

## 茶豆の香りと香り米の香り —その生成機構から—

(独) 国際農林水産業研究センター 利用加工領域 主任研究員

吉 橋 忠

はじめに

エダマメの中でも、特に茶豆は、地域特産物として、以前から生産されている。例えば、鶴岡のだだちゃ豆、新潟の黒埼茶豆などが挙げられよう。また、同様の茶豆風味を持つエダマメ用大豆品種も育種、品種登録されており、湯上がり娘・福成（滝姫）・秘伝などの品種を、筆者がスーパーマーケットで目にすることも多くなった。これらの茶豆は、その独特の香りと、味によって、高品質エダマメとされており、市場による評価も高い。本稿では、この茶豆の独特の香りの成分である2-アセチル-1-ピロリン（以下、「2AP」とする）の生成機構に関して述べたい。

## 1. 茶豆の香り成分

茶豆の独特の香り成分として、図1に挙げる構造を持つ、2APという物質が含まれており、この物質が茶豆において多く蓄積していることが報告されている。

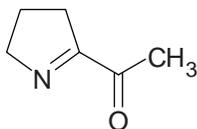


図1 2-アセチル-1-ピロリンの構造式

2APは、食品の焙焼香として知られている物質で、1982年に、香り米の香り成分として報告されたことで注目された。2AP単品での香りは、「ポップコーン様の香り」と表現される。また、「ネズミのような臭い」とも表現されることもあり、確かにネズミの尿の臭いに似ているともいえる。2APは多くの加工食品に含まれている。特に、加熱（焼く・煮る）に伴って生成するとされており、パンやポップコーンなどの食品の香気成分として重要である。生物では、香り米での報告が最も古いですが、東南アジアで広く香草として用いられるパンダン (*Pandan*; *Pandanus amaryllifolius*) の葉や、タイで“新米の花” (*Dok Khao Mai*; *Vallaris glabra*) と呼ばれる花などの植物、ココア発酵槽に付着した微生物や、ワインの異臭を発生する乳酸菌、泡盛に使用される麴菌などでも生成することが報告されており、生物界において、多くの種が生成機構を持っていることが示唆されている。また、植物の場合では、単子葉・双子葉植物の範囲を超えた分布であることが興味深い。2APは、官能的な閾値が極めて低いことが特徴として

あげられる。つまり、極微量の2APでも、我々人間は香りを感じることができる。実際のところ、機器分析よりも、我々の鼻の方が高感度な場合が多いと思われる。人間での閾値は0.1ppb程度とされており、これは、10tトラック100台分の空気に含まれる0.1gの2APを検出できることにあたる。このことは、香りがするとされる試料に含まれる2AP含量が少ないことも示唆しており、研究を行う上では、その量を如何に正確に測定できるかが大きな要因となる。

## 2. 茶豆と香り米

茶豆も、香り米も2APを生成することのできる品種群であることは前述のとおりである。これらの2つの作物において、香りのしない品種が実際には主流となっている。エダマメにおいても、茶豆以外の普通の品種が多く栽培されているし、エダマメ用途ではない、大豆としての品種の方が圧倒的な生産量がある。コメに関しても同じで、世界的に見ても、香り米の生産量は通常品種に比べ少ない。しかし、コメでは、香り米という種類は高付加価値米として、国際市場でメジャーであり、FAO（国連食糧農業機関）の統計によれば、国際取引の実に10%が香り米とされている。実は、国際的には日本が誇るコシヒカリよりも、香り米の方が一般的であることに留意するべきであろう。また、これらの香り米は、通常のコメの2～3倍の値段で取引されるため、多くの研究者の研究対象となっ

てきた。そのため、2APの生成に関しては、香り米での研究が先行しており、筆者自身も、タイとの共同研究で、香り米の研究を行ってきた。

## 3. 香り米における2AP研究

香り米での2AP検出の報告は、前述のとおり、1982年であり、その後、2APを中心とした研究が進んでいる。2APは香り米において数十から数百ppbで検出される。この2APを定量するために、様々な方法が用いられてきたが、現在のところ、筆者が開発したガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）での検出と、安定同位体標識2APを利用した同位体希釈法による定量が精度・感度共に高いと考えている。同様な手法は、ドーピング検査などでも適用されており、その精度の高さを証明している。筆者らは、この定量法を用いて、香り米における2APの生成機構に関して検討を重ねてきた。

