ユニークな大豆発酵食品（とうふよう）の科学と技術展開[†]

安田 正昭

(琉球大学農学部)

Key words: tofuyo; fermented soybean food; soybean cheese; subtilisin APRP; *Monascus anka*

はじめに

とうふよう⁽¹⁾は、室温で乾燥させた木綿豆腐を麹と泡盛（蒸留酒）を含むもろみに漬け込んで熟成させたもので、わが国では他に類例をみない沖縄独特の大豆発酵食品である（図）。麹菌には、*Monascus* 属や *Aspergillus* 属が使用される。一般に塩味が薄く、甘みがあり、ソフトチーズ様のなめらかな組織と粘弾性を有する植物性タンパク質食品であることから、現代人の嗜好やニーズに合致した食品として注目されるようになった^(1,2)。そもそもとうふようは、琉球王朝時代の18世紀頃に中国（福建省）から伝来した紅腐乳を沖縄の気候、風土、食習慣や嗜好に合わせて改良してつくりだされたもので、当時の上流社会の一部で滋養食や酒の肴として珍重されたものである⁽¹⁾。しかしながら、その製造法は琉球王朝と関係の深い特定の地域（首里や那覇）、特定の家庭でのみ、門外不出の秘伝として細々と継承されてきたため、今日に至るまで一般的な食品として広く普及するには至らなかった。

とうふよう製造の振興・発展を図るためには、経験や勘に基づいた製造法の特徴を科学的に解析し、製造のプロセスを人為的に制御しうる基礎技術の確立が最大の課題となる。そこで、筆者らはこの課題解決のために種々検討を行ってきた⁽³⁾。本稿においては、とうふようの熟成と機能性ならびに酵素法と組立発酵法によるとうふよう製造の技術開発について紹介したい。

図 とうふようと泡盛

1. 伝統的なとうふようづくり⁽¹⁾

古老の話によれば、とうふようづくりはなかなか難しいものとされている。それを実際につくっている A さんの方法は次のとおりである。

とうふようは通常、冬につくる。まず、きめがこまかくて堅めの豆腐を特別に注文し、それを約3cm角に切りそろえる。これを目のあらいざるに広げて陰干しする。清潔な箸で2時間おきに裏返して均一に乾燥させる。2~3日経過すると表面は褐色となりネトが生じる。この乾燥豆腐の表面を泡盛でよく洗ったのち次の仕込みに用いる。一方、米麹（紅麹や黄麹）とアルコール濃度が40%以上の泡盛を同量混ぜ、麹が十分にやわらかくなった後ですり鉢ですりつぶし、食塩で味を調えて壺にいれる。このようにして得られたもろみに先ほどの乾燥豆腐を漬け込み密栓する。漬け込み後、4~5カ月が食べ頃といわれる。

とうふようづくりで、原料の調製法と熟成条件は製品の品質に直接影響を与えるので重要である。筆者ら^(3~10)は酵素活性や色素生産性の高い紅麹の製麹法、適切な物性を有する原料豆腐の調製法を確立した。ま

[†] Sciences and Technical Developments of Tofuyo Which Is the Unique Fermented Soybean Food Masaaki YASUDA (Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus)

た、熟成条件などについても種々検討を行ってきた。とうふようづくりのおもな特徴は、もろみに泡盛と麴(紅麴、黄麴)を使用することと製品の熟成が高濃度アルコール存在下で行われることである。この食品製造における泡盛の使用意義は製品の防腐効果を高める作用、おだやかな熟成作用および製品の好ましい香味形成に寄与することなどが挙げられる。紅麴については同麴菌の特性と密接な関係があり、天然色素としての製品への着色効果、各種酵素作用による独特な香味醸成に貢献しているようである。事実、筆者らが試作した結果によれば、もろみに紅麴と黄麴を併用した製品は黄麴単独によるものに比べて色調や香味が良好であると評価された⁽⁹⁾。また、紅麴菌の薬理効果(コレステロール抑制作用⁽¹²⁾、血圧上昇抑制作用⁽¹³⁾、抗酸化作用⁽¹⁴⁾など)にも注目すべきであろう。

