

小豆を用いた新規な無塩醤油様調味料の開発

永井 毅

はじめに

2013年ユネスコ無形文化遺産に登録された和食は、世界中から注目されている。和食は5つの基本調味料「砂糖、塩、酢、醤油、味噌（さしすせそ）」を使用する機会が多い。なかでも欠くことができない「醤油」は、わが国を代表する伝統的な発酵調味料である。古代中国の醬（ジャン）がルーツといわれ、わが国には醬（ひしお）として伝わったとされる。平安時代の恒例・臨時の儀式や行事における調度について記した「類聚雑要抄」には、奈良時代から平安時代の宮中宴会において、膳の上に4種類の調味料（四種器：酒、塩、酢、醬）が乗せられていたという記録がある¹⁾。

一般的に醤油は、大豆、小麦、食塩を主な原材料とし、麹菌、乳酸菌、酵母などの微生物により発酵・熟成させて製造する。日本農林規格（JAS規格）によると、「種類、等級、製法」により大きく分類されている²⁾。原材料の配合割合等の違いにより、「こいくち、うすくち、たまり、さいしこみ、しろ」の5種類に、また種類ごとに5つの規

格が定められており、「特級、上級、普通」の等級ごとに、「製造方法、性状（色や香りなど）、色度（醤油特有の色）、全窒素分（うま味成分の指標となるアミノ酸量）、無塩可溶性固形分（エキス分の指標）」等が規定されている。さらに、しろ醤油ではこれらに加えて「直接還元糖」の規定がある。製造方法では、「本醸造、混合醸造、混合」の3つの方式がある。2017年度において、醤油の約87%は本醸造方式により製造されている¹⁾。醤油の出荷数量の8割以上（84.0%）はこいくち醤油であり、つけ、かけ用としてのみならず、焼き物、煮物、タレ、出汁などにも用いられ、汎用性が高い。うすくち醤油はこいくち醤油に次いで出荷数量が多いが、全体の約12%程度（12.2%）である。醤油の中では最も塩分量が高い。一方、たまり、さいしこみ、しろ醤油のそれらは全体の0.7~2.1%と低い¹⁾。出荷数量の推移をみると、682,560キロリットル（1930年）から939,420キロリットル（1938年）まで増加したが、終戦後の1947年には336,240キロリットルに減少した。一方、1956年には100万キロリットルを超え、1959年から2001年までは常に100万キ

ながい たけし 山形大学農学部 教授

ロリットルを達成したが、それ以降は年々減少し、2017年では768,766キロリットルとなっている¹⁾。

醤油の醸造研究は、原材料に含有する糖質、たんぱく質、脂質に対する、麴の産生する酵素作用による分解・代謝に関するもののほか、醤油の品質、特に色・味・香りの観点から重点的に行われている。近年容器包装の工夫により、これらの品質を保持した鮮度保持製品が流通するようになった。一方、臨床研究では、醤油に含有する多糖類の抗アレルギー作用³⁾や鉄吸収促進効果⁴⁾などの機能が明らかとなっている。

日本人の食事摂取基準（2015年版）の改良点として、生活習慣病の発症と重症化の予防を重視した⁵⁾。特に高血圧予防の観点から、食塩摂取量の目標値を更に低くしている。一般的に醤油はおよそ12～19%と塩分濃度が高く、特に日本人は世界的にみても食塩摂取量が多い。塩分の過剰摂取は高血圧の主因であり、高血圧は直接脳卒中や心臓病、腎臓病の原因となる。近年胃がんや骨粗鬆症の原因となることも明らかとなっている⁵⁾。これらの生活習慣病の予防のために、現在1日の食塩相当量の目標値を男性8g未満、女性7g未満に設定し「減塩」を推奨しているが、欧米と比較し遅れた現状にあり、食塩摂取量の男女平均値は10gと高い。2013年、WHO（世界保健機関）は新たなガイドラインで男女とも5g未満を推奨しており⁵⁾、強く減塩の必要性を訴えている。なお、日本高血圧学会では、男

