

令和6年度終了 豆類振興事業助成金（試験研究）の成果概要

1 課題名 紫色色素の分析を基盤とした加工特性を向上させた小豆の育種を目指す開発試験

2 研究実施者

研究代表者	吉田久美	愛知工業大学工学部 客員教授 愛知淑徳大学食健康科学部 教授 名古屋大学 名誉教授
分担	堀内優貴	北海道立総合研究機構 十勝農業試験場研究部 主査
分担	川原美香	とちぎ財団 ものづくり支援部・課長
分担	内藤 健	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源研究センター 上席研究員



3 実施期間 令和4年度～令和6年度（3年間）

4 試験研究の成果概要

（1）試験研究の目的

国内産の赤小豆の主な用途は餡への加工である。餡の品質評価において餡色は重要な項目の一つで、育種においても柱となる。しかし従来、高級な和菓子に求められる紫色餡を得る方法は職人の勘に頼っており、長年、餡色発色の解明が待たれてきた。さらに、嗜好の多様化により、育種初期からの選抜の加速が必要であるが、餡色に影響する要因が不明なため、F9世代以降しか実需者による製餡試験を実施できなかった。申請者は、赤小豆種皮に紫色色素カテキノピラノシアニジン A

（cpcA）および B（cpcB）が含まれることを明らかにし（図1）、その分析法を確立した。これにより、品種や産地、生育環境の異なる小豆および餡の cpcA, cpcB 含有量の網羅的な分析が可能となる。これら相関解析のデータは、育種における強力な指標となり、早期の選抜が可能となる。また、小豆の原種の種皮色は黒色でアントシアニンを含むが、現在の赤小豆はアントシアニンを含まない。cpcA, cpcB の生

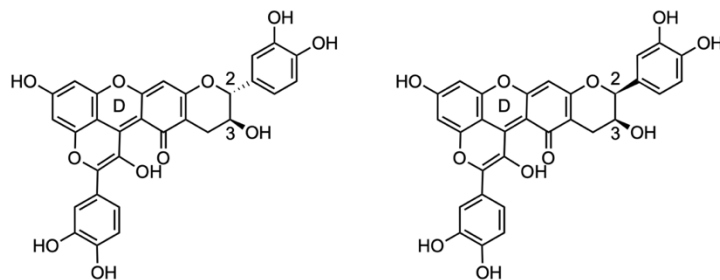


図1. 赤小豆種皮に含まれる紫色色素，カテキノピラノシアニジン A(cpcA: 左)と B(cpcB: 右)の構造.

合成については、全く不明であり生合成遺伝子を特定することができれば、遺伝的背景を利用した育種促進が可能となる。これらを目的に、本試験研究を実施した。

(2) 実施計画、手法

1) 種皮に含まれる *cpcA*, *cpcB* 含有量の分析

北海道立総合研究機構十勝農業試験場が保有する新品種を含むさまざまな小豆品種、農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源センターが保有する外国産小豆、および原種小豆に含まれる *cpcA*, *cpcB* 含有量を定量した。遺伝資源センターから分譲された小豆については、名古屋大学圃場で栽培し、十分量の種子を得てから分析に供した。乾燥小豆を一晩吸水させた後凍結し、酢酸エチルで色素を抽出した。C30 逆相カラムを用いたオートサンブラ付き HPLC 装置で分析し、標準品より得た検量線を用いて定量分析を行った。

2) 製餡法の違いによる、餡色と餡に含まれる *cpcA*, *cpcB* 含有量の分析

特許出願した製餡方法（真空処理法）と従来の製餡方法（鍋でのガス加熱法）で餡を調製し、得られた生餡の色と *cpcA*, *cpcB* 含有量の分析を実施した。さらに、煮熟中に種皮からどのように餡に色素が移行するか、および、添加物の餡色への影響について化学的試験を実施した。凍結乾燥した餡より色素を抽出し、定量分析を行った。種皮中の *cpcA*, *cpcB* 量とさらに餡中の色素量との相関を比較検討することにより、種皮中の色素と加工工程の違いによる餡への色素の移行、ならびに餡色への影響を解析した。

3) *cpcA*, *cpcB* の生合成関連遺伝子の探索

小豆の原種、野生小豆類、ならびに現在品種として確立された赤小豆と白小豆を遺伝資源材料として、種皮で発現する遺伝子の解析を行った。これらの未熟種皮から RNA を抽出して逆転写反応により c-DNA とし、次世代シーケンサーにより網羅的な発現解析を行うことで、赤小豆および原種で発現し、白小豆で発現しない遺伝子を探索した。得られた *cpcA*, *cpcB* 生合成関連遺伝子候補について、さらに発現量の解析ならびに配列解析を進めることにより生合成関連遺伝子を探索し、色素生合成遺伝子の存在する遺伝子座の特定を目指した。

