発酵食品のD-chiro-inositolの測定

誌名	研究報告 / 香川県産業技術センター
ISSN	13465236
著者名	佐々原,浩幸 木村,功 藤澤,浩子 吉岡,直美
発行元	香川県産業技術センター
巻/号	8号
掲載ページ	p. 77-78
発行年月	2008年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

発酵食品の D-chiro-Inositol の測定

佐々原浩幸，木村　功，藤澤浩子，吉岡直美

発酵食品および豆類の myo-，scyllo-，D-chiro-イノシトールの含有量の測定を行った．納豆を除く，分析試料には myo-イノシトールが存在していた．D-chiro-イノシトールは大豆，大豆煮汁乾燥物，納豆中にそれぞれ凍結乾燥重 100g 当たり，312mg，612mg，1767mg 存在した．scyllo-イノシトールは赤ワインにのみ検出された．

1　緒言

イノシトールは 1,2,3,4,5,6-シクロヘキサンヘキサオールの総称で，6 個の水酸基の配座バリエーションによって 9 個の異性体が存在するが（図 1），自然界には myo-,D-chiro,L-chiro,muco-,scyllo-イノシトールの 5 種類が見出されており，一般には自然界に最も多く存在する myo-イノシトール（MI）を指す．MI はそれ自身，細胞成長に不可欠なビタミン B 群の一種として分類される場合もあり，脂肪肝・肝硬変などの予防・治療薬として，また各種ビタミンドリンク・乳児の必須ビタミン剤などに使用されるなど様々な利用がなされている．一方，MI の異性体であり，構造上 6 個の水酸基のうち一箇所のみが反転した D-chiro-イノシトール（DCI）は，MI 以上の生理機能を有し，インシュリン非依存型糖尿病[1]や多嚢胞卵巣症[2]の病状の改善効果が示されているほか，白内障の予防[3]，エネルギー代謝の活性化[4]，抗酸化成分の誘導[5]などがある．

DCI の生産については抽出法[6, 7]や微生物，酵素による生産法[8-13]が検討されているが，現状は生産コスト的な理由から DCI は比較的高価である．そこで MI からの DCI の微生物反応による高効率かつ低コストな発酵生産系の確立を目的とし，MI や DCI を含有する穀類（特に豆類）を原材料にした発酵食品中の MI および DCI を測定し，醸造微生物による転換の可能性について検討した．

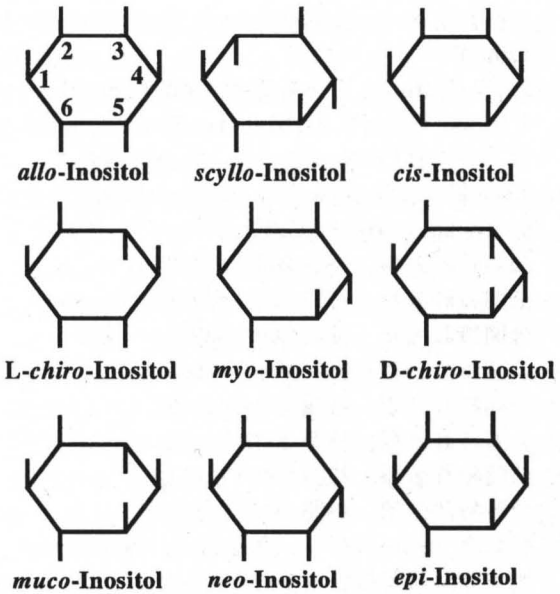

図1　1,2,3,4,5,6-Cycrohexanhexanol

2　実験方法

2-1　試料

さぬき白味噌，麦味噌，金山寺味噌，八丁味噌，濃口醤油，納豆，豆板醤，コチュジャン，米酢，黒酢，もろみ酢（マルキン忠勇社製），紹興酒，赤ワイン，本味醂，キムチ，オイスターソース，カマンベールチーズ，大豆，小豆，落花生の殻，米糠，大豆煮汁乾燥物（イヅツ味噌）[14]を用いた．固体試料はフードカッターにて微粉砕した後に，液体試料はそのまま凍結乾燥処理を行ったものを試料とした．

2-2　分析用試料の調製

試料からのイノシトールの抽出は，濃塩酸中での転換反応によりイノシトール前駆体（ピニトールなど）部位から生成するイノシトールを含む様に抽出処理を行った[6]．すなわち試料 100mg を精秤し，5ml の 9N HCl を添加した．密閉容器内にて 95℃，18 時間の抽出を行い，得られた溶液を 6N NaOH にて pH7.0 に中和した．活性炭にて脱色し，溶液を遠心分離，ろ過することで清澄な上澄液を得た．上澄液を脱塩装置（TOSOH）にて脱塩し，エバポレーターにて濃縮，乾固した．固形物を水にて溶解し，定容したものを分析用試料とした．

2-3　分析

標品の myo-，chiro-，scyllo-イノシトール（SI）は SIGMA 社製のものを用いた．イノシトールの分析はカラム GL-C611（HITACHI）を用い，示唆屈折計を用いた．移動相は 10^{-4}N NaOH，流速 1ml/min，カラム温度 60℃にて分析を行った．

3　結果及び考察

3-1　イノシトールの分析

図 2 に GL-C611 カラムによる 3 種のイノシトールのクロマトグラムを示した．各イノシトールの濃度は 0.1w/v%，インジェクション量は 20μl とした．標品の SI の分離は良好であった．MI と DCI のピークは重なるものの分析は可能であった．3 種のイノシトールの検出限界は 0.01w/v%であった．

