

新規豆腐よりの開発

望月智代、豊川哲也、金城朱里*1、玉村隆子*2、仲本英夫、具志堅悠馬

用途拡大や新しい顧客層の獲得を目的とした新しい豆腐よりの開発として、低アルコール漬け汁による熟成および豆腐への有用菌の接種（以下、カビ付け）を検討した。低アルコール化には微生物制御が必要となることから、pH 3.0以下、Aw 0.88以下、アルコール濃度3.0%に調整した低アルコール漬け汁と、50℃で4および8時間乾燥させた乾燥豆腐を用いて、カビ付け豆腐による豆腐よりの試作試験を行った。カビ付けはテンペ、ケカビ、白カビおよび青カビにより行った。カビ付け豆腐による豆腐よりはカビ付けなし（対照）よりホルモール態窒素量が増加し、破断応力は低下した。いずれの豆腐よりのも、漬け汁のAwは微生物制御できる0.88以下を維持して熟成が進み、それぞれ特徴的な食感と風味を持つ低アルコール豆腐よりが製造できた。

1 はじめに

豆腐よりは、昔ながらの製法を工業的製法へ転換し発展してきた一方で、風味や喫食方法はバリエーションに乏しい。また、強いアルコール香を持つことや主な喫食方法が酒の肴であることは、ターゲット顧客やセグメントが限定的である要因の一つと考えられる。新たな市場開拓には低アルコール化や新たな風味付けなど、これまでにない豆腐よりを提供することが重要である。

そこで本研究では、低アルコール化と風味のバリエーションを増やし、調味料等の酒の肴以外の用途拡大や新たな顧客層の獲得を目的に、低アルコール漬け汁による熟成および豆腐へのカビ付けを検討し、新しい豆腐よりを開発する。

2 実験方法

2-1 低アルコール漬け汁の調製

福島県産米を用いて、吸水2時間、水切り1時間、蒸きょう45分行い、40℃まで放冷後、黒麹（石川種麹店）を原料米の0.1%散布した。恒温恒湿器（東京理科機器株式会社、KCL-2000）にて相対湿度95%の雰囲気下で40℃20時間、35℃40時間、25℃2時間の製麹を行った。

製麹した黒麹1 kgに対し95%エタノール（日本アルコール販売株式会社）を希釈した7.5%エタノール溶液1.1 kg、所定量の食塩（塩事業センター）および量販店にて購入したショ糖を加え、しっかりと溶解させた。5℃で1晩以上静置したのち、微粉粉碎機（MKCA 10-20JF、増幸産業）により摩砕し黒麹低アルコール漬け汁（以下漬け汁）を作製した。作製した漬け汁はアルコール濃度は約3.0%である。

2-2 豆腐の前処理方法

2-2-1 原料豆腐

有限会社池田食品（西原町）より、カット前の沖縄豆腐7.5 kgを購入後、速やかに15分割し真空パックした。パック豆腐は沸騰浴中にて80℃5分間の加熱殺菌後、氷冷し冷蔵保管して試験に供した。

2-2-2 豆腐の酸処理と乾燥

パック豆腐を3 cm角にカットし、0.5%クエン酸溶液に浸して中心温度85℃で30分間加熱処理を行った。その後、粗熱を取りクエン酸溶液に浸したまま一晩冷蔵し酸処理豆腐を作製した。酸処理豆腐をキムタオルにより軽く水気を除去した後、熱風循環乾燥機（GT-150、アルプ）にて所定の条件で乾燥し、乾燥豆腐を作製した。

2-3 カビ付け

接種する有用菌には*Bacillus natto*（以下納豆菌、株式会社秋田今野商店）、*Rhizopus microspores* NBRC8631（以下テンペ菌、株式会社秋田今野商店）、*Mucor racemosus* NBRC4581（以下ケカビ）、*Penicillium candidum*（以下白カビ、PCA3、クリスチャンハンセン社）、*Penicillium roqueforti*（以下青カビ、PR-3、クリスチャンハンセン社）の5株を用いた。次項で示す方法により乾燥豆腐へ各株を接種、培養しカビ付け豆腐を作製した。接種量はすべての株において、 $10^4 \sim 10^5$ cfu/乾燥豆腐1 gとした。

