黒大豆を活用した機能性強化味噌の醸造

大豆はまさに機能性成分の宝庫であり、この大豆を発酵・熟成させた味噌には、きわめて多様な生体調節機能が明らかにされている。味噌用には普通黄色大豆が用いられるが、著者らは、種皮にアントシアニンが含まれ、その生理活性（活性酸素消去能）を強化した黒大豆味噌の試験醸造を実施された。これらの結果について、詳しく解説いただいた。

岩崎 賢一・岡崎 賢志

1. はじめに

近年の健康志向を背景に大豆に由来する成分が着目され、更年期障害の改善、コレステロールや血圧の低下作用、乳ガン・骨粗鬆症の予防、ダイエット効果等、具体的な機能や効果が多数報告されている¹⁾。中でも黒大豆の種皮に含まれるアントシアニンは近年特に注目を集め、内臓脂肪の蓄積防止や肝機能の予防などの作用が報告され²⁾、食品素材として広く活用されている。

活性酸素は、呼吸、光合成反応、生体防御反応などの生命活動の結果、必然的に生体内に生成されるラジカルである。過剰に生成された活性酸素は消去系によって消去・無毒化される。しかし、何らかの原因により一時的に過剰になった場合や消去系の機能が低下した場合、系を漏出した活性酸素はDNA、タンパク質、脂質、多糖などの生体分子を攻撃し損傷させる。その結果、種々の生体障害が生じる³⁾。この生体障害を防ぐことを目的として、活性酸素消去能を有する食品の開発・研究が進められている⁴⁾。

本研究は、黒大豆の成分を活用して活性酸素消去能を強化した味噌の製造を目的としている。今回は、黒大豆の味噌原料としてとしての可能性を評価するために、醸造条件を検討した⁵⁾。

2. 醸造試験

2.1 麴の調製と仕込み

大豆は北海道産黒大豆（光黒）と北海道産黄大豆

（つるむすめ）、米は香川県産讃岐米（はえぬき）、塩は讃岐塩（並塩、讃岐塩業㈱）、種麴はヒグチモヤシ（BF-3）を使用した。

米麴の調製には、一晩水に浸漬した米を水切り後、オートクレープ処理（105℃、50分間）し、放冷後、種菌（種麴をデンプンで10倍希釈したもの）を散布した後に容器（プラスチック製円筒形）に移し、30～40℃で、3日間麴菌を培養した。

豆麴の調製は、一晩水に浸漬した黒大豆を煮熟（圧力鍋中で1hr）した後に放冷して長方体（約1m×50cm×10cm）の木製容器中で種菌と混合し、乾燥器中（30℃）で3日間培養した。

黄大豆を用いた場合も黒大豆と同様に調製を行った。

仕込では、米麴、豆麴（黒大豆、黄大豆）、蒸煮大豆、食塩、及び種水を第1表の割合で混合し、混練装置（ステンレスミンチ、MO-22、南常鉄工㈱、藤井寺市）を通した後、プラスチック製円筒容器に仕込んだ（重石4kg）。黒大豆を用いた味噌（K-1、K-4）と通常の黄大豆を用いた味噌（A-2、C-1）は同時に仕込みを行った。また、K-3は、黒大豆の配合量を検討するために仕込んだ。

2.2 窒素成分の経時変化

味噌仕込み後、暗所において室温で約6ヶ月間熟成を行った。熟成期間中、経時的にサンプリングして全窒素と水溶性窒素を測定し、タンパク溶解率を求めた。

第2表に試験味噌の全窒素、第3表に水溶性窒素の経時変化を示した。黄大豆を用いた味噌（A-2、C-1）

Brewing of Functional Soybean Paste (Miso) Using Black Soybean

Kenichi IWASAKI, Kenji OKAZAKI (Kagawa Prefectural Industrial Technology Center, Fermentation and Food Research Institute)

第1表 味噌原料の仕込み配合

	K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
米麴 (kg)	0	2	4	0	0.75
黒大豆麴 (kg)	4				
黄大豆麴 (kg)				1.5	
黒大豆 (kg)	—	6	4		
黄大豆 (kg)					0.75
食塩 (g)	500	1120	1120	180	180
種水 (ml)	1000	500	400	200	200

第2表 試醸味噌の全窒素* (mg/100 g)

K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
2775	1730	1390	2830	1510

* 仕込み時と180日目の平均値

第3表 試醸味噌の水溶性窒素 (mg/100 g)

日数 (日)	K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
0	822	174	195	809	195
30	1382	547	452	1663	585
60	1474	625	507	1715	621
90	1547	710	559	1716	667
180	1720	961	734	1785	737

の水溶性窒素は仕込み後約30日で高い値となり、その後の増加は少なかったが、黒大豆を用いた味噌 (K-1, 3, 4) では水溶性窒素は徐々に高くなり、窒素成分の溶出が緩やかに進行することが認められた。

