

麹菌発酵大豆食品(イムバランス(R))の機能性解析 ～抗酸化成分とアレルギーについて～

著者名	山田 千佳子, 小瀬木 一真, 内藤 宙大, 鈴木 美沙, 和泉 秀彦
雑誌名	名古屋栄養科学雑誌
号	2
ページ	59-67
発行年	2016-12-25
URL	http://doi.org/10.15073/00001256



《原著》

麹菌発酵大豆食品（イムバランス[®]）の機能性解析 ～抗酸化成分とアレルギーについて～

山田千佳子^{1,2} 小瀬木一真³ 内藤宙大¹ 鈴木美沙² 和泉秀彦^{1,2}

要旨

大豆を麹菌で発酵させたサプリメントの「イムバランス[®]」は、免疫調節機能を有する。本研究では、この「イムバランス[®]」のタンパク質とポリフェノールについて原料である脱脂大豆と比較し、機能性を評価した。

タンパク質解析の結果、発酵大豆中の貯蔵タンパク質は分解されて低分子化し、これに伴って大豆アレルギーも減少していた。これらの結果から、タンパク質の低分子化は消化性の向上に、アレルギーの減少は安全性の向上につながると考えられた。

また、ポリフェノール解析の結果、発酵大豆では抗酸化物質、ポリフェノール量ともに顕著に増加しており、さらに発酵により配糖体が減少しアグリコンが増加していた。これらの結果から、脱脂大豆に含まれるイソフラボン配糖体は、麹菌が産生するグルコシダーゼにより糖が分解されてアグリコンとなり、抗酸化活性が上昇するため、大豆を発酵させると生体調節機能が向上すると考えられた。

今後は免疫調節機能に主に関与している成分の同定や、成分間の相互作用を解析する必要があると考えられる。

キーワード：大豆、発酵、麹菌、タンパク質、イソフラボン

はじめに

食品の機能は本来、「栄養機能」（一次機能）と「感覚機能」（二次機能）の2つの機能と考えられてきたが、近年、生体リズムの調節、生体防御、疾病予防など体内の恒常性を維持する「生体調節機能」（三次機能）が注目されている。この三次機能を有する食品は機能性食品と呼ばれている。機能性食品は、分泌系、神経系、循環系、消化系など生体の様々な機能に作用するが、免疫系にも関与し、その関与成分が次々と明らかになっている。また、2015年4月より消費者庁に届出することで、それらの機能を表示

できる「機能性表示食品」の販売が可能となり、関心が高まっている¹⁾。

近年、全人口の20～30%が何らかのアレルギーを持つといわれ、その数は年々増加の一途をたどっている。抗原もダニ、花粉、食物など多岐にわたり、重症患者も増加している²⁾。したがって、アレルギー症状を抑制し、免疫機能を正常に保つ機能性食品の必要性は高まっているといえる。その機能性食品の開発において、発酵は有効な手段の一つである。日本では古来より発酵の技術を利用して様々な加工品を生産してきた。原料の食品に含まれる成分が細菌の産生する酵素によって様々な変化し、その中で生

1 名古屋学芸大学大学院栄養科学研究科

2 名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科

3 飯田女子短期大学家政学科

体の機能を調節する働きのある成分が新たに産生される可能性は十分に考えられる。

「イムバランス[®]」とはニチモウバイオティクス株式会社が開発した新しい大豆の発酵食品で、近年、免疫バランスを整え体質改善を期待できる成分として注目されているサプリメントである。このサプリメントは、日本の伝統的な麹菌発酵技術に基づき、味噌用麹菌(*Aspergillus oryzae*)を用いてGMO(遺伝子組み換え)ではない脱脂大豆を独自の発酵技術により発酵させたものである。また、麹菌発酵の過程で大豆由来の植物性乳酸菌(*Enterococcus faecium* および *Pediococcus parvulus*)も増殖することが明らかとなっている。したがって、原料の大豆が持つ大豆オリゴ糖、食物繊維といったプレバイオティクスに加えて、大豆由来の乳酸菌(プロバイオティクス)や麹菌による発酵の過程で大豆成分から新たに産生した多糖類やペプチド(バイオジェニックス)が含まれている。それら3つの成分の相乗効果により原料の大豆にはない免疫調節効果をもたらしていると考えられる³⁾。これまでに、「イムバランス[®]」の抗アレルギー食品としての有効性について様々な試験が試みられており、アトピー性皮膚炎⁴⁾、⁵⁾、ピーナッツアレルギー⁶⁾、さらには花粉症⁷⁾に対しても有効であることが明らかとなっている。

