

加工処理方法が異なる紫花豆の抗酸化活性の比較

初沢葵¹・慈照江²・小嶋道之³

(受付 : 2020 年 4 月 30 日, 受理 : 2020 年 7 月 22 日)

Comparison of antioxidant activity of scarlet runner beans (purple) processed with different methods

Aoi HATUZAWA¹, Chengyu JIANG^{1,2}, Michiyuki KOJIMA³

摘 要

浸漬および加熱処理に用いる水量が異なる紫花豆煮豆を作り、それらの抗酸化活性を検討した。浸漬と加熱処理に用いた水量(ml)が生豆の重さ(g)の2倍の条件で加工した煮豆抽出液が、最も高いDPPHラジカル消去活性($12.11 \pm 0.27 \mu\text{mol/g}$ 煮豆)を示した。浸漬と加熱処理に用いた水量(ml)と生豆の重さ(g)の比が大きくなるにつれて、その煮豆抽出液のDPPHラジカル消去活性は低くなった。これらの煮豆抽出液に含まれるDPPHラジカル消去活性とポリフェノール含量との間には正の相関が認められた(相関係数 $r=0.9952$)。これらの結果は、煮豆を作るときに用いる浸漬および加熱処理の水量を少なくするほど、その煮豆に含まれる抗酸化活性は高くなることを示している。しかし、煮豆を加工するときに用いる水の量を少なくすると硬い煮豆になる欠点がある。

豆の硬さを緩和するために少量の食酢や重曹を添加する煮豆法により製造した紫花豆の煮豆と蒸煮法による蒸し豆の抗酸化活性を検討した。その結果、今回検討した加工法の中では、蒸煮法で作った蒸し豆の機能性の方が食酢や重曹を添加して作った煮豆のそれらよりも高いことを明らかにした。

キーワード : ペニバナインゲン、煮豆、蒸し豆、機能性、ポリフェノール

¹ 帯広畜産大学食品科学研究部門

¹ Department of Food Production Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

² 岩手大学連合農学研究科生物資源科学専攻

² Department of Bioresources Science, United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University, Morioka, Japan

³ 帯広畜産大学人間科学研究部門

³ Department of Human Sciences, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

連絡先 : 小嶋道之, kojima@obihiro.ac.jp

Address Correspondence : Michiyuki KOJIMA, kojima@obihiro.ac.jp

緒言

紫花豆 (*Phaseolus coccineus* L.) はベニバナインゲンマメともいい、花豆の一品種で、中央アメリカ原産の食用豆である。多くの品種が存在するインゲン豆 (*P. vulgaris* L.) とは異なる種である。北海道では、道東地域で広く栽培されていて、北見や十勝地方で生産量が多く、豆粒が極めて大きいことから煮豆や甘納豆の原料に利用されている。

加工調理は、食用作物の物性や化学組成にさまざまな変化をもたらすことが報告されている (Brand et al. 1995 ; Sultana et al. 2008)。しかし、通常豆類の種子は硬く、非栄養成分を含むことから、加工しないで食べることはできない。一般に、種実は焙煎したり、浸漬・発芽させたり、加工処理；煮沸、蒸煮、高圧処理などの調理をおこなうなどして食用としている (Boateng et al. 2008)。しかし、これらの加工処理には、いろいろなメリット・デメリットがあり、栄養成分や生理活性物質の含有量の変化、風味や色、食材に含まれる物理特性や機能性などへの影響が指摘されている (Knorr 1999 ; Wang et al. 2008 ; Guzel et al. 2012)。また、インゲン豆や大豆の熱処理や加圧処理は、フェノール成分の含量や組成、抗酸化活性に影響を与えることが報告されている (Nuria et al. 2007 ; Xu et al. 2008)。これらの報告は、浸漬、煮沸、蒸煮などの加工処理が、豆類のフェノール成分に影響を与える可能性を示唆しているが、煮熟および蒸煮処理した加工品；煮豆と蒸し豆の抗酸化活性の相違について、同時に比較した報告はみられない。本論文では、異なる加熱加工処理を行った紫花豆に含まれるポリフェノール含量や抗酸化活性の比較から、紫花豆の煮豆と蒸し豆の機能性の違いについて明らかにしようとした。

実験方法

1. 材料および試薬

紫花豆は川西農業協同組合 (2017年産、帯広) から、また他のすべての試薬類は和光純薬工業 (日本、大阪)

