

## 新規乳酸菌を用いたおから・豆乳発酵食品の成分特性

高木 尚紘\*, 北脇 涼子\*\*, 浅尾 弘明\*\*\*, 岩崎 充弘\*\*\*, 福田 満\*\*

\*(武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻)

\*\* (武庫川女子大学生生活環境学部食物栄養学科)

\*\*\* (マルサンアイ株式会社・研究所)

## Characteristics of Okara and Soymilk Mixture Fermented with Novel *Lactobacillus* Strain

Naohiro Takagi\*, Ryoko Kitawaki\*\*, Hiroaki Asao\*\*\*,  
Mitsuhiro Iwasaki\*\*\*, Mitsuru Fukuda\*\*

\* *Food Science and Nutrition Major*

*Graduate School of Human Environmental Sciences,  
Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663-8558, Japan*

\*\* *Department of Food Science and Nutrition*

*School of Human Environmental Sciences,  
Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663-8558, Japan*

\*\*\* *Research Institute, Marusan-ai Co., Ltd., Okazaki 444-2193, Japan*

Soybean is widely used in Japanese dietary pattern. Okara is a by-product generated mainly during processing of soybean. A great deal of okara has been treated as industrial waste. A lot of soy proteins which are functional components are included in okara. We have proposed a beneficial use for okara. Yoghurt-like food used in this experiment was prepared from a mixture of okara and soymilk by lactic acid fermentation. We investigated nutritional and food characteristics of this yoghurt-like food and obtained following results. Soy proteins in okara and soymilk were scarcely digested during the fermentation. Some soy proteins have been known to exhibit cholesterol-lowering effect. In the yoghurt-like food lactic acid occurred predominantly among several organic acids detected by HPLC. An improvement effect on enteric environment was expected because stachyose could not be degraded by lactic acid fermentation and it would be used by other microorganisms in intestine. The difference of isoflavone content between the unfermented food and yoghurt-like food was not observed. Soy isoflavones remained without degradation during lactic acid fermentation. These results suggested that the intake of yoghurt-like soy food would improve serum cholesterol concentration and intestinal environment.

現代人の食生活は食の欧米化にともない動物性脂肪の過剰摂取, また食物繊維の摂取量減少等によって栄養バランスが崩れてきた。このような食生活から生じる生活習慣病や, それらを誘引するメタボリックシンドロームが急増している。この現代人の

疾病を予防するためには栄養バランスのとれた日本型の食事が有効と考えられる。日本型の食事に多く用いられる大豆について加工過程で発生するおからは年間約70万トンであり, 大部分が食用とならずに産業廃棄物として処理されている。大豆タンパク

質の機能性には血中コレステロール低下作用について多くの報告<sup>1)</sup>があり、また大豆に含まれる食物繊維が中性脂肪を下げるとの報告<sup>2)</sup>も見られる。著者らはおからの血中コレステロール上昇抑制効果や肝臓中性脂肪蓄積抑制効果について報告した<sup>3)</sup>。大豆タンパク質をはじめおから中には多くの機能性成分が含まれていることが明らかである。さらにおからの有効利用方法として、これまでおからを素材としたパンなどの試作開発を行ってきた。近年、乳酸発酵食品については多くの機能性が注目されてきている。そこで本研究ではパンより摂取しやすいように、おからと豆乳を混合して乳酸発酵させた流動性のあるヨーグルト状の食品を作成した。本乳酸発酵食品の原料となるおからと豆乳の組成は大豆まるとに相当する。今回この乳酸発酵食品の成分特性を解明するために各種の分析を行い、新たな知見を得たので報告する。

## 実験方法

### 1. 実験材料

未発酵乾燥おから・豆乳(UF: Unfermented)、発酵後無処理の乾燥おから・豆乳(NF: Non-sterilized Fermented)、発酵後滅菌乾燥おから・豆乳(SF: Sterilized Fermented)を実験サンプルとし用いた。ヨーグルト状おから・豆乳発酵食品はマルサンアイ株式会社で製造した。

乾燥おから・豆乳乳酸発酵食品の成分組成は Table 1 に示した。

**Table 1.** Composition of fermented okara and soymilk(dry)(weight %)

Component	Ratio
Water	5.0
Protein	36.1
Lipid	28.0
Carbohydrate	11.2
Dietary Fiber	14.4
Mineral	5.2

