

9041 豆類の煮熟硬度におよぼす塩の影響 (II)

中村 泰彦(鹿児島大学)

〔目的〕前年度の研究で、多価カルボン酸が大豆や四角豆の煮熟軟化を促進すること、大豆に対しては、塩化第一鉄-食塩の二段階浸漬処理が軟化に有効であることを明らかにした。本研究では、これらの処理法を実地に適用できるようにするために、浸漬の条件をさらに細かく検討した。また、大豆、四角豆の両方に対して軟化効果の大きいマレイン酸イオンと Mg^{2+} イオンの複合体形成に伴うエネルギー変化を、*ab initio* 分子軌道法により計算し、カルボン酸の軟化効果と軟化のメカニズムとの関連づけを試みた。

〔方法〕大豆は平成元年度産の品種「フクユタカ」の市販品を、四角豆は平成元年度産の品種「ウリズン」を使用した。大豆のエイジング処理は、 $41^{\circ}C$ 、相対湿度100%で行った。二段階浸漬処理は、塩化第一鉄の溶液に所定時間浸漬した後、豆を取り出して蒸留水ですすぎ、水を切って0.17Mの食塩に浸すという方法で行った。煮豆の相対的な硬さは、一定条件でホモジナイザー処理をしたものをふるいにかけ、ふるい上の残渣の重量の、対照に対する%で表した。分子軌道の計算は、LCAO-SCF法により行った。基底はSTO-3Gを、プログラムはGAUSSIAN86を用いた。計算機は、分子科学研究所のHITAC-M680を使用した。

〔結果〕浸漬初期の吸水速度は、 $10^{\circ}C$ - $60^{\circ}C$ の範囲では温度が高いほど大であったが、大豆の浸漬液は腐敗しやすいため、 $20^{\circ}C$ が適当であると判断された。合計の浸漬時間が8時間の場合、塩化第一鉄と食塩への浸漬時間の比は、5対3が良い結果を与えた。合計の浸漬時間が4時間と短いときは、軟化効果は非常に小さかったが、8時間以上では、時間を長くしても効果はそれほど上がらなかった。煮豆の色や匂いを悪くしないためには、塩化第一鉄は0.02Mが適当であるといえた。第一段階の浸漬液としては、第一鉄以外の2価および3価の金属イオンは、軟化効果が非常に小さいか効果が認められなかった。四角豆は、大豆に比べて吸水速度や低分子成分の溶出速度が遅く、蒸留水での煮熟軟化が困難であったが、マレイン酸は軟化効果が大きかった。大豆および四角豆に対して軟化作用の強いマレイン酸イオンと Mg^{2+} イオンとの1対1および2対1の複合体形成に伴うエネルギーの低下は、軟化作用の弱い酢酸イオンのそれより 273Kcal/mol および 179Kcal/mol 小さかった。エネルギー的には、マレイン酸が酢酸より Mg^{2+} イオンとの複合体をはるかに形成しやすいといえる。加熱処理される植物組織の硬度の維持に、 Ca^{2+} イオンや Mg^{2+} イオンが関与していることが多くの研究で示されているが、マレイン酸と酢酸の軟化効果の違いは、これらのイオンに対する結合性の違いに基づくものではないかと考えられる。

9041 豆類の煮熟硬度におよぼす塩の影響（II）

中村 泰彦（鹿児島大学）

1. 研究目的

前年度の研究で、大豆では塩化第一鉄-食塩の二段階浸漬処理が軟化効果が大きいことが、鉄塩の濃度が高いと豆が暗色に着色したり風味が損なわれるなど食品として好ましくない面も出てくることがわかった。また、大豆より煮熟軟化の困難な四角豆では、この二段階浸漬法は効果がなく陰イオンが有効であることが、予備試験によりわかった。本研究の目的は、前年度の結果を受けて、大豆については、二段階浸漬処理の浸漬時の温度、浸漬時間、鉄塩の濃度をさらに細かく調べて実用的見地から妥当な浸漬条件を定め、四角豆については、四角豆と大豆の浸漬中の変化の違いを明らかにして、金属イオンとは別の軟化のメカニズムが考えられる陰イオンについて、カルボン酸を中心に単独の効果を検討することである。また、大豆と四角豆に共通して軟化効果の大きいカルボン酸イオンの、 Mg^{2+} イオンとの結合エネルギーをAb initio 分子軌道法によって計算し、カルボン酸の軟化作用と軟化のメカニズムとの関連づけを試みる。

