

# 小豆および金時豆を長期間貯蔵することによる煮熟性低下に關与する因子について —— 脂質およびフィチン酸 ——

豊碩<sup>1,2</sup>・呉珊<sup>1,2</sup>・有富幸治<sup>1</sup>・小嶋道之<sup>1</sup>

(受付 : 2015 年 4 月 30 日, 受理 : 2015 年 7 月 28 日)

Effect of long-term storage conditions on the cooking characteristics of adzuki and red kidney beans

—— Lipids and Phytic acids ——

Shuo FENG<sup>1,2</sup>, Shan WU<sup>1,2</sup>, Kōji ARITOMI<sup>1</sup>, Michiyuki KOJIMA<sup>1</sup>

## 摘 要

温度  $24.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$  で湿度  $35.5 \pm 17.1\%\text{RH}$  (室温 A) および同温度で  $58.1\% \pm 1.6\%\text{RH}$  (室温 B) の条件により 15 ヶ月間貯蔵した小豆および金時豆はタンパク質の変性およびペクチンの可溶性の抑制が起きていることおよび煮豆の煮熟性の低下が認められることを明らかにした (呉ら 2014)。今回は脂質とフィチン酸に注目して、煮熟性の低下との関連性について解析を行った。貯蔵した小豆に含まれる脂質の過酸化分解生成物 (マロンジアルデヒド, MDA) 量は  $81.9\text{nmol/g seed}$  (室温 A) および  $71.7\text{nmol/g seed}$  (室温 B), 金時豆のそれは  $115.9\text{nmol/g seed}$  (室温 A) および  $111.4\text{nmol/g seed}$  (室温 B) であった。この値は、通年温度  $7.1^\circ\text{C} \pm 3.4^\circ\text{C}$  で湿度  $84.8 \pm 4.4\%\text{RH}$  (低温 C) および同温度で湿度  $55.1\% \pm 4.9\%\text{RH}$  (低温 D) の貯蔵, 通年温度  $18.9 \pm 1.6^\circ\text{C}$  と湿度  $41.3\% \pm 5.9\%\text{RH}$  (凍結 E) および同温度で湿度  $51.5 \pm 6.9\%\text{RH}$  (凍結 F) で貯蔵したそれぞれの豆に含まれる MDA 量に比べ顕著に高い値を示した。15 ヶ月間貯蔵した小豆の煮豆の硬さと MDA 量との間には高い正の相関関係がみとめられた (室温 A :  $r=0.69$ , 室温 B :  $r=0.84$ )。また, 金時豆のそれらにも高い正の相関関係が認められた (室温 A :  $r=0.89$ , 室温 B :  $r=0.89$ )。これらの結果は, 小豆および金時豆の煮豆の硬さとタンパク質の遊離 SH 基量との間の相関係数よりも高い値を示していた。また, いずれの貯蔵条件においてもフィチン酸の経時変動は殆ど認められなかった。これらのことから, 室温 A および室温 B の条件で貯蔵した小豆および金時豆の煮熟性の低下は, 主に脂質の過酸化に起因する可能性の高いことを明らかにした。

キーワード : 豆の貯蔵, 硬さ, フィチン酸, 過氧化物, 凍土利用貯蔵

<sup>1</sup>帯広畜産大学畜産科学科食品科学研究部門

<sup>2</sup>岩手大学大学院連合農学研究科生物資源科学専攻

<sup>1</sup>Department of Food Production Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine. 080-8555, 11, nishi-2-sen, inada-cho, obihiro, Hokkaido, Japan.

<sup>2</sup>Department of Bioresources Science, United Graduate school of Agricultural Sciences, Iwate University, 3-18-8, Ueda, Morioka, Iwate 020-8550

連絡先 : 小嶋道之, kojima@obihiro.ac.jp

## 緒言

小豆は和菓子餡の代表的原料であり、他にお祝いの赤飯、小正月の小豆粥などに良く利用されている。また、金時豆はインゲン豆の代表的な種類で、粒形が良く、食味も優れていることから煮豆や甘納豆などの原料としてよく利用されている。これらの豆類の特徴は保存性の良いことであるが、貯蔵の温度や湿度によっては加工適性に大きな影響を与えることが知られている。特に、加熱加工による煮熟性の低下は、餡収率の低下、栄養成分や風味の低下などに影響を及ぼすことが指摘されている (Bressani, 1982; Tuan et al. 1991; Hohlberg et al. 1991)。

