

# 豆類の新規な食材としての利用に関する研究（第1報）

- 大豆を用いた機能性食品の開発 -

（平成8年度）

研究開発課 木村美香、永草 淳

## 1. 研究の目的と概要

大豆は、古くから良質なタンパク質と脂質に富む栄養源として知られてきたが、近年、種々の生理活性を持つ素材として注目されている。特に最近では大豆に含まれる、

イソフラボンと総称される個々の成分が骨粗しょう症に予防効果があると報告され、また、酸化性等の他機能についても多くの研究がなされている。このような機能性が見出される中、大豆は今後、高齢化社会を迎える我々にとって、大いに期待できる食材であると考えられる。また、十勝地域は大豆の産地として知られているが、日本での大豆自給率は低下を辿り、その高付加価値化による消費拡大が望まれている。

このような背景を基に、当センターでは新規に帯広市農業技術センターと共同研究により、十勝大豆を用いた機能性食品の開発を目的とした試験に取り組むこととなった。今年度は十勝管内の主要品種について、イソフラボンの定量比較を行い、加工開発に可能性が見込まれる品種の選定を行ったので報告する。

## 2. 試験研究の方法および結果

### 1) 試験材料

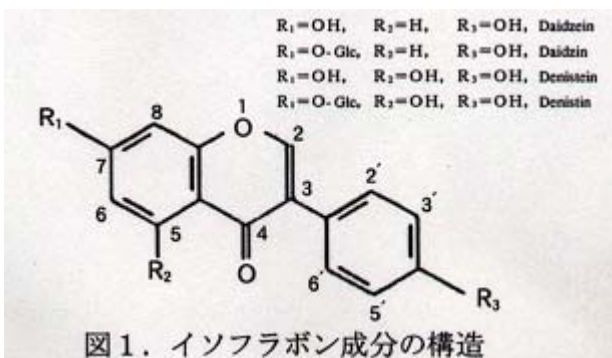
試験材料は十勝農業試験場圃場にて平成8年に収穫されたものについて、提供を受け、試験を行った。品種はトヨムスメ、トヨホマレ、カリユタカ、トヨコマチ、キタホマレ、キタムスメ、北見白、スズマル、スズヒメ、音更大袖、大袖の舞、中生光黒、晩生光黒、トカチクロの14種類で比較検討した。また、帯広市川西地区の農家生産圃場で収穫されたものについても数品種補充試験を行った。

### 2) 一般分析

各乾燥選別されたサンプルについて、0.5mm以下に粉碎し、一般成分として、水分、タンパク質、脂質、灰分の測定を行った。その結果、トヨムスメ、トヨコマチ、晩生光黒でタンパク質含量が高かった。全体的に見ると黄大豆の白目品種が比較的たんぱく質含量が高く、豆腐加工適性に優れていると思われる。対照的にタンパク質含量がやや低いと思われるスズヒメ、音更大袖、北見白では脂質含量が高い傾向にあった。

### 3) イソフラボン抽出条件の検討

イソフラボンのうち、主要成分であるダイズイン、ゲニスチンおよびそれらのアグリコンであるダイゼイン、ゲニステイン [ 図1参照 ] について定量を行った。大豆粉末サンプルを既存の方法に基づき、80%メタノール溶液を用いて抽出した。まず、サンプル1gを50ml溶媒で、室温3時間と17時間攪拌抽出し、比較したところ、各成分の抽出量に違いは見られなかった。更に、室温3時間と60・3時間抽出を比較した場合、60抽出で極性の高い配糖体で抽出率が2倍以上に向上し、クロマトグラム上の他成分ピークの減少も見られなかったことから、60抽出条件を選定した。また、大豆は油脂含量が高く、抽出サンプルに混入した油脂によるクロマトグラム上のピーク分離劣化が著しいため、ジエチルエーテル脱脂後サンプルを同様に抽出したところ良好な結果が得られた。



#### 4) イソフラボンの定量

3)の結果を基に、各粉末大豆サンプル 1g を遠沈管にとり、50ml のジエチルエーテルで室温、2 時間振とう脱脂し、得られた脱脂粉末を 80%メタノール溶液で 60、3 時間振とう抽出した。抽出液は遠心分離 (3000rpm、10 分) 後、上澄液をフィルター濾過し、HPLC (高速液体クロマトグラフィー) 分析に供した。

