

酵素反応を利用して γ -アミノ酪酸含量を増加させた 機能的食品イチジク豆乳の開発

堤 智博・馬場紀子

二次加工が可能な豆乳中の機能的成分 γ -アミノ酪酸(GABA)を増加させる方法を検討した。GABAを生成する酵素は、簡便かつ原料の風味を損なわないために、農産物に内在するものを利用した。大豆に内在するGABA生成酵素の至適温度は、40~45℃、pHは、6.0~6.5であることを明らかにした。さらにGABA生成量を増加させるため、GABA生成酵素を豊富に含む果実の果汁を豆乳に添加した。ブドウ、カキ、イチジクの中では、イチジクの果汁を添加した場合、最もGABAの生成量が大きかった。イチジクを添加した豆乳では、40~45℃の温度でGABA生成量が大きかった。また、イチジクピューレを10%以上添加しても増加量に有意な差はなかったため、添加量は10%であると判断した。

これらの結果から、豆乳にイチジクピューレを加え、45℃で酵素反応させることにより、GABA含量を増加させたイチジク豆乳の開発が可能であることが明らかとなった。

[キーワード： γ -アミノ酪酸、GABA、イチジク、機能的成分、豆乳]

Enzyme Reaction Used in Development of Functional Fig Soybean Milk with Increased Gamma-amino Butyric Acid Content. TSUTSUMI Tomohiro and Noriko BABA (Fukuoka Agricultural Research Centre, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 27: 7 - 10 (2008)

We examined a method to increase the amount of gamma-amino butyric acid (GABA), a functional ingredient in soybean milk that allows for secondary processing. In order to generate the GABA, we used an enzyme that is found typically in farm products because it will not harm the original flavor of the raw materials and is simple and easy to use. The optimal temperature and pH for GABA generation using the enzyme, which is inherent in soybeans, are 40-45℃ and 6.0-6.5, respectively. Furthermore, we added fruit juice containing an abundance of GABA-producing enzymes to the soybean milk in order to improve GABA generation. It was found that fig juice helped increase the amount of GABA generated better than grape or persimmon juice. In the soybean milk with added fig juice, the amount of GABA generation increased at temperatures of 40-45℃. In addition, we determined that the amount of fig juice in the soymilk should reach a level of at least 10% to have a meaningful effect. However, no difference was observed when we added more than 10% fig puree.

These results suggest that it is possible to develop soybean milk with a high GABA content by incorporating an enzyme from fig puree and having it react at 45℃.

[Keywords: Gamma-amino butyric acid, GABA, fig, functional ingredient, soybean milk]

緒言

本県における大豆の生産量は全国第4位である¹⁾。大豆の需要拡大を図るためには、消費者ニーズに即応した新たな用途開発が必要となっている。

一方、アミノ酸の一種である γ -アミノ酪酸(GABA)は血圧降下作用があるとされ⁴⁾、近年注目されている機能的成分である。また、GABAは穀類、野菜、果物等の農産物に広く含まれていることが知られている²⁾。

大豆中には、GABAの基質となるグルタミン酸を豊富に含むタンパク質が約35~50%存在し⁶⁾、加水分解することにより可食部100gあたり、6600mgのグルタミン酸を生成させることが可能である³⁾。また、GABA生成酵素グルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)は、グルタミン酸からCO₂を切り離すことによりGABAを生成させる酵素であり、高等植物ではユリ科植物の花粉、カボチャ、ニンジンなどに多く含まれている⁵⁾。

現在、GABAを含有する食品が多数販売されているが、GABAの添加により含量を高めているものが多い。また、乳酸菌を利用してGABAを増加させる技術もあるが⁸⁾、原料の風味が変化したり、高度な設備が必要である。

