

氏名	ワニダ テワルース チティサンクル Wanida Tewaruth CHITISANKUL
本籍（国籍）	タイ王国
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連論 第190号
学位授与年月日	令和5（2023）年 9月 25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当 論文博士
学位論文題目	Effect of food processing on soyfood qualities relating nutraceutical and taste characteristics (大豆加工食品の健康機能性と味質に関する品質に及ぼす食品加工の影響)
学位審査委員	主査 岩手大学教授 伊藤 芳 明 副査 岩手大学教授 三浦 靖 副査 山形大学准教授 笹沼 恒 男 副査 弘前大学准教授 濱田 茂 樹 副査 岩手大学名誉教授 塚本 知 玄

論文の内容の要旨

Soybean saponin is a general term for triterpene glycosides composed of more than 100 molecular species, and is roughly divided into group A saponins and DDMP saponins according to the chemical structure of the aglycones. Soybean saponins account for about 0.5% of the weight of soybean seeds, but group A acetylsaponins, which are known to cause unpleasant taste, are reported to be localized in the hypocotyl part, which accounts for only 2% of the seed weight. It is believed that the removal of the hypocotyls removes the unpleasant taste of soybean saponins. Soybean saponins are a variety of ingredients that exhibit taste and health functionality depending on their chemical structure. It is reported to exhibit various health functional properties such as colon cancer cell growth inhibitory effect. So far, with the aim of modifying the taste and health functionality of processed soybean foods, genetic breeding has been promoted to remove group A acetylsaponins from raw soybean seeds and increase the content of DDMP saponins (group B saponins), which has been put into practical use. However, regarding the taste of soymilk and tofu made only from the de-hypocotyled seed (cotyledon parts), unpleasant tastes were detected even though group A acetylsaponins (the main cause of the unpleasant taste) have been removed. It is also known that even if the same raw material soybean is used, the flavor will change greatly depending on the "production equipment used" and "production conditions such as heating time". However, until now, there were many unclear points about the relationship between processing conditions and changes in taste, and it was considered difficult to control, leaving it as a research topic.

In Chapter 1, this doctoral thesis examined the antioxidant capacity of various processed soybean foods by H-ORAC assay, and examined various components that affect health functionality and taste (isoflavones, DDMP saponins, total free sugars, folic acid, total free amino acids, GABA) was analyzed. In addition, the influence of the soaking time of raw soybeans on processed soybean food products and the content of various components were

investigated. It was found that the change in the chemical structure of soybean seeds and the change in taste are highly supposed to be derived from changes in the composition of various components contained in soybean seeds, especially soybean saponin.

In Chapter 2, soybean seed saponins, which have a significant impact on both the health functionality and taste of processed soybean foods were focused on, and examined nine soybean varieties (cotyledons and hypocotyls) that have genetically different seed saponin compositions. In addition, the composition and content of saponins in 22 kinds of processed soybean foods with different production processes were analyzed in detail by LC-PDA/MS/MS. As a result, group A acetylsaponins (substances that cause unpleasant soybean taste), which had been previously reported not to be detected in the cotyledons of seeds, were existed in the cotyledons with a large amount of various molecular species having partial elimination of acetyl groups. The intensity of these unpleasant tastes is unknown, but it has been reported that group A acetylsaponins exhibit a very strong unpleasant taste, whereas group A deacetylated saponins, in which the acetyl groups are completely removed, do not exhibit any unpleasant taste at all. Therefore, partially deacetylated group A saponins are presumed to be "unpleasant taste-causing substances with different intensities" depending on the degree of deacetylation and chemical structure. Group B saponins, known as health-functional saponins, were rarely detected in seeds, but increased as processing progressed; edamame < seed sprouts < soymilk, yuba, tofu < fermented soyfoods (miso, douchi, tofuyo). These results strongly suggest that modification of the taste and health functionality of processed soybean foods can be greatly modified not only by genetic breeding methods but also by food processing methods and conditions.

In Chapter 3, the reasons why the flavor of soymilk and tofu varies greatly due to differences in manufacturing equipment and manufacturing conditions, even when the same raw soybean is used, were examined. First, at the laboratory level, it was found that the content of group B saponins, which is produced by the decomposition of DDMP saponins, and the aroma component maltol differ greatly depending on the difference of material soybeans used (normal soybeans or lipoxygenase (LOXs)-deficient soybeans). Therefore, the reaction products in an experimental system using LOXs-deficient soybean, purified DDMP saponin β g, and various reagents related to radical reaction were analyzed in detail by LC-PDA/MS/MS. As a result, it was clarified that maltol and group B saponins are produced when DDMP saponins are thermally decomposed, but maltol is not produced when DDMP saponins are decomposed by seed LOXs radical reaction, resulting in group B saponins and other components.