2-3-1 納豆菌

納豆菌粉末を滅菌リン酸緩衝生理食塩水（アズワン）に懸濁し0.3%納豆菌液（菌数 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mL程度）を調製した。乾燥豆腐重量の1%量の納豆菌液を噴霧したのち、恒温恒湿器にて35～40℃、相対湿度95%で24時間培養した。

2-3-2 テンペ菌

乾燥豆腐重量の0.1%量のテンペ菌粉末（孢子数 $10^7 \sim 10^8$ cfu/mL程度）を、そのまま乾燥豆腐へまぶして接種

*1農業研究センター 名護支所、*2沖縄県ものづくり振興課

した。接種後は恒温恒湿器にて30℃、相対湿度95%で24時間培養した。

2-3-3 ケカビ

斜面培地上のコロニー1白金耳をポテトデキストロス寒天培地（栄研化学）へ接種し、25℃約5日間培養した。培地上に生育したケカビをすべて剥ぎ取って90 mLの滅菌リン酸緩衝生理食塩水に懸濁し、 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mL程度のケカビ孢子液を調製した。乾燥豆腐重量の1%量のケカビ孢子液を乾燥豆腐へ噴霧したのち、恒温恒湿器にて25℃、相対湿度95%で90時間培養した。

2-3-4 白カビ

白カビ粉末を滅菌水に懸濁し0.18%孢子液（孢子数 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mL程度）を調製した。乾燥豆腐重量の1%の孢子液を乾燥豆腐へ噴霧した後、恒温恒湿器にて25℃、相対湿度95%で90時間培養した。

2-3-5 青カビ

青カビ粉末を滅菌水に懸濁し0.02%孢子液（孢子数 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL程度）を調製した。乾燥豆腐重量の2%の各孢子液を乾燥豆腐へ噴霧した後、恒温恒湿器にて25℃、相対湿度95%で90時間培養した。

2-4 新規豆腐様の仕込みと熟成

前処理豆腐と漬け汁をパウチ袋へ入れて密閉し、室温30℃で熟成した。漬け汁は原料豆腐重量の2.5倍量とした。新規豆腐様の製造工程としては、図1に示すとおりである。

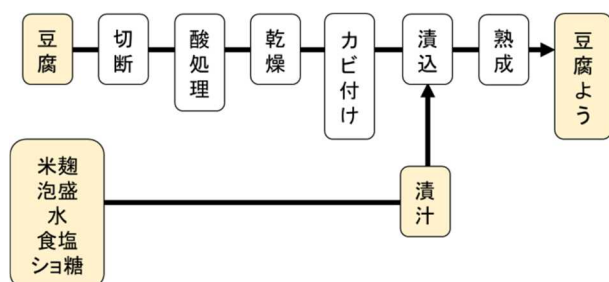


図1 新規豆腐様の製造工程

2-5 理化学測定

2-5-1 pH、水分活性、アルコール濃度

pHはコンパクト型pH計（LAQUAtwin、株式会社堀場製作所）により、水分活性（以下Aw）は水分活性測定装置（LabSwift-aw、ノバシーバ）により測定した。漬け汁のアルコール濃度は酒類振動式密度計（DA-155、京都電子工業）により測定した。

2-5-2 ホルモール態窒素量

ホルモール態窒素量の測定は西山ら¹⁾の方法を参考に、次のように行った。試料を凍結乾燥後、乳鉢で粉末化し乾燥粉末試料とした。乾燥粉末試料0.5 gにイオン交換水3 mL加えよく混和し、沸騰水中で1分間煮沸した。放

冷後、遠心分離（3500 rpm、15分）して上清を回収した。残渣に再びイオン交換水3 mL添加し、同様の抽出操作を2回行った。回収した上清はメスフラスコで25 mLに調製し、ホルモール態窒素測定に供した。

