各種味噌の大豆配糖体成分組成および味噌の 品質に及ぼす大豆サポニンの影響†

工藤重光*・打田悌治*・尾島 聡**・大久保一良**

藤波博子***・海老根英雄***

Soybean Glycoside Compositions of Various Miso and Effects of Soybean Saponin on the Quality of Miso (Studies on Soybean Fermented Foods Part I)

Shigemitsu KUDOU*, Teiji UCHIDA*, Satoshi OJIMA**, Kazuyoshi OKUBO**,
Hiroko FUJINAMI*** and Hideo EBINE***

* Kanesa Miso Co., Ltd, 202, Hamada, Tamagawa, Aomori 030

** Faculty of Agriculture, Tohoku University, Amamiya-machi,
Tsutsumi-dori, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981

*** Central Miso Research Institute, Shinkawa 1-26-19,
Chuo-ku, Tokyo 104

The compositions of glycosides such as soybean saponins and isoflavones in various miso and effects of soybean saponins on sensory evaluation of miso were investigated. After extraction with 70% ethanol (v/v) from a lyophilized miso, the ethanol extract was partitioned between *n*-butanol and water (1:1; V/V). The upper layer (11 U) was regarded as the crude glycoside fraction of miso. The glycoside compositions and saponin contents in 11 U were examined by TLC and HPLC analyses. The TLC pattern of the crude glycoside fraction of soybean miso was different from those of rice and barley miso, and some specific components were detected. Daidzin and genistin in soybean miso were completely hydrolyzed into daidzein and genistein (their aglycones) while in sweet rice miso they were not hydrolyzed. The isoflavones in the semisweet rice, salty rice and barley miso were partially hydrolyzed. Soybean saponin A group having soyasapogenol A as an aglycone was partially deacetylated or hydrolyzed at the sugar moiety. The soybean saponin Bb contents of salty rice miso were in the range of 16 to 173 mg% and the mean was 57 mg% on a dry matter basis. Sensory evaluation of miso was designated as color, taste, flavor, texture and overall. In salty rice miso (*n* = 202) the correlation coefficients between the soybean saponin Bb content and sensory scores for color and flavor were 0.150 (*P* < 0.05) and 0.205 (*P* < 0.01), respectively. Therefore, the sensory evaluations for color and flavor showed a tendency to be lower with increasing the soybean saponin Bb content. Effects of removing seed coats of soybeans on sensory scores and the soybean saponin Bb content of salty rice miso were investigated. The soybean saponin Bb content was less in miso made from dehulled soybeans than in miso made from whole soybeans, and the sensory evaluations (color, taste, flavor, texture and overall) of miso made from dehulled soybeans miso were higher than those of miso made from whole soybeans.

(Received Feb. 5, 1990)

† 大豆醱酵食品に関する研究 (第1報)

* かねさ味噌 (株) (〒030 青森市浜田字玉川 202)

** 東北大学農学部 (〒980 仙台市青葉区堤通雨宮町 1 の 1)

*** 中央味噌研究所 (〒104 東京都中央区新川 1 の 26 の 19)

大豆種子中に存在する主な配糖体成分として、大豆サポニン・イソフラボンが知られている¹⁾。さらに、新規なサポニンも発見されその構造も明かにされつつある²⁾。いずれも苦味・収斂味などの不快な味を呈し、その分解物と不快味について興味ある報告³⁾がされている。この知見に基づき、豆腐製造工程において配糖体成分の挙動に注目した製造工程の見直しがなされ大きな成果を上げている⁴⁾。

味噌の味に関する研究としては、アミノ酸・糖・有機酸および食塩等の呈味物質の理化学的分析データを基にした主成分分析や重回帰分析等の多変量解析により官能評価との関係を明らかにしようとする試みがなされている⁵⁾⁶⁾。しかしながら、豆腐の品質の改善に関する一連の研究^{7)~9)}に見られるような不快味をもつ配糖体成分を考慮した味噌の品質に関しては、検討されていない。そこで、今回は味噌中の配糖体成分組成とその含量について調べ、味噌の品質に及ぼす配糖体成分、特にサポニンの影響について検討した。

実 験 方 法

1. 味噌の粗配糖体画分の調製

(1) 供試味噌

第29回全国味噌鑑評会(昭和61年度)に出品された味噌のうち甘米味噌7点・甘口米味噌4点・辛口米味噌202点・麦味噌22点および豆味噌4点、合計239点を用い、凍結乾燥して分析に供するまで保存した。