そこで筆者らは、原料の風味を損なわずに、二次加工

も可能な豆乳中のGABAを増加させる方法として、農産物に内在するGABA生成酵素を利用する技術を検討した。

本研究では、豆乳中のGABA生成に適したGADの至適条件を明らかにするために、pHおよび温度条件を検討した。また、豆乳中に豊富に含まれるタンパク質を利用し、GABA生成量を高めるためにGADなどを含有すると考えられた果実の添加も検討した。この果実の添加により、豆乳の風味、食味の向上も図られることが期待された。さらに、微生物増殖抑制方法の検討も併せて行い、「イチジク豆乳」の製造方法を確立したので報告する。

試験方法

1. 豆乳の調整

大豆「フクユタカ」200gを22℃で15時間水浸漬した後、5倍(1000g)になるまで加水し、東京ユニコム製C1-010型豆乳製造機で豆乳を製造した。

2. GABAおよびグルタミン酸の定量分析

豆乳などの試料約50gを凍結乾燥後、大阪ケミカル製ブレンダーで10秒間粉碎した。粉碎した試料10mgを80%エタノール800 μ lに懸濁してタンパク質を除去し、120,000rpmで5分間遠心し、上澄を減圧遠心機で乾固させた。乾固させた試料を日本分光製移動相のAmino Bufferに溶かし、HPLC用サンプル溶液とした。この溶液10 μ lを日本分光製AApak カラム(直径6.0mm×80mm)を取り付けた

* 連絡責任者(食品流通部)

HPLCに注入し、流速は1.0ml/min、溶出モードはイソクラティックにより、蛍光検出器254nmで検出した。

3. 大豆内在性酵素を利用したGABA生成能の検討

(1) 豆乳のGABA生成における至適pHおよび温度

豆乳のpHは、1M HCl, 1M NaOH溶液を用いて調製した。

豆乳の温度調整は、ウォーターバスで行った。至適pHは、温度を37℃に固定して4.5~7.5の範囲内で検討した。至適温度は、pHを6.5に固定して30~50℃の範囲内で検討した。3時間反応させた後、沸騰水中で5分間加熱して酵素を失活させ、GABAの定量分析に供した。

4. 果実のGABA生成能の検討

(1) 果実のGABAおよびグルタミン酸含量

県内産イチジク‘蓬萊柿’、カキ‘富有’、ブドウ‘巨峰’を搾汁し、搾汁直後のものを供試果汁とした。

各供試果汁50mlを37℃のウォーターバス内で3時間静置し、GABAを生成させた。反応終了後は、沸騰水中で5分間加熱して酵素を失活させ、GABAおよびグルタミン酸の定量分析に供した。

(2) 果汁を添加した豆乳中のGABAおよびグルタミン酸含量

豆乳中における果実のGABA生成能の利用を検討するために、豆乳に果汁を添加した際のGABA生成量を調査した。

県内産イチジク‘蓬萊柿’、カキ‘富有’、ブドウ‘巨峰’を搾汁し、供試果汁とした。また、果汁を供試豆乳に5% (w/w)添加し、果汁入り豆乳とした。

各果汁入り豆乳は40℃のウォーターバス内で3時間静置し、GABAを生成させた。反応終了後は、沸騰水中で5分間加熱して酵素を失活させ、GABAおよびグルタミン酸の定量分析に供した。

5. イチジク豆乳の製造技術の確立

(1) 豆乳中のGABA含量に及ぼすイチジク添加量

豆乳にイチジクを添加する際、GABA生成に最も効率的な添加割合を調査した。

本試験意向では、加工が果汁より簡易な果実のピューレを添加した。イチジク‘蓬萊柿’のピューレは、果実の皮を剥き、ジューサーで磨砕し製造した。イチジク豆乳のピューレ添加濃度は、供試豆乳に対して、0, 5, 10, 15, 20% (w/w)とした。

各イチジク豆乳は40℃のウォーターバス内で3時間静置し、GABAを生成させた。反応終了後は、沸騰水中で5分間加熱して酵素を失活させ、GABAおよびグルタミン酸の定量分析に供した。