第1図に試醸味噌のタンパク溶解率の経時変化を示す。黄大豆を用いた味噌 (A-2, C-1) は30日目以降ではほぼ安定した溶解率を示したが、黒大豆を用いた味噌 (K-1, 3, 4) の溶解率は30日目以降も緩やかに上昇した。180日目においては大豆の種類に関わらず仕込み配合に応じてほぼ同程度の値に至った。

2.3 活性酸素消去能とアントシアニン

試醸味噌の活性酸素消去能は次の方法で測定した。まず各味噌について高村ら⁹⁾の方法に準じて測定用試料を調製した。即ち、試料5gを秤量し、80%エタノール100mlを加えてホモジナイズし、30分間振とう抽出した後、吸引ろ過 (No.2ろ紙) し、ろ液を採取した。その残渣にさらに80%エタノール100mlを加えて同様な操作を行い、得られたろ液を合わせて80%エタノール抽出液とした。さらに、その残渣に水を加え、上記と同様の処理により2回抽出し、得ら

第1図 味噌試醸におけるタンパク溶解率の経時変化 (◆ K-1, □ K-3, ■ K-4, ● A-2, ▲ C-1)

れたろ液を併せて水抽出液とした。80%エタノール抽出液と水抽出液のスーパーオキシドアニオンラジカル (O_2^-) 消去能を測定し、その合計をスーパーオキシドジムスターゼ (SOD) 様活性として評価した。即ち、96穴マイクロプレート内の5,5-ジメチル-1-ピロリンヒポキサンチン (DMPO, ラボテック) 原液15 μ l, 5 mM-ヒポキサンチン (HX, シグマ) 50 μ l, 5.5 mM-ジエチレントリアミン-N,N,N',N'',N'''-5-酢酸 (DTPA, シグマ) 35 μ l, 及び試料溶液50 μ lの混合液を、0.1 M-リン酸緩衝液 (pH 7.8) に溶解した0.4 unit/ml-キサンチンオキシダーゼ (XOD, シグマ) 50 μ lを添加し、ピペッティングにより素早く混合し、30秒後の O_2^- 濃度を日本電子(株)製FR-30型フリーラジカルモニター (ESR) で測定した。ESRの測定条件は、マイクロ波出力4 mV, 中心磁場335.7 mT, 挿引幅5 mT, 挿引時間2 min, 磁場変調幅160 μ T, 時定数0.1 sとした。なお、検量線は試料をSOD (シグマ) 0-30 unit/mlで置き換えた反応系で作成した。

また、アントシアニン量は小野ら⁷⁾の方法で測定した。即ち、味噌試料5gを三角フラスコに秤量し、1% (V/V) 塩酸・メタノール50 mlを加え、振とう機を用いて150 rpmで1時間 (30°C) 抽出後、さらに4°Cで1夜静置して抽出を行った。この抽出液を遠心分離 (10,000 $\times$ g, 4°C) し、得られた上澄みをさらにろ過 (0.45 μ m) してろ液を測定試料とした。測定試料中のアントシアニン量は530 nmの吸光度を測定し、シアニジン3-グルコシド (Cy 3-glc) 相当量

第4表 試醸味噌の活性酸素消去能とアントシアニン濃度

	K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
SOD 様活性 (unit/g)	956	300	232	440	64
Anthocyanin (mg/100 g)	12.7	3.6	4.0	2.1	-

第6表 試醸味噌の成分 (180 日目)

	K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
pH	5.45	5.54	5.40	5.41	5.65
食塩 (%)	12.0	10.0	10.0	10.7	9.7
Ethanol (%)	0.59	2.9	2.2	0.20	4.3
全窒素 (%)	2.820	1.747	1.385	2.833	1.504
水溶性窒素 (%)	1.720	0.961	0.734	1.785	0.737

第5表 試醸味噌の表面色 Y (%) の経時変化

日数 (日)	K-1	K-3	K-4	A-2	C-1
0	8.21	12.70	12.76	19.96	39.03
30	6.43	10.25	10.83	12.49	31.39
60	5.29	9.96	9.50	10.51	32.45
90	4.88	9.30	9.13	9.11	31.06
180	3.62	7.17	8.17	7.07	26.75

第7表 試醸黒大豆味噌の官能検査

	K-1	K-3	K-4
味	1.6	1.6	2.6
香り	2.0	2.0	2.6
表面色	2.0	1.4	1.6
総合評価	1.9	1.7	2.3

として求めた。なお、検量線は Cy 3-glc を 1% 塩酸・メタノール 1 ml に溶解し、この溶液を数段階に希釈後 530 nm における吸光度を測定して作成した。

