

# 令和6年度豆類振興事業調査研究 あずきの皮に由来する 新規オリゴ糖の探索

静岡県立大学食品栄養科学部 本田千尋

## 1. はじめに

小豆 (*Vigna angularis*) は国内で年間46,700t (令和6年産全国収穫量) が収穫されており<sup>1)</sup>、その約7割は餡製造に利用されている<sup>2)</sup>。製餡の過程では大量の排水や種皮が発生する。種皮については食品への配合のほかに、さまざまな用途で利用されているが、これらはほんの一部に過ぎず、ほとんどは産業廃棄物として大量に廃棄されており、その処理には高額なコストがかかっている。そこで廃棄コスト削減や機能性素材としての有効利用を目指し、種皮の機能性成分や栄養成分の調査、加工利用方法の検討などが進められている<sup>3,4)</sup>。

豆類は炭水化物を主成分とする豆類と脂質を主成分とする豆類の2つのグループに分類される。小豆は炭水化物が主体となる豆類に分類され、炭水化物が乾燥重量の50%以上、たんぱく質が約20%を占め、脂質は少ないという特徴を持っている。小豆に含まれる炭水化物のうち30%が食物繊維、70%が糖質であり、単糖のほかにスクロース、ラフィノース、スタキオースといったオリゴ糖なども含まれている<sup>5,6)</sup>。大豆に多く含まれるラフィノースやスタキオースなどのラフィノースファミリーに属するガラクトオリゴ糖 (大豆オリゴ糖) は、腸内の有用菌であるビフィズス菌の増殖を促進することが知られているほか、免疫機能の活性化、血中コレステロールの低下、整腸作用など、プロバイオティクス効果の向上が期待されている<sup>7,8,9)</sup>。また、小豆には水抽出性多糖とアルカリ抽出性多糖が存在することが分かっており、水抽出性多糖はラムノース、アラビノース、マンノース、ガラクトース、グルコース、アルカリ抽出性多糖はラムノース、アラビノース、マンノース、ガラクトース、ガラクトクロン酸から構成される。これらの多糖は抗酸化作用、免疫調節作用があることが報告されている<sup>10)</sup>。

近年の健康志向により、健康に良いとされる機能性オリゴ糖が注目されていることから、本研究では小豆種皮に多く含まれる多糖を原料に機能性オリゴ糖の調製を試みた。廃棄されている種皮から機能性オリゴ糖を調製するこ

とができれば、小豆種皮の利用拡大につながると考えた。

## ● 2. 研究方法

### [1] 小豆種皮に由来する糖の調製

小豆種皮を流水でよく洗浄後、凍結乾燥した（図1）。得られた乾燥小豆種皮20gに水400mLを加え、オートクレープ処理後、20分間、9,000×gで遠心処理し、得られた上清を小豆抽出液とした。オートクレープ条件は温度を110℃と130℃、時間を1-9時間とした。オートクレープ処理を行わない抽出条件として、乾燥小豆種皮と水を混合後、室温で3時間、スターラーを用いて攪拌した試料を調製した。

### [2] 糖の分析

小豆抽出液の全糖量をフェノール硫酸法、還元糖量をソモギー・ネルソン法により測定した。オリゴ糖の分析には液体クロマトグラフィー-質量分析計（LC-MS）を用い、Shodex HILICpak VG-50 4E（4.0×250mm、粒径5μm）で分離した。移動相Aに50μM塩化リチウム水溶液、移動相Bにアセトニトリルを用い、流速は1mL/min、カラム温度は40℃とした。グラジエント条件は図2に示した。

### [3] 酸加水分解

小豆抽出液を試料とし、塩酸濃度約0.05-0.5M、反応温度80℃、反応時間0.5-4時間で行った。炭酸水素ナトリウムを用いて中和し、反応を停止させた後、活性炭を用いて脱塩処理をしたものを酸加水分解試料とした。

