

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 1日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500756

研究課題名（和文） セサムフラワと大豆の複合化による味噌様発酵食品の開発と健康増進機能に関する研究

研究課題名（英文） Properties of the novel products of miso developed using sesame flour, and these health promotion functions

研究代表者

高崎 禎子（TAKASAKI SADAOKO）

信州大学・教育学部・教授

研究者番号：50171434

研究成果の概要（和文）：セサムフラワ（ゴマ脱脂粕）と大豆を複合化し、セサムフラワ味噌およびセサムフラワ麹味噌の開発をめざした。セサムフラワ味噌およびセサムフラワ麹味噌は、官能的にも従来の米麹味噌と比べ遜色なかった。さらに、熟成中に、両者は米麹味噌に比べ、総ポリフェノール量が増加するとともに抗酸化性も向上していた。今回の研究により、未利用資源であるセサムフラワを利用した味噌様発酵食品の有用性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We prepared two novel products of miso using sesame flour. The first is sesame flour miso, the second is sesame flour-koji miso. Two types of miso are not inferior in the sensory evaluation points compared with rice-koji miso. The content of total polyphenols of these misos and DPPH radical scavenging activities increased during fermentation, and indicated higher values compared with rice-koji miso. These results suggested the possibility to apply the novel miso products developed using sesame flour.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2010年度	300,000	90,000	390,000
2011年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：食品機能学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：発酵食品，健康増進機能，セサムフラワ，抗酸化性，ポリフェノール

1. 研究開始当初の背景

セサムフラワはゴマサラダ油の製造時に生じる脱脂粕で、たんぱく質と脂質が約50%ずつ含まれ、しかも植物性食品には不足しがちな含硫アミノ酸やリグナン配糖体が存在するが、これまで飼料等にしか利用されていないのが現状である。セサムフラワに含まれるたんぱく質は、熱によって変性しており利用が困難であるが、酵素や微生物による分解物中に機

能性成分が認められることや、大豆とセサムフラワを混合し微生物によって発酵させることで抗酸化性が高くなることが報告されている。また、食料不足の問題の解決の観点からも未利用資源であるセサムフラワの有する機能性を活かした利用開発が期待されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、未利用資源であるセサ

ムフラワと大豆との複合化食品の微生物処理による抗酸化機能の相乗効果を期待し、日常的に利用できる味噌様発酵食品の創製および抗酸化性を中心とした健康増進機能の発現について検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 味噌様発酵食品の調製

セサムフラワはかどや製油製の食用セサムフラワを用いた。今回用いたセサムフラワの成分組成は、水分 4.6%, 粗たんぱく質 57.5%, 油分 10.8%, 灰分 6.3%であった。また、エーテル抽出による微量成分は、総トコフェロールは、8mg%, セサモリン 35mg%, セサミン 76mg%であった。

大豆とセサムフラワを用いた複合食品化には、大豆の伝統食品として歴史のある醸造技術を利用した。大豆+セサムフラワを微生物処理した時に、発酵過程でセサミノール配糖体が効率的に遊離セサミノールに変化することを明らかになっている。また、味噌麴を調製する目的で、セサムフラワおよび大豆+セサムフラワに各種麴菌を培養した際に、*Asp. niger* で培養すると、その発酵過程において著量のセサミノールの生成や大豆+セサムフラワで DPPH ラジカル消去能が高いことが報告されている。そこで、本研究においては *Asp. niger* を用いることとした。

味噌様発酵食品の仕込み配合を表 1 に示した。

表 1 味噌様発酵食品の仕込み量

		対照 味噌 (g)	セサム フラワ 味噌 (g)	セサム フラワ 麴味噌 (g)
蒸煮大豆	大豆	800	800	800
	水	800	800	800
米麴		800	640	640
セサムフラワ		-	160	-
セサムフラワ麴		-	-	160
総塩		402	414	384
水		348	426	236
総量		3, 150	3, 240	3, 020