そこで本研究では、「イムバランス[®]」のさらなる抗アレルギー効果を検証するための第一段階として、「イムバランス[®]」粉末とその原料である脱脂大豆粉末中の各種成分について比較した。栄養成分であるタンパク質量と組成およびアレルギーの有無、機能性成分である抗酸化物質質量およびポリフェノール量と組成について解析し、大豆の発酵過程における機能性の変化について考察した。

実験方法

(1) 材料及び試薬

ニチモウバイオティクス株式会社から提供された麹菌発酵培養物「イムバランス[®]」を実験に用いた。比較対象として、原料である脱脂大豆粉末についても解析を行った。

アレルギーの検出には、近畿大学農学部森山教授から分与されたモノクローナル抗体である anti - *Gly m* Bd 30K (mouse IgG) および anti - *Gly m* Bd 28K (mouse IgG) を一次抗体として用いた。

HPLC 解析でポリフェノールを同定するために、イソフラボン標準品(定性用)を購入した。ダイジン(Daidzin)、グリシチン(Glycitin)、ゲニスチン(Genistin)、ダイゼイン(Daidzein)をフジッコ株式会社から、グリシテイン(Genistein)、ゲニステイン(Genistein)、マロニルダイジン(6"-o-Malonyldaidzin)、マロニルグリシチン(6"-o-Malonylglycitin)、マロニルゲニスチン(6"-o-Malonylgenistin)を和光株式会社から購入した。

(2) 大豆タンパク質量の測定

発酵大豆及び原料の脱脂大豆に含まれるタンパク質量の測定は、改良 Kjeldahl 法と Lowry 法⁸⁾を用いて行った。Lowry 法でタンパク質量を測定する際には、以下の手順で抽出した。

まず、0.5M Tris-HCl (pH6.8) 溶液に終濃度が4%となるように SDS を、5%となるように 2-Mercaptoethanol を添加し、タンパク質抽出溶液を作製した。次に脱脂大豆粉末または発酵大豆粉末 1g に 10ml の抽出溶液を加えてタンパク質を抽出した。それぞれの試料について抽出は3回行い、遠心分離後の上清を合わせて解析に用いた。さらに各試料に対して TCA 沈殿によりタンパク質を沈殿させ、その後、上清を除くことで分析の際に妨害物質となる SDS および 2-Mercaptoethanol を除去した。残ったタンパク質の沈殿には、除去した抽出溶液と等量の PBS を加えて再溶解させ、この溶液中のタンパク質量を測定した。

なお、タンパク質量を求めるときの検量線には BSA を用い、BSA 濃度が 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 (mg/ml) となるように調製した。検量線から求めたタンパク質量 (mg/ml) から脱脂大豆と発酵大豆 100g 中のタンパク質量を求めた。

(3) 大豆タンパク質組成の解析及びアレルギーの検出

(1) で作製した脱脂大豆と発酵大豆のタンパ

ク質抽出溶液について、タンパク質組成を SDS-PAGE で解析した。用いた分離ゲルのアクリルアミド濃度は15% (w/v) とし、SDS-PAGE 後のゲルは CBB (Coomassie Brilliant Blue) で染色した。

さらに、大豆のアレルゲンである *Gly m Bd* 30K、*Gly m Bd* 28K を特異抗体を用いたイムノブロットにより検出した。まず、SDS - PAGE 後のゲルに含まれるタンパク質を PVDF 膜 (ATTO) に転写した。その後、*Gly m Bd* 30K の検出には anti - *Gly m Bd* 30K (mouse IgG) を、*Gly m Bd* 28K を検出する場合は anti - *Gly m Bd* 28K (mouse IgG) を一次抗体として用いて反応させた。また、二次抗体には POD - linked anti - mouse IgG (Jackson Immunoresearch) を使用し、PVDF 膜の発色には Ez West Blue (ATTO) を用いた。

