

黒コウジカビを用いた大豆煮汁発酵により生じるイソフラボン配糖体

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2022-02-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 稲垣, 秀一郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://osaka-shoin.repo.nii.ac.jp/records/4822

黒コウジカビを用いた大豆煮汁発酵により生じるイソフラボン配糖体

健康栄養学部 健康栄養学科 稲垣 秀一郎

概要

アジア諸国には、タイの Luck Pang やインドネシアの Ragi、ブータンの Chang poo 等さまざまな米麴が存在し、これらの米麴から *Rhizopus* 属のカビや *Saccharomycopsis* 属の酵母等、多様な糖化微生物が分離されている。われわれはこれまで、これらの食用微生物を用いて実験レベルで米や大豆の発酵物を製造し、その保健機能（抗酸化活性や抗肥満効果）の調査を行ってきた¹⁾が、その過程において、発酵により β -3 アドレナリンレセプター (AR) 活性が亢進し、脂肪分解活性が促進されることが示された。そこで、発酵による β -3AR 活性の上昇の要因を解明するため、HPLC 分析により発酵物に含有される成分を比較した。その一つとして、黒コウジカビ (*Aspergillus awamori* および *A. luchuensis*) を用いた大豆煮汁発酵物を比較した結果について報告する。

方法

1. 発酵物および抽出物の調製

大豆 40g および純水 100mL を入れたビーカーをオートクレーブ処理 (121°C, 1 分間) することにより大豆を吸水させた後、純水 100mL を再度添加してオートクレーブ処理 (121°C, 20 分間) し、大豆を除いたものを大豆煮汁とした。三角フラスコ中に入れた大豆煮汁 100mL に菌液 (*A. awamori* NBRC4388 または *A. luchuensis* NBRC4314) の胞子を 1×10^4 個 / mL になるように添加し、恒温槽内 (37°C) で振とう培養した。発酵物から菌体を除去し、凍結乾燥により粉末化した後、三角フラスコに粉末 5g およびメタノール 200mL を混合させて一晩振とうし、その濾過液をメタノール抽出物とした。メタノール抽出物を乾固した後、純水と酢酸エチルの二層分配により得た酢酸エチル層をエバポレーターにより乾固し、酢酸エチル抽出物とした。

2. HPLC 分析

島津製作所 (株) の HPLC システムを用いて次の条件で分析を行った。固定相: COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (カラムサイズ, 4.5 × 150mm; 粒子径, 5 μ m)、検出器: PDA (SPD-M20A)、カラム温度: 40°C、移動相: A, 超純水 (0.05% TFA); B, アセトニトリル、溶離条件: 0-5

分, 100% A イソクラティック; 5-10 分, 0-20% B 直線グラジエント; 10-40 分, 20-40% B 直線グラジエント、流速: 1.0mL/分、注入量: 10 μ L (10mg/mL 酢酸エチル抽出物)

結果および考察

図 1 に大豆煮汁の黒コウジカビ培養物の酢酸エチル抽出物の HPLC 分析の結果を示した。

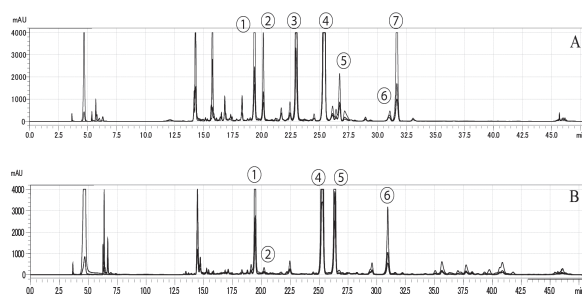


図 1 *A. awamori* (A) と *A. luchuensis* (B) の酢酸エチル抽出物の HPLC クロマトグラム

図1中のピーク②、④、⑤、⑦はそれぞれ既存のイソフラボン配糖体であるマロニルグリシチン、ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステインの標品のリテンションタイム (RT) と一致した。一方、①はスペクトルデータ (SD) からゲニステイン系と考えられたが、ゲニステイン、マロニルおよびアセチルゲニステイン標品と RT が一致しなかった。また、③も SD からゲニステイン系と考えられたが、ゲニステイン、マロニルおよびアセチルゲニステイン標品と RT が一致しなかった。⑥においても SD および RT からゲニステイン系と考えられたが、ゲニステイン標品と RT は一致しなかった。これらのピーク①、③、⑥は、最大波長がゲニステインおよびゲニステインよりも少し高い傾向があり、RT も各標準品と一致しないことから、黒コウジカビ特有の配糖体種である可能性が示唆された。ピーク⑥に関しては RT が各配糖体の RT よりも大幅に遅れているため、アグリコン (ゲニステインの誘導体) である可能性が考えられる。今後、これら3つのイソフラボンについて、ピーク画分を分取して構造解析を行う予定である。

引用文献

1) Inagaki et. al, *Food Sci. Technol. Res.* 19, 893-899.