生およびゆでエダマメの遊離アミノ酸 および糖含量の品種間差異

阿部利徳⁸, 氏家隆光, 笹原健夫

山形大学農学部

Varietal Differences in Free Amino Acid
and Sugar Concentrations in Immature Seeds
of Soybean under Raw and Boiling Treatments

Toshinori Abe⁸, Takamitsu Ujiie and Takeo Sasahara

Laboratory of Plant Molecular Genetics and Breeding,
Faculty of Agriculture, Yamagata University,
1-23, Wakaba-machi, Tsuruoka, 997-8555

Differences in the concentrations of free amino acid and sugar in immature seeds harvested 35 days after flowering of nine vegetable-type soybean (Edamame) and five grain-type soybean cultivars, and changes in the component of free amino acids and sugars in seeds after boiling for 3 min. were examined. The concentrations of total free amino acids largely varied among cultivars. The concentrations of the total free amino acids were highest in the seed of Shirayama-dadacha (11.0 mg/gFW), and followed Sapporo-midori, Aobata and Kahori. On the free amino acids examined, major component in the immature seeds Shirayama-dadacha were glutamic acid, asparagine and alanine and the component of the these three amino acids were almost 50% per total amino acids. After boiling, average concentration of total free amino acids sharply decreased to 74%. The concentrations of the total sugar and sucrose were highest in the immature seeds of Shirayama-dadacha that contain 47 and 30 mg/gFW, respectively. The concentrations of the total sugar and sucrose were also higher in vegetable type cultivars, Aobata and Hiden. After boiling of immature seeds, average concentration of total sugar elevated 1.5 fold, although the concentration of sucrose was unchanged. (Received Jul. 7, 2003; Accepted Dec. 30, 2003)

これまでエダマメの食味に関する含有成分の研究では、遊離アミノ酸、特にグルタミン酸や糖、特にショ糖の含量が大きく影響していることが示唆されている¹⁾²⁾。一方、山形県庄内地方のダダチャマメは適切な栽培を行うと、旨味、甘味および香りが勝り、すこぶる良食味であるといわれている。エダマメは遊離アミノ酸のうち、アスパラギン、アラニンおよびグルタミン酸を多く含有し、これらの遊離アミノ酸は開花後 30~40 日でピークに達しその後減少する³⁾。ショ糖についてもエダマメの収穫適期に高く、その後減少することが知られている⁴⁾⁵⁾。また、エダマメおよび

普通ダイズの合計 8 品種を気象条件の異なる岩手、秋田、山形および福島で栽培し、エダマメとして食する適期の水溶性アミノ酸含量を調べた結果、場所によって変動するもののエダマメ品種の含有量が有意に高く、品種の特性は栽培地が変わってもほぼ一定していることが明らかとなっている⁶⁾。一方、全遊離アミノ酸含量と水溶性窒素含量は相関係数が高く、遊離アミノ酸含量は水溶性窒素含量で代替えることが示されている⁷⁾。香りについて、ダダチャマメは特に、2-アセチル-ピロリンが多く、この香り成分が好ましい香気をもたらしていることが明らかになってきている。

エダマメ収穫後の貯蔵時の成分含量の変動に関しては、収穫後の貯蔵の間に、全糖やスクロース含量およびアミノ酸含量が顕著に減少することが明らかになっている¹⁾⁸⁾⁹⁾。このような収穫後の呈味成分の減少は食味・風味に顕著に影響することが報告されている¹⁰⁾。また、エダマメは完熟するに伴い、呈味成分である糖や遊離アミノ酸が減少し、食味が低下することが報告されている⁸⁾。

本研究では、山形県庄内地方で栽培されている良食味のエダマメ品種および普通ダイズ品種を含む十数品種を用いて、食味に最も大きく影響することが知られている遊離アミノ酸およびショ糖含量を生およびゆで操作による加熱後に測定し、その品種間差異を調べた。また、本研究により、ゆで操作の加熱によって、遊離アミノ酸や糖含量がどのように変化するかを明らかにした。

1. 実験方法

(1) 供試材料

供試材料はエダマメダイズ 9 品種 (白山ダダチャ、サッポロミドリ、青ばた、秘伝、かおり、雪の下、青平、ぼんちやまめ、一人娘)、普通ダイズ品種 (タマホマレ、ナカセンナリ、シロタエ、小倉大豆、岩手 2 号) の計 14 品種を用いた。栽培は山形大学農学部附属農場に 2001 年 5 月 10 日に播種し、初生葉展開の 5 月 20 日に定植した。施肥は元肥として 10 a あたり、N を 6.0 kg、P₂O₅ を 18.0 kg、K₂O を 24.0 kg 施用した。栽培管理は慣行栽培に従い行った。ほとんどの品種 (早生および中生) の莢マメは開花 35 日後の 8 月 10 日から 8 月 30 日かけて収穫した。晩生品種のナカセンナリおよび青ばたはそれぞれ開花 35 日後の 9 月 3 日および 9 月 10 日に収穫した。収穫した莢マメは直ちにフリーザーに入れ、分析に用いるまで -80°C に貯蔵した。

