

〔研究ノート〕

おから含有クッキーのイソフラボンについて

Chemical changes of isoflavones during okara-cookie baking

大野 皓子¹、小穴 智夏²、吉井 美由紀²、吉田 咲希²、都築 公子³、西田 淑男^{1*}

Hiroko ONO¹, Tomoka OANA², Miyuki YOSHII², Saki YOSHIDA²,

Kimiko TSUZUKI³ and Yoshio NISHIDA^{1*}

¹東海学園大学 健康栄養学部 管理栄養学科、²東海学園大学 人間健康学部 管理栄養学科、

³マルサンアイ株式会社 開発統括部 開発・研究課 研究グループ

¹Department of Nutrition, School of Health and Nutrition, Tokai Gakuen University,

²Department of Nutrition, School of Human Wellness, Tokai Gakuen University,

³Marusan-ai Co., Ltd.

*連絡先：西田 淑男

キーワード：おから、クッキー、焼成時間、イソフラボン

Key words : okara, cookie, baking time, isoflavone

要約

おからの有効利用を目的として、原料小麦粉の25%をおからパウダーに代替したクッキーを加工し、加熱に伴うイソフラボン含量の変化について検討した。クッキー中のイソフラボンの抽出は、1gのクッキーに3mLのメタノールを加えて、室温、24時間で行った。その後、メタノール抽出液にn-ヘキサンを1mL添加して油成分を除去した後、メタノール層を回収した。メタノール中のイソフラボン量をHPLCで測定した結果、ダイジンとゲニスチンは焼成に伴い含有割合が減少していたが、ダイゼインとゲニステインは増加していた。

Abstract

To promote a beneficial use of okara, bean-curd refuse, we made cookies which contained 25% okara powder in place of wheat flour in its composition. In the present research, the chemical changes of isoflavones were studied as follows. The isoflavones in the cookies were extracted from 1g of samples with 3mL of methanol for 24hs at 37°C. To remove lipid materials, 1mL of n-hexane was added to the methanol extracts. After extraction, the composition of isoflavones in the extract was analyzed by HPLC. The

results showed that as the baking time increased, both contents of daidzin and genistin were found to decrease, while those of daidzein and genistein increased.

諸言

現在わが国では、食の欧米化に伴い動物性脂肪の過剰摂取、食物繊維の摂取量減少等により生活習慣病や、メタボリックシンドロームが急増している。これらの疾病を予防するため、栄養バランスのとれた日本型食生活が見直されつつある。

日本型食生活の主要たんぱく源および調味料として多用される大豆には、糖質、タンパク質、脂質、ビタミン、ミネラルなどが豊富に含まれている。大豆イソフラボンは、発がん抑制作用、エストロゲン様作用、抗酸化作用など様々な生理効果を有する。また、大豆イソフラボンは、大豆たんぱくと共に、血中コレステロール低下作用を示す（Nagata ら、1998）ことが報告されている。大豆のイソフラボン含量については多くの報告があり、大豆加工食品についても報告が行われている。その反面、大豆加工食品・豆腐の製造工程副産物であるおからについての報告は少ない。おからは大豆固形分の約 23%を占めており（渡辺ら、1987）、食物繊維、カルシウム、カリウムなどの成分はもちろん、原料大豆中のイソフラボンの 12%はおからに移行すると報告されており（Wang ら、1996）、栄養的にも機能的にも優れていると考えられる。しかし、豆腐製造過程で生成されるおからは含水率が高く腐敗しやすいため、貯蔵が困難であり約 85%が食用利用されることなく産業廃棄物として処理されている（農林水産省、2012）。これらの背景を基におからの有効利用方法として、おからを添加した食品の試作開発も報告され始めている（大羽ら、1996；松尾、1999；時枝ら、2002）。

