

ポリアミン高含量の納豆開発について

久保 雄司* 中川 力夫*

1. はじめに

ポリアミンは化学的には1分子の中に2つ以上のアミノ基をもつ物質の総称で、抗酸化作用、抗炎症作用、ラジカル消去能¹⁾など様々な生理作用があると報告されており、その健康機能性が注目される成分の一つである。ポリアミンは大豆などの豆類、野菜、魚介類、及びキノコ類はポリアミン含量の高い食品であり、納豆も比較的含有率の高い食品である。

なお、本報告の中では主にプトレスシン(PUT)、カダベリン(CAD)、スペルミジン(SPD)、スペルミン(SPM)の4つの物質(図1)をポリアミンを指す言葉として用いる。

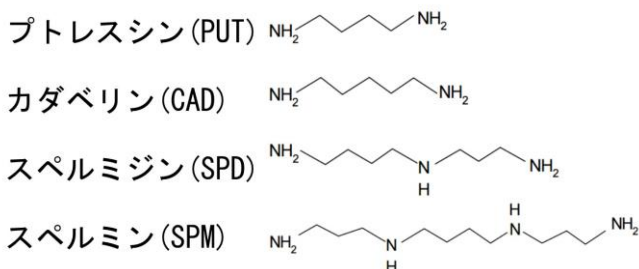


図1 ポリアミンの構造

2. 目的

本研究事業は平成26年度から28年度にかけて、ポリアミン含量の高い納豆の開発と、高ポリアミン納豆を継続摂取することによって生じるヒト血中ポリアミン濃度の上昇やポリアミンの生理活性発揮の有無を検討し、納豆の機能性を検証することを目的とした。学校法人自治医科大学さいたま医療センター、栃木県産業技術センター、新潟県農業総合研究所食品研究センター及び茨城県工業技術センターがコンソーシアムを組むと共に、全国納豆協同組合連合会も参画して取り組んだ。研究の統括及びポリアミンの機能性に関する基礎研究は自治医科大学で行い、全国納豆協同組合連合会は高ポリアミン納豆の試作と、ヒト介入試験への協力を行った。そして、栃木県産業技術センター、新潟県農業総合研究所食品研究センター及び当センターでは、高ポリアミン含量の納豆を製造する条件の検討を行った。当センターでは、納豆のポリアミン含量に与える納豆菌株と製造条件の違いの評価を担当した。以下、当センターの実施内容について記載する。

3. 研究内容

使用する大豆、製造条件及び蒸し大豆の単位重量あたりに添加する納豆菌数を統一し、使用する納豆菌株の違いに起因する納豆のポリアミン含量を評価した。また、発酵条件の違いがポリアミン含量に与える影響を検証するため、恒温器を39℃、43℃及び46℃に設定して18時間と24時間で発酵を行い、同様にポリアミン含量の測定を行った。そして、製造後の挙動を評

価するため、製造後5℃で7日間経過した時点におけるポリアミン含量の測定を行った。

3.1 高ポリアミン納豆が製造できる菌株の一次スクリーニングと二次スクリーニング

一次スクリーニングとして、当センターで保有する60株の納豆菌株と、種菌メーカーである宮城野納豆製造所が販売する宮城野菌株を対照株に用いて納豆を試作し網羅的にポリアミン含量の分析及び解析を行った。

全ての試験菌株で、スズマルを原料とし、発酵用恒温器の設定温度を39℃、20時間発酵を行った。納豆は、発酵終了後、数時間以内に-60℃で冷凍、フリーズドライ(FD)処理を行い、破砕して試験サンプルとした。

二次スクリーニングは一次スクリーニングの結果、スペルミジンの増加幅の大きかった株と小さかった株を4株ずつ選抜し、スズマルを原料に用い、39℃及び43℃で20時間発酵させた際のポリアミン含量を測定した。サンプルの分析は、図2のとおり行った。

①前処理	
・納豆をフリーズドライ(FD)し、フードプロセッサーで破砕	
・5%TCAで3回抽出、メスアップ後、フィルター濾過(ADVANTEC 25AS045AS)	
②HPLCにより定量(OPAポストカラム蛍光誘導体化法)	
・分析カラム	: 東ソー TSKgel Polyamine pak (4mmφ×5cm)
・流速	: 移動相: 0.5ml/min, 反応液: 0.4ml/min
・カラムオープン	: 50℃
・検出(蛍光)	: 励起波長340nm, 検出波長470nm
・分析プログラム	: 0-5min. Buffer1 100% 5-35min. Buffer2 100% 35-40min. 再生液(0.8%NaOH) 100%

