

豆類を使った新たな 麹菌発酵食品の開発

上原 誉志夫

はじめに

日本の伝統的食味噌は、大豆を原料とし麹菌発酵にて製造される。味噌は、古くは大宝律令（701年）にさかのぼり、927年の延喜式には生活に溶け込んだ様子が記載されている。現在では、味噌汁や食材として、また調味料として国内のみならず海外でもその優秀性が認められてきた。発酵食味噌には豊富な栄養素が含まれ、健康維持・疾病予防への効果も期待されるだけでなく食塩摂取による血圧の上昇を抑制する成分が含まれることも明らかにされてきた^{1,2)}。このように、豆発酵食品には食品としての優秀性のみならず、健康機能性が期待され、長年に渡り食品開発や機能性の追求がなされてきたが、これまで大豆以外の豆類について麹菌発酵食品の可能性や有用性を系統的に検討した報告はみられていない。

最近、我々は複数の豆類を麹菌発酵させ発酵食品を作成したところ、風味及び味覚共に大豆味噌に勝るとも劣らない食品が作

成されることを確認した。汁ものとして官能検査したところ、特にひよこ豆が大豆味噌よりも優れていることを見出した（未発表）。予備試験の結果から、大豆以外の豆類を用いた麹菌発酵食品も優れた食品として利用可能であると考えられ、さらに本試験に進むこととした。

予備試験結果を踏まえて、平成28年度豆類振興事業からの助成金により「各種豆類からの米麹菌発酵食品の新規開発に関する研究」を実施し、大豆味噌を凌駕するような豆類麹菌発酵食品を開発することを目指した。新規豆類での麹菌発酵食品の可能性が明らかになれば、製造方法の工夫などで風味や味覚がより優れた、また健康機能性も有する食品の開発に繋がり、日本の食文化の幅を広げることにもなる。

本邦で入手可能な豆類のすべてについて麹菌発酵食品を作成し、大豆味噌と比較して官能検査を実施して有用性の高い豆発酵食品を作成する。選択された豆類については麹菌発酵法を工夫することで、風味、各種味覚をさらに改善して商品化が可能となる新規麹菌発酵食品を開発することを試みた。

1. 豆類麹菌発酵食品の試作

豆類各属から入手可能な8種類（大豆、小豆、ひよこ豆、ささげ、白いんげん、そら豆、赤えんどうおよび緑豆）を選択し、それぞれの豆150g、米麹150g、塩67gを混ぜ、室温（25℃）にて3か月間発酵熟成を行い、米麹菌発酵食品を作成した。作成方法は、味噌の作成に準じ、各種豆を24時間以上浸漬し、その後豆が軟らかくなるまで煮たあと押し潰し、それを冷蔵庫内で1日冷やした塩と麹によく混ぜた。その後煮汁を追加し、よく混ぜ合わせたあと密閉容器に移し室温にて熟成させた。熟成中は2週間ごとによく混和し、熟成が均一に進行するようにした。熟成過程1か月半と3か

月での発酵の状況を図1に示した。熟成過程でそれぞれの豆で外見的には色調が大きく変化した。3か月後には大豆麹菌発酵食品とひよこ豆発酵食品はほぼ同一の色調を示した。また、熟成過程での色、味や香りなどの特徴について表1にまとめた。大豆、小豆及びひよこ豆では色、香りとも比較的好ましい熟成状況を示した。3か月熟成の豆麹菌発酵食品について、以後の各種検査を実施した。熟成後の発酵食品は検査まで-20℃に保存し、すべての酵素反応を停止した。

2. 官能検査

食品としての優秀性を客観的に評価する



図1 麹菌発酵過程

表1 成熟過程での豆麹菌発酵食品の特徴

豆	1か月目	3か月目
大豆	少ししょっぱい	汁っ気がでてきた
	やや汁気あり	表面に白いカビ
小豆	しょっぱい香り	コクが出てきたがしょっぱい
	あんこの色	
	汁気あり	
ひよこ豆	たんぱくな味	食べやすい
	黄色	クセがない
	汁気あり	
ささげ	皮が残っている	畳のにおい
	赤茶色	味噌というより豆の味が強い
	汁気あり	
白いんげん	やや黄色	納豆のような刺激臭
	汁気あり	しょっぱさが増した
そら豆	皮の残り、固まりが多い	小豆の味
	濃い茶色	しょっぱさは薄い
	汁気あり	
赤えんどう	しょっぱい香り	水っぽい
	皮が残っている	しょっぱい
	汁気あり	
緑豆	緑色	ござのようなおい
	汁気あり	しょっぱい

