

大豆の品種間差異が豆麴に与える影響について —タチナガハあるいはサチユタカを利用した麴における特性比較—

Effects of soybean varieties on soybean koji -Comparison of properties in koji made from Tachinagaha or Sachiyutaka-

大野 正博¹⁾、松本 智保¹⁾
OHNO Masahiro¹⁾, MATSUMOTO Chiho¹⁾

要旨

大豆加工品の中でも豆麴は蒸煮大豆に麴菌を繁殖させ製造したものであり、味噌や醤油の原料として使用されている。大豆加工品には血圧抑制活性の指標とされるアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性や抗酸化作用の指標とされる DPPH ラジカル消去活性があると報告されている。そこで本報では、タンパク質含有率が中程度の品種であるタチナガハおよびタンパク質含有率が高い品種であるサチユタカの2種類の大豆を用いて豆麴を作製し、大豆の品種差異が豆麴の ACE 阻害活性、および DPPH ラジカル消去活性に与える影響について比較検討した。その結果、予想に反してサチユタカ由来の豆麴よりタチナガハから作製した豆麴の ACE 阻害活性が高かった。また、タチナガハから作製した豆麴の DPPH ラジカル消去活性よりもサチユタカ豆麴の活性のほうがより高かった。

キーワード：大豆、タチナガハ、サチユタカ、ACE 阻害活性、DPPH ラジカル消去活性

Among processed soybeans, soybean koji is produced by breeding koji mold on steamed soybeans and used as raw materials for miso and soy sauce. It has been reported that processed soybeans have angiotensin I conversion enzyme (ACE) inhibitory activity, an indicator of blood pressure suppressing activity, and DPPH radical scavenging activity, an indicator of antioxidant activity. Therefore, in this report, we produced soybean koji using two kinds of soybeans, Tachinagaha, a cultivar with a medium protein content, and Sachiyutaka, a cultivar with a high protein content. And we compared the effects of soybean varieties on ACE inhibitory activity and DPPH radical scavenging activity of soybean koji were compared. As a result, unexpectedly, the ACE inhibitory activity of soybean koji prepared from Tachinagaha was higher than that of soybean from Sachiyutaka. In addition, the activity of scavenging DPPH radicals of soybean koji made from Sachiyutaka was higher than that of soybean koji from Tachinagaha.

keywords: soybean, Tachinagaha, Sachiyutaka, ACE inhibitory activity, DPPH radical scavenging activity

1) 山口県立大学看護栄養学部栄養学科

序論

2013年12月に“日本人の伝統的な食文化”がユネスコ無形文化遺産に登録され、和食文化が世界的に注目を浴びている。和食で多用される食材の1つとして大豆が挙げられるが、大豆は豆腐、納豆、味噌、醤油、煮豆等、日本の食卓に欠かせない食材や調味料に加工され、古くから利用されてきた。大豆はタンパク質に富むほか、人間にとって必要なアミノ酸20種類全てがバランスよく含まれており、さらに、ヒトの体中で作り出すことができない必須アミノ酸9種類も豊富に含まれている¹⁾。

タチナガハはタンパク質含有率が中程度の品種であり、主に豆腐や煮豆として加工されている。東北、関東、中部地方での生産が多く、2015年産の品種別作付面積が7,065 haと5位である²⁾。一方サチユタカはタンパク質含有率が高い品種であり、主に豆腐に加工され流通している。中国、近畿、九州北部地方で多く生産されており、2001年より育成された比較的新しい品種である²⁾。

豆麴は蒸煮大豆に麴菌を繁殖させ製造したものであり、味噌や醤油の原料として使用されている。豆麴をはじめとする大豆発酵食品にはACE阻害ペプチドや抗酸化物質が含まれていることが明らかになっている^{3, 4)}。そこで本研究では、タンパク質含有率の異なるタチナガハあるいはサチユタカの2種類の大豆を用いて豆麴を作製し、タンパク質含有率の違いが各豆麴におけるACE阻害活性およびDPPHラジカル消去活性に与える影響についての比較検討を目的とした。

ACEは血圧上昇に大きく関与している酵素である。ACEは亜鉛を中心に3つのポケットが存在し、各々対応するアミノ酸を認識する。したがって、ACEに対して親和性のより高いペプチドが拮抗的な阻害剤となり得る⁵⁾。ACE阻害活性とはACEを阻害する能力がどれほどあるのかという値であり、血圧上昇抑制に関する有力な指標となる。

