

## 平成30年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

- 1 課題名 雑豆および雑豆麴における細胞保護成分に関する研究
- 2 研究者 中部大学 応用生物学部 環境生物科学科 准教授 金政 真

### 3 成果概要

#### (1) 研究目的

適合溶質は、塩湖に生息する好塩バクテリア（細菌）*Ectothiorhodospira halochloris*等において乾燥や高塩濃度などの高浸透圧状態などの致命的なストレスから細胞を保護する成分として知られている。適合溶質は環状アミノ酸構造の双性イオンであり、細胞外の塩濃度依存的に細胞内適合溶質濃度が調整されることで浸透圧耐性に貢献している。また適合溶質は、タンパク質、核酸、細胞膜等の生体高分子を安定化することにより、ストレスから細胞を保護すると考えられている。応用面では保湿クリームや日焼け止め剤、タンパク質安定剤に利用が試みられている機能性物質である。適合溶質は、これまで原核生物であるバクテリアでのみ存在が知られてきたが、我々は独自に開発した重水素化適合溶質を用いた高感度分析法を用いることで、味噌や清酒などの生産に不可欠なカビである麹菌（コウジカビ）の仲間も適合溶質を生産することを発見した。カビが適合溶質を生産することが分かったことで、カビを用いて作る小豆麴など豆麴についても適合溶質が含まれる可能性が大きくなった。しかし、豆麴や豆類において分析に基づいた知見は皆無であった。そこで、本事業による助成を受けて、豆類および豆麴の適合溶質含有に関する知見を得るために、我々の開発した高感度分析法を駆使して分析を実施した。また、本研究では雑豆に加えて大豆も研究対象とした。

#### (2) 研究方法

##### ①材料

市販の8種類の乾燥豆（大豆、小豆、赤えんどう、青えんどう、いんげん、黒豆、金時豆）を用いた。また、それぞれの豆を原料として、はったい粉と米麴を添加し、反応して豆麴を作製した。

##### ②分析方法

豆麴中の適合溶質を定量分析するために、豆麴の破碎及びメタノール抽出を行い、これに我々が合成した重水素化適合溶質添加して液体クロマトグラフィー質量分析/質量分析（LC-MS/MS分析）を行った。

### (3) 研究成果

#### ①豆類を分析試料とする適合溶質分析用前処理法の最適化

LC-MS/MS 法は分析対象の物質を特異的かつ高感度に分析するために最適な方法であるが、現状では分析する前に、試料に応じた破碎や脱塩、夾雑物除去などの前処理が必要である。本事業では、豆類に含まれる適合溶質を安定して測定できるように試料の前処理法を検討した。その結果、破碎用 5 ml チューブに通常の乾燥豆のサンプル 0.2 g と 10 mm ステンレスビーズ 2 個を入れて、 $\mu$ -12 ビーズ破碎機(タイテック株式会社)にセットし 2500 rpm/min で 30 秒破碎を行う方法が効率的であった。豆の破碎が不十分であるときは同じ振盪速度にて追加で破碎を行った。さらに、試料中の適合溶質を分離濃縮して高感度分析法することを目指し、固相抽出カラムを用いた前処理法も検討した(図1)。ここで得られた知見は、今後適合溶質に限らず豆類の分析に応用が可能である。

#### ②豆類の適合溶質分析

最適化した前処理法と、我々が合成した重水素化適合溶質を利用して、豆類および豆麴に含まれる適合溶質の定量分析法の確立を試みた。大豆、小豆、青えんどう、赤えんどう、いんげん、黒豆、そら豆、金時を試料として分析した。その結果、良好なクロマトグラムが得られ、解析したところ何れの豆においても適合溶質が検出された。大豆や黒豆に適合溶質の含量が多かった(図2)。これまで、豆類に限らず、植物での適合溶質の知見は皆無であったため、今回の成果は極めて新規性が高いと評価できる。

