

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：34517

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700894

研究課題名(和文)鉄欠乏性貧血の改善を目指した鉄分強化豆腐の加工法の確立

研究課題名(英文)Development of iron-fortified tofu for the improvement of iron-deficiency anemia

研究代表者

有井 康博 (ARII, Yasuhiro)

武庫川女子大学・生活環境学部・准教授

研究者番号：60360484

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では鉄欠乏性貧血の改善に役立つ豆腐様鉄強化食品の開発と、その開発に不可欠な豆腐形成における沈殿形成の分子機構を明らかにすることを目的とした。研究期間内に実施した研究の成果は以下のようである。(1)もめん豆腐様鉄強化食品の開発、(2)その食品の物性、(3)豆腐形成における金属イオンの役割の解明、(4)もめん豆腐およびきぬごし豆腐の作り分けに関する分子機構の解明である。(1)については、特許申請に至った。(2)についてはマグネシウム豆腐と同様なものであることが示された。(3)および(4)においては、新規知見を得て二報の国際誌に投稿受理された。また、現在1報を投稿中である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we purposed the development of new tofu-like iron-fortified foods utilized for the improvement of iron-deficiency anemia and the understanding of the molecular mechanism for the formation of tofu precipitate. We showed the results of this study as described below. (1) Development of a regular tofu-like iron-fortified food, (2) Measurement of the texture of the food, (3) Determination of the role of metal ions in tofu formation, (4) Determination of the molecular mechanism for the destination of tofu into regular and silken tofu. About (1), we applied for a patent. About (2), the texture is similar to that of a general tofu made by adding magnesium chloride. About (3) and (4), two original papers was submitted three papers. In three papers, two papers were accepted and one is under examination.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：鉄強化食品 豆腐 鉄欠乏性貧血 金属イオン

1. 研究開始当初の背景

【鉄欠乏による疾患】鉄欠乏による代表的な疾患である鉄欠乏性貧血は、貯蔵鉄欠乏につづく鉄欠乏性造血後に起こることが知られる(International Nutritional Anemia Consultative Group, 1985)。鉄欠乏の主因は食物中の鉄不足、鉄の消失、鉄の吸収傷害が上げられる。食物中の鉄不足は、(1)鉄を含む食物を摂取しない、(2)鉄を含む食物を摂取するが食事の絶対量が少ない、(3)食品加工過程で鉄が食品に外から添加されることがない、(4)食物中の鉄の吸収が天然あるいは人工の物質によって妨害を受ける、(5)アスコルビン酸などの鉄の吸収を促進する物質の摂取量の減少など、により起こる(中澤、2006)。これらのうち、(1)と(2)は乳幼児、高齢者、食事制限を行う必要のある患者などに起こりやすく、その解決には食べ易さを工夫する必要がある。(3)から(5)は食品加工時の工夫により解決できる。また、青年期から壮年期の女性は鉄の消失による鉄不足を起こしやすい。このような幅広い年齢層に起こる鉄欠乏性貧血の改善に、幅広い年齢層が食する豆腐を利用することは最適であると申請者は考えた。

【金属イオンによる豆腐形成】大豆は古来より米を補間する重要な食物として様々な食品加工に利用されている。大豆加工食品の代表的食品である豆腐は豆乳にカルシウムイオンやマグネシウムイオン(二価陽イオン)を添加することで加工される。日本では幅広い世代が様々な調理に豆腐を利用し、豆腐に含まれる豊富な栄養素を摂取している。また、海外においても豆腐のヘルシーさが注目され、食される機会が増えている。本研究では、このような豆腐の特長を生かし、身近な食品である豆腐に栄養学的な付加価値を与えた新規栄養機能性食品を開発する。一般的にカルシウムイオンあるいはマグネシウムイオンが豆腐の加工に利用される。これらの金属イオンは二価陽イオンであるが、その他の二価陽イオンによる豆腐形成の報告は皆無である。第一鉄イオンを使用した豆腐加工を実現すること、またその他の金属イオンを利用した豆腐加工の可能性を探ることを考えた。

【鉄分強化豆腐の有用性について】鉄イオンには二価陽イオンの第一鉄イオンと三価陽イオンの第二鉄イオンが存在する。これらの鉄イオンのうち、体内への吸収効率が高い鉄イオンは第一鉄であることが知られる(Deicherら、2006)。一方でカルシウムイオンやマグネシウムイオンによる豆腐形成では、両金属イオンが豆腐の中で保持される(田中ら、2007)。これらのことは第一鉄イオンを用いた豆腐形成が栄養学的に高い意義をもつことを意味する。一方で、第一鉄イオンは酸化されることで第二鉄イオンになることが知られるが、豆腐中の物質は酸化され