試料5 mL、イオン交換水5 mLをガラス容器にとり、0.1 N水酸化ナトリウム溶液（容量分析用、富士フィルム和光純薬）によりpH 8.5に調整した。同様にpH 8.5に調整したホルムアルデヒド溶液（特級試薬、富士フィルム和光純薬）を4 mL添加したのち、0.1 N水酸化ナトリウム溶液により滴定した。終点はpH 8.5とし、滴定量から次式により、乾燥粉末試料100 g当たりのホルモール態窒素量を算出した。

$$\text{ホルモール態窒素量 (N g/100 g)} = t \times F \times A \times 25 \text{ mL} / 5 \text{ mL} / 0.5 \text{ g} \times 100$$

t: 滴定量

F: 0.1 N水酸化ナトリウム溶液のファクター

A: 0.1 N水酸化ナトリウム1 mL当たりの窒素量0.0014 g

2-6 物性測定

乾燥豆腐および豆腐ようについて、外側および内側の物性を評価するため、全形および中央から半分に切断したものを試料とし、レオメーター（NRM-2010J-CW、不動工業株式会社）で破断応力を測定した。測定条件は、直径3 mmの円柱型プランジャー、検出部ユニット2 kg、メーター感度200 g、試料台速度60 mm/minとした。

2-7 試作豆腐様の食味評価

熟成3か月後の試作豆腐ようを工業技術センター職員7～8名で試食し、風味や物性について自由記述で評価した。

3 結果および考察

3-1 製造条件の検討

試作試験の実施に当たり、微生物および物性に関わる製造条件としてそれぞれ漬け汁の配合と豆腐の乾燥方法を検討した。

3-1-1 漬け汁の配合

アルコール濃度が低い場合、微生物が増殖する可能性がある²⁾。そのため、豆腐様の低アルコール化には、食中毒対策のためのセレウス菌制御とともに、膨張等の対策のための酵母制御が必要である。そこで、酵母の生育限界pH 3.0以下、Aw 0.88以下^{3、4)}を指標に、漬け汁を調製し試験を行った。黒麴1 kgに対する添加量を、食塩で25.2、29.4、31.5%、シヨ糖で16.8、29.4、16.8%として漬け汁を作製し豆腐ようを試作した。なお、pHは黒麴を使用したためpH 2.7であった。熟成3か月後における漬け汁のAwを表1に示す。配合A、BおよびCの水分活性はそれぞれ0.869、0.829、0.838を示し、いずれも

酵母の制御可能なAw 0.88以下だった。食味はいずれも塩味が強く、配合Bではバランスが良かった。そこで本試験では配合Bすなわち、食塩およびショ糖29.4%で実施することとした。

表1 食塩とショ糖の配合量による漬け汁の水分活性と食味（熟成3ヶ月後）

配合		Aw	食味
A	食塩 25.2%	0.869	塩味強い
	ショ糖 16.8%		
B	食塩 29.4%	0.829	塩味強いが バランス良い
	ショ糖 29.4%		
C	食塩 31.5%	0.838	塩味が強い
	ショ糖 16.8%		

3-1-2 乾燥豆腐の物性の変化

酸処理豆腐における乾燥条件と物性の関係を明らかにするため、熱風乾燥による試験を実施した。酸処理豆腐を乾燥温度50、65、80℃、乾燥時間0、4、8、10時間の条件で熱風乾燥し破断応力を測定した。

各乾燥温度における外側と内側の破断応力より、図2～4が得られた。外側と内側の破断応力は、乾燥時間の経過により正の相関を示した。相関係数は50℃、65℃、80℃でそれぞれ $R^2 = 0.9871$ 、 0.9412 、 0.9698 と、いずれも高い相関を示した。このことから、豆腐の硬さが乾燥の温度と時間で制御可能であることがわかった。

