試験醤油(以下、小麦たんぱく配合醤油)について、Gluや遊離pGlu、ペプチド結合型pGluについて成分特性を明らかにするとともに、調理試験を実施して醤油の呈味性に関する検討を行った⁶⁾。

小麦たんぱく配合量に依存して遊離Glu量が高くなっており、GlnからGluへの変換が効率よく起こっていることが推察された。一方、小麦たんぱく配合醬

Taste and Color of Soy Sauce Supplemented with Wheat Gluten
Takashi OKADA (Research Laboratory, Higashimaru Shoyu Co. Ltd.)
Harumi KATSURA (Research Laboratory, Higashimaru Shoyu Co. Ltd.)
Makio KOBAYASHI (Research Laboratory, Higashimaru Shoyu Co. Ltd.)

第1図 小麦たんぱく配合醤油の遊離 pGlu, ペプチド結合型 pGlu 含量

油ではおおむねペプチド結合型 pGlu 量が高くなっていたが、小麦たんぱくを5-10%配合した時に、その含有量が高まることがわかった(第1図)。また、遊離 pGlu とペプチド結合型 pGlu を比較すると、小麦たんぱく無配合に比べて、5%配合では遊離 pGlu が1.3倍増加したのに対し、ペプチド結合型 pGlu は約3倍に増加していた(第1図)。したがって、醤油醸造では遊離態よりもペプチド態においてピロ化が進みやすいことを示唆している。

続いて、小麦たんぱく配合醤油(0, 5, 10%)を用い、「関西風うどんだし」を調理して、小麦たんぱく無配合の醤油を対照とする二点識別試験法により、官能評価を行った⁶⁾。その結果、小麦たんぱくを5%配合することで、有意に旨味と味の厚みを強く感じる傾向が見られた。さらに小麦たんぱくを10%配合すると、ダシ味、旨味、まろやかさ、および総合評価の項目で有意差が認められた。すなわち、小麦たんぱくを5-10%配合した醤油では、旨味が強く、ダシ味の効いたおいしい「関西風うどんだし」が調理できることがわかった。この要因として、遊離 Glu 量に加えて pGlu ペプチド量が高くなっているために、pGlu ペプチドが Glu の旨味を相乗的に増強することが考えられた。したがって、醤油の呈味性(おいしさ)に関与する成分として、Glu と pGlu ペプチドの両方が重要であることが示唆された。

第1表 低分子、高分子画分のペプチド結合型 pGlu 量と呈味効果

画分	ペプチド結合型 pGlu(%)	パネリストの数	
		旨味	酸味
低分子画分	1.667	18	6
高分子画分	1.108	8	20
二点識別試験	—	P<0.05	P<0.01

小麦たんぱく麴の消化液から、限外ろ過膜を用いて低分子画分と高分子画分に画分した。それぞれの画分を基本味液(0.05%MSG, 0.05%クエン酸)に添加して、官能評価を行った。パネリストの数は、味を強く感じた人数を示す。

pGlu ペプチドの呈味効果をより詳しく検証するため、小麦たんぱく麴の消化液から限外ろ過膜を用いて pGlu ペプチドの分子量分画物を調製した。分子量1,000以下の画分(低分子画分)でペプチド結合型 pGlu 量が高くなっており(第1表)、この画分を基本味液(0.05%MSG, 0.05%クエン酸)に添加して官能評価を行うと、分子量10,000以上の画分(高分子画分)と比較して、旨味を強く、酸味を弱く感じる傾向が認められた。それゆえ、小麦たんぱく麴の消化液に含まれる低分子画分の中には、旨味を増強し、酸味を抑制するペプチドが存在する可能性が高いと考えられた。酸味が弱いほど、ダシ風味を強く感じる経験的に知られており、「関西風うどんだし」の官能評価で、小麦たんぱく配合醤油(10%)においてダシ味に有意差が認められたこととも相関する。Schlichterle-Cerny ら⁴⁾は、グルテンの酵素分解物から4種類の pGlu ペプチド(pGlu-Pro-Ser, pGlu-Pro, pGlu-Pro-Glu, pGlu-Pro-Gln)を同定し、これらの呈味増強効果を報告している。今回、HPLCでの分析結果を示さなかったが、低分子画分から pGlu-Pro-Glu, pGlu-Pro-Gln と一致するピークが検出された。また、これらの pGlu ペプチドは小麦たんぱく配合量と正の相関が見られた。