また、食品中の抗酸化活性を調べるための指標としてDPPHラジカル消去活性も調べた。DPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル)は活性酸素と同様に他の物質と反応し酸化させる作用を持っており、DPPHのラジカルを消去した試料は抗酸化活性を有すると考えることができる。

さらに、今回作製した各豆麴を原料として豆味噌を調製した。豆味噌についてもACE阻害活性およびDPPHラジカル消去活性を測定し、大豆の品種

差異が豆味噌に対してどのような影響を与えるのか調べた。

方法

1. 試験に使用した大豆

2018年に山口県内で栽培されたタチナガハおよびサチユタカを以下の試験に使用した。タチナガハおよびサチユタカの2品種の大豆は、混合することなく別々に処理して各種試験に供試した。各大豆は試験に使用するまで4℃で保存した。

2. 豆麴の調製

タチナガハおよびサチユタカの各大豆を上水で水洗いし、一晩水に浸漬した。浸漬した大豆をオートクレーブで121℃、20分間蒸煮した。蒸煮後、50℃以下まで放冷し、蒸煮大豆100gに対し豆麴用の種麴0.4gをふりかけよく混ぜ合わせた。種麴を接種した大豆をさらし布の敷いたステンレス製トレーに移し、平らに広げ29℃の保温器に入れた。その20時間後に大豆をかき混ぜ、さらに9時間後に大豆をかき混ぜ、さらに13時間後に保温器から取り出し、-30℃で保存した。

3. 豆味噌の調製

上記のとおり調製した豆麴を粉碎し、食塩を加えてよく混ぜ合わせた。別途、各大豆を上水で洗い一晩浸漬した。これらの大豆をオートクレーブで121℃、20分間蒸煮し、その後ペースト状にすりつぶして、食塩と混ぜた豆麴および上水と混ぜ合わせた。もろみをホーロー容器に詰め、30℃の保温器内で発酵熟成させた。1か月の発酵熟成期間後、分析に供するまで4℃で保存した。

4. ACE阻害活性

4-1. 豆麴抽出試料の調製

各豆麴を凍結乾燥後、ラボ用粉碎機にて粉碎した。これら豆麴粉末に10倍量の蒸留水を加えて(11倍希釈)、ウォーターバスで40℃、6時間攪拌振とうした。その後、10,000×g、10分間遠心分離を行い、孔径0.45μmのメンブランフィルターで上清をろ過し、ろ液を抽出試料とした。

4-2. 豆味噌抽出試料の調製

豆味噌に10倍量の蒸留水を加え(11倍希釈)、ウォーターバスで40℃、6時間攪拌振とう後、10,000

× g、10 分間遠心分離を行い、孔径 0.45μm のメンブランフィルターで上清をろ過し、ろ液を抽出試料とした。

4-3. ACE 阻害活性の測定

ACE 阻害活性の測定は同仁化学研究所社製の ACE Kit-WST を用いて以下のとおり行った。まず、各種抽出試料原液を蒸留水で 5 倍希釈をした。マイクロチューブに抽出試料 (sample) もしくは蒸留水 (blank) を 20μL ずつ入れた。測定キット製造メーカー指定のとおり、各マイクロチューブに反応基質および酵素を加え、37℃ で 60 分間インキュベートし、指示薬を加えて室温で 10 分間インキュベートした後に、マイクロプレートリーダーで 450nm の吸光度を測定した。ACE 阻害活性は、ACE の酵素活性を 50% 阻害する抽出試料の濃度で表し、この値を IC₅₀ (mg-dry/mL) とした。

5. DPPH ラジカル消去活性

5-1. 豆麴および豆味噌の抽出試料の調製

ACE 阻害活性の測定で用いた抽出試料と同じ豆麴抽出試料 (11 倍希釈) および豆味噌抽出試料 (11 倍希釈) を使用した。

5-2. DPPH ラジカル消去活性の測定

各抽出試料を蒸留水で 5 倍に希釈した (55 倍希釈)。11 倍希釈溶液 0.2mL、55 倍希釈溶液 0.2mL、コントロール区に蒸留水 0.2mL を入れ、各区に 140μM DPPH エタノール溶液を 4.8mL 加えた。攪拌混合し、アルミホイルで遮光して 30 分放置した後、メンブランフィルター (孔径 0.2μm) でろ過した。ろ液の吸光度を 517nm で測定した。