研究の初期の段階では、2APは炊飯することによって生成するとされ、加熱中に生成することが一部の研究者により提唱されていた。しかし、炊飯前の香り米精米に2APの香気があることから、これに対する反論もあった。筆者は、炊飯前後の2AP含量を測定することで、炊飯により2APが生成する可能性がないことを示した。また、香り米の苗などを使用し、2AP含量に影響を与える因子を検討した結果、一部のアミノ酸の添加により、含量が増えることが判明した。特に、オルニチン・プロ

リンといったアミノ酸の添加が大きな影響を与えることがわかった。これらのアミノ酸は、2 AP と構造上の類似点が多いこと、同一のアミノ酸代謝分解系にあることなどから、この系から2 AP が生成するのではないか、と推測した。

#### 4. 香り米の香りの地域間差

香り米の香りには、おもしろい特徴がある。筆者らが主に研究対象にしているタイの香り米品種カオドマリ105では、タイ東北部の一部の地域で生産されるコメの香りが非常に強く、珍重される。この地域はタイ国内でも平均所得が低い地域であり、灌漑設備もなく（というか、近くに灌漑に利用できる河川がない）、降雨頼りの天水農業を行っている。カオドマリ105は、この環境に応じてか、感光性があり、1年に2～3期作可能な東南アジアでは珍しく、1年1作のみの品種である。しかし、品質という面でこの品種に適う品種はなく、タイ東北部における香り米は専らカオドマリ105ということになっている。他地域に比べ、生産性が低いという点は、タイ国内でも大きな問題とされている。このた

め、生産性が高く、しかも高品質である品種の開発、あるいは、生産性と品質の両立を図ることが可能な生産技術の開発が、強く求められている。

実際、この地域で生産される香り米の2 AP 含量を比較したところ、図2に示されるように、確かに高品質米生産地域で、2 AP 含量が高いという結果が得られた。高品質米生産地域の特徴は、乾季における降雨がほぼなく、砂質土壌で、土壌の水分保持力が少ないことが挙げられた。同地域においても、灌漑を行った場合は2 AP 含量が低下したことなどから、開花後の乳熟期における乾燥ストレスがコメの2 AP 含量に大きな影響を与えることが示唆された。さらに、乾燥ストレスをポット試験で与えた実験を行った結果、2 AP 含量が増加したことから、この仮説が証明された。しかし、乳熟期における乾燥ストレスは、空籾を発生させる要因であり、収量の低下を招

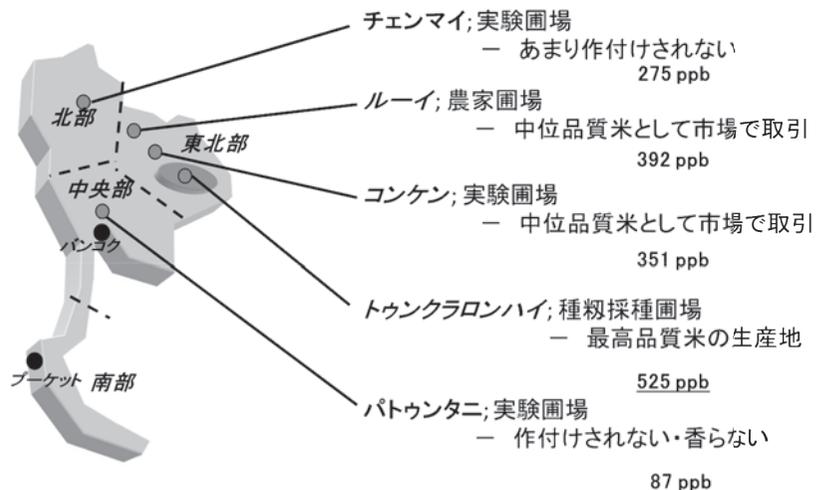


図2 タイにおけるカオドマリ105の産地による2 AP 含量の違い

くことから、実際に乾燥ストレスを与える際には、収量と品質のトレードオフの関係の中で、農家への最適解を求める、という検討が必要になることが明らかになった。

#### 5. 香り米の香り制御遺伝子 *Os2AP* または *OsBADH2*

このような検討を行っている最中、タイ・カセサート大学のグループと、オーストラリアのグループから、香り米の香り制御遺伝子の特定が報告された。それぞれのグループは同じ遺伝子を制御遺伝子として報告しており、前者は *Os2AP*、後者は *OsBADH2* と命名している。筆者は、この遺伝子の機能と、発見の順番から見て、*Os2AP* とするタイのグループを推したい。この遺伝子の機能は、実は発見当時は不明で、香り米品種では、必ずこの遺伝子に変異があり、破壊されている、ということから、この遺伝子こそが 2 AP 生成の制御をしているものとされた。