3. 醤油の褐変

醸造中の醤油色度の推移を第2図Aに示すが、小麦たんぱく配合量が多いほど、総窒素あたりの色度(OD₅₃₀/T. N 値)が終始低く推移した。また、第2図Bは一般家庭での醤油の使用を想定した25℃での

第2図 醸造中 (A) 及び火入れ後 (B) の褐変

第3図 小麦たんぱく配合醤油のペントース含量
総窒素を1.2に調整した醤油のペントース含量を測定した。

第4図 pGlu 化されたアミノ酸、ペプチドのモデル褐変試験

抜き取り試験における酸化褐変の結果を示しているが、同様に小麦たんぱく配合量が多いほど、褐変量 (OD_{530} の増加量) が抑制された。従って、小麦たんぱく配合による褐変抑制効果が醸造中のみならず、火入れ工程を経て容器に充填された後でも維持されることが示された。

褐変が抑制された要因として、小麦たんぱくには褐変反応に寄与するペントース (キシロース, アラビノース) の含有量が低くなっていることが挙げられ^{1,10)}、小麦たんぱく配合量が多いほど、総窒素あたりのペントースの含有量が少なくなっていた (第3図)。さらに、N 末端側がピロ化された pGlu ペプチドはアミノカルボニル反応が起こりにくいことが予想されたので、

これらのモデル褐変を検討した (第4図)。遊離 pGlu をグルコースと反応させた場合、他のアミノ酸の褐変と大きな差は見られなかったが、アラビノース, キシロースと反応させた場合には、他のアミノ酸に比べて遊離 pGlu の褐変は低かった。ペプチドの場合、Ala-Ala と各糖質を反応させると、遊離アミノ酸に比べて大きな褐変が起こった。特に、アラビノース, キシロースと反応させた場合に顕著であった。一方、N 末端がピロ化された pGlu-Ala では、いずれの場合にも褐変は進行しなかった。これらの結果は、小麦たんぱく配合醤油に含まれる pGlu ペプチドが、醤油の味だけではなく、着色にも関与していることを示唆している。

第5図 醸造中 (A) 及び火入れ後 (B) の抗酸化力

4. 醤油の抗酸化力

麹菌や酵母などの微生物（酵素）の働きによりつくられる醸造食品は、総じて高い抗酸化力をもつことが明らかにされている。例えば、これまでに醸造食品の抗酸化性について、醤油^{11,12)}をはじめ、味噌¹³⁻¹⁵⁾、清酒¹⁶⁾、みりん¹⁷⁾、ビール¹⁸⁾などで研究が報告されている。これらに含まれる抗酸化物質は、原料そのものに由来するものだけではなく、醸造中に微生物の作用によって生成されるものも多くあり、抗酸化物質の種類は多岐にわたる。抗酸化物質は、醸造食品の保存性を高めることはもちろん、醸造過程における酸化ストレスを抑制し、味や香りなどの品質劣化を防止していると考えられる。篠塚ら¹⁸⁾は、ビールの劣化で最も重要な問題である香味の老化を防止するため、原料由来のポリフェノールなど抗酸化物質の消費を抑制することで、ビールの香味耐性を向上させるとともに、醸造中の抗酸化力の推移が劣化の指標となることを示している。

醤油の抗酸化力と酸化褐変の関係を明らかにするために、小麦たんぱく配合醤油について DPPH ラジカル消去能を測定したところ、生揚醤油、及び火入れ醤油のいずれにおいても、小麦たんぱく配合量が多くなるにつれて抗酸化力が高くなることが確認できた（第5図）。醤油の抗酸化力については、色の濃い醤油、つまり褐変物質であるとともに抗酸化物質でもあるメラノイジンの含有量の高い醤油で抗酸化力が高いとする報告がある一方で¹¹⁾、メラノイジン以外の抗酸化物