本研究では、おからの食品素材としての利用をさらに発展させることを目的として、おからをクッキーの副材料として添加し、焼成時間の変化に伴うイソフラボン含量の変化について検討を行った。また、豆腐や黄粉中のイソフラボン含量の測定の報告はあるが、油を多く含んだ食品中のイソフラボン含量の測定結果の報告の例はほとんど見当たらないことから、油成分を多く含むクッキー中のイソフラボンの抽出・測定方法の検討も行うこととした。

方法

1. 試料の材料

材料として、薄力粉（日清フラワー、日清製粉グループ）、おからパウダー（マルサンアイ株式会社より提供）、上白糖（伊藤忠製糖株式会社）、無塩バター（雪印北海道バター食塩不使用、雪印メグミルク株式会社）、鶏卵を用いた。

2. 試料調製

実験に用いた試料の配合割合を表 I に示した。通常のクッキーの組成の小麦粉の 25%をおからパウダーに置換し調製した。生地は、室温に戻した無塩バター、上白糖、鶏卵（生全卵）を練り合わせた後、篩にかけた薄力粉、おからパウダーを加え、混合した。それぞれの生地を冷蔵庫（4℃）にて 1 時間ねかせた後、0.5cm 厚に伸ばし、3×3cm に成形した。成形した生地は、15、30、45、60 および 90 分間、180℃で焼成した。

表 I おからクッキーの配合割合 (g)

材料	通常クッキー	おからクッキー
薄力粉	100	75
おからパウダー	0	25
無塩バター	33	33
上白糖	50	50
鶏卵（生全卵）	17	17

3. 水分量の測定

常圧加熱乾燥法により水分量の測定を行った（江指、2005）。おからパウダー、焼成したクッキーは直接法、生クッキーはアルミニウム箔法を用いた。おからパウダーは、135℃に調整した恒温乾燥器内（MOV-112(U)、三洋電機バイオメディカ株式会社）に静置し、60 分間乾燥、30 分間放冷した後、秤量し、恒量を得た。焼成したクッキーは粉碎し、100℃に調整した恒温乾燥器内に静置し、90 分ごとにクッキーを取り出して 30 分間放冷した後、秤量し、ただちに乾燥器内に戻し、恒量を得るまで乾燥を繰り返した。生クッキーはアルミニウム箔に薄く延ばし、135℃に調整した恒温乾燥器内に静置し、60 分間乾燥、30 分間放冷した後、秤量後し、恒量を得た。

4. イソフラボン抽出方法の検討

おからパウダーを試験管に 1g 採取し、メタノール 3 mL、5 mL、10 mL をそれぞれ加え、恒温槽（37℃）にて 1、3、6、24 時間振とうした。振とう後、油脂成分を除去するために、n-ヘキサン 1 mL を加えて攪拌し、3,000 rpm で 10 分間遠心分離した。ヘキサン層を除去し、メタノール層を高速液体クロマトグラフィー（以下 HPLC）の試料とした。

5. クッキー中のイソフラボン含量の分析

粉碎したおからクッキー 1g を採取し、上記のメタノール 3 mL を加えて、24 時間振とう抽出条件で調製したサンプルを HPLC 用試料液とした。

6. HPLC 分析

分析は日本分光株式会社製 HSS-2000 を用いた。分析は表Ⅱに示した条件で行った。イソフラボンの標準品として、ダイジン (Daidzin)、ゲニスチン (Genistin)、ダイゼイン (Daidzein)、ゲニステイン (Genistein) (フジッコ株式会社) を用いた。

表Ⅱ イソフラボン定量分析の HPLC 条件

カラム	CrestPak C18S (size4.6φ150mm)
移動相	メタノール/水
グラジエントプログラム	10%メタノール→90%メタノール (15分) 90%メタノール (15分)
カラム温度	室温
流速	1.0 mL/min
測定波長	254 nm
注入量	10 μL

