

大豆抽出液の熱加工による新食品素材の製造とその特性

北畠直文*・藤田由紀

京都大学食糧科学研究所

Preparation and Characterization of Novel Food Materials from Soybean Extract by Heat Treatment

Naofumi KITABATAKE and Yuki FUJITA

Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611-0011

ABSTRACT

Defatted soybean extract was dialyzed against distilled water at pH 7.5. The dialysate was a transparent solution having less beany flavor. Change in the aldehyde level of defatted soybean extract during dialysis was measured with aldehyde dehydrogenase purified from bovine liver mitochondria. Aldehyde level was markedly dropped by 3 h dialysis and it became below the measurement limit by the enzyme method after 20 h dialysis, and the beany flavor could not be detected after 6 h dialysis. Since it is known that aldehyde dehydrogenase is able to oxidize the aldehydes bound on the protein molecules, it seems that such aldehydes should be removed by dialysis of defatted soybean extract against distilled water at pH 7.5. Soybean protein was precipitated by acid precipitation method and dissolved by neutralization, and precipitated again. This treatment was repeated three times. The aldehyde level in the neutralized solution was measured. By the first precipitation aldehyde level was lowered remarkably, while the second and third precipitation could not give marked reduction of aldehyde level, suggesting that the bound aldehydes on protein molecules could not be eliminated by the precipitation method. From these results acid precipitation of soybean protein may bind or incorporate aldehydes in the defatted soybean protein extract and such aldehydes before acid precipitation could be removed by dialysis against water at pH 7.5. *Soy Protein Research, Japan* **2**, 28-32, 1999.

Key words : soybean extract, soybean flavor, soybean isolate protein, removal of aldehydes

大豆たん白質を加熱すると通常白濁するが、中性pH、低イオン強度下で加熱すると、白濁凝集が抑制され、透明度の高い液が得られる。これは加熱変性大豆

たん白質分子の可溶性凝集体からなると考えられる。この液に塩を添加すると、安定かつ弾力性に富んだゲルを形成し、その物性は従来のもとは大きく異なる¹⁾。この現象は卵白アルブミン、牛血清アルブミンなどのアルブミン系のたん白質²⁻⁴⁾、ならびに牛乳乳清たん白

*〒 611-0011 宇治市五ヶ庄官有地

質に含まれるグロブリン系のたん白質⁵⁾についても見いだされている。

これまでの実験において、大豆たん白質の場合、脱脂大豆抽出液をpHを7.5に保持しつつ、蒸留水に対して透析を行う必要があることが明らかになっている。これは大豆たん白質の溶解度がpHに依存し、中性および弱酸性付近で敏感であり、十分な溶解性を得るためには、弱塩基性のpHを必要とするためである。この蒸留水透析脱脂大豆抽出液は大豆臭が少ない。この蒸留水透析脱脂大豆抽出液を凍結乾燥すると大豆粉が得られ、この大豆粉も大豆臭が著しく抑制されている。この大豆粉は容易に水に溶解し、これを加熱すると、粘稠な透明溶液状態を得る。得られた加熱処理蒸留水透析脱脂大豆抽出液に塩(NaCl)を添加しても透明性を保持し、さらに再加熱ならびに冷却をするとゲルが得られる。未加熱の脱脂大豆抽出液に比べ、ゲル化するたん白質濃度が低い。この再加熱ゲルは半透明であり、加熱で再融解し、このゲルは寒天やゼラチンゲルのように、冷却でゲル化、加熱で再融解する可逆ゲルであることがこれまでに明らかになっている¹⁾。また、加熱処理蒸留水透析脱脂大豆抽出液のたん白質濃度を高めて、塩(NaCl)を添加すると室温(30℃)以下の温度に放置するだけでゲル化する。加熱処理蒸留水透析脱脂大豆抽出液は低温に保持しても冷沈しない、などの興味ある現象が見い出されている。とりわけ、大豆たん白質を素材として利用する上において最も重要な阻害因子のひとつである大豆特有の臭いが、本方法を用いて調製した素材において、抑制されていることは、この素材の大きな特徴である。通常の酸沈澱分離大豆たん白質の場合、大豆臭がたん白質に強固に吸着していることが問題であるが、透析で容易にこの大豆臭が除去されることは、通常の酸沈澱の分離たん白質の臭い付着の原因を探る上でも興味がある。本研究では、臭いのもととなっているアルデヒドの量を、蒸留水透析脱脂大豆抽出液と酸沈澱の分離たん白質とについて測定し、その臭いとの関連について検討を加えた。