2. とうふようのサイエンス^(3,6)

(1) とうふようの熟成と食品科学的特性

とうふようの熟成で最も重要な役割を演じている酵素はプロテアーゼである。もろみ中のプロテアーゼ活性はアルコール濃度(泡盛由来)の影響を受けて抑制されるため、大豆タンパク質は限定的に分解される。その結果、なめらかさや粘弾性などのとうふようらしい物性が形成され、同時に好ましい呈味性(アミノ酸)も形成される。とうふようの熟成過程における大豆タンパク質の変化を電気泳動法(SDS-PAGE)により観察した^(6~9,11)。水不溶性画分では、大豆タンパク質の主要成分である β -コングリシニンの各サブユニット、グリシニンの酸性サブユニット、およびその他の高分子成分は熟成中にプロテアーゼにより分解を受け、低分子化するが、グリシニンの塩基性サブユニットは残存した。製品(熟成3カ月)には塩基性サブユニットのほかにも生成した低分子量のポリペプチド(M_r 10,000~15,000)の存在が確認され、これらのものがとうふようボディの構成成分である。この塩基性サブユニットはとうふようのテクスチャー形成に寄与していると考えられる。同様に、熟成過程における水溶性画分のタンパク質分解の様子を SDS-PAGE 法で調べた結果、熟成0日目では多数のバンドが検出されたのに対し、熟成3カ月ではほとんど残存していないことがわかった。とうふようの水溶化率およびトリクロ酢酸可溶性窒素量は熟成時間の変化に伴い増大した。水溶性タンパク質は熟成過程でプロテイナーゼや

ペプチダーゼなどの酵素作用により低分子化され、ペプチドやアミノ酸に変換された。とうふようの物性、特にその破断応力、粘弾性係数、硬さ、および凝集性は熟成初期に大きく減少するが、熟成中期以降後期に至るまではほぼ一定の値を示し、なめらかさを形成した。さらに、熟成中とうふよう組織の微細構造変化を走査型電子顕微鏡で調べたところ、熟成初期には網目構造を形成するタンパク質の太い繊維が観察されるが、熟成時間の経過に伴い小さな粒状のタンパク質がつらなった構造に変化⁽¹⁰⁾しており、プロテアーゼの分解を受けていることが電子顕微鏡的にも示された。

麴由来 α -アミラーゼおよびグルコアミラーゼはプロテアーゼの場合とは異なり熟成後期に至るまで比較的高い酵素活性が維持され、もろみ中の米デンプンに作用してグルコースを生成する。この糖はもろみから製品に移行し、とうふよう独特の香味形成に寄与している。とうふようの呈味成分はアミノ酸(グルタミン酸、アラニン、アスパラギン酸、グリシン、セリンなど)、糖(グルコース)が主要成分であり、その他に有機酸、脂肪酸、ヌクレオチド、および食塩があり、それらの成分間の相互作用で良好な味を形成する。香気成分は、アルコール類、脂肪酸や有機酸のエチルエステルなどが中心的な役割を担っている。とうふようの香味はこれら各種成分が調和のとれた総体として発現している⁽³⁾と考えられる。

(2) とうふようの機能性

最近、食品の生体調節機能に関する知見が得られつつある。筆者らは、とうふようの生理機能に関する検討を行っている。アンギオテンシンI変換酵素(ACE)阻害物質は血圧上昇抑制効果のあることが知られており、プロテアーゼによる食品タンパク質の加水分解物中に ACE 阻害活性のあることが報告されている。筆者ら⁽¹⁵⁾はとうふようの水溶性画分に ACE 阻害活性のあることを見いだした。この水抽出物を各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC により精製を行った。精製物質は HPLC で均一であり、そのうちの一つはジペプチドであった。現在、本物質の ACE 阻害剤としての性質を検討している。また、筆者ら⁽¹⁶⁾は、とうふようの水溶性画分にリノール酸に対する抗酸化性や DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去能があることを見いだした。この水抽出物を HPLC で均一に精製し、両物質の性質を調べているところで