結果および考察

1. おからパウダーの成分分析結果

試作に使用したおからパウダーの成分分析を五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアルに準拠して行った (文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会食品成分委員会、2005) (表Ⅲ)。分析結果により、100g 中の成分量は、水分 3.6g、エネルギー 352kcal、たんぱく質 21.2g、脂質 16.5g、糖質 4.8g、食物繊維 49.7g、灰分 4.2g、ナトリウム 151mg であった。食物繊維のエネルギー換算係数として 2.0kcal/g を適用した。

表Ⅲ おからパウダーの成分分析結果 (/100g中)

分析試験項目	分析値
水分	3.6 g
エネルギー	352 kcal
たんぱく質	21.2 g
脂質	16.5 g
糖質	4.8 g
食物繊維	49.7 g
灰分	4.2 g
ナトリウム	151 mg

2. 抽出条件の検討

抽出条件の検討では、メタノール 3 mL、5 mL、10 mL で溶媒量の違いによる抽出量に大きな差はなかったが (図示せず)、振とう時間が長くなるにつれ抽出量が多くなった (図 1)。この結

果より 3 mL、24 時間を抽出条件として決定した。クッキーからメタノールでイソフラボンを抽出後、n-ヘキサンを 1 mL 添加し、クッキーに多く含まれる油脂成分をヘキサン層に移行させ、ヘキサン層を除去することにより、HPLC 測定が不可能と考えられていたサンプル中のイソフラボンのピーク検出が可能になった。

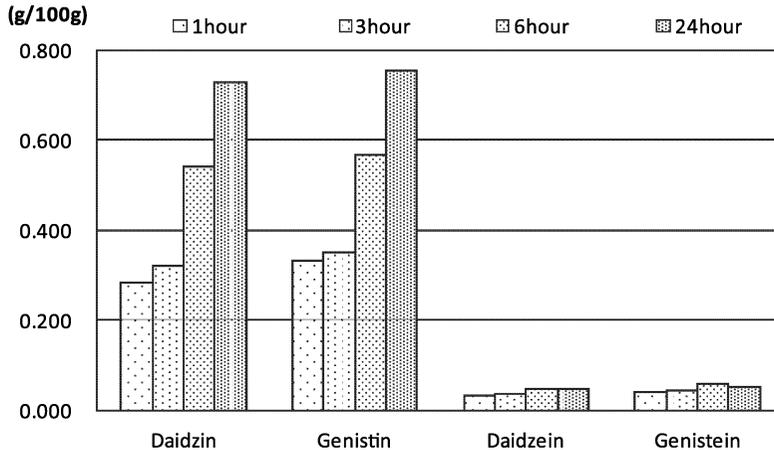


図1 おからパウダーのイソフラボン抽出条件検討結果

The isoflavones in okara were extracted from 1g of okara with 3mL methanol for 1, 3, 6, 24 hours. To remove the lipid component, 1mL n-hexane was added to methanol extract and centrifuged at 3,000rpm for 10minutes. The isoflavones quantity in methanol extract was measured by HPLC.

3. クッキー中のイソフラボン含量

おからクッキー中のイソフラボン量を HPLC で分析し、各クッキーの水分含量結果から乾物量当たりに換算した値を図 2 に示した。

その結果、配糖体であるダイジンとゲニスチンは焼成時間の増加に伴い含有割合が減少した。一方、アグリコンであるダイゼインとゲニステインは増加した。

大豆に含まれるイソフラボン類のほとんどが配糖体として存在しているが、体内へ吸収される形態は、アグリコン型である。したがって、配糖体は腸内細菌叢によりアグリコン化されることで体内での吸収効率が高まることが報告されている。イソフラボンの生理活性はアグリコンによるものであることが明らかにされている。なお、マロニルイソフラボン配糖体は熱に対して不安定であり、水煮時間を長くするとアグリコン割合が増加し、200℃乾熱ではマロニル基が脱炭酸されてアセチル基になるため、アセチル化配糖体が増加することが報告されている (Toda ら、2000)。イソフラボンの配糖体であるアグリコンの差異は加工の条件が大きく影響しているのではないかと考えられている。すなわち、おから中に存在している配糖体のイソフラボンの量は、乾燥・加熱など処理の条件に大きく影響を受けていると考えられる。本研究においても、クッキー焼成時間の検討を行った結果、焼成時間が長くなるにつれ、配糖体であるダイジンとゲニスチン