豆の煮熟性の低下が起きるメカニズムは複雑であるが、高温・高湿条件で貯蔵した豆類種実の煮熟性の低

下に関わる多経路機構モデル (図1) が Liu et al. (1995) により提案されている。即ち、煮熟性の低下が起きると、貯蔵中の脂質過酸化による膜の損傷およびフィチン酸の分解によるカチオンバランスの変化、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇などにより、ペクチンの不溶化などが原因で起きる経路、及びタンパク質の変性および凝固などが原因で起きる経路が関与していると提案した。しかし、これらの経路は、高温・高湿以外の貯蔵条件においても影響を与える因子であるのかについては明らかにされていない。

今回は、高温・高湿以外の条件で貯蔵した小豆、金時豆の煮熟性と脂質の過酸化およびフィチン酸の加水分解との関連性について明らかにすることを目的とした。



図1. 豆類種実の煮熟性の低下に関わる経路モデル (Liu et al. 1995)

## 実験方法

### 1. 実験材料、貯蔵施設および包装形態

実験材料は、平成21年北海道音更産の小豆「エリモシヨウズ」および金時豆「大正金時」を使用した。小豆、金時豆の貯蔵は、それぞれ凍土利用貯蔵庫（帯広農業高校に設置）、室温貯蔵庫（帯広畜産大学に設置）および冷凍貯蔵庫（帯広畜産大学小嶋研究室に設置）を用いて行った。凍土利用貯蔵庫は冬の冷気を利用して地下に埋めたヒートパイプの回りに凍土を作り貯蔵庫の内部温度を長期に低く保持する原理である（土谷 2009）。また、室温貯蔵庫は25℃恒温槽（MIR-152, 三洋電機）を使用し、冷凍貯蔵庫は市販の-20℃冷凍庫（MDF-536, 三洋

電機）を使用して貯蔵実験を行った。全てのサンプルは、市販の包装形態である日本東陽製紙袋（大きさ830mm×417mm, 厚さ0.4mm, クラフト製）およびポリエチレン製ジッパー付密封袋（大和物産株式会社製の大きさ270mm×280mm, 厚さ0.07mm）に入れて貯蔵した。各試料の貯蔵量は、総重量は20kg, 紙袋は20kg/袋（1袋）で、密封袋は1kg/袋（20袋）とした。貯蔵条件の温度および湿度は表1に示した。平成22年3月～平成23年5月までの15ヶ月間貯蔵を行い、0ヶ月から15ヶ月まで3ヶ月毎に各試料2kgをランダムに採取して、全体を混合した後、ランダムに試料を採取して以下の分析に使用した。測定のリターン数は3回以上行った。

表1. 小豆と金時豆の貯蔵条件；平均温度，平均湿度，貯蔵施設名，包装形態

貯蔵条件	平均温度(℃)	平均湿度 (%RH)	貯蔵施設	包装形態
室温A	24.9 ± 0.1	35.5 ± 17.1	恒温槽	紙袋
室温B	24.9 ± 0.1	58.1 ± 1.6	恒温槽	密封袋
低温C	7.1 ± 3.4	84.8 ± 4.4	凍土利用	紙袋
低温D	7.1 ± 3.4	55.1 ± 4.9	凍土利用	密封袋
凍結E	-18.9 ± 1.6	41.3 ± 5.9	冷凍庫	紙袋
凍結F	-18.9 ± 1.6	51.5 ± 6.9	冷凍庫	密封袋

### 2. フィチン酸含量の測定

フィチン酸含量はLatta and Eskin (1980) の方法を用いて測定した。すなわち、サンプル1gに20mlの2.4% HCl溶液（0.65N）を加え、15分毎に10秒間攪拌を繰り返し、合計1時間室温で抽出した。10分間、3000rpmで遠心分離して得られた上清3mlは、水で25mlに定容後、2ml容量のDOWEX 1-8樹脂（100～200メッシュ）カラムに載せ、10mlの蒸留水及び15mlの0.1M NaCl溶液を流して無機リン及びその他の妨害物質を溶出させた。続いて、15mlの0.7M NaClによりフィチン酸を溶出した。容量を測定後、30分以内に溶出液700μlにWade試薬（0.03% FeCl<sub>3</sub>・6H<sub>2</sub>O水溶液及び0.3%スルホサリチル酸水溶液の等量混合液）700μlを加えて混和後、1分間、

