

令和 5 年 6 月 25 日現在

機関番号：34316

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K14429

研究課題名（和文）加工食品への利用に向けた二価金属イオン沈殿特性の違いによる雑豆タンパク質の分類

研究課題名（英文）Classification of bean proteins by their different divalent cations precipitation properties for use in processed foods.

研究代表者

西澤 果穂（Nishizawa, Kaho）

龍谷大学・農学部・講師

研究者番号：30779252

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：雑豆11種類について、最適な加工方法、加工による特性、二価金属塩添加による沈殿特性の有無を検討した。各雑豆を蒸留水に浸漬し、吸水による重量の変化を観察した。吸水しない豆については、乾燥豆に穴をあけてから蒸留水に浸漬した。あるいは、乾燥豆を粉碎してから蒸留水に懸濁する方法を選択した。雑豆の種類により、吸水の有無が異なること、抽出液の調製方法の違いにより、抽出液のタンパク質濃度およびタンパク質の性質が異なることが示された。その豆に適した加工を施すことで、新たな加工食品の開発につながる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題で得られた各種雑豆の加工特性は、新たな植物性加工食品の開発に不可欠な知見であり、植物性タンパク質源の供給の安定性を増し、利用の少ない雑豆の利用価値を上げることに繋がる。また、ダイズ-コンゲリシニンとナタマメカナバリンは、同じ7Sグロブリンに分類されるにも関わらず、二価金属塩によって異なる沈殿特性の制御を示す。雑豆からタンパク質を抽出し、抽出タンパク質が示す沈殿特性を明らかにすることは、グロブリンタンパク質の研究においても有益な情報となる。

研究成果の概要（英文）：Eleven types of beans were examined for optimal processing methods, characteristics, and precipitation characteristics by addition of divalent cations. Each beans were soaked in distilled water, and changes in weight due to water absorption were observed. For beans that did not absorb water, holes were made in the dried beans before soaking in distilled water. Alternatively, dried beans were milled and then suspended in distilled water. The presence or absence of water absorption differed depending on the type of bean. In addition, the protein concentration and protein properties of the extract differed depending on the method used to prepare the extract. It was suggested that the appropriate processing of the beans could lead to the development of new processed foods.

研究分野：食品科学

キーワード：雑豆 ナタマメ カナバリン 植物性タンパク質

1. 研究開始当初の背景

植物性タンパク質の代表的な供給源の一つとしてダイズが挙げられる。ダイズの特長は高タンパク質であり、優れた加工特性を有することである。ダイズ主要タンパク質である 7S グロブリン (β-コングリシニン) および 11S グロブリン (グリシニン) は、多くの加工食品に利用されている。一方で、ダイズは食物アレルギー特定原材料に準ずるものとして指定されている。ダイズアレルギーは花粉症を発症するアレルギーと似ていることから、花粉症患者の増加に伴い、ダイズアレルギーを発症する患者も増加している (厚生労働省 HP)。また、気候条件の変化やエネルギー利用への増加によりダイズの価格は高騰しており、ダイズ製品の値段にも影響が出始めた (有井, 2013)。以上のことから、代表者はダイズ以外の新たな植物性タンパク質の供給源が必要であると考えた。雑豆の多くはタンパク質含量が約 20%以上であるにも関わらず、雑豆タンパク質の加工特性に関する情報が少ないことから、タンパク質源としての利用は乏しい。そこで申請者は、雑豆タンパク質の加工特性に関する知見が増えれば、雑豆の植物性タンパク質源としての利用も増えると考えた。申請者はこれまでに、雑豆の一種である白ナタマメについて、タンパク質を豊富に含む抽出液の調製方法を確立し、抽出タンパク質は 90 以上の加熱によって沈殿すること、ナタマメ主要タンパク質であるカナバリンの溶解性が二価金属塩濃度により可逆的に変化することを明らかにしている。カナバリンは、ダイズ β-コングリシニンと同じ 7S グロブリンに分類され、β-コングリシニンと同様に低濃度な二価金属塩の添加により沈殿する。しかしながら、より高濃度な二価金属塩の添加により可溶化するという β-コングリシニンにはない特長をもつ。この特長はカナバリンが β-コングリシニンとは異なる加工特性をもつ可能性を示す。これらの白ナタマメの研究結果から、他の雑豆においてもカナバリンや β-コングリシニンのような特性を示すタンパク質が含まれているのかについて興味を持ち、本研究課題を実施することとした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、マメ科の雑豆について、適した加工方法、加工による特性、二価金属塩添加による沈殿特性の有無を明らかにすることである。そのために、タンパク質含量が 20%程度の 11 種類の雑豆からタンパク質を抽出する方法を確立し、抽出タンパク質の沈殿特性をダイズおよびナタマメタンパク質の沈殿特性と比較した。

