「健康食品」中の大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの 定量と表示に関する調査研究

谷中かおる¹⁾, 東泉 裕子¹⁾, 松本 輝樹¹⁾
竹林 純¹⁾, 卓 興鋼²⁾, 山田 和彦³⁾
石見 佳子¹⁾

¹⁾ (独)国立健康・栄養研究所食品保健機能プログラム

²⁾ (独)国立健康・栄養研究所情報センター

³⁾ 女子栄養大学栄養学部生化学研究室

Food Labeling and Actual Contents of Soy Protein and Soybean Isoflavones in Health Foods

Kaoru Yanaka¹, Yuko Tousen¹, Teruki Matsumoto¹, Jun Takebayashi¹, Kyokou Taku²,
Kazuhiko Yamada³ and Yoshiko Ishimi¹

¹Food Function and Labeling Program, National Institute of Health and Nutrition

²Information Center, National Institute of Health and Nutrition

³Laboratory of Biochemistry, Kagawa Nutrition University

Soy bean isoflavones are structurally similar to estrogen, and exhibit weak estrogenic activity. In 2006, Food Safety Commission of the cabinet office set the upper limit of isoflavone (aglycone equivalent) intake from Foods for Specified Health Uses (FOSHU) at 30 mg/day for additional consumption with a normal diet. However, the upper limit for isoflavones was not established in the so-called health foods containing soy protein and isoflavones. We evaluated the respective soy protein and isoflavone contents in 10 health foods including 5 FOSHU by the ELISA and HPLC methods. The soy protein content of eight of these foods was determined to be within 90–118% of that reported on the label, and two protein powders for junior use contained about a half of the soy protein content reported on the label. The isoflavone aglycone content in FOSHU containing soy protein was detected to be 90–122% of the labeled content, while the isoflavone content of two soy protein-fortified foods with no label exceeded 30mg per one serving. It might be necessary to pay attention to junior athletes not excessively consuming these soy protein powder foods.

Jpn. J. Nutr. Diet., 68 (3) 234~241 (2010)

Key words: foods for specified health uses (FOSHU), health food, isoflavone, soy protein, upper limit

緒 言

注) 本文でいう「健康食品」は、「保健機能食品」(特定保健用食品および栄養機能食品) および「いわゆる健康食品」をさす。

大豆は古来よりたんぱく質源として利用されてきたが、近年では含有されている大豆たんぱく質および大豆イソフラボン等の機能性成分が注目されている。大豆たんぱく質は血清脂質やコレステロールの濃度を低下させることが多くの研究報告から示されており、米国食品医薬局(FAD) は1999年に大豆たんぱく質を含む食品に対して

「25 g/日の大豆たんぱく質の摂取は虚血性心疾患を予防する」旨のリスク低減表示を許可した。大豆イソフラボンは女性ホルモンと類似した構造を有しており、エストロゲンレセプター(ER) と結合するため、生体内で弱いエストロゲン作用を発揮する¹⁾。そのため、閉経期女性におけるホルモン代替療法(HRT, Hormone replacement therapy) にかわる食品成分としての利用が期待されている。

現在我が国では、大豆たんぱく質および大豆イソフラボンはともに特定保健用食品の関与成分であり、その他にも多様な「いわゆる健康食品」に利用されている。大

キーワード：特定保健用食品、健康食品、大豆イソフラボン、大豆たんぱく質、上限量

(連絡先：石見佳子 〒162-8636 東京都新宿区戸山1-23-1 (独)国立健康・栄養研究所

電話 03-3203-8063 FAX 03-3205-6549 E-mail ishimi@nih.go.jp)

表1 大豆イソフラボン標準品

分 類	ダイゼイン型 イソフラボン	グリシテイン型 イソフラボン	ゲニステイン型 イソフラボン
配 糖 体	ダイジン (D; Daidzin)	グリシチン (G; Glycitin)	ゲニスチン (G; Genistin)
マロニル配糖体	マロニルダイジン (MD; 6"-O-Malonyldaidzin)	マロニルグリシチン (MGI; 6"-O-Malonylglycitin)	マロニルゲニスチン (MG; 6"-O-Malonylgenistin)
アセチル配糖体	アセチルダイジン (AD; 6"-O-Acetylglycitin)	アセチルグリシチン (AGI; 6"-O-Acetylglycitin)	アセチルゲニスチン (AG; 6"-O-Acetylgenistin)
サクシニル配糖体	サクシニルダイジン (SD; 6"-O-succinyldaidzin)	サクシニルグリシチン (SGI; 6"-O-succinylglycitin)	サクシニルゲニスチン (SG; 6"-O-succinylgenistin)
アグリコン	ダイゼイン (De; Daidzein)	グリシテイン (Gle; Glycitein)	ゲニステイン (Ge; Genistein)