から購入した。浸漬時に添加した酸；ミツカン酢 (酸度 4.2%、ミツカンホールディングス (株)) や塩基；重曹 (食品添加物、幸田商店 (株)、茨城県) は、市内のスーパーから購入した。

2. 煮豆および蒸し豆の調製

紫花豆の煮豆は、浸漬・煮熟に用いる水量が異なる6通りの処理条件を用いて製造した。豆重量と用いた水量との関係は、Table 1に示した。紫花豆30 gを精秤後、生豆重量の2倍、4倍、6倍、8倍、10倍、20倍の水を加えた以外は、すべて同様にして煮豆を製造した。すなわち、紫花豆に水を加えて、28°C前後の恒温槽で18時間吸水させ、浸漬豆の重量と浸漬液の体積を計測後に、両者を再び合わせて、電気圧力鍋 (Panasonic SR-P37-N、大阪) で113°C、7分間の低圧条件で調理した。煮豆の重量と煮汁の体積を測定し、各々を実験試料に用いた。

また、紫花豆30 gを精秤し、豆重量の4倍となるように蒸留水、0.1%食酢となるように調製した浸漬水、0.3%重曹となるように調製した浸漬液を加えて、各々28°C前後の恒温槽で18時間吸水させ、先と同様の方法で煮豆を製造した。また、蒸し豆は、紫花豆30 gを精秤し、煮豆と同様の条件で吸水させた後、浸漬豆と浸漬液に分け、続いて浸漬豆は、蒸し水100 mLと蒸し板を入れた電気圧力鍋 (Panasonic SR-P37-N) で、低圧、加熱時間7分の条件により蒸し豆を製造した。また、浸漬液と調理後に残った蒸し水を合わせて蒸し豆廃液とした。

3. 各種煮豆および蒸し豆から80%エタノールおよび70%アセトン抽出液の調製

6条件で浸漬・加熱処理した煮豆は、少量のエタノールとともに金属容器に入れ、周りを氷で冷やししながらホモジナイザーで粉碎し、十分に均質化した。抽出操作は、Zhaohong et al. (2018) の方法に従った。均質化した試料は蓋付きチューブに移し、30分間超音波抽出をおこなった後、遠心分離 (3,000 rpm、10分間) により抽出液を得た。得られた上清は別のチューブに回収し、残渣に80%エタノールを加えて同様の抽出操作を2回繰り返す。

た。さらに、残渣は70%アセトンによる抽出操作を3回おこない、得られた全ての抽出液を合わせて分析試料とした。また、0.1%食酢を添加して製造した煮豆や0.3%重曹を添加して製造した煮豆および蒸し豆の抽出液も、上記と同様の方法により調製した。

4. ポリフェノール含量の測定

各種の煮豆および蒸し豆の抽出液、浸漬液、煮汁に含まれるポリフェノール含量は、Foline-Ciocalteu法により測定した(Miyashita et al. 2007 ; Zhaohong et al. 2018)。すなわち、1.5 mlチューブに試料0.1 ml、蒸留水0.3 ml、Foline試薬0.4 mlを加えて攪拌後、3分間静置した。続いて10%炭酸ナトリウム水溶液0.4 mlを加えてよく混和後、30℃、30分間インキュベートして、その遠心分離 (3,000 rpm×10分) 上清の760 nm吸光度を測定した。各試料は検量線に収まるようにそれぞれ希釈して用いた。また、各ポリフェノール量はカテキン相当量として表した。

5. 各試料のDPPHラジカル消去活性の測定

煮豆および蒸し豆の抽出液、煮汁、浸漬液などのDPPHラジカル消去活性は、Brandらの方法に従って測定した(Brand et al. 1995 ; Zhaohong et al. 2018)。すなわち、1.5 mlチューブに試料200 μ lと蒸留水400 μ l、DPPH溶液600 μ lを加えてよく混合し、暗所で15分間静置後、遠心分離 (3,000 rpm×10分間) 上清の530 nmを測定して、DPPHラジカル消去活性を求めた。各試料は検量線に収まるようにそれぞれ希釈して用いた。また、標準物質としてトロロックスを用い、それぞれのDPPHラジカル消去活性をトロロックス相当量として表した。

6. 統計分析

それぞれの値は3回以上の平均値±標準偏差で表した。有意差検定はSAS Enterprise Guide 5.1を使用し、Turkeyの多重比較検定を用い、p値は0.05として有意差のある場合にはa～fの文字で示した。