筆者らは、この報告に興味したが、従来推定していた生成機構と、この遺伝子に相同性の高い遺伝子の機能が、直接的な関連性がない点に特に興味を覚えた。つまり、前述のアミノ酸代謝分解系の直接の関与だけではなく、その周辺の代謝系路が 2 AP 生成に関連していることを示唆していたからである。

この遺伝子の示唆している機能は、ベタインアルデヒド脱水素酵素 (BADH) であった。本酵素は多くの植物の乾燥ストレス耐性に関連のある酵素であり、極めて多

くの研究例があった。この酵素が働くことにより、ベタインという物質が植物体内に蓄積され、乾燥ストレスによる障害に耐性を持つようになる。しかし、イネはこのベタインを蓄積しない植物に分類され、遺伝子の示唆する酵素の活性が 2 AP 生成に関与している可能性は低かった。

しかし、本酵素に相同性のある酵素にアミノアルデヒド脱水素酵素 (以下、「AMADH」とする) という酵素があり、遺伝子配列の相同性は、BADH と同様に高い。本酵素に機能は、完全には明らかになっていないが、植物においてストレス応答物質として知られているポリアミンを分解する経路に関連する酵素である。さらに、このポリアミンは、前述のアミノ酸、オルニチンやプロリンなどからのアミノ酸分解代謝系と関連しており、特定された遺伝子 *Os2AP* は、本酵素ではないか、との仮説を持つに至った。

#### 6. 香り米における 2 AP の生成機構

結局、前述の仮説通りの生成機構であることが明らかとなった。香り米における 2 AP 生成機構は図 3 に挙げる。つまり、*Os2AP* 遺伝子は、ポリアミン代謝系の酵素 AMADH をコードしており、この遺伝子の 8 塩基が欠損することで、AMADH の発現が抑制されることで、図 3 に挙げた中間体、4-アミノプタナールが植物体内に蓄積する。蓄積した中間体は、高濃度では生体にとって毒となることが報告されており、この危険な中間体を 2 AP という

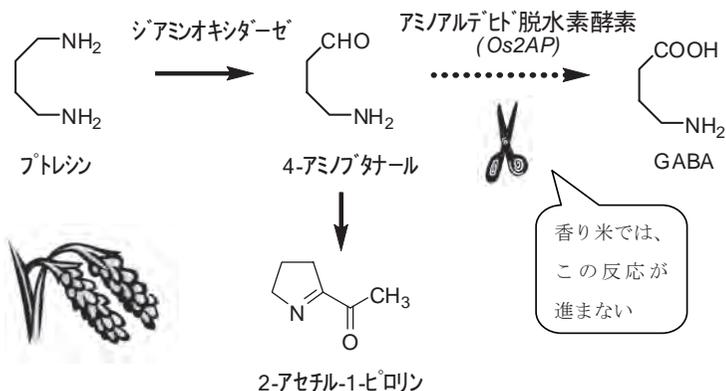


図3 香り米における2AP生成機構

香り米の場合は、国際的には評価が高いが、残念ながら、日本国内での評価は二分されるものがある。いわゆる「古代米」として、香り米は脈々と生産されており、高知県で生産される「ひえり」などが国内の香り米の代表例である。しかし、香り米を食べ慣れていない日本人で、香り米

揮発しやすい香り成分に変換することで解毒している。この解毒の過程で生成する2APを人間は「香りのする品質の良いもの」と珍重し、選んできたと思われる。Os2AP遺伝子の欠損は、劣勢遺伝子であるため、遺伝子が人為的に選択された、と考えるのが自然である。

#### 7. 香り米と茶豆 — 不思議な相似 —

香り米での検討が一段落した後に、コメと同じように香り品種と非香り品種のある植物はないだろうか、と考え、たどり着いたのがエダマメである。もともと、酒のつまみとして、筆者自身が好んで食していたという面もあるが、日本にこれほど2AP生成に関する典型的な品種群が存在していることは、ある意味驚きであった。灯台下暗し、である。茶豆の方が甘く、味があるということの他に、やはり、独特の香りをもたらす2APの存在は、その品質に重大な影響を与えていることは疑いが無い。

の方が美味しい、と評価する人は多くはないと個人的には思う。香りがするだけではダメなのだろう。なお、これは東アジア全域、という訳ではないようで、中国の三国時代の魏の文帝、曹丕の「与朝臣论稗稻书」には、香り米の記載があり、少なくともこの時代から香り米が存在し、珍重されていたことがわかる。現在中国でも同様で、香り米、特にタイ産の香り米「泰国香米」は、中国国内では確立されたブランド米である。

