

大豆の低温スチーミング調理における成分および食味の変動について

伊藤直子*・山崎貴子・堀田康雄・村山篤子

新潟医療福祉大学医療福祉学部

Alteration of Components and Tastes of Soybean during Low Temperature Steam Cooking

Naoko ITO, Takako YAMAZAKI, Yasuo HOTTA and Atsuko MURAYAMA

Department of Health and Nutrition, School of Health Sciences,
Niigata University of Health and Welfare, Niigata 950-3198

ABSTRACT

We have raised a nutritional value of soybean in low temperature steam cooking, presenting an alteration of chemical components and improved taste through sensory tests. A major sugar in soybean is maltose and no quantitative change after steaming has been observed. The analysis of soluble proteins using SDS-PAGE pattern indicated that every protein has an individual temperature dependent hydrolytic pattern. N-terminal amino acid analysis of 50 kDa protein in 75°C steaming and 37 kDa protein in 85°C indicated that β -conglycinin and glycinin were the products among them, respectively. Their endogenous protease activity is higher at 85°C than fresh, at 75°C, or 100°C steaming, and thus contributed to increased umami in soybean. Furthermore, the amount of remaining isoflavones after this low temperature steaming at 85°C was higher than at 100°C steaming or boiling. Rupture stress test indicated that the material steamed at 75°C presented as high value as fresh soybeans, but at 85°C it became lower after a longer time lapse. Sensory tests indicated that the steaming above 85°C were almost similar to general boiling and steaming at 100°C. We have concluded that the low-temperature steaming is useful for better method(s) of cooking to increase umami and nutritional function of soybean. *Soy Protein Research, Japan* **8**, 44-49, 2005.

Key words: low temperature steam cooking, protease, isoflavone, rupture stress, sensory test

*〒950-3198 新潟市島見町1398番地

日常の生活習慣の乱れによる生活習慣病の増加は、高齢社会の到来とともに国民医療費を増大させ、社会問題となっている。米を主食とする日本人にとって、大豆は適切なたん白質源とされてきた。大豆は消化に難点のあることから豆腐、豆乳等、種々の加工品が作られており、それらは近年健康食として注目されている。我々は今までに低温スチーミング装置を用い、サツマイモでの糖^{1,2)}の増加、ウシ中肉の軟化と旨味の増加等を報告してきた。大豆を低温スチーミング調理することにより、より旨味や栄養の優れた大豆調理および加工品が開発できるのではないかと考え、基礎的研究を行った。

方 法

試 料

大豆は、新潟県産エンレイ（2003年度産）を用いた。大豆を16～18時間、水道水に浸漬したものを生とし、75℃、85℃、100℃でスチーミングまたは100℃で茹でを行なった。スチーミングには低温スチーミング装置（ソフトスチーマATS-10, AiHO）を用いた。

成分分析

糖の測定：各温度でスチーミングを行なった大豆の重量に対して4倍量のエタノールを加え、乳棒乳鉢ですりつぶし、14,000 rpmで遠心した上清を試料容液とした。溶媒はアセトニトリル：20 mmol/Lエタノールアミン（7：3）を用い、HPLC（検出器 RID10A, 島津）にて検出を行なった。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動：大豆試料に対して2倍量の0.05 mol/Lリン酸緩衝液pH7.0（+プロテアーゼインヒビター）を加え、乳棒乳鉢ですりつぶし、14,000 rpmで遠心した上清を可溶性たん白質水溶液として、Laemmliの方法³⁾に従い、9%アクリルアミドゲルにて20 mA/plateで泳動を行なった。泳動後はCBB-R250で染色を行なった。

アミノ酸配列決定：上記条件でSDS-PAGEを行ない、CBB-R250で染色したゲルから目的のバンドを切り出したのち、透析膜中でゲルから電氣的に抽出したものを凍結乾燥により濃縮した。これをSDS-PAGE試料用緩衝液で溶解し、再びSDS-PAGEにかけ、Clear Blot Membrane-P（アトー）に転写し、エドマン分析法によるN末端アミノ酸配列分析によってアミノ酸配列を決定した。相同性の検索はFasta Search（国立遺伝研究所）を用いて行なった。