セサムフラワと大豆を用いた味噌様発酵食品の仕込みは、まず対照として米麴 800g で仕込みを行った。大豆は浸漬後、圧力釜で蒸煮した。米麴の作成は、米を蒸煮後、*Asp. oryzae* を接種し、45 時間で製麴後、塩切りして仕込みを行った。次に米麴 800g の 20% に相当する 160g を、セサムフラワに置き換えた仕込みをセサムフラワ味噌とした。さらに、米麴の 20% に相当する 160g を、セサムフラワ麴に置き換えた仕込みを、セサムフラワ麴味噌とした。セサムフラワ麴の作成は、セサムフラワに *Asp. niger* NRIC 1222 を接種後、30°C で 7 日間培養して製麴したものを供試した。なお、3 試料には仕込み時に、耐塩性酵母

Zygosaccharomyces rouxii を 10^5 /g、耐塩性乳酸菌 *Pediococcus halophilus* を 10^6 /g 添加した。

(2) 味噌様発酵食品の分析

一般分析は、基準みそ分析法に従って行った。遊離アミノ酸分析は、高速液体クロマトグラフィー (Shimadzu LC-6A) を用いて分析した。有機酸分析は、高速液体クロマトグラフィー (Shimadzu LC-9A) を用いて分析した。官能検査は 5 名により、色、香り、味について、さらには味噌汁でも試験を行った。

(3) 活性画分の抽出

味噌様発酵食品約 5g より、酢酸エチル可溶性画分およびメタノール可溶性画分を得た。10mg/ml の濃度に各溶媒で調製したものを分析に供した。

(4) ポリフェノール含量の測定

松尾らの方法に準じ、水 2ml にメタノール可溶性画分 (10mg/ml) 50μ l を加え、10% Na_2CO_3 0.5ml, 40% フェノール試薬 0.5ml を入れて攪拌し、暗所で 60 分間静置して 760nm における吸光度を分光光度計 (Hitachi, 100-10 形) で測定した。試料 100g 当たりのクロロゲン酸当量に換算し評価した。

(5) 抗酸化活性の測定

抗酸化活性を測定するために、DPPH ラジカル捕捉活性および SOD 様活性の測定を行った。DPPH ラジカル捕捉活性の測定は石山らの方法を参考に行った。活性は試料 100g 当たりの Trolox 当量に換算した。また、Ukeda らが開発した SOD Assay Kit-WST (Dojindo Molecular Technologies, Inc.) を用い、活性酸素の一つであるスーパーオキシドを消去するスーパーオキシドディスムターゼ (super-oxide dismutase; SOD) および SOD 様活性物質の活性をスーパーオキシド捕捉活性として測定し、測定値より SOD 活性値を求め、試料 100g 当たりの Trolox 当量に換算した。

4. 研究成果

(1) 一般分析

味噌様発酵食品の一般分析結果を表 2 に示した。水分は、セサムフラワ味噌においてやや高めであるが、食塩は各種味噌において同程度であった。窒素成分は、セサムフラワ麴味噌、米麴味噌、セサムフラワ味噌の順に、全窒素、水溶性窒素、ホルモール窒素が高い。特に、セサムフラワ麴味噌のたんぱく溶解率は高い値を示し、ペプチド類・アミノ酸の濃厚な呈味を示した。

味噌の熟成度の指標の一つといわれる糖分解率もセサムフラワ麴味噌が 98.6% と極めて高く、ほぼ完全に単糖化された。

セサムフラワ麴味噌の pH は、他の試料に比べ低く、酸度 I, II は 1.7-1.8 倍の値を示した。

アルコール量については、セサムフラワ麴

味噌は他の2試料と比べて1/3と少ないが、セサムフラワ麹の黒麹菌が生産するクエン酸などの影響でpHが低い事から、耐塩性酵母の増殖が阻害されたものと推察した。

測色については、セサムフラワ味噌は他の2試料と比べて、明度Y(%)が半減値であった。x(赤み彩度)はセサムフラワ味噌が最も高かった。

表2 味噌様発酵食品の一般分析結果

	対照味噌	セサムフラワ味噌	セサムフラワ麹味噌
水分(%)	53.6	56.4	52.0
食塩(%)	13.2	13.1	12.9
全窒素(%)	2.01	1.73	2.16
水溶性窒素(%)	1.02	0.89	1.39
たんぱく溶解率(%)	51.0	51.0	64.0
ホルモール窒素(%)	0.33	0.32	0.71
直糖(%)	10.4	12.8	14.0
糖分解率(%)	88.1	90.8	98.6
全糖(%)	11.8	14.1	14.2
pH	5.06	4.93	4.71
滴定酸度Ⅰ(ml)	11.2	10.6	19.2
滴定酸度Ⅱ(ml)	10.4	9.7	17.4
アルコール(%)	1.52	1.65	0.54
Y	16.9	14.8	7.0
x	0.410	0.437	0.406
y	0.371	0.388	0.388