(3) 成果の概要

1) 種皮に含まれる *cpcA*, *cpcB* 含有量の分析

生物資源研究所と十勝農業試験場から分譲された赤小豆の種皮色素を分析した（表 1、表 2）。*cpcA*, *cpcB* の含有量は総じて北海道産の赤小豆が高く、新品種の「きたいろは」および「きたひまり」も、従来品種とほぼ同程度の *cpcA*, *cpcB* を含有することがわかった。これに対し、韓国、中国、ネパール産の赤小豆は、色素含有量が低かった。在来種（（秋田アズキ（赤）(76599)、京都大納言（赤）

(109685)、ワセアズキ（赤黒斑）(76467)、カシアズキ（赤黒斑）(81502)、シダレアズキ（赤黒斑）(85370)も北海道産品種と比較すると含有量は低く、黒小豆や原種の小豆、白小豆（韓国江南道（黒斑）(81096)、韓国忠南道（黄白）(81105)、岐阜県産雑草小豆（黒斑）(90794)、隠岐の島ヤブツルアズキ（黒斑）(244435)、灰白系-2、備中白小豆、きたほたる）はほとんど **cpcA**, **cpcB** を含まないことがわかった。さらに、**cpcA**, **cpcB** の合計量に占める **cpcA** の割合は品種によって違いが認められ、国産の赤小豆が 79-81% に対し、外国産赤小豆は値が低く、この **cpcA** 割合を用いることで、品種や国内産か外国産かを見分けられる可能性が示された。

表1. 生物資源研究所から分譲を受けた外国産赤小豆に含まれる **cpcA**, **cpcB** の量.

産地	JP 番号	色素合計量	cpcA	cpcB	cpcA 割合
		$\mu\text{g/g dry beans}$			%
韓国全南道長城郡	81075	2.53 ± 0.09	1.93 ± 0.08	0.60 ± 0.02	76
韓国全南道昇州郡	81112	1.47 ± 0.06	1.11 ± 0.05	0.36 ± 0.01	75
中国	226898	1.55 ± 0.12	1.17 ± 0.09	0.38 ± 0.02	75
中国	226920	4.62 ± 0.76	3.66 ± 0.60	0.97 ± 0.17	79
中国	227138	1.22 ± 0.15	0.91 ± 0.12	0.30 ± 0.03	75
東ネパール	100240	1.44 ± 0.18	1.09 ± 0.15	0.35 ± 0.04	75
ネパール	257518	1.81 ± 0.14	1.37 ± 0.11	0.44 ± 0.03	76

表2. 十勝農業試験場が育成した赤小豆品種および育種系統に含まれる **cpcA**, **cpcB** の量.

品種	色素合計量	cpcA	cpcB	cpcA 割合
		$\mu\text{g/g dry beans}$		%
エリモショウズ	13.60 ± 0.59	10.90 ± 0.51	2.70 ± 0.08	80
しゅまり	12.71 ± 2.2	10.20 ± 1.8	2.51 ± 0.49	80
きたろまん	13.18 ± 2.1	10.50 ± 1.6	2.58 ± 0.47	80
きたいろは	12.42 ± 3.6	10.01 ± 2.9	2.41 ± 0.73	81
きたひまり	12.20 ± 0.50	9.76 ± 0.42	2.43 ± 0.08	80

2) 製餡法の違いによる、餡色と餡に含まれる cpcA, cpcB 含有量の分析

北海道で育種された品種を用いて、従来のステンレス鍋に入れてガスで加熱する方法：従来法（C）と、特許出願した真空処理法（V）とで製餡試験を実施し、餡色と色素含有量を分析した。いずれの品種も、真空処理法（V）は紫色餡となったのに対して従来法（C）は茶色味の餡となった（図2）。真空処理法（V）で製餡した生餡はすべて b^* 値が2以下であったのに対し、従来法（C）の餡はすべて7以上であった（表3）。さらに餡に含まれる色素を分析したところ、いずれの品種においても、真空処理法（V）で cpcA, cpcB 含有量が高い結果となった（表4）。ここに初めて、さらに餡の色と紫色色素含有量との間に相関のあることが実証された。