豆イソフラボンについては、内閣府食品安全委員会によりその安全性が検討され、「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品の安全性評価の基本的な考え方」（2006年5月）において²⁾、特定保健用食品における大豆イソフラボンの上乗せ上限摂取量が 30 mg/日と定められた。また、これを受け厚生労働省は、大豆イソフラボンの過剰摂取を防止するために、「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品等の取り扱いに関する指針」を通知した（2006年8月）³⁾。この指針では、特定保健用食品および大豆イソフラボンを強化した食品について一日当たりの摂取量が 30 mg を超えないように一日摂取目安量を設定するとともに、摂取する上での注意事項を表示することが定められている。しかし、大豆たんぱく質を含む「いわゆる健康食品」に対する記述はない。そのため、大豆たんぱく質を強化した「いわゆる健康食品」には相当量の大豆イソフラボンが含まれていると予想されるものの、現在大豆イソフラボン量の表示がなされていない食品が多数流通している。

そこで本研究では、大豆たんぱく質を強化した「健康食品」について大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの定量を行った。また、大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの表示がなされている健康食品については、実測値と表示値の比較を行った。これらの結果から、大豆たんぱく質を強化した「健康食品」を適切に摂取するための表示の在り方について考察を加えた。

方 法

「健康食品」中の大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの定量

食品は大豆たんぱく質を関与成分とする特定保健用食品および大豆あるいは大豆たんぱく質を原材料としたスポーツ選手対象の健康食品を対象とした。液状食品4品目、粉末状食品6品目の計10品目について、大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの定量分析を行った。食品は同ロットのものを3品ずつ分析した。

1. 大豆たんぱく質

大豆たんぱく質の分析は、市販の Soya protein Assay Kit (CAT, No.902001T, Tepnel BioSystems) を用い、キットの説明書に記載されている方法に基づいて行った。

1-1 抽 出

試料 ($n=3$) を精秤後、試料 12 g (W1) に対して 48.0 g (W2) の割合で 0.05 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.6) を添加し、均一な混合液とした。精密に測った試料混合液 2.5 g (W3) に尿素-DTT 緩衝液 7.5 ml を加え、100℃ で1時間抽出を行った。抽出フラスコを50℃に移し、同じ温度に保温しておいた renaturation 溶液 20 ml をゆっくりと加えて攪拌後、100 ml のフラスコに移し入れた。室温に戻した後 100 ml に定溶して、よく混合した後 Whatman No1 濾紙で濾過した溶液の、最初の 10 ml を回収して抽出溶液とした。

1-2 定量分析

大豆たんぱく質の定量は、Soya protein Assay Kit (Tepnel BioSystems) を用い、酵素免疫測定法 (ELISA) で行った。表示に記載されている含有量を参考に、濃いサンプルについては適宜希釈して用い実験に供した。吸光度はマイクロプレートリーダー (コロナ電気製, MTP-650FA) を用い、測定波長 450 nm で測定した。

1-3 解 析

上記の方法に基づき得られた SOYA PROTEIN STANDARDS の吸光度より検量線を作成し、以下の計算式に従って試料中の大豆たんぱく質含量を算出した。

式)

試料中の大豆たんぱく質量 (%)

$$= (\text{SP} \times (\text{W1} + \text{W2}) \times \text{W4} \times \text{PV} \times 5.71 / \text{SPc} \times \text{W3} \times 6.25) \times \text{希釈倍率}$$

SP : 検量線から読み取った希釈された試料溶液中のたんぱく量 ($\mu\text{g/ml}$)

SPc : 検量線から読み取った SOYA PROTEIN CON-

TROL の抽出液中のたんぱく量 ($\mu\text{g/ml}$)

PV: SOYA PROTEIN CONTROL の Protein Value (0.84)

