

### 3. リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の開発と利用

九州農業試験場作物開発部 須田 郁夫

#### 1. はじめに

大豆は古くから穀類とともに人類にとって重要な食糧であり、世界各地で主食穀物のでんぷん質と組み合わせ、蛋白質と脂質の供給源とされてきた。また近年では、大豆が安価で量的にも利用可能な優れた食品素材であることが再認識されはじめ、将来遭遇するであろう世界的な食糧不足に対応できる有望な食糧資源の一つとして注目を浴びるようになってきた。

蛋白質不足に悩む発展途上国はいうまでもなく、肉食中心の西欧諸国でも、健康上の理由から大豆を見直す動きがでてきている。このため、これからの時代、大豆はますますその特性が高く評価され、人類の飢餓や健康維持に貢献できる作物として重要になるだろうと予想される。

しかし、人間はおいしくなければ食べないのが現実である。たとえば、大豆加工食品の代表の一つである豆乳で判るように、豆乳には独特の青臭みがあり、飲み慣れていない人にとってはなかなか受け入れにくいものである。それゆえ、今後、大豆の利用拡大を図るためには、大豆の優れた特性を明らかにするとともに、おいしい大豆加工食品を作ることが重要となってくる。

大豆加工食品の青臭みは、大豆種子中に含まれる酵素リポキシゲナーゼの作用によるが、九州農業試験場では、そのリポキシゲナーゼを種子中から完全に欠失した大豆系統「九州111号」を育成している。この大豆を利用すると、日本の伝統的な大豆加工食品の風味・食味を改善できるだけでなく、従来になかった画期的な大豆加工食品の製造も可能である。そこで本講演では、「九州111号」の育成経緯や、育成現場等で役立つリポキシゲナーゼアインザイム簡易検出法、食品素材としての大豆の利点、食品加工とリポキシゲナーゼとのかわり合い、リポキシゲナーゼ欠失特性が生かされる食品素材利用法などについて概説する。

#### 2. 大豆の栄養性・機能性

大豆は蛋白質の含有量が高く、脂質にも富むことから、「畑の牛肉」と称されている。その大豆蛋白は8種類の必須アミノ酸がバランスよく含まれ、穀類蛋白質に不足がちナリジンが多いことが大きな利点である。メチオニンなどの含硫アミノ酸は少ないが、穀類と組み合わせることによりその不足分はある程度補える。

大豆に含まれる脂質を構成する脂肪酸はほとんどが不飽和脂肪酸で、その半分以上がリノール酸である。不飽和脂肪酸は、動物性食品に多い飽和脂肪酸と違って、酸化による劣化が起こりやすいのが欠点である。しかし、大豆の場合にはビタミンEが含まれているので、これが

過酸化を防止している。

炭水化物のうち糖質(約25%)はショ糖が最も多く、他にスタキオース、ラフィノースなどの少糖が含まれる。デンプンはほとんど含まれていない。

大豆の無機質は穀類や他の豆類に比べて多く(約5%)、特にP, Ca, Kを多く含む。またこのほかにも、ビタミンB群、レシチン、サポニン類なども含まれている。このように大豆は栄養源として極めて優れた素材である。

また飽食の時代の今、健康にかかわる食品の質に対して消費者の関心が高まっている。栄養価に富み味覚がよいという要素のほかに、高血圧・肥満・がん・老化などを予防する生理的機能性をもった食品が注目されている。多くの研究者が食成分の機能性に着目し、生理活性などの研究を進めた結果、大豆および大豆加工食品にも様々な機能性があることが明らかにされている。

生理機能としては抗腫瘍性、抗変異原性、抗酸化性、コレステロール低下作用、腸内フローラ改善作用、生体防御担当細胞活性化作用など、成分としては蛋白質、ペプチド、オリゴ糖、食物繊維、サポニン、レシチン、リノール酸、ビタミンE、メラノイジンなどが報告されている。

これらの中で我々の食生活の変化や健康と関連して今日最も注目されているものはコレステロールとの問題であろう。血中コレステロールが増加すると血管壁にコレステロールが沈着し、動脈硬化を引き起こし、結果的には脳血管障害や心筋梗塞などの疾病を引き起こすことがよく知られている。