This study revealed that the chemical structure of various components in soybean seeds changed according to the difference in processing and manufacturing conditions, and as a result, it affected taste and health functionality. In the future, it is expected that it will be possible to reduce the unpleasant taste and increase the health functionality of processed soybean foods by examining processing conditions in addition to genetic modification.

大豆サポニンとは、100種類以上の分子種で構成されるトリテルペン配糖体の総称であり、アグリコンの化学構造によりグループ A サポニンと DDMP サポニンに大別される。大豆サポニンは大豆種子重量の約 0.5% を占めるが、不快味原因物質として知られるグループ A アセチルサポニンは種子重量のわずか 2% の胚軸部分に局在すると報告され、種子胚軸の物理的な除去（脱胚軸処理）により、大豆サポニンの不快味は除去されると考えられている。また、大豆サ

ポニンは化学構造に依存した味と健康機能性を示す多様な成分であり、大豆種子中で検出される DDMP サポニンは貯蔵や加工で分解が進み、分解産物であるグループ B サポニンは大腸がん細胞増殖抑制作用など多様な健康機能性を示すと報告されている。これまでに、大豆加工食品の味や健康機能性の改変を目的として、原料大豆のグループ A アセチルサポニンを除去し DDMP サポニン（グループ B サポニン）含量を高めるための遺伝育種が進められ、多数の品種が実用化されている。しかし、豆乳や豆腐の味については、脱胚軸して子葉部だけを原料とした豆乳はグループ A アセチルサポニン（不快味の主要因）が除去されているにも関わらず不快味が残っていることや、同じ原料大豆を使っても「用いる製造装置」や「加熱時間などの製造条件」で風味が大きく変わることなどが知られている。しかしながらこれまで、加工条件と味の変化との関連性については不明な点が多く、制御が難しいとされ、研究課題として残されていた。

本学位論文は、第一章で、各種大豆加工食品の抗酸化能を H-ORAC 分析で調べると共に、健康機能性や呈味性に影響を与える各種成分（イソフラボン、DDMP サポニン、総遊離糖、葉酸、総遊離アミノ酸、GABA）の含有量を分析した。また、大豆加工食品製造時の原料大豆浸漬時間がおよぼす抗酸化能や各種成分含量への影響を調べ、大豆加工食品や浸漬時間の違いに依存した抗酸化能と健康機能性の変化は大豆イソフラボンの化学構造の変化が、また呈味性の変化は大豆種子に含まれる各種成分、中でも大豆サポニン組成の変化（すなわち化学構造の変化）に由来する可能性が高いことを突き止めた。

そこで、第二章では大豆加工食品の健康機能性と呈味性のいずれにも大きな影響を与える大豆種子サポニンに着目し、種子サポニン組成が遺伝的に異なる 9 種類の大豆の種子子葉と胚軸並びに製造工程が大きく異なる各種大豆加工食品 22 種類のサポニンの組成と含量を LC-PDA/MS/MS で詳細に解析した。その結果、これまで種子の子葉部では検出されないと報告されていたグループ A アセチルサポニン（大豆不快味原因物質）が、アセチル基の一部が脱離した多種多様な分子種として子葉部に多量に存在することを明らかにした。これらの不快味の強さは不明だが、グループ A アセチルサポニンは非常に強い不快味を示す一方で完全にアセチル基が完全に取れたグループ A 脱アセチルサポニンは全く不快味を示さないと報告されている。従って、部分的に脱アセチル化されたグループ A サポニンは、脱アセチル化の程度や化学構造に依存して「強度の異なる不快味原因物質」になると推定される。また健康機能性サポニンとして知られるグループ B サポニンの含量は、種子中ではほとんど検出されなかったが、加工が進むにつれ多く検出されるようになり、味噌、豆鼓、豆腐よう等の大豆発酵食品で多いことを見出した。これらの結果は、大豆加工食品の味や健康機能性の改変が遺伝育種的手法だけに限らず食品加工方法や条件によっても大いに改変できることを強く示唆している。