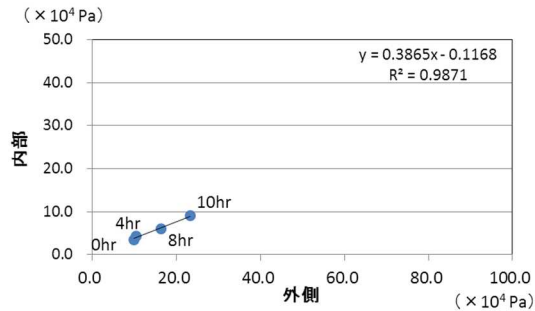


図2 50℃乾燥における破断応力

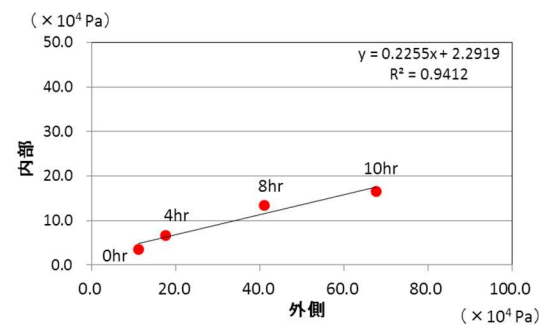


図3 65℃乾燥における破断応力

3-1-3 カビ付けに用いる乾燥豆腐

カビ付けに用いる乾燥豆腐の乾燥条件を決めるため、予備的にカビ付けしない豆腐よう試作を行った。酸処理

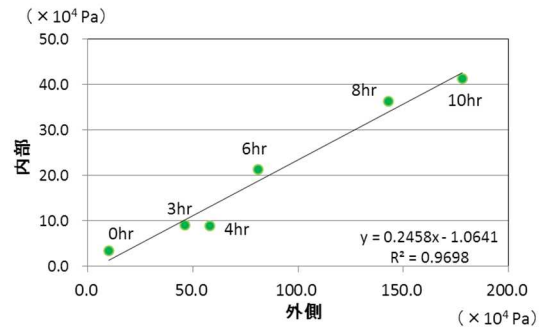


図4 80℃乾燥における破断応力

豆腐の乾燥条件は50℃4時間および80℃3時間とし、乾燥豆腐は破断応力を測定した。試作豆腐ようは試食して食感などを確認した。測定結果および試作豆腐よりの食感を表2に示す。50℃4時間乾燥では、乾燥豆腐の破断応力は外側で 12.3×10^4 Pa、内側で 5.0×10^4 Paを示し、豆腐ようは柔らかくなめらかな食感だった。一方、80℃3時間乾燥では、乾燥豆腐の破断応力は外側で 46.3×10^4 Pa、内側で 11.4×10^4 Paを示し、豆腐ようはもろく表面が硬い食感だった。そこで、カビ付けに用いる乾燥豆腐の作製には50℃4時間乾燥を用いることとした。また50℃8時間による乾燥豆腐へも併せてカビ付けを行い、50℃4時間より硬い豆腐についても検討することとした。

表2 乾燥条件の異なる乾燥豆腐の物性と試作豆腐よりの食感

豆腐の乾燥条件	乾燥豆腐の破断応力 ($\times 10^4$ Pa)		熟成後の食感
	外側	内側	
50℃4時間	12.3 ± 2.5	5.0 ± 1.0	柔らかく、なめらか
80℃3時間	46.3 ± 13.3	11.4 ± 3.3	もろく、表面が硬い

3-2 カビ付け

酸処理豆腐を50℃で4および8時間乾燥した乾燥豆腐に、各有用菌を接種し所定の条件でそれぞれ培養した。培養後の豆腐の外観を図5に示す。テンペでは培養24時間で豆腐全面が菌糸に覆われた。ケカビの4および8時間乾燥、白カビおよび青カビの8時間乾燥では、培養1～2日で豆腐表面に菌糸の生育が認められ、3日目で胞子形成が確認できた。白カビおよび青カビの4時間乾燥は雑菌の増殖が早く、腐敗が認められた。そのため、50℃4時間の乾燥豆腐における白カビ、青カビ培養は実施しなかった。また納豆菌は4および8時間乾燥のいずれの豆腐でも、生育が認められなかった。納豆菌はBatillus属であるため、酸処理豆腐には生育しないと推測された。