(2) 温度別のイチジク豆乳中のGABA生成における至適温度

豆乳にイチジクピューレを10%添加した場合におけるGABA生成の至適温度を調査した。

ウォーターバスで30~50℃の範囲内で温度調整を行い、1, 2, 3時間反応させた。その後、沸騰水中で5分間加熱して酵素を失活させ、GABAの定量分析に供した。

(3) 温度別のイチジク豆乳中の生菌数

製品化の際には、イチジク豆乳中の微生物の増殖が大きな問題となる。このため、GABAの生成量を維持しながら、微生物の増殖を抑制する方法を検討するために温度別のイチジク豆乳中の生菌数を調査した。

イチジク‘蓬萊柿’ピューレを供試豆乳に10% (w/w)添

加し、ウォーターバスで温度調整を行った。経時的(0, 2, 4時間後)にサンプリングし、酵母エキス、トリプトン、ブドウ糖、カンテンを含む標準寒天培地を用いた平板培養法で生菌数を測定した。培養条件は、恒温器内で37℃, 48時間とした。

(4) イチジク豆乳の食味官能評価

食味は、製品化の可否を判断する重要な要素の1つであるため、原豆乳や豆乳と比較したイチジク豆乳の食味官能評価を調査した。

豆乳にイチジクピューレを10%添加し、45℃で2時間静置させ、イチジク豆乳を試作した。食味評価はパネル11名で行った。評価項目は、青臭み、苦み、総合評価で、各項目を5段階で評価した。

(5) イチジク豆乳中の保存温度の検討

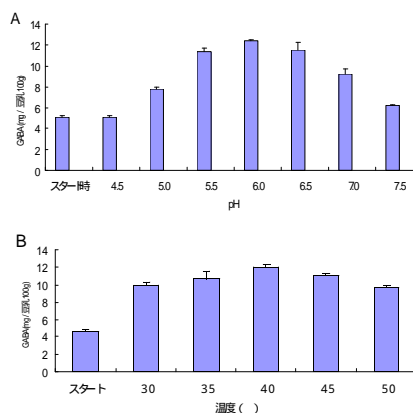
保存中に製造時のGABA含量を維持することは、販売面からも非常に重要である。そこで、試作したイチジク豆乳を各-30, 0, 15℃の温度条件で、30日間保存し、経時的(10, 20, 30日後)にGABA含量を定量した。

結果および考察

1 大豆内在性酵素を利用したGABA生成能の検討

(1) pH、温度が豆乳中のGABA含量に及ぼす影響

至適pHは、5.5~6.5であり(第1図A)、至適温度は、40~45℃であった(第1図B)。これらの条件では、豆乳を静置するだけで、約7mgのGABAを増加させることが可能であった。



第1図 豆乳中のGABA生成能に及ぼすpHおよび温度の影響

- 1) A: pH, B: 温度のデータ
- 2) データは2反復の平均値を示す

なお、通常の方法で製造した豆乳のpHは、6.0~6.5の範囲であるため、GABAを生成させる際は、pHの調製は特に必要ないと考えられた。

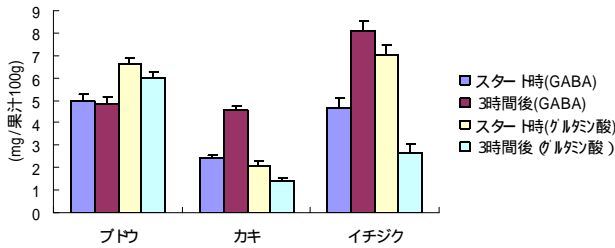
2 果実のGABA生成能の検討

(1) 果実のGABAおよびグルタミン酸含量

ブドウ、カキ、イチジクのGABAおよびグルタミン酸含量を第2図に示した。ブドウでは、静置後のGABAおよびグルタミン酸含量はともにほとんど変化しなかったのに対し、カキおよびイチジクでは、GABA含量が増加し、グ