実験結果および考察

1. 浸漬・加熱処理条件の異なる煮豆の重量

重量30gに対して、浸漬・加熱処理に用いる蒸留水の割合を種子重量の2倍から20倍まで変えた6通りの条件を用いて調製した浸漬豆と煮豆の重量をそれぞれ測定した。浸漬豆の重量は、65.3 gから67.9 gの範囲で、それらの重量差は4.4gであり、浸漬に用いた水の量(B)から浸漬豆の重量を差し引くことで、計算により求めた生豆に吸水した水の重量は36.0 gから38.0gの範囲で、相互間に顕著な違いは認められなかった。しかし、煮豆の重量は63.5 gから80.9 gの値を示し、煮豆相互間の重量差は17.4gで、重量増加分(煮豆/生豆)は2.10倍から2.70倍の増加を示した (Table 1、浸漬豆の重量データは表に示していない)。それらの条件で加熱処理した紫花豆煮豆の重量(C)は、有意に異なっていた。吸水段階ではほぼ十分な水の量であったにもかかわらず、用いた水の量が少ないと、加熱処理段階で煮汁の量が僅かとなり、6通りの条件による最終的な煮汁量(D)は顕著に異なっていた (Table 1)。これらのことは、浸漬・煮熟に用いる水量(B)を多くすれば、浸漬後の煮熟により吸水・膨潤が進み、煮豆重量(C)が増大することを示唆している。ただし、(B)/(A)値が10以上では、ほぼ同程度の煮豆重量になると考えられる。

Table 1. 紫花豆の重量(A)に対して浸漬・煮熟に用いた水量(B)をさまざまに変えて煮豆製造した時の煮豆重量(C)と煮汁量(D)

(A)生豆(g)	(B)浸漬・煮熟に用いた水(mL)	(B)/(A)	(C)煮豆(g)	(C)/(A)	(D)煮汁(mL)	(D)/(B)
30.2	60.0	2	63.5	2.10	5.1	0.09
30.4	120.0	4	77.6	2.55	42.0	0.35
30.2	180.0	6	80.9	2.68	97.5	0.54
30.2	240.0	8	79.4	2.63	166.0	0.69
30.2	300.0	10	81.7	2.70	215.0	0.72
30.2	600.0	20	80.0	2.64	504.0	0.84

2. 6通りの浸漬・加熱処理条件で製造した煮豆のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

紫花豆の重量に対して浸漬・加熱処理に用いる水量を6通りの条件で製造した煮豆のポリフェノール量は、Table 2に示した。浸漬に用いた水量(B)を生豆(A)で割った値である(B)/(A)値が2の時、最も煮豆ポリフェノール

含量が高く、 $1.36 \pm 0.05 \text{ mg/g}$ 煮豆であった。また、(B)/(A)値が2から8まで増えるに従い、煮豆ポリフェノール含量は徐々に低い値を示した。しかし、(B)/(A)値が8以降の煮豆ポリフェノール量はほぼ同程度であった (Table 2)。

Table 2. 紫花豆の重量(A)に対して浸漬・煮熟に用いる水の量(B)をさまざまに変えて製造した煮豆の抽出液に含まれるポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

(B)/(A)	煮豆ポリフェノール ¹ (mg/g 煮豆)	煮豆DPPHラジカル消去活性 ² ($\mu\text{mol/g}$ 煮豆)
2	1.36 ± 0.05 a	12.11 ± 0.27 a
4	0.85 ± 0.03 b	6.15 ± 0.08 b
6	0.77 ± 0.04 b	5.00 ± 0.05 c
8	0.57 ± 0.02 d	3.41 ± 0.16 e
10	0.51 ± 0.01 d	3.14 ± 0.16 e
20	0.61 ± 0.01 c	3.84 ± 0.22 d

^{1,2}; 平均値 \pm 標準偏差、a-e ; $p < 0.05$

(B)/(A)値の異なる条件で製造した紫花豆煮豆のDPPHラジカル消去活性は、Table 2に示した。最も高いDPPHラジカル消去活性を示したのは、(B)/(A)値が2の時で、 $12.11 \pm 0.27 \text{ mg/g}$ 煮豆であった。(B)/(A)値が2から8まで増加するに従い、煮豆のDPPHラジカル消去活性は徐々に減少し、(B)/(A)値が8以降のそれらの値はほぼ同程度を示した。この変動は、ポリフェノールのそれと同様の