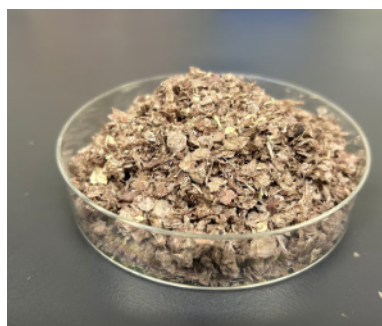


図1 凍結乾燥された小豆種皮

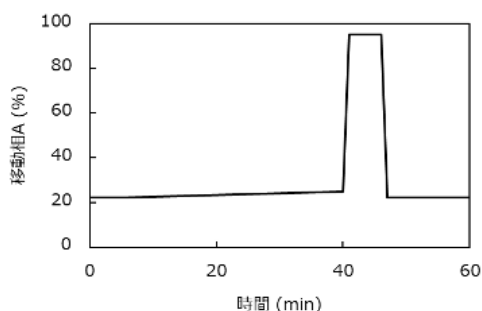


図2 グラジエント条件

#### [4] ビフィズス菌増殖試験

TOS培地をベースに酸加水分解試料を単一炭素源として終濃度0.4%で添加し、ビフィズス菌 (*Bifidobacterium longum*) を植菌後、24時間、37℃で静置した。

### 3. 研究成果

#### [1] 小豆種皮に由来する糖の抽出条件の検討

異なるオートクレーブ条件で小豆抽出液を作製し、各抽出液の全糖量を測定した (図3)。抽出3時間における各抽出試料の全糖量を比較すると、室温抽出試料の全糖量は6.3mg/g-小豆種皮、110℃抽出試料は40mg/g-小豆種皮、130℃抽出試料は96mg/g-小豆種皮であり、オートクレーブ処理を行うことで全糖量が顕著に増加したことから、小豆種皮にはオートクレーブ処理により抽出される糖が含まれると考えた。次に、抽出時間に注目すると、110℃抽出試料では抽出3-9時間で全糖量がほぼ一定であったことから、110℃で抽出される糖は3時間で抽出が完了すると考えた。一方、130℃抽出試料では抽出時間が長くなるにつれて全糖量が増加した。用いたオートクレーブの設定上限から、本実験においては130℃、9時間の条件で小豆種皮から最も糖が抽出されると考えた。

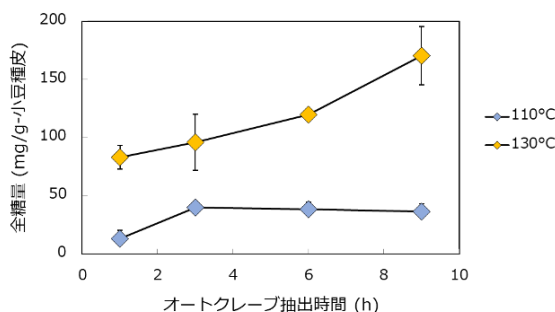


図3 異なる条件で抽出された小豆抽出液の全糖量

小豆抽出液に含まれるオリゴ糖を調べるために、130℃抽出試料のLC-MS分析を行った。二糖、三糖、四糖の抽出イオンクロマトグラムを作成したところ、抽出1時間の試料ではそれぞれ明瞭な1本のピークが検出された (図4)。オリゴ糖標品との溶出時間の比較から、これらはスクロース、ラフィノース、スタキオースのピークであることが示唆された。一方、抽出9時間の試料では

スクロース、ラフィノース、スタキオースのピーク強度が顕著に減少したことから、オートクレーブによる抽出中に加水分解が生じたのではないかと考えた。また、抽出9時間の試料では、クロマトグラムにおけるピークの本数が抽出1時間の試料と比較して増加した。溶出時間の異なるピークは、それぞれ、構成糖または結合が異なる構造異性体であることが分かっている。そのため、抽出9時間の試料には少なくとも、二糖が4種類、三糖が4種類、四糖が2種類含まれていると考えた。オリゴ糖標品との溶出時間の比較から、一部のピークについてはメリビオースとマンニトリオースであることが示唆された。これらオリゴ糖はラフィノースとスタキオースの末端のフルクトースが取れた構造であることから、加水分解により生成した可能性がある。