HPLC 分析の結果、どのサンプルでも、配糖体の形であるダイズイン、ゲニスチンの割合が多く、それらのアグリコンの約 100 倍の濃度で含有していた。品種別に比較すると、ダイズインは音更大袖が圧倒的に多く含有しており、そのアグリコンであるダイゼインでは同じく音更大袖、そして晩生光黒、トヨムスメが高かった。また、ゲニスチンではカリユタカ、キタムスメ、スズヒメ、音更大袖が高く、そのアグリコンであるゲニスチンではスズヒメ、カリユタカが圧倒的に多かった。これらの 4 成分の合計値では音更大袖、キタムスメ、カリユタカの順に含量が高くそれらの機能性が期待されるものと考えられる。また、この 3 品種は十勝での作付割合も高く加工開発によるメリットも大きいと考えられる。

なお、今回使用した品種のうち、トヨムスメ、カリユタカ、スズヒメ、大袖の舞について、帯広市川西地区の農家圃場で収穫されたものを農業技術センターを通して入手し、同様の試験を行ったところ、合計イソフラボン含量は同品種でほぼ一致した。この結果から、これらの成分含有量は品種間による差が大きいことが推測された。

#### 5) イソフラボンの構造変化

その他の特長として、今回の分析で得られた HPLC クロマトグラムのうち、音更大袖の抽出液に今回定量したものの以外の成分が 2 大ピークとして認められた。文献データから、これらはイソフラボン配糖体のグルコース 6 位部分が修飾されたものと思われた。このような成分はある程度の加熱により通常配糖体に変化することが報告されていることから、音更大袖の抽出液をメタノール濃縮除去後、水に再懸濁し、100、60 分加熱を行ってから HPLC 分析を行ったところ、これらの成分量は大きく減少すると同時にダイズイン、ゲニスチンの含量が 1.5 倍以上に増加した。また、配糖体成分自体は大豆自身が持つ  $\beta$ -グルコシダーゼあるいは発酵等の加工過程で与えられる同酵素によってアグリコンに分解されることが報告されている。この確認試験として、音更大袖抽出液をメタノール除去したものについて、市販  $\beta$ -グルコシダーゼを添加し、40、3 時間反応させて HPLC 分析を行った。その結果、ダイズイン、ゲニスチンのピークは、ほぼ消失し、ダイゼイン、ゲニスチンの含量が激増した。以上のことから、大豆の加工条件により、イソフラボンの形態は変化することが明らかであり、目的とする成分に合わせた加工設計がある程度可能である。特にみそ等の発酵食品において、目的とする機能がうまく発現するような条件を検討すれば、現存加工品と差別化された食品開発が期待されると考える。

### 3. まとめ

十勝管内の主要品種である大豆 14 品種について、イソフラボンの定量を行ったところ、音更大袖、キタムスメ、カリユタカで含有量が高かった。また、成分によってはトヨムスメ、スズヒメ、晩生光黒も含量が高かった。中でも音更大袖はイソフラボン関連成分が極めて高く、その生理活性が期待される。今後は、各成分の抗酸化性の検討、今回選定した品種の最適な加工条件の検討を味覚等の要因もふまえて行いたい。

#### 謝 辞

本試験を行うにあたり、資料提供にご協力いただきました北海道立十勝農業試験場豆類第一科様に謝意を表します。

# 豆類の新規な食材としての利用に関する研究（第2報）

- 大豆を用いた機能性食品の開発 -

（平成9年度）

研究開発課 川原美香、永草 淳

## 1. 研究の目的と概要

大豆は、古くから良質なタンパク質と脂質に富む食材として知られてきたが、近年種々の生理活性を持つ素材としても注目されている。特に最近では大豆に含まれるイソフラボンと総称される個々の成分が骨粗鬆症に予防効果があると報告され、また、抗酸化性等の他機能についても期待されている。大豆は十勝の代表的な農産物の1つであり、その機能性を生かした食品の開発は地域に意義あることと考えられる。

このような背景を基に、当センターでは昨年度から帯広市農業技術センターと共同研究により、十勝大豆を用いた機能性食品の開発に取り組むこととなった。これまでの試験で大豆のイソフラボン含量は地域間差よりも品種間差が大きいことがわかっており、その構造は発酵食品で大きく変化することが示唆された。そこで、今年度は主に味噌発酵中のイソフラボンの推移と抗酸化性について検討したので報告する。