W1: 精秤した試料量 (g)

W2: トリス-塩酸緩衝液量 (g)

W3: 抽出に供した試料量 (g)

W4: 抽出に供した SOYA PROTEIN CONTROL 量 (mg)

2. 大豆イソフラボン

食品中の大豆イソフラボンの定量は、厚生労働省が通知した「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品等の取り扱いに関する指針（食安発第0823001号）」別紙³⁾に記載されている高速液体クロマトグラフ（HPLC）法で行った。

2-1 標準品

大豆イソフラボンは、ダイジン、グリシチン、ゲニステインの配糖体、マロニル配糖体、アセチル配糖体、サキシニル配糖体およびアグリコンの合計15種類の大豆イソフラボン（表1、長良サイエンス、岐阜）について定性を行った。定量分析には、標準品としてダイジン、グリシチン、ゲニステインの3種類を用いた。標品は70%エタノールに溶解し、濃度が1 mg/5 ml になるように調製した。分析に用いるまでは -30°C で保存した。

2-2 試料の調製

液状食品は、大豆イソフラボンとして1–10 mg が含まれる量の食品を50 ml 容メスフラスコに正確に分取し、70%エタノール (v/v) で50 ml に定容した。よく転倒混和し試験溶液とした。この方法により抽出されない食品サンプルについては、大豆イソフラボンアグリコンは 100°C 付近では分解されないという報告や⁴⁾、酸性条件下で特に過熱による分解に対する耐性が増す⁵⁾ という報告から、 $40-50^{\circ}\text{C}$ で加熱攪拌抽出を行った。

粉末状食品は、大豆イソフラボンとして1–10 mg が含まれる量の食品を50 ml ビーカーに精秤し、70%エタノール25 ml を加えて30分間攪拌した。30分間室温で攪拌抽出した後、遠心分離して上清を50 ml 容メスフラスコに移し、残渣についても10 ml の70%エタノールを加え、同様の抽出操作を更に2回行った。計3回の上清を集め、70%エタノールで50 ml に定容し試験溶液とした。試料は全て0.45 μm のメンブレンフィルター (ADVANTEC, Cellulose Acetate 0.45 μm) で濾過した後、分析に供した。

2-3 定量分析

高速液体クロマトグラフ（HPLC）法の分析条件を以下に示す。

分析機器：高速液体クロマトグラフィー（島津製作所）

カラム：YMC-Pack ODS-AM-303 (size $\phi 4.6 \times 250$

mm) (ワイエムシイ社、京都)

移動相：A アセトニトリル／水／酢酸混液 (15:85:0.1 v/v/v)

B アセトニトリル／水／酢酸混液 (35:65:0.1 v/v/v)

濃度勾配：AからBまでの直線濃度勾配を50分間行った。移動相Aを20分間送液した後、次の分析を開始した。

流速：1 ml/min

カラム温度： 35°C

測定波長：254 nm

試料注入量：10 μl

2-4 食品中の大豆イソフラボン量の解析

試料中の大豆イソフラボン濃度は、分子量の比を用いて全てアグリコン当量として求めた。ダイゼインを例に、アグリコン等量の求め方を以下の式に示す。

例) $\text{TDe} = \text{TADe} \times \text{CD} / \text{AD} \times 0.611^{**}$

TDe: ダイゼイン型大豆イソフラボンの濃度（アグリコン当量）[mg/l]

TADe: ダイゼイン型大豆イソフラボンのピーク面積

CD: 大豆イソフラボン標準溶液中のダイジンの濃度 [mg/l]

AD: 大豆イソフラボン標準溶液クロマトグラム上のダイジンのピーク面積

※ダイゼイン型のアグリコン換算係数。グリシチン型は0.637, ゲニステイン型は0.625を乗じてそれぞれのアグリコン等量を求めた。

ダイゼイン型、グリシチン型およびゲニステイン型も同様にアグリコンの濃度の総和を試料中の総大豆イソフラボン濃度（アグリコン当量）とし、一日または一回摂取目安量における試料中の大豆イソフラボン含有量（アグリコン当量）を下記の式により求めた。

試料中の大豆イソフラボン含量（アグリコン当量）

$= \text{総大豆イソフラボン濃度 (mg/l)} \times 50/1000 \times 1/ \text{試料採取量 (g または ml)} \times (\text{一日または一回摂取目安量})$