(2) 味噌配糖体区分の調製

凍結乾燥味噌を粉碎後、味噌配糖体区分を次のようにして調製した。すなわち、凍結乾燥味噌2gを70%エタノール(V/V%)20mlで80℃24時間還流抽出した。冷却後、3500rpmで10分間遠心分離し、この上澄液10mlを減圧乾固した。次に、ブタノールと水各1mlを添加し激しく攪拌しながら乾固物を完全に溶解後、3500rpm、10分間遠心分離し、その上層液(ブタノール層)を配糖体画分とした。

2. 配糖体成分の検出および大豆サポニン Bb の定量

(1) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

市販のMerck社製Pre-coated Silica Gel 60 F₂₅₄プレートを使用し、配糖体成分展開用溶媒としてクロロホルム：メタノール：水(65:35:10 v/v)の下層を、またアグリコン成分展開用溶媒としてベンゼン：ジオキサン：酢酸(100:25:5 v/v)を用いた。検出は、10%硫酸噴霧後、120℃、10分間の加熱により行った。

(2) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

EYELA Liquid Chromatograph PLC-20(東京理化)を用い、次のようにして高速液体クロマトグラフィーを行なった。すなわち、Merck社製LiChrosorb RP-18カラム(φ4.0×250mm)を用い、Aグループサポニン分析用移動相としてアセトニトリル：プロパノール：水：酢酸(32.3:4.2:63.4:0.1; V/V)を、Bグループサポニン分析用移動相としてメタノール：プロパノール：水：酢酸(70.0:6.0:23.9:0.1; V/V)を、また大豆サポニンのアグリコン成分分析用溶媒としてメタノール：水：酢酸(89.9:10.0:0.1; V/V)を用い、それぞれ0.5ml/minの流速で分離した。検出は、205nmにおける吸光度の測定により行った。

また、イソフラボン成分の分析をKITADAらの方法¹⁰⁾に従い次のようにして行った。すなわち、Merck社製LiChrosorb RP-8カラム(φ7.6×250mm)により、移動相として0.05Mリン酸緩衝液(pH2.0)：アセトニトリル(75.0:25.0; V/V)を用い、3ml/minの流速で分離した。検出は、260nmにおける吸光度の測定により行った。

(3) 味噌中の大豆サポニン Bb 含量

白岩ら²⁾の方法に従い、大豆サポニンのうち主サポニンであるBb単離標品を得た。この単離標品を用い各濃度のBb標準溶液(0.206mg/ml~2.06mg/ml)を調製し、それぞれ5μlの注入量でHPLCを行った。その時のピーク高から標準曲線を作成した(Fig. 1)。同様に味噌配糖体区分5μlをHPLCで分析し、味噌中の大豆サポニンBb含量を算出した。

3. 味噌の官能検査

第29回全国味噌鑑評会の官能検査スコアを用いた。鑑評会の官能審査において、出品された味噌は、色(色合い・照り・冴え)、味(塩なれ・旨味・異味)、香(芳香・異臭)および組成(硬さ・ざらつき)の各要素についてとさらに総合評価について行われた。配点は、各審査項目について、上位のものを1点、中位のものを2点、下位のものを3点とした。審査員は、12名でそのうち最も良い点数をつけた審査員と最も悪い点数をつけた審査員を除外した計10名の審査員の点数を合計した。その合計点数を官能検査スコアとし、最も優れたものを10点、最も悪いものを30点と点数化した。次に、統計処理アプリケーションパッケージSAS(Statistical Analysis System)を用い、大豆サポニンBb含量と各官能検査結果について相関分析および分散分析を行った。

Fig. 1 Working curve for determination of soybean saponin Bb

結果および考察

1. 各種味噌の配糖体成分組成

(1) TLC による粗配糖体成分の比較

各種味噌の粗配糖体画分を調製し、TLC でその組成を比較した結果、各出品味噌の TLC パターンにおいて味噌による差異が観察された。特に、豆味噌は米味噌および麦味噌と違った特徴的なパターンを示した。すなわち、豆味噌は、ゲニスチン・ダイジンに相当するバンドが完全に消失し、同じ R_f 値に新たにダイダイ色のバンドが観察された (Fig. 2 I)。また、アグリコン成分展開用溶媒を用いた TLC でも他の 2 種の味噌には無い褐色のバンドが観察された (Fig. 2 II)。この褐色のバンドは、 R_f 値とその色からソヤサポゲノール B と推定された。アスペルギルス属菌株が、大豆サポニンによって誘導される大豆サポニン分解酵素を生産する¹¹⁾ことから、味噌玉麴の製麴中にすでにソヤサポゲノール B が生成されているものと予想された。