「大豆を常食とする食文化をもった国の人々には心臓疾患が少ない」という事実がある。これは、大豆に含まれる有効成分が血中コレステロールを低下させた結果と考えられている。過去、わが国の成人病患者数は欧米より低く保たれていた。これは、わが国の風土が築いてきた独特の日本型食生活、米・豆類・野菜・果物・魚介藻類・畜産物をバランスよく食べる食生活によると考えられ、特にその中でも大豆・大豆加工食品を食べる食文化を継承してきたからだといえる。しかしながら、最近では食生活の欧米化などによって血中コレステロールは上昇し、心臓疾患が増加しつつあり、食生活の改善が叫ばれている。

一方、世界に目を向けると、アメリカを始めとして肉食文化圏の人々は、健康志向の観点から、大豆・大豆加工食品に注目しており、その結果として、日本の伝統的な大豆加工食品(豆腐、豆乳、醤油、味噌など)に加えて、大豆蛋白を素材にした製品の売上が着実に伸びている。

このように大豆は栄養性・機能性に富む食品素材であり、また欧米でも消費が拡大しつつある。改めて見直すべき食品素材ではないだろうか。

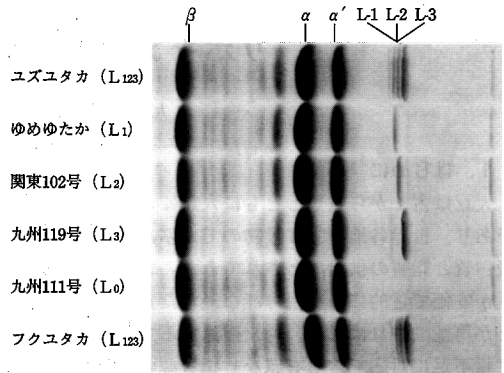
### 3. 大豆加工製品の青臭みとリポキシゲナーゼとの関係

大豆が栄養性・機能性に富んでいても、おいしくなければ爆発的な消費拡大は期待できない。誰でも食べられる大豆加工食品を作るためには大豆由来の独特の青臭みを改善する必要がある。大豆加工食品の不快感はリポキシゲナーゼの作用によることが大きいので、まずこの点について説明する。

リポキシゲナーゼは大豆の種子中に含まれる酸化酵素の一種で、リノール酸などの多価不飽和脂肪酸の酸素による過酸化反応を触媒する。大豆種子中にはこのリポキシゲナーゼが3種類含まれ、それぞれL-1, L-2, L-3と呼ばれている。これらの酵素は分子量や最適pHが少しずつ異なり、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって容易に区別できる(第1図)。

この酵素は大豆組織の破壊(例えば浸漬大豆の磨砕)とともに、大豆中に存在する不飽和脂肪酸と反応し、そして生成した過酸化脂質がさらに分解することによって、n-ヘキサナールなどの中鎖アルデヒド類による青臭みを発生する(第2図)。生成したアルデヒド類は閾値が低いうえに、蛋白質に強く結合して後に徐々に遊離してくる性質を持つため、大豆加工食品から青臭みを除去することを困難にしている。

リポキシゲナーゼは熱に弱く、加熱処理によって不活化されるので、従来、大豆の食品加工の際には、青臭みを抑えるために製造工程のどこかに加熱処理工程が取り入れられてきた。しかし大豆製品に豆腐くささや豆乳くささといった独特の臭気があることで分かるように、加