が減少し、アグリコンであるダイゼインとゲニステインが増加していることが明らかとなった。

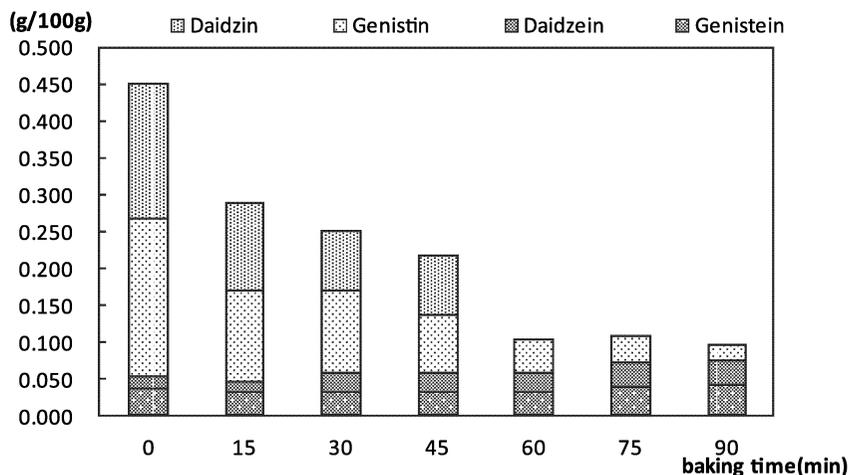


図2 乾物中25%おからクッキーの焼成時間による各イソフラボン含量の変化

Analytical condition: Instrument: HSS-2000, Column: CrestPak C18S (size ϕ 4.6 \times 150mm), Temperature Room temperature, Mobile phase A: MeOH, B: H₂O, Flow rate: 1mL/min, Injection volume: 10 μ L, Detection: 254nm, Gradient condition: 0min (A : B=10 : 90) \rightarrow 15min (A : B=90 : 10) \sim 30min

引用文献

- 江指隆年, 2005. 第1章食品成分. In: 食品衛生検査指針化学編 2005<公定検査法等詳解>. 社団法人日本食品衛生協会, pp.19-26.
- 大羽和子, 中野淳子, 1996. 大豆素材添加食パンの製パン性, 物性および食味特性. 日本家政学会誌 47 : 21-27.
- 時枝久子, 奥村幸恵, 池田稜子, 松岡麻男, 2002. 大豆おから含有ケーキの調理特性および嗜好特性について. 九州女子大学紀要 自然科学編 39 : 23-32.
- Toda, T., Sakamoto, A., Takayanagi, T., Yokotsuka, K., 2000. Changes in isoflavone compositions of soybean foods during cooking process. Food Science and Technology 6 : 314-319.
- Nagata, C., Takatsuka, N., Kurisu, Y., Shimizu, H., 1998. Decreased serum total cholesterol concentration is associated with high intake of soy products in Japanese men and women. Journal of Nutrition 128 : 209-213.
- 農林水産省ホームページ, 2012. 食品用大豆の用途別使用量の推移,
http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d_data/pdf/012_youto.pdf
- 松尾眞砂子, 1999. 麹菌栽培おからのクッキーやカップケーキ副材としての活用. 日本家政学会誌50 : 1029-1034.
- 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会食品成分委員会, 2005. 五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル, 国立印刷局
- 渡辺篤二, 斎尾恭子, 橋詰和宗, 1987. 最新食品加工講座 大豆とその加工 I. 建帛社, p.170
- Wang, H., Murphy, P.A., 1996. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44 : 2377-2383.