2. 研究方法

2. 1. 試料

大豆は平成元年度産の品種「フクユタカ」の30Kg包装の市販品を用いた。四角豆は沖縄県で栽培された平成元年度産のものを使用した。これらの豆は厚手のポリエチレンの袋に小分けして密封し、使用時まで5℃で保存した。使用に際しては、粒の外観に異常の認められるもの、表面に傷のあるもの、粒の特に小さいものは取り除いた。大豆のエイジング処理は41℃、相対湿度100%で7日間行った。

2. 2. 測定方法

2. 2. 1. 浸漬による豆の吸水

100mlのビーカーに豆10gと蒸留水40mlを入れ、ラップで覆いをして恒温水槽中に置いた。所定時間に全体を茶こしにあげて水を切り、豆表面に付着している水をろ紙で取り除き、蓋付きシャーレに移してすばやく重量を測定した。測定後、豆は保温しておいた元の浸漬液に戻して吸水を続行させた。この測定値から、最初に測っておいた豆の重量を引き、乾燥豆10gあたりの吸水量とした。豆からの固形物の溶出に基づく補正は行わなかった。

2. 2. 2. 浸漬処理豆の煮熟硬度

100mℓのビーカーに大豆10gと蒸留水または浸漬用の塩溶液40mℓを加えて20℃に所定時間置いた後、豆を浸漬液から取り出して蒸留水で十分にすすぎ、水を切って新しい100mℓのビーカーに移したものを一段階浸漬処理豆とした。これに第二の浸漬用液40mℓを加え、以下同様にしたものを二段階浸漬処理豆とした。浸漬処理した大豆に蒸留水40mℓを加え、あらかじめ沸騰状態にした蒸し器に入れ、40分間蒸し加熱を行った。蒸煮した豆は水から取り出し、30分間放冷した後、15mℓの蒸留水を加えてホモジナイザーで12000rpm、20秒間処理して9メッシュのふるい上にあけ、水中でふるって目を通らない破片を集めた。これを130℃で2時間通風乾燥して、ふるい残渣の乾燥重量とした。蒸留水に浸漬したものの残渣乾燥重量をAとし、試験液に浸漬したものの残渣乾燥重量をBとし、 $B/A \times 100$ で試験液浸漬豆の煮熟後の相対的硬さを表した。

四角豆では、浸漬を35℃で行い、蒸し加熱時間は、60分間とした。

2. 2. 3. 浸漬による糖、アミノ酸、リン酸の溶出

大豆600gを3ℓの塩化ビニール製のびんに入れ、蒸留水1.5ℓを加えて20℃の恒温器中でゆっくり振とうしながら所定時間ごとに浸漬液20mℓを取り出し、測定用試験液とした。アミノ酸はニンヒドリン法で、リン酸はモリブデン酸法で、糖は10倍に希釈した試験液を用いてアンスロン法で、それぞれ比色定量した。

2. 2. 4. Ab initio 法による計算

分子軌道の計算はLCAO-SCF法により行った。基底はSTO-3Gを、プログラムは、N. kogaらにより分子科学研究所電子計算機センタープログラムライブラリーに登録されている、GAUSSIAN86¹⁾のHITAC用プログラムGAUS86²⁾を使用した。

3. 研究結果と考察

3. 1. 二段階浸漬処理の条件

大豆および四角豆を蒸留水に浸漬したときの吸水のようすをFig. -1に示した。普通大豆、エイジング大豆、四角豆とも10℃以上の温度では、初期の吸水速度は温度が高いほど大きく、吸水の飽和状態に達するのに必要な時間は温度が高いほど短かった。しかし、高温の場合、時間が長いと浸漬液が腐敗してくるので、これを防ぐには、20℃以下の方が安全である。普通大豆を30℃以下で完全に飽和状態にまで吸水させるには、25-30時間を要するが、20℃では15時間で飽和吸水量の98%と短時間での吸水飽和率が10℃に比べてかなり高いので、浸漬工程の時間短縮という実用的な観点からは10℃より20℃がよいといえる。1% (0.17M) の食塩溶液に浸漬した場合も、吸水のようすは蒸留水の場合と変わらなかった。エイジング大豆の吸水曲線は普通大豆とほぼ同じであったが、四角豆は吸水速度が遅く、60℃、70時間でも飽和に達しなかった。