Buffer 1 (1L当たり)		Buffer 2 (1L当たり)		反応液 (1L当たり)	
クエン酸3Na・2H ₂ O	5.5g	クエン酸3Na・2H ₂ O	27.4g	o-フタルアルデヒド	1.0g
n-カプリル酸	16μl	n-カプリル酸	80μl	エタノール	10.0ml
Brij-35	0.16g	Brij-35	0.78g	メルカプトエタノール	2.0ml
塩酸 (20%溶液)	1.9ml	塩酸 (20%溶液)	9.2ml	水酸化ナトリウム	16.0g
メタノール	40ml	メタノール	200ml	ホウ酸	24.7g
塩化ナトリウム	23.4ml	塩化ナトリウム	117g	Brij-35	6.7g
pH	5.28	pH	5.28		

図2 納豆サンプルの分析プロトコル

3.2 高ポリアミン納豆の製造条件の検討

原料にスズマルまたはナカセンナリを使用し、発酵用恒温器の設定温度を43℃及び46℃、発酵時間は18時間及び24時間として納豆を製造した。保存期間0日のサンプルは、発酵終了後、数時間以内に-60℃で冷凍、保存期間7日のサンプルは、発酵終了日を起点として約5℃、7日保存後に-60℃で冷凍、FD処理を行い、破砕して試験サンプルとした。それぞれのサンプルのポリアミン含量を測定し、原料、発酵温度、発酵時間、製造後からの経過時間の影響を評価した。

4. 研究結果と考察

4.1 高ポリアミン納豆が製造できる菌株の選抜

全ての試験菌株について、スズマルを原料とし、39℃、20時間で発酵した納豆の網羅的な分析及び解析を実施し、使用する菌株により、ポリアミン含量に違いが生

*地場食品部門

じることを確認した。PUT, CAD及びSPMは発酵することで蒸し大豆よりは減少する傾向が見られるものの、PUT, CADは減少量も菌株間の差も小さいことが明らかになった。一方、SPDは発酵により増加することが確認された。本研究では、煮豆ではなく納豆の評価を目的としているので、発酵により増加するSPDに着目し、二次スクリーニングはSPDの増加量の大小で評価を行うこととした。一次スクリーニングとして実施した網羅的解析で特にSPD含量に優れた納豆菌株、また逆に含量の少なかった菌株を4株ずつピックアップした結果、増加量の大きかった4株は、No.29, No.30, No.44, No.55となり、増加量の小さかった株は、No.35, No.36, No.38, No.39となった。これらの株を用いて再現性を確認すると同時に、特にスペルミジン含量の高い納豆菌株の選抜のための二次スクリーニングを実施した(表1)。39℃におけるSPD含量の大小は、1次スクリーニングの結果と同じ傾向を示した。発酵温度を43℃に上げると序列に変化が生じたが、安定して高いSPD含量を示した宮城野菌株と当センターの保有株であるNo.55株を高ポリアミン納豆が製造できる納豆菌株であると判断し、製造条件の検討に使用することとした。

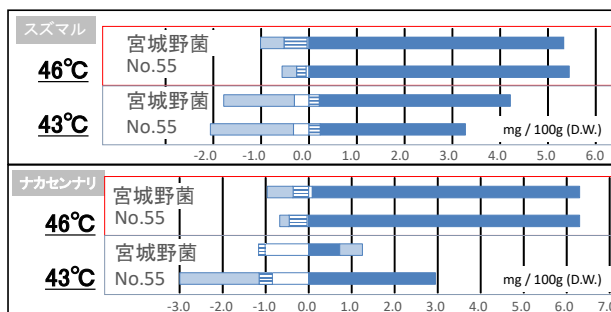
表1 二次スクリーニングの結果 (SPD)