にくく(小野、2008)、第一鉄イオンの酸化を防ぐためにも豆腐の利用は有用である。

2. 研究の目的 次の4点を明らかにする。

- (1) 第一鉄イオンによる豆腐加工法の確立
- (2) 豆腐中の第一鉄イオンの保持法の確立
- (3) 鉄分強化豆腐による鉄欠乏性貧血の改善

(4) 豆腐加工における凝集要因の役割の解明

(1) 第一鉄イオンによる豆腐加工法の確立
先述のように、申請者は予備的な実験で第一鉄イオンを豆乳に添加することで、豆腐様の沈殿が形成されることを明らかにしている。ここでは豆腐形成に必要な第一鉄イオン濃度の検討、および豆腐様沈殿の物性測定を行う。前者は鉄の過剰摂取の危険性を考慮した鉄添加量を決定するために必要な情報となる。健康なヒトでは体内の鉄量が増えてくると吸収効率が低下するために、鉄の過剰摂取は起こりにくいことが知られる。一方で鉄の過剰摂取は続発性ヘモクロトシスを発症する危険性がある。鉄の摂取は25-75 mg/day であるなら安全とされているが、それより高レベルを長期間摂取しても障害が起こらなかった報告もある(Morris、1987)。しかし過剰な鉄を排泄する生理学的な経路がないため、鉄が体内に大量に入り経時的に蓄積することで障害が起こる可能性もある(Pippard、1990)。そのため、鉄分強化豆腐の加工における鉄添加量の調整は重要である。後者は鉄分強化豆腐を従来の豆腐と同様な食材として利用するために不可欠である。

(2) 豆腐中の第一鉄イオンの保持法の確立
一般に第一鉄イオンは第二鉄イオンに酸化されやすい。そこで、豆腐中の第一鉄イオン濃度を測定する方法を確立し、豆腐形成時の第一鉄イオン濃度および保存中の経時的濃度変化を明らかにする。その上で酸化が進行する場合には酸化を防ぐ方法を確立する。

(3) 鉄分強化豆腐による鉄欠乏性貧血の改善

鉄欠乏性貧血モデルラットを用い、鉄分強化豆腐による貧血改善の有無を調べる。新規機能性を有する食品として評するためには、実験動物を用いた栄養状態の改善を調べることは不可欠である。また、健常ラットにおける鉄過剰摂取による続発性ヘモクロトシスが発症しないことも確認する。

(4) 豆腐加工における凝集要因の役割の解明

最近の国民栄養調査によると5種類のミネラル、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅の摂取不足が明らかになっている。豆腐形成に必要な物理化学的要因は金属イオンの添加と加熱の組み合わせであるが、これ

らの要因が豆腐形成に果たす役割は明確でない。また、予備的実験で、金属イオン種によっては加熱が無くとも豆腐様の沈殿が形成されることを明らかにしている。そこで、上記の金属イオンの添加と加熱の有無の組み合わせを用いた豆腐加工を行い、豆腐加工における金属イオンの添加や加熱の役割を明確にする。

3. 研究の方法

(1) 鉄イオン濃度依存的豆腐形成

予備的実験において塩化第一鉄を最終濃度 20 mM で豆乳に添加することで、豆腐様の沈殿が形成されることを明らかにしている。この際の沈殿量は同濃度の塩化カルシウム、硫酸カルシウム、塩化マグネシウムによる沈殿量と同程度である。ここでは様々な鉄イオン濃度で塩化第一鉄あるいは硫酸第一鉄を豆乳に添加し、形成した沈殿の量と上清に含まれるタンパク質の濃度および種類について精査することで、第一鉄イオン濃度依存的に豆腐が形成する様子およびその際に関わるタンパク質の種類を明らかにする。上清タンパク質の量的変化についてはブラッドフォード法等の染色定量法を用いて定量する。また、沈殿画分および上清画分について SDS 電気泳動法を用いて、各鉄イオン濃度における沈殿形成タンパク質と上清残存タンパク質の種の違いとその量的変化を明らかにする。量的変化の見られたタンパク質種について N 末端分析法を用いてタンパク質種を決定する。これらの結果を従来のカルシウムイオンやマグネシウムイオンによる豆腐形成と比較することで、第一鉄イオンによる沈殿形成の分子機構と従来の機構を比較する。また、最近の国民栄養調査で摂取不足が浮き彫りとなった金属イオンである亜鉛イオンおよび銅イオンについても、第一鉄イオンと同様な研究を行う。さらに金属イオン添加時の加熱の有無によって生じる沈殿の差異について精査する。

(2) 鉄分強化豆腐の物性測定

第一鉄イオンで形成した豆腐を従来の豆腐と同じ方法で成形し、その物性をテクスチャアナライザーで測定する。カルシウムイオンやマグネシウムイオンにより形成した豆腐と物性を比較することで、食感における違和感の有無を明らかにする。また、金属イオン添加時の加熱の有無が各金属イオンによって形成された豆腐の物性に与える影響を明らかにする。