## 2. 試験研究の方法

### 1) 輸入大豆との比較

昨年の試験で、十勝で栽培されている大豆 14 品種のイソフラボン含量を測定したところ、特に音更大袖、キタムスメ、カリユタカで含有量が高い結果になった。今年度は、その中でも最もイソフラボン含量が高かった音更大袖について、市場での個体差（農業試験場 1、農家 1、雑穀店 3、販売店 1）の確認と H8 年産アメリカ産大豆（ピントン 81）および H7 年産中国産大豆との比較を行った。イソフラボンの測定は、粉碎したサンプルを脱脂後、80%メタノールで抽出した溶液を、高速液体クロマトグラフを用いて行った。定量成分は、主要なイソフラボン成分であるダイズイン、ゲニスチン、およびそれらのアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインの 4 種類で行った。

### 2) 味噌発酵中のイソフラボン量の推移

音更大袖大豆を用いて、辛口白味噌を仕込み、熟成中のイソフラボン量の推移を測定した。麴は市販品の米麴と米・麦（1:1）麴の 2 通りを用いて 25℃ 恒温器熟成を 6 ヶ月間行ったものと、米麴で室温熟成を 9 ヶ月間行ったものとの計 3 種類を経時的に定量した。また、それぞれのサンプルについて、油系、水系での抗酸化性の測定も併せて行った。測定はみそ抽出液をサンプルとして、次の方法により行った。油系：リノール酸の酸化物について塩化アルミニウムを用いた微量比色法により測定。

水系：1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)を用いた比色法により測定。

### 3) 大豆以外の原料の検討

味噌用麴菌を 9 種類入手して麴を調製し、それぞれのアミラーゼ活性、プロテアーゼ活性を測定した。各麴と音更大袖を用いて味噌を仕込み、異なる特性の麴を用いた味噌でイソフラボンの推移と抗酸化性に影響があるか調べた。また、市販の米麴を用い、大豆タンパク分解物や酵素添加した味噌も調製し、イソフラボンとの相乗効果により抗酸化性の向上が見られるか検討した。

### 4) 市販の味噌の調査

味噌は日本全国で地域特性のある様々なタイプのものが市販されている。そこで、それらのうち、代表的な味噌 9 品目について、イソフラボン含量と抗酸化性の試験を同様に行い、特徴を調べた。

### 3. 試験研究の結果および考察

#### 1) 輸入大豆との比較

昨年の試験でイソフラボン含量の高かった音更大袖大豆について、市販品を含め6カ所から入手し、バラツキを調べた。その結果、いずれも昨年と同様に高い含量を示し、イソフラボン含量は品種特異性があることが示唆された。また、輸入大豆である、アメリカ産大豆、中国産大豆と比較したところ、いずれもダイズイン、ゲニスチン含量が音更大袖よりも低く(5割~7割程度)、合計量でも明らかに低い結果となった。なお、それらの輸入大豆の合計イソフラボン含量は、昨年度試験した品種のカリユタカ、キタムスメよりもやや低い結果であった。これらの結果から、特にイソフラボン成分に着目した場合、音更大袖は高い含量が期待できる品種であり、外国産の大豆とも差別化が可能であると思われる。この原料を用いて、よりイソフラボンの機能が高まるような加工を行えば、高付加価値の食品開発も期待出来ると考えられた。

#### 2) 味噌発酵中のイソフラボン量の推移

ダイズイン、ゲニスチンは発酵過程で麹の $\alpha$ -グルコシダーゼの作用を受け、そのアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインに変化することが考えられた。そこで、味噌発酵中のそれらの成分の推移を調べたところ、発酵開始からほぼ1~2ヶ月目でダイズイン、ゲニスチンは急激に減少すると同時にそれらのアグリコンは増加しており、これらの成分変化は発酵の早い時期に起こっていることが分かった。また、一度減少したダイズインは、その後、経時的にわずかながら増加していた。抗酸化性では油系については、成分の変化が見られた発酵開始から約1.5ヶ月後に活性が増しており、その後は大きな変化は見られなかった。水系では、熟成が進むにつれて、抗酸化性が増していた。麹別では麦麹を加えたものの方が幾分活性が強い傾向があった。それらの活性とイソフラボン成分との相関を調べたところ、特にダイゼイン、ゲニステイン含量と正の相関が見られた。

