

粘性物質高含有大豆製品の研究開発

野口 友嗣* 久保 雄司* 中川 力夫*

1. はじめに

大豆製品はこれまでの疫学研究で機能性を有することが示唆されている食品である。その中でも納豆は主要な大豆製品の一つであり、大豆製品の健康増進効果における納豆摂取の寄与は高いと想定される。そこで本研究では、納豆に含まれ、機能性が期待される成分である γ -ポリグルタミン酸(γ -PGA) (図1)の機能性評価を行うとともに、国産大豆を使用した納豆等の機能性大豆食品の製造技術を開発することを目指す。

さらに、機能性大豆食品のヒト介入試験を行って、機能性表示食品としての届出を目標とする。

なお、本研究は農林水産省委託プロジェクト「地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発」中の「茨城、長野、沖縄の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発」事業における課題「健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発」(平成28年度～平成32年度)において、当センターと国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門、筑波大学 医学医療系、タカノフーズ株式会社が協力して進めている。

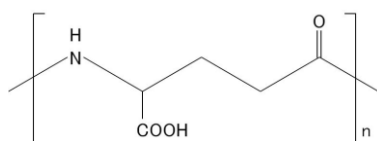


図1 γ -ポリグルタミン酸

2. 目的

機能性表示食品として有効成分である γ -PGA含量を表示するためには、 γ -PGAを正確に定量することが必要である。そのため今年度は、納豆中の γ -PGAを高い正確性をもって定量する方法の確立を目的として、その技術開発に取り組んだ。

3. 研究内容

3.1 供試材料

材料には、タカノフーズ株式会社より提供を受けた納豆市販品を用いた。

3.2 内容

3.2.1 既存 γ -PGA定量方法の検討

γ -PGA定量方法ではこれまで銅塩法^{1,2)}、エタノール沈殿法^{3,4)}、ゲル濾過高速液体クロマトグラフ(HPLC)法⁴⁾及びセチルトリメチルアンモニウムブロミドを用いた吸光光度分析法(CET法)⁵⁾などが報告されている。これらの γ -PGA定量方法が本研究に適用できるか試みた。

3.2.2 納豆中 γ -PGA定量方法の開発

サンプルのタンパク除去工程としてクロロホルム抽出、エタノール沈殿法及びトリクロロ酢酸(TCA)沈殿法を検討した。また、 γ -PGAはグルタミン酸のポリマーであることから、HPLC測定の再現性向上のため、塩酸加水分解により γ -PGAをグルタミン酸に分解後、得られたグルタミン酸含量を γ -PGA含量に換算して算出する方法も検討した。

4. 研究結果と考察

4.1 既存 γ -PGA定量方法の検討

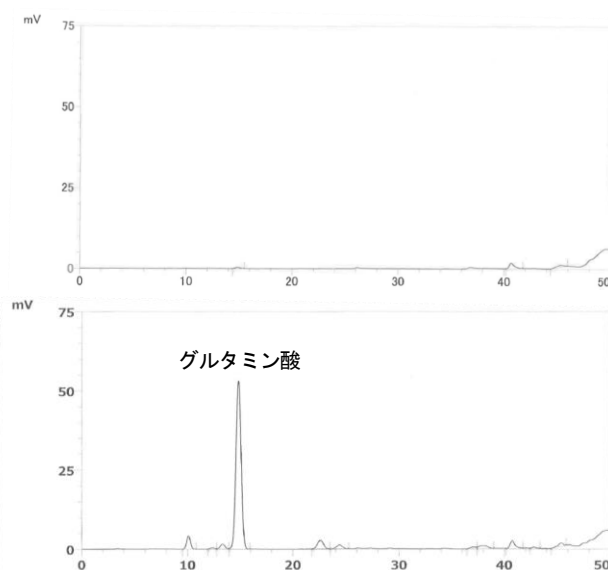
これまで報告があるエタノール沈殿法、ゲル濾過HPLC法及びCET法を検討した。その結果、いずれの方法も同一試料間でのデータ再現性に問題があったため、本研究において γ -PGA定量として用いるには不適当だと判断した。すなわち、本研究で適用可能な納豆中 γ -PGA定量法を独自に開発する必要があることが分かった。

ここで、データの再現性がない理由として、納豆由来の残存タンパク質が影響していることが考えられた。

4.2 納豆中 γ -PGA定量方法の開発

タンパク除去工程にクロロホルム抽出、エタノール沈殿法及びTCA沈殿法を試した。その結果、クロロホルム抽出とエタノール沈殿法を組み合わせることで、HPLCで分析可能な γ -PGAを回収することができた。

また、 γ -PGAをグルタミン酸に加水分解してHPLCで測定するにあたり、その分解条件を検討した。ここで110℃、4時間加水分解を行ったときの、分解前後の



サンプルのHPLCクロマトグラムを図2に示す。

上: 塩酸加水分解前のHPLCクロマトグラム

下: 塩酸加水分解後のHPLCクロマトグラム

図2 開発した手法による納豆中グルタミン酸の定量

図 2 より、塩酸加水分解前で検出されなかったグルタミン酸のピークが塩酸加水分解後に検出されており、 γ -PGA がグルタミン酸に分解、検出されていることを確認した。