プロテアーゼの測定：試料重量の2倍量の0.1 mol/Lリン酸緩衝液pH6.0を加え、乳棒乳鉢ですりつぶし、

その遠心上清を粗酵素液とした。全プロテアーゼ活性は、カゼインを基質とし、トリクロロ酢酸可溶部の280 nmの吸収から求めた。キモトリプシン様活性、トリプシン様活性は、それぞれSuc-Leu-Leu-Val-Tyr-MCA, Bz-Arg-MCA（ペプチド研）を基質とし、遊離する7-amino-4-methylocoumarinの蛍光強度より求めた。

イソフラボンの測定：無水硫酸ナトリウムで脱水後、ヘキサンで脱脂を行ない、アセトニトリル-塩酸でイソフラボンを抽出し、105℃2時間の加熱によりアグリコンとしたものを試料とした。15%～40%アセトニトリルの濃度勾配を用い、HPLC（検出器SPD-10Avp, 島津）にて検出を行なった。

破断特性の測定

クリープメーター（レオナー RE-3305, 山電）を用いて、大豆子葉片を1.0 mm/sec.で定速圧縮破断測定した。プランジャーは、円柱型プランジャーNo.5（直径5 mm）を用いた。

官能検査

パネルは本学健康栄養学科学生10名、教員1名計11名である。外観、香り、食感、軟らかさ、甘さ、青臭さ、風味、うま味、好ましさ、総合評価の9項目について－2から＋2までの5段階評価により評点平均を求めた。有意差検定は、一元配置の分散分析によって行なった。

結果と考察

糖の変動

大豆からは主にマルトースが検出された。スチーミングの温度によって、マルトースの量にはほとんど変化はなかったが、茹でたものでは、時間とともに減少していた（Fig. 1）。茹でたものでは、マルトースは茹で汁中に移行したと考えられる。

大豆可溶性たん白質の変化

加熱調理により、たん白質は変性するが、調理温度により大豆たん白質がどのように変化するかをSDS-PAGEにより調べた（Fig. 2）。生では比較的分子量の大きいたん白質が多く存在するが、加熱温度が高くなると、分子量の大きいたん白質は消失する傾向が見られた。生で存在している91 kDaのバンドは75℃では消失し、75℃で見られた83 kDa, 71 kDa, 50 kDaのバンドは、85℃ではかなり減少した。85℃で見られた37 kDaのバンドは、75℃, 100℃ではあまり見られない。この中から、50 kDa, 37 kDaの2つのたん白質を75a, 85aとし、N末端アミノ酸配列を調べたところ、それ

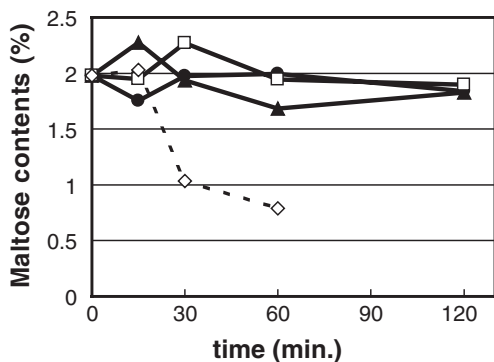


Fig. 1. Changes in maltose content during cooking. ●; steamed for 1 hr. at 75°C, ▲; steamed for 2 hrs. at 85°C, □; steamed for 2 hrs. at 100°C, ◇; boiled in water for 30 min. at 100°C.

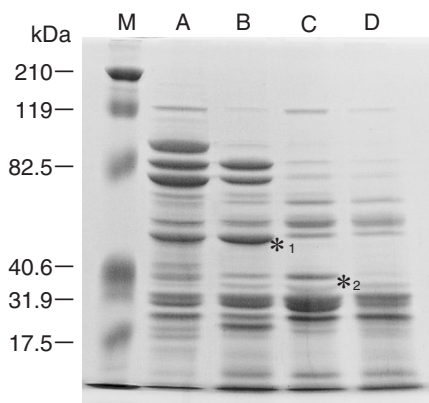


Fig. 2. SDS-PAGE of soluble protein. M; markers, A; fresh, B; steamed for 2 hrs. at 75°C, C; steamed for 1 hr. at 85°C, D; steamed for 1 hr. at 100°C. *1; 75a, *2; 85a.