12000rpmで遠心分離し、得られた上清は500nmで測定した。フィチン酸含量は、既知量のフィチン酸を用いた検量線より求めた。

### 3. 脂質の過酸化（MDA量）の測定

脂質の過酸化は、チオバルビツール酸反応物（TBARs, MDA相当量）を測定することで評価した（Kosugi et al. 1991; 1993）。種子10gは1分間ミキサーで粉末化し、粉末化サンプル1gは10mlの蓋付き試験管に1g取り、3mlのクロロホルム：メタノール（2：1）を加えて、2分間攪拌後、10分間、3000rpmで遠心分離した。同じ操作を3回繰り返して得られた抽出液は、メスフラスコで10mlに定容した。サンプル1mlを蓋付き試験管に取り、窒素

乾固後、2ml の TBA 混液；4% ドデシル硫酸ナトリウム の 20% 酢酸緩衝液 (pH3.5)，0.8% ジブチルヒドロキシ トルエン，0.8% チオバルビツール酸，蒸留水を 8:30:1:30:11 の割合で混合した溶液を加えてよく攪拌後，氷中で 1 時間インキュベートした。1 時間，100°C のドライバスで反応後，流水で室温程度まで冷却した。500  $\mu$ l の蒸留水，2.5ml の n-ブタノール：ピリジン (15：1) 混液を加え，30 秒間激しく攪拌後，10 分間，3000rpm で遠心分離した。得られた上清は 532nm の吸光値を測定した。MDA 量は TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane) を加水分解して得られた MDA の標準溶液 (25nmol/ml) を用いて作成した検量線より求めた。

#### 4. 硬さの測定

小豆または金時豆 50g に 250ml のイオン交換水を加えて 25°C インキュベーターで 18 時間浸漬後，吸水豆と浸漬液に分けた。吸水豆は新しいイオン交換水 250ml を加え，20 分間，95°C で加熱後，15 分間室温で冷却し，煮豆と煮熟液に分けた。煮豆の硬さ測定は，テクスチャー・アナライザー (Texture-Analyzer TA-XT2, Stable Micro System Co., Ltd.) を用いた。直径 2mm の鋼製平坦パンチを用い，30cm/min クロスヘッド速度で，貫入実験を行った。10 粒の煮豆を使用して平均値を求めた。

#### 5. 統計処理

数値は平均値  $\pm$  標準偏差で示した。貯蔵開始時 (0 ヶ月) を基準にして，貯蔵 3 ヶ月から貯蔵 15 ヶ月の間に得られた値は Dunnett の多重比較法により検定し，有意水準を厳しく 0.1% とした。MDA 量と硬さ，フィチン酸と硬さの間の関係については Pearson 相関分析法により評価した。

### 結果および考察

#### 1. 貯蔵した小豆及び金時豆を用いた煮豆の煮熟性

室温 A, B 条件で貯蔵した小豆，金時豆の煮豆は，貯蔵期間の長さに伴い，煮豆の硬さは上昇することが認められた (表 2)。また，湿度の低い貯蔵条件である室温 A に比べ，湿度の高い貯蔵条件である室温 B で貯蔵した小豆及び金時豆の煮豆は，いずれも硬いことが判明したが，この現象は黒豆 (Molina et al. 1976)，インゲンマメ (Aguilera et al. 1985) およびエンドウ (Liu et al. 1993; Sefa-Dedeh et al. 1979) において同様の報告がある。しかし，今回検討したそれ以外の低温 C, D 及び凍結 E, F の条件で貯蔵した豆を用いた煮豆の煮熟性にはほとんど影響を与えなかった。