図2. 品種の異なる小豆を従来法と特許を取得した真空処理法で製餡して得た生餡の色調（C: 従来法、V: 真空処理法）。

表3. 品種の異なる小豆を真空処理法と従来法で製餡して得た生餡の色測定値。

製餡法	品種	色彩色差測定値		
		L*	a*	b*
従来法（C）	エリモショウズ	40.87	9.34	8.35
	しゅまり	41.85	10.56	7.05
	きたろまん	40.77	9.77	8.02
真空処理法（V）	エリモショウズ	46.08	9.85	1.55
	しゅまり	42.69	9.756	1.32
	きたろまん	45.87	10.19	0.41

表4. 品種の異なる小豆を真空処理法と従来法で製餡して得たさらし餡にに含まれる cpcA, cpcB の量.

製餡法	品種	色素合計量 μg/g 凍結乾燥さらし餡	cpcA (平均値±SD)	cpcB (平均値±SD)	cpcA 割合 (%)
従来法 (C)	エリモショウズ	7.57 ± 0.19	5.35 ± 0.13	2.22 ± 0.06	71
	しゅまり	8.41 ± 0.45	5.95 ± 0.32	2.46 ± 0.13	71
	きたろまん	7.49 ± 0.48	5.32 ± 0.19	2.17 ± 0.10	71
真空処理法 (V)	エリモショウズ	13.93 ± 0.76	9.97 ± 0.56	3.96 ± 0.21	72
	しゅまり	10.78 ± 0.74	7.67 ± 0.49	3.11 ± 0.25	71
	きたろまん	11.67 ± 0.15	8.34 ± 0.12	3.33 ± 0.04	71

さらに、十勝農業試験場で育種された新品種の「きたいろは」と「きたひまり」についても、従来品種の「エリモショウズ」、「しゅまり」、「きたろまん」と同様に真空処理法で製餡加工した。得られた餡の色と cpcA, cpcB 含有量の分析を行ない、加工特性について比較した。「きたいろは」、「きたひまり」ともに生餡の色は従来品種とほぼ同等で、色測定値にもほとんど違いは認められなかった。これらの生餡を凍結して得たさらし餡の cpcA, cpcB 含有量を定量分析した。いずれも、高い cpcA, cpcB 含有量を示し、なかでもきたひまり餡は高値であった。

3) cpcA, cpcB の生合成関連遺伝子の探索

小豆原種はカフェオレ色のバックに黒い斑点があること、赤色栽培品種とカフェオレ色種皮色の違いは、第1染色体にある ANR 遺伝子の1カ所の塩基の置換によることが判明していた。また、赤色栽培品種と黒色の斑がある野生種との違いは、第4染色体にあるアントシアニン合成遺伝子の欠失である。これらの背景を元に、小豆原種、野生小豆類、赤小豆品種のうち、cpcA, cpcB の多い「しゅまり」、および、cpcA, cpcB 含有量が少ない京都大納言、中国と韓国の品種、cpcA, cpcB を含まない白小豆の RNA を抽出し分析した。開花後5日から3日おきに種皮をサンプリングして RNA を抽出し、NGS ライブラリに変換して RNA-seq を行った。ヤブツルアズキからアズキが成立する過程で、*Anthocyanidin Reductase 1 (ANR1)* 遺伝子に生じた1塩基置換が原因であること、また黒斑の消失には *Production of Anthocyanidin Pigmentation 1 (PAP1)* の欠失が原因であることが明らかとなった(図3)。

さらに、光合成に関与する遺伝子群の解析を実施した。光合成関連遺伝子群の発現が低下することは、光呼吸の低下にもつながる。したがって、「しゅまり」では種皮の酸化活性が抑制され、結果的により多くのアントシアニンが cpcA や cpcB に変換されたとの仮説が考えられた。アントシアニンか

