

## リン酸塩添加が納豆の粘度に及ぼす影響

苔庵泰志\*, 梅谷かおり\*, 乾 良充\*

### Effect of Sodium Phosphate on Viscosity of Natto

Yasushi KOKEAN, Kaori UMETANI and Yoshimitsu INUI

This paper describes some properties on the viscosity of natto prepared with two different sodium phosphates, which did not inhibit the fermentation to prepare natto. Sodium tri polyphosphate (3Pi-Na) and sodium tetra phosphate (4Pi-Na) were used for the preparation of natto. The viscosity of natto-extract into which the 4Pi-Na was added at low concentration (60.7-303.2  $\mu\text{gPi/g}$  of natto) was higher than that without sodium phosphates. On the other hand, the viscosity at high sodium phosphate concentration (606.5-1212.9  $\mu\text{gPi/g}$  of natto) was lower than that of natto-extract without sodium phosphates. The viscosity was correlated to the stringiness strength in a sensory test in a case that the natto was prepared with 4Pi-Na.

Key words: Poly  $\gamma$ -Glutamic Acid, Natto

### 1. はじめに

近年、日本国内では健康ブームもあり、納豆の人気が高まっている。2007年現在日本国内での納豆製造は約260社で行われ、その生産量は、原料に換算すると年間で130ktとなっているが、寡占化が進み、大手10社で85%を占めている<sup>1)</sup>。納豆製造に関して、さまざまな副素材を添加して商品のバリエーションを増やそうとしていた時期もあったが、現在の製造工程の主流は、蒸大豆に対して、純粋培養した納豆菌を噴霧して発酵させるという、単純な製造工程となっている<sup>1)</sup>。そのため、現在、大手納豆製造企業での新規商品開発は、特徴ある発酵特性を有する微生物菌株に依存している。これに対して中小企業で製造している商品のほとんどは、一般的に流通している菌株を用いるかわりに、原料等に特色のある商品開発を進めているが、この場合、他社と差別化した商品の開発が難しい。このため、微生物に依存しない、新規な製造工程による商品開発へのニ

ーズが高い。

納豆の特徴的な食感となっているのが、納豆菌による発酵によって生産されるポリ $\gamma$ -グルタミン酸（以下PGAと略す）および多糖類のレバンによる粘稠性（粘度）「ねばねば」を特徴とする糸引きである。PGAは工業的に抽出精製され、食品をはじめ、医薬品、工業製品等、幅広い分野で利活用されている。我々は、PGAの機能特性に注目し、納豆菌の培養液にリン酸塩を添加することで、PGAを誘導体化する方法を開発した<sup>2,3)</sup>。開発したPGAリン酸化誘導体は、粘度特性や水への溶解性がリン酸化度に応じて変化することが明らかになっており、幅広い分野への利活用が可能である<sup>4)</sup>。

本研究では、納豆の製造工程にて、リン酸塩を添加することで、粘度特性に変化が見れることが分かったので報告する。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料

納豆試作用の原料は、アメリカ産極小粒大豆を用

\* 食と医薬品研究課

いた。図1に示すリン酸化試薬は、太平洋化学産業製の食品添加物用トリポリリン酸ナトリウム（以下3Pi-Naと略す）及びテトラポリリン酸ナトリウム（以下4Pi-Naと略す）を用いた。

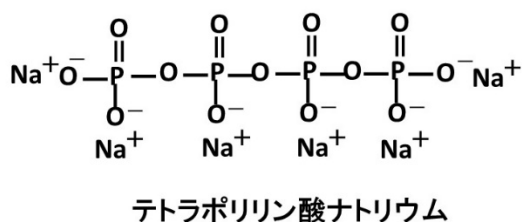
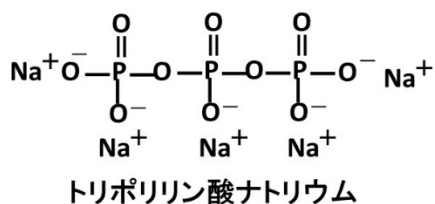


図1 リン酸化試薬

## 2.2 納豆の試作

納豆の試作は、速やかに実生産規模にスケールアップできるように、実生産で行われているようにあらかじめ用意したリン酸塩溶液を、製造工程に合わせて噴霧する方法をとった。リン酸塩溶液の濃度は飽和溶液の値を参考として、高濃度となるよう調製し添加量は液体培養での結果を勘案して決めた。仕込みは、実生産と同じ製造工場で行った。表1に各試作納豆でのリン添加量と試験区を示す。はじめに原料大豆は室温17°Cで16時間吸水させた。次に、水切り後、126°Cで15分間蒸煮、納豆菌を噴霧植菌した後、40gずつパック詰めした。そして、添加するリン酸塩としては、3Pi-Na、4Pi-Naの10%(w/v)溶液を用い、各10パックの蒸煮大豆に対して、表1に定めたように所定量のリン酸溶液を噴霧した後、かき混ぜてリン酸溶液を均一に分散させた。なお、添加したリン酸塩の量は、1回の噴霧当たりの液量(0.92 mL)から換算した。最後に、37°Cで14時