ある。いずれもニンヒドリンで陽性反応を示す物質で、現在構造解析を行っている。とうふようにはその他にもいくつかの生理機能が存在すると考えられる。とうふようの発酵過程で生成する微生物の代謝産物あるいはその他大豆由来の生理活性物質についても注目したい。

3. 研究成果の地場産業への技術移転

本研究により、「秘伝」として継承されてきたとうふよう製造の技術的特徴やその食品科学的特性などが解明された^(3,6)。とうふようの製造技術は研究室の卒業生を通して地場産業に技術移転され、紅麴を用いた赤いとうふようが市販されるようになったのである。現在、とうふようは沖縄のオリジナル特産品として発展しており、沖縄以外でも、東京、大阪、福岡、札幌、名古屋などにある(株)沖縄県物産公社の「わしたショップ」にて入手できる。

4. 新しい“とうふよう”づくりを目指して

(1) 大豆乳凝集酵素によるとうふよう製造技術の開発

とうふようを一般的な食品として広く普及させるには、生産量の増大、品質の向上、およびその安定化などに対応する製造技術の改善がさらに必要である。在来のとうふよう製造法では、原料に用いる豆腐の製造工程が煩雑であるので大型化には不適切である。新しい製造技術の構築を図るために、酵素法によるカードの調製に着目した。そこで、筆者らは大豆乳凝集活性の高い細菌 (*Bacillus pumilus*) を自然界から分離し、大量培養に向けた培養条件を明らかにした⁽¹⁷⁾。精製酵素は分子量約 30,000 のモノマー構造で、アルカリセリンプロテイナーゼ (APRP) である。本酵素遺伝子のオープンリーディングフレームは 1149 bp で 383 残基のアミノ酸をコードしており、活性中心を構成するアミノ酸および活性中心付近のアミノ酸配列の相同性から本酵素は、サチライシン APRP と命名された⁽¹⁸⁾。本酵素の分離大豆タンパク質に対する反応最適 pH は 9.0、反応最適温度は 50℃ であるが、凝集反応が最も速く確認できる条件は、基質大豆乳の pH が 6.0 付近、反応温度が 65℃ であり、より限定した条件下で凝集反応が起こる⁽¹⁹⁾ことがわかった。

現在、本酵素による大豆乳からのタンパク質カードの調製条件を検討しているが、従来使用されている硫酸カルシウムやニガリに比べて均一な粒子の凝集物が

得られることが判明した。また、本法によるタンパク質カードは従来の豆腐に比べて組織が均一であるばかりではなく、堅いという特徴を有していた。しかも、本タンパク質カードはペプチドに由来する苦味を呈しないという特徴も兼ね備えており、とうふよう製造への適用が期待される。今後、本酵素を用い、バイオリアクターの手法によるとうふようの大量生産システムが構築できれば、その普及もいっそう容易となろう。

(2) 組立発酵法による新しい「とうふよう」の製造

近年、食生活が豊かになるにつれ、生活習慣病対策が重要な課題となり、コレステロールフリー食品あるいは各種機能性を付与した食品開発が活発となり、大豆タンパク質や小麦タンパク質を素材とした「組立食品」あるいは植物性チーズの製造が種々試みられている。組立食品とは、農畜水産物からタンパク質、油脂、糖質などの特定の成分を取り出し、そのいくつかのものを素材として、着色、着香、調味を行い、成形した食品のことをいい、マーガリンやミートアナログなどが代表的な例とされている。また、大豆タンパク質を原料として組立法で製造したがんもどきや凍豆腐なども市販されている。