ために、各種豆麹菌発酵食品で汁ものを調理し、本学女子健常学生28名（年齢21～22歳）を対象に官能検査を実施した。汁ものは各種豆麹菌発酵食品に98℃の熱湯を注ぎ、8%（w/v）の汁を作成した。汁には具を入れず、発酵食品のみとした。被検者には豆の種類について知らせず、また検査の豆の順番を無作為に割り付けた（randomized single-blind test）。官能検査では、各豆発酵食品を色、香り、味、舌触り、塩気の5項目に2～5点法で採点した。被検者による評価の平均値を表2に示した。総合評価では、大豆麹菌発酵食品（味

噌）が3.31点で1位、ひよこ豆は3.03点で2位、白いんげんが2.99点で3位となった。ひよこ豆は、色および塩気で大豆より高得点であり新たな食材としての可能性が示された。

3. 発酵条件の検討

新規豆麹菌発酵食品としてはひよこ豆麹菌発酵食品の有用性が高い。食品としての開発を考えると、優秀性がより明確化されるために製造方法を工夫する必要がある。味噌での製造法を参考にすると、材料の入手先、麹菌の種類、熟成条件（温度、期間）

表2 官能検査の結果

	色 (2点)	香り (5点)	味 (5点)	舌触り (5点)	塩気強 (5点)	塩気弱 (5点)	総合評価 (5点)
1位	白いんげん (2点)	大豆 (3.6点)	大豆 (3.79点)	大豆 (3.5点)	白いんげん・ 緑豆 (3.96点)	小豆 (3.41点)	大豆 (3.31点)
2位	ひよこ豆 (1.96)	ひよこ豆 (3.21)	緑豆・ 赤えんどう (3.39)	ひよこ豆 (3.46)	そら豆・ ささげ (3.93)	ひよこ豆 (3.5)	ひよこ豆 (3.03)
3位	大豆 (1.93)	白いんげん・ 赤えんどう (2.96)	そら豆 (3.29)	小豆 (3.07)	赤えんどう・ 大豆 (3.75)	(—)	白いんげん (2.99)