(4) 大豆抗酸化物質質量および総ポリフェノール量の測定

まず、脱脂大豆粉末または発酵大豆粉末 1 g に70% メタノールを10ml 加え、抗酸化物質を抽出した。それぞれの試料について抽出は3回行い、遠心分離後の上清を合わせて解析に用いた。この抗酸化物質抽出溶液について抗酸化物質質量、ポリフェノール量、ポリフェノール組成の解析を行った。

抗酸化物質質量は DPPH 法により測定した。抗酸化物質抽出溶液300 μ l にトリス緩衝溶液450 μ l とエタノールに溶解した DPPH 溶液1.5ml を加えて暗下で25 $^{\circ}$ C、20分間反応させた。その後、エタノール10ml を加えて攪拌し、吸光度(517nm) を測定した。なお、抗酸化物質質量を求める際の検量線には Trolox を用い、100ml あたり 0、20、40、60、80、100 μ mol の Trolox が含まれるように調製した。検量線から求めた抗酸化物質濃度 (μ mol/ml) から、脱脂大豆と発酵大豆 1 g あたりの抗酸化物質質量を求めた。

また、総ポリフェノール量はフォーリン・チオカルト法により測定を行った。大豆の抗酸化物質抽出溶液 2 ml に、2 倍に希釈したフェノール試薬を 2 ml 加えた。3 分後に10% Na₂CO₃ 水溶液を 2 ml 加えて60分間反応させ、吸光度 (750nm) を測定した。なお、総ポリフェノール

量を求める際の検量線にはクロロゲン酸を用い、1 ml あたり 0、0.011、0.033、0.055、0.077、0.110 μ mol のクロロゲン酸が含まれるように調製した。検量線から求めた総ポリフェノール濃度 (μ mol/ml) から、脱脂大豆と発酵大豆の 1 g あたりの総ポリフェノール量を求めた。

(5) HPLCによる大豆ポリフェノール組成の解析

(4) で作製した抗酸化物質抽出溶液中のイソフラボンを HPLC で解析し、発酵による変化について調べた。まず、各イソフラボン標準品を100% メタノールに溶解し、濃度が18mg/L となるように調製したものを以下の条件で高速液体クロマトグラフ (HPLC) にかけた。次に、大豆の抗酸化物質抽出溶液を10 μ l ずつ以下の条件で HPLC にかけた。

測定条件

HPLC : LC-20AD (島津製作所)

カラム : Shim-pack VP-ODS (250mm \times 4.6mm) (島津製作所)

解析ソフト : LabSdutiond (島津製作所)

移動相 : A アセトニトリル / MilliQ 水混液 (15 : 85v/v)

B アセトニトリル / MilliQ 水混液 (35 : 65v/v)

濃度勾配 : A から B までの直線濃度勾配を50分間行う

流速 : 1.0ml/min

カラム温度 : 35 $^{\circ}$ C

測定波長 : 254nm

標準品と大豆の抗酸化物質抽出溶液の分析結果を比較してイソフラボンを同定し、脱脂大豆と発酵大豆の分析結果を比較することにより発酵による成分変化を明らかにした。

(6) 統計処理

脱脂大豆と発酵大豆の含有タンパク質量、抗酸化物質質量およびポリフェノール量の測定値は、平均値 \pm 標準偏差で示した。また平均値の比較には、対応のない t 検定を用いた。

結 果

1. 発酵による大豆タンパク質およびアレルゲンの変化

大豆は種子に多量のタンパク質を貯蔵しており、発酵の際には、添加された麹菌により貯蔵されていたタンパク質が積極的に分解され、アミノ酸や窒素となる。そこで、発酵大豆中の貯蔵タンパク質の変化を明らかにするために、発酵大豆とその原料である脱脂大豆中のタンパク質量を測定し、その結果を比較した。測定には、アミノ酸レベルの分解物まで検出できる Kjeldahl 法と、ペプチドレベルの分解物まで検出できる Lowry 法の2つの方法を用いた。その結果を図1に示した。脱脂大豆のタンパク質量は、Kjeldahl 法では47.1g/100g、Lowry 法では45.9g/100g となり、ほぼ等量であった。一方、発酵大豆のタンパク質量は、Kjeldahl 法では54.8g/100g、Lowry 法では31.6g/100g となり、Lowry 法で測定した場合に顕著な減少が認められた。このことから、脱脂大豆のタンパク質は未分解のまま存在しているのに対して、発酵大豆のタンパク質の多くは発酵によって分解さ