(2) HPLC によるイソフラボン成分の比較

大豆中のイソフラボン成分として現在 5 種類報告されている¹⁾。このうちダイジン・ゲニスチンは、舌および咽喉内に痺れに似た強い収斂性の不快な感覚を引き起こし、そのアグリコンであるダイゼイン・ゲニステインは、さらに強い収斂性味を呈することが報告されている³⁾。従って、味噌中のイソフラボン成分の分解挙動に注目することは重要であると考えられる。そこで、HPLC により、イソフラボン成分をさらに検討し、その結果を Fig. 3 に示した。豆味噌 (B) では、ダイジンおよび

Fig. 2 TLC patterns of salty rice, soybean and barley miso

C₁ soybean glycosides, C₂ hydrolyzate of soybean glycosides, Solvent system: [I] chloroform-methanol-H₂O (65:35:10; V/V lower layer), [II] benzene: dioxane: acetic acid (100:25:5; V/V)

ゲニスチン成分が検出されず、そのアグリコンであるダイゼイン・ゲニステインに分解されていることがわかった。一方、甘味噌 (C) は、ほとんどが配糖体のままで存在しそのアグリコンに分解されていなかった。辛口米味噌 (A) および麦味噌は、その中間的なパターンを示し味噌によりイソフラボン成分の分解率において差異が認められた。これは、豆味噌・米味噌・麦味噌は、大豆・米・麦をそれぞれ基質として製麴を行うため、麴に含まれるイソフラボン分解酵素である β -グルコシダーゼ活性の違いによるものと推察された。特に、大豆麹は、その基質中にイソフラボンが存在するため米麹・麦麹に比べ β -グルコシダーゼ活性が高いものと推察され、豆味噌のイソフラボン成分は、そのアグリコンに分解されたものと推察された。また、甘味噌 7 点のうち 5 点 (D) に未同定がピークが認められた。

Fig. 3 High performance liquid chromatograms of isoflavones in various miso samples

1. Daidzin, 2. Genistin, 3. Daidzein, 4. Genistein, 5. Unknown
condition: column, LiChrosorb RP-8 ($\phi 7.6 \times 250$ mm), mobile phase, 0.05 M phosphate buffer (pH 2.0)-acetonitrile (75:25; v/v), flow rate, 3 ml/min, detection, UV 260 nm

(3) HPLC による大豆サポニン成分の比較

ソヤサポゲノール A をアグリコンとする A グループサポニンとしてソヤサポニン A₁ と A₂¹⁾ が知られている。しかし、大豆種子において A グループサポニンは、すべてアセチル化体として存在していることが最近明らかにされた²⁾。このアセチル化サポニン分析用溶媒である A グループサポニン分析用移動相を用いた HPLC の結果、A グループサポニンは検出されなかった。また、アグリコン成分分析用移動相を用いた HPLC でもソヤサポゲノール A は、検出されなかった。したがって、A グループサポニンは、部分脱アセチル化あるいは糖鎖が部分的に分解されているものと推察された。

次に、ソヤサポゲノール B をアグリコンとする B グループサポニン成分を、HPLC で分析した。その結果、全ての供試味噌は、類似した HPLC パターンを示し、Ba・Bb・Bc²⁾ が検出され (Fig. 4)、さらに、味噌に

よるサポニン含量の差違が認められた。

各種味噌の B グループサポニンのうち主サポニンである Bb 含量は、原料として大豆と塩だけを使用してつくる豆味噌が最も高く、次に辛口米味噌・甘口米味噌・甘米味噌の順に高かった (Table 1)。このうち辛口米味噌の大豆サポニン Bb 含量は、味噌の乾物当たり 16~173 mg% と広く分布し、平均 57 mg% であった。一方、麦味噌は、甘米味噌と類似の原料配合比であるにもかかわらず、Bb 含量は甘米味噌の 2 倍以上を示した。この結果から、単に味噌原料中の大豆の割合と Bb 含量が比例するわけではなく、原料大豆の処理方法・製麹方法および醗酵熟成方法などの要因により大豆サポニン Bb 含量が変動するものと推察された。