第一鉄塩の溶液は単独でも普通大豆に対して軟化効果があるが、食塩と異なり、濃度を高くすると反対に煮豆の組織を硬くするように作用し、最大の軟化効果が得られたのは0.1 Mであった。しかし、食塩との二段階浸漬の場合については検討していなかったため、食塩濃度を0.17 Mの一定にして、塩化第一鉄の濃度を変えて試験した。結果をTable 1に示した。0.02 Mから0.2 Mまでの範囲では、濃度の上昇とともに残渣

Table 1. Effect of the concentrations of ferrous ions in the first soak solution on the hardness of cooked soybeans

Concentration of Fe (M)	Number of measurements	Dry weight of residue Mean \pm S.E. (g)	Relative hardness (%)
0.02	9	2.21 \pm 0.09 ^A	59.1 ^a
0.05	9	2.17 \pm 0.07 ^A	55.5 ^b
0.10	9	1.88 \pm 0.09 ^B	48.1 ^b
0.20	9	1.90 \pm 0.09 ^B	48.6 ^b
0.05	6	2.07 \pm 0.08 ^{AB}	52.9 ^b

^{a, b} Dry weights of the residue for soybeans soaked in distilled water were 3.74g for a and 3.91g for b.

Means not sharing a common superscript are significantly different at $P < 0.05$.

率は低くなる傾向を示したが、0.1 Mと0.02 Mとの差は大きくなかった。0.02 M濃度では、第一鉄塩の濃度が高いときに見られる豆表皮の暗色化や、蒸煮した後の異臭がほとんど認められないので、このような浸漬条件(20℃、浸漬時間8時間)下では、塩化第一鉄の濃度は0.02 Mが適当である。

浸漬時の温度を20℃、塩化第一鉄の濃度を0.02 M、食塩の濃度を0.17 Mとしたとき、塩化第一鉄溶液と食塩溶液に浸す時間の比および合計の浸漬時間と軟化度との関係をTable 2と3に示した。合計の浸漬時間8時間の中で、塩化第一鉄への浸漬時間が短いときは、それへの浸漬時間を長くしていくと、それに伴って軟化度は高くなるが、塩化第一鉄への浸漬時間を全体の半分以上に長くしても軟化効果はそれほど上がらなかった。一方、浸漬時間の比を5対3にして、合計の浸漬時間を4、8、16、24時間と長くしていくと、4時間では残渣率が90%と明らかに浸漬時間の不足が認められたが、8時間以上ではそれほど大きな違いはなく、浸漬時間は8時間で十分であると思われる。

Table 2. Effect of soaking time in a ferrous chloride solution on the hardness of cooked soybeans

Soak time (hr)		Number of measurements	Dry weight of residue ^a Mean \pm S. E. (g)	Relative hardness ^a (%)
FeCl ₂	NaCl			
0	8	18	2.76 \pm 0.10 ^A	73.8
2	6	9	2.45 \pm 0.06 ^B	65.5
4	4	9	2.29 \pm 0.10 ^{B,C}	61.2
5	3	9	2.11 \pm 0.13 ^C	56.4
6	2	9	2.26 \pm 0.09 ^C	60.4
8	0	9	2.26 \pm 0.07 ^C	60.4

^a The values for soybeans soaked in distilled water were 3.74g and 100%. Means not sharing a common superscript are significantly different at P<0.05.