傾向を示し、煮豆のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の相関を検討したところ、両者の間には高い正の相関関係が認められた (Fig. 1, 相関係数 $r = 0.9952$)。これらの結果は、煮豆を製造するときに用いる浸漬・加熱処理水の量を調整することにより、煮豆の機能性を向上させることができることを示している。

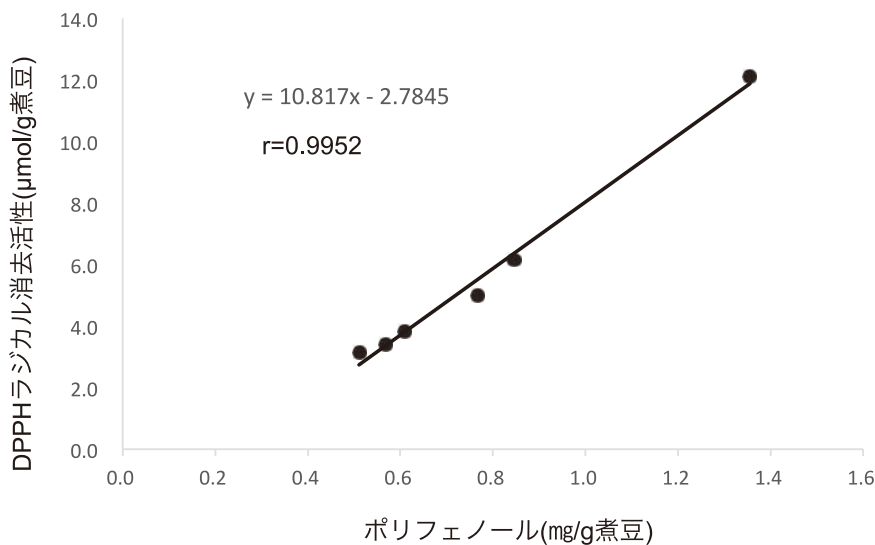


Fig. 1. 紫花豆の重量に対して浸漬・煮熟に用いる水の量を変えて製造した煮豆の抽出液に含まれるポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の相関関係

煮豆を製造するときには、必ず煮汁が生じる。これまでに、赤金時豆の煮汁と煮豆のポリフェノール含量や組成が異なることを報告した (Zhaohong et al. 2018)。(B)/(A)値が異なる条件で煮豆加工を行ったときに得られた各煮汁のポリフェノール含量およびDPPHラジカル消去活性を検討したところ、(B)/(A)値2の煮汁ポリフェノール含量が最も低く、30gの紫花豆種子から得られた煮汁全体のポリフェノール量は $10.3 \pm 0.3 \text{ mg}$ であった (Table 3)。また、(B)/(A)値が2から8まで増大する条件では、煮汁ポリフェノール含量も徐々に大きな値を示した。また、煮汁全体に含まれるDPPHラジカル消去活性は、(B)/(A)値が2の時に最も低い値の $74.0 \pm 1.8 \mu \text{ mol}$ (トロロックス相当量に換算) で、(B)/(A)値が徐々に増大し

た時の煮汁のDPPHラジカル消去活性は、徐々に大きな値を示した (Table 3)。すなわち、浸漬に用いた水の量 (B)が増えるに従い、煮汁のDPPHラジカル消去活性は増大することを示している。(B)/(A)値の異なる条件で加工した煮豆加工時に生じる煮汁のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の相関を検討したところ、両者の間には高い正の相関関係のあることが認められた (Fig. 2、相関係数 $r=0.9690$)。これらの煮汁の結果は、煮豆製造で生じる煮汁には多くのポリフェノール (DPPHラジカル消去活性) が溶出することを示している。堀ら (2009) は、アズキの熱水抽出物である煮汁に相当量のポリフェノールが溶出していることを報告しており、ポリフェノールの一部は熱水可溶性であることを報告している。

Table 3. 紫花豆の重量(A)に対して浸漬・煮熟に用いる水量(B)をさまざまに変えて煮豆製造した時に得られた煮汁中に含まれる全ポリフェノール量及び全DPPHラジカル消去活性

(B)/(A)	煮汁のポリフェノール量 (mg) ¹	煮汁のDPPHラジカル消去活性($\mu \text{ mol}$) ²
2	10.3 ± 0.3 f	74.0 ± 1.8 f
4	74.5 ± 1.5 e	198.2 ± 0.3 e
6	108.1 ± 1.5 d	336.4 ± 1.2 d
8	118.4 ± 1.5 c	421.3 ± 1.8 c
10	138.3 ± 2.4 a	514.9 ± 3.3 a
20	130.8 ± 2.7 b	486.5 ± 3.6 b