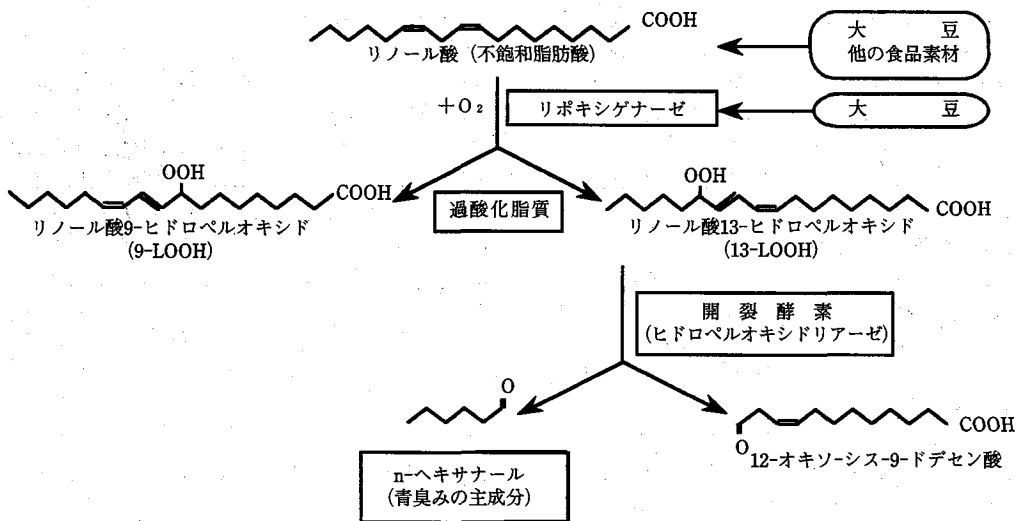


第1図 電気泳動による大豆種子リポキシゲナーゼの分離  
略号は大豆種子中に存在するリポキシゲナーゼアイソザイムのタイプを示す

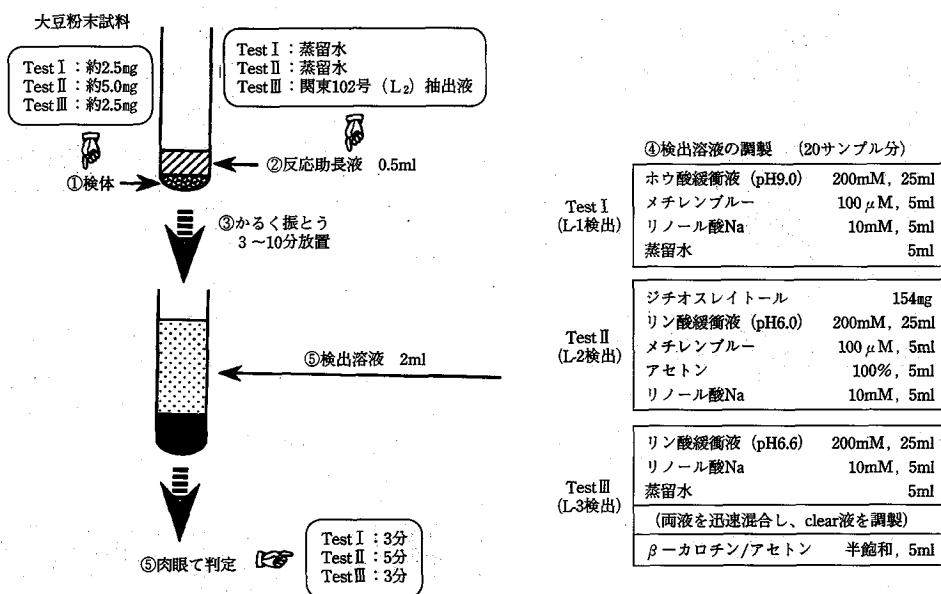
熱処理で酵素が不活化されても一度生成した青臭みは完全には除去されないで残る。また過度の加熱処理は大豆蛋白質の変性を引き起こし、食品素材としての機能性を喪失させる原因にもなる。加熱処理のほかにも、食品加工的に青臭みを取り除く様々な試みがなされ一定の成果を挙げてはいるが、コスト面などで問題があり決定打とはなっていない。

青臭みが最も除かれているとされる分離大豆蛋白でさえ、食品素材として大量に使用した場合には不快感が感じられ、使用量を大幅に制限する因子となっている。このように、大豆を食品素材とする場合には、使用量におのずと限界があり、これが大豆の利用範囲を狭めていた。