### 2. タンパク質のゲルろ過パターンの分析

#### 2. 1 抽出液の調製方法

タンパク質の分析は堀内らのおからで行った分析方法<sup>4)</sup>に準じて行った。未発酵乾燥おから豆乳、発酵後無処理乾燥おから豆乳、発酵後滅菌処理乾燥お

から豆乳の3種類の試料について、各々20mgを5mlの2% SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)を含む0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.9)中で60℃、2時間攪拌して溶解し、10,000rpmで5分間の遠心分離後、上清をデイスポーザブルフィルター(マイシヨリディスク W-3-2(東ソー(株))でろ過後、分析用抽出試料とした。

#### 2. 2 タンパク質分子量の分析方法

高速液体クロマトグラフィー(HPLC装置(東ソー(株))でゲルろ過用PW-3000カラム(7.8×300mm)を用いて分析用抽出試料の分析を行った。0.1% SDSを含む0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.9)により、流速0.7ml/分で溶出し、吸収波長220nmで検出した。

### 3. 試料中の乳酸含量の比較

#### 3. 1 試料の調製方法

乳酸の分析は吉本ら<sup>5)</sup>の方法を改良して行った。ヨーグルト様乾燥おから・豆乳発酵食品中の有機酸はサンプル1gを9mlの超純水に溶解し、さらに10mlの超純水で2倍に希釈した。12,000rpmで30分間遠心分離を行い、その上清をデイスポーザブルフィルター(マイシヨリディスク W-3-2(東ソー(株))でろ過した液を分析試料とした。

#### 3. 2 乳酸の分析方法

ヨーグルト様乾燥おから・豆乳発酵食品中の有機酸の分析は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC装置(東ソー(株))で有機酸分析システムによる分析を行った。有機酸分析用カラムTSKgel OApak-P+TSKgel OApak-Aカラム(6.0mmID×4cm+7.8mmID×30cm)、電気伝導度検出器CM8020(東ソー(株))を使用した。溶離液には0.75mMH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を用い流速0.8ml/minで溶出し検出した。

### 4. 試料中のオリゴ糖の比較

#### 4. 1 試料の調製方法

大豆のオリゴ糖分析は川村ら<sup>6)</sup>の方法に従った。粉末試料に20倍量のヘキサンを加え30分間攪拌して脱脂処理を行った。この操作を2回行った。脱脂処理した試料0.5gに80%エタノール5mlを加え1時間加熱抽出した。この操作を2回行った。3,000rpmで20分間遠心分離して上清を採取し、蒸発乾固し、5mlの75%アセトニトリルで溶解し、この抽出液を試料としオリゴ糖分析に用いた。

#### 4. 2 オリゴ糖の分析方法

オリゴ糖分析用抽出液を高速液体クロマトグラフィー(HPLC装置(東ソー(株))を用いて分析した。

TSK guardgel Amide-80 カラム+TSK gel Amide-80 カラム (3.2mmID×1.5cm+4.6mmID×25cm) を用いて、カラム温度 40℃、溶離液は 75% アセトニトリル、流速 1.0ml/min で検出器は示差屈折計 RI-8020(東ソー(株)) を用いて分析を行った。

## 5. イソフラボン量の比較

### 5.1 イソフラボンの抽出

イソフラボンの抽出分析は山手ら<sup>7)</sup>の方法を改良して行った。UF, NF, SF のイソフラボンはサンプル 5.0g を 10 倍量の 70% エタノールに懸濁し、室温で 24 時間攪拌抽出した。抽出液を 10,000rpm, 20℃, 30 分遠心分離し上清を採取した。また、イソフラボン抽出液 1ml を 50℃ で濃縮乾固した後、1N HCl に溶解して 110℃ で 3 時間加水分解した。加水分解後 60℃ で濃縮乾固し、1ml の 70% エタノールで溶解した。室温で 3,000rpm, 15 分遠心分離後、上清をメンブレンフィルター(マイシヨリディスク W-3-2 (東ソー(株)) でろ過したものを分析用試料とした。

### 5.2 イソフラボンの分析方法

試料液を HPLC(東ソー(株)) によって、流速 1.0ml/分、溶離液 0.1% 酢酸を含むアセトニトリル 15% から 35% 溶液への 50 分間直線グラジエントで分析した。カラムは ODS-80Ts を用いて、吸収波長 260nm で検出した。標準イソフラボンとして配糖体であるダイジン、グリシチン、ゲニスチン、そしてアグリコンであるダイゼイン、グリシテイン、ゲニステインの計 6 種を使用し、加水分解試料液についてはアグリコン 3 種について定量を行った。

