

1. 課題名 古代えんどう豆の調理による着色機構の解明と機能性の解析

2. 研究者 徳島文理大学 人間生活学部 食物栄養学科 准教授 近藤 美樹

### 3. 成果の概要

#### (1) 研究目的

えんどうの古代品種である通称ツタンカーメンえんどうは、鞘は紫色であるが未熟豆は一般品種と同様に緑色を呈している。古代品種の未熟豆は、加熱調理によって緑色から赤色に変化（着色）するユニークな豆であり、幼稚園や小学校でも食育や総合学習の一環として栽培されている。さらに、古代品種（紫えんどう）は一般品種（緑えんどう）よりも高い抗酸化性を示すことを確認しており、機能性食品素材としても期待できる。

しかし、調理によって生じる着色反応については、着色源となる成分や着色成分も不明である。また、抗酸化性成分についても未同定であり、調理や乾燥による成分変化などの情報が存在しない。さらに、生豆の利用が主であり、乾燥豆としての利用方法が普及していない現状にある。

そこで、本研究では、ツタンカーメンえんどうの着色源や着色成分の同定を通して着色機構の解明に取り組んだ。さらに、調理・加工による抗酸化性の変化の解析、および乾燥豆としての利用方法の確立を通して、緑えんどうに対する紫えんどうの優位性を明らかにした。

#### (2) 研究方法

##### 1) 材料

紫えんどうおよび対照の緑えんどうの生豆は、2016年4～5月に和歌山県産を購入し、実を真空包装下-30℃で保存し、必要に応じて解凍して用いた。また、乾燥豆は、上記収穫地で同時に栽培されたものを購入し、さらに対照として北海道産の小豆を使用した。

##### 2) 着色源 X および着色物質 Y の抽出および単離・同定

生豆種皮の水抽出物を種皮抽出液とし、着色反応は 90℃の加熱によって確認した。抗酸化性は DPPH ラジカル消去活性を測定し、抗酸化物質非存在下の吸光度に対する百分率で評価した。目的成分は、Atlantis T3 カラム(4.6 mm I.D.×250 mm)を装備した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて分離し、フォトダイオードアレイ検出器により追跡した。移動相は 0.2%トリフルオロ酢酸とし、アセトニトリルの直線濃度勾配により溶出した。流速は 0.5 mL/min、カラム温度は 40℃であった。質量分析は、Masslynx システム装備した ACQUITY UPLC-TQD-quadrupole マススペクトロメーターを用い、イオン放射電圧 20 kV, 1.0 kV、流速 0.5 ml/min で行った。

##### 3) 紫えんどうの各種調理による抗酸化性の変化

緑および紫えんどうの生豆および一晩浸水した乾燥豆を「煮る」および「茹でる」の 2 種類の方法で調理し、凍結乾燥・粉碎した。次いで、50%エタノールを用いて成分を抽出し、DPPH ラジカル消去活性をトロロックス当量として表した。

##### 4) 紫えんどうのあん特性の評価

緑および紫えんどうの生豆および乾燥豆、さらに小豆を用いて、50%の上白糖および 1%の食塩を加えてこしあんを調製した。あんの顕微鏡観察および官能評価を実施した。パネリストは、官能評価の訓練を受けた本学食物栄養学科の学生および教員 5 名からなり、評価項目は、食感、色、味、香り、総合評価の 5 項目とし、5 段階の評価尺度により実施した。

### (3) 研究成果

#### 1) 紫えんどうの調理による着色機構の解明

着色機構解明の一端として、着色源 X および着色成分 Y の単離・同定を試みた。まず、未熟な生豆における X の局在を明らかにするために生豆を部位別に加熱した結果、胚芽および種皮が着色した (図 1A)。そこで、含有量の高い種皮から着色源 X を抽出し、加熱反応により目的成分が含まれていることを確認した (図 1B)。しかし、この段階で着色源 X は HPLC において検出限界以下であり、その存在量は非常に低濃度であることが判明した (図 2B)。そこで、クロマトグラフィーによる分画により着色源 X を濃縮した (図 2C)。着色源 X の質量分析において、質量イオン  $M/Z^+ = 609$  および  $M/Z^+ = 611$  が検出された。これらの結果から、着色源 X は分子質量 610 の成分であり、また、MS/MS 解析の結果からその構成成分として、カテキンを含むポリフェノール的一种であることが示唆された。現在のところ当該成分と完全に一致すると推定される市販の化合物が見つからないため、今後、更なる機器分析によって構造決定が必要であると考えている。一方、着色物質 Y (図 2D) は、加水分解や還元剤の存在下における反応性から着色源 X の酸化重合体であることが示唆された。以上の結果を総合して、ツタンカーメンえんどうの加熱調理による着色機構は、カテキン類の酸化重合によるものであると推測した。