そこで根本的な解決策として期待されるのが遺伝的にリポキシゲナーゼを欠失した大豆の育成である。リポキ



第2図 大豆リポキシゲナーゼの作用



第3図 大豆リポキシゲナーゼ簡易検出法の操作手順

シグナーゼを持たない大豆ならば、当然豆腐臭や豆乳臭がなくなり、風味の大幅な改善が期待できる。また青臭みがなくなれば大豆の利用場面も広がることも考えられる。

「九州111号」はこのような目的のもとに育成された、種子リポキシゲナーゼ全てを持たない世界で初めての系統である。

#### 4. リポキシゲナーゼ完全欠失大豆「九州111号」の育成

リポキシゲナーゼ欠失大豆の育成の試みは1982年の米国でのL-1欠失大豆の発見に始まる。1983年にはL-3欠失大豆が、1985年にはL-2欠失大豆が発見された。当然これらを交配してリポキシゲナーゼを完全に欠く大豆の育成が期待された。その結果、日本で喜多村らにより1985年にはL-1・L-3、L-2・L-3同時欠失の大豆が育成された。しかしL-1とL-2の間には強連鎖があり、交配育種からは完全欠失大豆は得られなかった。

そこで放射線を照射して突然変異を起こして、完全欠失大豆を作出することが試みられた。1991年九州農業試験場において、 $\gamma$ -線を照射した後代種子1813粒の中からたった1粒だけリポキシゲナーゼを完全に欠失している大豆が見いだされた(第1図)。これが後の「九州111号」となる。余談になるがこの1粒は448粒目に見つかっており、非常に幸運な発見だったといえる。

リポキシゲナーゼ完全欠失大豆が見いだされたとしても実用栽培ができなければ意味のないものとなるが、このリポキシゲナーゼ完全欠失大豆は普通の大豆と変わら

ない生育を示し、生理的な異常は見られない。圃場の調査においても同質系統親であるスズユタカ(普通大豆、L-1, L-2およびL-3を全て含む)とほぼ同じ生育を示し、極端な収量低下や耐虫性、耐病性の低下もない。

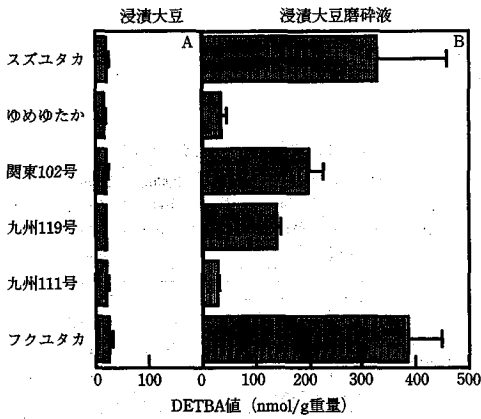
以上の結果からこのリポキシゲナーゼ完全欠失大豆は普通大豆と同様の栽培が可能であると考えられる。1993年には種苗登録の申請を行い、現在品種命名登録を受けるため、奨励品種決定試験を行っている段階である。

#### 5. 大豆リポキシゲナーゼアイソザイムの簡易検出法

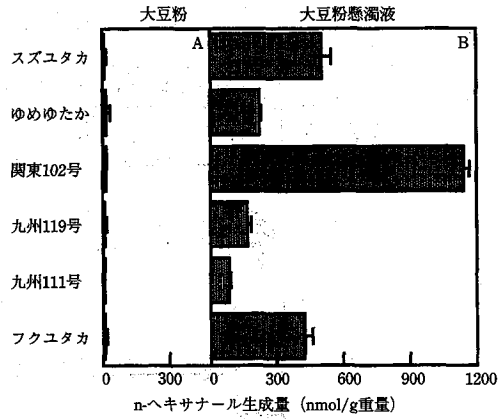
「九州111号」のリポキシゲナーゼ完全欠失性は交配により他の大豆品種に容易に導入できる。そのため今後は、「九州111号」よりも生育特性・耐病性・加工特性などに優れるリポキシゲナーゼ完全欠失性の品種、系統が盛んに育成されると予想される。このような交配育種を効率的に進めるためには、煩雑な操作と時間を要する電気泳動法(第1図)に替わる、リポキシゲナーゼアイソザイムの簡便な検出法が必要である。九州農業試験場では、この目的にあう簡易・高精度な検出法をすでに開発しているので紹介する。

検出法の操作手順は第3図に示してある。検体(大豆粉末試料)に反応助長液と各アイソザイム検出溶液(色素-基質液)を加える操作のみで、L-1を含む大豆はTest Iにより、L-2を含む大豆はTest IIにより、L-3を含む大豆はTest IIIにより、検出溶液添加後3~5分で容易に検出できる。