## 結果及び考察

### 1. HPLC によるタンパク質ゲルろ過溶出パターン

Fig. 1. に示したとおり、UF, NF, SF いずれのサンプルにおいても類似した溶出パターンを示した。さらに発酵後の滅菌処理の有無によるタンパク質の分子量分布への影響もほとんどなかった。この結果から今回おから・豆乳を乳酸発酵させるために用いた乳酸菌は本食品中の大豆タンパク質を分解することなく発酵処理を行うことができたため、おからおよび豆乳に含まれる大豆タンパク質の血中コレステロール低下作用<sup>1)3)</sup>、血中中性脂肪濃度・遊離脂肪酸濃度低下作用<sup>8)</sup>、肝臓脂質蓄積抑制作用<sup>3)</sup> など種々の機能が損なわれていないと示唆された。

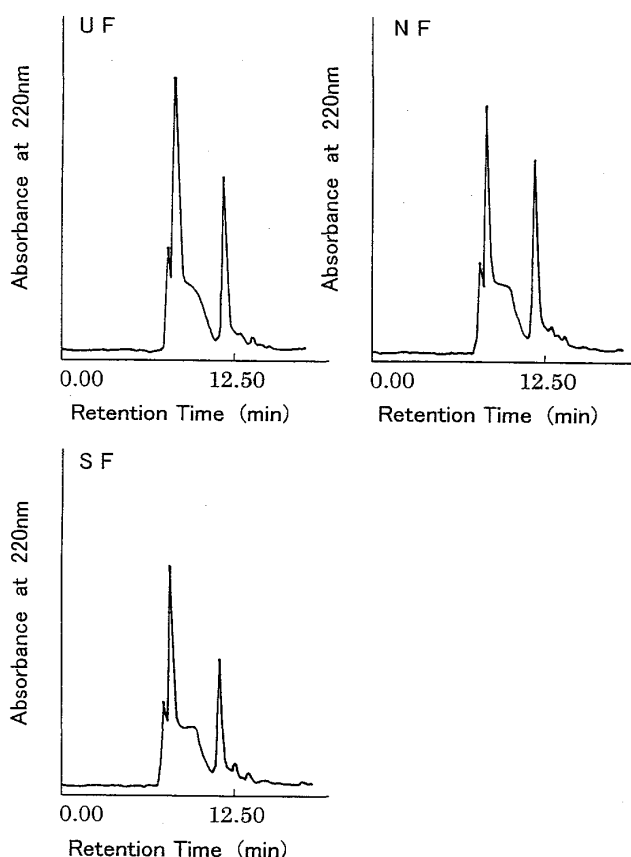


Fig. 1. Chromatogram of protein extracted from each sample by gel filtration column

### 2. 乳酸の変化

未発酵および発酵サンプルについて HPLC で測定した結果を Fig. 2. に示した。UF と比較して乳酸発酵試料である NF, SF において特に乳酸の含有量が高くなっていた。これは乳酸発酵するために加えられた乳酸菌の影響によると考えられた。乳酸含量を粉末 1g あたりに換算したものが Fig. 3. であり、UF と比較すると発酵群 NF, SF では高かった (Table 2)。

### 3. オリゴ糖の変化

示差屈折計を用いて HPLC により分析した結果を Table 2 に示した。未発酵試料である UF と発酵試料である NF, SF を比較すると発酵によってスクロースが減少していた。おから・豆乳を発酵させるために添加した乳酸菌が大豆のスクロースを利用して発酵したためと考えられる。また豆乳のみを乳酸発酵させた食品について報告された結果<sup>9)</sup>と同様に、今回研究室で用いた試料は豆乳におからを加えたものではあるが、スタキオースの量が特に多かった。スタキオースやラフィノースは大豆オリゴ糖と

呼ばれ、難消化性オリゴ糖で、大豆食品の機能性成分とされている。また腸内にすんでいる内在性のビフィズス菌を増やすためのプレバイオティクスとしての効果も期待できる。さらに原ら<sup>10)</sup>の研究によると、成人ボランティアを排便回数の多少で2群に分け、大豆オリゴ糖(スタキオース、ラフィノースとして1~2g)摂取時の便性状改善効果について調べたところ、大豆オリゴ糖の少量摂取で便秘傾向者の便性状が改善された。