(2) ゆで操作

フリーザーで -80°C で貯蔵しておいた莢マメは、フリーザーより取り出し、室温に戻るまで約 1 時間放置後、ゆで操作を行った。ゆで操作は、約 3 リットルの沸騰水中に数莢を入れ (再沸騰まで 1~2 秒)、3 分間沸騰水中で処理した。含有成分の分析は、沸騰水中より取り出し、室温になるまで放置後、ゆで操作を行わない生のエダマメと同様に

分析に用いた。

(3) 成分分析

遊離アミノ酸の測定に関しては、生および煮ゆで加熱後の未熟子実 100 mg を乳鉢にとり、75% エタノールを 1.5 ml 加え、3 分間磨砕した。磨砕したエタノール混合液をエッペンドルフ・チューブに移した後、5 分間ボルテックスを行い、遊離アミノ酸を抽出した。抽出した遊離アミノ酸は Pico-Tag 法によって組成を分析した³⁾。遊離アミノ酸は、全品種につき各処理区毎に異なった煮ゆでの未熟子実を用い、3 反復で測定した。標準アミノ酸はおのおの 200 pmol につきクロマトグラムを描き、3 反復でピーク面積を算出した。

全糖含量の測定に関しては、生および 3 分間ゆで加熱後の未熟子実 100 mg を乳鉢にとり、80% エタノールを 1.5 ml 加え、3 分間磨砕し、得られた溶液をエッペンドルフチューブに入れた。次に、チューブごと熱湯中で 5 分間処理し、10 000 rpm で 5 分間遠心後、その上清を全糖分析に用いた。全糖含量の測定は、Dubois ら¹¹⁾ および Hodge and Hofreiter¹²⁾ の方法に準じて行った。測定にあたっては、異なった煮ゆでの実を用いて 2 反復で行った。一方、検量線はショ糖を溶解した標準溶液 (5~100 mg/l) について、同様に求めた。

ショ糖含量の測定に関しては、生および 3 分間ゆで加熱後の未熟子実 200 mg を乳鉢に入れ、80% のエタノール 1.5 ml で 2 分間抽出し、90℃ で 5 分間処理後、10 容の酢酸ナトリウム緩衝液 (50 mM, pH 4.5) を加え混合した後、2 000 rpm (700 xg) で 5 分間遠心し、上清をショ糖含量の測定に用いた。ショ糖含量の分析は、ショ糖をインペルター

ゼにより、グルコースとフルクトースに分解し、分解して生成したグルコースに対して、グルコースオキシダーゼおよびペルオキシダーゼの混合酵素液を作用させることにより測定した (Megazyme, sucrose/lactose/glucose assay kit, USA)。測定にあたっては、異なった煮ゆでの実を用いて 2 反復で行った。検量線はショ糖の標準溶液 (1~50 mg/l) について、同様に求めた。

2. 実験結果

供試したエダマメ大豆品種 9 種、普通大豆品種 5 種における全遊離アミノ酸含量の品種間差異を図 1 に示した。全遊離アミノ酸含量には顕著な品種間差異が存在し、白山ダダチャが最も多く、新鮮重 1 g 当たり 11.0 mg で含量の少ない品種の約 3 倍含有していた。白山ダダチャの他に、サッポロミドリ、青ばた、かほり、青平の順に含有量が多かった。エダマメ用品種でも、一人娘、秘伝、雪の下およびボンチャマメは普通ダイズ品種と同程度の含有量であった。呈味性アミノ酸のうち、エダマメに比較的多く含まれている 3 種の遊離アミノ酸、グルタミン酸 (Glu)、アスパラギン (Asn)、アラニン (Ala) 含量の品種間差異を図 2 に示した。エダマメ品種の中で、特に白山ダダチャはこれらのアミノ酸含量が最も多く、新鮮重 1 g 当たり、グルタミン酸は 1.75 mg、アスパラギンは 1.99 mg、アラニンは 1.79 mg 含有していた。一方、普通ダイズ品種の中でも、小倉大豆やナカセンナリのグルタミン酸含量は比較的多く、エダマメ品種の青ばたやかほりと同程度であった。3 分間沸騰水中でゆでた場合に遊離アミノ酸は平均して約 74% に減少した。また、遊離アミノ酸含量の多い、上位 4 品種 (白山ダダチャ、サッポロミドリ、青ばた、かほり) について

図 1 生およびゆで加熱エダマメの全遊離アミノ酸含量の品種間差異

スコアは平均値±標準偏差 (n=3)