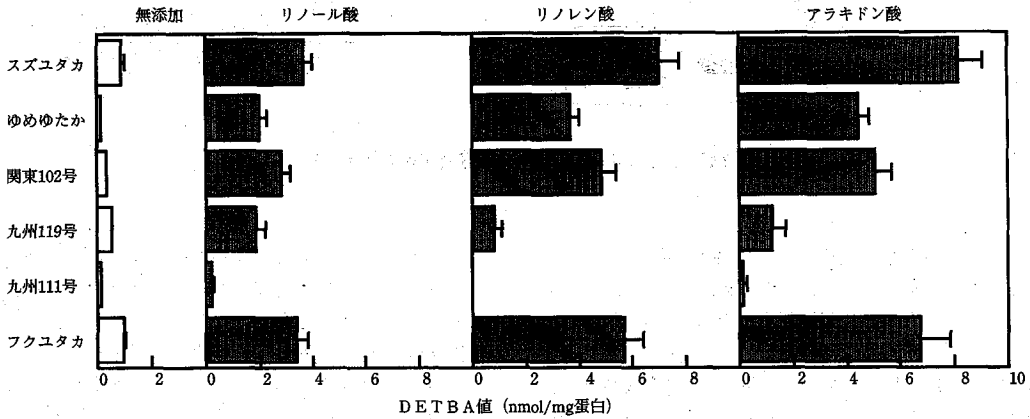
本検出法は、特殊な機器や技術を必要とせず、どこでも誰にでも簡易迅速に多数の検体が処理できるため、育



第4図 浸漬大豆磨砕液の脂質過酸化度



第5図 大豆粉懸濁液のn-ヘキサナール生成量



第6図 大豆抽出液と不飽和脂肪酸との併用による脂質過酸化度の増加

種の現場等で利用できる。

### 6. 従来大豆製品へのリポキシゲナーゼ完全欠失大豆の利用

大豆を利用加工する際に発生する青臭みは、リポキシゲナーゼの作用により生じる過酸化脂質の分解産物に由来する(第2図)。そこで我々は、リポキシゲナーゼ欠失大豆が良質大豆加工食品の製造に適するか否かを脂質過酸化度(過酸化脂質の相対生成量, DETBA値で表示)により判定した。

第4図に示すように、浸漬大豆磨砕液の脂質過酸化度は「ゆめゆたか」(L-1のみを含む)・「九州111号」で低い。またn-ヘキサナール生成量も低く(第5図)、官能評価でも良好な成績が得られている。これらのことは、この両大豆を利用するならば、青臭さが嫌いな人でも抵抗なく食べられる風味の良い豆乳や豆乳関連食品(豆腐、アイスクリーム、プリンなど)の製造が可能であることを意味している。

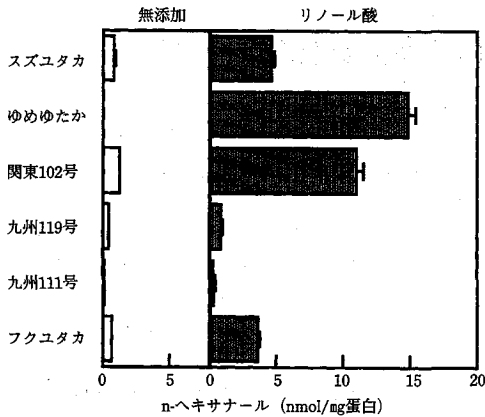
なおここで注意しなければならないのは、リポキシゲナーゼ完全欠失大豆が普通大豆より有効になる食品は、

浸漬大豆を磨砕して加工する食品(豆腐・豆乳など)や大豆粉を水系混和する場合に限られることである(第4図B, 第5図B)。浸漬大豆を磨砕することなしに加熱する大豆食品(煮豆など)ではリポキシゲナーゼの欠失特性が生かされず、普通大豆と同等である(第4図A, 第5図A)。