らカテキン・タンニンへの合成経路が抑制されることで結果的に *cpcA*, *cpcB* が形成されるものと考えられる。

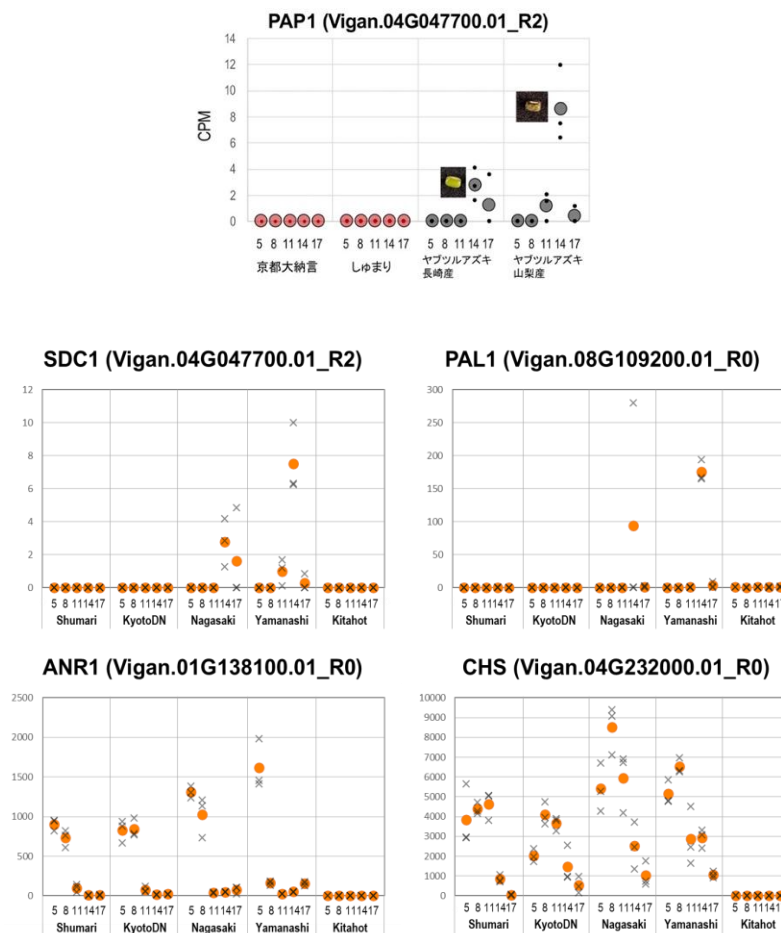


図3. 主要な色素合成酵素遺伝子の発現パターン. 上は PAP1 遺伝子の発現、中2つは種皮の黒斑を形成する遺伝子、下2つは種皮の地色を決定する遺伝子. Shumari=しゅまり, KyotoDN=京都大納言, Nagasaki=長崎県産ヤブツルアズキ, Yamanashi=山梨県産ヤブツルアズキ, Kitahot=きたほたる.

5 今後の課題

さらに多くのさまざまな種皮色の小豆の *cpcA*, *cpcB* 含有量を比較調査することにより、本色素の生合成経路の解明に寄与できると考える。また、製餡法の違いとさらし餡の色および色素含有量を分析することにより、真空処理法の可能性の拡大とその改良が可能となる。実際に餡は、加糖餡に加工されて消費されることから、加糖餡への加工条件と餡の色、ならびに、その *cpcA*, *cpcB* 含有量の定量法の確立は喫緊の課題である。現在、加糖餡の *cpcA*, *cpcB* 量の定量について検討を進めている。また、*cpcA*, *cpcB* の生合成経路の解明による遺伝子の特定とマーカーの取得による育種の迅速化も今後の課題である。

6 成果の波及効果

赤小豆種皮の紫色色素カテキノピラノシアニジン A, B (cpcA, cpcB) の定量分析法の確立と国内外の多数の小豆の cpcA, cpcB 含有量を定量分析し、公開したことは、今後、小豆の育種、加工、生合成研究における重要な基礎的データとなる。実際に、実需者による製餡試験は現状では F9 世代以降に限られるが、本研究により少量サンプルでの色素の定量ができ、F9 未満の世代においても色に関する評価が可能となったことは、早期の選抜にも寄与するものと考えられる。また、新品種の「きたいろは」と「きたひまり」の餡色がいずれも従来品種とほぼ同等であると示せたことは、これら新品種の普及の重要な基礎的データとなる。

さらに「真空処理法」という、新しい製餡加工法を案出し、従来法と比較して圧倒的に紫色の餡が得られることを明らかにし特許を取得したことは、今後の製餡加工業界におけるブレイクスルーとなるものと考えられる。本研究により初めて、紫色の餡色が cpcA, cpcB によるもので、煮熟中に種皮から餡粒子へ移行するという事実が明らかになった。餡の紫色と cpcA, cpcB 含有量に相関があることを示し、紫色餡を得るための科学的根拠を初めて提示できた。

cpcA, cpcB の生合成経路に関する解析を実施した結果、ヤブツルアズキから赤小豆が成立する過程を明らかにした上、種皮の酸化活性が抑制され、結果的により多くのアントシアニジンが cpcA, cpcB に変換されるとの仮説を提案できたことは、今後の育種に寄与する重要な知見である。