最後に、第三章では同じ原料大豆を使っても製造装置や製造条件の違いで豆乳や豆腐の風味が大きく変わる原因について検討した。初めに、普通大豆と、大豆油脂過酸化酵素であるリポキシゲナーゼ（LOXs）を遺伝的に欠失した大豆では、実験室レベルでの豆乳製造条件の違いにより DDMP サポニンの分解により生じるグループ B サポニンと香り成分マルトールの含量が大きくことなることを突き止めた。そこで、LOXs 欠失大豆、精製 DDMP サポニン β g、各種ラジカル反応関連試薬等を用いた実験系での反応生成物を LC-PDA/MS/MS で詳細に解析した。その結果、DDMP サポニンが熱分解されるとマルトールとグループ B サポニンが生成されるが、種子 LOXs ラジカル反応で分解されるとマルトールは生成されず、グループ B サポニンとその他の成分になることを明らかにした。

本研究により、加工や製造条件の違いに応じて大豆種子中に存在する各種成分の化学構造が変化し、その結果、味や健康機能性に影響を与えることが明らかとなった。今後、大豆加工食品の不快味低減と健康機能性増大については、遺伝育種的改変とは別に、加工条件の検討によっても進めることができると期待される。

論文審査の結果の要旨

本学位論文は、「大豆加工食品の味と健康機能性に影響を与える各種成分」と食品加工の関係を明らかにするために、初めに、各種の原料大豆と大豆加工食品の抗酸化活性並びに各種成分の組成・含量を網羅的に調査した結果、中でも大豆サポニンの「加工による化学構造変化」が味の変化と健康機能性に大きく影響を与える可能性を見出した。そこで、サポニン組成が遺伝的に異なる原料大豆、加工条件が異なる各種大豆加工食品、精製サポニン等を用いた各種実験を行い、微量分子種を含む多種多様な大豆サポニンの化学構造変化を LC-PDA/MS/MS 分析で詳細に解析した。

その結果、① 子葉部だけを原料とした豆乳に不快味が残っている原因は、部分的に脱アセチル化したグループ A サポニンが子葉部分に多量に存在するためであることを突き止めた。また、同じ原料大豆を使っても製造装置や製造条件で豆乳や豆腐の味が大きく変わる原因については、②豆乳の甘味香気成分マルトールは DDMP サポニンの加熱分解により生成し、③種子リポキシゲナーゼ活性の抑制は DDMP サポニンのラジカル分解を抑制し加熱によるマルトール生成を促すためであることを明らかにした。

大豆サポニンは化学構造に依存した味と健康機能性を示す多様な成分である。また、豆乳や豆腐などの大豆加工食品の味や健康機能性は、同じ原料大豆を使ったとしても製造の際の装置や条件が少し違うだけで大きく異なることが知られ、制御が難しいとされてきた。そのため、これまで大豆加工食品の味や健康機能性の改変については、原料大豆の遺伝育種的改変が主要な手段となっていた。しかし本研究により、加工工程や製造条件の違いがおよぼす大豆サポニンの化学構造変化への影響が明らかとなってきたことで、今後、加工によって意図的に、大豆加工食品の不快味低減と健康機能性増大を進めることができると期待される。また、公表主論文 5 編はいずれも食品科学分野でインパクトの高い国際雑誌に掲載されたものである。

よって、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値あるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. Chitisankul, W. T., Shimada, K., Omizu, Y., Uemoto, Y., Varanyanond, W., & Tsukamoto, C. 2015. Mechanism of DDMP-saponin degradation and maltol production in soymilk preparation. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 197-204.
2. Chitisankul, W. T., Takada, Y., Takahashi, Y., Ito, A., Itabashi, M., Varanyanond, W., Kikuchi, A., Ishimoto, M., Tsukamoto, C. 2018. Saponin composition complexities in hypocotyls and cotyledons of nine soybean varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 93-103.
3. Chitisankul, W. T., Murakami, M., Tsukamoto, C., & Shimada, K. 2019. Effects of long-term soaking on nutraceutical and taste characteristic components in Thai soybeans. *LWT - Food Science and Technology*, 115, 108432.
4. Chitisankul, W. T., Itabashi, M., Son, H., Takahashi, Y., Ito, A., Varanyanond, W., & Tsukamoto, C. 2021. Soyasaponin composition complexities in soyfoods relating nutraceutical properties and undesirable taste characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 146, 111337.
5. Chitisankul, W. T., Shimada, K., Tsukamoto, C. 2022. Antioxidative capacity of soyfoods and soy active compounds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 72(1), 101-108.