

浸漬水硬度の違いが納豆品質に及ぼす影響の評価

野口 友嗣*

1. はじめに

納豆の製造において、浸漬は、蒸煮や発酵と並んで製品の出来に関わる重要な工程である。原料大豆に水を十分に吸水させることで、蒸煮工程における熱の通りが良くなり、発酵工程における納豆菌の良好な発育を促すことができる。納豆製品の品質を一定に保つため、水温や原料大豆の品種、粒形に応じて浸漬時間を調整するメーカーも少なくない。

2. 目的

先に述べたように、メーカーによっては浸漬工程における浸漬時間を調整する場合もあるが、浸漬水の硬度について検討した例は少ない。そのため、納豆の製造に関して、浸漬水の硬度と納豆品質の関係を把握することは、品質管理の点からも重要である。

本研究では、納豆の製造における浸漬水の硬度の違いが、どのように品質に影響するか明らかにするため、異なる硬度に調製した浸漬水を用いて製造した納豆の特性を評価する。

3. 研究内容

3.1 原料大豆の分析

原料大豆の特性を把握するため、原料大豆中のカルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)および遊離アミノ酸含有量を測定した。原料大豆は、小粒ユキシズカ(令和3年、北海道産)を用いた。

3.1.1 原料大豆のCa、Mg含有量の測定方法

- 1)原料大豆を真空凍結乾燥後、ミルミキサーで均一化した。
- 2)均一化した粉末試料1gを磁性ろつばに秤量し、マッフル炉内で550℃、5時間灰化した。
- 3)等量の蒸留水と混合した塩酸10mLを、灰化サンプルに添加して蒸発乾固させ、ヒーターで加温して1M塩酸により塩を再溶解させた(サンプル原液)。
- 4)蒸留水を用いて25倍希釈した塩酸により、100mLに定容後、蒸留水で25倍希釈した硝酸により、サンプル原液を5倍希釈した。
- 5)ICP発光分析装置(U1ITMA2、(株)堀場製作所製)を用いた内標準法により、サンプル希釈液のCa、Mg濃度を測定し、原料大豆のCa、Mg含有量を算出した。

3.1.2 原料大豆の遊離アミノ酸含有量の測定方法

- 1)遊離アミノ酸の抽出を、既報¹⁾に沿って行った。
- 2)抽出した溶液を、クエン酸ナトリウム緩衝液(富士フィルム和光純薬(株)製)で適宜希釈し、高速液体クロマトグラフ(Prominence、(株)島津製作所製)を用いて遊離アミノ酸16種類(アスパラギン

酸、スレオニン、セリン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、シスチン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、リジン)の総量を算出した。この分析条件は、メーカーの取扱説明書²⁾に沿って行った。

3.2 吸水豆の分析

3.2.1 蒸留水のCa、Mg含有量

大豆浸漬に用いる溶媒には、水道水に含まれるCa、Mgの影響を除くため蒸留水を用いた。このとき3.1.1と同様の方法により蒸留水のCa、Mg含有量を測定した。

3.2.2 浸漬水の調製

- 1)蒸留水に食品添加物グレードの塩化マグネシウム6水和物(富士フィルム和光純薬(株)製)所定量を添加して、大豆浸漬に用いる10mg/L、100mg/L、1000mg/L MgCl₂溶液を調製した。
- 2)塩化カルシウム2水和物(富士フィルム和光純薬(株)製)を用いて、大豆浸漬用の10mg/L、100mg/L、1000mg/L CaCl₂溶液を調製した。
なお、浸漬水の硬度は以下の式により算出した³⁾。
硬度(mg/L、炭酸カルシウム換算) = Ca濃度(mg/L) × 2.497 + Mg濃度(mg/L) × 4.118

3.2.3 吸水飽和までの浸漬時間と、吸水率測定方法

- 1)200mLビーカーに原料大豆を20gずつ秤量して、浸漬前的大豆重量を測定した。
- 2)各ビーカーに前述のMgCl₂またはCaCl₂溶液を200mLずつ加え、25℃で24時間または10℃で48時間浸漬させた。
- 3)25℃浸漬時では浸漬開始から24時間まで、10℃浸漬時は浸漬開始から48時間までの間に、適宜、浸漬大豆を取り出し、茶こしおよびペーパータオルを用いて水切りした吸水豆の重量を測定した。浸漬前後における吸水豆の重量変化から、吸水飽和となる浸漬時間および吸水率を求めた。