れ、アミノ酸レベルにまで低分子化されているため、Lowry 法では検出できなかったと考えられた。また、Kjeldahl 法で測定した総タンパク質量を比較すると、脱脂大豆より発酵大豆の方が高くなった。これは発酵により大豆中の炭水化物が麹菌の栄養分となり、消費されたため相対的にタンパク質量が増加したと考えられた。

実際にタンパク質が低分子化していることを確認するため、脱脂大豆および発酵大豆からタンパク質を抽出し、その溶液を用いて SDS-PAGE 法でタンパク質の組成を調べた。泳動後のゲルは CBB で染色し、その結果を図2に示した。発酵大豆では、脱脂大豆で認められた30 kDa から97 kDa 付近のバンドが消失しており、20kDa 以下のバンドもほとんど認められなかった。したがって、発酵大豆では高分子のタンパク質が分解され、その分解物は CBB で検出できないほど低分子にまで分解されたと考えられた。

次に、発酵による大豆アレルゲンの変化を調べるために、大豆の主要なアレルゲンである *Glee m* Bd 30K、*Gly m* Bd 28K について、特異抗体を用いたイムノブロットを行った

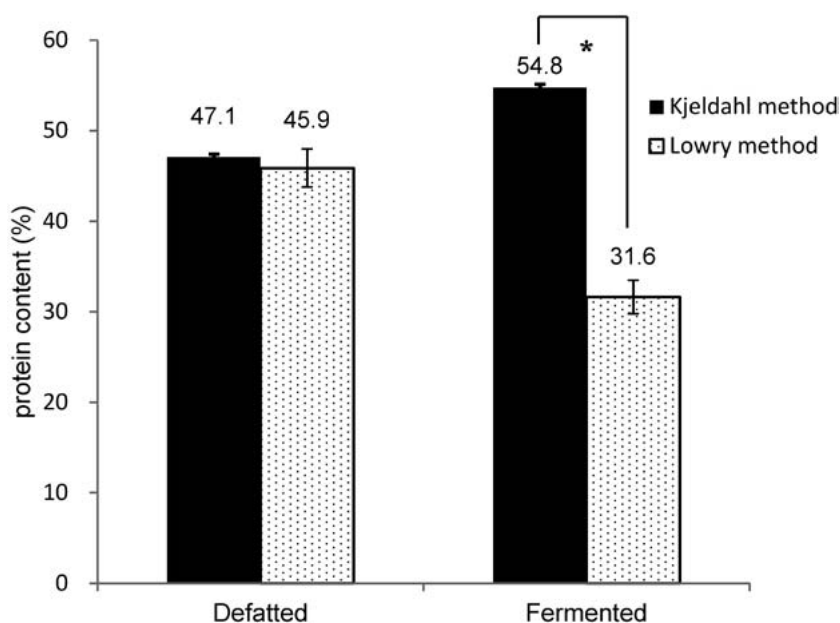


図1 脱脂大豆と発酵大豆の含有タンパク質量の比較

脱脂大豆と発酵大豆の粉末を用いて Kjeldahl 法でタンパク質量を測定した。また、SDS と 2-Mercaptoethanol を含む溶液で各資料からタンパク質を抽出し、Lowry 法でタンパク質量を測定した。図中のバーは標準偏差を示す (n=3)
*は $p < 0.05$ で群間に有意差があることを示す

(図2)。Gly m Bd 30K、Gly m Bd 28K の両アレルゲンともに、脱脂大豆では検出されたが発酵大豆では検出されなかった。このことから、発酵大豆では発酵により他のタンパク質と同様にアレルゲンも分解されており、アレルゲン性が低下したことが明らかとなった。

2. 発酵による大豆機能性成分の変化

大豆に含まれる機能性成分であるイソフラボンなどのポリフェノールは、抗酸化作用を有し、大豆中ではそのほとんどが配糖体の状態で存在する。発酵により麹菌がβ-グルコシダーゼを産生すると、ポリフェノール配糖体は分解され、アグリコンとなる。これに伴って溶解度や抗酸化活性が変化し、最終的な機能性に大きく影響する可能性が考えられる。そこで、発酵大豆と脱脂大豆に含まれる抗酸化物質量を DPPH