Table 3. Effect of total soaking time on the hardness of cooked soybeans

Total soaking time (hr)	Number of measurements	Dry weight of residue Mean \pm S. E. (g)	Relative hardness (%)
4	3	3.59 \pm 0.28 ^A	90.4 ^a
8	6	2.08 \pm 0.13 ^B	57.7 ^b
16	12	1.93 \pm 0.08 ^B	50.4 ^c
24	12	1.89 \pm 0.08 ^B	47.8 ^d

^{a, b, c, d} Dry weights of the residue for soybeans soaked in distilled water were 3.97, 3.60, 3.83, 3.95g for a, b, c, d, respectively. Means not sharing a common superscript are significantly different at P<0.05.

Fig. 1の吸水曲線でも、大豆は20℃では8時間で吸水飽和量の88%を吸水している状態であり、煮る前に十分吸水させるという大豆蒸煮の原則からも妥当であるといえる。以上のことから、大豆の二段階浸漬処理の方法としては、浸漬時温度20℃、塩化

第一鉄の濃度0.02M、食塩濃度0.17Mで、塩化第一鉄に5時間、食塩に3時間浸漬するというやり方が適当であるといえよう。なお、食塩濃度については、今回は別個に試験することをせず、煮豆に塩味を感じさせないことと、単独での軟化効果が大きい濃度を考慮して0.17M(1w/v%)にした。

3.2. 二段階浸漬処理におけるNa以外の金属イオンの効果

第一鉄塩で認められた食塩との軟化の共働作用が、他の金属でも見られるかどうかを確かめるために、先に述べた二段階浸漬の条件下で2価および3価の金属の塩化物を用いて試験した。結果をTable-4に示した。第二の浸漬液は共通して0.17M食塩である。この表から明らかなように、塩化第一鉄は顕著な軟化作用を示し、他の金属イオンと

Table 4. Effect of metal ions in the first soak solution on the hardness of cooked soybeans

1st solution	Number of measurements	Dry weight of residue ^a Mean \pm S.E. (g)	Relative hardness ^a (%)
H ₂ O	12	2.96 \pm 0.14 ^A	93.7
FeCl ₂	12	1.84 \pm 0.04 ^B	58.2
MgCl ₂	12	2.62 \pm 0.15 ^A	82.9
NaCl	9	2.76 \pm 0.24 ^A	87.3
ZnCl ₂	9	2.78 \pm 0.16 ^A	88.0
CoCl ₂	12	2.78 \pm 0.20 ^A	88.0
AlCl ₃	12	2.88 \pm 0.14 ^{AC}	91.1
FeCl ₃	9	2.91 \pm 0.22 ^A	92.1
NiCl ₂	12	2.97 \pm 0.10 ^A	94.0
MnCl ₂	12	3.01 \pm 0.18 ^{AC}	95.3
CuCl ₂	12	3.03 \pm 0.19 ^{AC}	95.9
CaCl ₂	11	3.48 \pm 0.18 ^C	110.1

^a Cooked soybeans were homogenized in 20 ml of water. The values for soybeans soaked in distilled water were 3.16g and 100%.

Means with different superscripts are significantly different (P<0.05).

は有意な差が認められた。塩化第二鉄には塩化第一鉄のような軟化効果は認められなかった。他の2価および3価の金属塩化物は食塩以上の軟化効果はなかった。塩化カルシウム

は明らかに硬くした。塩化第一鉄は、浸漬時間が長いときは、大豆に対しては単独でもかなり強い軟化作用を示すが、塩化第一鉄浸漬後さらに食塩に浸漬するという二段階浸漬処理をすることにより浸漬時間を短縮し、軟化の程度を高めることができる。このような効果は第二鉄イオンを含め、他の金属イオンには認められないものであり、第一鉄イオンに特異な作用によるものと考えられる。

3. 3. 四角豆に対する塩の軟化効果

普通大豆に対して効果のあった塩化第一鉄-食塩の二段階浸漬法はエイジング大豆や四角豆に対しては無効であった。Fig. -1からわかるように、四角豆は大豆に比べて吸水が悪いが、エイジング処理した大豆は普通大豆に比べて吸水は悪くなく、少なくとも吸水に対する障害はないといえる。にもかかわらず二段階浸漬法がエイジング大豆に対して軟化効果を示さないことから、人工的なエイジングの過程で起こる変化が組織成分の親水性の性質を変化させるような規模のものではなく、第一鉄イオンの作用の標的となる分子の構造変化のような比較的限定されたものである可能性もある。一般に石豆化した豆では吸水不良と煮熟軟化の困難さとが並行しているが、自然条件下での加齢による石豆化と高温高湿下での短時間のエイジング処理によって引き起こされる変化とは同質ではないよう