以上の成分が分解されずに本発酵食品中に含まれていたことから、おから・豆乳乳酸発酵食品には生活習慣病の予防効果を有する機能性食品としての可能性が示唆された。

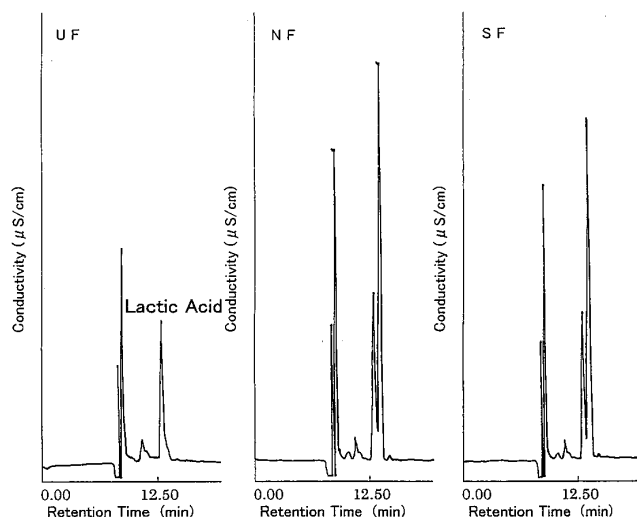


Fig. 2. Separation of lactic acid from each sample of unfermented or fermented mixture of dried okara and soymilk

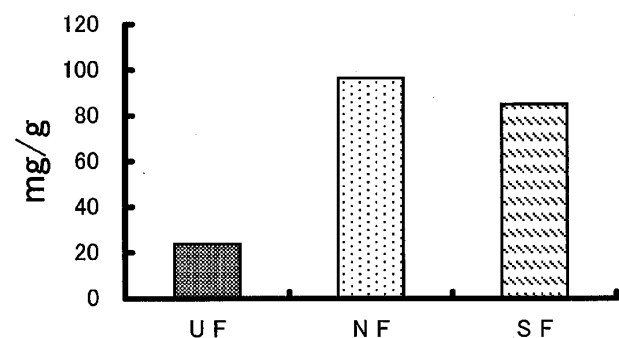


Fig. 3. Content of lactic acid in unfermented or fermented mixture of dried okara and soymilk (mg/g dry wt)

Table 2. Oligosaccharide content in unfermented or fermented mixture of okara and soymilk (mg/g dry wt)

	UF	NF	SF
Sucrose	44	26	26
Raffinose	30	31	30
Stachyose	183	217	200

#### 4. イソフラボンの変化

大豆イソフラボンの機能性については女性ホルモン様作用による更年期障害や骨粗鬆症予防、発癌抑制作用など非常に多くの研究報告がある。今回用いた試料のイソフラボンの HPLC パターンは 3 試料

