

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：82410

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K13834

研究課題名（和文）麺製品の風味形成に影響する生地中の酸化酵素の挙動とその制御

研究課題名（英文）Behavior and control methods of oxidative enzymes in dough affecting flavor formation of noodle products

研究代表者

成澤 朋之（Narisawa, Tomoyuki）

埼玉県産業技術総合センター・食品プロジェクト担当_北部・主任

研究者番号：60642676

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）： 麺製品の風味形成に影響するリポキシゲナーゼ(LOX)の挙動の把握とその制御方法の検討のため、小麦粉中のアイソザイム組成と小麦粉生地から生成する揮発性成分の品種間差を解析した。その結果、農林61号では過酸化脂肪酸の中で不飽和アルデヒド類が生成しやすい9-過酸化脂肪酸を生成するLOX-3の割合が高いことが分かった。このことから麺にした際の特徴的な風味へ大きな影響を与えていると考えられた。一方、カロテノイドは揮発性成分生成に抑制的に働くことが知られており、酵素に特徴がある品種とカロテノイドの多い品種とをブレンドすることで、風味の制御が可能ではないかと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

以前の研究から、国産小麦を使用した麺製品の独特な風味は、リポキシゲナーゼ(LOX)活性の高さに起因する脂肪酸酸化分解生成物であるアルデヒド類によるものであることが分かっていた。本研究成果により、このLOXのアイソザイム組成が揮発性成分生成に影響を及ぼすことが判明し、特に農林61号ではLOX活性が高いだけでなく、特異なアイソザイム組成によって独特な風味が形成されたものと考えられた。これらの結果は、様々な小麦粉加工品の開発において、狙った風味を有する製品デザインのための有用な指針を与えるだけでなく、今後、遺伝学的見地から多様な風味を有する小麦品種の開発を促進することが期待される。

研究成果の概要（英文）： To understand the behavior of lipooxygenase (LOX), which influences flavor formation in noodle products, and to explore methods for controlling this process, we analyzed the differences in isozyme composition of LOX and the volatile compounds produced from wheat dough among different wheat cultivars. The results showed that Norin61 had a high ratio of LOX-3, which generates 9-fatty acid peroxide that easily forms unsaturated aldehydes among fatty acid peroxides. This finding suggests a significant impact on the characteristic flavor of the noodles. Conversely, carotenoids are known to inhibit the formation of volatile compounds. It was presumed that flavor could be controlled by blending wheat cultivars characterized by specific enzymes and those high in carotenoids.

研究分野：食品化学

キーワード：小麦 酵素 揮発性成分 アイソザイム

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究により、麵製品の香りに寄与する揮発性成分の形成には、小麦に含まれる不飽和脂肪酸酸化酵素(リポキシゲナーゼ: LOX)により引き起こされる一連の脂肪酸酸化分解反応が関与していることが強く示唆された。麵に特徴的な香りがある小麦品種「農林 61 号」において、この LOX の活性が強かった一方で、この LOX 活性が同程度であった小麦品種「あやひかり」や「さとのそら」の間で、揮発性成分プロファイルが大きく異なることも確認された。この要因として、小麦粉中に含まれるカロテノイドやビタミン E などの抗酸化物質による不飽和脂肪酸の酸化反応に対する阻害が考えられた。麵の風味は、LOX による酸化反応の促進と抗酸化物質による反応阻害のバランスにより決定されると考えられるが、これらのメカニズムについてはこれまでに明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、この麵製品の風味形成メカニズムを解明することを目的とする。揮発性成分生成促進の側面から、小麦由来 LOX の添加による揮発性成分の生成メカニズムやその揮発性成分生成への影響を確認する。一方、反応抑制の側面から、小麦粉に含まれるカロテノイドやビタミン E の含有量を確認する。またこのメカニズムを揮発性成分の生成・抑制のバランス調整による麵製品の風味制御技術へと応用する。

3. 研究の方法

3.1 小麦粉試料

本研究では、麵用小麦である農林 61 号、さとのそら、あやひかりおよび関東 139 号の 3 品種 1 系統を用いた。これらの小麦試料は農業・食品産業技術総合研究機構 次世代作物開発研究センター(現作物研究部門、茨城県つくば市)の同一圃場において栽培されたものを使用した。

各小麦粒は夾雑物を除去後、水分が 14.5%となるよう加水し、ブラベンダー社製テストミルにて製粉し、A 粉(低灰分粉)、B 粉(高灰分粉)、ふすまを得た。A 粉を LOX 活性分析および後述する GC/MS による揮発性成分分析に供し、ふすまを LOX アイソザイムの分析に供した。