3-2　発酵食品中のイノシトール

発酵食品及び豆類のイノシトール分析結果を表 1 に示した．供試試料である各種発酵食品および豆類の MI は納豆を除く，分析試料の全てに存在していた．特に DCI は大豆，大豆煮汁乾燥物，納豆中にそれぞれ凍結

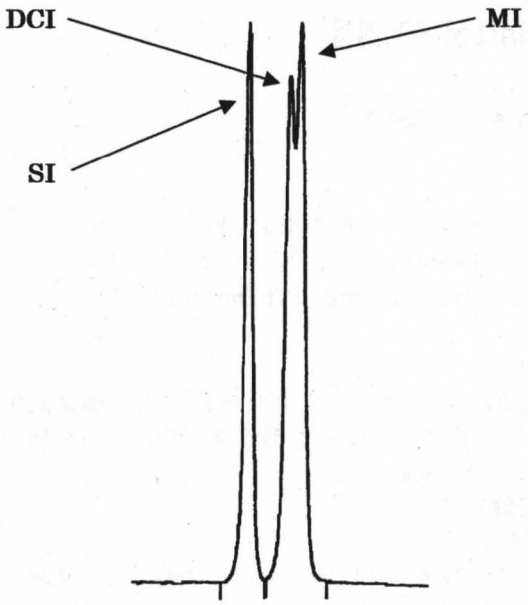

図2 イノシトールのクロマトグラム

乾燥重 100g 当たり，313mg，612mg，1767mg 存在した．SI は赤ワインにのみ検出された．

大豆に含有される MI 量は低く，味噌や醤油と言った大豆を原料とする食品は高い MI 含有量を示した．これは大豆や小麦中に含まれるフィチン酸が麹菌のフィターゼにより分解され，MI が生成したものと推定した．黒酢，米酢やもろみ酢に認められた MI 含有量の違いは熟成期間や使用した麹菌の種類により差異が生じたものと推定された．大豆，大豆煮汁乾燥物，納豆に含有されていた DCI は，大豆や大豆煮汁乾燥物中ではピニトールとして存在し，今回の試料調製条件においては脱メチル化され DCI に変換したことで検出されたものと推定した．納豆における DCI は一部が原料由来のピニトールからのものであるが，大豆の DCI 含有量を考えれば，大半は納豆菌がフィチン酸由来の MI を代謝し、DCI へ変換したものと推定した．納豆菌を含む枯草菌（*Bacillus*）の MI 代謝系の初発反応はイノシトール脱水素酵素により scyllo-イノソース（SIS）へ，更にイノソース脱水素酵素により D-2,3-ジケト-4-epi-イノシトールとなり，以降，多段階反応を経て解糖系およびクエン酸回路にて代謝されるものが主経路である[15]．一部が SIS より DCI への分岐経路に入ることで DCI の生成が生じることが知られている[15]．醤油や味噌の製麹や醸造中には *Bacillus* 属細菌は常在しているが，それらに DCI は検出されなかった．赤ワインにのみ検出された SI は SIS を還元することで得られると推定される．ワイン酵母がこの還元能を有していると考えられた．

4 結語

微生物の変換反応を用いた MI からの DCI 生産の可能性について検討するために，発酵食品中のイノシトールの測定を行った．DCI（納豆）や SI（赤ワイン）が検出され，MI からの DCI や SI の微生物生産の可能性は示唆された．現在，MI を単一炭素源として，酵母や耐熱性芽胞菌を中心に集積培養し，培地上澄の生産物を分析したところ SI, DCI のリテンションタイムに相当する生産物が確認された．

表1 食品中のイノシトール含有量（mg/100g）

品　　名	MI	DCI	SI
落花生（殻）	67	0	0
大豆	89	313	0
大豆煮汁乾燥物	156	612	0
小豆	525	0	0
米糠	732	0	0
白味噌	296	0	0
麦味噌	908	0	0
八丁味噌	1368	0	0
金山時味噌	567	0	0
濃口醤油	4243	0	0
納豆	0	1767	0
本みりん	104	0	0
紹興酒	3259	0	0
赤ワイン	2280	0	95.6
黒酢	1534	0	0
米酢	495	0	0
もろみ酢（マルキン）	1370	0	0
コチュジャン	879	0	0
豆板醤	38	0	0
オイスターソース	166	0	0
キムチ	220	0	0
カマンベールチーズ	167	0	0

参考文献

1) Fonteles M.C., Almedia M.Q. and Larner J.：Horm. Metab. Res., 32, 129-132 (2000)
2) Larner J.：Int. J. Exp. Diabetes Res., 3, 47-50 (2002)
3) Park J.H., Lee Y.J., Kim J.J. Shin Y.C. and Kim J.C.： J.Korean Ophthalmol Soc., 46, 1886-1893 (2005)
4) Kim M.J. Yoo K.Y. Seo Y.T. Ha B.W. Kho J.H. Shin Y.G. and Chung C.H.：Diabetes Res. Clin. Pract., 77, 247-251 (2007)
5) Okazaki Y., Setoguchi T. and Katayama T.：Biosci. Biotechnol. Biochem., 70, 2766-2770 (2006)
6) 公表特許公報，特表 2003-533498
7) 公開特許公報，特開 2005-139112
8) 公開特許公報，特開 2001-8694
9) 公開特許公報，特開平 10-42883
10) 公開特許公報，特開平 9-140338
11) 公開特許公報，特開 2007-68476
12) 公開特許公報，特開 2005-139112
13) 公開特許公報，特開 2005-87149
14) 岩崎賢一，田村桂子，久保将人，笹田布佐子，大西美弥：研究報告（平成 18 年度），香川県産業技術センター，7，59-60（2006）
15) 吉田健一，山口将憲，芦田均，藤田泰太郎：日本農芸化学会講演要旨集，p224（2005）