3.2.4 吸水豆の遊離アミノ酸含有量

3.1.2と同様の方法により、吸水飽和まで浸漬させた吸水豆の遊離アミノ酸含有量を測定した。

3.3 納豆の分析

3.3.1 納豆の製造

- 1)3.2.3で決定した浸漬時間に沿って、原料大豆200gを浸漬後、加圧釜を用いて吸水豆を1.8気圧で25分間蒸煮した。
- 2)蒸煮大豆に宮城野納豆菌((有)宮城野納豆製造所

製)を 1.0×10^4 CFU/gとなるよう添加して、よく振り混ぜた後、PSP容器に40gずつ充填し、恒温器内で39°C、18時間(相対湿度98%)、20°C、2時間(相対湿度50%)発酵させた。

3)発酵終了後に5°Cで一晩熟成させ、以降の分析に用いた。なお、納豆製造は各回とも異なる日に合計3回実施した。

3.3.2 納豆のCa、Mg含有量

3.1.1と同様の方法で測定した。

3.3.3 納豆の硬さ

テンシプレッサー(TTP-50BX II、(有)タケトモ電機製)を用いて、納豆の短軸方向の硬さを1パックにつき20粒ずつ測定した。このとき測定は直径25mmの円柱型プランジャーを用いた圧縮速度1mm/秒、変形率70%の1バイト測定モードにより行った。

3.3.4 納豆の遊離アミノ酸含有量

3.1.2と同様の方法により測定した。

3.3.5 納豆のポリガンマグルタミン酸(γ PGA)含有量

既報⁴⁾に沿って測定した。

3.4 統計解析

Ca、Mg含有量、硬さ、遊離アミノ酸含有量および γ PGA含有量について一元配置分散分析(Bonferroni法)による統計解析を行い、危険率5%未満($P < 0.05$)を有意差ありと判定した。統計解析ソフトは、エクセル統計((株)社会情報サービス製)を用いた。

4. 研究結果と考察

4.1 原料大豆のCa、Mg及び遊離アミノ酸含有量

原料大豆のCa含有量は 2.31 ± 0.09 mg/g、Mg含有量は 2.53 ± 0.03 mg/g、遊離アミノ酸含有量は、乾物重換算で 252.4 ± 28.9 mg/100gであった。

4.2 吸水豆のCa、Mg含有量

浸漬水の調製に用いる蒸留水のCa、Mg含有量は、いずれも検出限界以下であった。

4.2.1 吸水飽和までの浸漬時間、吸水率

- 大豆の吸水飽和までの浸漬時間は、CaCl₂溶液、MgCl₂溶液とも、無添加から100 mg/Lまで同等で、1000 mg/Lでわずかに遅れがみられた。
- 25°C浸漬の場合、浸漬16時間での吸水率は、CaCl₂溶液で蒸留水(0 mg/L)、10 mg/L、100 mg/Lで約2.2倍、1000 mg/Lでは2.16倍であり、MgCl₂溶液ではすべての濃度で約2.2倍であった。これ以降の浸漬時間でも吸水率は一定であったため、浸漬16時間を吸水飽和とみなした。
- 10°C浸漬の場合、浸漬24時間での吸水率は、CaCl₂

溶液では0 mg/L、10 mg/L、100 mg/Lで約2.2倍、1000 mg/Lで2.14倍であった。MgCl₂溶液では0 mg/L、10 mg/L、100 mg/Lで約2.2倍、1000 mg/Lで2.15倍であった。25°C浸漬の場合と同様に、10°C浸漬では浸漬24時間を吸水飽和とみなし、納豆の製造条件に適用した。

4.2.2 吸水豆の遊離アミノ酸含有量

- 25°C、16時間浸漬の場合、吸水豆の遊離アミノ酸含有量は、CaCl₂溶液、MgCl₂溶液ともに、各濃度の浸漬水で380-420 mg/100g(乾物重)を示し、違いがなかった(図1)。
- 10°C、24時間浸漬の場合、CaCl₂溶液では10mg/L、100 mg/L浸漬で、MgCl₂溶液では100 mg/Lで遊離アミノ酸含有量が増加した($P < 0.05$)。しかし、蒸留水浸漬、CaCl₂溶液1000 mg/L浸漬またはMgCl₂溶液1000 mg/L浸漬との間に、有意差はなかった。