Table 5. Softening effect of sodium carboxylates on winged beans

Salt	Number of measurements	Dry weight of residue	Relative hardness
		Mean \pm S. E. (g)	(%)
H ₂ O	59	8.31 \pm 0.10 ^A	100.0
NaCl	9	7.37 \pm 0.24 ^{B,C}	88.9
Na Maleate	9	3.54 \pm 0.21 ^G	42.6
Na Malonate	9	3.70 \pm 0.24 ^{F,G}	44.5
Na Citrate	12	4.40 \pm 0.30 ^{E,F}	52.9
Na Succinate	9	5.28 \pm 0.31 ^{D,E}	63.5
Na Malate	9	5.31 \pm 0.24 ^D	63.9
Na Oxalate	8	5.68 \pm 0.41 ^D	68.4
Na Tartarate	9	5.71 \pm 0.20 ^D	68.7
Na Acetate	10	7.36 \pm 0.07 ^C	88.5
Na Lactate	10	7.69 \pm 0.10 ^B	92.5

Means not sharing a common superscript are significantly different at $P < 0.05$.

に思われる。また、エイジング大豆はアミノ酸、糖、リン酸が普通大豆よりさらに溶出しやすくなっているが、四角豆は非常に溶出しにくい（Fig. - 2）ことも両者の大きな違いである。本研究では、貯蔵され発芽率の低下した四角豆のモデルとして、成分組成の似た大豆のエイジング処理を考えたが、エイジング大豆は四角豆のモデルとしては必ずしも適していない。四角豆については別に軟化法を検討すべきであろう。

普通大豆やエイジング大豆に対しては、陰イオン、とくにカルボン酸イオンが高い軟化効果を持つことが明らかになったので、カルボン酸のNa塩の四角豆に対する軟化効果を試験した。結果はTable-5に示した。普通大豆やエイジング大豆と異なり四角豆ではマレイン酸が炭酸水素塩より強い軟化作用を示し、クエン酸も炭酸水素イオンと同等であった。食塩の軟化効果はエイジング大豆の場合より低く、普通大豆よりさらに低かった。これらのことは、四角豆に対する軟化剤としての塩の要件が普通大豆やエイジング大豆の場合とはやや違うことを意味している。陽イオンの組み合わせせからなる二段階浸漬処理法が四角豆に対しては効果ないことと合わせて興味深い。

3. 4. カルボン酸イオンと Mg^{2+} の結合

前報³⁾で、普通大豆に対してマレイン酸などの多価カルボン酸は強い軟化作用を持つこと、これらのNa塩溶液に浸けた大豆の中の残存Ca量と、その軟化効果とは密接な関係があることを確かめた。Ca²⁺やMg²⁺などの多価金属イオンは、細胞間隙にあるペクチン質分子どうしの架橋結合の形成に関与し、またペクチン質の不溶性塩を作ることにより組織の硬度の維持に役立っているといわれている。もし、カルボン酸の軟化作用が、組織の硬度維持にかかわっているCa²⁺、Mg²⁺を奪うことによるものだとすると、軟化作用の弱い酢酸と強いマレイン酸の間にはMg²⁺との結合エネルギーに差があるはずである。そこで、Ab initio法による分子軌道計算から、酢酸イオン、マレイン酸イオンおよびそれらのMg²⁺との複合体の最適化構造とそのエネルギーを計算した。結果をTable-6にまとめた。酢酸イオンとMg²⁺の1対1複合体形成に伴うエネルギーの低下と、マレイン酸イオンとMg²⁺のそれとを比較すると、マレイン酸の方が酢酸より273 Kcal/mol低い。また、これらのカルボン酸イオンとMg²⁺との2対1複合体形成によるエネルギー低下もマレイン酸の方が179 Kcal/mol低い。したがって、少なくともエネルギー的には、1対1複合体であれ2対1複合体であれ、マレイン酸の方が酢酸よりMg複合体をはるかに形成しやすいといえる。一方、複合体分子における酸素とMgのもっとも小さい原子間距離も、マレイン酸複合体の方が対応する酢酸複合体の距離より短く、カルボキシル基へのMg²⁺の結合が、マレイン酸でより強いことを示唆している。ここで用いたSTO-3G基底は、一般に極性の大きい基を含む分子の原子間距離を正しく与えないとされているが、定性的には、カルボン酸やカルボン酸イオンでも4-31G⁴⁾や6-31G⁵⁾などのより大きい基底を用いた結果と一致することが示されている。理論的計算結果からは、マレイン酸が酢酸よりMg²⁺を奪い取りやすいということがい