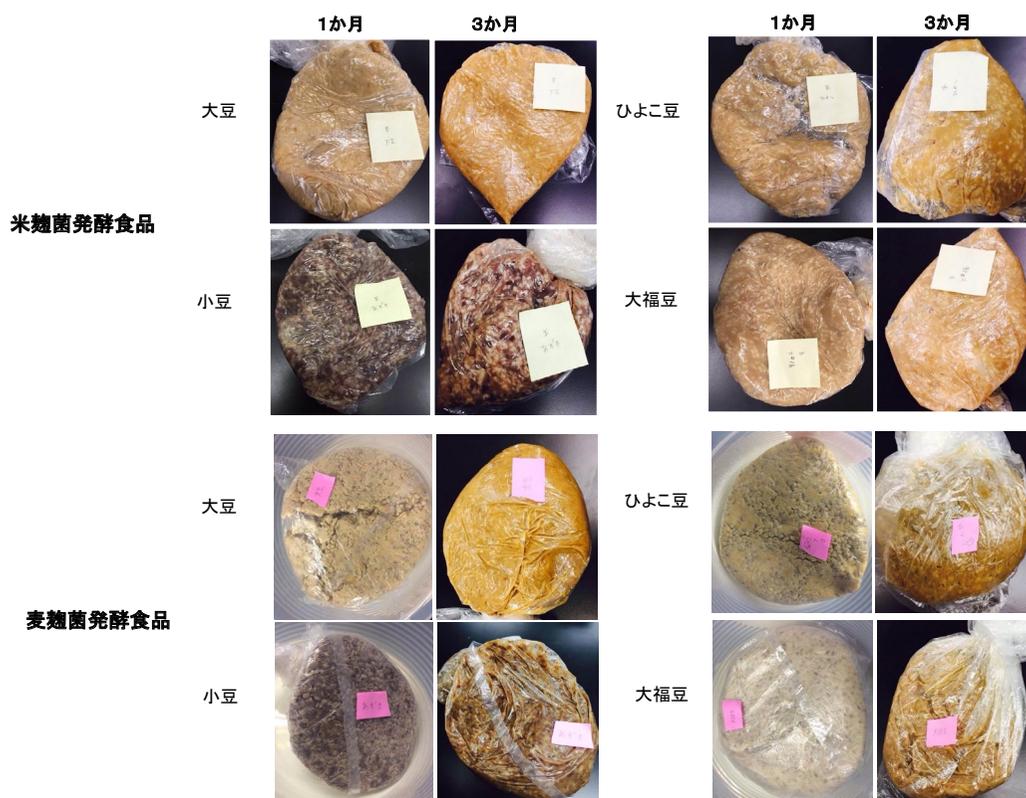


図2 麹と発酵

など多くの要因に依存することが考えられる。今回は、味噌でも大きな統制の違いの原因となる麹に着目し、米麹と麦麹がひよこ豆発酵食品の風味に与える影響を検討した。

ひよこ豆とともに比較のため大豆、小豆

および大福豆についても米麹または麦麹を使用し発酵食品を作成した。豆麹菌発酵食品の作成は豆類麹菌発酵食品の試作で述べた方法に準じた。米麹と麦麹の発酵過程を図2に示した。米麹ひよこ豆発酵食品では、1か月目で麦麹と比べてパサパサ感が少な

表3 熟成過程の特徴

米麴	1か月目	2か月目	3か月目
大豆	しょっぱい コクがある 粘り気がある	粘り気がある	納豆のような刺激臭 しょっぱさが増した
小豆	甘味がある まろやか スイーツっぽい	水っぽい 最後に小豆本来の味がする	小豆の味 しょっぱさは薄い
ひよこ豆	しょっぱい コクや旨味は感じられない	匂いが強い 少しパサパサしている	水っぽい しょっぱい
大福豆	しょっぱいだけ たんぱくな味	しょっぱい 豆の風味がない	ごごのようなおい しょっぱいがある
麦麴	1か月目	2か月目	3か月目
大豆	表面に白いカビ 味はちょうどいいコクがある	汁っ気がでてきた 表面に白いカビ	匂いは薄め まろやか
小豆	しょっぱい	コクが出てきたがしょっぱい	小豆本来の味も残っている が比較的好い
ひよこ豆	たんぱくな味	食べやすい クセがない	汁気が出てきた 匂いが強い
大福豆	堅め 畳の匂い たんぱくな味	畳の匂い 味噌というより豆の味が強い	畳の匂い コクやうまみはあまり感じ られない

表4 官能検査の結果

	麦小豆	米小豆	麦ひよこ	米ひよこ	麦大福豆	米大福豆	麦大豆	米大豆
色	65	37	162	191	132	107	170	118
香	66	61	166	114	128	109	142	105
総合評価	89	65	155	120	154	118	136	123

ケンドール一致性の係数による有意差：86<x<154

色：好ましい色…米ひよこ、麦ひよこ 好ましくない色…米小豆、麦小豆

香：好ましい香…麦ひよこ 好ましくない香…米小豆、麦小豆

総合評価：好ましい発酵食品…麦麴ひよこ、麦麴大福豆 好ましくない発酵食品…米麴あずき

く、3か月目になると触感は柔らかく、水に溶けやすそうななめらかさになった。米麴では大豆とひよこ豆で同様な外観であったが、麦麴では両者で大きな変化がみられた。熟成過程の特徴を表3にまとめた。また、官能検査の結果を表4にまとめた。官能検査は、本学女子健常学生27名（年齢21～22歳）により実施し、色と香りにつ

いて評価した。総合評価では、好ましい発酵食品は、(1) 麦麴ひよこ、(2) 麦麴大福豆であり、好ましくない発酵食品は米麴あずきであった（表4）。これらより、麦麴ひよこ豆発酵食品が開発の候補として確定した。製造条件では25℃で3か月の成熟食品を標準として、麴量や発酵温度については今後の研究課題である。