A

N-terminal amino acid sequence of 75a:

lkvredennp

Amino acid sequence of β -conglycinin⁴⁾:

mmrvrfpllv	llgtvflasv	cvs lkvrede	nnp fyfrssn	sfqtlfenqn
vrirlqrfn	krspqlenlr	dyrivqfqs	pnthllphha	dadfllfvls
grailtlvnn	ddrdsynlhp	gdaqripagt	tyylvnphdh	qnlkiiklai
pvnkpgrydd	fflsstqaqq	sylqgfshni	letsfhsefe	einrvlfgee
eeqrqqegvi	velskeqir	lsrraksssr	ktissedepf	nlsrnpisys
nnfgkffeit	peknplrdl	diflssvdin	egallphfn	skaivilvin
egdanielvg	ikeqqkqkq	eeplevqry	raelseddvf	vipaaypfvv
natsnlfla	fginaennqr	nflagekdnv	vrqierqvqe	lafpgsaqdv
erllkkqres	yfvdaqppqk	eegskgrkqp	fpsilgaly	

B

N-terminal amino acid sequence of 85a:

itsskfneq

Amino acid sequence of glycinin A3B4⁵⁾:

mgkpfftlsl	sslcilllss	acfa itsskf	necq lnnlna	lepdhrvese
gglietwnsq	hpelqcagvt	vskrtlnrng	shlpsylpyp	qmiivvqgkg
aigfafpgcp	etfekpqqqs	srrgsrsqqq	lqdashqkirh	fnegdvlvip
lgvpywtynt	gdepvvaish	ldtsnfnnql	dqnprvfyla	gnpdiehpst
mqqqqqqksh	ggrkqgqhrq	qeeeggsvls	gfskhflaqs	fnntedtaek
lrspdderkq	ivtveggslsv	ispkwqeqed	edededeeyg	rtpsypprrp
shgkhedded	edeedqprp	dhppqrpsrp	eqqeprrgrc	qtrngveeni
ctmklhenia	rpsradfynp	kagristlns	ltlpalrqfg	lsaqqvvlvr
ngiyspdwnl	nansvtmtrg	kgrvrsvncq	gnavfdgelr	rgqllvvpqn
pavaeqggeq	gleyvvfkth	hnavssyikd	vfrvipsevl	snsynlgqsq
vrqlkyqgns	gplvnp			

Fig. 3. Determination of amino acid sequences and those of related proteins. Boxes indicate corresponding sequences.

ぞれ, LKVREDENNP, ITSSKFNECQという配列が得られた。これらは、それぞれ大豆の主要たん白質である β -コングリシニン, グリシニンA3B4と最も相同性が高かった (Fig. 3)。 β -コングリシニンは分子量54 kDaのたん白質で、分子量はほぼ同じであったが、85℃, 100℃加熱で減少しており、75~85℃で分解していると考えられる。グリシニンは58 kDaのたん白質であることより、85℃で見られる37 kDaのバンドはグリシニンの分解産物であり、85℃前後の加熱で最も分解される可能性が示唆された。

プロテアーゼの変化

β -コングリシニン, グリシニンの分解がプロテアーゼによるものかどうかを調べるために、まず、全プロテアーゼ活性をカゼイン分解活性で調べた (Fig. 4)。

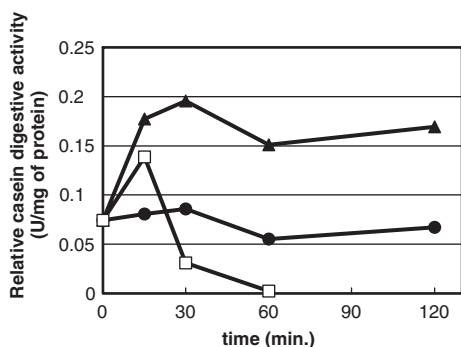


Fig. 4. Changes in endogenous protease activity during steam cooking. ●; steamed for 1 hr. at 75°C, ▲; steamed for 2 hrs. at 85°C, □; steamed for 2 hrs. at 100°C.

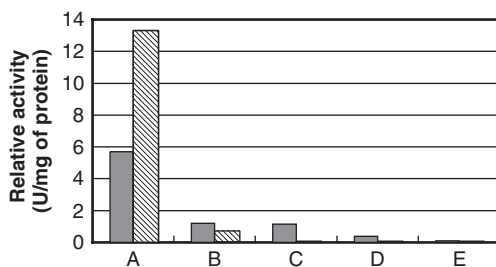


Fig. 5. Chymotrypsin-like and trypsin-like activities during steam cooking. ■; chymotrypsin-like activity using Suc-leu-leu-val-tyr-MCA as a substrate. ▨; trypsin-like activity using Bz-arg-MCA as a substrate. A; fresh, B; steamed for 30 min. at 75°C, C; steamed for 1 hr. at 75°C, D; steamed for 30 min. at 85°C, E; steamed for 1 hr. at 85°C.