女ともに6g未満を推奨している⁶⁾。このように、世界においてもわが国でも、食生活における「減塩」は最優先課題となっている。

ライフスタイルの変化とともに、わが国は安全・安心な国産原料に対するニーズは益々高まっている。一方、食料自給率が低いことため国産原料は制限されるが、これらを活用した高品質かつ優れた機能性を有する加工食品開発への期待は大きい。醤油の製造において最適濃度（高濃度）の食塩水の添加は、もろみの腐敗（酸敗）防止、耐塩性乳酸菌や酵母の増殖、麴菌由来の酵素作用による発酵の促進に必須条件である。しかし、伝統的な醤油製造を行う業界では、塩分摂取量を減少させる根本的な解決に至る研究・開発はみられない。和食に欠かすことができない醤油の主要な原材料の約9割は輸入に依存する丸大豆であるが、代替原料として国産普通小豆を用いて、食塩無添加かつ酸敗を起こさない新たな醤油の製法確立に向けて、平成29年度豆類振興事業調査研究助成金により「小豆を用いた新規な無塩醤油様調味料の開発」研究を実施した。本稿では、これらの研究成果を紹介したい。

1. 麴を調製する

原材料として、普通小豆（北海道産）、玄麦（岩手県産ゆきちから）および醤油用種こうじ菌（秋田今野商店醤油1号菌）を用いた。蒸煮した小豆と炒ごう・割砕した小麦に種麴を播種し製麴したところ、破精



図1 麴 (左：小豆；右：小豆+小麦)

回り良好な麴の製造が可能であった (図1)。

2. 麴の有する各種酵素活性を測定する

醤油の製造において、麴の出来は製品の品質を左右する (「一麴、二糶、三火入れ」といわれる)。調製した麴の糖化力ならびにたんぱく質分解力を調査すべく、第4回改定国税庁所定分析法注解⁷⁾に基づき、各種酵素活性 (α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ活性) を測定した。その結果、小豆麴では特に α -アミラーゼ活性が、小豆+小麦麴では α -グルコシダーゼ活性と酸性カルボキシペプチダーゼ活性が高い傾向を示した (表1)。

3. 無塩醤油様調味料の開発

日本農林規格 (本醸造方式) による「濃口醤油」と「たまり醤油」の製法を基に、2種類の無塩醤油様調味料を小仕込みした。「濃口醤油様調味料」には普通小豆と小麦を、「たまり醤油様調味料」では普通小豆のみを用いた。もろみは食塩水の代わりに、5、10および20%エタノールで仕込み、毎日混合 (糶入れ) した。発酵・熟成

表1 麴の各種酵素活性の比較 (U/g麴) (n=3)

| 酵素の種類 | 小豆麴 | 小豆+小麦麴 |
|-------------------|---------|---------|
| α -アミラーゼ | 4,327.2 | 2,971.9 |
| グルコアミラーゼ | 96.0 | 76.7 |
| α -グルコシダーゼ | 0.0068 | 0.012 |
| 酸性カルボキシペプチダーゼ | 453.4 | 1,232.1 |

条件は室温 (20℃) 下6ヶ月間とした。以下、普通小豆麴を用いて5%エタノールで仕込んだものを「小豆-5%」、普通小豆と小麦麴を5%エタノールで仕込んだものを「小豆+小麦-5%」と記した。その他のものも同様に示した。

もろみのpHは、仕込み時いずれも6.25であったが、64日後ではそれぞれ6.05、6.01に、102日後では5.96、5.92へ低下した。さらに6ヶ月後では、それぞれ5.23-5.57、5.09-5.92 (エタノール濃度により差が生じた) となり、発酵の進行を示唆した。6ヶ月後のもろみは濾布でろ過し、生醤油様調味料を得た。湯煎で80℃-10分間火入れ後、静置・おり引きし、無塩醤油様調味料とした (図2)。



左から (A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F)
図2 無塩醤油様調味料 (A-C：小豆；D-F：小豆+小麦)
(A、D) エタノール5%、(B、E) 同10%、(C、F) 同20%