4. HPLC成分分析

官能検査の結果を踏まえ、食品としての優秀性の原因となる物質を探索した。方法は、8種類の豆米麹菌発酵食品の官能検査結果とC18逆相HPLCでの成分分析結果との関連性を評価した。分析法は、各種豆発酵食品の10%水抽出物を作成し、その後20x103gにて30分間遠心して上清を得た。この上清10 μ LをC18逆相HPLC (PU4180 equipped with CrestPak C18S, JASCO, Kyoto) にapplyし、流速1mL/minで40分間追跡した^{3,4)}。20分間でメタノール0~70%のgradientとし、分離ピークはOD254 (UV4075, JASCO) で観察した。

図3には大豆とひよこ豆米麹菌発酵食品のHPLC分離パターンを示した。両発酵食品では、Rtが一致するピークもみられた

が、独自の分離ピークもみられ、これらが大豆とひよこ豆の官能試験の差に反映されていると考えられた。8種類の豆麹菌発酵食品のHPLC分析での分離ピーク高と官能試験結果との相関関係を調べた。香りについてはretention時間 (Rt) が8分 ($r=0.78, p<0.05$) と11.7分 ($r=0.71, p<0.05$) のピークが、また味についてはRt3.06分 ($0.73, p<0.05$) のピークが正の相関関係を示した (表5)。これらのRtに一致するピークについて、ひよこ豆発酵食品HPLCのチャート上での分離ピークを示した (図4)。香成分及び味成分と関連するHPLC上の成分が同定されたことから、ひよこ豆麹菌発酵食品の製造法の工夫の指標として、C18逆相HPLCでの成分分析を官能試験に代わり実施する道筋がつけられた。より簡便にひよこ豆麹菌発酵