(2)遊離アミノ酸含量

味噌様発酵食品の遊離アミノ酸含量については、セサムフラワ麹味噌は他の2試料と比べて総アミノ酸量は1.6倍多かった。これは、一般分析の項でも述べたが、窒素成分や酸度Ⅱは他の2試料に比べて高いことからわかる。セサムフラワ麹味噌では、味噌の主要アミノ酸であるグルタミン酸やアスパラギン酸も他の2試料に比べて2倍多かった。

(3)有機酸含量

味噌様発酵食品の総有機酸は、試料間において顕著な差がみられなかった。セサムフラワ麹味噌は、他の2試料に比べてコハク酸は1/2量と低かったが、フマル酸においては米麹味噌の約8倍、セサムフラワ味噌の約2倍と多かった。

(4)官能検査

官能検査の結果、色については、セサムフラワ味噌は米麹味噌と同程度であったが、セサムフラワ麹味噌は黒麹菌を使っているので、やや明るさはなかった。香りについては、セサムフラワ味噌とセサムフラワ麹味噌は、米麹味噌と比べるとやや弱かった。味については、一般分析や遊離アミノ酸分析からもわかるように、セサムフラワ麹味噌は他の味噌よりも濃く、旨く感じた。味噌汁においても同様な結果であった。これらの結果より、味噌として使用するよりは、味噌様調味料とし

ての利用価値が高いと思われる。

(5)ポリフェノール含量の変化

味噌様発酵食品のメタノール可溶性画分中のポリフェノール含量を図1に示した。

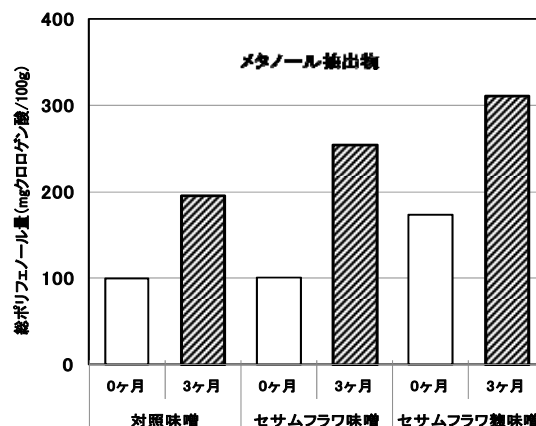


図1 味噌様発酵食品のポリフェノール量の変化

この方法では、酢酸エチル可溶性画分中のポリフェノール含量は、正確に測定できなかったため、ここではメタノール可溶性画分の結果についてのみ述べる。0ヶ月保存では、セサムフラワ味噌では、米麹味噌と同程度であったが、セサムフラワ麹味噌では、約1.7倍と有意に高い値を示した(p<0.05)。熟成期間の延長に伴いいずれの試料においても経時的にポリフェノール含量は増加しており(データ略)、3ヶ月保存後には、セサムフラワ麹味噌では、米麹味噌、セサムフラワ味噌に比べ有意に高い値を示し(p<0.05)、米麹味噌の約1.6倍のポリフェノールを含有しており、熟成過程でポリフェノールが増加することが示された。