間、その後34°Cで17時間に保って発酵させた後、5°Cで24時間保って糸引きを十分安定させた。これを試作品として用いた。

## 2.3 納豆抽出液の粘度

各納豆30gに蒸留水90mLを加え、室温で1時間攪拌後、メッシュ0.5mmの篩で濾過し、得られたる液について、動的粘弾性測定装置(AR-G2, TA Instruments)にて粘度を測定した。測定は25°C、φ40mm、角度2°のコーンプレートを用いて行った、せん断速度10(1/s)、結果は、それぞれ3回測定の平均値を取り、リン酸無添加品の粘度を0とした場合の相対値で示した。

## 2.4 官能試験

工業研究所の職員4名で、納豆の糸引きについて官能評価を実施した。官能検査表は、納豆試験法<sup>5)</sup>に準じた。すなわち、納豆を割り箸で20回かき回した後、割り箸で納豆の1/2~1/3をつまんで40cm位もち上げて観察した。リン酸無添加品を0(普通)として比較し、糸引きについてやや強い(+1)、強い(+2)、やや弱い(-1)、弱い(-2)として評価した。なお、発酵室では乗せた台車の上部と下部で温度差があることが予想されたため、試料は、台車の中段からサンプリングして試験に供した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 納豆の試作

納豆の仕込みに関して発酵不良は認められず、問題なく試作品ができた。どの試験区に関しても、目視観察では、発酵中の溶菌等の不具合は認められなかった。納豆菌が良好に生育し、PGAの生産も進んだと考えた。

### 3.2 納豆抽出液の粘度

各リン酸添加納豆水抽出液について、リン酸無添加品(粘度:0.074 Pa·s)との粘度の差を図2に示す。3Pi-Na(No.1~No.5)では、明確に濃度に依存した粘度の増減は判別できなかった。4Pi-Naでは、

表1 納豆へのリン酸添加量

リン酸塩の種類	パック当たりの噴霧数				
	1/10	1/5	1/2	1	2
トリポリリン酸ナトリウム (リン添加量:μgPi/g 納豆)	No.1 (58.1)	No.2 (116.2)	No.3 (290.5)	No.4 (581.0)	No.5 (1161.8)
テトラリン酸ナトリウム (リン添加量:μgPi/g 納豆)	No.6 (60.7)	No.7 (121.3)	No.8 (303.2)	No.9 (606.5)	No.10 (1212.9)

No.6, No.7 までは粘度が増加し, No.8 では減少に転じ, No.9, No.10 ではリン酸無添加品より低くなった。

これまでの我々は, PGA のリン酸化試薬として, 分子内にリン酸を 2 個有するピロリン酸ナトリウムから 4 個の 4Pi-Na まで用い, その結合部位は全てグルタミン酸の $\alpha$ 位のカルボキシル基であることを, NMR 解析により明らかにし, 確実にリン酸化がなされていることを確かめた<sup>4)</sup>。また, 排除限界クロマトグラフィーでは, PGA のリン酸化によると思われる分子内架橋に起因するピークが認められている<sup>4)</sup>。4Pi-Na の試薬を納豆菌培養液に添加した場合, 一定濃度まではリン酸無添加の PGA よりも粘度が増加し, その後粘度は低下し<sup>4)</sup>, 納豆の結果と同等であった。また, 架橋によると思われる $\alpha$ -ヘリックスや $\beta$ -シート構造等の高次構造の増減に伴う粘度変化も明らかになっている。

これらのことから 3Pi-Na 及び 4Pi-Na 添加による粘度変化の違いは, 両リン酸塩のリン酸結合部位 (図 1) や, 反応性の違い及びリン酸化後の分子内架橋等による高次構造の変化による影響と考えられ, 納豆菌の液体培養で得られた知見が活用できると思われる。

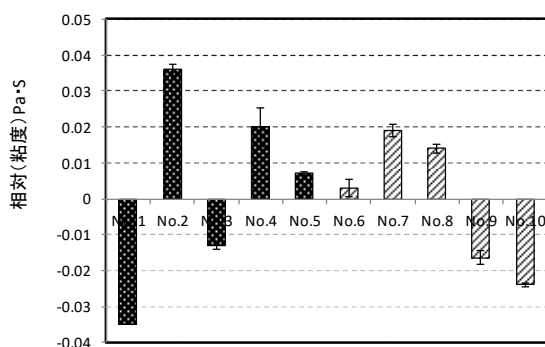


図 2 リン酸添加納豆抽出物の粘度

トリポリリン酸ナトリウム: 3Pi-Na [■]