第4表に醸造 180 日目の各味噌の活性酸素消去能 (SOD 様活性) とアントシアニン量を示した。黒大豆を用いた味噌は、黒大豆の配合割合が高いほど SOD 様活性は高くなった。また、同じ配合割合の黄大豆を用いた場合と比較すると、豆味噌 (K-1 と A-2) では 2.2 倍、大豆と麴を等量配合した味噌 (K-4 と C-1) では 3.6 倍の SOD 様活性が認められた。また、それらの値はアントシアニン量と相関がえられた。つまり、黄大豆の代わりに黒大豆を用いて醸造した味噌は高い活性酸素消去能を持つことが判明した。

2.4 表面色

表面色は測色色差計 (日本電色工業㈱ ND-101 D 型) で測定した。第5表に醸造過程における味噌の表面色の変化を示した。黒大豆を用いた味噌は、黒大豆の配合割合が高いほど Y (%) は低い値を示した。また、同じ配合割合の黄大豆を用いた場合と比較すると、豆味噌 (K-1 と A-2) および大豆と麴を等量配合した味噌 (K-4 と C-1) とともに黒大豆使用では Y

(%) は低かった。

2.5 試醸味噌の成分

エタノールはガスクロマトグラフ法、食塩はモール、また全窒素および水溶性窒素はケルダール法で測定した⁸⁾。第6表に醸造 180 日目の味噌の pH、食塩、エタノール、全窒素、及び水溶性窒素を示した。黒大豆を用いた味噌の pH、全窒素、及び水溶性窒素は黄大豆を用いた同じ配合比の味噌と比較して大差ないことが認められた。しかし、エタノールに関してはさらに検討が必要と考えられた。

3. 官能検査

香川県味噌工業協同組合の組合員 5 名をパネラーとして黒大豆を使用した味噌 (K-1, 3, 4) の官能検査を実施した。検査項目は、味、香り、および表面色とした。それぞれの味噌を「優」、「良」、および「可」の 3 段階に格付けし、それぞれを 3 点、2 点、および 1 点として合計の平均点で評価した。その結果を第7表に示した。

黒大豆を用いた味噌の中で、味と香りは K-4、表面色は K-1 が高い評価を得た。しかし、総合的に判

断すると K-4 がもっとも高い評価であった。香川県内では豆味噌を食する習慣がないことから、従来の味噌の原料配合で醸造した味噌 (K-4) が好まれる傾向が伺えた。また、黄大豆を用いた味噌と比較すると、黒大豆を用いた味噌は特徴のある味 (ほのかな甘味) の付与が示唆された。

4. おわりに

黒大豆を用いて味噌の試験醸造を行い、主にその窒素成分、活性酸素消去能、アントシアニン量、表面色、および官能評価について黄大豆を用いた味噌と比較した。黒大豆を用いた味噌の醸造過程においては、黄大豆を用いた味噌よりはタンパク質の溶解速度が緩やかな傾向が認められた。また、黒大豆味噌の SOD 様活性は、黄大豆味噌の 2~4 倍となり、高い活性酸素消去能を持つとともにその値はアントシアニン量と相関することが判明した。さらに黒大豆味噌の表面色 (明度) は黄大豆よりも低かった。また、官能的には米麹と蒸煮大豆を等量配合した黒大豆味噌が好まれる傾向が見受けられた。

謝 辞

味噌の仕込みと分析を行うにあたり、香川県産業技

術センター食品研究所の田村桂子氏に多大な協力を賜った。ここに厚く御礼申し上げます。また、本研究は、平成 18 年度香川県試験研究機関共同研究の一環として実施した。ご協力いただいた関係各位に深謝します。

＜香川県産業技術センター発酵食品研究所＞

文 献

- 1) 菅野道廣, 高松清治: 醸協, **99**(3), 148-153 (2004)
- 2) 大庭理一郎, 五十嵐喜治, 津久井亜紀夫: 「アントシアニン」 pp. 124-150 建帛社 (2000)
- 3) 森田淳司: 食品工業, **35**(10), 27-36 (1992)
- 4) 牧野義雄, 岡崎賢志: 平成 12 年度研究報告, 香川県産業技術センター, **1**, 115-118 (2000)
- 5) 岩崎賢一, 田村桂子, 岡崎賢志: 平成 18 年度研究報告, 香川県産業技術センター, **7**, 57-58 (2007)
- 6) 高村仁知, 山口智子, 林恵里奈, 藤本さつき, 的場輝佳: 日本家政学会誌, **50**(11), 1127-1132 (1999)
- 7) 小野廣紀, 杉原菜穂, 廣瀬裕子, 片桐久美子: 岐阜市立女子短期大学研究紀要, **52**, 135-138 (2003)
- 8) 全国味噌技術会編「みそ技術ハンドブック付みそ分析法」(平成 7 年 12 月 15 日発行)