表 2. 各貯蔵条件で 0 ヶ月～15 ヶ月貯蔵した小豆および金時豆を用いた各煮豆の硬さ

試料	貯蔵条件	煮豆の硬さ (N/seed)					
		貯蔵0ヶ月	貯蔵3ヶ月	貯蔵6ヶ月	貯蔵9ヶ月	貯蔵12ヶ月	貯蔵15ヶ月
小豆	室温A		0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.1*	1.1 $\pm$ 0.1*	1.1 $\pm$ 0.1*
	室温B		0.5 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.1*	1.1 $\pm$ 0.2*	2.7 $\pm$ 0.1*	3.7 $\pm$ 0.1*
	低温C	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0
	低温D		0.5 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1
	凍結E		0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0
	凍結F		0.5 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0
金時豆	室温A		1.3 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.0*	2.3 $\pm$ 0.0*	2.2 $\pm$ 0.4*
	室温B		1.2 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2*	3.9 $\pm$ 0.2*	6.0 $\pm$ 0.5*
	低温C	1.1 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.1
	低温D		1.2 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.2
	凍結E		1.1 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1
	凍結F		1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.2

\*  $P < 0.1\%$

## 2. 貯蔵中の脂質過酸化と煮熟性との関連性

MDA は、植物組成および動物組織の過酸化物の指標として広く使用されている (Rendón et al. 2014; Jin et al. 2013; Maqsood et al. 2011)。本研究において、いずれの貯蔵条件においても 15 ヶ月間貯蔵した小豆と金時豆の MDA 量は貯蔵初期に比べて上昇していた (図 2)。特に、室温 A, B で貯蔵した小豆と金時豆の過酸化の進行速度は、他のものに比べ最も速いことが示された。また、室温 A, B で貯蔵した小豆及び金時豆の MDA 値と各々の煮豆の硬さとの間に正の相関性が認められた (表 3)。Fang et al. (2014) は、MDA 値の増加率と貯蔵温度との間に正の相関のあることを報告している。また、ダイズを長期間貯蔵すると、細胞膜が変化すること (Parrish et al. 1978) や長期間貯蔵した小豆電解質の溶出量が多くなること (塩田ら 1983) はリン脂質二重層から構成されている細胞膜の酸化損傷により膜の透過性が破壊され、細胞内の電解質が漏出しやすくなる (Gill et al. 2010; Anjum et al. 2012) ことなどが報告されている。今回、室温 B, 低温 D および凍結 F 貯蔵により 15 ヶ月間貯蔵した小豆を蒸留水で 16h 浸漬後、漏出したミネラル含量を測定し

たところ、室温 B 条件で貯蔵した小豆から得られた浸漬液には、カリウム ; 450mg/l, リン ; 32mg/l, マグネシウム ; 21 mg/l, カルシウム ; 11 mg/l が認められた。しかし、低温 D 条件で貯蔵した小豆を上記と同条件で処理した時の浸漬液に含まれるミネラル含量は、カリウム ; 300 mg/l, リン ; 13 mg/l, マグネシウム ; 18 mg/l, カルシウム 9.9mg/l であり、凍結 E 条件のそれらは、カリウム ; 290mg/l, リン ; 13 mg/l, マグネシウム ; 18 mg/l, カルシウム 10mg/l といずれも低い値を示した。すなわち、室温 B で貯蔵した小豆を浸漬した時のイオン漏出量は、低温 D 及び凍結 E で貯蔵したそれに比べは高い値を示した。これらのことから、長期間、室温 A, B で貯蔵した小豆及び金時豆が、煮熟し難くなるのは、貯蔵中の脂質過酸化による膜の損傷、さらに漏出したイオン濃度の上昇がペクチンの不溶化に起因すると考えられる。低温 C, D 貯蔵と凍結 E, F 貯蔵した小豆及び金時豆の MDA 値は貯蔵初期のそれらと比べ、上昇していた。しかし、これらの貯蔵条件により貯蔵した小豆及び金時豆煮豆の煮熟性の低下はほとんど認められなかったため、MDA 値と硬さの間に相関性は認められなかった (表 3)。この結果は、