ルタミン酸含量が減少した。

これらの結果から、カキとイチジクに内在するGABA生成に関与する酵素の存在が示唆され、特に、イチジクのGABA生成能の利用が期待された。

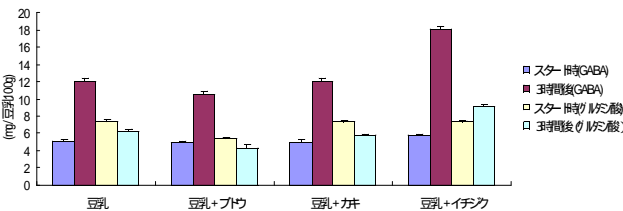


第 2 図 果実別の GABA 生成能
1) データは 2 反復の平均値を示す。

(2) 果実の添加が豆乳中のGABA含量に及ぼす影響

果汁を添加した豆乳中の GABA およびグルタミン酸含量を第 3 図に示した。ブドウ、カキ、イチジク果汁を試豆乳に加えて 37 で3時間静置した場合、イチジクを加えた豆乳中のGABA含量が18.1mg/豆乳100gと最も高かった。また、グルタミン酸含量は、イチジクを加えた豆乳のみで増加した。このイチジク豆乳中のグルタミン酸含量の増加は、イチジクに含まれる強力なプロテアーゼであるフィシン²⁾の作用によるものと考えられた。フィシンが作用する至適温度条件は80~90 である⁷⁾が、GABA生成温度でも十分に作用することが明らかとなった。

これらの結果から、豆乳に添加する果実はイチジクが有効であると判断した。



第 3 図 果汁を添加した豆乳中の GABA 生成能
1) データは 2 反復の平均値を示す。

3 イチジク豆乳の製造技術の確立

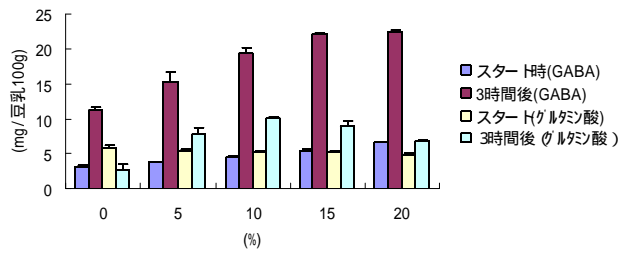
(1) イチジクの至適添加割合

イチジク添加割合別の豆乳中のグルタミン酸およびGABA生成能を第 4図に示した。

イチジクピューレを10%以上添加しても増加量に有意な差はなかったので、添加量は10%で十分であると判断した。

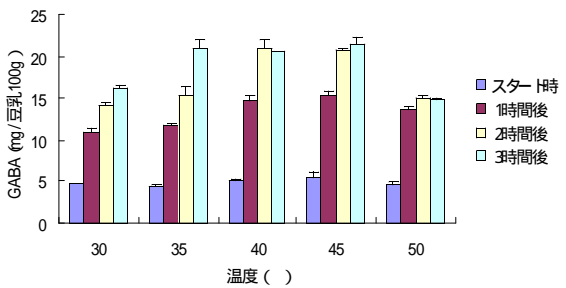
(2) イチジク豆乳中のGABA生成における至適温度

イチジク豆乳中のGABA生成における至適温度を第5図に示した。GABA生成能が高くなる温度条件は、豆乳の条件と同じく40~45 であった。また、40,45 の条件下で、2時間静置するとGABA含量が20mg程度まで増加し、飽和状態に達した。これより、GABA生成に要する静置時間は40,45 の条件下では、2時間で十分であると判断した。



第 4 図 イチジク添加割合別の豆乳中の GABA 生成能
1) データは 2 反復の平均値を示す。

また、イチジクピューレを10%添加してもpHの変化は小さかったので(データ略)、イチジクの添加によるpHの影響はないと考えられた。



第 5 図 イチジク豆乳中の GABA 生成能に及ぼす温度の影響
1) データは 2 反復の平均値を示す。

(3) 温度がイチジク豆乳中の生菌数に及ぼす影響

温度別のイチジク豆乳中の生菌数を第 1表に示した。30~40 までは、経時的に生菌数の増加が認められたが、45 以上の温度では、豆乳中の生菌数の増加が抑制された。45 は、GABA生成に適した温度であるため、生菌数の増加を抑制するためにもイチジク豆乳のGABA生成時温度は45 が妥当であると判断した。また、イチジクピューレを10%添加してもpHの変化は小さかったので(データ略)、イチジクの添加による pHの影響はないと考えられた。