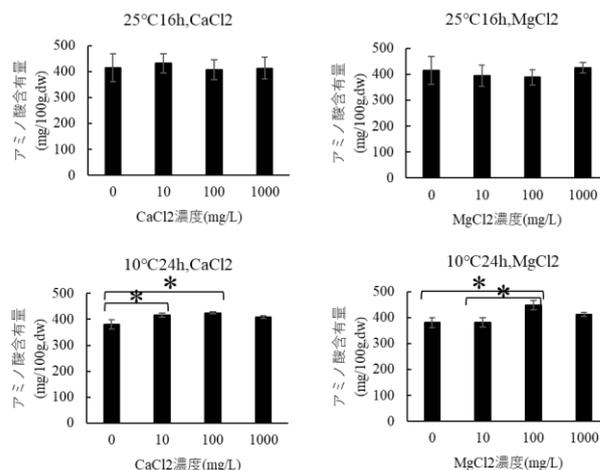


図1 吸水豆の遊離アミノ酸含有量

*: $P < 0.05$

4.3 納豆の分析

4.3.1 納豆のCa、Mg含有量

- CaCl₂溶液濃度が大きくなると、納豆のCa含有量が増加する傾向がみられた。25°C 16時間浸漬および10°C 24時間浸漬いずれの場合も、1000 mg/L浸漬で納豆のCa含有量が増加した($P < 0.05$) (図2)。
- MgCl₂溶液浸漬の場合も、同じ傾向を示した。この理由として、本研究では同一の原料大豆を用いて納豆を製造していることから、浸漬工程において、吸水豆がCaCl₂溶液、MgCl₂溶液内のCa²⁺、Mg²⁺を取り込み、その結果、納豆中Ca、Mg含有量の増加につながったと考えられる。
- 大豆のCa、Mg含有量が多いほど種皮強度が高くなり、裂皮を防止する可能性があることが報告されている⁵⁾。そのため、吸水豆のCa、Mg含有量が、納豆の硬さ(後述)に影響した可能性がある。

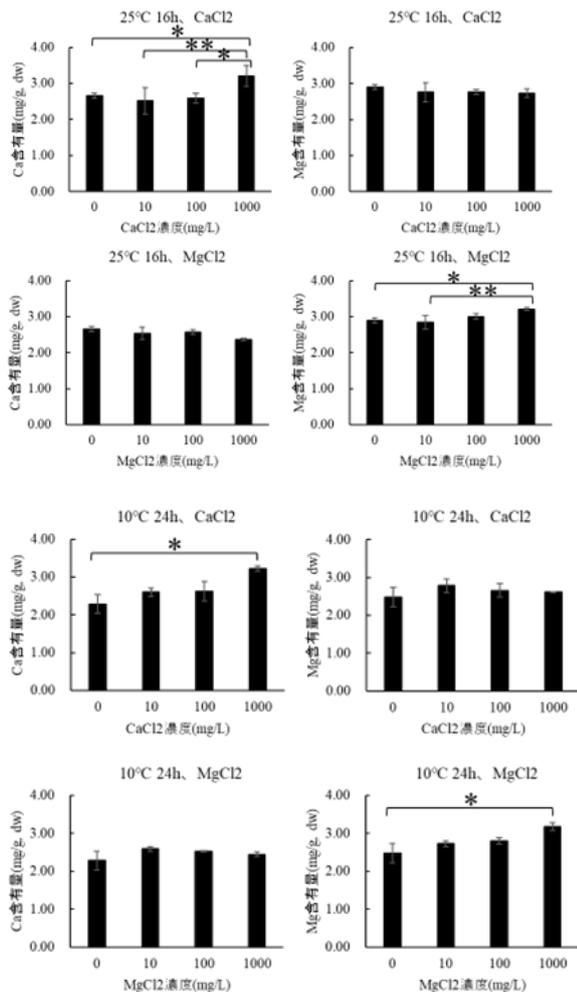


図2 納豆のCa、Mg含有量
*:P<0.05、**:P<0.01

4.3.2 納豆の硬さ

- 納豆の硬さは、CaCl₂溶液 1000 mg/L 浸漬およびMgCl₂溶液 1000 mg/L 浸漬で、有意に硬くなった (CaCl₂: P<0.01、MgCl₂: P<0.05) (図3)。この理由として、1000 mg/L 溶液浸漬では、飽和時の吸水率が2.15-2.16倍に低下することから、蒸煮以降の製造工程で大豆の軟化が起こりにくいことが考えられた。
- 25°C 16時間浸漬の場合、CaCl₂溶液100 mg/L浸漬とMgCl₂溶液100 mg/L浸漬でも、有意に硬くなった (P<0.01)。
- 浸漬水の種類を比較すると、CaCl₂溶液の方がMgCl₂溶液より納豆が硬くなりやすい傾向がみられた。煮豆の硬さの維持には、Ca²⁺が関与していると推察されること、大豆においてはペクチンメチルエステルゼとCa含有量が煮豆の硬度に寄与すると考えられていることから、納豆の硬さに関しても、Ca含有量の影響が大きいと考えられる^{6), 7)}。なお、10°C 24時間 MgCl₂溶液浸漬の場合のみ、1000 mg/L 浸漬で有意に軟らかくなった。この理由については、今後も検討する必要がある。