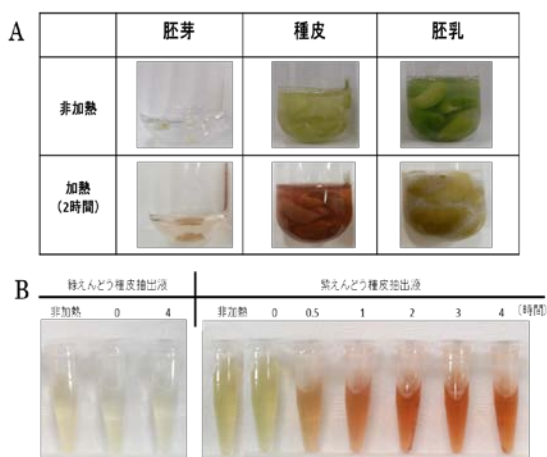


図 1 紫えんどうの発色成分の局在性の検討  
A, 紫えんどうを部位別に 90°C で 2 時間加熱;  
B, 紫えんどう種皮抽出液を 90°C で 0~4 時間加熱

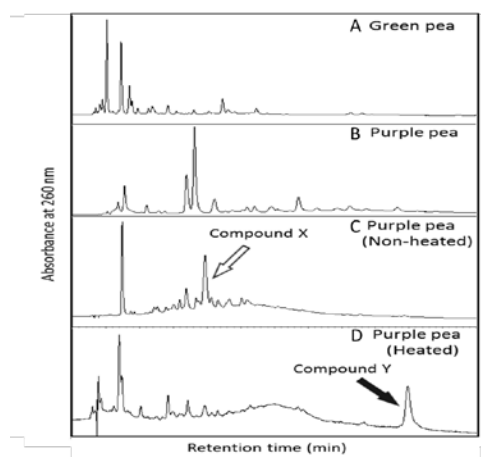


図 2 種皮抽出液の HPLC パターン  
A, 緑えんどう種皮抽出液; B, 紫えんどう種皮抽出液; C, B の粗精製物; D, C の加熱反応物

#### 2) 紫えんどうの抗酸化物質の同定と調理・加工による抗酸化性の挙動解析

紫えんどうは、緑えんどうに対して高い抗酸化性を示すことから、紫えんどうの抽出物に含まれる抗酸化物質 Z を探索した。生豆の部位別抽出物の分画と抗酸化性の測定により、ラジカルを最も消去する成分の存在を Fr.11 に認め、抗酸化物質 Z を特定した (図 3)。興味深いことに、当該成分は加熱により黄褐色化し、405 nm において高い吸光度を与えたことから、抗酸化物質 Z = 着色源 X であることが明らかになった。

次いで、調理・加工による抗酸化性の変化を検討した (図 4)。生豆の加熱調理において「煮る」操作を加えた場合、抗酸化性成分は減少したが抗酸化性は維持された。この現象は、抗酸化物質 Z は加熱により分解されるが、その重合体が抗酸化性を有することを示唆している。一方、「茹でる」では、有意に抗酸化性が低下した。この要因として、「煮る」操作では煮汁を煮含めたが、「茹でる」では調理中に茹で汁が鮮やかに着色したことから、抗酸化物質 Z の溶出が要因であると推測した。よって、紫えんどうの抗酸化性を活用するためには、調理の際に抗

酸化物質が水溶性であることを考慮し、煮汁も一緒に利用する調理方法、例えば、含め煮、あるいはスープや餡として煮汁を利用する方法が適すると考えられた。

一方、生豆から乾燥豆への加工によって、紫えんどうの表皮が緑えんどうと比較して赤黒く、扁平になり、赤えんどうと同様の外観を呈した。抗酸化性は、乾燥豆においても紫えんどうが一般品種よりも高い傾向にあった。しかし、乾燥によって、抗酸化性は約 1/3 に低下したことから、抗酸化性の点では生豆での利用が望ましいことが示された。