3-3 豆腐よりの熟成

3-3-1 熟成中のpH、Awおよびアルコール濃度

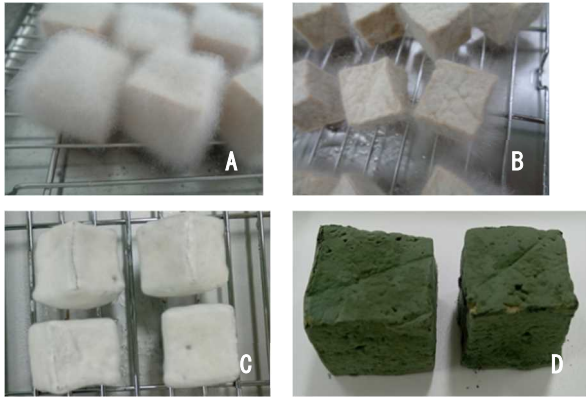


図5 カビ付け豆腐の外観
A: テンペ、B: ケカビ、C: 白カビ、D: 青カビ

カビ付けなしの豆腐（以下対照）およびテンペ、ケカビ、白カビ、青カビを接種した豆腐（以下カビ付けあり）を漬け汁で熟成させた。白カビおよび青カビでは、8時間乾燥のみ熟成させた。熟成中の漬け汁のpHを図6に、漬け汁および豆腐のAwを図7および8に示す。

漬け汁のpHは漬込み時にpH 2.7、1.5か月ではpH 3.9～4.8、3か月後はpH 3.8～4.2を示しやや低下した。熟成中はすべての漬け汁で、酵母の生育限界pH 3.0より高くなった。白カビでは、チーズ表面で生育した際にアミノ酸デヒドロゲナーゼの作用によりアンモニアを生成することが報告されており⁵⁾、白カビで漬け汁のpH上昇が顕著に見られた要因として考えられた。

漬け汁のAwは、漬込み時のAw 0.824より1.5か月で上昇し、3か月まで同等に推移した。3か月後はAw 0.841～0.867を示した。豆腐のAwでは、漬込み時のAw 0.962から1.5か月で低下し、Aw 0.842～0.873となった。漬け汁が豆腐へ染み込み平衡化されたと考えられた。3か月まで低下し続けた豆腐ようも見られ、Aw 0.834～0.869となった。熟成中は、豆腐のAwが低下に時間を要するものの、漬け汁では0.88以下を維持しているため、酵母制御はできていると考えられた。

漬け汁のアルコール濃度は熟成1.5および3か月後でのすべての試験区で1.5%前後を示した（データ提示なし）。

3-3-2 ホルモン態窒素量の変化

熟成によるタンパク質の分解を比較するため、豆腐の熟成中のホルモン態窒素量を測定した。測定値はDunnet検定による多重比較検定を行った。結果を図9に示す。漬込み時におけるそれぞれの前処理豆腐のホルモン態窒素量を比較したところ、ケカビ、白カビおよび青カビでそれぞれ0.192、0.283、0.392 g/DW 100 gを示し、対照よりP<0.05で有意に高かった。テンペは0.076 g/DW 100gで、対照との差は認められなかった。ケカビ、白カ