結 果

「健康食品」中の大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの分析

1. 大豆たんぱく質について

対象とした食品は、大豆たんぱく質を関与成分とする特定保健用食品（液状食品、粉末状食品）ならびにスポーツ選手を対象とした大豆たんぱく質強化食品（粉末

表2 食品の表示と大豆たんぱく質含有量

分類	名 称 (食品形態)	原 材 料 名	1 日または1 回 摂取目安量に 関する表示	たんぱく質 表示値 (g)	大豆たんぱ く質表示量 (g)	分析値 (mg)	表示量に 対する割合 (%)	CV 値 (%)
液 状 食 品	調整豆乳 (液状食品)	大豆 (遺伝子組換えでない)	1 本 (200 ml)	8.8	6.7	7.7	114.9	18.9
	調整豆乳 (液状食品)	大豆	1 本 (200 ml)	7.6	6.0	6.2	103.3	18.1
	大豆たんぱく飲料 (液状食品)	大豆たんぱく, 大豆	1 本 (195 g)	8.4	6.0	7.1	118.3	12.2
	清涼飲料水 (液状食品)	粉末状大豆たんぱく (遺伝子 組み換えでない)	1 本 (100 g)	7.1	6.0	6.3	105.0	7.4
粉 末 状 食 品	乾燥スープ (粉末状食品)	分離大豆たんぱく質	1 袋 (15 g)	9.0	7.0	7.9	112.9	9.1
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんぱく	1 食 (21 g)	16.8	16.8	18.7	111.3	6.9
	大豆たんぱく食品 (粉末状食品)	大豆分離たんぱく	1 食 (20 g)	16.9	16.9	15.2	89.9	2.0
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんぱく (遺伝子組換え 大豆は使用していません)	1 食 (20 g)	16.6	16.6	15.3	92.2	2.4
	プロテインパウダー (粉末状食品; ジュニア用)	粉末状大豆たんぱく	1 食 (20 g)	8.7	(表示なし)	4.7	—	8.3
	たんぱく食品 (粉末状食品; ジュニア用)	大豆分離たんぱく	1 食 (20 g)	8.4	(表示なし)	5.5	—	2.5

状食品)である。表2に、食品の大豆たんぱく質に関する表示と分析値を示した。分析値は、平均値および変動係数(CV 値(%))で示した。分析した食品中の大豆たんぱく質は、10品目中8品目には大豆たんぱく質量が表示されており、分析値の表示量に対する割合は90–118%であった。スポーツ選手を対象とした大豆たんぱく質強化食品には、一日摂取目安量当り15–18gの大豆たんぱく質が含まれていた。これは、特定保健用食品の一日摂取目安量の約2倍であった。ジュニア選手を対象とした大豆たんぱく質強化食品(2品目)には、表示されている一回摂取目安当りのたんぱく質量のおおよそ半分量である5gの大豆たんぱく質が確認された。変動係数は液状食品で(6.2–7.7%: intra-assay)、粉末状食品で(4.2–18.7%: intra-assay)であった。

2. 大豆イソフラボンについて

表3に各食品の大豆イソフラボン(アグリコン等量)の表示と分析値を示した。大豆たんぱく質を関与成分とする特定保健用食品の表示では、大豆イソフラボンの含有量は8–30mg/一日摂取目安量であるが、分析の結果、表示の90–122%の大豆イソフラボンが実測された。スポーツ選手を対象とした大豆たんぱく質強化食品5品目においては、大豆イソフラボン含量の表示はなされていたが、分析の結果、アグリコン当量として1食分当たり20–44mgの大豆イソフラボンが含まれていた。ジュニア選手を対象とした大豆たんぱく質強化食品

(2品目)には、1食当たり17–20mgの大豆イソフラボンが含まれていた。変動係数(CV(%))は、液状食品では(2.1–9.6%: intra-assay)、粉末状食品では(0.9–9.1%: intra-assay)であった。

