

イソフラボンアグリコン及び抗酸化機能性に着目した赤色系米麹味噌(仙台味噌)の製造工程最適化

誌名	宮城県産業技術総合センター研究報告 = The annual research report of Industrial Technology Institute, Miyagi Prefectural Government
ISSN	13491741
著者名	畑中,咲子 毛利,哲 高橋,清 山田,勝男
発行元	宮城県産業技術総合センター
巻/号	3号
掲載ページ	p. 27-29
発行年月	2007年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



イソフラボンアグリコン及び抗酸化機能性に着目した

赤色系米麹味噌(仙台味噌)の製造工程最適化

畑中咲子・毛利哲・高橋清*・山田勝男*
食品バイオ技術部*宮城県味噌醤油工業協同組合

味噌や醤油に含まれる大豆由来のイソフラボンアグリコンは様々な機能が期待されている。イソフラボンアグリコンを味噌熟成中に積極的に増やす製造法について検討した。

キーワード: 仙台味噌、イソフラボンアグリコン、 β -グルコシダーゼ

1. 緒言

大豆に含まれるイソフラボンは乳ガンや前立腺ガンの抑制、更年期障害の軽減など様々な健康機能が報告されている。特にイソフラボン配糖体が加水分解されて生成するアグリコンは配糖体に比べ吸収率が高く、機能性においても優位性が期待されている。イソフラボンアグリコンは味噌、醤油などの発酵食品に含まれており、イソフラボン配糖体に麹由来の β -グルコシダーゼが作用し生成するといわれている。一方、宮城県内で製造される仙台味噌は赤色系辛口味噌として有名だが、消費者の嗜好や食生活の変化により味噌の生産量は伸び悩んでいる。

そこで、本研究では仙台味噌の高付加価値化を目指し、味噌に含まれるイソフラボン配糖体を積極的にアグリコン化する製造方法について検討した。

2. 実験方法

2.1 市販味噌の現状調査

2.1.1 試料

仙台味噌は宮城県内で製造された赤色系の34サンプル、淡色系米味噌は長野県・山梨県産の3サンプル、京白味噌は京都府産の1サンプル、豆味噌の八丁味噌は愛知県産の1サンプルを供試した。県外産味噌は仙台市内小売店で購入した。

2.1.2 イソフラボン定量方法

味噌0.5gに70%エタノール5mlを加え、室温で振とう抽出し、遠心分離後の上清をフィルター過(0.45 μ)しHPLC用サンプルとした。HPLC分析条件は、カラムYMC-pack ODS-AM-303、カラム温度30 $^{\circ}$ C、流速1.0ml/分、酢酸0.1%を含む12~32%アセトニトリル/水グラジエント溶出とし、検出波長260nm

で分析を行った。イソフラボン標準品として、配糖体のダイジン、グリシチン、ゲニスチン、アグリコンのダイゼイン、グリシテインおよびゲニステインを用いた。6種のイソフラボンを合算したものを総イソフラボン量とし、アグリコン化率は総イソフラボン量に占めるアグリコン3種の割合で示した。

2.2 製造工程中の β -グルコシダーゼの測定

2.2.1 試料

県内メーカーにおいて仕込んだもの(大豆:加圧蒸し、麴歩合:6歩、塩分13%、2トン仕込み)。

2.2.2 β -グルコシダーゼ活性の測定

麴粗酵素液は麴に3倍量の蒸留水を加え、室温で3時間振とう抽出し遠心分離後の上清を用いた。味噌粗酵素液は乳鉢で磨砕した味噌10gに蒸留水40mlを加え3時間振とう抽出し遠心分離後の上清を酢酸緩衝液(pH4.5)で透析した。基質の24mMp-ニトロフェニル- β -D-グルコピラノシド(以下NPG)0.25mlに0.1M酢酸緩衝液(pH4.5)0.5mlを加え40 $^{\circ}$ C保温後、粗酵素液0.25mlを加えた。反応液0.05mlに0.1M Na₂CO₃2.45mlを加え、p-ニトロフェノール(0~4mM)をスタンダードとして400nmの吸光度を測定した。

2.3 味噌の小仕込み試験

麴、蒸し大豆の硬さ、仕込時に通すチョッパーの目の大きさを変えて味噌を仕込んだ。製造条件は以下のとおりだが、各試験毎に異なる要素は表-1に示した。麴は県内4社から提供を受けた。大豆は加圧蒸し(0.75kg/cm²、5~40分、30分が標準)、チョッパーの目の大きさは6mmまたは8mm(6mmが標準)、麴歩合8歩、塩分12.5%、仕込総量20kg、切返しは2回、熟成温度は仕込後80日間で30 $^{\circ}$ C、その後約