■, 生; □, ゆで加熱

みると、全遊離アミノ酸の減少の程度は比較的小さく、生の子実と比較して81.2%であった。ただし、遊離アミノ酸の中で、アラニンはほとんど減少しなかった。

全糖含量およびショ糖含量の品種間差異を図3に示した。全糖含量は良食味の白山ダダチャでは約47 mg/gFW含有し、最も高く、普通大豆品種の1.5倍含有していた。次いで、山形や宮城で栽培されている青ばたや秘伝が約40 mg/gFW含有し、比較的多かった。一般に、おいしいといわれるエダマメは全糖含量が多い傾向にあったが、呈味性遊離アミノ酸含量ほど顕著な違いは認められなかった。ゆで操作により全糖含量は平均して50%上昇した。

ショ糖含量の品種間差異をみると、山形県庄内地方特産の白山ダダチャがエダマメ子葉1g当たり30 mg以上のショ糖を含有し、他のエダマメ8品種の平均の約2倍量含有していた。20 mg以上のショ糖を含有していたエダマメ品種は青ばたおよび秘伝の2品種であった。普通大豆品種でも小倉大豆やタマホマレは20 mg以上のショ糖を含有していた。3分間沸騰水中でゆでた後のショ糖含量の増減はみられなかった。また、エダマメの全糖含量に対するショ糖含量の割合は、14品種の平均で約60%であった。

3. 考 察

全遊離アミノ酸含量はエダマメ品種間で大きな差異が認められた。特に中生で良食味の白山ダダチャは全遊離アミノ酸含量が新鮮重1g中に約11.0 mgと顕著に多かった。本研究では、HPLCを用い、Pico-TagTM法によりアミノ酸の組成を分析したが、白山ダダチャの全アミノ酸含量については予備的にニンヒドリン法によっても分析を行った。

その結果、白山ダダチャの未熟子実のアミノ酸含量はサンプルにより異なるものの、新鮮重1g当たり、10~14 mgで、本研究における値と類似した結果が得られた。遊離アミノ酸の中では、グルタミン酸、アスパラギンおよびアラニンの含量が多く、この3種の遊離アミノ酸で全遊離アミノ酸の約50%を占めていた。グルタミン酸やアスパラギンは旨味および酸味に、またアラニンは甘味に関係していることが知られているが、これらのアミノ酸含量の多いことがエダマメの食味に貢献していることが推察される。一方、糖に関しても白山ダダチャは1g中に全糖で47 mg、ショ糖で30 mg含み、他のエダマメ品種の1.5~2倍多く含有していた。山形県庄内特産の白山ダダチャは呈味性の遊離アミノ酸とショ糖のいずれも他のエダマメ品種より抜きんでて高いということができる。これに対して、早生種のサッポロミドリは呈味性の遊離アミノ酸含量は比較的多いものの糖含量が少なく、大粒の秘伝は呈味性の遊離アミノ酸含量は普通大豆品種と同程度なのに対し、全糖は新鮮重1g当たり、約40 mg含有し、比較的甘味の強いことが測定結果より裏付けされた。また、晩生の青ばたは、新鮮重1g当たり、全遊離アミノ酸含量は約6.6 mg、全糖含量が約40 mgと両者とも比較的多かった。

本研究では食味の官能検査は行わなかったが、比較的良食味の品種は、遊離アミノ酸および糖の両方またはいずれか一方が多いということがいえる。増田ら¹⁾は食味に対する遊離アミノ酸や糖含量の寄与について調べ、ショ糖、グルタミン酸およびアラニン含量が食味評価と有意に相関のあることを報告している。本研究で用いた品種の中で、白山

図2 生およびゆで加熱エダマメの呈味性遊離アミノ酸3種 (Glu, Asn, Ala) の含量の品種間差異
C, 生; B, ゆで加熱

図 3 生およびゆで加熱エダマメのショ糖含量および全糖含量の品種間差異

スコアは平均値±標準偏差 (n=2)

棒グラフ：ショ糖含量 (■, 生; □, ゆで加熱)

プロット：全糖含量 (●, 生; ○, ゆで加熱)

ダダチャはこのいずれも多く含有しており、良食味のエダマメの品種改良のための交雑母本として有用であることが注目される。

3分間のゆで操作により加熱した場合は、遊離アミノ酸の減少が顕著であった。減少の程度はアミノ酸の種類により異なり、アラニンはほとんど減少が認められないのに、グルタミン酸の減少の程度は大であった。増田²⁾はダイズ種子中のアミノ酸代謝における種皮の重要性を指摘しているが、ゆで操作による減少の程度が品種によって異なり、白山ダダチャやサッポロミドリなどのエダマメ品種が減少の程度が少なかったのは、種皮の構造が関係している可能性が考えられる。糖に関して、ゆで操作により加熱した場合、ショ糖の増減は認められなかったが、全糖含量は約1.5倍に増加した。これは未熟子実中に存在しているデンプンが、 α -アミラーゼ等により分解されてマルトースが生成したためと考えられる¹³⁾。