筆者らは、大豆タンパク質をはじめとするいくつかの食品素材を用いてタンパクゲルを調製し、発酵法を組み合わせた新しい「とうふよう」の製造法を検討した⁽²⁰⁾。紅麴を用い、組立法で調製した「とうふよう」は紅麴色素に由来する深紅の色調を呈し、とうふよう類似のなめらかなテクスチャーと香味を有していた。組立法による「とうふよう」製造のメリットは、原材料の組み合わせにより製品の栄養改善（アミノ酸価など）に役立つばかりでなく大豆タンパク質や紅麴菌の有する各種生理機能の付与が可能である点が挙げられる。今後、各種の生理機能を付与した「とうふよう」を完成させることができれば、高齢化社会に対応した植物性タンパク質食品としての新しい展開が期待される。

おわりに

微生物の発酵現象（特に酵素作用）を利用した食品の例として沖縄県に古くから伝わるとうふようについて紹介させていただいた。とうふようが伝統食品として根強く定着し、発展することを願うとともに筆者らもその発展のために微力ながらお手伝いをさせていただきたいと思っている。筆者らのささやかな研究を通

して、伝統食品についての関心が高まり、伝統に有する合理的な技を認識され、製品開発へのアイディアが生まれれば筆者の望外な幸せである。

- (1) 安田正昭: 民俗のころを探る(原 泰根編集), 初芝文庫, 1994, pp. 295-337.
- (2) 本江元吉: 醬研, **2**, 238-243 (1975).
- (3) 安田正昭: 日食工誌, **37**, 403-409 (1990).
- (4) 安田正昭, 上地玄作, 宮里興信: 日食工誌, **30**, 53-67 (1983).
- (5) 安田正昭, 外間郁男: 日食工誌, **31**, 19-23 (1984).
- (6) 安田正昭: 大豆タンパク質の加工特性と生理機能(日本栄養・食糧学会監修, 菅野道廣・尚弘子編集) 建帛社, 1999, pp. 65-103.
- (7) 安田正昭, 松本哲也, 坂口真樹ほか: 日食工誌, **40**, 331-338 (1993).
- (8) 安田正昭, 松本哲也, 坂口真樹ほか: 日食工誌, **41**, 184-190 (1994).
- (9) 安田正昭, 松本哲也, 坂口真樹ほか: 日食工誌, **42**, 38-43 (1995).
- (10) 安田正昭, 金城さきえ, 三木英三: 日食工誌, **43**, 322-327 (1996).
- (11) 桂 正子: 調理科学, **29**, 314-322 (1996).
- (12) A. Endo: *Trends in Biochemical Sciences*—January, pp. 10-13 (1981).
- (13) 辻啓介: 醸協誌, **89**, 297-211 (1994).
- (14) Y. Aniya, T. Yokokura, M. Yonamine *et al.*: *General Pharmacology*, **32**, 225-231 (1999).
- (15) M. Kuba and M. Yasuda: Proceedings of the Third International Soybean Processing and Utilization Conference (Tsukuba, Ibaraki, Japan, October 15-20, 2000), pp. 256-257.
- (16) M. Yasuda, M. Kuba, and T. Oshima: Abstracts of the 10th Biennial Meeting of the International Society for Free Radical Research Okinawa Satellites Symposium "Aging and Natural Antioxidants" (Nago, Okinawa, Japan, October 21-23, 2000), p. 24.
- (17) M. Yasuda, M. Aoyama, M. Sakaguchi *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 474-479 (1999).
- (18) M. Aoyama, C. Toma, M. Yasuda *et al.*: *Microbiol. Immunol.*, **44**, 389-393 (2000).
- (19) M. Aoyama, M. Yasuda, K. Nakachi *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **53**, 390-395 (2000).
- (20) M. Yasuda and K. Nagamatsu: *Sci. Bull. Fac. Agric. Univ. Ryukyus*, **44**, 291-297 (1997).