方 法

蒸留水透析脱脂大豆抽出液の調製法

低温脱脂大豆フレークに重量比で7倍量の蒸留水を加え、室温にて1時間攪拌し、得られた懸濁液を遠心処理(5,000×g)に供し、抽出液を得た。この脱脂大豆抽出液に希水酸化ナトリウム水溶液を加え、pHを7.5に調整後、蒸留水に対して透析を行った。透析時間は、1時間から6時間まで変えた。透析後の液を直接、

アルデヒドの定量(後述)に用いた。

大豆分離たん白質の調製

脱脂大豆粉に重量比で20倍量の蒸留水を加え、室温にて1時間攪拌した。この懸濁液を遠心処理に供し、抽出液を得た。この抽出液のpHを希塩酸の添加により4.5に調整し、たん白質を沈澱、回収し、蒸留水に溶解、中和後、不溶成分を遠心除去後、再び希塩酸の添加によりpH4.5に調整した。この操作を3度繰り返して、分離たん白質を調製した。たん白質濃度は280nmにおける吸収を用いて決定し、E1%を10として計算した。

牛肝臓ミトコンドリアアルデヒド脱水素酵素の調製⁵⁾

新鮮な牛肝臓を入手し、良くミンチし、ペースト状にした後、その5gを50mL容のポッター式ホモジネータに入れ、そこに0.25M蔗糖、0.1mMEDTA、0.1mMDTTを含む5mMTris-HCl緩衝液45mLを加え、250rpmで5回上下往復を行いホモジナイズした。その後、4枚のガーゼで濾過した後、500×g、4℃、10分間遠心を行い、細胞膜断片、核などを沈澱させ、上清を得た後、さらにこの上清を6,000×gで10分間遠心を行い、ミトコンドリアを含む沈澱画分を得た。この沈澱画分を上記緩衝液に溶解し、再度遠心を行い、沈澱を得た。この洗浄操作をさらに繰り返し、計3回行った。得られた画分を上記の緩衝液に懸濁し、超音波処理(マイクロソソXL、5分)を行い、10,000rpmで30分遠心によって、上清画分を得た。これをゲル濾過(Sephacryl S-200)に供して、活性画分を得た。

標準アルデヒド溶液の調製と牛肝臓ミトコンドリアアルデヒド脱水素酵素による標品中のアルデヒドの定量

0.1M NAD 0.01 mL, 0.25Mピロリン酸ナトリウム緩衝液, pH 9.3を1.20 mL, 0.1Mピラゾールを0.30 mL, アルデヒド脱水素酵素を0.10 mLおよび基質(*n*-hexanal, 大豆抽出液)を0.1から1.0 mL添加し、蒸留水を加えて計3.00 mLとして、酵素反応に伴うNADHの生成を340 nmの吸収増加によって、酵素活性を測定した。吸収の変化から、反応液中のアルデヒドの定量を行った。NADHのモル吸光係数は6,220である。

結果と考察

大豆特有の青臭い臭いは、ヘキサナールなどの中鎖アルデヒド類が原因であるとされている。事実、アルデヒド脱水素酵素やセミカルバジドなどを加え、アルデヒドの除去操作を行うと、青臭さが消失する⁶⁾。この中鎖アルデヒド類は、臭いの閾値が極めて小さいため、極低濃度の存在でその臭いが感知される。しかも

たん白質と相互作用をして、結合することが知られている。これが大豆たん白質の臭いとなっている。この臭いのために大豆たん白質の食品素材としての利用が阻まれてきた。これまでに数多くの大豆臭除去法が報告されている。その多くは、酸沈澱の分離たん白質を出発として脱臭の検討がなされてきた。これまでの我々の研究から、脱脂大豆抽出液を水に対して透析するのみで、良い脱臭効果が認められた。そこで、脱脂大豆抽出液を透析したときの大豆臭の原因物質であるアルデヒドの量の変化を見たのがFig. 1である。各時間透析後の抽出液中のアルデヒド濃度 (nmol/mL)、たん白質濃度 (mg/mL)、単位たん白質当たりのアルデヒド量 ($\times 50$ nmol/mg) を示している。アルデヒド濃度は1時間の透析でむしろ増大したが、これはアルデヒドがこの間に新たに生成したためと考えられる。これは3時間の透析で激減し、その後減少を続け、測定限界以下の量に達した。この段階ですでに大豆臭は感知できなかった。単位たん白質当たりのアルデヒド量 ($\times 50$ nmol/mg) の変化も同様の挙動であったが、たん白質を単離して結合アルデヒド量を測定しているのではないため、この値が必ずしもたん白質に結合しているアルデヒド量を正確に示しているわけではない。しかし、大豆臭が認められないこと、測定に用いたア