テトラポリリン酸ナトリウム: 4Pi-Na [▨]

10 (%w/v) リン酸塩 噴霧数/パック

せん断速度=10 (1/s) n=3 error= $\pm$ SE

No.1~No.10: 表 1 参照

縦軸は無添加 (=0.074 Pa·s) を 0 とした場合の相対値

### 3. 3 リン酸添加納豆の官能試験

糸引きに関する官能試験による評価結果を図 3

に示す。3Pi-Na 添加では, リン酸の添加濃度が低い No.1, No.2, No.3 については糸引きがリン酸無添加品より強く, No.4 は無添加と同等, さらに添加量の多い No.5 では糸引きが無添加より弱かった。

一方の 4Pi-Na 添加では, 一番添加量の少ない No.6 ではリン酸無添加品と同等であったが, その後添加量を増やした No.7, No.8 では増加し, 徐々に糸引き量増加の評点が減少し, No.9, No.10 では添加量が多いほど, 糸引きは少なくなった。PGA への各リン酸塩の結合位置や, 抽出した PGA リン酸誘導体の分子構造の差<sup>4)</sup>が, 糸引きの違いにつながったと考えられる。また, 4Pi-Na 添加では, 官能試験での糸引きの強さの消長と, 納豆抽出液の粘度の増減が一致した。この事実に関しても, リン酸化試薬の構造や反応性が関与している可能性もある。粘弾性のある粘液においては, 緩和時間 (= 粘度 / 弾性率) が長いほど, 遅い速度で粘液を引き上げても糸を引く (本報告では「糸引性」と記している) と考えられている。ここでは簡単に説明するため, 弾性率が等しいとの極端な前提で考察する。この場合, 粘度が大きいほど, 緩和時間が長くなり, 結果的に遅い速度で粘液を引き上げても糸を引くことになる。このような意味で, 事前の試作等には糸引性の推定に粘度評価の数値が活用可能であると考えられる。さらに, 納豆の官能的な粘度特性改変のためには, 本報告における官能評価及び粘度特性の結果から, 4Pi-Na が活用可能であると考えられる。

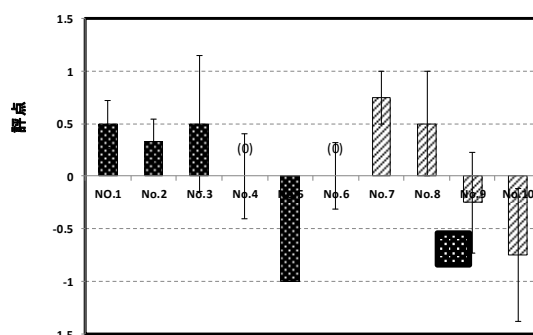


図 3 リン酸添加納豆の官能評価 (糸引き)

トリポリリン酸ナトリウム: 3Pi-Na [■]

テトラポリリン酸ナトリウム: 4Pi-Na [▨]

10 (%w/v) リン酸塩 噴霧数/パック

No.1~No.10: 表 1 参照

n=4~6 error= $\pm$ SE

#### 4. まとめ

納豆製造工程において、3Pi-Na 及び 4Pi-Na を添加して粘度特性の改変を試みた。試作した納豆の水抽出液に関して粘度を測定したところ、4Pi-Na では低リン酸濃度下では粘度が上昇し、高濃度では粘度が低下した。また、官能評価での糸引きの強さと水抽出液の粘度との間に相関が認められた。3Pi-Na 添加時には、粘度の増減は認められたが、添加濃度や官能評価との相関は認められなかった。

#### 謝辞

本研究は一般財団法人日本科学技術振興機構 (JST) の助成による研究成果展開事業 地域産学バリュープログラムによる成果の一部である。ここに記して関係各位に深謝する。また、納豆の試作に関して、株式会社小杉食品 代表取締役 小杉 悟氏にご協力いただいた。ここに記して感謝の意を表す。

#### 参考文献

- 1) 渡辺杉夫：“納豆の製造・流通・保蔵”。納豆の科学，建帛社，p31-39 (2008)
- 2) 佐合 徹ほか：“ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸のリン酸誘導体及びその製造方法”。特開 2018-95601号，(2018)
- 3) O.Kurita et al.：“Feasible protein aggregation of phosphorylated poly- $\gamma$ -glutamic acid derivative from *Bacillus subtilis (natto)*”. Int. J. Biological Macromolecules., 103, p484-492 (2017)
- 4) O.Kurita et al.：“Regulatory phosphorylation of poly- $\gamma$ -glutamic acid with phosphate salts in the culture of *Bacillus subtilis (natto)*”. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 34(4) 60 (2018)
- 5) 納豆試験法研究会編：“納豆試験法”。p61-63(1990)