(6)DPPHラジカル捕捉活性の変化

味噌様発酵食品の熟成によるDPPHラジカル捕捉活性の変化を図2に示した。

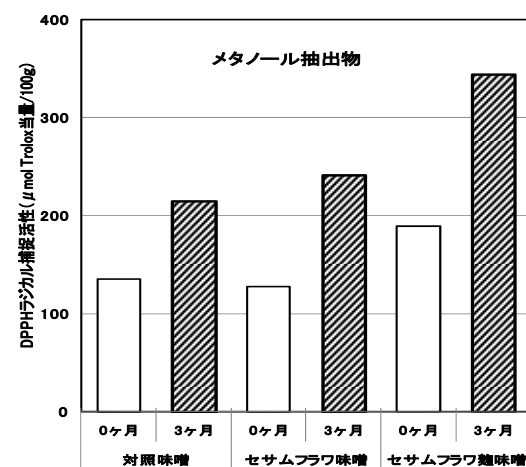


図2 DPPHラジカル捕捉活性の変化

いずれの試料においても酢酸エチル可溶性画分の DPPH ラジカル捕捉活性は、メタノール可溶性画分の捕捉活性よりも相対的に低く、経時的に見てもほとんど変化がみられなかった。一方、メタノール抽出画分の DPPH ラジカル捕捉活性は、先に示したポリフェノール含量と同様の傾向にあった。0 ヶ月保存の DPPH ラジカル捕捉活性は、セサムフラワ味噌では、米麹味噌と同程度であったが、セサムフラワ麹味噌では、約 1.7 倍と有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。熟成期間の延長に伴い、いずれの試料においてもラジカル捕捉活性は増加していた (データ略)。今回得られた米麹味噌 3 ヶ月の値は、西場らが市販味噌 (米赤色辛味噌) で分析した値よりもやや高い値を示していた。3 ヶ月保存でセサムフラワ麹味噌は、米麹味噌の約 1.5 倍、セサムフラワ味噌は、1.2 倍と有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また、セサムフラワ麹味噌においては、保存期間中のラジカル捕捉活性の増加幅も他の試料に比べ大であるとともに、セサムフラワ麹味噌の 3 ヶ月の酢酸エチル可溶性画分およびメタノール可溶性画分のラジカル捕捉活性は収量あたりで考えた場合にも、強い活性を示していた。

(7) SOD 様活性の変化

味噌様発酵食品の熟成期間における SOD 様活性の変化を図 3 に示した。

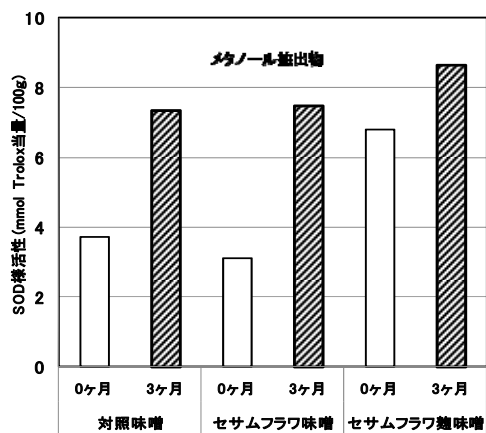


図 3 SOD 様活性の変化

DPPH ラジカル捕捉活性値と Trolox 当量値は異なっているものの、同様の傾向にあり、0 ヶ月保存では、セサムフラワ味噌は、米麹味噌と同程度であったが、セサムフラワ麹味噌では有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。3 ヶ月保存でも、セサムフラワ麹味噌の SOD 様活性は、米麹味噌およびセサムフラワ味噌に比べ有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。

(8) ポリフェノール量、DPPH ラジカル捕捉活性および SOD 様活性の結果の関連性

食品の抗酸化能測定においては、食品が多様な抗酸化成分を含有することが多いので、

単一の測定方法を選択することは容易ではなく、また評価法によっては結果が一致しない場合もあり、可能ならば原理の異なる 2 つ以上の評価法で評価することが望ましいとされている。今回分析を行ったポリフェノール量、DPPH ラジカル捕捉活性および SOD 様活性の結果の関連性を検討するために、ピアソンの相関分析を行った。ポリフェノール含量とメタノール可溶性画分の DPPH ラジカル捕捉活性の間に高い正の相関が認められ ($r=0.990, p < 0.01$)、さらに、ポリフェノール含量と SOD 様活性との間にも高い正の相関が認められた ($r=0.933, p < 0.01$)。ポリフェノールは抗酸化性を有し、ポリフェノール含量が多いと抗酸化性が高いということは、いくつかの研究において報告されており、今回も同様の傾向であった。