大豆イソフラボンには、ダイゼイン型、グリシテイン型、ゲニステイン型の3種類に大別することができる。また、それぞれにアグリコンおよび配糖体が存在し、合計15種類の大豆イソフラボン化合物がある(表1)。今回対象とした健康食品中にも多種の大豆イソフラボンが確認された。表4に各食品中一日または一回摂取目安量に含まれる15種類の大豆イソフラボンの成分分析の結果を示した。解析の結果、豆乳には配糖体(ダイジン、ゲニスチン)とマロニル配糖体(マロニルダイジン、マロニルゲニスチン)が多く含まれていることが確認され、大豆たんぱく質強化食品には配糖体(ダイジン、ゲニスチン)、マロニル配糖体(マロニルダイジン、マロニルゲニスチン)、あるいはアグリコン(ダイゼイン、ゲニステイン)の多種の成分が混在していた。納豆に多く含まれることが知られるサクシニル配糖体は、少量であるが豆乳やプロテインパウダーに含まれていた。表5に対象とした食品に含まれる大豆イソフラボンの型別の割合を示した。今回対象とした食品にはゲニステイン型が約60%含まれており、次いでダイゼイン型が約30%、グリシチン型の割合は10%以下であった。

表3 食品の表示とイソフラボン含有量 (アグリコン換算値)

分類	名称 (食品形態)	原材料名	1日または1回摂取目安量に関する表示	表示量	表示量のアグリコン換算値 (mg)	分析値 (アグリコン当量) (mg)	表示量に対する割合 (%)	CV 値 (%)
液状食品	調整豆乳 (液状食品)	大豆 (遺伝子組換えでない)	1本 (200 ml)	大豆イソフラボンアグリコンとして 30 mg	30	35	116.2	3.8
	調整豆乳 (液状食品)	大豆	1本 (200 ml)	大豆イソフラボンアグリコンとして 16 mg	16	20	122.2	9.6
	大豆たんばく飲料 (液状食品)	大豆たんばく, 大豆	1本 (195 g)	大豆イソフラボンアグリコンとして 27 mg	27	24	90.3	4.2
	清涼飲料水 (液状食品)	粉末状大豆たんばく (遺伝子組み換えでない)	1本 (100 g)	大豆イソフラボンアグリコンとして 8-22 mg	8-22	9	(範囲内)	2.1
粉末状食品	乾燥スーブ (粉末状食品)	分離大豆たんばく質	1袋 (15 g)	大豆イソフラボンアグリコンとして 18 mg を含む	18	20	109.8	7.0
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんばく	1食 (21 g)	(表示なし)	-	44	-	0.5
	大豆たんばく食品 (粉末状食品)	大豆分離たんばく	1食 (20 g)	(表示なし)	-	43	-	8.3
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんばく (遺伝子組換え大豆は使用しておりません)	1食 (20 g)	(表示なし)	-	23	-	0.9
	プロテインパウダー (粉末状食品; ジュニア用)	粉末状大豆たんばく	1食 (20 g)	(表示なし)	-	21	-	9.1
	たんばく食品 (粉末状食品; ジュニア用)	大豆分離たんばく	1食 (20 g)	(表示なし)	-	17	-	5.0

表4 イソフラボン成分量 (アグリコン換算値) mg / 1日または1回摂取目安量当たり

分類	名称 (食品形態)	原材料名	D	MD	AD	SD	De	GI	MGI	AGI	SGI	Gle	G	MG	AG	SG	Ge	総イソフラボン (mg)
液状食品	調整豆乳 (液状食品)	大豆 (遺伝子組換えでない)	9.3	4.0	0.2	0.2	0.1	0.6	0.1	0.1	0.5	0.1	11.0	8.0	0.2	0.0	0.0	34.4
	調整豆乳 (液状食品)	大豆	4.9	0.6	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	2.3	0.0	0.2	9.2	0.0	0.8	0.0	0.7	18.8
	大豆たんばく飲料 (液状食品)	大豆たんばく, 大豆	3.8	0.6	0.3	0.0	3.1	0.9	0.1	0.4	0.0	0.4	8.7	2.0	0.3	0.0	3.8	24.4
	清涼飲料水 (液状食品)	粉末状大豆たんばく (遺伝子組み換えでない)	1.1	0.5	1.7	0.0	0.6	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	4.1	0.0	0.0	0.2	0.7	8.9
粉末状食品	乾燥スーブ (粉末状食品)	分離大豆たんばく質	1.2	2.9	7.0	0.0	1.9	0.3	0.5	0.0	0.9	0.2	1.8	0.0	0.6	0.0	3.1	20.5
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんばく	2.1	4.6	0.5	0.2	4.9	0.4	0.8	0.9	0.0	0.6	6.1	13.7	0.8	0.0	8.7	44.2
	大豆たんばく食品 (粉末状食品)	大豆分離たんばく	2.1	6.4	0.5	0.0	3.6	0.6	1.3	0.0	0.0	0.5	3.6	16.8	1.0	0.0	6.2	42.6
	プロテインパウダー (粉末状食品)	大豆たんばく (遺伝子組換え大豆は使用しておりません)	1.5	2.1	0.5	0.0	1.4	0.3	0.4	0.8	0.0	0.1	4.5	7.1	1.5	0.0	2.4	22.6
	プロテインパウダー (粉末状食品; ジュニア用)	粉末状大豆たんばく	1.8	2.3	0.2	0.0	1.7	0.4	0.4	0.5	1.0	0.2	3.9	6.0	0.7	0.0	2.8	22.0
	たんばく食品 (粉末状食品; ジュニア用)	大豆分離たんばく	1.4	1.5	0.4	0.0	1.8	0.3	0.2	0.2	0.0	0.1	3.5	3.8	0.8	0.0	3.0	17.0

