

# 豆煮汁に含まれるオリゴ糖の構造特性及びプレバイオティック効果

博士前期課程 食物栄養学専攻 笹田 歩佳

## 【背景・目的】

豆類には様々なオリゴ糖が含まれており、プレバイオティクスとしての効果が認められているラフィノース族オリゴ糖（三糖のラフィノース、四糖のスタキオースなど）が乾燥豆 100 g 当たり数 g 含まれていることが報告されている。プレバイオティクスとは、腸内で有益な作用をもたらすビフィズス菌のような微生物の増殖（活性）を特異的に促進して宿主に有用な働きを発揮する難消化性の食物成分のことである。現在、大豆オリゴ糖、フラクトオリゴ糖及びイソマルトオリゴ糖などのオリゴ糖類が特定保健用食品“お腹の調子を整える食品”の関与成分として許可されている。

一方、豆類には、乾燥重量の 20~30%を占める貯蔵タンパク質から遊離した *N*-グリカンが多く蓄積していることがわかっている（数十 mg/乾燥豆 100 g）<sup>1)</sup>。*N*-グリカンとは、糖たんぱく質のポリペプチド鎖中のアスパラギン(Asn)のアミド窒素に *N*-アセチルグルコサミンが *N*-グリコシド結合した糖鎖であり、真核生物が産生する分泌型たんぱく質のほとんどが *N*-グリカンをもつ糖たんぱく質である。*N*-グリカン構造には、主に GlcNAc とマンノースから成るハイマンノース型と、それら 2 糖以外にキシロース、フコースなどが結合した複合型構造がある。植物細胞が産生する分泌型糖タンパク質には、トリマンノシルコア構造部分に B1,2Xyl と  $\alpha$ 1,3Fuc が結合する植物特異的な *N*-グリカンが結合するが多い。そして、この構造ユニットは動物糖たんぱく質には存在せず哺乳動物に対して強い抗原性を示すため植物抗原性糖鎖ともよばれ、大豆たんぱく質アレルギーにも植物抗原性糖鎖が結合している<sup>2)</sup>。また、小豆にはハイマンノース型 *N*-グリカンの M8 (Man<sub>8</sub>GlcNAc<sub>2</sub>)、手亡（白いんげん豆の一種）には M3FX (Man<sub>3</sub>Xyl<sub>1</sub>Fuc<sub>1</sub>GlcNAc<sub>2</sub>) の植物複合型 *N*-グリカンが比較的多く存在することが報告されている<sup>1)</sup>。しかし、これら植物抗原性糖鎖の機能については未だ不明な点が多く、動物型複合型 *N*-グリカンがある種のビフィズス菌増殖を促進することは報告されているものの<sup>3)</sup>、植物 *N*-グリカンによる腸内細菌増殖活性については報告例がない。

日本の食品会社、特に製餡（あん）所では、多量のゆで汁・煮汁が廃棄されており、それら廃液中にはラフィノース族オリゴ糖や *N*-グリカンなどの高機能性オリゴ糖が多量に含まれていると考えられる。そこで本研究では、廃棄されている豆煮汁を機能性食品や試薬の供給源として利用することを目的とし、6 種の乾燥豆から調製した豆煮汁由来オリゴ糖の組成成分と、それらのビフィズス菌増殖促進活性を調べた。

1) Kimura M., et al., *Int. J. Biol. Macromol.* **153**(15), 1016-1023(2020)

2) Osada, T., et al., *Carbohydr. Res.* **448**, 18-23 (2017).

3) Karav., et al., *Appl. Environ. Microbiol* **82**, 3623-3630(2016)

## 【方法】

6 種の豆類（大豆、ひよこまめ、手亡、小豆、えんどう、レンズまめ）各々 500g から、一般的な餡の製造工程に準じて 2 時間加熱して煮汁を調製し、それらの凍結乾燥後の重量を

測定した。また、各々の凍結乾燥物（2 g）から、50%エタノール分画、陽イオン交換（Dowex 50×2）によりオリゴ糖画分を調製し、順相 HPLC-RI 及び LC-ESI-MS でラフィノース族オリゴ糖の分析を行った。次に、得られた豆煮汁オリゴ糖画分を用いて、4 種類のビフィズス菌（*Bifidobacterium. longum* subsp. *infantis* JCM 1222, *Bifidobacterium. longum* subsp. *longum* JCM 7052, *Bifidobacterium. adolescentis* JCM 1275, *Bifidobacterium. pseudocatenulatum* JCM 1200）に対する増殖活性を嫌気培養法により測定した。また、小豆・手亡の煮汁オリゴ糖画分をゲルろ過に供しスタキオースを精製し、HPLC 分析及び質量分析を行い純度を調べた。さらに同 2 種の煮汁オリゴ糖画分をピリジルアミノ化で蛍光標識を行い、順相 HPLC・逆相 HPLC に供して N-グリカンの精製・同定を行った。

#### 【結果・考察】

各煮汁凍結乾燥物の収量（g/乾燥豆 100 g）が多かったのは、手亡（12.2%）、小豆（11.0 %）及びレンズまめ（13.3 %）であり、ひよこまめ（6.5 %）とえんどう（6.6 %）では少なかった。

各煮汁オリゴ糖画分の糖組成分析の結果、ラフィノースはひよこまめ煮汁凍結乾燥物中に最も多かった（21.2 %）。スタキオースは大豆（17.9 %）、ひよこまめ（10.4 %）、小豆（14.4 %）及びえんどう（13.6 %）煮汁凍結乾燥物中に多く含まれ、これら豆煮汁が高機能性オリゴ糖の良い供給源になる可能性が示唆された。一方、手亡やレンズまめの煮汁中にはラフィノース族オリゴ糖が少なかった。また、6 種の豆煮汁オリゴ糖画分を用いたビフィズス菌増殖活性測定の結果、すべてのオリゴ糖画分が *B. longum* subsp. *infantis*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. pseudocatenulatum* を有意に増殖した（無糖培地との比較:  $p < 0.05$ , Bonferroni）。

小豆及び手亡の乾燥豆 100 g より調製した煮汁にはスタキオースが各々 1.16 g, 1.28 g 得られ、HPLC 分析及び質量分析の結果、精製したスタキオースの純度は 97~100% であることが確認できた。また、精製したスタキオースのビフィズス菌増殖促進作用は 4 種の菌すべてで有意に認められた（無糖培地との比較:  $p < 0.01$ , Bonferroni）。

小豆・手亡から調製した煮汁中に N-グリカン（M8, M3FX）の存在が認められたが、*B. longum* subsp. *infantis*, *B. longum* subsp. *longum* に対するビフィズス菌増殖促進作用は認められなかった。

#### 【結論】

ひよこまめ煮汁はラフィノースの供給源として、大豆、ひよこまめ、小豆及びえんどうの煮汁はスタキオースの良い供給源として利用できる可能性が認められた。6 種の煮汁オリゴ糖画分のビフィズス菌増殖促進作用が *B. longum* subsp. *infantis*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. pseudocatenulatum* で認められ、プレバイオティック効果を有する可能性があることがわかった。また、小豆・手亡の煮汁から純度の高いスタキオースの精製が可能であり、ビフィズス菌の増殖促進活性を有する機能性食品素材や研究用試薬のよい供給源となる可能性が示唆された。一方、小豆・手亡の煮汁には N-グリカンが含まれていることが明らかとなったが、ビフィズス菌の増殖促進作用は認められなかった。