2. 大豆サポニンの味噌の品質に及ぼす影響

(1) 大豆サポニンの官能検査スコアに及ぼす影響

大豆配糖体成分のうち、大豆サポニンは最も不快味が強く、しかも量的に多く存在する³⁾ ことから、大豆サポ

Table 1 Soybean saponin Bb contents and rice/soybean ratio of various miso samples

	n	Soybean saponin Bb(mg/100g)				R/S Ratio*
		Mean	S.D.	Max	Min	
Rice miso						
Sweet miso	5	30.2	6.9	43	26	20.7
Semisweet miso	4	47.0	11.2	65	35	12.0
Salty miso	196	57.4	18.7	173	16	9.1
Soybean miso	4	111.0	32.3	156	65	—
Barley miso	21	71.7	30.5	136	26	19.6

* $\frac{\text{Rice or Barley}}{\text{Soybean}} \times 10$

Fig. 4 High performance liquid chromatogram of saponin B group in salty rice miso

conditions: column, LiChrosorb RP-18 (ϕ 4.0 $\times$ 250 mm), mobile phase, methanol-propanol-H₂O-acetic acid (70.6:6.0:23.9:0.1; V/V), flow rate, 0.5 ml/min, detection, UV 205 nm

ニンの官能検査スコアに及ぼす影響について調べた。すなわち、最も出品数の多い辛口米味噌について、官能検査スコアと大豆サポニン Bb 含量間の相関分析を行なった。その結果 (Table 2), 各官能検査項目間 (色・味・香・組成・総合評価) において相互に高い相関がみられた。また、大豆サポニン Bb 含量と各官能検査項目との相関分析の結果、大豆サポニン Bb 含量と色および香については有意に相関があり、すなわち大

豆サポニン Bb 含量が高いほど色および香に対する官能評価が低い傾向が認められた。イソフラボン¹²⁾および各種サポニンが細菌および酵母に対して生育抑制作用¹³⁾を示すことが報告されていることから、大豆サポニンが醗酵中の香気生成に関与する微生物 (酵母・乳酸菌) になんらかの影響を与えているものと推察された。一方、大豆サポニン Bb 含量と味との間に有意な相関はなかった。したがって、大豆サポニンは、豆腐のような淡泊な味に及ぼす影響は大きいものの¹⁾、強い塩味や旨味などをもつ味噌の味に及ぼす影響は小さいものと推察された。

(2) 大豆サポニン Bb 含量と官能検査スコアに及ぼす脱皮の影響

従来より、原料大豆として脱皮大豆を使用した味噌の品質が優れていると経験的に言われている。そこで、味噌の品質に及ぼす脱皮の影響を調べるために、脱皮の有無により出品味噌を区分し、各項目について分散分析を行った (Table 3)。その結果、脱皮大豆使用味噌の官能検査スコア (色、味、香、組成および総合評価) が有意 (危険率 < 0.01) に低く品質的に優れていることが示された。また、乾物重量当たりの大豆サポニン Bb 含量は、脱皮大豆使用味噌が丸大豆使用味噌に比べて有意 (危険率 < 0.05) に低くなっていた。大豆配糖体成分のうち最も不快な味を有する A グループサポニン³⁾は、大豆種子の胚軸部のみに存在し、しかも、大豆サポニン総含量の約 50% が胚軸部に極在している¹⁴⁾。しかし、脱皮により胚軸が、取り除かれサポニン含量が減少したものと考えられた。

要 約

味噌中の配糖体成分組成とその含量および味噌の品質

Table 2 Correlation coefficients between sensory scores and the soybean saponin Bb content of salty rice miso

	Sensory Score					Bb content
	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall	
Sensory score						
Color	1.000	0.752**	0.756**	0.807**	0.864**	0.150*
Flavor		1.000	0.820**	0.758**	0.822**	0.205**
Taste			1.000	0.791**	0.854**	0.106
Texture				1.000	0.873**	0.125
Overall					1.000	0.108
Bb content						1.000

*P<0.05, **P<0.01, n=202.

Table 3 Mean sensory scores and the soybean saponin Bb content of salty rice miso samples made from dehulled soybeans and those made from whole soybeans

	Whole ^{a)}	Dehulled ^{b)}	t ₀
Sensory score ^{c)}			
Color	18.750	14.036	9.780**
Flavor	18.902	15.590	8.613**
Taste	18.532	15.636	7.102**
Texture	19.010	14.809	9.886**
Overall	19.923	15.890	8.912**
Bb content ^{d)}	60.820	54.626	2.335*

*P<0.05, **P<0.01

a) miso made from whole soybeans, n=92

b) miso made from dehulled soybeans, n=110

c) values represent the means of score ; most desirable=10 ; least desirable=30

d) mg/100g dry wt. of miso

に及ぼす配糖体成分の影響について検討し以下の結果を得た。

(1) 各種味噌における配糖体の TLC パターンを比較した結果、豆味噌の TLC パターンは、米味噌および麦味噌のそれとは著しい差が認められ、豆味噌には、特異的な成分がみられた。