話を茶豆に戻そう。筆者は香り米の2AP生成機構と同様の2AP生成機構が茶豆にも存在し、同じ植物であるが故に、似た遺伝子とその生成を制御していると仮定した。コメの研究の成果から、2AP含量を測定することは可能であり、鍵となる酵素となるであろうAMADH活性を確認することも、可能になっていた。全てのパーツは揃い、後は遺伝子を特定するだけ…であった。また、大豆は、稲と同様にグリシ

ンペタインを蓄積しない植物として知られているため、コメと同じようなアプローチが有効に働くと思われた。

### 8. 茶豆における2APの生成機構

まず、香りのある茶豆と通常のエダマメにおける2AP含量を測定することとした。凍結乾燥したエダマメを粉砕し、抽出することで、コメと同様に2AP含量を測定することが可能であるとともに、大豆カルス（植物ホルモンによって誘導された細胞）でも、2AP含量を測定することが可能となった。その結果、茶豆には2APが香り米より多く含まれていることがわかった。確かに、エダマメはコメのように比較的プレーンな香りではなく、マメであることを主張する香りがある。茶豆の場合、それらの香りを超えて2APの香りが官能的に検出できるわけで、この結果は納得のゆくものであった。

次に、AMADH活性を測定した。AMADHをエダマメから粗精製し、これを電気泳動することで、分子量によって分離した後、ゲル上で、活性に応じた発色を行うことでAMADH活性をもつタンパク質の数を検出する。図4のように、通常品種では、4本のバンド、つまり4種類のAMADH活性を持つタンパク質が見られ、茶豆では、3本のバンドが見られた。つまり、欠損している酵素1種類が2AP精製に関連がある可能性が高い、ということであった。

大豆では、最近、ダイズゲノム解読プロジェクトが終了し、また、完全長cDNAの配列も公開されており、イネとほぼ同じ研究条件が整いつつある。そこで、少し乱暴な方法ではあるが、イネにおける2AP生成遺伝子*Os2AP*と類似する遺伝子をデータベースから検索したところ、2つの配列が抽出された。*(GmAMADH1;AB333794*

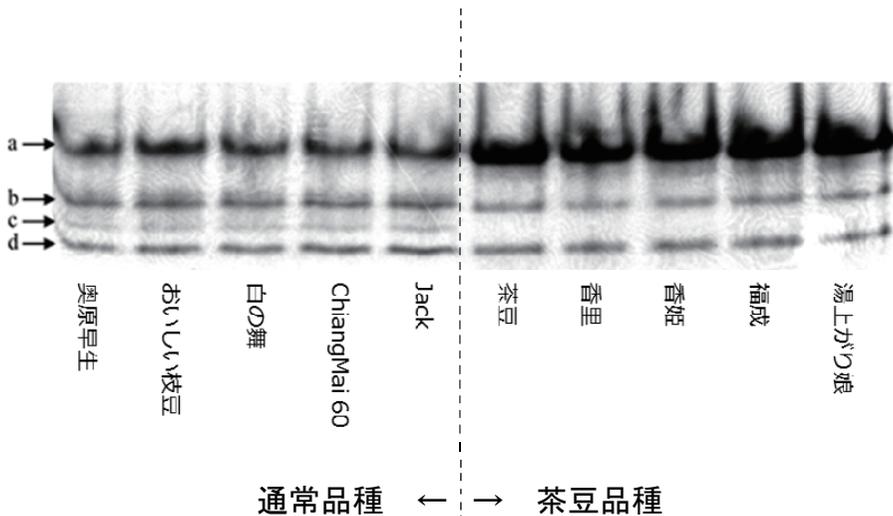


図4 通常エダマメ品種と、茶豆品種のAMADH (Native-PAGE - 活性染色による)

と *GmAMADH2*(AB333793) この2つの遺伝子に標的をあわせ、2 AP 生成機構と制御遺伝子の特定を進めていった。

*GmAMADH1*、*GmAMADH2* それぞれの遺伝子に関して、通常品種と茶豆において配列の違いがあるかを検証すると、*GmAMADH2*に配列の違いがあり、その違いは2塩基の欠損で、香り米と同じく、その遺伝子の発現が抑制される変異が起きていることがわかった。このことから、香り米での *Os2AP* と同様な変異が *GmAMADH2*に起きることで、茶豆は2 AP を生成することが推測された。

さらに、*GmAMADH2*の遺伝子発現を実験室レベルで抑制した遺伝子組換え大豆においても、2 AP 生成を確認できた。また、先ほどの酵素の検定からも、*GmAMADH2*が茶豆で欠損する酵素の遺伝子であることがわかった。これらの結果から、図5に示すような茶豆における2