質による醤油の抗酸化力への寄与が大きいことも示されている¹²⁾。それゆえ、小麦たんぱく配合量が多い醤油において抗酸化力が高いことの要因として、小麦たんぱく（グルテン）に由来する抗酸化ペプチドの存在が考えられ、醤油の酸化褐変抑制に寄与している可能性が示唆された。

そこで、小麦たんぱく分解物の抗酸化ペプチドとして、小麦たんぱく麹の消化液からラジカル消去能の高いペプチド分画物を調製し、醤油に1% (w/v) 添加したところ、30°Cで7日目の酸化褐変を11%抑制することができた。醤油に含まれる抗酸化物質として、メラノイジン、原料由来のポリフェノール類、原料たんぱくが麹菌酵素に分解されて生成するアミノ酸、ペプチド、麹菌や酵母などの代謝物などが挙げられるが、これらの存在比は醤油醸造の各段階で異なる。特に、諸味は酵母の増殖や混合のために通気攪拌されるため、活性酸素に起因するフリーラジカル反応が褐変の進行に大きく関わっていると考えられる。したがって、小麦たんぱく由来の分解ペプチドがこれらのラジカルを消去して醤油の褐変抑制に寄与することが示唆されると同時に、抗酸化力測定が醤油の褐変をモニターする上で重要な指標の一つとなる可能性も示された。

5. 醤油の金属キレート作用

Fe, Cu などの遷移金属は活性酸素の発生に関与するため、金属キレート作用も広義の抗酸化力の一つと考えることができる。また、醤油中には約 30 ppm の鉄分が含まれ、濃化褐変反応を促進する要因の一つと

なっている¹⁹⁾。そこで、小麦たんばく配合醤油に鉄イオンを添加した時の酸化褐変を調べたところ、小麦たんばく無配合の醤油では鉄イオン添加量が多くなるにつれて褐変が促進され、60 ppmの添加で7日後の褐変が32%促進された（第6図）。一方、小麦たんばくを20%配合した醤油では鉄イオンの褐変促進効果はほとんど認められなかったことから、小麦たんばく由来の分解ペプチドによる金属キレート作用の効果が示唆された。小麦分解ペプチドにはGlnが構成アミノ

酸の中心を担っており、この構造的特徴は金属キレート作用の存在を支持している。すなわち、Glnの側鎖にはアミン基が存在し、その窒素の孤立電子対が電子供与性をもつためにキレートの安定化に寄与すると考えられる²⁰⁾。今回は生揚げ醤油の結果のみを示したが、火入れ醤油でも同様の結果が得られたので、醸造中のみならず製品醤油においても、金属キレート作用が持続するものと期待される。

6. おわりに

本研究をまとめて醤油醸造における小麦たんばく（グルテン）の分解フローを第7図に示した。醤油醸造では、Glnは麹菌酵素のグルタミナーゼにより旨味成分であるGluに変換される。これまでの研究では、化学的に変換されて生成する遊離pGlu量を抑制して遊離Gluを高めることが重要とされてきた²¹⁾。一方、醤油醸造におけるペプチドのピロ化については全く研究が行われていなかった。我々は、醤油醸造におけるペプチドのピロ化を初めて明らかにするとともに、醤油に存在するpGluペプチドの意義として、呈味増強効果と褐変反応抑制について示すことができた。その他に小麦たんばく配合醤油の淡色化効果の要因として、①ペントース含量が低いこと、②ラジカル消去能を有するペプチドが生成すること、③金属キレート作用のあるペプチドが生成すること、の3つが考えられた。これらの抗酸化ペプチドがピロ化しているかは不明であるが、今後、これらの抗酸化ペプチドの精製を行い、醤油中におけるペプチドのピロ化の効果を検討する予

第6図 鉄イオン存在下での褐変
小麦たんばく：0% (●), 20% (○)

第7図 醤油醸造における小麦たんばく（グルテン）の分解フロー

定である。

醤油の品質を決定する三大要因は、色、味、香であるが、特に淡口醤油は色が淡いことで料理素材の色を鮮やかに仕上げるとともに、醤油味を前面に出さず、素材の持ち味やダシ味を活かすことを特徴としている。小麦たんぱくを副原料に使用することにより、pGluペプチドなどの機能性成分が、淡口醤油の色や味の持ち味をより一層高めることに寄与するものと考えられる。