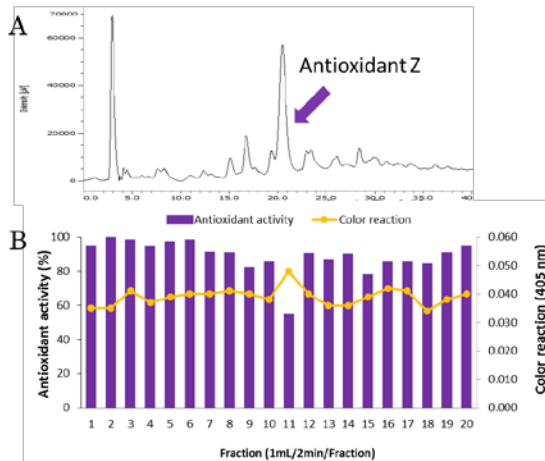


図 3 紫えんどう種皮抽出物の粗精製画分の HPLC パターン(A)、抗酸化活性と着色反応(B) HPLC で 2 分毎に分画し、DPPH ラジカル消去活性を測定した。数値が低いほど抗酸化性が高いことを示す。また、90℃で 1 時間加熱し、着色画分を探索した。

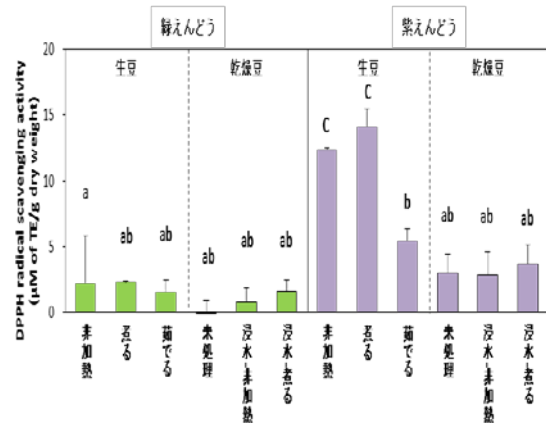


図 4 各種調理によるえんどうの抗酸化性の変化

調理後のえんどうの凍結乾燥試料から成分を抽出し、DPPH ラジカル消去活性を測定した。異なるアルファベット間には、有意差 (p<0.05) があることを示す。

### 3) 紫えんどうを利用した調理・加工食品の開発・実用化

紫えんどうを活用するために、生豆および乾燥豆を用いた餡特性を緑えんどう餡および小豆餡と比較した (図 5)。光学顕微鏡による形態観察から、えんどうは小豆よりも細胞が大きくでんぷん粒の数が多いことが示された。官能検査の結果では、緑および紫の生豆餡の間には、食感、味、香り、総合評価において有意差はなく、緑えんどうと同様に餡として利用できると考えられた。色に関しては、緑豆がうぐいす色であるのに対し、紫えんどう餡は着色成分が影響し、やや暗色であった。

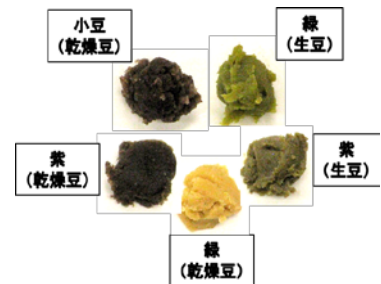


図 5 各種豆から調製した餡

一方、乾燥豆を用いた餡の比較では、緑えんどうの緑色は乾燥により退色し、黄色を呈した。紫えんどう餡は乾燥後の色が反映され、小豆色よりは明るい小豆餡に似た外観であった。官能評価では、紫えんどう餡は小豆餡と有意差はなく、渋味がない餡として利用できることを示した。

以上のように、本研究では、えんどう豆の古代品種である紫えんどうの調理による着色機構の一端を明らかにした。さらに、調理・加工における抗酸化性の挙動解析により、紫えんどうの優位性を提示した。利用にあたり、特有の着色や抗酸化性の点では生豆としての利用が好ましいが、乾燥した紫えんどうは、一般品種の豆と同様に保存性や吸水後の復元性にも優れ、小豆と同等の調理特性を有することを示した。