ルデヒド脱水素酵素がたん白質結合アルデヒドも基質として酸化する⁷⁾ことから、大豆たん白質に結合した状態で残存するアルデヒドは極めて少ないと考えられる。

次に、通常の酸沈澱法の場合、酸沈澱処理を繰り返すことによりアルデヒドがどのように減少するか調べた。脱脂大豆抽出液に酸を添加して、pH を 4.5 まで下げ、たん白質を沈澱させ、次いで NaOH で溶解して、その中和溶解液のアルデヒド濃度 (nmol/mL)、たん白質濃度 (mg/mL)、単位たん白質当たりのアルデヒド量 ($\times 50$ nmol/mg) を測定した (Fig. 2)。透析の場合と異なり、アルデヒド量が増加することはなく、沈澱を繰り返すことによりアルデヒド量の低下が認められたが、2 回目、3 回目では中和溶解液のアルデヒド濃度 (nmol/mL) ならびに単位たん白質当たりのアルデヒド量に大きい差異が認められなかった。これはアルデヒドが大豆たん白質に結合した状態で残存し、それらは酸沈澱操作では除去しえないのではないかと考えられ、これが分離大豆たん白質の臭いとなっている可能性がある。つまり、分離たん白質に結合しているアルデヒド類は水洗いや中和溶解・酸沈澱の繰り返しによっても、除去が困難であることが報告⁶⁾されているが、抽出後の大豆液中のアルデヒド類が透析で容易に除去されることから、酸沈澱操作によりアルデヒド類が大豆たん白質に強く結合して、除去しがたい状態になるものと考えられる。それに対して、大豆抽出液中のアルデヒド類は、相当量たん白質に結合してはいるものの、その結合は強固でなく、透析で容易に除去できるのではないかと推察した。尚、用いたアルデヒド脱水素酵素は、アルデヒドに対する K_m 値が著しく低く $1 \mu\text{M}$ 以下⁵⁾であり、Fig. 3 で示すように、 1 nmol 程度のヘキサナールを定量的に測定できる。実際には pmol オーダーまで迅速にアルデヒドを酸化するため、臭いの閾値以下まで濃度を下げることができ、脱臭効果を示すのである。

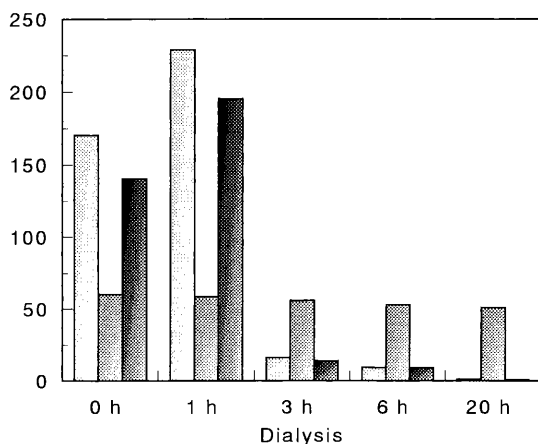


Fig. 1. Changes in protein concentration (left bar, mg/mL), aldehyde/protein (middle bar, $\times 50$ nmol/mg) and aldehyde concentration (right bar, nmol/mL) in defatted soybean extract during dialysis (0, 1, 3, 6 and 20 h) against distilled and deionized water at pH 7.5.

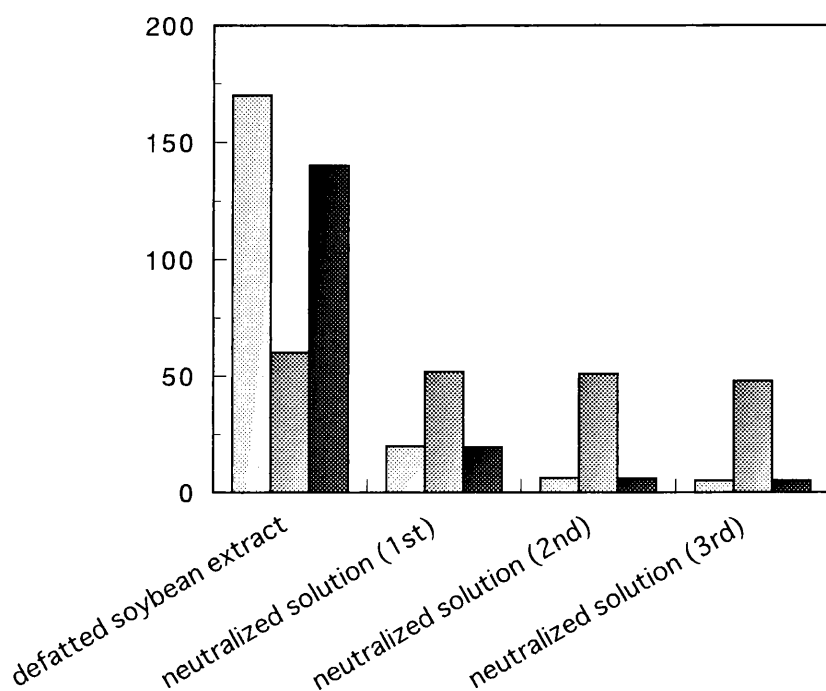


Fig. 2. Changes in protein concentration (left bar, mg/mL), aldehyde/protein (middle bar, $\times 50$ nmol/mg) and aldehyde concentration (right bar, nmol/mL) in defatted soybean extract by acid precipitation and neutralization.