2時間後も活性を維持していた。85℃では、加熱後すぐに活性が上昇し、30分では生の2.6倍もの活性を示した。100℃では、はじめ活性が上昇したが、その後失活し、60分後にはほとんど活性が見られなかった。85℃2時間後も活性を保っていたことから、このプロテアーゼはかなり耐熱性があることが示唆された。 β -コングリシニン, グリシニンは、生体内のプロテアーゼで消化されることにより、コレステロール低下作用や抗酸化作用などを示す機能性ペプチドを産する⁶⁾。調理中に、内在プロテアーゼによる分解によりこれらのペプチドが生じれば、機能性の高い食品が作れる可能性がある。さらにプロテアーゼの同定を行なうため、キモトリプシン様活性およびトリプシン様活性に特異的な基質を用いて活性を測定した (Fig. 5)。いずれも加熱により大きく失活し、高温でのプロテアーゼ活性上昇には、少なくともこれらの活性の関与は考えにくい。

イソフラボン量の変動

大豆イソフラボンであるゲニステイン, グリシテイン, ダイゼイン量を定量したところ、1 g中に含まれる総イソフラボン量は生大豆、85℃加熱、100℃加熱、茹での順に多かった (Fig. 6)。茹での場合は、糖などと同様に茹で汁中に移行したと考えられる。スチーミングでは、100℃加熱より85℃加熱のほうが、残存が多かったことから、イソフラボンの残存には比較的低温のほうがよいと考えられた。

スチーミングによる大豆の硬さの変化

低温スチーミング調理では大豆の硬さがどのように変化するかを、破断強度により調べた (Fig. 7)。75℃加熱では時間がたってもほとんど生のものと硬さは変わらなかったが、85℃では時間とともに徐々に軟らか

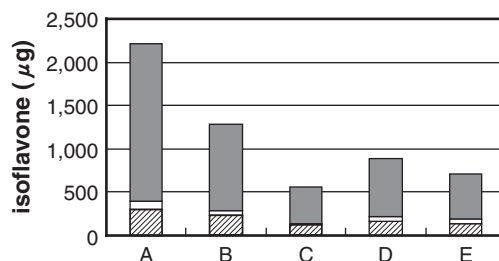


Fig. 6. Contents of isoflavone by various conditions. The amount of isoflavone was indicated as the sum of genistein ■, glycitein ▨, and daizein ▩. Total contents were calculated to 1 g of fresh soybean weight. A; dried, B; soaked in water for overnight at room temperature (fresh), C; boiled in water for 30 min. at 100°C, D; steamed for 1 hr. at 85°C, E; steamed for 30 min. at 100°C.

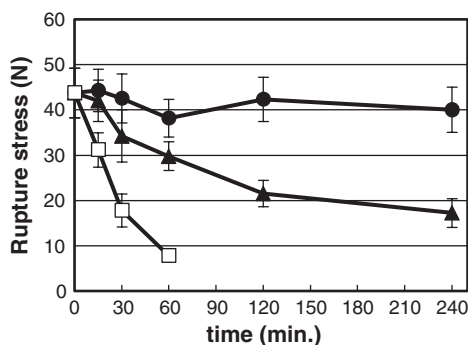


Fig. 7. Changes in rupture stress of soybean during steam cooking. ●; steamed for 1 hr. at 75°C, ▲; steamed for 2 hrs. at 85°C, □; steamed for 2 hrs. at 100°C, ◇; boiled in water for 30 min. at 100°C.

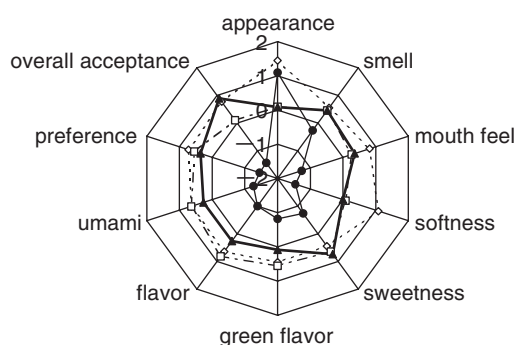


Fig. 8. Radar chart of texture profile for steamed and boiled soybean. ●; steamed 1 hr. at 75°C, ▲; steamed 2 hrs. at 85°C, □; steamed 2 hrs. at 100°C, ◇; boiled in water 30 min. at 100°C.