菌株No.(発酵温度)	mg/100g D.W.	菌株No.(発酵温度)	mg/100g D.W.
スズマル(蒸し豆)	20.3	スズマル(蒸し豆)	20.3
No.38 (39℃)	20.6	No.36(43℃)	20.3
No.35 (39℃)	21.1	No.29(43℃)	21.9
No.39 (39℃)	21.2	No.38(43℃)	22.0
No.36 (39℃)	21.5	No.30(43℃)	22.3
No.44 (39℃)	21.8	No.35(43℃)	22.4
No.29 (39℃)	22.1	No.39(43℃)	22.6
宮城野菌 (39℃)	23.0	No.44(43℃)	23.6
No.30 (39℃)	23.4	No.55(43℃)	24.2
No.55 (39℃)	23.9	宮城野菌 (43℃)	24.8

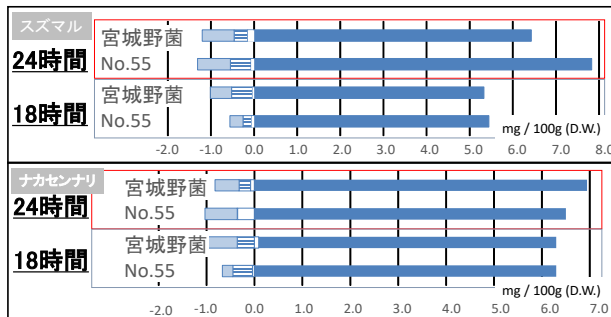
※数値は乾燥納豆100g当たりで表記 (D.W. = dry weight)

4.2 高ポリアミン納豆の製造条件の検討

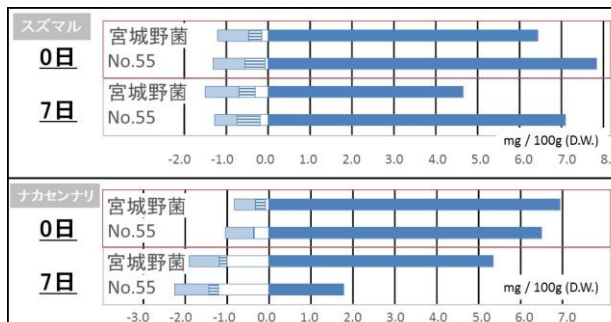
菌株として宮城野菌株とNo.55株を、原料にスズマルとナカセンナリを使用し、製造条件や保存期間を変えた場合におけるポリアミン含量の比較を行った結果を図3に示した。なお、図3は納豆のポリアミン含量から蒸し大豆のポリアミン含量を差し引いた結果、つまり、純粋に発酵により増減した結果を棒グラフで表しており、蒸し大豆を基準(±0)として、発酵により増加した成分は、プラス側に、減少した成分はマイナス側に伸びる形で表した。その結果、No.55及び宮城野菌のどちらの菌株においても、46℃で発酵させた方がSPDの増加量が大きく、同時に、減少するポリアミン類の減少幅が少ない傾向にあることも確認された(図3(a))。発酵時間の影響について、46℃で18時間と24時間発酵させた場合について比較した場合、ナカセンナリでは違いが小さいものの、より長く発酵させた場合にポリアミン含量が高くなることが示唆された(図3(b))。46℃、24時間で発酵を行い、発酵終了直後と5℃で7日間保存した場合のポリアミン含量を比較した場合、全ての試験区分で保存期間7日方がポリアミンの減少が進むことが確認されたが、今回の試験では特にナカセンナリを使用した場合、減少幅が大きい結果となった。



(a) 43℃と46℃で18時間発酵させた際の比較



(b) 46℃で18時間と24時間発酵させた際の比較



(c) 発酵終了直後と5℃で7日間保存した際の比較

PUT (white), CAD (hatched), SPD (blue), SPM (light blue)

図3 製造条件や保存期間を変えた場合のポリアミン含量の違い

5. まとめ

- 種々の条件で製造した納豆のポリアミン含量を測定したところ、以下のことが明らかになった。
- ①納豆菌の作用で増えるのはSPDで、株の違いにより増減量に差がある。
- ②宮城野菌とNo.55株でSPDの増加量が大きかったが、2株の差は僅かである。
- ③発酵18時間と24時間では、24時間においてSPD含量が高くなる傾向がある。
- ④発酵39℃、43℃、46℃では、46℃においてSPD含量が高くなる傾向がある。
- ⑤製造直後と7日間保存後では、7日保存でSPD含量が減少する傾向がある。

6. 謝辞

本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業で実施した成果であり、ここに記し謝意を示す。

7. 参考文献

1) Soda, K., Kano, Y., Chiba, F., Koizumi, K. and Miyaki, Y., *PLoS One*. 8, e64357(2013).