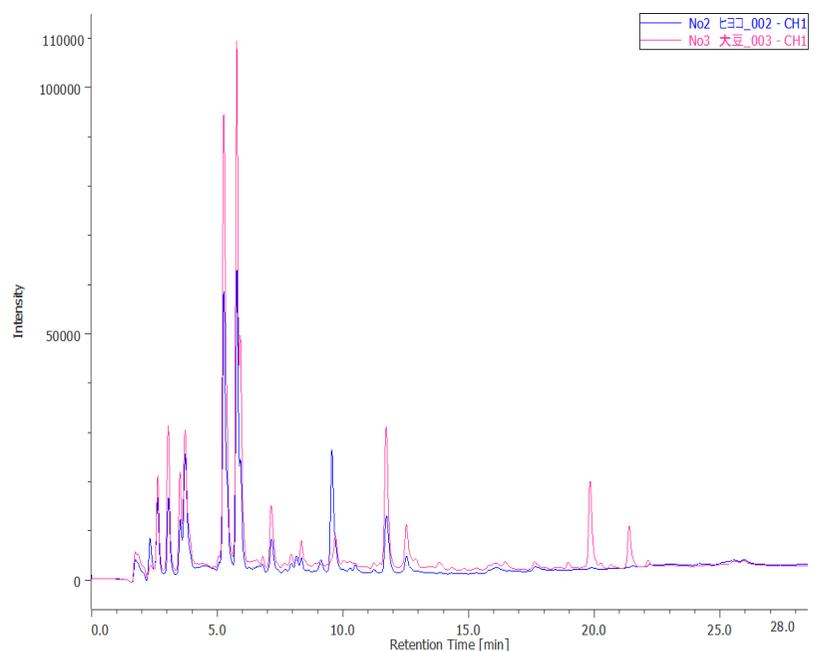


図3 大豆麹菌発酵食品 (味噌) とひよこ豆米麹菌発酵食品のC18HPLC分離パターン

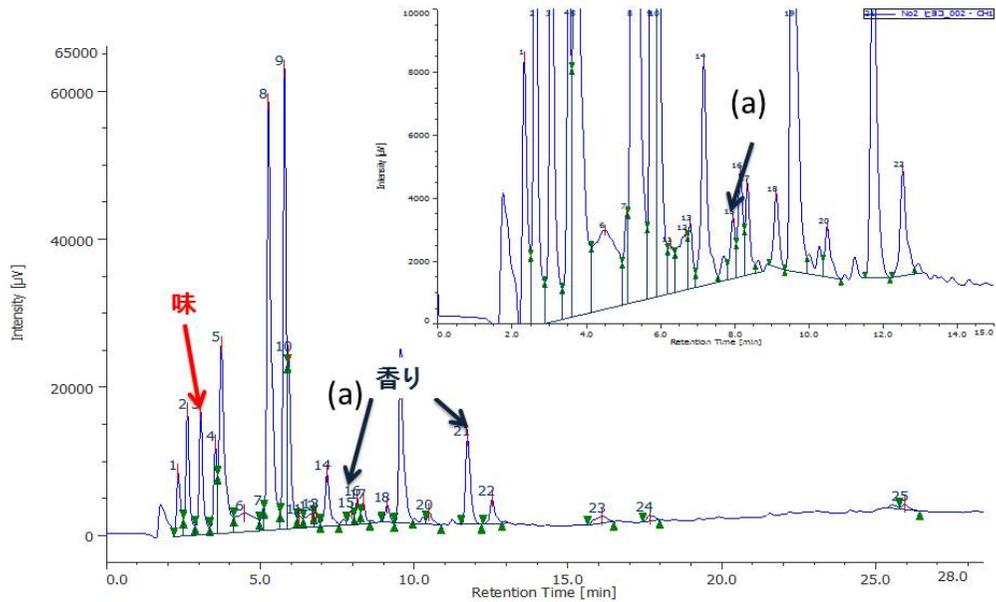


図4 ひよこ豆麹菌発酵食品のC18HPLC分析

表5 官能検査結果とHPLC分析ピーク高との関連性

Rt	色	香り	味	舌	塩
2.34					0.71
2.67		0.74			
3.06			0.73		
6.47		0.78			
8	0.78	0.78			
11.23		0.78			
11.77		0.71			
12.89		0.78			
13.82		0.78			
16.11		0.88		0.85	
16.45		0.78			
17.65		0.89		0.82	
18.96		0.78			
19.83		0.78			
21.38		0.78			
22.13		0.78			
25.83					0.85

数字はr値、赤印は $p < 0.05$ w を示す。

食品の評価を行うことが可能になることが期待される。

5. ひよこ豆麴菌発酵食品の健康機能性

大豆発酵食品（味噌）では、平均12%ほどの食塩が含有されており、味噌汁1杯分で1.5 g程度の食塩摂取量となる。このため長年にわたり、血圧への影響が懸念されてきたが、最近、味噌には食塩感受性を抑制する因子が含まれ、長期味噌汁摂取が血圧に影響を与えないことが疫学的またヒト介入試験で実証された⁵⁻⁹⁾。さらに味噌には、イソフラボンやレシチン、各種ビタミン、ミネラルをはじめ大豆由来機能性物質などが含まれ、幅広い健康機能性を発揮することが予想されている^{1,2)}。我々も12週間の味噌32 g/日の摂取が、味噌摂取間に比して、LDLコレステロールや中性脂肪を有意に低下させることを報告してきた⁸⁾。

このように、優れた食品の開発にあたっては、その食品が嗜好性の面で優れた特性を有することは言うまでもないが、長期摂取が健康面で安全であり、かつ健康機能性を有することが求められる。この意味でひよこ豆麴菌発酵食品が、健康面におよぼす効果を詳細に検討していく必要がある。大豆麴菌発酵食品では、複数の血圧抑制物質が含まれると考えられ、このうち味噌50mgからの水抽出物は循環血液経路で血圧を10%程低下させる降圧特性を有する。極めて強力な降圧物質と考えられ、直接的な血管拡張が関与していると考えられる。ひよこ豆麴菌発酵食品の健康機能性につい