第 1 表 処理温度別の豆乳中における一般生菌の変化

温度()	反応時間(h)	
	2	4
30	2.9	11.4
35	1.1	6.0
40	3.5	6.4
45	0.5	0.4
50	0.03	0.003

注) 1. スタートの生菌数を 1 とした場合の増加比
2. 原豆乳にイチジクピューレを10%添加した場合の菌数変化

(4) イチジク豆乳の食味官能評価

イチジク豆乳および豆乳の食味官能評価を第 2表に示した。イチジク豆乳の評価は、青臭みが少なく、総合評価が高く、原豆乳、豆乳に比べ、青臭み、総合評価で有意な差が認められた。また、イチジク豆乳には、イチジク風味が付加され、食味もやや良好であった。

第2表 イチジク豆乳の官能評価

豆乳の種類	青臭み	苦味	総合
原豆乳	2.1c	1.2ns	2.4b
豆乳	1.6b	1.4ns	2.5b
イチジク豆乳	1.1a	1.1ns	3.2a

注) 1. パネルは11名の農総試職員である。

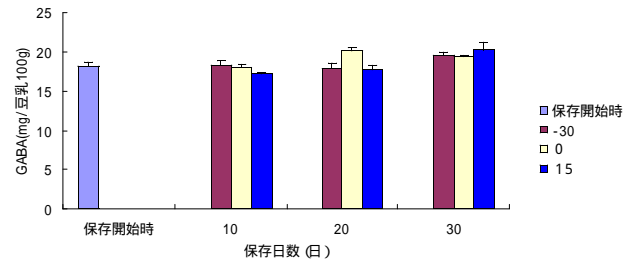
2. 評価基準 青臭み: 1 (あまり強くない)、2 (どちらともいえない)、3 (非常に強い)
 苦味 : 1 (あまり強くない)、2 (どちらともいえない)、3 (非常に強い)
 総合 : 1 (非常に不味い)、2 (不味い)、3 (どちらともいえない)、4 (おいしい)

3. 異英字間にはFisher ' PLSDにより5%水準で有意差あり。
 nsは有意差なし。

(5) イチジク豆乳の保存温度の検討

-30、0、15 で保存したイチジク豆乳中のGABA含量を調査したが、保存中のGABA含量に変化は認められなかった(第 6図)。

本研究で開発されたイチジク豆乳は、既存のGABAを謳ったGABAを100gあたり10~15mg含む豆乳製品よりもGABAが豊富に含まれている。また、その製法は安価かつ簡便であり、食味も良好であった。したがって、イチジク豆乳は福岡県独自の新機能性食品としての可能性を十分に有すると考えられる。



第 6 図 イチジク豆乳中の GABA 含量に及ぼす保存温度の影響
 1) データは 2 反復の平均値を示す。

引用文献

- 1) 福岡県(2006)平成17年度福岡県食料・農業・農村の動向. 10
- 2) 伊藤三郎(1991)果実の科学. 朝倉書店, 736
- 3) 香川芳子(2006)五訂増補食品成分表. 女子栄養大学出版部, 278-279
- 4) 風見大司・小倉長雄・福地敏彦(2002) -アミノ酪酸配合和風調味料の軽症高血圧者, 正常高血圧者を含む健康者に対する降圧作用. 日食工誌49: 126-129
- 5) 丸尾文治・田宮信雄(1995)酵素ハンドブック. 朝倉書店, 634-635
- 6) 森田雄平(2000)大豆蛋白質. 光琳, 56-60
- 7) 孫 成春・泉本勝利・宮本拓・宮瀬こころ(2003)食肉タンパク質におよぼすイチジク果実プロテアーゼの基本的性状. 岡山大学農学部学術報告92: 53-56
- 8) 上野義栄・宮島直人・河村真也・早川潔(2001)乳酸菌の生理活性作用の利用. 京都府中小企業総合センター技報29: 63-68