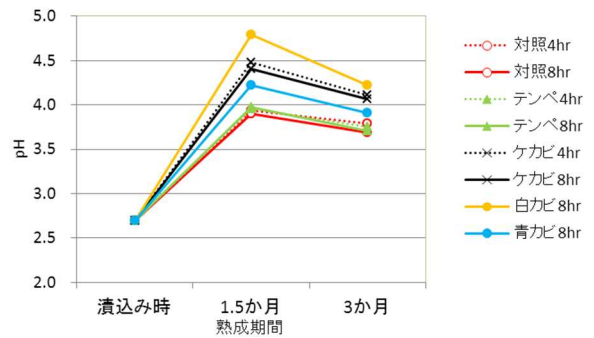


図6 熟成中の漬け汁のpH

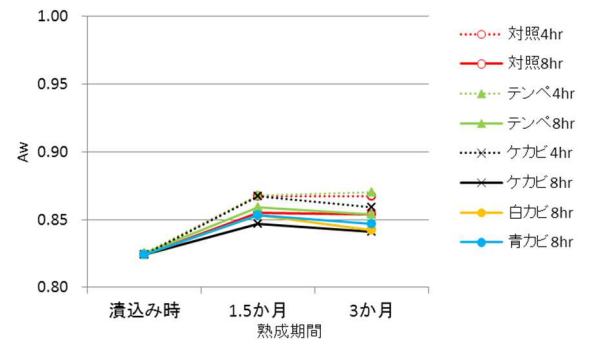


図7 熟成中の漬け汁のAw

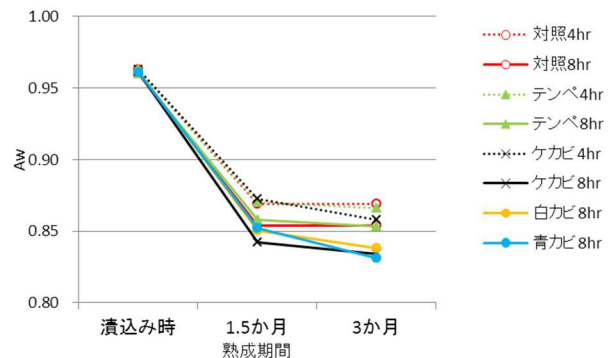


図8 熟成中の豆腐のAw

ビおよび青カビはカビ付けにより豆腐のタンパク分解が進んだと考えられる。

それぞれの前処理豆腐において、熟成期間のホルモン態窒素量の比較を行ったところ、対照、テンペ、ケカビおよび白カビでは、1.5および3か月は漬込み時よりも有意に高くなった。3か月後の値はそれぞれ0.436、0.351、0.327、0.365 g/DW 100 gを示した。青カビでは漬込み時と1.5および3か月の間で有意差は認められず、3か月後は0.366 g/DW 100 gを示した。対照、テンペ、ケカビ、白カビは漬込みによりタンパク分解が進んだ一方、青カビでは認められなかった。熟成の進行に伴う豆腐成分の変化としてはタンパク質の分解が最も特徴的であるが、還元糖の増加といった糖類の分解も明らかとなっている⁶⁾。今回のカビ付け豆腐を用いた豆腐の熟成では、風味に影響する成分の変化について検討の余

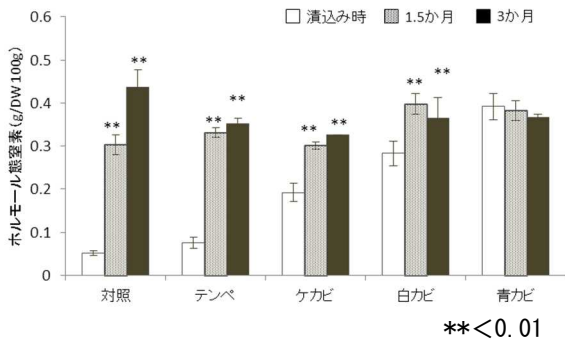


図9 8時間乾燥の豆腐におけるホルモール態窒素量

地がある。

3-3-3 破断応力の変化

熟成による物性の変化を比較するため、外側の破断応力を測定した。測定値について、Dunnett検定による多重比較検定を行った結果を図10、11に示す。4時間乾燥において、対照およびテンペではそれぞれの漬込み時 10.0×10^5 Paと比較して、1.5および3か月で有意に低下した。3か月後の破断応力は対照で 2.2×10^4 Pa、テンペで 4.4×10^4 Paとなった。ケカビでは有意差は認められず、漬込み時から3か月まで $6.6 \sim 8.3 \times 10^4$ Paを示した。