^{1,2}; 平均値 \pm 標準偏差、a-f; $p < 0.05$

使用した紫花豆の各重量はTable 1に示した。各々紫花豆の重量を精秤して用い、得られた全ポリフェノール量および全DPPHラジカル消去活性の値を示した

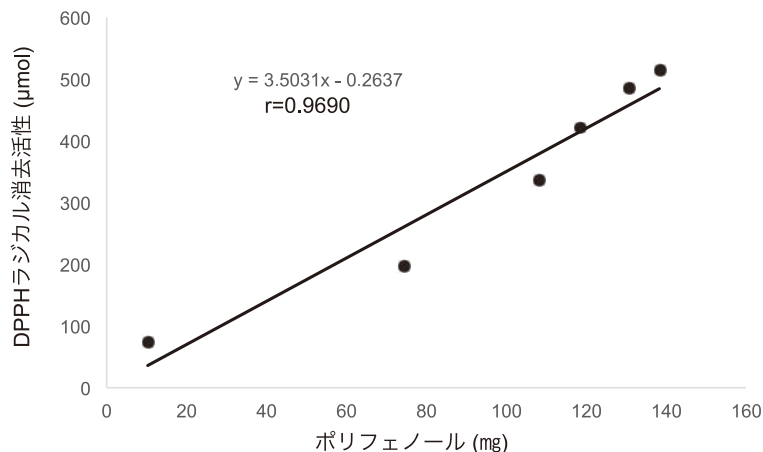


Fig. 2. 紫花豆30gから得られた煮汁中に含まれる全ポリフェノール量と全DPPHラジカル消去活性の相関関係

3. 加工処理条件の異なる煮豆と蒸し豆に含まれるポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

蒸留水のみ、0.1%食酢および0.3%重曹の浸漬液を加えて製造した3種類の煮豆、および蒸し豆に含まれるポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性をTable 4に示した。蒸留水のみで製造した煮豆のポリフェノール含量

は $0.87 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ 煮豆、0.1%食酢を用いて製造したそれは $0.94 \pm 0.02 \text{ mg/g}$ 煮豆、および0.3%重曹を用いて製造した煮豆のそれは $0.74 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ 煮豆であった。また、蒸し豆のポリフェノール含量は $1.49 \pm 0.06 \text{ mg/g}$ 蒸し豆で、蒸留水のみで製造した煮豆ポリフェノール含量に比べて、約1.7倍高い値を示した。

Table 4. 同じ重量の紫花豆を用いて製造した煮豆及び蒸し豆の抽出液に含まれるポリフェノール含量及びDPPHラジカル消去活性の比較

	ポリフェノール含量 ¹ (mg/g 煮豆又は蒸し豆)	DPPHラジカル消去活性 ² ($\mu\text{mol/g}$ 煮豆又は蒸し豆)
煮豆	0.87 ± 0.03 b	5.22 ± 0.10 c
煮豆(0.1%食酢添加)	0.94 ± 0.02 b	7.05 ± 0.16 b
煮豆(200mg重曹添加)	0.74 ± 0.01 c	3.82 ± 0.18 d
蒸し豆	1.49 ± 0.06 a	10.54 ± 0.93 a

^{1,2}; 平均値 \pm 標準偏差、a-d ; $p < 0.05$

蒸留水のみで製造した煮豆のDPPHラジカル消去活性は $5.22 \pm 0.10 \mu\text{mol/g}$ 煮豆、0.1%食酢を用いて製造したそれは $7.05 \pm 0.09 \mu\text{mol/g}$ 煮豆、および0.3%重曹を用いて製造した煮豆のそれは $3.82 \pm 0.18 \mu\text{mol/g}$ 煮豆であった。煮豆を製造する際に食酢や重曹を加えて加工すると、抗酸化活性に有意な影響を与えることが示された (Table 4)。また、蒸し豆のDPPHラジカル消去活性は $10.54 \pm 0.93 \mu\text{mol/g}$ 蒸し豆で、蒸留水のみで製造した煮豆ポリフェノール含量に比べ、蒸し豆のDPPHラジカル消去活性の方が約2.0倍高い値を示した (Table 4)。また、蒸し豆のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性は、食酢や重曹を添加した煮豆のそれらよりも、いずれも有意に高い値を示した。