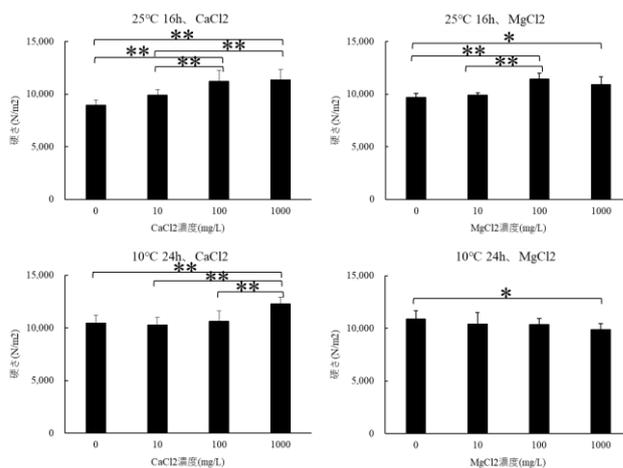


図3 納豆の硬さ
*:P<0.05、**:P<0.01

4.3.3 納豆の遊離アミノ酸含有量

- 25°C 16時間浸漬の場合、CaCl₂溶液、MgCl₂溶液とも濃度が大きくなると、遊離アミノ酸含有量が減少する傾向がみられ、100 mg/L、1000 mg/L浸漬時には有意に減少した (図4)。この理由として、CaCl₂溶液、MgCl₂溶液濃度と大豆の吸水率と、Ca、Mg含有量が、納豆菌の発育に影響したと考えられる。
- 10°C 24時間浸漬の場合、CaCl₂溶液、MgCl₂溶液ともに、遊離アミノ酸含有量に有意な変動はみられなかった。なお、10°C 24時間浸漬の場合のみ、CaCl₂溶液100 mg/L、MgCl₂溶液100 mg/Lで、遊離アミノ酸含有量に違いがみられた (図1)。吸水豆のCa、Mg含有量が、納豆の遊離アミノ酸含有量に影響している可能性がある。

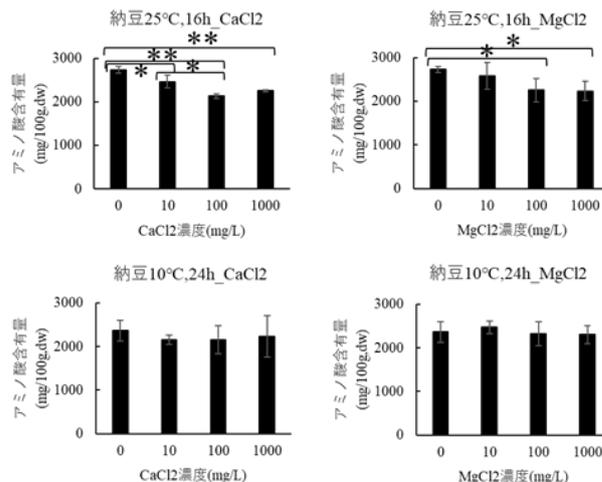


図4 納豆の遊離アミノ酸含有量
*:P<0.05、**:P<0.01

4.3.4 納豆のγPGA含有量

納豆のγPGA含有量はいずれの場合も35-40 mg/g (湿重量) を示し、浸漬水硬度による違いはみられなかった (図5)。この理由として、γPGAは納豆菌の作

用により発酵過程で納豆表面に産生される成分であることから、納豆の硬さやCa、Mg含有量、遊離アミノ酸含有量に比べて、浸漬溶液の影響を受けにくいことが示唆された。

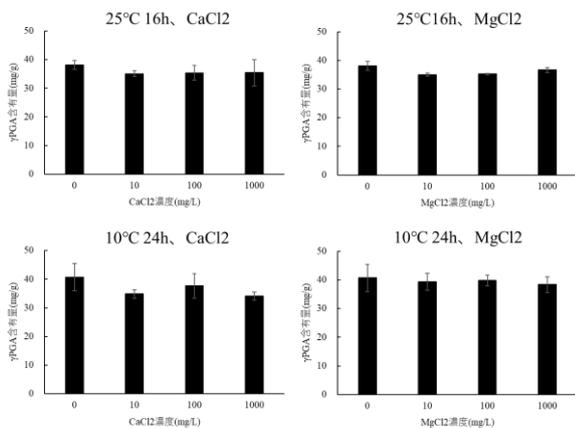


図5 納豆のγPGA含有量

4.3.5 浸漬溶液の硬度と塩の種類による影響

世界保健機関の分類では、硬度60 mg/L以下を軟水、60-120 mg/Lを中硬水、120-180 mg/Lを硬水、180 mg/L以上を超硬水としている⁸⁾。また、日本の水道水の硬度は平均48.9 mg/Lであり、日々の硬度についても概ね安定していると報告されている⁹⁾。