法で、総ポリフェノール量をフォーリン・チオカルト法で測定し、比較した。さらに、HPLCを用いて機能性成分の組成変化についても解析を行った。その結果を図3および図4に示した。図3の結果より、脱脂大豆と比較して発酵大豆では抗酸化物質、ポリフェノール量ともに顕著な増加が認められた。したがって、抗酸化物質量の増加はそのほとんどがポリフェノールの増加によるものと考えられた。さらに、図4に示した機能性成分の組成変化の解析結果から、脱脂大豆で認められたピークパターンが発酵大豆では変化しており、大豆を発酵させることによりポリフェノール類の組成が変化したことが明らかとなった。

そこで変化した成分を同定するために大豆イソフラボンとその配糖体の標準品についても分析を行い、試料溶液と比較した。その結果、発酵大豆でピークの減少が認められたのは配糖体であるダイジン、グリシチン、ゲニスチン、マロニルダイジン、マロニルグリシチン、マロニルゲニスチンの6種類であり、逆にピークが増加したのはアグリコンであるダイゼイン、グリシチン、ゲニスチンの3種類であった。標準品の混合溶液と大豆抽出溶液ではイソフラボン以外の成分組成が異なるため、溶出時間が30分以降のピークについては、標準品と比較して大豆抽出成分の方が遅れて検出された。この溶出時間のずれについては、大豆抽出溶液に標準品を添加して分析を行い、別成分ではなく溶出時間の遅れであることを確認した（データ省略）。したがって、大豆を発酵させることにより配糖体が分解されてアグリコンが増加することが明らかとなった。

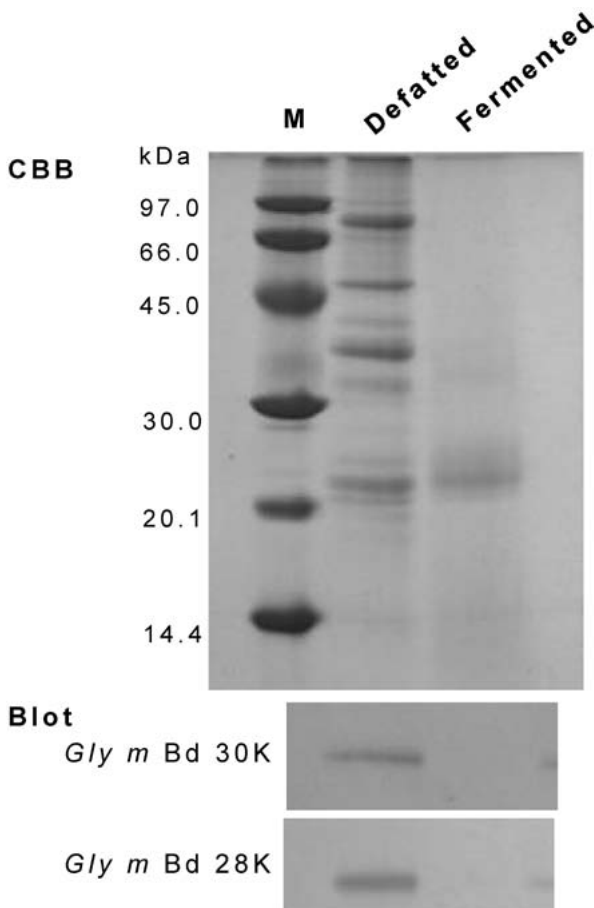


図2 脱脂大豆と発酵大豆のタンパク質組成およびアレルゲン量の比較

脱脂大豆と発酵大豆からタンパク質を抽出し、SDS-PAGEでタンパク質を分離後、CBBでゲルを染色した。また特異抗体を用いたイムノブロット法により大豆アレルゲンを検出した。

考 察

発酵大豆サプリメント「イムバランス®」の食品としての機能性を明らかにするために、タンパク質量と組成、アレルゲンの存在状態、および抗酸化物質の量と組成について、原料である脱脂大豆粉末と比較した。脱脂大豆粉末に麹菌を添加し、発酵させることにより、大豆貯蔵タンパク質が分解されて低分子化し、これに伴っ