8時間乾燥において、対照およびテンペではそれぞれの漬込み時 19.1×10^4 Pa、 22.4×10^4 Paと比較して、1.5および3か月は有意に低下した。3か月後の破断応力は対照で 3.7×10^4 Pa、テンペで 8.8×10^4 Paとなった。ケカビおよび青カビでは漬込み時の 11.3×10^4 Pa、 3.7×10^4 Paよりも1.5、3か月は有意に高く、有意水準はそれぞれ $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ であった。白カビでは漬込み時と1.5か月間で有意差はなく、いずれも 12.4×10^4 Paを示した。3か月は 15.4×10^4 Paと有意に高くなり、ばらつきも大きかった。漬込み時の破断応力は対照とテンペよりも、ケカビ、白カビおよび青カビが低い傾向を示し、カビ付けにより豆腐のタンパク質が分解され柔らかくなったと考えられた。これは、ホルモール態窒素量が増加した結果からも推察される。

3-3-4 食味評価

熟成3か月後の食味評価を表3に示す。対照、テンペおよびケカビでは、4および8時間乾燥で食感の違いが認められた。対照は8時間、テンペは4および8時間、ケカビでは4時間でなめらかさがあり、良好な硬さとの評価だった。白カビおよび青カビでは、いずれも硬くもろい食感だった。食味ではいずれの豆腐においても、乾燥時間による大きな違いはなく、すべてに共通して強い塩味との評価だった。個々の特徴としては、対照は大豆香、テンペでは旨味のある濃い味、ケカビは甘味や苦

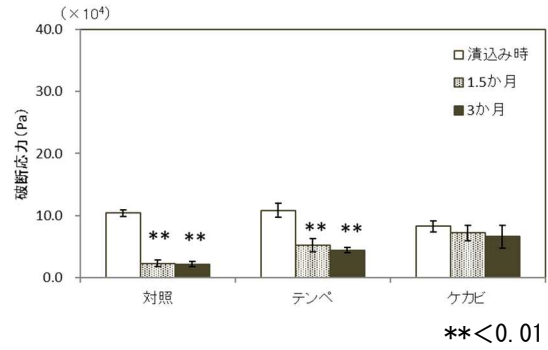


図10 4時間乾燥の豆腐における破断応力

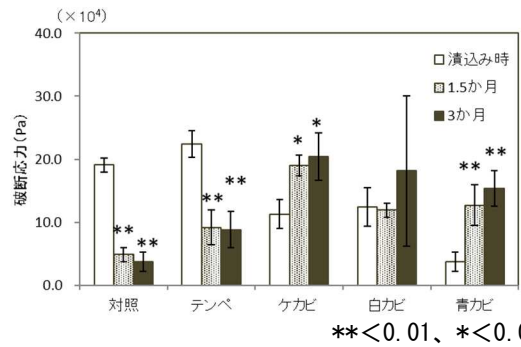


図11 8時間乾燥の豆腐における破断応力

味、チーズ様の濃厚な味だった。白カビではチーズ様の味とカビ臭、青カビでは甘味と苦味、チーズ様の味やフルーツ様の香りとの評価だった。

それぞれで特徴的な食感と風味があり、そのまま喫食する他にも、ソースやドレッシング、サラダのトッピング等、様々な活用が期待できる。また、もろく硬いという評価は必ずしもネガティブではなく、チーズ様の代替食品という位置づけで商品開発の可能性はある。

表3 各豆腐における熟成3か月後の食味

	物性	風味
対照4hr	柔らかい ねっとり	強い塩味、酸味あり 大豆香
対照8hr	なめらか 4時間より弾力あり 良好な硬さ	強い塩味、酸味あり 大豆香、味噌醤油感
テンペ4hr	キメあり なめらか	塩味酸味強い 複雑な風味、旨味あり
テンペ8hr	やや硬い 良好な弾力	塩味酸味強い 濃い味
ケカビ4hr	なめらか ねっとり	強い塩味 甘味苦味あり、チーズ様
ケカビ8hr	硬い もろい	旨味甘味苦味あり 濃厚、チーズ様、ややカビ臭
白カビ8hr	硬い もろい ねっとり	強い塩味、苦味あり チーズ様 カビ臭あり
青カビ8hr	硬い もろい	強い塩味 甘味苦味あり チーズ様、麴臭 フルーツ様の甘い香り