＜ヒガシマル醤油㈱＞

参考文献

- 1) 遠藤 繁：小麦の科学（長尾精一編），p. 83-105，朝倉書店，東京（1995）。
- 2) Suetsuna, K. and Chen, J.-R. : *Food Sci. Technol. Res.*, **8**, 227-230 (2002)。
- 3) 鈴木良雄：食品と開発，**35**(8)，44-46 (2000)。
- 4) Schlichtherle-Cerny, H. and Amado, R. : *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1515-1522 (2002)。
- 5) 岡田 崇，桂 晴美，古林万木夫：生物工学，**82**(11)，514-518 (2004)。
- 6) 桂 晴美，岡田 崇，古林万木夫：生物工学，**83**(1)，2-6 (2005)。
- 7) Sato, K., Nishimura, R., Suzuki, Y., Motoi, H., Nakamura, Y., Ohtsuki, K., and Kawabata, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3403-3405 (1998)。
- 8) Suzuki, Y., Motoi, H., and Sato, K. : *J. Agric.*

Food Chem., **47**, 3248-3251 (1999)。

- 9) Higaki-Sato, N., Sato, K., Esumi, Y., Okumura, T., Yoshikawa, H., Tanaka-Kuwajima, C., Kurata, A., Kotaru, M., Kawabata, M., Nakamura, Y., and Ohtsuki, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 8-13 (2003)。
- 10) 中田佳幸，森下めぐみ，橋本忠明，辻 安信：醸協，**94**，346-351 (1999)。
- 11) Long, L. H., Kwee, D. C. T. and Halliwell, B. : *Free Radic. Res.*, **32**, 181-186 (2000)。
- 12) Ando, M., Harada, K., Kitao, S., Kobayashi, M. and Tamura, Y. : *Int. J. Mol. Med.*, **12**, 923-928 (2003)。
- 13) 江崎秀男，川岸舜朗：醸協，**97**，39-45 (2002)。
- 14) 松田茂樹，工藤康文：醸協，**96**，100-106 (2001)。
- 15) 山口直彦：醸協，**87**，721-725 (1992)。
- 16) 太田剛雄，高下秀春，轟木康市，岩野君夫，大場俊輝：醸協，**87**，922-926 (1992)。
- 17) 石崎俊行，高倉 裕，吉浜義雄，平松順一，高橋康次郎，猪飼勝重：醸協，**98**，861-868 (2003)。
- 18) 篠塚 健，高塩仁愛，金田弘孝，山岸信久：農化，**74**，967-973 (2000)。
- 19) 橋場弘長，越山育則，坂口健二，井口信義：農化，**44**，312-316 (1970)。
- 20) 池 成圭：FOOD Style 21, **6**, 90-92 (2002)。
- 21) 門脇 清：増補 醤油の科学と技術（杉倉辰六郎編），p. 121-151，日本醸造協会，東京（1994）。

執筆者紹介（順不同・敬称略）

岡田 崇＜Takashi OKADA＞

昭和49年3月8日生れ＜勤務先とその所在地＞ヒガシマル醤油株式会社研究所＜略歴＞平成8年京都大学農学部農芸化学科卒業，平成10年京都大学大学院農学研究科修士課程応用生命化学専攻修了，平成10年ヒガシマル醤油株式会社研究所，現在に至る。＜抱負＞醤油の抗酸化力を高める方法を追求し，褐変や劣化の起こりにくい醤油を醸造できるようにしたい。＜趣味＞旅行，ドライブ

古林万木夫＜Makio KOBAYASHI＞

第100巻，第2号，P.101 参照

柴田和憲＜Kazunori SHIBATA＞

昭和31年5月3日生れ＜勤務先とその所在地＞アサヒビール（株）商品技術開発本部 酒類研究所，〒302-0106 茨城県守谷市緑1-1-21＜略歴＞昭和54年名古屋大学農学部農芸化学科卒，ビール工場醸造部，酒類研究所，新商品開発部等を経た後，平成17年1月酒類研究所長 現在に至る＜抱負＞世界中で美味しいと評価されるお酒（ビール）づくり＜趣味＞ハイキング，クロスカントリースキー（なかなか機会なし）