4. 要 約

エダマメ9品種および普通大豆5品種を用いて、開花後35日の未熟子実の遊離アミノ酸含量および糖含量の品種間差異、およびこれらの成分がゆで操作により加熱した場合にどのように変化するかを調べた。未熟子実の全遊離アミノ酸含量には顕著な品種間差異が認められた。おいしいエダマメとして知られている白山ダダチャは全遊離アミノ酸は新鮮重1g当たり、11mg含有し、最も多く、含量の少

ない品種の約3倍量含有していた。遊離アミノ酸の中で、特に呈味性アミノ酸のグルタミン酸、アスパラギンおよびアラニン含量が多く、この3種の遊離アミノ酸で全遊離アミノ酸の約50%を占めた。白山ダダチャの他、サッポロミドリ、青ばた、かほりが比較的高く、その他のエダマメ品種や普通大豆品種は低い含量であった。また、3分間煮沸水中でゆでた場合、多くのアミノ酸は含量がやや減少した。平均して全遊離アミノ酸は74%に減少した。全糖およびショ糖含量の品種間差異をみると、白山ダダチャが最も多く、新鮮重1g当たり全糖で約47mg、ショ糖では約30mg含有していた。白山ダダチャに次いで、青ばたと秘伝が多く含有していた。3分間煮沸水中でゆでた後のショ糖含量の増減は認められなかったが、全糖含量は平均して1.5倍に増加した。

本研究の遂行にあたり、エダマメ品種の種子および普通ダイズ品種の種子を提供していただきました山形大学附属農場、赤澤経也先生および鶴岡市農協に感謝の意を表する。

文 献

- 1) 増田亮一・橋詰和宗・金子勝芳、冷凍枝豆の食味に及ぼす収穫後の貯蔵時間の影響、日食工誌, **35**, 763-770 (1988).
- 2) 増田亮一、エダマメのおいしさと種子のアミノ酸代謝—グルタミン酸合成酵素の活性に差異—、化学と生物, **32**, 560-

- 563 (1994).
- 3) Yanagisawa, Y., Akazawa, T., Abe, T. and Sasahara, T., Changes in free amino acid and Kjeldahl N concentrations in seeds from vegetable-type and grain-type soybean cultivars during the cropping season, *Agri. Food Chem.*, **45**, 1720-1724 (1997).
 - 4) 廣田智子・田畑広之進・福嶋 昭・井上喜正, 丹波黒ダイズのエダマメとしての収穫適期の判定と冷凍エダマメの品質に及ぼす収穫後の保存条件, 近畿中国農研, **100**, 33-37 (2000).
 - 5) 大海さつき・藤井俊弘・小泉丈晴・本間素子・大沢良一, エダマメ用早生系黒ダイズの食味成分と収穫適期, 群馬園試研報, **5**, 39-52 (2000).
 - 6) Yanagisawa, Y., Akazawa, T., Abe, T. and Sasahara, T., Regional differences in the concentration of water-soluble N in immature seeds of soybean (*Glycine Max* (L) Merr.), *Plant Production Science*, **1**, 179-182 (1998).
 - 7) Akazawa, T., Yanagisawa, Y. and Sasahara, T., Concentration of water-soluble nitrogen and amino acids as criteria for discriminating vegetable-type and grain-type soybean cultivars, *Breeding Science*, **47**, 39-44 (1997).
 - 8) 生野世方子, エダマメ品質保持に関する研究, 家政誌, **38**, 1057-1062 (1987).
 - 9) 南出隆久・畑 明美, 枝豆の品質に及ぼす収穫時期と貯蔵温度の影響, 京都府立大学学術報告, **41B**, 9-14 (1990).
 - 10) 岩田 隆・杉浦弘隆・白幡啓一, 葉付き包装によるエダマメの品質保持—エダマメ収穫後の品質変化とその防止 2, 園芸学雑誌, **51**, 224-230 (1982).
 - 11) Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F., Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1965).
 - 12) Hodge, J.E. and Hofreiter, B.T., Determination of reducing sugars and carbohydrates. In *Methods in Carbohydrate Chemistry*, eds. Whistler R.L. and Wolfrom M.L., Academic press, New York, Vol. 1, pp. 380-394 (1962).
 - 13) 李 温九・南出隆久・大谷貴美子, 熟度の異なる「紫ずきん」, 黒大豆エダマメの水可溶性オリゴ糖含量とゆで操作に伴うオリゴ糖含量の変化, 農化, **74**, 501-504 (2000).
- (平成 15 年 7 月 7 日受付, 平成 15 年 12 月 30 日受理)