4 まとめ

用途拡大や新しい顧客層の獲得を目的とした新しい豆腐ようの開発のため、低アルコール漬け汁による熟成および豆腐へのカビ付けを検討した。pH 3.0以下、Aw 0.88以下、アルコール濃度3.0%に調整した低アルコール漬け汁と酸処理豆腐を50℃で4および8時間乾燥させた乾燥豆腐を用いて、試作試験を行った。

- 1) 乾燥豆腐へのカビ付けを行ったところ、テンペ、ケカビ、白カビおよび青カビが生育し、納豆菌は生育しなかった。
- 2) カビ付けなしを対照に、上記4株によるカビ付け豆腐を用いて豆腐ようを試作した。熟成中は漬け汁のAwは0.88以下を維持し、微生物制御できていた。
- 3) カビ付け豆腐は対照よりホルモール態窒素量が増加し、破断応力は低下した。いずれの豆腐ようも熟成が進み、それぞれで特徴的な食感と風味を持つ低アルコール豆腐ようとなった。

本研究は、経常研究課題「黒麹菌を用いた新しいとうふようの開発（2021技005）」および受託研究課題「黒麹菌を用いた新しい豆腐ようの開発（事業名：令和4年度 南方資源利用技術研究会研究助成）」により実施した。

参考文献

- 1) 西山美樹, 江崎秀男, 森久美子, 山本晃司, 加藤丈雄, 中村好志: 豆乳を用いたチーズ様食品の調製とその抗酸化性および特性, 日食科工, 60 (9), 480-489 (2013)
- 2) 山元泰, 東和男, 好井久雄: エタノールの抗菌作用, 日食工, 31 (8), 531-535 (1984)
- 3) 石井泰造, 63-64, 「微生物制御実用事典」, (株)フジテクノシステム, 東京 (1993)
- 4) 藤井建夫, 85-88, 「微生物制御の基礎知識」, 中央法規出版株式会社, 東京 (1997)
- 5) 川端史郎: 白カビチーズに特徴的な香り成分とその生成経路, ミルクサイエンス, 59 (3), 303-307 (2010)
- 6) 安田正昭, 松本哲也, 坂口真樹, 金城さきえ: 紅麹と黄麹の併用によるとうふようの製造, 日食科工, 42 (1), 38-43 (1995)

Development of new Tofuyo

Tomoyo MOCHIZUKI, Tetsuya TOYOKAWA, Akari KINJO*¹, Takako TAMAMURA*²,
Hideo NAKAMOTO, Yuma GUSHIKEN

Okinawa Industrial Technology Center

*¹Okinawa Industrial Technology Center (currently Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch)

*²Okinawa Industrial Technology Center (currently Manufacturing Promotion Division, Okinawa Prefectural
Government)

We examined maturing by low alcohol dipping sauce and inoculation of useful bacterium (hereafter molding) to tofu as the development of new Tofuyo for the purpose of application expansion and the acquisition of a new customer layer. Since microbiological control is required for realizing a low-alcohol product, we conducted Tofuyo trial manufacturing tests by molding using a low-alcohol dipping sauce adjusted to a pH of 3.0 or less, Aw of 0.88 or less, and alcohol concentration of 3.0%, and dried tofu that was dried for four and eight hours at 50°C. Molding was performed by tempeh, mucor, film yeast, and penicillium. For Tofuyo by molding tofu, the formol condition nitrogen rate increased in comparison with non-molding tofu (control), and break power was reduced. Maturing of either Tofuyo was promoted while maintaining the Aw of the dipping sauce at 0.88 or less, which enables microbiological control, and low-alcohol Tofuyo having characteristic food feeling and flavor could be manufactured.

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。