DPPH ラジカル消去活性値は以下の式で求めた。

DPPH ラジカル消去活性 (%)

$$= \frac{\text{コントロール区の吸光度} - \text{希釈溶液の吸光度}}{\text{コントロール区の吸光度}} \times 100$$

6. 豆麴中の遊離アミノ酸の分析

ACE 阻害活性の測定で用いた抽出試料と同じ豆麴抽出試料 (11 倍希釈) および豆味噌抽出試料 (11 倍希釈) を使用した。日本電子株式会社製のアミノ酸分析装置 JLC-500/V2 を用いて、ろ液中のアミノ酸含量を測定した。

結果および考察

1. タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆麴

図1はタチナガハあるいはサチユタカから作製した各豆麴である。水分量はサチユタカ由来の豆麴がタチナガハから作製した豆麴より高かった (結果は示していない)。これはサチユタカから作製した豆麴の保水性が高かったことが原因だと考える。



図1 タチナガハ (左) あるいはサチユタカ (右) から作製した豆麴

2. タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌

図2はタチナガハあるいはサチユタカから作製した各豆味噌である。タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌の水分量は、豆麴の水分量と同様、サチユタカ由来の豆味噌がタチナガハから作製した豆味噌より高かった (結果は示していない)。豆味噌の水分量は、タチナガハおよびサチユタカいずれも豆麴の水分量と比べて多かったが、これは豆味噌の調製時に水分を加えたことによるものだと考えられる。

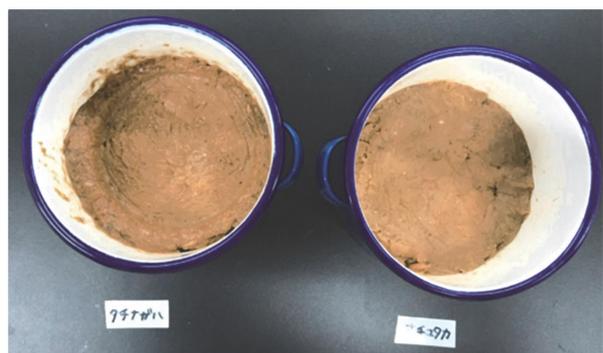


図2 タチナガハ (左) あるいはサチユタカ (右) から作製した各豆味噌

3. ACE 阻害活性

3-1. 豆麴の ACE 阻害活性

タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆

麩の ACE 阻害活性値をそれぞれ求めた。阻害率 50%に相当する IC₅₀ (mg-dry/ml) の値は表 1 のとおりだった。IC₅₀ の値から、同等の阻害活性を示すのに必要な濃度はタチナガハを用いた豆麩の方が低かった。よって、サチユタカよりタチナガハから作製した豆麩の ACE 阻害活性が高かった。サチユタカはタンパク質含有率が高い大豆であるため、ACE 阻害作用を持つペプチド類を多く含有しているのではないかと予想していたが、逆の結果であった。タンパク質含有率が中程度であるタチナガハの方が ACE 阻害活性が高かった結果の要因として、タチナガハが ACE に対して親和性の高いペプチドを多く含有しており、それらのペプチドがタチナガ

表 1 タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆麩の ACE 阻害活性 IC₅₀ 値

	IC ₅₀ (mg-dry/mL)
タチナガハ	0.22
サチユタカ	0.84

ハを用いた豆麩に移行したことによると推測する。

3-2. 豆味噌の ACE 阻害活性

タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌の ACE 阻害活性値をそれぞれ求めた。豆味噌の各抽出試料液について、IC₅₀ (mg-dry/ml) の値は表 2 のようになった。タチナガハを用いた豆味噌よりサチユタカから作製した豆味噌の ACE 阻害活性の方がやや高かった。また、いずれの品種においても、豆麩における ACE 阻害活性よりも豆味噌における阻害活性の方が高く、特にサチユタカの IC₅₀ 値が著しく減少した。これは、タンパク質含量の高いサチユタカでは発酵熟成中により多くのタンパク質が分解され、ACE 阻害作用を持つペプチドがより多く生成したことが要因であると推測する。