表5 食品中の型別イソフラボンの割合（重量比）

形態	名 称	原 材 料 名	ダイゼ イン型 (%)	グリシテ イン型 (%)	ゲニステ イン型 (%)	総 量 (%)
液 状 食 品	調整豆乳（特定保健用食品）	大豆（遺伝子組換えでない）	40.3	4.0	55.7	100
	調整豆乳（特定保健用食品）	大豆	31.8	3.8	64.4	100
	大豆たんぱく飲料（特定保健用食品）	大豆たんぱく，大豆	31.8	7.4	60.8	100
	清涼飲料水（特定保健用食品）	粉末状大豆たんぱく（遺伝子組み換えでない）	43.5	1.4	55.1	100
粉 末 状 食 品	乾燥スープ（特定保健用食品）	分離大豆たんぱく質	65.7	5.7	28.6	100
	プロテインパウダー（粉末たんぱく飲料）	大豆たんぱく	27.3	6.2	66.5	100
	大豆たんぱく食品（栄養補助食品）	大豆分離たんぱく	29.6	5.5	64.9	100
	プロテインパウダー（たんぱく補給食品）	粉末状大豆たんぱく	28.9	7.0	64.1	100
	プロテインパウダー（たんぱく質含有食品；ジュニア用）	大豆たんぱく（遺伝子組換え大豆は使用していません）	27.5	11.4	61.1	100
	たんぱく食品（プロテインパウダー；ジュニア用）	大豆分離たんぱく	29.2	5.0	65.9	100

考 察

本研究では、原材料に大豆あるいは大豆たんぱく質を含んだ「健康食品」中に含まれる大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの定量分析を行った。また、それぞれの成分について一日または一食摂取目安量当たりの含有量を求め、大豆イソフラボンについては15種類の組成についても分析した。

大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの含有量と表示

1. 大豆たんぱく質に関して

対象とした健康食品中の大豆たんぱく質の分析値は表示の90–118%であり、表示を極端に逸脱しているものはなかった。今回分析した食品10品目のうち、ジュニア用のたんぱく質強化食品2品目には、大豆たんぱく質含量の表示がなかったが、表示されているたんぱく質の約半分量が大豆たんぱく質であることが明らかとなった。残りのたんぱく質は、原材料名に表示されている乳由来のホエイたんぱくだと考えられる。大豆たんぱく質の生理機能として、血清脂質やリポたんぱく質の減少に有効であることが報告されている⁶⁾。大豆たんぱく質は小腸でペプチドに分解されるが、大豆から分離されたペプチドが生理機能を持つという研究報告も多く^{7–10)}、「健康食品」中に含まれるペプチドの定量分析も興味深い。

2. 大豆イソフラボンに関して

厚生労働省は「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品などの取扱いに関する指針」³⁾（2006年8月）のなかで、平成19年4月以降に製造される大豆イソフラボンを含む特定保健用食品については、大豆イソフラボンアグリコンとして一日の摂取量が30 mgを超えないように設定することや、アグリコンとしての含有量を表示することとしている。また、指針のなかでは大豆たんぱくを関与成