(3) 鉄イオン濃度測定法の確立

従来の豆腐と鉄分強化豆腐中の鉄含量について、灰化後の原子吸光法により鉄原子を定量することで、鉄分強化豆腐中の鉄含量の増加を明らかにする。また、保存中の外液交換による鉄含量の変化について同様の方

法で明らかにする。第一鉄イオン濃度測定法として o-フェナトロリン改良法をもとに、第一鉄イオン濃度を測定する予定である。また、フィチン酸と第一鉄イオンおよび第二鉄イオンの結合性の違いを利用し、豆腐中の第一鉄および第二鉄の定量と存在比を明確にする。さらに、この方法を用いて、保存中の豆腐内における第一鉄および第二鉄の定量と存在比の経時的な変化を明確にする。

(4) 豆腐中の第一鉄イオン酸化防止法の確立

豆腐保存中において第一鉄イオンが第二鉄イオンに酸化される可能性は否定できない。そこで、食品加工において利用されている還元剤や酸化防止剤を鉄分強化豆腐に添加することで、酸化の進行を防止する方法を確立する。本研究ではアスコルビン酸を使用する予定である。アスコルビン酸は豆腐の品質に影響を与えない(Nishimura ら、2008)。また、アスコルビン酸と鉄を同時に摂取することで、鉄吸収効率が上がる(Atanassova、2008)。そこで、アスコルビン酸の選択が鉄分強化豆腐の加工に適切な選択であり、鉄分強化豆腐の摂取による鉄吸収効率を上げる手段としても有効であると考えている。本研究では鉄分強化豆腐加工時に添加する第一鉄イオン溶液にアスコルビン酸を共存させる。また、添加時のアスコルビン酸濃度を変化させ、保存中の経時的な鉄イオン濃度比を定量的に追跡する。さらに保存外液へアスコルビン酸添加することで、外液交換による豆腐中の鉄イオン酸化防止作用について検討する。

(5) 栄養改善実験

鉄分強化豆腐を鉄欠乏性貧血モデルラットに食餌として与え、その貧血症状が改善されることを確認する。すなわち、鉄欠乏性貧血モデルラットに鉄分強化豆腐を食餌として与えた場合と従来の豆腐を食餌として与えた場合における、全血中のヘモグロビン、赤血球数、ヘマトクリット、および鉄の数値を比較し、鉄分強化豆腐の摂取が貧血の改善に役立つことを確認する。また、健常ラットに鉄分強化豆腐を与え、鉄過剰摂取による続発性ヘモクロトシスが発症しないことを確認する。いずれの場合も、加工時に添加する鉄濃度の変化、アスコルビン酸添加の有無およびアスコルビン酸濃度の違いによる、栄養改善や発症の有無について検討を行う。また、アスコルビン酸の結果によっては鉄分の吸収を改善することが知られるラクトースの添加も検討する。

4. 研究成果

本件では、もめん豆腐様鉄強化食品の開発に成功した。本食品は鉄が従来の豆腐よりも非常に多く含まれていることが明らかとな

た(未発表データ)。また、鉄、銅、マンガ
ン、亜鉛、のミネラルが強化される豆腐様食
品の加工法を確立し、特許公開中である。加
えて、アスコルビン酸を添加した豆腐様鉄強
化食品の加工の可能性を示し、上述の特許内
に掲載している。

豆腐様食品の多様化には、もめん豆腐様食
品ときぬごし豆腐様食品の開発が不可欠と
なる。その際、その作り分けを経験則ではな
く、定量的に科学的証拠を背景に成し遂げる
必要がある。しかしながら、その作り分けを
評価する方法がなかった。そこで、本件では
豆腐の作り分けを評価する方法を確立し、そ
の評価方法を用いてもめん豆腐ときぬごし
豆腐の物理化学的違い、その豆腐の作り分け
の分子形成機構を明らかにした(図1)。この
報告に関しては、国際雑誌論文および穀に学
会において報告した。

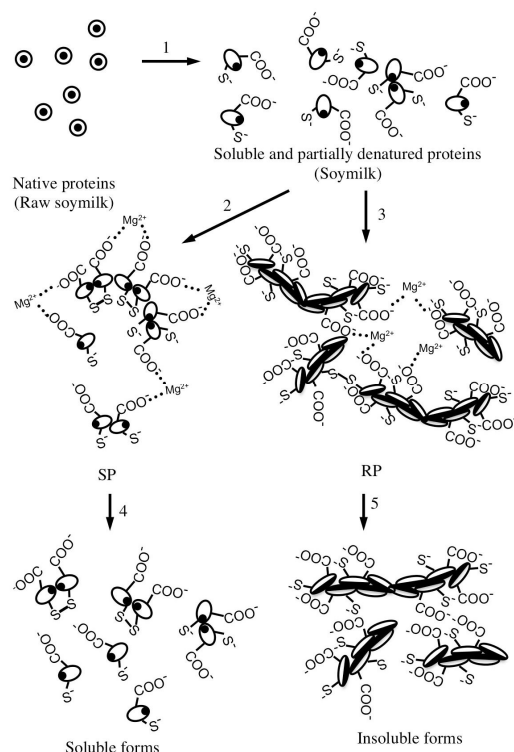


図1 豆腐の作り分けに関する分子形成機
構のモデル図 (Arii Y, Takenaka Y. Biosci.
Biotechnol. Biochem. (2013), 77, 928-933.
より引用)