AP 生成機構を提案した。これは、香り米と全く同じである。

### 9. 豆も香り米も先人の選択の賜物

香り米における *Os2AP* の変異と同様に、茶豆における *GmAMADH2*の変異も劣性遺伝子である。丁度、遺伝病に罹ってしまったエダマメ、とでもいえようか。同じような劣性遺伝子に支配される形質にコメの糯がある。この場合、穀粒を一見すれば糯品種であることが通常判別できるため、その維持は比較的簡単と思われる。しかし、「香り」という形質はいくら人間の鼻に対する閾値が低いといえども、風邪気味であれば感じにくいし、香りに対する感覚には大きな個人差もあることが知られている。目に見えず、しかも曖昧模糊とした香りを手がかりに、選択していったのだろうか？それとも、「茶豆」という名前が示すように、薄皮が茶色いということで選択

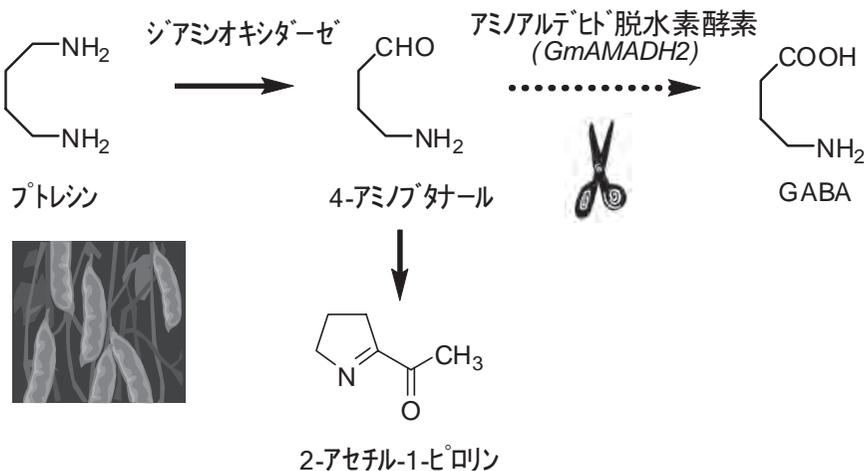


図5 茶豆における2 AP 生成機構

した結果として、香りが付随したのか、大きな謎である。しかし、先人たちが選択し、守ってきた *GmAMADH2* 遺伝子の欠損の下、今日も美味しいつまみにありつける、と考えると、その見えない苦勞に頭が下がる思いである。

終わりに -茶豆は世界に雄飛するか?-

エダマメの消費は、日本だけでなく、東アジア諸国である中国、韓国では一般的である。また、東南アジアの冷凍エダマメの生産地でも、エダマメが徐々に普及しているが、実際はまだ多くの国では馴染みのない食品である。また、米国や南米では大豆が作付けされているにもかかわらず、それらは油糧作物・飼料作物であるため、エダマメとして消費されることは少ない。近年、海外における日本料理店等で、エダマメや茶豆が紹介され人気を博しているようにも聞く。このような形で、茶豆が世界に雄飛する可能性はあるかもしれない。

The World Vegetable Center -AVRDC- は野菜専門では唯一の国際研究機関で、本部は台湾にあるが、その活動はアジアだけでなく、アフリカにも広がっている。野菜の生産・消費の拡大のための新技術の開発を通じて、開発途上国の貧困や栄養不良の軽減を目的としている機関である。エダマ

メは、栄養的に優れた作物であること、また、大豆は世界各地で作付け経験があることから、開発途上国における栄養不良の改善や、貧困の解消を目指す上で、潜在能力が高い作物と位置づけられている。2005年までに、107の国・地域にエダマメ系統を配布し、アフリカ地域を含むいくつかの国においては、エダマメ生産が受け入れられはじめている。しかし、食経験のないエダマメをそのまま受け入れることに抵抗のある場合が多く見られる。ここで、茶豆の登場となる。茶豆は、国際市場で「高品質米」の代名詞である香り米と同じ香りがするので、普及の手助けとなる。つまり、香り米の香りに対する経験を利用して、普及を図ろう、という考え方である。

このような茶豆・エダマメの世界への雄飛が現実となれば、誠にうれしい限りである。特に、茶豆に関しては、その遺伝子の変異が、今のところ日本原産と思われるので、遺伝子自体が Made in Japan として、多くの国々に普及され、食卓のぼることを願うばかりである。

なお、本稿に挙げた *GmAMADH2* 遺伝子に関しては以下の論文にて発表している。Siwaret A., Yoshihashi T. et al.: Plant Biotech. J. (doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00533.x)