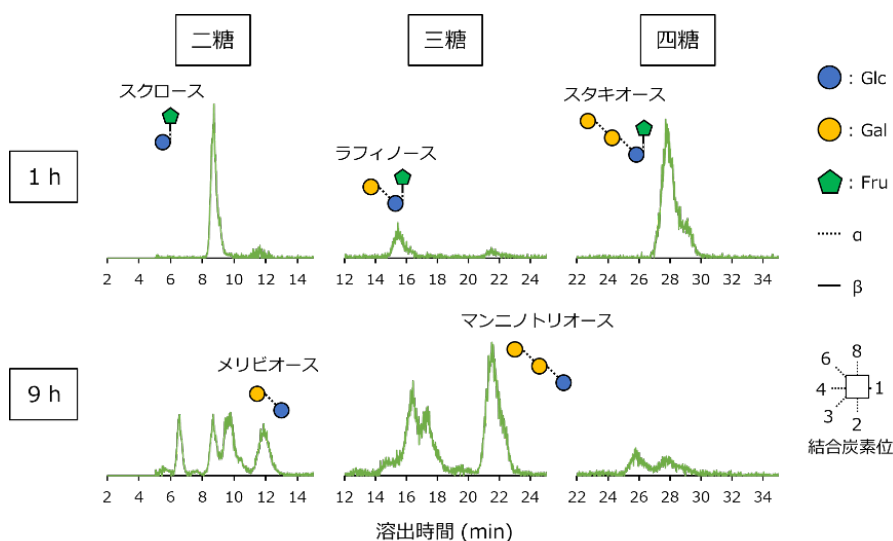


図4 小豆抽出液に含まれる二糖、三糖、四糖のMSクロマトグラム

## [2] 酸加水分解によるオリゴ糖の調製

オートクレーブ抽出を130℃で9時間行うことで、多様なオリゴ糖が調製できることが分かった。この結果から抽出過程で加水分解が起きていると仮定し、より効率的にオリゴ糖を調製するために、抽出後の酸加水分解を試みた。はじめに、抽出3、6、9時間の試料を用いることで、酸加水分解に用いる小豆抽出液の調製方法を検討した。酸加水分解は、塩酸の終濃度は0.5M、反応時間は1時間に固定し、80℃の湯浴で行った。酸加水分解試料をLC-MS分析したところ、抽出6、9時間の試料で複数のピークが検出された一方で、抽出3時

間の試料では主要なピークは1本のみであった（図5）。このピークの化合物は、オリゴ糖標品の溶出時間との比較からマンニトリオースであることが示唆された。機能性オリゴ糖としてよく知られているマンニトリオースに注目すると、抽出3時間の試料で最も強く検出された。小豆抽出液の酸加水分解により機能性オリゴ糖を調製する場合、抽出液は3時間のものが適していると考えた。

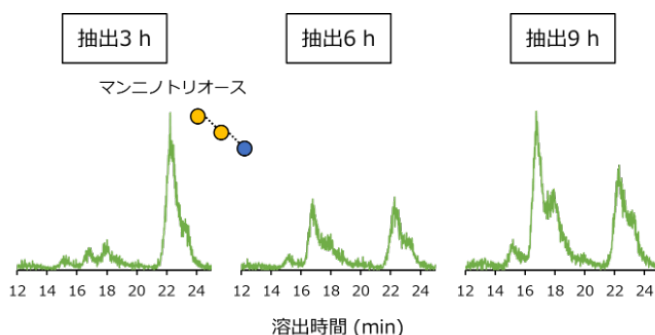


図5 異なる条件で抽出された試料の全糖量の比較

抽出液の酸加水分解によりマンニトリオースが得られることがわかったため、次に、抽出液からより多くのマンニトリオースを調製することができ、酸加水分解の条件を検討した。酸加水分解反応液における塩酸の終濃度を0.05-0.5M、反応時間を0.5-4時間とし、各酸加水分解試料に含まれるマンニトリオース量を図6に示した。塩酸0.1-0.5Mの条件では反応時間が進むにつれて、マンニトリオースが減少する傾向にあった。一方、塩酸0.05 Mの条件では、反応0.5-2時間でマンニトリオース量が増加し、反応4時間までほぼ一定であった。この結果から、塩酸0.05 Mと80℃で2時間反応させることで、マンニトリオースが多く調製できることがわかった。この方法で得られたマンニトリオース量は、130℃で3時間抽出したときよりも多く、130℃で9時間抽出したときと同等量であった。酸加水分解を行うことで、マンニトリオースを調製する時間が短縮された。