(2) 大豆のイソフラボン成分であるダイジン・ゲニステインは、甘米味噌において、ほとんどが配糖体のままで存在しているのに対し、豆味噌においては、全て分解されていた。他の味噌は、同じ種類の味噌でも分解率にバラツキがあった。

(3) 辛口米味噌中の大豆サポニン Bb 含量は、乾物当たり 16~173 mg% に広く分布し、平均 57 mg% であった。

(4) 大豆サポニン Bb 含量と香り及び色との間に有意な相関が見られ、大豆サポニン含量が高いほど色および香に対する官能評価が低い傾向が認められた。

(5) 脱皮大豆使用味噌と丸大豆使用味噌について官能検査スコアおよび大豆サポニン Bb 含量に関して分散分析をした結果、脱皮大豆使用味噌の官能評価は有意に高く (危険率<0.01) Bb 含量も有意に低かった (危険率<0.05)。

文 献

- 1) 大久保一良：化学と生物，22，11 (1984)。
- 2) SHIRAIWA M., SHIMOYAMADA M., OKUBO K., YAMAUCHI F., YOSIKAWA M. and KITAGAWA I.: Proc. Int. Symp. on New Technology of Vegetable Proteins, Oils and Starch Processing. Beijing, p. 2~97 (1987)。
- 3) IJIMA M., OKUBO K., YAMAUCHI F., HIRONO H. and YOSHIKOSHI M.: Proc. Int. Symp. on New Technology of Vegetable Proteins, Oils and Starch Processing. Beijing, p. 2~109 (1987)。
- 4) 大久保一良：豆腐の製造法とその物性，食品の物性第13集，松本幸雄・山野善正編 (食品資材研究会，東京) p. 1 (1987)。
- 5) 掛澤雅章・石間紀男・海老根英雄：醸協，78，718 (1983)。
- 6) 掛澤雅章・石間紀男・海老根英雄：醸協，78，875 (1983)。
- 7) 浅野三夫・大久保一良・五十嵐正倫・山内文男：日食工誌，34，298 (1987)。

- 8) 浅野三夫・大久保一良・山内文男：日食工誌, 36, 636 (1989).
9) 浅野三夫・大久保一良・山内文男：日食工誌, 37, 375 (1990).
10) KITADA Y., UEDA Y., YAMAMOTO M., ISHIKAWA M., NAKAZAWA H. and FUJITA M.: *J. Chromatogr.*, 366, 403 (1986).
11) KUDOU S., TSUIZAKI I., UCHIDA T. and OKUBO K.: *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1341 (1990).
12) NAIM M.: *J. Agr. Food Chem.*, 22, 806 (1974).
13) POLACHEK I., ZEHAU U., NAIM M., LEVY M. and EVRON R.: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30, 290 (1986).
14) SHIMOYAMADA M., KUDOU S., OKUBO K., YAMAUCHI F. and HARADA K.: *Agric. Biol. Chem.*, 54, 77 (1990).
(平成 2 年 2 月 5 日受理)

新 刊 紹 介

Bitterness in Foods and Beverages

R.L. ROUSEFF 編著

苦味は甘味、酸味、辛味と共に重要な味覚要因である。苦味成分は、広範な分子量と官能基を包含する複雑な化合物よりなっており、不明な点が多かった。

本書は食品に係わる研究者や技術者に対して苦味に対する認識を深めるために書かれたもので、内容は次の 4 章からなっている。第 1 章 苦味発現の生理、化学構造と苦味発現、第 2 章 苦味の起源、加熱生成苦味、アルコール飲料の苦味、発酵リンゴサイダーの苦味、ワインの苦味、茶とコーヒーの苦味、乳製品の苦味、野菜の苦味、第 3 章 ビール（ホップ）の苦味、脱脂大豆の苦味、第 4 章 苦味成分の除去、カンキツリモノイド苦味の生成と除去、苦味除去サイクロデキストリンポリマー、カンキツ果汁の苦味の吸着除去技術など。

苦味は食品の味覚に対して決定的な役割を持つことも多く、食味を向上したりあるいは著しく低下する。これらの問題についても体系的に整理されており、参考になる点が多い。
(K)

17.0 cm × 24.5 cm, 356 頁, 133 ドル, 1990 年刊

Elsevier Science Publishers

Sara Burgerhartstraat 25

P.O. Box 211, 1000 AE Amsterdam,

The Netherlands