くなった。一般に、植物性食材を低温で加熱すると、ペクチンメチルエステラーゼの作用により、硬化する現象⁷⁾が見られるが、75°Cでは明らかな硬化は見られなかった。大豆ではペクチンの量が比較的少ないためであると考えられる。

官能検査

各温度でスチーミングした大豆と茹でた大豆について、官能検査を行なった (Fig. 8)。75°C加熱では外観以外の全ての項目において評価は最低であり、いわゆる生豆の青臭さが残ることや生と同等の硬さから、食すには不適當であった。85°C以上では硬さ以外の項目では有意差がほとんどなく、総合評価では、85°Cまたは茹でがよい結果となった。これらより、大豆をおいしく食すためには85°C以上の加熱が必要であることがわかる。甘さにおいて、マルトース含量はどの温度の

スチーミングでも含量は変わらなかったにも関わらず、75°C加熱で甘さを感じなかったのは、甘さの感覚は実際に含まれる糖以外の味や舌触りなど、他の要因によるところも大きいためであると思われる。うま味は、85°C以上で有意に増加したが、アミノ酸、特にグルタミン酸の増加は、うま味の増加と深い関係があり、85°Cでプロテアーゼの活性が増加したことと、85°C以上でうま味や風味の良さがみられたこととは一致する。

以上より、低温スチーミング調理は大豆の調理に有用だと思われ、今後はβ-コングリシニン、グリシニンの分解様式およびプロテアーゼの同定を行なうことにより、さらに旨味を引き出し、機能性を増すような効果的な調理法を開発していくつもりである。

要 約

大豆の低温スチーミング調理での有用性を成分分析、官能検査により調べた。大豆に含まれる主な糖はマルトースであり、加熱による糖量の変化はなかった。可溶性たん白質のSDS-PAGEのパターンより、大豆たん白質は、それぞれ分解温度が異なることが示唆された。これらのたん白質の中にはβ-コングリシニンとグリシニンが含まれていた。また、85°C加熱では、生や他の条件の加熱よりもプロテアーゼ活性が高く、これが旨味の増大に貢献していると考えられた。さらに、85°C加熱は100°C加熱に比べ、イソフラボンの残存が多いことがわかった。硬さにおいては、75°Cでは軟化しないが、85°Cでは長時間加熱により軟化する現象が見られた。官能検査では85°C以上のスチーミングでは、茹でや一般的な蒸し調理 (100°C) とほぼ同等の評価が得られた。以上より、低温スチーミング調理は大豆においても有用だと考えられ、今後はさらに旨味を引き出し、機能性を増すような調理法を開発していきたい。

文 献

- 1) Yamazaki T, Ito N, Takaku A, Hotta Y, Murayama A and Hirayama I (2003): Morphological and histological changes of sweet potato and mino (wall of cattle stomach) during low temperature steam cooking. *Niigata J Health Welfare*, **3**, 51-56.
- 2) Ito N, Yamazaki T, Takaku A, Hotta Y, Murayama A and Hirayama I (2003): Change of nutritional components during low temperature steam cooking. *Niigata J Health Welfare*, **3**, 57-61.
- 3) Laemmli VK (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685.
- 4) Harada JJ, Barker SJ and Goldberg RB (1989): Soybean beta-conglycinin genes are clustered in several DNA regions and are regulated by transcriptional and posttranscriptional processes. *Plant Cell*, **1**, 415-425.
- 5) Nielsen NC, Dickinson CD, Cho TJ, Thanh VH, Scallan BJ, Fischer RL, Sims TL, Drews GN and Goldberg RB (1989): Characterization of the glycinin gene family in soybean. *Plant Cell*, **1**, 313-328.
- 6) 真鍋 久 (2005): 大豆たん白質の機能性を探る. 日本調理科学会誌, **38**, 204-208.
- 7) 真部孝明 (1980): 大根の予備加熱による硬化現象機構について. 日本工誌, **27**, 234-239.