3. 研究の方法

試料とする雑豆は、赤ナタマメ、白ナタマメ、ソラマメ、オタフクマメ、エンドウマメ、インゲンマメ、ヒヨコマメ、レンズマメ、アズキ、ササゲ、リョクトウを対象とした。

各雑豆を蒸留水に浸漬し、吸水による重量の変化を観察した。吸水しない豆については、乾燥豆に穴をあけてから蒸留水に浸漬した。あるいは、乾燥豆を粉碎してから蒸留水に懸濁した。破碎、濾過、加熱など、様々な操作を組み合わせながら、抽出液を調製した。調製した各抽出液のタンパク質濃度を Bradford 法により測定し、タンパク質濃度が最も高い抽出液を雑豆抽出液とした。

雑豆抽出液を用いて、塩添加が雑豆タンパク質に与える影響について解析した。雑豆抽出液に様々な濃度で $MgCl_2$ を添加し、生じた上清および沈殿を SDS-PAGE に供することで、特徴的な挙動を示すタンパク質の有無を観察した。

4. 研究成果

豆を吸水させる方法の違い

白ナタマメ、ヒヨコマメ、ソラマメ、オタフクマメ、白インゲンマメ、赤エンドウマメ、レンズマメについては、乾燥豆を蒸留水に浸漬 (以下、浸漬法とする。) したところ、浸漬時間の増加に伴って緩やかに吸水した。いずれも 18 時間以上浸漬することで十分に吸水することが示された。

赤ナタマメについては、乾燥豆を蒸留水に浸漬しても吸水しなかった。乾燥豆の 4 箇所穴をあけてから蒸留水に浸漬することで吸水させる方法、あるいは、乾燥豆を粉碎してから蒸留水に懸濁する方法が適していることが示された。

ササゲ、アズキ、大納言、リョクトウについては、乾燥豆を蒸留水に浸漬してもほとんど吸水しない、あるいは 20 時間以上の大幅に時間がかかることがわかった。乾燥豆を粉碎してから蒸留水にて懸濁する方法 (以下、粉碎法とする。) が適していることが示された。ササゲおよびアズキは、浸漬法により調製した抽出液と比較して、粉碎法により調製した抽出液の方が低い傾向が示された。また大納言については、浸漬法により調製した抽出液と比較して、粉碎法により調製した抽出液の方がタンパク質濃度が有意に低値を示した。またアズキでは、粉碎法により調製した抽出液を遠心分離することで、大幅にタンパク質濃度が低下した。抽出方法により、抽出液のタンパク質濃度が異なることが明らかになった。

塩添加が抽出タンパク質に与える影響

ナタマメについては、主要タンパク質であるカナバリンの溶解性は塩化マグネシウムによって変化し、吸水方法の違いによって異なる挙動が観られた。ヒヨコマメについては、抽出液に $MgCl_2$ を添加すると、上清タンパク質は有意に減少したが、約 50% が残存した。また 75 以上の加熱で一部のタンパク質が沈殿することがわかった。ササゲ、アズキ、大納言については、いずれの豆においても、塩化マグネシウム濃度添加により主要なタンパク質はほとんど沈殿し、 $MgCl_2$ 濃度の上昇に伴い、再溶解する傾向が観られた。浸漬法および粉碎法により調製した抽出液に $MgCl_2$ を最終濃度が 5-50 mM になるように添加し、上清を SDS-PAGE に供した。ササゲおよびアズキのタンパク質バンドは $MgCl_2$ を添加することで減少した。大納言のタンパク質バンドは $MgCl_2$ 濃度 5 mM 以上で減少した後、30 mM 以上で再び増加した。抽出方法による違いは観られなかった。インゲンマメより調製した抽出液に $MgCl_2$ を添加することで、主要なタンパク質が特異的に沈殿することが明らかになった。本研究課題では、雑豆における最適な加工方法および加工特性について検討し、その結果は豆の種類によって異なることが明らかになった。これらの結果から、その豆に適した加工を施すことで、新たな加工食品の開発につながる可能性が示唆された。

ナタマメ主要タンパク質カナバリンの構造変化

ナタマメ主要タンパク質カナバリンの溶解性変化と立体構造の関係について、上清中に可溶化したカナバリンをゲル濾過クロマトグラフィーに供することで分析した。白ナタマメから蒸留水で抽出した抽出液中のカナバリンは一量体として存在することが示された。一方で、抽出液に低濃度の塩化マグネシウムを添加するとカナバリンは不溶化し、不溶化したカナバリンを高濃度の塩化ナトリウムまたは塩化マグネシウムで再溶解したカナバリンは、上清中において三量体であった。これらの結果から、抽出液中のカナバリンと高濃度塩化ナトリウムおよび塩化マグネシウム存在下におけるカナバリンの構造が異なる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nishizawa Kaho, Arii Yasuhiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Structural transitions of sword bean canavalin in response to different salt concentrations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e03037 ~ e03037
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2019.e03037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishizawa Kaho, Arii Yasuhiro	4. 巻 82
2. 論文標題 Sword bean variants and different pretreatments influence protein extraction and protein properties	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1821 ~ 1824
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1487273	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西澤果穂、有井康博
2. 発表標題 塩濃度の違いがカナバリンの溶解性および構造に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤果穂、名田涼香、南和加奈、有井康博
2. 発表標題 ナタマメ亜種における吸水性および抽出タンパク質の比較
3. 学会等名 日本農芸化学会関西支部大会（第522回講演会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------