分とする特定保健用食品において、大豆イソフラボン（アグリコンとして）の含有量の表示も義務づけられている。しかしながら、大豆たんぱくを強化した「いわゆる健康食品」については、一日当たりの摂取目安量について大豆イソフラボンアグリコンとして30 mgを超えないように設定する必要はない。これにより、今回対象とした、ジュニア用も含めたスポーツ選手向け大豆たんぱく質強化食品すべてにおいて、大豆イソフラボンの表示はなされていなかった。今回、これらの食品中に含まれる大豆イソフラボンの定量を行った結果、ジュニア用の食品には1回の摂取目安量当たり16–20 mgの大豆イソフラボンが確認された。一方、成人を対象とした食品には、1回の摂取目安量当たり大豆イソフラボンアグリコンとして30 mg以上の大豆イソフラボンが含まれていることが明らかとなった。このため、大豆たんぱく質が強化された健康食品のうち、特にジュニア選手はこれらの食品を過剰に摂取しないよう配慮する必要があると考えられた。

大豆イソフラボンを含む食品には、含まれる大豆イソフラボン含有量や組成成分が異なることが先回の調査同様¹¹⁾確認されたが、大豆イソフラボンの型によって生体内では吸収性や生体内動態、生理作用が異なる可能性があり^{12,13)}、摂取する側の年齢、性別、個体特性等も併せて考慮する必要があると考えられた。

分 析 方 法

1. 大豆たんぱく質

本実験の大豆たんぱく質の定量には、Soya protein Assay Kit（Tepnel BioSystems）を用いたが、本キットは、酵素免疫測定法（ELISA法）の中でも競合法を原理としている。本実験の分析結果における変動係数（CV値

(%)は、サンプル間で4.2–18.7%とばらついた結果となった。ELISA 法には、競合法とサンドイッチ法があるが、競合法は、目的物質にエピトープが一つあれば測定が可能であり、サンドイッチ法よりも低分子の物質を測定できるなどのメリットがある。しかし、競合法では測定時に目的物質と酵素標識抗原を共存して反応を行っているため、検出感度は二つのエピトープを反応させて定量するサンドイッチ法と比較すると劣る。今回のばらつきは、ELISA 法の測定原理に起因していることが要因の一つとして考えられる。

2. 大豆イソフラボン

大豆イソフラボンにおける定量分析は、厚生労働省の「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品等の取扱いに関する指針」³⁾の方法に基づいて行った。大豆たんぱく質を関与成分とする特定保健用食品である調製豆乳は上記の指針に記載されている方法では表示されている量の大豆イソフラボン量が検出されなかった（未記載データ）。この調製豆乳には原材料に乳化剤が含まれており、これが食品中の大豆イソフラボンの抽出効率を下げている可能性が考えられる。この食品サンプルを40–50℃で加熱攪拌すると抽出効率が改善されたため、加熱攪拌を30分間行って試料溶液とした。液状食品については、一品目を除くと CV 値は5%未満と安定した結果が得られたが、加熱攪拌を行った調製豆乳（特定保健用食品）の CV 値は9.6%であった。一方、粉末状食品の分析においては CV 値が0.5–9.1%であった。液状食品と粉末状食品の CV 値の平均値を比較すると、それぞれ4.6%と5.1%であり2つの異なる形状の食品に対して大きな差は見られなかった。厚生労働省の報告に記載されている大豆イソフラボンの試験方法において、液状食品および粉末状食品では変動係数が小さいこと、また両者間の差が小さいことから、この二つのタイプの食品に対して大豆イソフラボンの分析方法の精度が高い事が確認された。

ま と め

原材料に大豆または大豆たんぱく質を含む「健康食品」を対象とし、一日あるいは一回摂取目安量あたりに含まれる大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの定量を行った。また、大豆イソフラボンに関しては、15種類の大豆イソフラボンの成分の分析を行った。大豆たんぱく質は、表示があるものについて、特定保健用食品およびたんぱく質強化食品ともに90–118%が定量され、表示値から大きく逸脱した食品はなかった。表示がないジュニア用の大豆たんぱく質を強化したプロテインパウダーには、表示されたたんぱく質含有量のおおよそ1/2量の大豆たんぱく質が認められた。一方、大豆イソフラボンの表示がある食品に対する分析値は90–122%であり、これ