20℃とした。大豆の硬さは常法により蒸煮大豆一粒ずつを人差し指の腹で押しつぶし、つぶれる時の力をグラム数で読みとった。

2.4 β-グルコシダーゼ測定条件の検討

NPG を基質とした酵素活性測定は、2.2.2 のとおり。ゲニスチンを基質とした測定は、0.6mM ゲニスチン/80%エタノール溶液 0.25ml に 0.1M 酢酸緩衝液 0.5ml と蒸留水 1ml、粗酵素液 0.25ml を加え、40℃で反応後、反応液 0.05ml にエタノール 0.75ml を加え、HPLC でゲニスチン、ゲニステインを定量した。

2.5 β-グルコシダーゼと塩分

ゲニスチンを基質としたβ-グルコシダーゼ活性測定系において、蒸留水のかわりに最終塩分濃度が1～15%になるように食塩水を加え、同じサンプルの活性を測定した。

3. 実験結果及び考察

3.1 市販味噌の現状調査

市販味噌のイソフラボン類を測定した結果、仙台味噌は同じ米味噌の淡色系味噌に比べ総イソフラボン量はやや少なく、アグリコン化率は高い傾向がみられた。しかし、仙台味噌の中でもアグリコン化率に差があった(図-1)

3.2 製造工程中のβ-グルコシダーゼの測定

熟成中のβ-グルコシダーゼは仕込時が最も高く、熟成につれ低下した。これに伴いアグリコンは熟成初期に増加し、その後生成速度は低下した(図-2)。

3.3 味噌の小仕込み試験

3.1 の現状調査で味噌の製造条件を調査し、アグリコン生成に関連ある工程要因として①麴、②蒸し大豆の硬さ、③仕込時に通すチョッパーの目の直径に絞りこみ、小仕込み試験を行った。このうち②、③は物理的な酵素作用のしやすさに影響すると考えたためである。

県内4社の麴で味噌を仕込み熟成味噌のアグリコン化率を比較したところ、麴b、cが高く、麴a、dが低かった(図-3)。蒸し大豆の硬さを変えて仕込んだ味噌では、標準的な硬さ(300～400g)より硬くなるとアグリコン生成は低下するが、熟成につれその差は小さくなった(図-3)。仕込時のチョッパーの目の大きさを変えて仕込んだ味噌では、標準的な直径

6mmとそれより大きい8mmで大きな差はなかった(図-3)。以上の結果から、麴がアグリコン生成に大きく関わる要因と判断した。

3.4 β-グルコシダーゼ測定条件の検討

小仕込み試験において、麴のβ-グルコシダーゼ活性とその麴で製造した味噌のアグリコン化率の傾向は一致しなかった。原因として、β-グルコシダーゼ以外の酵素等の関与も考えられたが、合成基質のNPGで測定したβ-グルコシダーゼ活性がイソフラボン配糖体への作用を測定していない可能性も考えられた。

そこで、活性測定時の基質をイソフラボン配糖体のゲニスチンにして測定した結果、ゲニスチン基質のβ-グルコシダーゼ活性は味噌のアグリコン化率の傾向とほぼ一致した(図-4)。以後の活性測定はゲニスチンで行うことにした。

3.5 β-グルコシダーゼと塩分

味噌は塩分を約12%含んでおり、β-グルコシダーゼに対する活性阻害があると考えられる。そこで、ゲニスチン基質のβ-グルコシダーゼ活性測定系に塩分を添加し、塩分濃度と麴の活性について調べた。アグリコン化率は塩分0～1%では麴b、cが高いが、塩分5%以上ではいずれの麴も大きく阻害された(図-5)。

以上の結果から、味噌熟成中のアグリコン生成について以下のとおり推察した。味噌では熟成初期において組成が不均一であることが知られているが、局所的に塩分が低い部分でアグリコン生成が進み、塩分0～1%におけるアグリコン生成能の差が味噌のアグリコン生成量に反映されると考えられた。

4. 結言

味噌の製造条件とアグリコン生成について調査した結果、麴のイソフラボン配糖体に対する加水分解能を測定することで、味噌のイソフラボンアグリコン生成能を予想できることがわかった。

参考文献

- 1) 池田綾子：日食工誌, 42(1995), p.100
- 2) 渡辺隆幸：味噌の科学と技術, 53(2005), p.388
- 3) 江幡淳子：農化, 46(1972), p.323