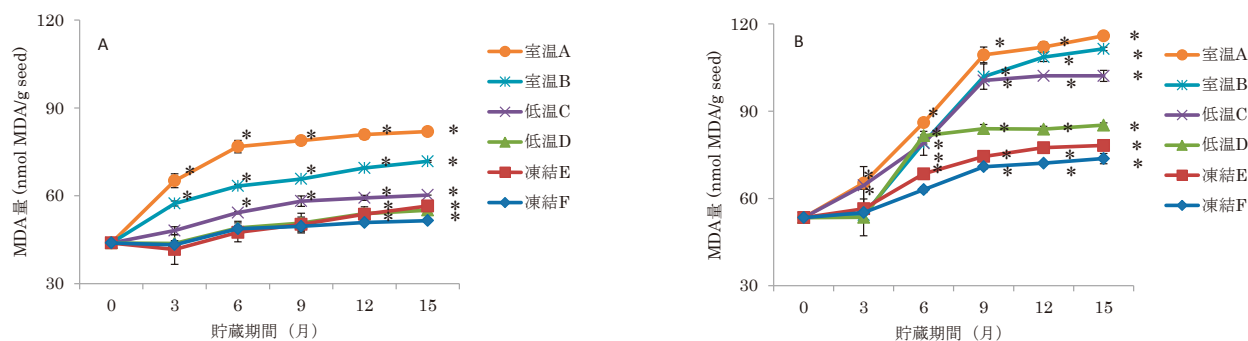


図 2. 各貯蔵条件で 0 ヶ月～15 ヶ月貯蔵した小豆 (A) および金時豆 (B) の MDA 量の経時変化 ( $P < 0.1\%$ )

表 3. 各貯蔵条件で貯蔵した豆の MDA 量と硬さおよびフィチン酸量と硬さとの相関性

試料	相関性	相関係数 (r)					
		室温A	室温B	低温C	低温D	凍結E	凍結F
小豆	MDA量 × 硬さ	0.69*	0.84*	0.00	0.09	0.20	0.13
	フィチン酸 × 硬さ	0.59	0.48	0.22	0.00	0.18	0.21
金時豆	MDA量 × 硬さ	0.89*	0.89*	0.05	0.19	0.07	0.33
	フィチン酸 × 硬さ	0.59	0.58	0.24	0.31	0.00	0.10

\*  $P < 0.01$

長期貯蔵により生じた程度の過酸化物は、細胞膜の損傷までには至らず、膜の傷害にも繋がらない可能性が考えられる。ある範囲内における過酸化物の生成は、イオンの漏出にもほとんど影響を与えないのかもしれない。

### 3. 貯蔵中のフィチン酸量の変化と煮熟性との関連性

煮熟性の低下のメカニズムの1つとしては、phytase-phytate-pectin 仮説がある (Galiotou-Panayotou et al. 2008; Phillips et al. 2003)。これは、ある条件により内生のフィターゼ活性によりフィチン酸が分解し、解放された2価カチオンがペクチンの1価カチオンと交換され、ペクチンの不溶化が促進されて豆が硬くなるとする説である。15ヶ月間貯蔵した小豆及び金時豆中に含まれるフィチン酸含量を測定したところ、いずれの貯蔵条件においてもほぼ安定した値(表4)を示した。この結果より、今回の貯蔵条件ではフィターゼ活性の上昇はほとんど認められないことが推察される。豆中に含まれるフィチン酸はタンパク質と結合していることや豆に含まれる水分含量の低いことがフィチン酸の加水分解と関係しているかもしれない (Lott et al. 1984)。また、Fredrikson et al. (2001) はエンドウ豆のフィチン酸の加水分解は、貯蔵温度 37°C

および 55°C に比べ、45°C で貯蔵した方が加水分解されやすいことを報告している。今回の結果は、室温 A, B による貯蔵条件、低温 C, D による貯蔵条件および凍結 E, F による貯蔵条件は、フィチン酸の加水分解に最適な温度ではないことを示しているのかもしれない。しかし、これらの結果は、フィチン酸含量と煮熟性の低下との間には関連性が認められないことを示している(表3)。

以上のことから、室温 A, B (24.9°C, 35.5%RH と 58.1%RH) で15ヶ月間貯蔵した小豆および金時豆の煮熟性の低下の原因は、フィチン酸が加水分解することによる影響ではなく、脂質の過酸化が主に関係して起きることが示唆された。