も表示値から大きく逸脱しているものはなかった。しかし、大豆イソフラボン含有量の表示のない大豆たんぱく強化食品に関して、2品目が厚生労働省で定められている上乗せ上限である大豆イソフラボンアグリコンとして30 mgを超えるものが確認された。また、15種類の大豆イソフラボンの成分分析より、豆乳には配糖体とマロニル配糖体が多く含まれていること、大豆たんぱく質強化食品には配糖体、マロニル配糖体、あるいはアグリコンの多種の成分が混在していることが明らかとなった。これらの結果より、本研究は大豆たんぱく質を原材料とした「健康食品」中の大豆たんぱく質および大豆イソフラボンの含有量が明らかとなり、大豆たんぱく質を強化した「健康食品」を適切に摂取するための表示の在り方を考察するための基礎資料となった。

謝 辞

本研究は平成20年度不二たん白質振興財団特定研究（主任研究者：石見佳子）および平成20年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心安全確保推進事業（主任研究者：山田和彦）の一部として実施されました。本研究を進めるにあたり、ご支援をいただきました（独）国立健康・栄養研究所、食品保健機能プログラムの矢野友啓先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Santell, R.C., Chang, Y.C., Nair, M.G. and Helferich, W.G.: Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats, *J. Nutr.*, **127**, 263–269 (1997)
- 2) 内閣府食品安全委員会：「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品の安全性評価の基本的な考え方」, http://www.fsc.go.jp/hyouka/hy/hy-singi-isoflavone_kihon.pdf, (2010年1月7日)
- 3) 厚生労働省：「大豆イソフラボンを含む特定保健用食品等の取扱いに関する指針」, <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/02/dl/h0202-1c.pdf>, (2010年1月7日)
- 4) Xu, Z., Wu, Q. and Godber, J.S.: Stabilities of daidzin, glycitin, genistin, and generation of derivatives during heating, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7402–7406 (2002)
- 5) Mathias, K., Ismail, B., Corvalan, C.M. and Hayes, K.D.: Heat and pH effects on the conjugated forms of genistin and daidzin isoflavones, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 7495–7502 (2006)
- 6) Anderson, J.W., Johnstone, B.M. and Cook-Newell, M.E.: Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids, *N. Engl. J. Med.*, **333**, 276–282 (1995)
- 7) Lovati, M.R., Manzoni, C., Gianazza, E., Arnoldi, A., Kurowska, E., Carroll, K.K. and Sirtori, C.R.: Soy protein peptides regulate cholesterol homeostasis in Hep G2 cells, *J. Nutr.*, **130**, 2543–2549 (2000)
- 8) 松井利郎：7S グロブリンからの血圧低下ペプチド SVY の高度生成とその生理機能評価、大豆たん白質研究、

- 6, 73–77 (2003)
- 9) 米倉政実, 市村妙子, 西川実希: 大豆ホエイおよびオカラたん白質からの生理機能性ペプチドの単離と応用 (第三報), 大豆たん白質研究, **8**, 97–102 (2005)
- 10) Nishi, T., Hara, H., Asano, K. and Tomita, F.: The soybean β -conglycinin β 51–63 fragment suppresses appetite by stimulating cholecystokinin release in rats, *J. Nutr.*, **133**, 2537–2542 (2003)
- 11) 石見佳子, 高野 史, 山内 淳, 卓 興鋼, 梅垣敬三, 細川 優, 渡邊 昌: 「健康食品」中の大豆イソフラボンの定量と表示に関する調査研究, 栄養学雑誌, **67**, 49–57 (2009)
- 12) Cassidy, A., Brown, J.E., Hawdon, A., Faughnan, M.S., King, L.J., Millward, J., Zimmer-Nechemias, L., Wolfe, B. and Setchell, K.D.: Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods, *J. Nutr.*, **136**, 45–51 (2006)
- 13) Setchell, K.D., Brown, N.M., Desai, P.B., Zimmer-Nechimias, L., Wolfe, B., Jakate, A.S., Creutzinger, V. and Heubi, J.E.: Bioavailability, disposition, and dose-response effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes, *J. Nutr.*, **133**, 1027–1035 (2003)
- (受付: 平成22年 1 月13日, 受理: 平成22年 5 月12日)