4. 色彩検査

調製した無塩醤油様調味料は、国際照明委員会(Commission Internationale de l'Éclairage、略称：CIE) の $L^*a^*b^*$ 表色系 [L^* ：明度； a^* ：赤 (+) / 緑 (-)； b^* ：黄 (+) / 青 (-)] により色彩評価した。市販醤油(AおよびB：濃口醤油；C：たまり醤油)と比較し、いずれも L^* 値および b^* 値が高く、明るく黄色みの強いことが示唆された(表2)。また、市販醤油を対照として、次式に従い色差(ΔE^*ab)を求めた。

$$\Delta E^*ab = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

その結果、小豆-5%ならびに小豆+小麦-5%ではいずれの市販醤油と比較しても色差が最も大きく、小豆-20% (小豆+小麦-20%)、小豆-10% (小豆+小麦-10%)の順に小さくなった(表2)。

5. 成分分析

しょうゆ試験法⁸⁾に従い無塩醤油様調味料の成分分析を行った。測定項目は、全窒素(うま味の指標)、ホルモール窒素(うま味成分の指標)、無塩可溶性固形分(エキス分)、糖用屈折示度(可溶性固形分)、食塩、アルコール、色度、全糖、直接還元糖、グルタミン酸、酸度(I)(押味)、酸度(II)(ゴク味)、比重、密度、pH、官能

検査とした。その結果、市販醤油と比較し、全窒素およびホルモール窒素含量が低かった(表3)。無塩可溶性固形分は、小豆のみではいずれも低い、小豆+小麦では市販醤油と同等または高い傾向がみられた。小豆を用いた場合の糖用屈折示度(Brix%)はいずれも低く、特に小豆のみでは市販醤油の半分程度であった。食塩含量は0.1%未満であり、ほとんど検出されなかった。アルコール含量は、発酵により生成したアルコールの影響は小さく、ほとんどが仕込み時のエタノール濃度に比例して高く検出されたものと思われる。全糖量および直接還元糖量ともに市販醤油より高いものの、グルタミン酸量は低かった。pHはいずれも5以上と高く、更なる発酵の必要性を示唆した。5段階評価による官能評価では、小豆のみでは、特に10%仕込みの場合、甘く芳醇な芳香と醤油様のコクのある良食味を呈した。一方、小豆+小麦では、エタノール含量が高くなるに従い苦味が強くなり、醤油の味にはほど遠いものとなった。なお、いずれも甘酸っぱい味を呈し、呈味の改善が求められる。発酵・熟成期間の延長により、品質改良が期待できることを示唆した。

表2 無塩醤油様調味料の色彩

(n=10)

| | 小豆 -5% | 小豆 -10% | 小豆 -20% | 小豆+ 小麦-5% | 小豆+ 小麦-10% | 小豆+ 小麦-20% | A | B | C |
|----------------|-----------|------------|------------|--------------|---------------|---------------|--------|--------|--------|
| L^* | 1.572 | 1.244 | 1.406 | 1.700 | 1.136 | 1.006 | 0.900 | 0.954 | 0.846 |
| a^* | 1.144 | 0.870 | 1.042 | 1.244 | 1.008 | 1.316 | 1.030 | 0.804 | 1.102 |
| b^* | 0.696 | 0.552 | 0.686 | 0.792 | -0.186 | -0.050 | -1.256 | -1.132 | -0.796 |
| ΔE^*ab | 1.555 | 1.397 | 1.483 | 1.653 | 1.061 | 1.140 | - | 0.263 | 0.469 |
| | 1.525 | 1.331 | 1.442 | 1.635 | 1.010 | 1.161 | 0.263 | - | 0.462 |
| | 1.422 | 1.249 | 1.341 | 1.529 | 0.838 | 0.904 | 0.469 | 0.462 | - |

表3 無塩醤油様調味料の成分値

(n=3)