## 謝 辞

本研究で使用した農産物貯蔵施設を提供していただいた帯広畜産大学名誉教授 土谷富士夫先生に深謝します。

表 4. 各貯蔵条件で0ヶ月～15ヶ月貯蔵した小豆および金時豆のフィチン酸量

試料	貯蔵条件	フィチン酸量 (mg/g)			
		貯蔵0ヶ月	貯蔵3ヶ月	貯蔵9ヶ月	貯蔵15ヶ月
小豆	室温A		6.3 ± 0.4	7.5 ± 0.5	7.1 ± 0.1
	室温B		7.8 ± 0.2	7.7 ± 0.2	7.9 ± 0.1
	低温C	6.1 ± 0.3	8.0 ± 0.0	7.4 ± 0.6	7.1 ± 0.3
	低温D		8.4 ± 0.1	8.0 ± 0.3	7.8 ± 0.5
	凍結E		7.4 ± 0.2	7.6 ± 0.2	7.3 ± 0.3
	凍結F		7.5 ± 0.1	6.9 ± 0.3	7.3 ± 0.1
金時豆	室温A		9.8 ± 0.3	10.1 ± 0.7	11.5 ± 0.3
	室温B		10.6 ± 0.2	10.9 ± 0.2	10.8 ± 0.4
	低温C		10.5 ± 0.2	9.4 ± 0.4	10.3 ± 0.6
	低温D	9.5 ± 0.4	9.9 ± 0.2	9.9 ± 0.3	10.5 ± 0.4
	凍結E		9.3 ± 0.3	10.6 ± 0.1	10.4 ± 0.4
	凍結F		10.9 ± 0.4	9.8 ± 0.3	10.1 ± 0.5

参考文献

- Aguilera J. M, Steinsapir A. 1985. Dry processes to retard quality losses of beans (*Phaseolus vulgaris*) during storage. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal 18: 72-78
- Anjum N. A, Ahmad I, Mohmood I, Pacheco M, Duarte A. C, Pereira E. 2012. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids—a review. Environmental and Experimental Botany 75: 307-324
- Bressani R. 1982. The food and nutritional significance of bean hardening. Nutr. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 32: 308-325
- Phillips R. D. et al. 2003. Utilization of cowpeas for human food. Field Crops Research 82: 193-213
- Fang W. J, Zhang Y, Chen Y, Sun J, Yi Y. 2014. TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. Meat Science 96: 1-4
- Fredrikson M, Alminger M, Carlsson N, Sandberg A. 2001. Phytate content and phytate degradation by endogenous phytase in pea (*Pisum sativum*). Journal of the Science of Food and Agriculture 81: 1139-1144
- Galiotou Panayotou M, Kyriakidis N. B, Margaris I. 2008. Phytase–phytate–pectin hypothesis and quality of legumes cooked in calcium solutions. Journal of the Science of Food and Agriculture 88: 355-361
- Gill S. S, Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930
- 呉珊, 豊碩, 有富幸治, 小嶋道之. 2014. 貯蔵方法の違いが小豆, 大豆, 金時豆及び蕎麦に含まれるタンパク質の遊離 SH 基量やペクチン組成に及ぼす影響. 帯広畜産大学学術研究報告 35: 15-24
- Hohlberg A, Aguilera J. M, Diaz R. 1991. Economic evaluation of postharvest losses and utilization of hard to cook beans: A case study in Chile. Ecology of food and nutrition 25: 275-286
- Jin G. F, Li C. H, Xiang Y, Zhang J. H, Ma M. H. 2013. Antioxidant enzyme activities are affected by salt content and temperature and influence muscle lipid oxidation during dry-salted bacon processing. Food Chemistry 141: 2751-2756
- Kosugi H, Kojima T, Kikugawa K. 1993. Characteristics of the thiobarbituric acid reactivity of human urine as a possible consequence of lipid peroxidation. Lipids 28: 337-343
- Kosugi H, Kojima T, Kikugawa K. 1991. Characteristics of the thiobarbituric acid reactivity of oxidized fats and oils. Journal of the American Oil Chemists Society 68: 51-55
- Latta M, & Eskin M. 1980. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. Journal of Agricultural and Food Chemistry 28: 1313-1315
- Liu K, Bourne M.C. 1995. Cellular, biological, and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legume seeds. Food Science & Nutrition 35: 263-298
- Liu K., Hung Y. C, Phillips, R. D. 1993. Mechanism of hard-to-cook defect in cowpeas: verification via microstructure examination. Food structure 12: 51-58
- Lott J. N. A, Goodchild D. J, Craig S. 1984. Studies of mineral reserves in pea (*Pisum sativum*) cotyledons using Low-water-content procedures. Aust F plant Physiol 11:459-469
- Maqsood S, Benjakul S. 2011. Effect of bleeding on lipid oxidation and quality changes of Asian seabass (*Lates calcarifer*) muscle during iced storage. Food Chemistry 124: 459-467
- Molina M. R, Baten M. A, Gomez Brenes R. A, King K. W, Bressani R. 1976. Heat treatment: a process to control the development of the hard to cook phenomenon in black beans (*Phaseolus vulgaris*). Journal of Food Science 41: 661-666
- Parrish D. J, Leopold A. C. 1978. On the mechanism of aging in soybean seeds. Plant Physiology 61: 365-368
- Rendón M.Y, Salva T. J. G, Bragagnolo N. 2014. Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee

- beans during storage. *Food Chemistry* 147: 279-286
- Sefa-Dedeh S, Stanley D. W, Voisey P. W. 1979. Effect of storage time and conditions on the hard-to-cook defect in cowpeas (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Science* 44: 790-795
- 塩田芳之, 倉田美恵, 土屋房江. 1983. アズキの吸水について. *家政学雑誌* 34: 775-781
- 土谷富士夫. 2009. 帯広市八千代地域におけるヒートパイプを利用した大型実用低温貯蔵庫の開発. *北海道自然エネルギー研* 6: 15-21
- Tuan Y. H, Phillips R. D. 1991. Effect of the hard-to-cook defect and processing on protein and starch digestibility of cowpeas. *Cereal chemistry (USA)* 68: 413-418

B:  $r = 0.84$ ); a similar correlation was observed in cooked kidney beans stored for 15 months (room temperature A:  $r = 0.89$ , room temperature B:  $r = 0.89$ ). Lower correlations were found between storage conditions and protein denaturation, suppression of pectin solubilization, and reduction in cooking characteristics of adzuki and kidney beans. Furthermore, almost no changes in phytic acid levels were observed in beans stored under any conditions. Thus, the reduction in the cooking characteristics of adzuki and kidney beans stored at room temperatures A and B is probably caused by lipid peroxidation.

**Keywords:** beans storage, hardness, phytic acid, MDA, frozen soil

## Abstract

Poorer cooking characteristics, protein denaturation, and suppression of pectin solubilization have been reported in adzuki beans and red kidney beans stored at  $58.1\% \pm 1.6\%$  relative humidity (RH) or  $35.5 \pm 17.1\%$  RH and temperatures of  $24.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$  for 15 months (Wu et al. 2014). In this study, we determined the levels of lipids and phytic acids in stored beans and analyzed their correlation with a reduction in cooking characteristics. Adzuki beans stored at room temperatures A and B contained the lipid peroxidation product malondialdehyde (MDA), at 81.9 nmol/g seed and 71.7 nmol/g seed, respectively; in kidney beans stored at these temperatures, MDA levels were 115.9 nmol/g seed and 111.4 nmol/g seed, respectively. MDA values were significantly higher in beans stored at room temperature than in beans stored at low temperature C ( $84.8\% \pm 4.4\%$  RH,  $7.1^\circ\text{C} \pm 3.4^\circ\text{C}$ ), low temperature D ( $55.1\% \pm 4.9\%$  RH,  $7.1^\circ\text{C} \pm 3.4^\circ\text{C}$ ), frozen temperature E ( $-18.9 \pm 1.6^\circ\text{C}$ ,  $41.3\% \pm 5.9\%$  RH), or frozen temperature F ( $-18.9 \pm 1.6^\circ\text{C}$ ,  $51.5\% \pm 6.9\%$  RH). A high positive correlation was observed between hardness and MDA levels of cooked adzuki beans stored for 15 months (room temperature A:  $r = 0.69$ , room temperature