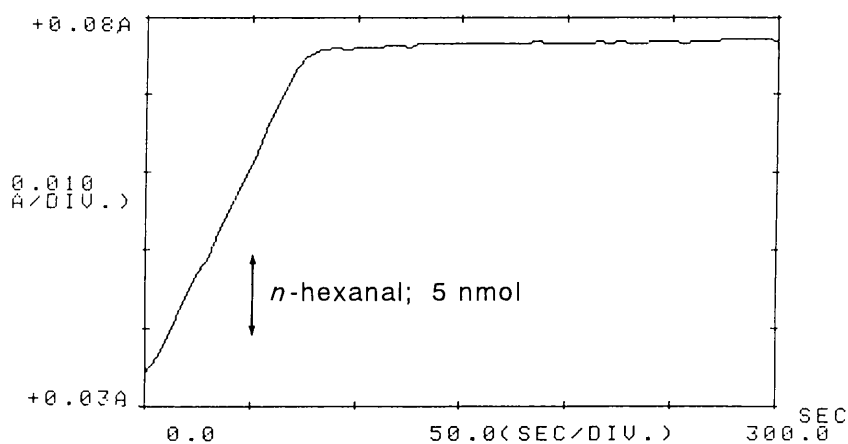


Fig. 3. Determination of *n*-hexanal with bovine mitochondrial aldehyde dehydrogenase. Change in absorbance at 340 nm from NADH by aldehyde dehydrogenase consuming *n*-hexanal dissolved in the medium.

要 約

大豆抽出液を通常の状態で加熱すると白濁するが、蒸留水に十分透析したのち加熱すると白濁せず半透明液が得られる。この半透明の蒸留水透析加熱処理脱脂大豆抽出液は、食品素材としての興味ある特色を示す。なかでも、大豆臭が通常の分離たん白質より少ないことが特徴の一つである。脱脂大豆抽出液を蒸留水に対して透析を行ない、その透析過程において大豆臭の原因になっていると考えられるアルデヒド量を牛肝臓のアルデヒド脱水素酵素を用いて測定した。透析に伴い、大豆抽出液の大豆臭ならびにアルデヒド量が激減し、その値は、大豆抽出液を酸沈澱して得られるいわゆる分離大豆たん白質より低い値を示した。脱脂大豆抽出液中のアルデヒド類は、相当量たん白質に結合してはいるものの、酸沈澱処理以前では透析などの操作によって容易に除去される。分離たん白質に結合しているアルデヒド類は水洗いや中和溶解・酸沈澱の繰り返しによっても、除去が困難であり、酸沈澱操作によりアルデヒド類が大豆たん白質に強く結合して、除去しがたい状態になるものと考えられる。

文 献

- 1) 北畠直文, 藤田由紀, 得丸定子 (1997): 大豆たん白質の熱加工による機能性の改良と透明ゲルの調製. 大豆たん白質研究会会誌, **18**, 31-36.
- 2) Kitabatake N and Doi E. (1993): Improvement of protein gel by physical and enzymatic treatment. *Food Rev Int*, **9**, 445-471.
- 3) Hatta H, Kitabatake N and Doi E (1986): Turbidity and hardness of a heat-induced gel of hen egg ovalbumin. *Agric Biol Chem*, **50**, 2083-2089.
- 4) Kitabatake N, Hatta H and Doi E (1987): Heat-induced and transparent gel prepared from hen egg ovalbumin in the presence of salt by two-step heating method. *Agric Biol Chem*, **51**, 771-778.
- 5) Takahashi N, Kitabatake N, Sasaki R and Chiba H (1979): Enzymatic improvement of food flavor I. Purification and characterization of bovine liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Agric Biol Chem*, **43**, 1873-1882.
- 6) Chiba H, Takahashi N and Sasaki R (1979): Enzymatic improvement of food flavor II. Removal of beany flavor from soybean products by aldehyde dehydrogenase. *Agric Biol Chem*, **43**, 1883-1889.
- 7) Chiba H, Takahashi N, Kitabatake N and Sasaki R (1979): Enzymatic improvement of food flavor III. Oxidation of the soybean protein-bound aldehyde by aldehyde dehydrogenase. *Agric Biol Chem*, **43**, 1891-1897.