今回用いた、CaCl₂溶液10 mg/L (硬度25.1)、MgCl₂溶液10 mg/L (硬度41.3)の硬度は、ともに水道水の平均硬度を下回り、軟水に分類される。その一方、100 mg/L CaCl₂溶液 (硬度250.0)、100 mg/L MgCl₂溶液 (硬度412.4)はいずれも超硬水に分類される。したがって、日本の水道水を用いて納豆を製造する限り、浸漬水の硬度に起因する納豆の品質変化は生じにくいと考えられる。

なお、海外ではラスベガス (硬度300)、ミュンヘン (硬度300)、フランス (硬度280)、北京 (硬度360)、マジョルカ (硬度500) など、水道水の硬度が超硬水に分類される都市も多く存在する⁹⁾。このことから、納豆の海外生産を検討する際には、事前に生産地の水の硬度を調査しておく必要があると思われる。

4.3.6 原料大豆の種類、栽培条件による影響

本研究では大豆1品種を試験対象としたが、大豆品種によっては、煮豆硬度に寄与すると思われるペクチンメチルエステラーゼ遺伝子の変異が存在すると報告されている。大豆品種や栽培条件の影響を考慮すると、遺伝子型が異なる複数の大豆や、栽培年、栽培地が異なる大豆を用いて、検証する必要がある。

5. まとめ

納豆の製造における浸漬水の硬度の違いが、どのように品質に影響するか明らかにするため、異なる硬度に調製した浸漬水を用いて製造した納豆の特性を評価

するため、研究を行い、次の知見が得られた。

- (1) 浸漬水に CaCl₂ 溶液、MgCl₂ 溶液を用いて納豆を製造した結果、いずれの溶液とも 10 mg/L 溶液浸漬では納豆の Ca、Mg 含有量、硬さ、遊離アミノ酸含有量は、蒸留水浸漬の場合と同等だった。
- (2) 100 mg/L および 1000 mg/L 溶液浸漬の場合、納豆中 Ca、Mg 含有量の増加、納豆の硬化、遊離アミノ酸含有量の減少がみられた。
- (3) 日本の水道水を用いて納豆を製造する限り、浸漬水の硬度に起因する納豆の品質変化は、生じにくいと考えられる。その一方、納豆の海外生産を検討する際は、事前に生産地の水の硬度を把握しておく必要がある。

6. 参考文献等

- 1) 野口友嗣、冷凍期間/解凍条件の違いにおける納豆の特性解析、茨城県産業技術イノベーションセンター研究報告、49、55-56、2021
- 2) 島津製作所応用技術部、島津高速液体クロマトグラフアミノ酸分析システム 応用データ集、2008
- 3) Hori M., Shozugawa K., Sugimori K., et al, A survey of monitoring tap water hardness in Japan and its distribution patterns, *Scientific Reports*, 11:13546, 2021
- 4) 久保雄司、齋藤勝一、ダニエルホルヴェッツ他、菌体外分解酵素が増強された納豆菌 *rpoB* 変異株による黒大豆納豆の製造、日本食品科学工学会誌、60(10)、577-581、2013
- 5) 三枝貴代、川瀬眞一郎、堀野俊郎他、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) 種皮中のカルシウム含有量、カリウム含有量、ペクチン含有量と裂皮との関係、日本作物学会記事、80(4)、433-440、2011
- 6) 中村泰彦、豆の煮熟硬度に及ぼす塩の影響、日本家政学会誌、42(5)、427-433、1999
- 7) 戸田恭子、ペクチンメチルエステラーゼ、カルシウムと煮豆硬度との関係、日本食品科学工学会誌、65(7)、375-379、2018
- 8) WHO: (World Health Organization)、Guidelines for drinking-water quality、4th edition、2011a、https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44584/9789241548151_eng?sequence=1 (2025年3月12日確認)
- 9) 左巻健男、おいしい水安全な水、日本実業出版社、2000