(9) 加熱調理における DPPH ラジカル捕捉活性の測定および総ポリフェノール量の変化

味噌汁を想定した 10%懸濁液を調製し、DPPH ラジカル捕捉活性の測定および総ポリフェノール量の定量を行った。加熱 5 分で DPPH ラジカル捕捉活性は非加熱に比べて、対照味噌、セサムフラワ味噌、セサムフラワ麹味噌のいずれの味噌汁でも上昇した。対照味噌およびセサムフラワ味噌においては、加熱 10 分で非加熱よりも DPPH ラジカル捕捉活性は低下した。一方、セサムフラワ麹味噌では、加熱 10 分で非加熱と同程度であり加熱による影響を受けにくいことが示された。セサムフラワ麹味噌の対照味噌に対する DPPH ラジカル捕捉活性は、非加熱の際に、1.4 倍であったが、加熱 15 分後では、1.8 倍であった。総ポリフェノール量は、いずれの味噌様発酵食品においても、加熱時間の延長に伴い、増加の傾向がみられた。

味噌においては、熟成中の成分の変化により抗酸化性が増大することが報告されている。熟成に伴う抗酸化性の増大については、熟成過程において麹菌の産生するプロテアーゼにより生産される抗酸化性をもつペプチドやアミノ酸によるもの、麹菌の産生する β -グルコシダーゼの作用により原料大豆より生産された抗酸化力を示すダイゼインやゲニステインによるものなどが考えられる。さらに、味噌の着色度が高いほど抗酸化性およびラジカル捕捉活性が高いことが知られている。また、味噌の抗酸化性は、イソフラボンよりメラノイジンの影響も強く受けることも指摘されている。

発酵食品において、ラジカル捕捉活性を有する成分の組成は熟成中に変化している。今回開発した味噌様発酵食品は、酵素等の作用で生成される大豆およびセサムフラワに含まれる成分の分解物がラジカル捕捉能に関与すると予想されるため、今後、イソフラボ

ン類およびゴマリグナン類などの同定・定量を行い、ラジカル捕捉活性上昇のメカニズムの解明が必要である。

以上の結果より、セサムフラワ味噌およびセサムフラワ麹味噌は、官能的にも従来の米麹味噌と比べ遜色なく、さらに3ヶ月保存では、抗酸化効果も高いことが示され、味噌製造時にセサムフラワを活用することで未利用資源の有効利用につながるとともに、健康増進効果が期待される。今後、熟成期間中の成分変化についてのさらに詳細な検討が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ①高崎禎子, 鴻田育美, 石川森夫, 貝沼(岡本)章子, 小泉幸道, 福田靖子, セサムフラワ添加味噌の品質特性と発酵熟成過程における抗酸化性の変化, 日本醸造協会誌, 105巻, 749-758, 2010, 査読有

[学会発表] (計3件)

- ①高崎禎子, 鴻田育美, 福田靖子, セサムフラワ添加味噌の発酵熟成による抗酸化性成分の挙動と加熱調理による抗酸化性の変化, 日本調理科学会平成23年度大会, 2011. 8. 30, 高崎
- ②高崎禎子, 鴻田育美, 小泉幸道, 福田靖子, セサムフラワ添加味噌の熟成における成分および抗酸化性の変化, 日本食品科学工学会第57回大会, 2010. 9. 3, 東京
- ③鴻田育美, 高崎禎子, 小泉幸道, 福田靖子, セサムフラワ添加味噌の開発および健康機能性に関する研究, 第24回日本ゴマ科学会大会, 2009. 10. 17, つくば

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高崎 禎子 (TAKASAKI SADAKO)
信州大学・教育学部・教授
研究者番号: 50171434

(2) 研究分担者

小泉 幸道 (KOIZUMI YUKIMICHI)
東京農業大学・応用生物科学部・教授
研究者番号: 80078203

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

福田 靖子 (FUKUDA YASUKO)

前静岡大学・教育学部・教授
研究者番号: 40141444

鴻田 育美 (KOUDA IKUMI)
前信州大学・教育学研究科・学生
研究者番号: なし