0.1%食酢および0.3%重曹を浸漬液として煮豆を製造した時に生じる煮汁に含まれる全ポリフェノール含量は、前者のそれは $110.6 \pm 12.9 \text{ mg}$ 、後者のそれは $112.1 \pm 0.9 \text{ mg}$ であった。また、蒸し豆廃液に含まれる全ポリフェノール含量は $44.4 \pm 1.7 \text{ mg}$ で、煮豆のそれらの値の1/2以下の値であった。これまでに、赤金時豆の煮汁ポリフェノールの方が煮豆ポリフェノールよりも抗酸化活性や α -グルコシダーゼ活性阻害作用などの機能性の高いことを報

告している (Zhaohong et al. 2018) のので、廃液量が少ない蒸し豆には、それらの機能性が残存していることが推測できる。蒸し豆の廃液には、浸漬した時や蒸したときに種実から溶けだした溶出物が含まれており、蒸し豆の製造方法が異なれば、その値に若干の差異がみられるであろう。

最終的な加工品としての蒸し豆と煮豆の機能性の高さを比較すると、蒸し豆に含まれる抗酸化活性の方が煮豆のそれよりも2倍程度高い値であることを明らかにした。

参考文献

- Boateng J, Verghese M. 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L). *LWT-Food Science and Technology* 41(9):1541-1547
- Brand WW, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 28: 25-30
- Guzel D, Sayar S. 2012. Effect of cooking methods

- on selected physicochemical and nutritional properties of barlotto bean, chickpea, faba bean and white kidney bean. *Journal of Food Science and Technology* 49(1):89-95
- 堀由美子、村社知美、福村基徳、鳥居塚和生、伊田喜光. 2009. アズキ熱水抽出物（アズキ煮汁）の成分とその抗酸化能. *日本栄養・食糧学会誌* 62(1):3-11
- Knorr D. 1999 Process assessment of high-pressure processing of foods: An overview. In F. A. R. Oliveira & J. C. Oliveira (Eds.). *Processing foods. Quality optimization and process assessment*. pp. 249-267
- Miyashita J, Nishi S, Saito Y, Koaze H, Hironaka K, Kojima M. 2007. Annual variations in the anthocyanin contents of blueberry fruit grown in Hokkaido. *Research Bulletin of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine* 28:35-40
- Nuria ER-G, Rubeñ FG-L, Francisco JIb-P, Cynthia AN-B, Jose' AG-I. 2007. Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Food Chemistry* 100:31-35
- Sultana B, Anwarl F, Iqbal S. 2008. Effect of different cooking methods on the antioxidant activity of some vegetables from Pakistan. *Institute of Food Science & Technology* 43(3):560-567
- Wang N, Hatcher DW, Gawalko EJ. 2008. Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Food Chemistry* 111:132-138
- Xu BJ, Chang SKC. 2008. Total phenolic content and antioxidant properties of Eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *Journal of Food Science* 73:H 19-H 27
- Zhaohong CI, Kojima M, 2018. The functionalities of cooked bean and cooking liquid polyphenols from red kidney bean. *Research Bulletin of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine* 39:32-39

Abstract

Scarlet runner beans (purple) were boiled in different amounts of water used for soaking and heating treatment and their antioxidant activity was investigated. The highest DPPH radical scavenging activity ($12.11 \pm 0.27 \mu\text{mol/g}$ boiled beans) was observed in the boiled bean extract processed using twice the amount of water (mL) for soaking and heating treatment than the weight (g) of the raw beans. The DPPH radical scavenging activity of the boiled bean extract decreased with the increase in the ratio of the amount of water (mL) used for soaking and heat treatment to the weight of the raw beans (g). There was a positive correlation between DPPH radical scavenging activity and the polyphenol content of these boiled bean extracts (correlation coefficient $r = 0.9952$). These results indicate that the lower the amount of water used in the soaking and heating process for making boiled beans, the higher the antioxidant activity. However, if the amount of water used to process the boiled beans is reduced, the beans become hard. The antioxidant activity of scarlet runner beans (purple) treated with the boiling method with a small amount of vinegar or baking soda to reduce their hardness and those treated with the steaming method was investigated. In conclusion the functionality of steamed beans prepared by the steaming method was higher than that of boiled beans prepared by adding vinegar or baking soda among the processing methods investigated in this study.

Keywords: *Phaseolus coccineus* L, boiled beans, steamed beans, functionality, polyphenols