える。

Table 6. Energy gain due to the formation of Mg-complexes

Type	Conformation	Rotation of carboxyl plane(s) (degree)	Binding energy (Kcal)	Stabilization energy ^a (Kcal)
A ⁻ + Mg ²⁺ _{IN}	I	180	-498.0	-481.4
A ⁻ + Mg ²⁺ _{OUT}	II	180	-429.6	-415.0
M ²⁻ + Mg ²⁺	III	74, 74	-769.2	-747.2
M ²⁻ + Mg ²⁺	IV	180, 76	-798.9	-754.7
M ²⁻ + Mg ²⁺	V	180, 180	-811.4	-732.1
A ⁻ + Mg ²⁺ + A ⁻	VI	180	-789.7	-764.0
M ²⁻ + Mg ²⁺ + M ²⁻	VII	180, 80	-1005.9	-943.2

^a Stabilization energy was calculated by subtracting the sum of the energies of Mg²⁺ and the optimized carboxylate ions from the energy of the optimized complex.

4. 今後の課題

本研究で、大豆に対する二価の鉄イオンの作用は他の金属イオンに見られない特異なものであることが確かめられた。その作用機構を解明することが残された課題である。また、ホモジナイズ残渣量で煮豆の硬さを測定する方法は、簡便で、多種類の試料の分析に適しているが、煮豆の食感としての硬さ、軟らかさは、人の咀嚼運動に近似させた状態での物性測定と官能検査から判定するのが望ましく、これらによる評価と一致することを確かめておくことも必要であろう。

文献

- 1) "GAUSSIAN86", M. J. Frish et al., Carnegie-Mellon Quantum Chemistry Publishing Unit, Carnegie-Mellon University, Pittsburgh PA 15213.
- 2) "GAUS86", Registered by N. koga, S. Yabushita, K. Sawabe and K. Morokuma.
- 3) 中村泰彦: 家政誌, 42, 427 (1991).
- 4) M. Merchan, F. Tomas and I. Nebot-Gil: J. Mol. Struc., 109, 51 (1984).
- 5) P. L. Polabrapu, C. S. Ewig and T. Chandramouly: J. Am. Chem. Soc., 109, 7382 (1987).