| | 小豆 -5% | 小豆 -10% | 小豆 -20% | 小豆+ 小麦-5% | 小豆+ 小麦-10% | 小豆+ 小麦-20% | A | B | C |
|------------------------|-----------|------------|------------|--------------|---------------|---------------|---------|---------|---------|
| 全窒素(%) | 0.85 | 0.81 | 0.92 | 1.15 | 1.10 | 0.99 | 1.65 | 1.59 | 1.63 |
| ホルモール窒素(%) | 0.45 | 0.37 | 0.44 | 0.51 | 0.48 | 0.41 | 0.87 | 0.78 | 0.92 |
| ホルモール窒素(%) / 全窒素(%) | 0.53 | 0.46 | 0.48 | 0.44 | 0.44 | 0.41 | 0.53 | 0.49 | 0.56 |
| 無塩可溶性固形分(%) | 15.9 | 18.6 | 18.0 | 23.7 | 25.7 | 27.7 | 19.5 | 17.6 | 24.0 |
| 糖用屈折示度(%) | 16.0 | 18.7 | 18.1 | 23.8 | 25.8 | 27.8 | 34.8 | 33.1 | 39.4 |
| 食塩(%) | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | 15.3 | 15.5 | 15.4 |
| アルコール(%) | 3.01 | 6.59 | 10.13 | 2.97 | 6.48 | 10.82 | 3.21 | 2.93 | 3.03 |
| 全糖(%) | 6.18 | 8.20 | 6.65 | 13.12 | 13.85 | 17.14 | 4.69 | 2.94 | 7.17 |
| 直接還元糖(%) | 3.85 | 4.36 | 3.32 | 8.37 | 8.13 | 8.42 | 2.09 | 1.00 | 3.86 |
| グルタミン酸(mg/100g) | 1,904.6 | 1,960.2 | 1,915.7 | 2,113.5 | 1,969.3 | 1,783.6 | 3,052.8 | 2,923.8 | 3,026.8 |
| 酸度I(ml) | 7.0 | 3.5 | 4.0 | 7.0 | 5.5 | 5.0 | 11.0 | 10.5 | 13.5 |
| 酸度II(ml) | 4.5 | 5.5 | 4.5 | 6.5 | 7.0 | 7.5 | 11.5 | 9.5 | 12.0 |
| 滴定酸度(ml) | 11.5 | 9.0 | 8.5 | 13.5 | 12.5 | 12.5 | 22.5 | 20.0 | 25.5 |
| 比重(20℃) | 1.035 | 1.025 | 1.040 | 1.072 | 1.068 | 1.052 | 1.142 | 1.145 | 1.179 |
| 密度(g/cm ³) | 1.035 | 1.025 | 1.040 | 1.072 | 1.068 | 1.052 | 1.142 | 1.145 | 1.179 |
| pH | 5.09 | 5.92 | 5.58 | 5.23 | 5.37 | 5.57 | 4.65 | 4.54 | 4.52 |
| 官能評価(5段階評価) | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 4 | 5 | 4 |

6. 機能性成分含量の測定と機能性解析

機能性成分含量を測定した結果、小豆のみでは総ポリフェノール含量ならびに総フラボノイド含量いずれにおいても、10%区で最も高かった。小豆+小麦ではどの試験区でも高く、エタノール濃度の上昇とともに高くなった(表4)。抗酸化性試験では、すべての無塩醤油様調味料でリノール酸の自動酸化を完全に抑制した。DPPH (1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル：食品の抗酸化試験で用いることが多い) ラジカル消去活性は、小豆のみでは62.8-73.6%、小豆+小麦では78.7-88.0%といずれも顕著に高かった。スーパーオキシドアニオンラジカル(活性酸素のひとつ)に対して、小豆-5%および20%区、小豆+小麦-5%区では84.7-98.9%消去し、これら以外の試験区では完全に消去した。ヒドロキシルラジカル(活性酸素のひとつ)消去活性は、小豆のみ(68.7%)ならびに小豆+小麦

-10%区(65.4%)で最も高い活性を示した。ACE(アンギオテンシンI変換酵素：アンギオテンシンIを昇圧物質アンギオテンシンIIへ変換し、血圧調節に関与)阻害活性は、市販醤油と比較し、いずれも顕著に高かった(53.8-71.5%)。さらに、抗アレルギー活性を測定したところ、小豆+小麦区のみで活性は認められ、エタノール濃度上昇とともに顕著に高くなる傾向がみられた(表4)。特に20%区では高い活性を示した(89.1%)。これらの機能性には、エタノールにより可溶化されたフェノール類ならびに麴酵素により生じた原材料由来ペプチドの寄与が示唆される。