豆腐中の金属イオンは豆腐の構造保持に
は重要ではなく、豆腐形成におけるタンパ
ク質の会合を開始する因子として重要な役割
を担っていることを明らかにした。また、そ
の会合がタンパク質上のカルボキシ基に結
合した金属イオンを介して行われることを
明らかにした。これらの成果については、国
際雑誌および国内学会において報告した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

〔雑誌論文〕(計 4件)

(1) Initiation of protein association in
tofu formation by metal ions. Arii Y,
Takenaka Y. Biosci. Biotechnol. Biochem.
(2014), in press.

(2) 【総説】豆腐再考：古きを見直し、新し
く利用する. 有井康博. 調理食品と技術
(2013), 19, 155-166.

(3) Magnesium chloride
concentration-dependent formation of
tofu-like precipitate with different
physicochemical properties. Arii Y,
Takenaka Y. Biosci. Biotechnol. Biochem.
(2013), 77, 928-933.

(4) 絹ごし豆腐と木綿豆腐をミクロに考え
る. 有井康博. 生命機能研究会プロシーデ
ィングス (2012)、第3巻、pp. 15

〔学会発表〕(計 9件)

(1) 金属イオンは豆腐形成におけるタンパ
ク質会合開始因子である
有井康博、岡村麻衣、鳥居絵美、西澤果穂、
竹中康之
日本農芸化学化学会 2014 年度大会 (東京)
2014 年 3 月

(2) 凝固剤金属種が豆腐形成に及ぼす影響
について
有井康博
第4回生命機能研究会 (滋賀) 2013 年 9 月
異なる金属イオン種が豆腐様沈殿形成に及
ぼす影響
有井康博、岡村麻衣、鳥居絵美、安田春菜、
村上亜利紗、竹中康之
日本食品科学工学会第 60 回記念大会 (東京)
2013 年 8 月

(3) 世界で起こっている問題に私ができるこ
と 食料栄養問題に食品科学でアプローチ
ー

有井康博
栄養科学研究所第 1 回セミナー (西宮) 2013
年 7 月

(4) 豆腐形成における凝固剤濃度の沈殿に与
える影響と凝固剤種の違い
有井康博、鳥居絵美、岡村麻衣、竹中康之
日本農芸化学会 2013 年度大会 (東北) 2013
年 3 月

(5) トランス脂肪酸が遺伝子発現制御に及ぼ
す影響

高嶋暁子、中村豊一、VO Nguyet Thi Anh、
有井康博、井澤真吾
日本農芸化学会 2013 年度大会（東北）2013
年 3 月

武庫川女子大学・生活環境学部・准教授

研究者番号：60360484

(6)鉄分欠乏性貧血の改善を目指した鉄分強
化豆腐の開発ー食感の比較に向けてー

中谷友香、部家弥生、岡村麻衣、鳥居絵美、
有井康博

第 3 回生命機能研究会（有馬）2012 年 9 月

(7)鉄分欠乏性貧血の改善を目指した鉄分強
化豆腐の開発ー鉄分強化の確認に向けてー

一幡美佳、三木理沙、岡村麻衣、鳥居絵美、
有井康博

第 3 回生命機能研究会（有馬）2012 年 9 月

(8)絹ごし豆腐と木綿豆腐をミクロに考える

有井康博

第 3 回生命機能研究会（有馬）2012 年 9 月

(9)豆腐様沈殿の凝固剤濃度依存的変化とそ
の沈殿の特徴

有井康博、岡村麻衣、鳥居絵美、村井めぐ
み、村上亜利紗、竹中康之

第 59 回日本食品科学工学会大会（北海道）
2012 年 8 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：豆腐の製造方法およびそれ得られた
豆腐

発明者：有井康博

権利者：学校法人武庫川学院

種類：特許権

番号：特開 2013-051906

出願年月日：2011 年 9 月 2 日

国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

(1)研究室ホームページ

http://www.mukogawa-u.ac.jp/~arii/Arii_Lab./Welcome/Welcome.html

(2)研究室 Facebook

<https://www.facebook.com/HooponoponofromAriiLab>

6. 研究組織

(1)研究代表者

有井 康博 (ARII, Yasuhiro)