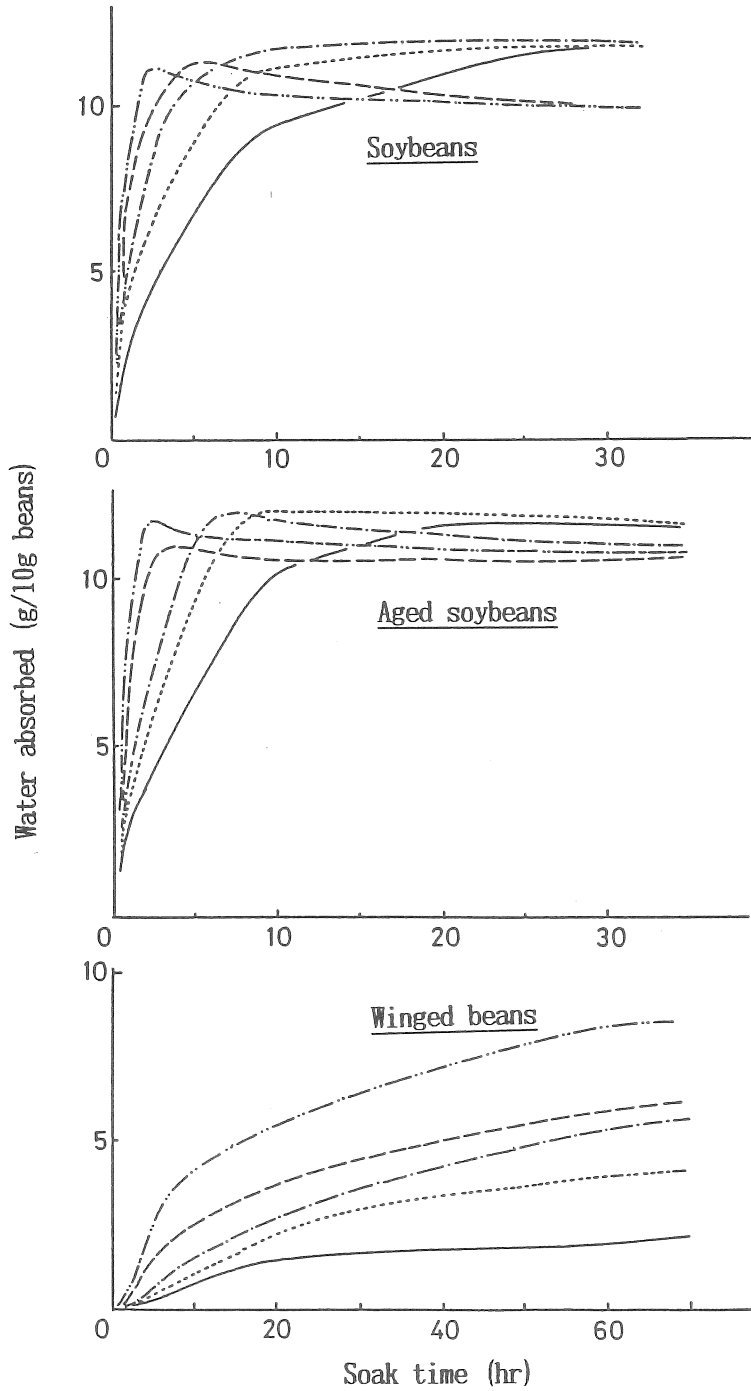


Fig.1. Water Absorption of Beans at Different Temperatures

—, 10°C ; ·····, 20°C ; -·-·-, 30°C ; ---, 50°C ; - - - - , 60°C.