ては味噌との比較で検討することが適切であろう。

したがって、これまでの経験に基づき、ひよこ豆麴菌発酵食品の水抽出物をDahl食塩感受性ラットの腹腔内に投与し、2時間後と4時間後の血圧に及ぼす影響について検討した^{3,4)}。血液検査所見に与える影響を予備調査した。ひよこ豆麴菌発酵食品の水抽出物（10%、w/v）を作成した。オートクレーブ後にミリポアフィルター（20 μ L）に通し、その0.5mLをラット腹腔内に投与した。腹腔内投与は、血管内投与について急速に循環血中に投与物を移行させる方法として、医学研究では確立された方法である。本方法により発酵食品50mgからの抽出物を0.5mL腹腔内投与し、循環血中に移行させたことになる。この方法は、これまで味噌の研究で用いてきた方法と同一である。

その結果、図5に示すように、50mg麴菌発酵食品の水抽出物の腹腔内投与は、4時間後にDahl食塩感受性ラットの血圧を味噌では平均14mmHg低下させたが、ひよこ豆は15mmHgと同等の降圧活性がみられた。このことは、ひよこ豆麴菌発酵食品中にも微量で高血圧を抑制する物質が含まれている可能性を示している。この物質が味噌のものと同じか否かは不明であるが、同一のものであればこの血圧抑制物質は米麴由来である可能性も考えられる。この実験系での血圧抑制物質はC18逆相HPLC分析でRt17.5分に分離されることも分かっている³⁾。

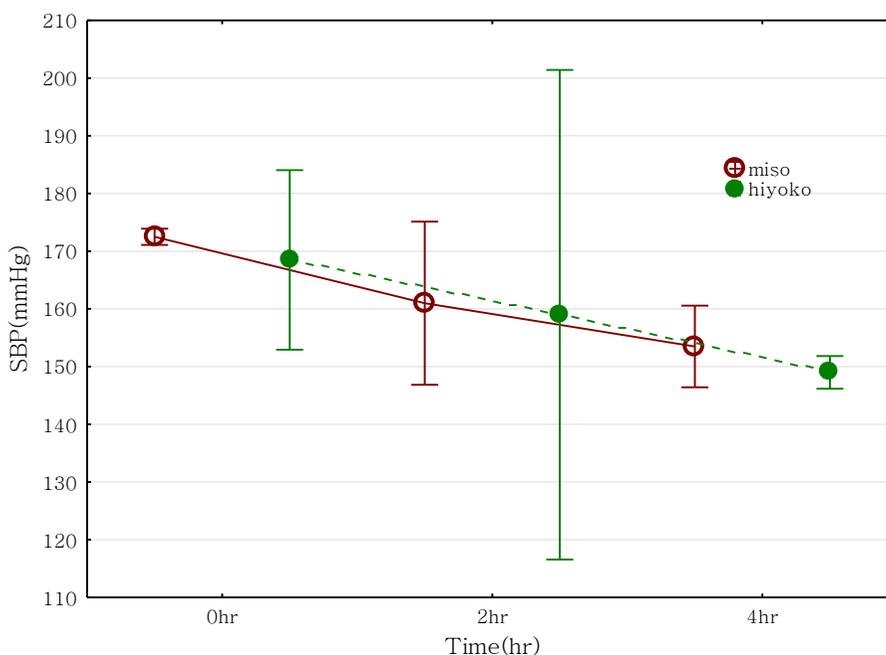


図5 ひよこ豆米麹菌発酵食品の血圧への影響

表6 各種豆の栄養成分

豆の種類	エネルギー (kcal)	水分 (g/100g)	たんぱく質 (g/100g)	脂質 (g/100g)	炭水化物 (g/100g)
大豆	417	12.5	35.3	19	28.2
小豆	339	15.5	20.3	2.2	58.7
ひよこ豆	374	10.4	20	5.2	61.5
ささげ	336	15.5	23.9	2	55
いんげん豆	333	16.5	19.9	2.2	57.8
そら豆	348	13.3	26	2	55.9
えんどう	352	13.4	21.7	2.3	60.4
緑豆	354	10.8	25.1	1.5	59.1

ひよこ豆麹菌発酵食品の健康機能性については、平成29年度豆類振興事業からの研究助成で経口投与での血圧および糖代謝への影響を検討している。特に糖代謝については、フルクトース負荷2型糖尿病モデルを作成し、10%ひよこ豆麦麹菌発酵食品水を作成し4週間自由飲水させたときの糖尿病発症への抑制効果を検証している¹⁰⁾。