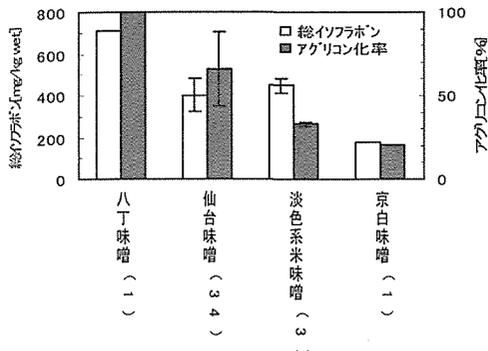


図-1 市販味噌のイソフラボンとアグリコン化率 (()内はサンプル数)

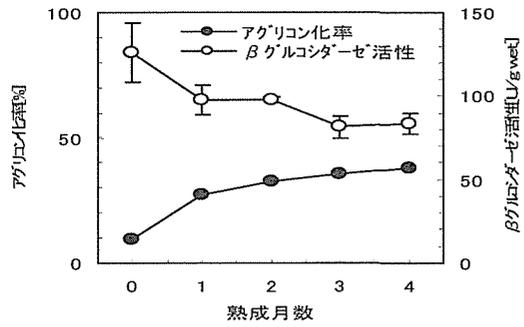
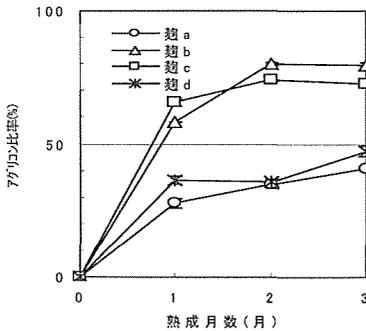


図-2 味噌熟成中のβ-グルコシダーゼとアグリコン化率の変化

表-1 小仕込み味噌の製造条件(20kg 規模)

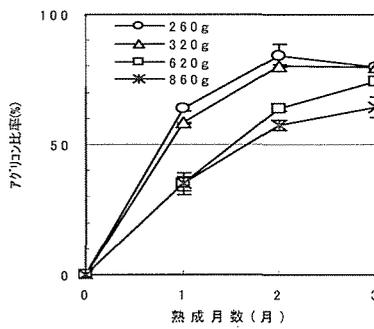
	麹	βグルコシダーゼ (unit/g wet)	蒸し大豆の硬さ(g)	チョッパーの目の直径(mm)
1	a社	259	320	6
2			320	8
3	b社	134	860	6
4			620	6
5			320	6
6			260	6
7	c社	123	320	6
8	d社	183	320	6



【麹の比較】

蒸し大豆の硬さ 320g

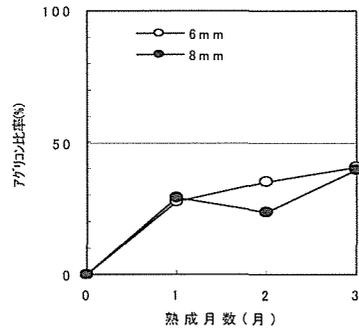
チョッパーの目の大きさ 6mm



【蒸し大豆の硬さの比較】

麹b

チョッパーの目の大きさ 6mm



【チョッパーの目の大きさの比較】

麹a

蒸し大豆の硬さ 320g

図-3 味噌の製造条件とアグリコン化率

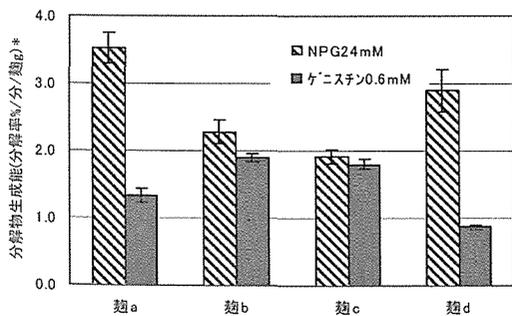


図-4 β-グルコシダーゼ測定基質と活性

*分解物はp-コウフェノール又はゲニステイン

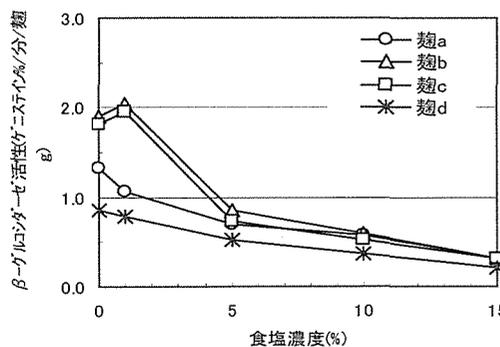


図-5 塩分によるβ-グルコシダーゼ阻害

(反応時間6hr)