表 2 タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌の ACE 阻害活性 IC₅₀ 値

	IC ₅₀ (mg-dry/mL)
タチナガハ	0.11
サチユタカ	0.09

4. DPPH ラジカル消去活性

4-1. 豆麩の DPPH ラジカル消去活性

タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆麩において DPPH ラジカル消去活性を測定した結果を表 3 に示す。11 倍希釈試料ではタチナガハから作製した豆麩よりもサチユタカを用いた豆麩の方が 2 倍以上高く、55 倍希釈試料ではサチユタカの方が 4 倍以上も高い結果であった。これらのことから、サチユタカから作製した豆味噌はタチナガハを用いた豆味噌よりも抗酸化活性が高いことが示唆された。よって、サチユタカから作製した豆味噌の方が少量の摂取でもより高い抗酸化活性を期待することができる。

4-2. 豆味噌の DPPH ラジカル消去活性

タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌における DPPH ラジカル消去活性を表 4 に示す。豆味噌の DPPH ラジカル消去活性の結果についても豆麩における結果と同様に、サチユタカから作製した豆味噌の抗酸化活性が高い結果となった。また、タチナガハ、サチユタカのいずれも、豆味噌における活性よりも豆味噌における活性の方が高かった。大豆に含まれる物質の中で抗酸化活性を示すものとしてイソフラボンが挙げられる⁶⁾。今回の試験で明らかとなった DPPH ラジカル消去活性の主要因も大豆イソフラボンが寄与していると推測する。

表3 タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆麴の DPPH ラジカル消去活性 (%)

DPPH ラジカル消去活性 (%)		
タチナガハ	11 倍希釈	28.7
	55 倍希釈	7.1
サチユタカ	11 倍希釈	61.8
	55 倍希釈	29.5

表4 タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆味噌の DPPH ラジカル消去活性 (%)

DPPH ラジカル消去活性 (%)		
タチナガハ	11 倍希釈	96.8
	55 倍希釈	29.0
サチユタカ	11 倍希釈	112.7
	55 倍希釈	32.6

5. 遊離アミノ酸量

タチナガハあるいはサチユタカから作製した各豆麴の遊離アミノ酸含量を表5に示す。タチナガハから作製した豆麴中には、サチユタカ由来の豆麴よりも遊離アミノ酸がやや多く含まれていた。よって、豆麴の調製過程においてタチナガハ由来のタンパク質はサチユタカよりも効率よくアミノ酸へ分解されことを示唆する。タチナガハはサチユタカよ

りもタンパク質含有率が低い大豆であるが、サチユタカのタンパク質構造が異なるのかもしれない。あるいは、大豆子葉中の組織構造に違いがあることで、麹菌由来のタンパク質分解酵素が作用しやすいのかもしれない。今回の研究において両品種のタンパク質の差異について調べていないが、分子レベルでのタンパク質解析は両品種の特性を明らかにする上で有益であると推測する。

表5 タチナガハあるいはサチユタカから作製した豆麩の遊離アミノ酸含量 (mg/g-dry)

含有アミノ酸	タチナガハ	サチユタカ
グルタミン酸	6.39	6.13
ロイシン	4.41	4.09
グルタミン	3.91	3.54
フェニルアラニン	3.16	2.89
アスパラギン酸	2.97	3.07
セリン	2.56	3.07
バリン	2.47	2.27
チロシン	2.3	2.16
トレオニン	2.11	2.75
イソロイシン	2.19	2.04

引用文献

- 1) 農林水産省, 大豆関連データ集 (2018.12.05 検索)
<https://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/attach/pdf/index-84.pdf>
- 2) 農業・食品産業技術総合研究機構, 大豆の品種開発の現状と成果 (2018.12.05 検索)
<https://www.naro.affrc.go.jp/training/files/2-1b.pdf>
- 3) 伊部 さちえ, 吉田 恵子, 熊田 薫: 納豆のアンジオテンシンI変換酵素阻害活性, 日本食品科学工学会誌, 53(3), p189-192, 2006
- 4) 千葉 陽介, 東尾 恭詳, 齋藤 高弘, 星 佳宏, 松本 健一, 桐原 広成, 古口 久美子, 岡本 竹己: 大豆麩を加えた味噌原料の熟成中の抗酸化性の変化, Eco-Engineering, 26(3), p95-100, 2014
- 5) 林 浩孝, 大野 智, 橋本 慎太郎, 新井 隆成, 鈴木 信孝: 特定保健用食品「血圧が高めの方に適する」表示をした食品について, 日本補完代替医療学会誌, 5(1), p37-47, 2008
- 6) 青木 直人, 荒川 恵梨菜, 伊藤 美幸, 大豆イソフラボンの抗酸化作用と植物エストロゲン作用による抗肥満効果の検討, 大豆たん白質研究, 9, p96-101, 2006