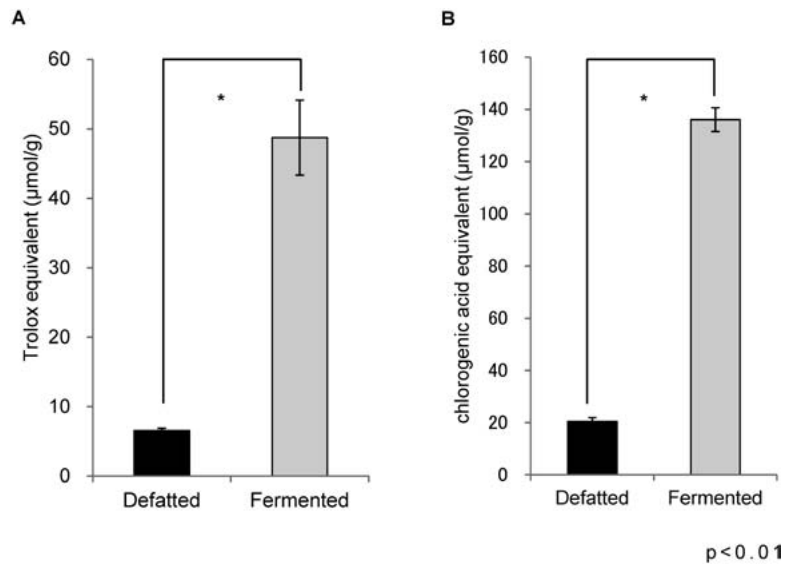


図3 脱脂大豆と発酵大豆の抗酸化物質およびポリフェノール量の比較

A: 抗酸化物質量 B: ポリフェノール量

脱脂大豆と発酵大豆から70%メタノールでポリフェノールを含む抗酸化物質を抽出し、抗酸化物質量とポリフェノール量を測定した。図中のバーは標準偏差を示す (n=3~4)

*は p < 0.01で群間に有意差があることを示す

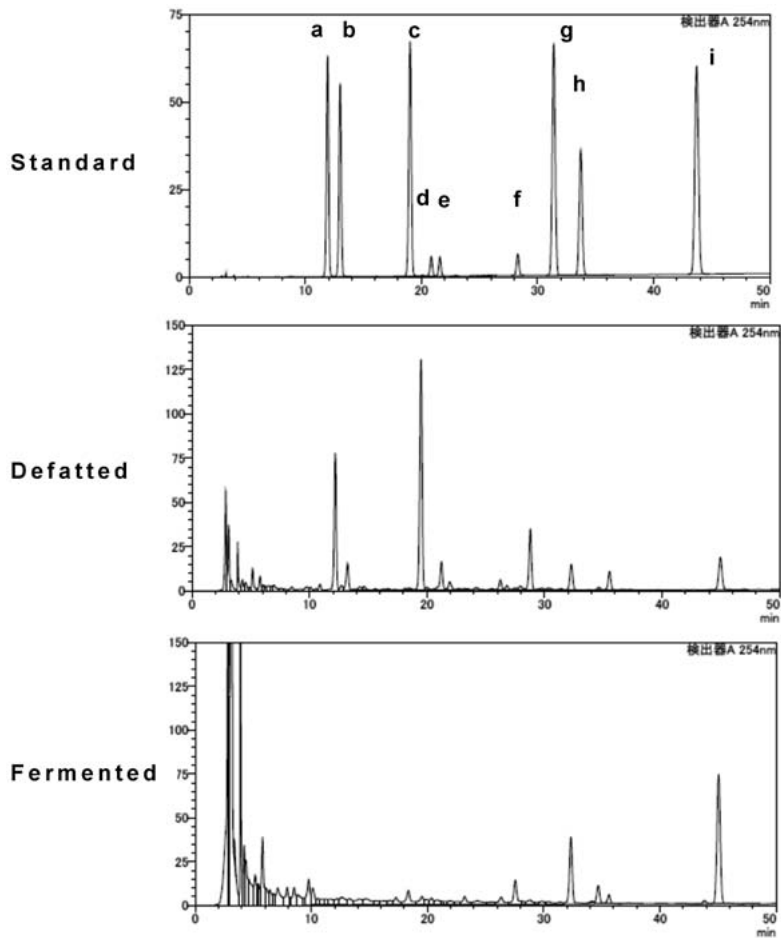


図4 脱脂大豆と発酵大豆の抗酸化成分の組成解析

a: Daidzin, b: Glycitin, c: Genistin, d: Malonyldaidzin, e: Malonylglycitin, f: Malonylgenistin, g: Daidzein, h: Glycitein, i: Genistein