#### 3) 大豆以外の原料の検討

活性の異なる麹を用いた味噌と大豆タンパク質、酵素量を強化した味噌において、いずれも際だった差や効果は認められなかった。

#### 4) 市販の味噌の調査

市販の味噌9品目について、イソフラボン量と抗酸化性を調べたところ、いわゆる八丁味噌と呼ばれる豆麹味噌が最もイソフラボン含量が高く、油系・水系両方において、抗酸化性も高かった。これは大豆含量がまさに影響していると考えられた。西京味噌のようなタイプでは全く逆の傾向があった。

### 4. まとめ

昨年度の試験と同様に、十勝産大豆の品種の中でも音更大袖はイソフラボン含量が高く、輸入大豆と比較しても差別化が可能であると思われる。また、同大豆を用いて味噌加工試験を行ったところ、イソフラボン組成の変化とともに、抗酸化性が増しており、特にダイゼイン、ゲニステインとの関連が期待された。本試験では、主に米麹味噌を中心に検討したが、大豆含量が高いほど機能性は期待されるので、今後、豆麹味噌や浜納豆のようなタイプの食品も検討したい。また、イソフラボンの抗酸化性は他の成分との相乗効果が考えられるので、その点も併せて検討したいと考える。

### 謝 辞

本試験を行うにあたり、抗酸化性の測定方法についてご指導いただきました帯広畜産大学生物資源化学科の小嶋助教授にお礼を申し上げます。

# 豆類の新規な食材としての利用に関する研究（第3報）

- 大豆を用いた機能性食品の開発 -

（平成10年度）

研究開発課 川原美香、永草 淳

## 1. 研究の目的と概要

大豆は、古くから良質なタンパク質と脂質に富む食材として知られてきたが、近年種々の生理活性を持つ素材としても注目されている。特に最近では大豆に含まれるイソフラボンと総称される個々の成分が骨粗鬆症に予防効果があると報告され、また、抗酸化性等の他機能についても期待されている。大豆は十勝の代表的な農産物の1つであり、その機能性を生かした食品の開発は地域に意義あることと考えられる。

このような背景を基に、当センターでは平成8年度から帯広市農業技術センターと共同研究により、十勝産大豆を用いた機能性食品の開発に取り組むこととなった。

これまでの試験で、輸入大豆と比較してイソフラボン含量の高い品種を十勝産大豆にいくつか見出した。また、イソフラボンの構造は特に発酵食品で大きく変化することから、前報では味噌中のイソフラボンの推移と抗酸化性との関連を調べた。今年度はイソフラボンの主な摂取源である食品として豆腐、納豆に着目し、その加工工程におけるイソフラボンの推移とその他の食品への応用を検討したので報告する。

## 2. 試験研究の方法

### 1) 浸漬、加熱工程中のイソフラボンの損失

大豆の加工品はきな粉以外はほとんど水浸漬後、加熱工程がとられる。そこで、それらの工程中にイソフラボンがどの程度損失するかを調べた。浸漬条件は大豆に対して4倍量の水を加え、10 および 20 で約1日間吸水させた。数時間おきに浸漬大豆と浸漬水をサンプリングし、イソフラボンの定量を行った。イソフラボンの測定は、80%メタノールで80、8時間抽出した溶液を、高速液体クロマトグラフを用いて行った。定量成分は、主要なイソフラボン成分であるダイズイン、ゲニスチン、およびそれらのアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインの4種類で行った。また、16時間浸漬させた大豆を5倍量の水で煮熟し、加熱処理中のイソフラボン含量の推移を同様に調べた。

### 2) 納豆、豆腐製造工程中のイソフラボンの推移

十勝産大豆を用いて納豆を製造しているメーカーより原料大豆、浸漬大豆、煮上がり大豆、製品の納豆をサンプルとして提供していただき、イソフラボンの分析を行った。また、輸入大豆を用いた納豆も併せて分析し、比較した。

豆腐は市販の音更大袖大豆を用い、通常の手作り豆腐の方法に従い試作し、各工程でサンプリングしてイソフラボンの定量を行った。工程は大豆浸漬 摩砕 加熱 圧搾 ニガリ添加(塩化マグネシウム使用) 成型の順に行い、木綿豆腐約10丁分(原料大豆3kg)を試作した。

### 3) その他の大豆加工品

市販されている大豆製品のうち、イソフラボン残存量が高いと思われる大豆ドライパック製品、おし大豆、また、抗酸化性が期待できる発酵食品として浜納豆、豆腐の味噌漬のイソフラボン含量を測定した。また、浜納豆、豆腐の味噌漬、大豆アイスクリームの試作を実際に行い、それらのイソフラボン含量を測定した。