7. まとめ

本研究では、「濃口醤油」と「たまり醤油」の製法を基に、国産普通小豆と国産玄麦を用いた無塩醤油様調味料の開発を試みた。もろみの仕込みに食塩を一切使用しな

表4 無塩醤油様調味料の機能性成分含量と機能性解析結果

(n=3)

| | 小豆 -5% | 小豆 -10% | 小豆 -20% | 小豆+ 小麦-5% | 小豆+ 小麦-10% | 小豆+ 小麦-20% | A | B | C |
|-------------------------|-----------|------------|------------|--------------|---------------|---------------|-------|-------|-------|
| 総ポリフェノール(mg/100g) | 192.6 | 222.8 | 182.5 | 279.3 | 323.7 | 365.1 | 337.2 | 357.2 | 459.6 |
| 総フラボノイド(mg/100g) | 10.1 | 14.8 | 12.6 | 16.6 | 38.2 | 39.1 | 13.3 | 12.5 | 84.4 |
| 抗酸化性(%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 98.3 |
| DPPHラジカル消去活性(%) | 65.7 | 62.8 | 73.6 | 88.0 | 82.4 | 78.7 | 85.3 | 86.6 | 88.5 |
| スーパーオキシドアニオンラジカル消去活性(%) | 84.7 | >100 | 86.1 | 98.9 | >100 | >100 | 96.7 | 96.4 | >100 |
| ヒドロキシルラジカル消去活性(%) | 48.5 | 68.7 | 59.6 | 56.0 | 65.4 | 50.1 | 55.8 | 67.4 | 62.9 |
| ACE阻害活性(%) | 55.1 | 53.8 | 62.0 | 67.1 | 70.2 | 71.5 | 35.1 | 28.7 | 29.5 |
| 抗アレルギー活性(%) | 0 | 0 | 0 | 21.8 | 44.4 | 89.1 | 56.0 | 39.3 | 76.7 |

め、酸敗の可能性が想定されたものの、腐敗することなく発酵・熟成は進行した。一方、発酵・熟成期間を6ヶ月と設定したため、測定した各成分値の結果からも十分な発酵期間とはいえず、更なる発酵・熟成が必要であった。試醸した調味料は、うま味改良の余地はあるが、豊富な機能性成分と、高い抗酸化性、活性酸素種捕捉効果、血圧上昇抑制効果ならびに抗アレルギー効果等、種々の優れた生体調節機能を併せもつものであった。特に、市販醤油では血圧上昇抑制効果が低く、併せて塩分濃度が高いが、無塩醤油様調味料では塩分をほとんど含まず、血圧上昇抑制効果が高いことは特筆すべき特性である。和食文化の継承に最も重要な調味料である醤油の、生活習慣病、特に高血圧予防の観点から、食塩を含まない健康機能性を有する新たな無塩醤油様調味料は、食生活の質の向上や食生活環境の改善に有効である。また、年々需要が減少傾向にある国産小豆の新たな用途開発や消費の振興、これらを用いた加工技術開発に資するものと期待される。

文献

- 1) しょうゆ情報センター。
<https://www.soyasauce.or.jp>.
- 2) しょうゆの日本農林規格(農林水産省)。
http://www.maff.go.jp/j/jas/jas_kikaku/pdf/kikaku_syoyu_151203.pdf.
- 3) Kobayashi M., Matsushita H., Tsukiyama R., Saito M. and Sugita T. Shoyu polysaccharides from soy sauce improve quality of life for patients with seasonal allergic rhinitis: A double-blind placebo-controlled clinical study. *Int. J. Mol. Med.*, 15, 463-467, 2005.
- 4) Kobayashi M., Nagatani Y., Magishi N., Tokuriki N., Nakata Y., Tsukiyama R., Imai H., Suzuki M., Saito M. and Tsuji K. Promotive effect of Shoyu polysaccharides from soy sauce on iron absorption in animals and humans. *Int. J. Mol. Med.*, 18, 1159-1163, 2006.
- 5) 食品成分表2015(香川芳子監修). 女子栄養大学出版部(東京), 2015.
- 6) 減塩委員会報告・減塩食レシピ(日本高血圧学会)。
http://www.jpns.jp/salt_dec.html.
- 7) 国税庁所定分析法注解(注解編集委員会編). 日本醸造協会(東京), 1993.
- 8) しょうゆ試験法(日本醤油研究所編). 日本醤油研究所(東京), 1985.