その後、測定したグルタミン酸濃度から γ -PGA 濃度への換算係数を乗じて γ -PGA 量を算出した。このときグルタミン酸 (分子量 147.13) が 2 分子以上重合すると、1 分子あたり H_2O (分子量 18.015) 分減少することから、換算係数は 0.8776 とした。

以上の結果より、再現性良く分析可能な納豆中 γ -PGA の定量方法を開発した。ここで、開発した定量方法の分析手順を図 3 に示す。

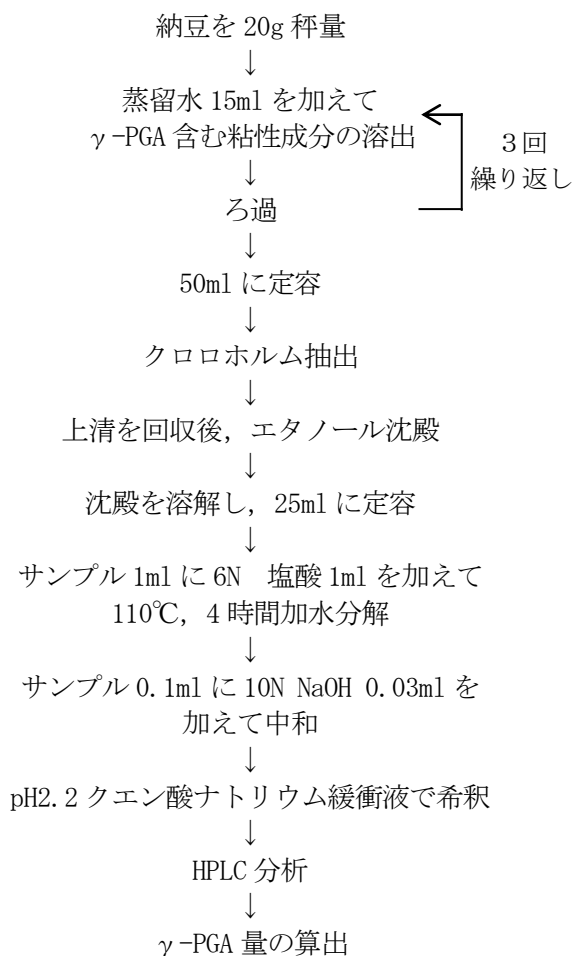


図 3 納豆中 γ -PGA の定量方法

図 3 に示した定量方法を小粒納豆に適用した。塩酸加水分解前後のグルタミン酸濃度を HPLC で測定することで、良好に γ -PGA を定量することができた。

今年度に確立した納豆中の γ -PGA 定量方法を用いて、今後は、大豆の品種や納豆製造時の条件を変えた納豆試作品の γ -PGA を定量、比較することで、 γ -PGA 高含有納豆の開発に向けた検討を行う予定

である。

5. まとめ

高い正確性をもった納豆中の γ -PGA 定量方法を確立するための技術開発に取り組んだ。

- (1) エタノール沈殿法、ゲル濾過 HPLC 法及び CET 法を検討した。いずれの方法も再現性に問題があり、本研究の定量方法として不適であった。
- (2) クロロホルム抽出とエタノール沈殿法、塩酸加水分解を組み合わせた方法を開発した。この結果、再現性良く納豆中 γ -PGA を定量することが可能になった。
- (3) 今後は大豆品種や納豆製造時の条件を変えた場合の納豆中 γ -PGA を定量、比較する。

6. 謝辞

本研究は農林水産省委託プロジェクト「地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発」中の「茨城、長野、沖縄の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発」事業における課題「健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発」の一環として行った。ここに記して農林水産省関係者へ感謝の意を示します。

7. 参考文献

- 1) M. Bovarnick. The formation of extracellular $d(-)$ -glutamic acid polypeptide by *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.*, **145**, 415-424 (1942).
- 2) C. B. Thorne, C.G. Gomez, H. E. Noyes *et. al.* Production of glutamyl polypeptide by *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **68**, 307-315 (1954).
- 3) 村尾沢夫. α -アミノ酸ポリマー—ポリグルタミン酸発酵について—. *高分子*, **16**, 1204-1212(1969).
- 4) T. Nagai, K. Koguchi, Y. Itoh. Chemical analysis of poly- γ -glutamic acid produced by plasmid-free *Bacillus subtilis* (natto): Evidence that plasmids are not involved in poly- γ -glutamic acid production. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **43**, 139-143 (1997).
- 5) 菅野彰重, 高松晴樹. セチルトリメチルアンモニウムブロミドを用いた納豆の γ -ポリグルタミン酸の定量. *日本食品科学工学会誌*, **42**, 876-889 (1995).