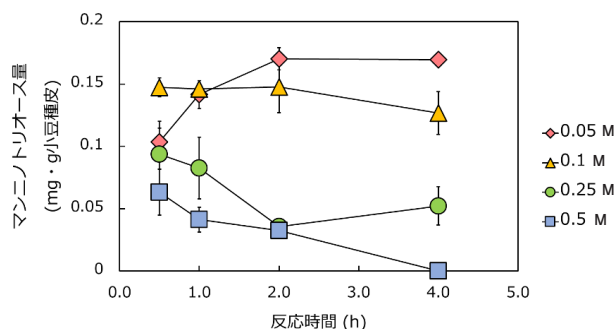


図6 異なる条件で抽出された試料の全糖量の比較

### [3] 酸加水分解試料を用いたビフィズス菌増殖試験

小豆抽出液を酸加水分解することで、機能性オリゴ糖を含む多様なオリゴ糖を得ることができた。酸加水分解試料を単一炭素源として培地に添加し、ビフィズス菌 (*Bifidobacterium longum*) を植菌することで、酸加水分解処理によって得られたオリゴ糖がビフィズス菌の栄養源として利用できるか確認した。酸加水分解試料は、複数のオリゴ糖が得られた塩酸濃度約0.5M、反応温度80℃、反応時間3時間の試料を用いた。ビフィズス菌を植菌後、24時間、37℃で静置したところ、ビフィズス菌の増殖が確認された。この結果から、酸加水分解処理によって有用なオリゴ糖が調製されたと考えた。

## 4. まとめ

製餡工程で大量に廃棄される小豆種皮を有効利用するために、小豆種皮を原料に機能性オリゴ糖の調製を試みた。小豆種皮を、130℃で9時間、オートクレーブ処理することで多様なオリゴ糖を得ることができた。これらオリゴ糖は抽出中に生じた加水分解により調製された可能性があることから、より効率的にオリゴ糖を調製するために酸加水分解を行ったところ、機能性オリゴ糖として知られているマンニトリオースを得ることができた。酸加水分解の条件を検討することで、抽出のみのときと比較して、マンニトリオースの調製時間を短縮することができた。小豆種皮の酸加水分解試料においても、ビフィズス菌増殖に寄与することが明らかとなったことから、機能性オリゴ糖源としての利用が期待できる。

## ● 5. 謝辞

本研究の遂行をご援助いただきました公益財団法人日本豆類協会に深く感謝いたします。また、共同研究者である株式会社虎屋 奥本大祐様、北海道大学工学研究院 菊川寛史様には多大なご支援をいただけたことに深謝いたします。

### (参考文献)

- 1) 雑豆に関する資料(令和7年3月), 公益財団法人 日本豆類協会(2025)
- 2) 公益財団法人 日本豆類協会: <https://www.mame.or.jp/seisan/syouhi/> (2025/10/30)
- 3) 今井佳穂, 他; もみじ饅頭餡剰余物『小豆皮』の菓子原料化技術開発, 広島県総合技術研究所食品工業技術センター研究報告, 30, 13-20(2023)
- 4) 本間紀之; 製餡工程における廃棄未利用資源の活用技術開発, 豆類時報, 109, 11-17(2022)
- 5) 堀尾拓之, 越後瞳; あずきの歴史と栄養, 名古屋経済大学自然科学研究会会誌, 49, 21-34(2016)
- 6) 土田廣信, 他; 新品種を含む小豆の一般成分および機能性ガラクトオリゴ糖含有量, 瀬木学園紀要, 1, 115-120(2007)
- 7) 菅原正義; オリゴ糖の特性と生理効果, ビフィズス, 7, 1-12(1993)
- 8) Nakakuki, Teruo; Present Status and Future Prospects of Functional Oligosaccharide Development in Japan, Journal of Applied Glycoscience, 52, 267-271(2005)
- 9) 中久喜輝夫; 緒言—オリゴ糖開発研究の現状と将来—, 応用糖質化学, 1, 281-285(2011)
- 10) Yao, Yang, et al; Antioxidant and immunoregulatory activity of polysaccharides from adzuki beans (*Vigna angularis*), Food Research International, 77, 251-256(2015)