脱脂大豆と発酵大豆から抗酸化物質を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で成分を分離後、検出した。また標準品を同条件で分析し、比較した。

て大豆アレルゲンも減少した(図1、2)。これらの結果から、タンパク質の低分子化は消化性の向上に、アレルゲンの減少は安全性の向上につながると考えられる。大豆はアレルギー表示が推奨されている食物アレルギー原因食品の一つであるが、発酵大豆中のアレルゲンは麹菌の産生するプロテアーゼによってほとんど検出できないほどに分解されていた(図2)。したがって、健常者はもちろん、大豆タンパク質に対するIgE抗体を持ってはいるが症状はない、もしくはごく弱い症状の人は摂取可能ではないかと考えられる。

また、脱脂大豆と比較して発酵大豆では抗酸化物質、ポリフェノール量ともに顕著に増加していた。さらに機能性成分の組成変化については、発酵により配糖体が分解されてアグリコンが増加していたことが明らかとなった。これらの結果から、脱脂大豆に含まれるイソフラボン配糖体は、麹菌が産生する β -グルコシダーゼによって分解されてアグリコンとなり、抗酸化活性が上昇するため、見かけの抗酸化物質が増加することが示唆された。大豆イソフラボンは配糖体と比較してアグリコンの方が吸収性が良く、機能性が高いと言われている⁹⁾⁻¹¹⁾ことから、大豆を発酵させると生体調節機能が向上すると考えられる。

発酵大豆サプリメントである「イムバランス®」は、免疫調節機能を持ち、これまでにアトピー性皮膚炎、食物アレルギーや花粉症などのアレルギー症状の改善に有効であることが報告されている⁴⁾⁻⁷⁾。その作用は乳酸菌よりも強く⁶⁾、これには麹菌発酵で新たに産生された物質である麹多糖が関与していると考えられる¹²⁾。麹菌発酵により大豆成分から新たに生成された多糖に抗アレルギー作用が存在することが、同じ大豆の麹菌発酵食品である醤油で確認されている^{13), 14)}。また、大豆タンパク質消化物中に免疫調節ペプチドが存在することも明らかとなっている¹⁵⁾。このように、「イムバランス®」では麹菌発酵により乳酸菌が増加しており、また原料の大豆には大豆オリゴ糖、食物繊維が豊富に含まれ、さらには新たに麹多糖、ポリペプチドやアミノ酸などが産生されている。このプ

ロバイオティクス、プレバイオティクス、およびバイオジェニックスの3つの作用の相乗効果でアレルギー疾患の予防及び治療に効果を発揮していると考えられる。今後は、「イムバランス®」に含まれる成分がどのように相互作用して免疫調節機能を発揮しているのかを解明できれば、より効果的な利用につながると考えられる。我々はこれまでに食物アレルギーの治療法の一つである免疫療法に着目し、治療に用いる原因食品の投与方法¹⁶⁾や、同時に投与することで治療効果を上げる食品成分について実験動物を用いた解析を行っている。これらの手法を用いて、「イムバランス®」の経口免疫療法への応用について検討したいと考えている。

まとめ

大豆を麹菌で発酵させたサプリメントである「イムバランス®」の機能性について、含有タンパク質およびポリフェノールを原料である脱脂大豆と比較することにより評価した。

その結果、発酵大豆中のタンパク質は分解されて低分子化しており、消化性が向上したと考えられた。これに伴って大豆アレルゲンも減少がみられ、食品としての安全性が高まったと考えられた。

さらに、発酵大豆中のポリフェノールは配糖体が減少し、これに伴ってアグリコンが増加しており、そのため抗酸化活性の上昇がみられた。したがって、機能性が向上したと考えられた。

今後は機能性に関与する成分の同定や成分間の相互作用について解析を進めることで、より効果的な利用につながると考えられる。

文 献

- 1) 中尾 祐輔. 大きく変わる食品表示 食品の新たな表示制度について. 食品衛生学雑誌 2015; 56: 201-205
- 2) 斎藤 博久. アレルギー疾患発症のメカニズムとその予防. 化学と生物 2010; 48: 326-330
- 3) 潘 偉軍. 新しい発酵食品(イムバランス)における