### 4) 各大豆製品の抗酸化性

分析に用いた各サンプルの抗酸化性について1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)を用いた比色法により測定した。また、イソフラボン標準品と他の成分との関連を調べるため、トコフェロールと大豆煮汁液との相乗効果について調べた。

### 3. 試験研究の結果および考察

#### 1) 浸漬、加熱工程中のイソフラボンの損失

10 浸漬の場合、22 時間後に流出しているイソフラボン総量は大豆の 0.1%で、20 浸漬の場合でも、同時間で 0.4%程度であった。各成分ごとに比較しても 1 %にも満たなく、浸漬工程中、大豆からのイソフラボンの損失はほとんど考慮しなくても良いと思われた。加熱工程中は煮汁等へ 10~30%の流出が見られた。

#### 2) 納豆、豆腐製造工程中のイソフラボンの推移

メーカーから提供を受けた納豆用サンプルについても浸漬大豆ではイソフラボンの損失は見られず、蒸煮大豆で 17%の損失、出来上がりの製品で約 30%の損失であった。原料から製品へのイソフラボン回収率は 72%と高く、イソフラボン含量の高い十勝産大豆を用いれば、納豆からも多くのイソフラボン (2314 $\mu\text{g}/\text{g}$ ) を摂取出来ると考えられた。また、イソフラボン含量の低かった輸入大豆の納豆では原料中の含量がそのまま影響して、製品でも低い結果(846 $\mu\text{g}/\text{g}$ )となった。

豆腐の場合、原料、浸漬大豆、摩砕した呉汁まではイソフラボン含量は変わらず、加熱後の圧搾により、豆乳とおからに分けられた時点で約 20%の損失が見られた。

イソフラボンは熱安定性が高いことから、この損失は作業によるものと考えられた。また、本試験の工程では豆乳とおからへのイソフラボンの移行は 9:1 であり、摩砕後の加熱でほとんどのイソフラボンが豆乳に抽出されたことがわかった。その後、豆乳をニガリで固めて木綿豆腐に整形すると豆腐部分から分量に相当するイソフラボンが流出液に移行していた。最終的な豆腐のイソフラボン回収率は 36%であったが、少量ロットによるロスが懸念されるため、工場レベルではもう少し高くなると考えられた。

#### 3) その他の大豆加工品について

昨年度の試験で、味噌の中でも八丁味噌のような大豆含量が高い製品はイソフラボン含量も高く、抗酸化性も高かったことから、今年度は大豆のまま発酵させる浜納豆を試作した。浜納豆はまさに大豆に含まれる成分が反映されており、発酵中の酵素反応によりダイゼイン、ゲニステインがほとんどを占めていた。また、豆腐の味噌漬けを試作したところ、味、物性とも良いものが得られ、大豆産地としてイソフラボン豊富な商品として製造するのに適していると思われた。また、黒大豆豆乳を用いたアイスクリーム(分類:氷菓)は大豆臭を抑えるために加水加熱後、摩砕して豆乳を調製したため、イソフラボン回収率は 50%と通常の豆乳よりは低い結果となったが、豆乳を全て牛乳の代用として使用できることから、アイスクリームの状態でもイソフラボンの摂取は期待できた。また、同加工品は黒大豆の色素を生かして明るい赤色を出すことも可能であった。

#### 4) 各大豆製品の抗酸化性について

分析に供したサンプルの抗酸化性を測定したところ、大豆としては黒大豆が高く、大豆含量の高い製品または発酵食品で抗酸化性が高い結果となった。また、イソフラボンと - トコフェロール、大豆煮汁との相乗効果は認められなかった。

### 4. まとめ

十勝産大豆を用いて加工工程中のイソフラボンの推移を調べたところ、浸漬中にはほとんど流出は見られず、加熱以降の処理がイソフラボンの損失量に影響すると考えられた。市販納豆、手作り豆腐のイソフラボン回収率はそれぞれ 72、36%であり、特に納豆では原料大豆に含まれるイソフラボン量がそのまま影響していた。その他、イソフラボン残存量の高いドライパック等の製品や、大豆を用いた発酵食品である浜納豆や豆腐の味噌漬けのような地域特産品もイソフラボンの機能性あるいは抗酸化性を P R する食品として期待できると考えられた。

### 謝 辞

本試験の実施にあたり、サンプル提供にご協力をいただきました日向醗酵食品(株)様にお礼を申し上げます。