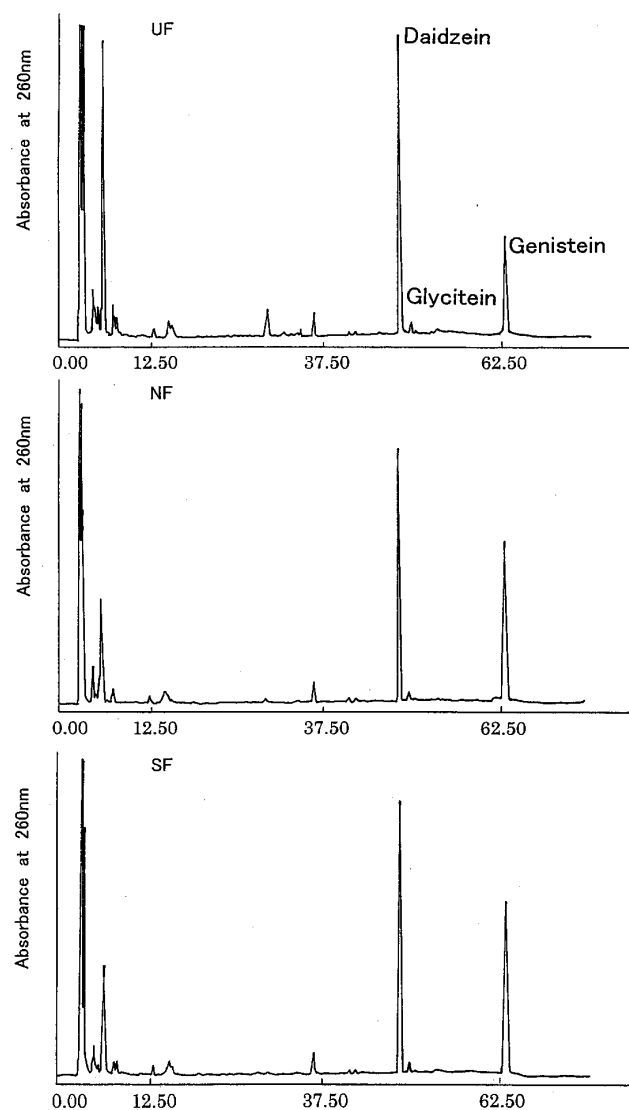


Fig. 4. Separation of isoflavone from unfermented or fermented mixture of dried okara and soymilk

ともに類似した傾向を示した(Fig. 4.)。いずれの試料においてもグリシテインが微量(UF, NF, SF:いずれも 3mg/100mg)しか含まれていなかった。またいずれの試料においてもダイゼインが最も多く含まれるという結果になった(Table 3)。以上の結果よりイソフラボン含量は未発酵と発酵させたもの間にほとんど差が無いことから、発酵処理しても大豆イソフラボンの効果が得られると示唆された。

**Table 3.** Isoflavone contents in unfermented or fermented mixture of okara and soymilk(mg/100g dry wt)

	UF	NF	SF
Daidzein	39	38	38
Glycitein	3	3	3
Genistein	12	13	16
Total	54	54	57

## 要 約

現代人の食生活は食の欧米化により動物性脂肪の過剰摂取、食物繊維の摂取量減少により生活習慣病やそれらを誘引するメタボリックシンドロームが増している。これらの疾病を予防するために、多くの機能性成分を含む大豆の加工過程で産業廃棄物扱いされているおからを有効利用する目的で豆乳と混合し乳酸発酵させてヨーグルト状の乳酸発酵食品を作成した。おからには大豆と同様に種々の機能性成分を有していることが知られている。この乳酸発酵食品の特性を明らかにするために各種の分析を行った。その結果、おから・豆乳の乳酸発酵による大豆タンパク質分子量の変化はなく、おから・豆乳の大豆タンパク質のもつ生理活性は失われていないと示唆された。また乳酸菌の働きにより大豆のスクロースが減少したが、難消化性オリゴ糖であるラフィノース、スタキオースはほとんど変化しなかった。したがってこの大豆オリゴ糖による生理機能や、腸内在性のビフィズス菌に対するプレバイオティクスとしての効果が期待される。イソフラボンも発酵による影響はほとんどなく、ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステイン量は変化しなかった。以上の結果より本来おから・豆乳に含まれている成分のほとんどが変化せずに発酵処理後も残存していることが分かった。本乳酸発酵食品ではおから・豆乳に含まれ

ている種々の機能性成分の生理効果が維持されていると示唆された。

## 参考文献

- 1) Nagata, C., Takatsuka, N., Kurisu, Y. and Shimizu, H. : *J. Nutr.*, **128**, 209-213(1998)
- 2) Zacharia, M.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, **38**, 388-393(1983)
- 3) 福田 満, 杉原好枝, 伊藤みどり, 堀内理恵, 浅尾弘明:食科工, **53**, 195-199(2006)
- 4) 堀内理恵, 伊藤みどり, 杉原好枝, 福田 満 : 日食生誌, **16**, 123-12(2005)
- 5) 吉本朋子, 佐藤一精:食科工, **48**, 906-912(2001)
- 6) 川村信一郎, 多田 稔, 樽崎丁市:栄養と食糧, **19**, 268-275(1966)
- 7) 山手好枝, 堀内理恵, 福田 満:武庫川女子大紀要(自然科学), **50**, 109-112(2002)
- 8) 松澤佑次:大豆たん白質研究, **7**, 1-12 (2004)
- 9) 荒 勝俊, 吉松 正, 小島みゆき, 川合 修次, 大久保一良:食科工, **49**, 377-387(2002)
- 10) 原 淑恵, 池田なぎさ, 初見健一, 渡部じゅん子, 飯野久和, 光岡知足:栄養学雑誌, **55**, 79-84(1997)