#### ③雑豆麴に含まれる適合溶質の定量分析

上記 8 種類の豆について、それぞれの麴を作製し、適合溶質を分析した。麴は、各豆を蒸した後、米麴を種として 30℃で培養することにより作製した。麴作りに使用する豆以外の原料の影響も調べるため、はったい粉、麴菌、米についても分析した。その結果、小豆、青えんどう、赤えんどう、いんげん、黒豆は麴にすることで適合溶質含量が増加する傾向が見られた(図2)。豆以外の原料については、麴菌で適合溶質が検出されたが、はったい粉と米は極めて低い含量であった(結果は示さず)。麴は乾燥豆と比較して高精度の分析がやや困難であったため、今後、前処理法を最適化して再現性の高い分析を目指す。

#### ④今後の展望

本事業により、豆類および豆麴において適合溶質を検出することができた。今後、育種や栽培条件を検討することにより同成分含量を向上させられる可能性があり、豆類を用いた新産業の構築により豆類の需要拡大が期待される。

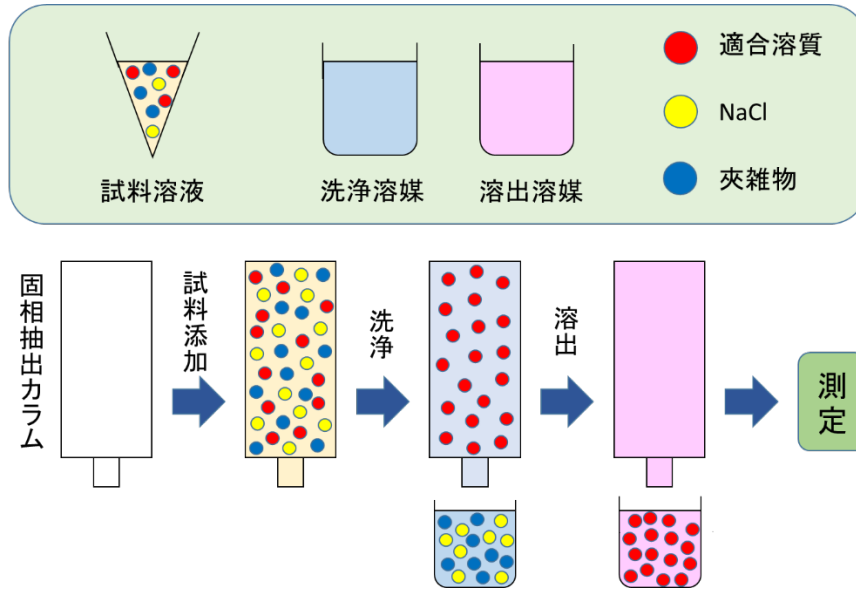


図1 固相抽出カラムを用いた試料前処理法の概要

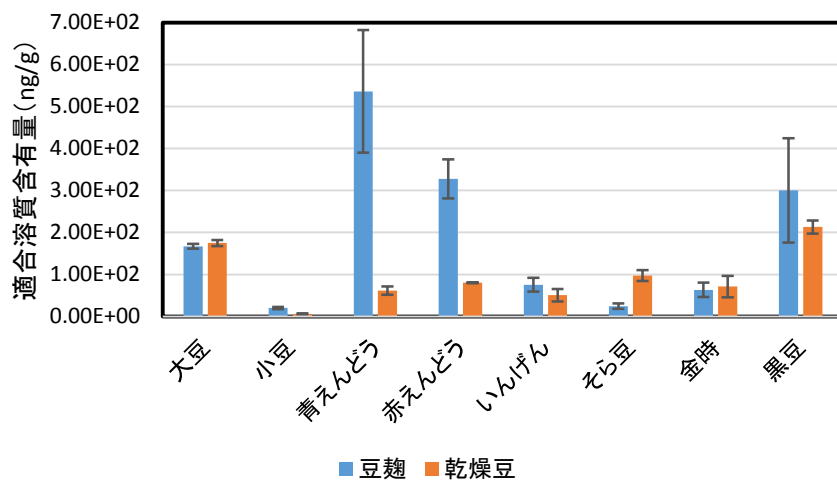


図2 豆類および豆麩の適合溶質含有量