現在試験途中にあり、明確な結論は得られていない。ひよこ豆麹菌発酵食品が食品として利用されるようになるには、さらに安全性と健康機能性を実証していく必要がある。

大豆とひよこ豆の栄養成分を表6に示した。表からも明らかなように、大豆とひよこ豆の栄養成分構成には大きな違いがあ

る。ひよこ豆は大豆に比してたんぱく質と脂質の含量が低く、炭水化物が多く含まれる特徴がある。これは、そのほかの豆類と似た栄養成分の構成といえる。しかし、ひよこ豆とその他の豆類麹菌発酵食品との間には官能性試験で大きな違いがみられている。このことから大豆とひよこ豆の間の健康機能性には構成栄養成分で示されるより、より大きな違いがみられる可能性がある。健康機能性については、より長い時間軸での検証が必要となろう。

まとめ

日本では大豆麹菌発酵食品が味噌として広く食されてきたが、各種豆麹菌発酵食品も、詳細に検討することで特有の風味を持った新たな食材になる可能性がある。現在までのところ、健康機能性については研究が緒についたところであるが、これまでの検討では味噌と同等またはそれ以上の機能性を含んだ食品となる可能性を秘めた食品といえる。ひよこ豆麹菌発酵食品については、食品としての製品化に繋げることで日本食文化の幅を拡げ、人々の食生活を豊かにすることが期待できる。また、ひよこ豆研究をモデルに、その他の豆類についても、それぞれに適した利用方法を考えることで食材としての豆の有用性を広げ、各種豆類の需要を広げ豆類産業の発展に役立つものと考えている。

文献

- 1) 上原誉志夫：第3章大豆加工食品の機能性 4. 味噌. 家森幸男監修 大豆の栄養と機能性. シーエムシー出版/東京. pp107~115. 2014.
- 2) Du D、海老澤香里、宮本悠紀、吉永真理子：習慣的味噌汁摂取の抗高血圧作用の機序. 日本醸造協会誌 2014;109(3):128-136.
- 3) 下釜春奈、菊池成美、五十嵐優、山川称子、上原誉志夫：味噌に含まれる降圧機能性物質の単離に関する研究. 第64回日本栄養改善学会学術総会 平成29年9月14日. 岡山.
- 4) Shimizu N, Du D, Sakuyama H, Ito Y, Sonoda M, Kawakubo K, Uehara Y: Continuous Subcutaneous Administration of Miso Extracts Attenuates Salt-Induced Hypertension in Dahl Salt-Sensitive Rats. *Food and Nutrition Sciences* 2015;6(8):693-702. doi: 10.4236/fns.2015.68072.
- 5) Yoshinaga M et al: Traditional Miso Soup Attenuates Salt-induced Hypertension and its Organ Damage in Dahl Salt-sensitive Rats. *Nutrition* 2012;28(9):924-931. doi:10.1016/j.nut.2011.09.010.
- 6) Du D等：習慣的味噌汁摂取の抗高血圧作用の機序. 日本醸造協会誌 2014;109(3):128-136.
- 7) Du D et al: Blood Pressure Reduction by Japanese Traditional Miso is Associated

with Increased Diuresis and Natriuresis through Dopamine System in Dahl Salt-sensitive Rats. *Clinical Experimental Hypertension Clin Exp Hypertens.* 2014;36 (5) :359-366.

8) 北川学、伊藤公美恵、山田南実、小池祥吾、山本哲郎、上原誉志夫：長期味噌摂取が血圧および代謝に与える影響—二重盲検ヒト比較介入試験—薬理と臨床 2016;44 (11) :1601-1612.

9) 作山裕恵、立崎成葉、南茂彩、山田薫、上原誉志夫：習慣的味噌汁摂取が血圧に及

ぼす影響～5年間の観察研究～The influence of intake of daily Miso soup on blood pressure in humans-The results of 5-year observational study- *日本機能性食品医学会誌* 2017;10 (6) :361-381.

10) Yamakawa S, Oikawa A, Ohta M, Kanemaki A, Mitsuhashi N, Uehara Y: Wasabi attenuates glomerular hyperfiltration and proteinuria in insulin-resistant diabetes of fructose-fed Wistar rats. *共立女子大学紀要* 2017 in press.