-
- 食物アレルギー反応の抑制効果. アレルギーの臨床 2007 ; **27** : 147-152
- 4) Matsuda A, Tanaka A, Pan W, *et al.* Supplementation of the fermented soy product ImmuBalance™ effectively reduces itching behavior of atopic NC/Tnd mice. *J Dermatol Sci.* 2012; **67**: 130-139
- 5) 田島 巖・中川 朋子・杉浦 至郎他. 麹菌発酵大豆培養物(イムバランス)が小児アトピー性皮膚炎に与える影響. アレルギーの臨床 2016 ; **36** : 355-359
- 6) Zhang T, Pan W, Takebe M, *et al.* Therapeutic effects of a fermented soy product on peanut hypersensitivity is associated with modulation of T-helper type 1 and T-helper type 2 responses. *Clin Exp Allergy.* 2008; **38**: 1808-1818
- 7) Otsuka Y, Pan W. Effects of the novel symbiotic ImmuBalance as a food supplement in relieving clinical symptoms of Japanese cedar pollinosis: A pilot study. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007; **34**: S73-S75
- 8) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; **193**: 265-275
- 9) Izumi T, Piskula MK, Osawa S, *et al.* Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J Nutr.* 2000; **130**: 1695-1699
- 10) Setchell K D, Brown N M, Desai P B, *et al.* Bioavailability, disposition, and doseresponse effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes. *J. Nutr.* 2003; **133**: 1027-1035
- 11) Cassidy A, Brown J E, Hawdon A, *et al.* Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J. Nutr.* 2006; **136**: 45-51
- 12) 家森幸男・村本光二・戸田登志也他. 大豆の栄養と機能性. (株)シーエムシー出版 2014 : 第5章 ; p.256-264
- 13) Kobayashi M, Matsushita H, Yoshida K, *et al.* In vitro and in vivo anti-allergic activity of soy sauce. *Int J Mol Med.* 2004; **14**: 879-884
- 14) Kobayashi M, Matsushita H, Shioya I, *et al.* Quality of life improvement with soy sauce ingredients, Shoyu polysaccharides, in perennial allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical study. *Int J Mol Med.* 2004; **14**: 885-889
- 15) Egusa S, Otani H, Characterization of a Cellular Immunostimulating Peptide from a Soybean Protein Fraction Digested with Peptidase R. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2009; **55**: 428-433
- 16) Yamada C, Ozeki K, Matsuda T, *et al.* Development of oral immunotherapy model using B10.A mice and egg white lysozyme. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2014; **60**: 363-366

Abstract

**Analyses of functional ingredient in ImmuBalance® fermented soybean
~Antioxidants and allergens~**

**Chikako Yamada^{1,2}, Kazumasa Ozeki³, Michihiro Naito¹,
Misa Suzuki² and Hidehiko Izumi^{1,2}**

ImmuBalance® is a soybean powder supplement fermented by Koji and has immunomodulatory function. In this study, we have analyzed proteins and polyphenols as a supplement and compared them with those in defatted soybean powder. The defatted soybean powder is used as an ingredient in ImmuBalance® and assessed its functional activity.

Analysis of the proteins revealed that the allergens in fermented soybean decreased significantly in association with breaking of the storage proteins down into smaller molecules. Therefore, degradation of storage proteins may mean an increase of digestibility, and decreasing of allergens can be regarded as an increase of its safety.

On the other hand, Analysis of polyphenols revealed that the quantities of antioxidants and polyphenols in fermented soybean increased significantly and the isoflavone glycosides decreased. As the result, the isoflavone aglycones increased by fermentation. Therefore, it was suggested that the functionality of soybean increased by fermentation. This is because the isoflavone glycosides were broken down into isoflavone aglycones by glucosidase produced by Koji increasing the antioxidant activity.

The identification of major components involved in the immunomodulatory function of ImmuBalance® and the analysis of their interaction were required from now to study.

Keywords: Soybean, Fermentation, Koji, Protein, Isoflavone

1 Graduate School of Nutritional Sciences, Nagoya University of Arts and Sciences
2 School of Nutritional Sciences, Nagoya University of Arts and Sciences
3 Iida Women's Junior College