これらに加え、特許製法の普及につとめ、さまざまな機会に成果の報告や展示を実施した。今後、真空処理法に興味を持つ製餡加工業者の増加が期待でき、小豆餡の美しさをより際立たせる菓子の開発の一助にもなるものと期待している。以上の試験研究の成果により、日本産の小豆の価値の益々の向上が期待できるものと考えている。

7 論文、特許等

論文

- 1) Yoshida, K., Takayama, Y., Asano, T., Kazuma, K.: Differences in the content of purple pigments, catechinopyranocyanidin A and B, in various adzuki beans, *Vigna angularis*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **87**, 525-531 (2023).
- 2) 吉田久美、尾山公一、近藤忠雄、植物におけるポリフェノールの存在意義と生合成・機能性「ポリフェノールの科学」朝倉書店、東京、pp. 14-24 (2023. 11. 1).
- 3) 吉田久美、食用豆種皮の色素「豆類の百科事典」朝倉書店、東京、pp. 214-215 (2024. 5. 1) .
- 4) Yoshida, K.: Chemical and biological study of flavonoid-related plant pigment: current findings and beyond. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **88**, 705-718 (2024).

- 5) Sakai, H., Naito, K., Lee, C-R., Chien, C-C., Muto, C., Seiko, T., Wang, Y-C., Chang, C-H., Ariga, H.: A single domestication origin of adzuki bean in Japan and the evolution of domestication genes. *Science*, 29 May 2025, Vol. 388, Issue 6750.

特許

- 1) 小豆餡の製造方法：特許第 7406770 号、R5 年 12 月 20 日、発明者：吉田久美、川原美香、特許権者：国立大学法人東海国立大学機構、公益財団法人とかち財団

学会発表等

- 1) 吉田久美：食品のフラボノイド系色素の化学-赤ワインと餡の色-、セミナー「食と酒の効能と機能的成分」令和 4 年度「知」の集積による産学連携支援事業（島根）2022. 11. 29.
- 2) 吉峰瑞喜、萩原星児、近藤忠雄、尾山公一、高谷芳明、吉田久美：赤アズキ種皮に含まれる微量 cpcA, cpcB の単離と構造解析. 日本農芸化学会 2023 年度大会（広島）2023. 3. 14-17.
- 3) Kumi Yoshida, Yoko Takayama, Tomoyo Asano, and Kohei Kazuma: Differences in the content of purple pigments, catechinopyranocyanidin A and B, in various adzuki beans, *Vigna angularis*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, *In Press*, (2023). DOI: <https://doi.org/10.1093/bbb/zbad010>
- 4) 吉田久美、吉峰瑞喜、萩原星児、浅野友世、高山陽子、数馬恒平、近藤忠雄、尾山公一、高谷芳明、西崎雄三：さまざまな品種の赤アズキ種皮に含まれるカテキノピラノシアニジン類の構造と含有量. 第 65 回天然有機化合物討論会（東京）2023. 9. 13-15.
- 5) 吉田久美、浅野友世：金時豆の種皮にカテキノピラノシアニジン A, B が含まれていた. 日本農芸化学会 2024 年度大会（東京）2024. 3. 24-27.
- 6) Kumi Yoshida: Anthocyanins in colored seed-coat of beans and their potential. *BioColours 2024*, (Helsinki, Finland) June 3-6, 2024.
- 7) 川原美香：色調が優れた小豆餡の製造技術. 令和 6 年食品加工研究センター研究成果発表会（札幌）2024. 6. 12.
- 8) 川原美香：色調が優れた小豆餡の製造技術、FOOMA JAPAN 2024 アカデミックプラザ（東京）2024. 6. 4-7.
- 9) 川原美香：色調が優れた小豆餡の製造技術. 日本食品科学工学会第 71 回大会（名古屋）2024. 8. 29-31（要旨掲載）.
- 10) 吉田久美：フラボノイド系植物色素の化学、生物学とその応用可能性、第 17 回ポリフェノール学術集会、(福岡 オンライン) 2024. 8. 30.
- 11) 吉田久美：なぜ小豆餡は紫色なのか -さまざまな豆類の種皮に含まれる成分とその機能-、名古屋大学生命農学研究科附属フィールド科学教育研究センター東郷フィールド農場講演会、2024. 10. 26.
- 12) 吉田久美、萩原星児、PINA Fernand、近藤忠雄：赤小豆に含まれるカテキノピラノシアニジン A, B の化学的性質. 日本農芸化学会 2025 年度大会（札幌）2025. 3. 4-8.