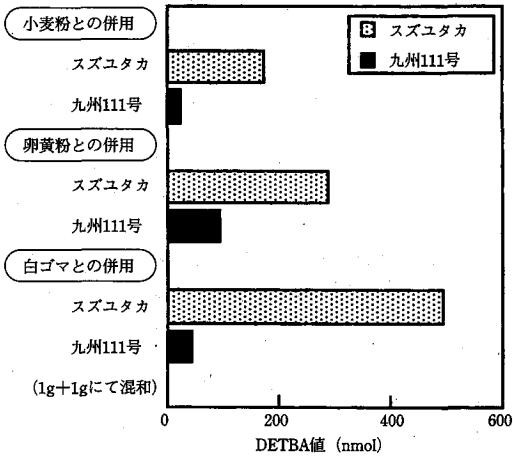
### 7. リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の利用による新規大豆加工食品の開発

現在、日本における大豆の食品としての利用は横ばい状態にある。そこで豆腐・豆乳といった従来の大豆用途以外に、大豆を利用する新たな方法が見いだされたなら、現状の枠を越えた大豆の需要拡大が期待できる。その一方法として大豆と他の食品素材との組み合わせによる大豆加工食品の製造が考えられる。

リポキシゲナーゼの作用により生じる過酸化脂質は、外部から新たに不飽和脂肪酸が加わると増加する(第2図)。そのため、普通大豆(スズユタカ、フクユタカ)およびリポキシゲナーゼ部分欠失大豆(ゆめゆたか、関東102号、九州119号)では、不飽和脂肪酸であるリノ



第7図 大豆抽出液と不飽和脂肪酸との併用によるn-ヘキサナルの生成



第8図 大豆粉と他の食品素材との併用品の脂質過酸化度

ール酸、リノレン酸、アラキドン酸を混和すると脂質過酸化度(第6図)およびn-ヘキサナル生成量(第7図)が増加する。ここで、「九州111号」を利用すると、その増加はほとんど認められない。リポキシゲナーゼ完全欠失大豆は、これまで不快臭発生のために組み合わせることができなかった「大豆と他の食品素材」との組み合わせを可能としたのである。

不飽和脂肪酸を含む食品素材は数多くある。そこで「九州111号」と併用できる他の食品素材を調査すると、食

第1表 大豆クッキーの官能評価

		スズユタカ	九州111号
青豆臭	1 かなり残っている		
	2 すこし残っている		
	3 わずかに残っている	2.4±1.0	3.8±0.8
	4 ほとんど残っていない		
	5 まったく残っていない		
味	1 悪い		
	2 やや悪い		
	3 ふつう	2.4±0.9	3.2±0.8
	4 やや良い		
	5 良い		
DETBA値 (nmol/g重量)		36.8±2.4	16.8±3.2

品素材として汎用されている小麦粉、卵の他、不飽和脂肪酸に富むゴマなども併用可能なことが判明した(第8図)。さらに大豆粉/小麦粉/卵/砂糖/バターを材料とした大豆クッキーの試作試験においても、大豆粉として「九州111号」を利用すると従来大豆に比べて、脂質過酸化度は低く、風味・食味の良い製品が製造できることが判明した(第1表)。

### 8. おわりに

ここで紹介した内容は、リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の利用法に関する基礎データである。どのような食品素材の形で利用するならば、リポキシゲナーゼの欠失特性が生かされるかは理解できたと思う。今後は、食品メーカーの斬新なアイデアによる新製品開発を期待したい。

なお、九州農業試験場では熊本県の民間企業数社と交流共同研究を実施しており、上記基礎データを応用した製品では、予期したように、脂質過酸化度・n-ヘキサナルレベルは低く、食味評価試験でも良好な結果が得られている。

大豆は、本来、栄養成分・機能成分に富む食品素材である。また、リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の利用により、最大の難問であった従来大豆製品の青臭み発生の問題、および新規大豆加工食品開発の道も開拓された。誰でも食べられる大豆加工食品の誕生は、発展途上国における蛋白質不足の問題や、動物性食品の過食により欧米諸国そして日本でも進行しつつある成人病の問題、これに関連する健康志向などの消費者ニーズに応えられる救世主になるかもしれない。リポキシゲナーゼ完全欠失大豆が大豆の消費の拡大と健康維持に貢献できることを切に願って本講演要旨の結びとしたい。