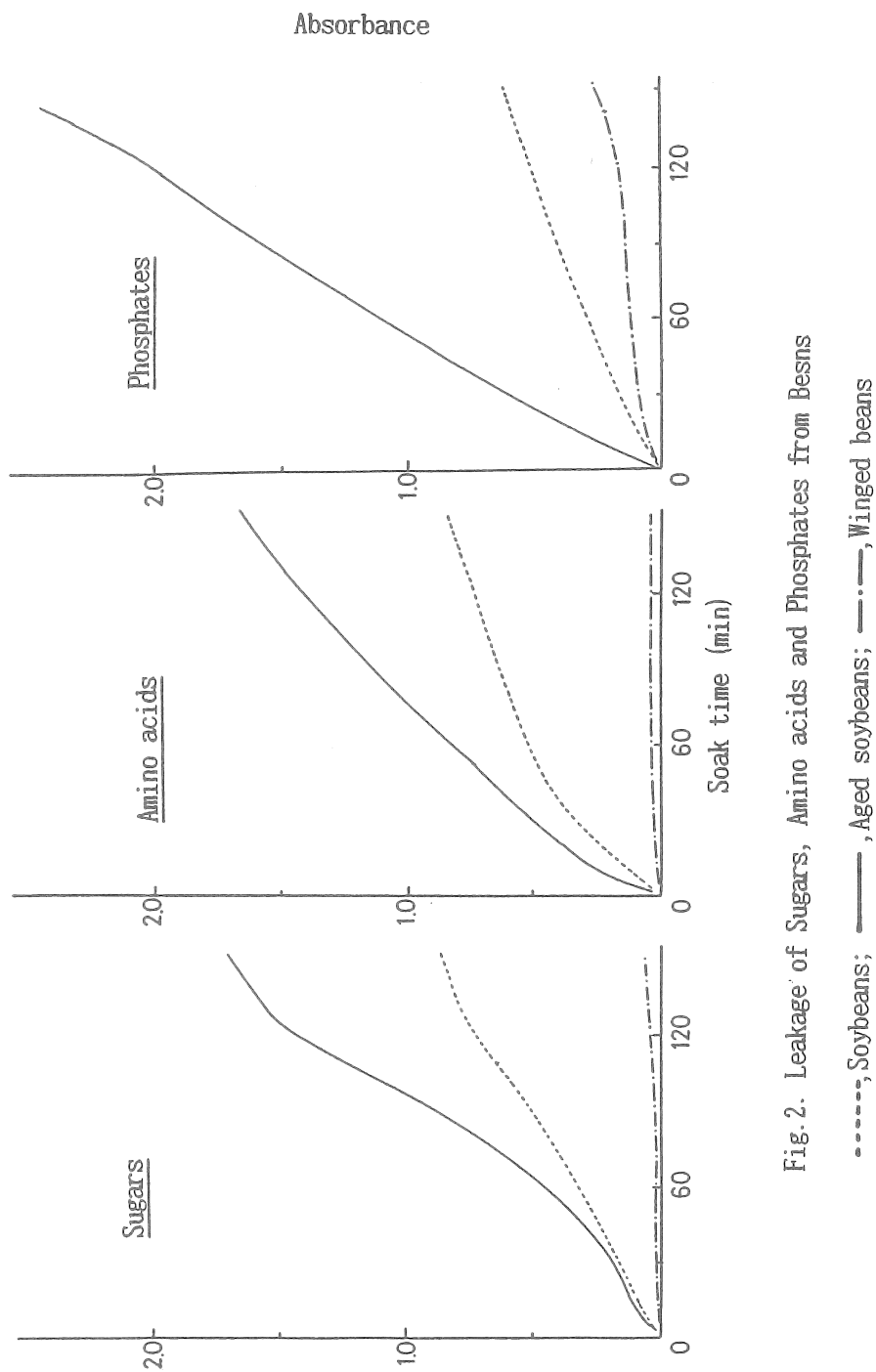


Fig. 2. Leakage of Sugars, Amino acids and Phosphates from Beans

Effect of Salts on the Hardness of Cooked Beans(II)

Yasuhiko Nakamura, Masako Fujisaki and Fumiko Mogami
Kagoshima University, Faculty of Education

Summary

The conditions under which soybeans are soaked in salt solutions were investigated to define a useful and practical procedure for two-step soaking. The initial rate of water absorption increased with a rise in temperature up to 60 °C. The best ratio of soaking time in the first ferrous chloride solution to soaking time in the second sodium chloride solution was 5:3 when total soak time was 8 hr. Prolongation of the total soak time of 8 hr improved the softening effect little, whereas a very short soak time such as 4 hr was insufficient to soften the beans. A 0.02M or lower concentration of ferrous chloride in the first solution was recommended to avoid a coloration and off-flavor of the cooked beans. Divalent and trivalent metal ions other than ferrous ions hardened the beans or had a very little softening effect by following soaking in the second sodium chloride solution. Winged beans absorbed water and leaked sugars, amino acids and phosphates much more slowly than soybeans and aged soybeans. This contributes to the resistance to a softening by boiling with water. However, sodium maleate softened the winged beans to the extent of 40% relative hardness.

The geometries of the carboxylate ion-Mg²⁺ complexes were optimized using the STO-3G basis and the GAUS86 program system. The calculated stabilization energy for the maleate ion-Mg²⁺(1:1) complex was 273 Kcal/mol lower than that for the acetate ion-Mg²⁺(1:1) complex. The energy for the maleate ion-Mg²⁺(2:1) complex was 179 Kcal/mol lower than that for the acetate ion-Mg²⁺(2:1) complex. This suggests that maleic acid can form firmer complexes with Mg²⁺ than acetic acid, and offers a possible explanation of the difference in the softening effect between maleic acid and acetic acid.