3.2 LOX アイソザイムの分画

LOX アイソザイムの分画は既報(Narisawa *et al.*, 2024)の方法により行った。小麦ふすま由来 LOX 抽出液のアイソザイム分画には HiTrap CM FF (CM セファロース充填済みカラム、5 mL、GE ヘルスケア製)を用いた。この CM セファロースに Nanodrop2000 (Thermo Scientific 製)による 280 nm の吸光度測定によりタンパク質濃度を測定した LOX 抽出液を、タンパク質量として 50 mg 分吸着させた。次に 50 mM 酢酸バッファー(pH 5.0)を 15 mL 加えて溶出した画分を非吸着画分とした。その後、1 M NaCl 含有 50 mM 酢酸バッファー(pH 5.0)にて、カラムに吸着した成分を溶出し、吸着画分とした。非吸着画分および吸着画分を、それぞれ Nanodrop2000 を用い 280 nm の吸光度を測定した。分画後の LOX 活性は既報(Narisawa *et al.*, 2024)の方法により測定した。

3.3 分画した LOX による過酸化脂肪酸の生成と異性体比の分析

前項にて分画を行った LOX を用いて、生成した過酸化脂肪酸の構造異性体比を既報(Narisawa *et al.*,

2024)の方法により分析した。リノール酸溶液または γ -リノレン酸溶液を基質として素通り画分および保持画分の LOX 抽出液と反応させることにより過酸化脂肪酸分析試料として、HPLC による分析へ供した。

3.4 揮発性成分分析

小麦粉(A 粉)へ 4%食塩水を対粉比で 50%加えて混練することにより生地を調製した。この生地について、既報(Narisawa *et al.*, 2019, Narisawa *et al.*, 2024)の方法により GC/MS を使用して揮発性成分分析を実施した。

3.5 統計解析

各種統計解析は Microsoft Excel for Office 365 (Microsoft 製)および R ver. 3.1.3 (<http://www.R-project.org>)を用いて行った。

4 . 研究成果

4.1 小麦 LOX アイソザイムの品種間差

小麦ふすまより抽出した LOX を分画した結果、農林 61 号以外の品種では吸着画分が 8 割から 9 割前後であったが、農林 61 号では吸着画分が 6 割程度となり、非吸着画分の割合が高い品種であることが分かった(表 1)。この非吸着画分は 9-過酸化脂肪酸を生成する割合が高かった。一方、吸着画分では 13-過酸化脂肪酸を生成する割合が高かった。このことから、非吸着画分は主に LOX-3 であることが示唆され、農林 61 号は LOX-3 の活性が他の品種と比べて著しく高い品種であることが分かった。逆に、吸着画分では 13-過酸化脂肪酸が主に生成され、LOX-1 が主であることが示唆された。

表 1 LOX アイソザイムの分画結果および生成される過酸化脂肪酸の異性体比

品種	画分	LOX 活性 (U)	活性割合 (%)	タンパク質 (mg)	比活性 (U/mg)	リノール酸基質			γ -リノレン酸基質		
						13-異性体 (%)	9-異性体 (%)		13-異性体 (%)	9-異性体 (%)	
あやひかり	非吸着	118.7	16.2	13.5	8.8	28.5	71.5		2.8	97.2	
	吸着	615.7	83.8	23.8	25.9	86.2	13.8		74.7	25.3	
関東139号	非吸着	69.5	6.6	16.5	4.2	12.4	87.6		2.1	97.9	
	吸着	981.7	93.4	33.4	29.4	83.6	16.4		89.4	10.6	
農林61号	非吸着	395.4	37.4	14.5	27.3	17.3	82.7		3.0	97.0	
	吸着	661.5	62.6	21.1	31.3	83.3	16.7		70.5	29.5	
さとのそら	非吸着	54.7	9.6	13.7	4.0	21.3	78.7		6.1	93.9	
	吸着	515.1	90.4	29.9	17.2	87.2	12.8		80.8	19.2	

4.2 揮発性成分生成への影響

GC/MS による揮発性成分測定の結果、炭化水素類 4 種類、飽和アルコール類 13 種類、不飽和アルコール類 7 種類、飽和アルデヒド類 6 種類、不飽和アルデヒド類 11 種類、飽和ケトン類 4 種類、不飽和ケトン類 6 種類、フラン類 3 種類、アミン類 1 種類、有機酸類 5 種類の計 60 化合物が検出された。

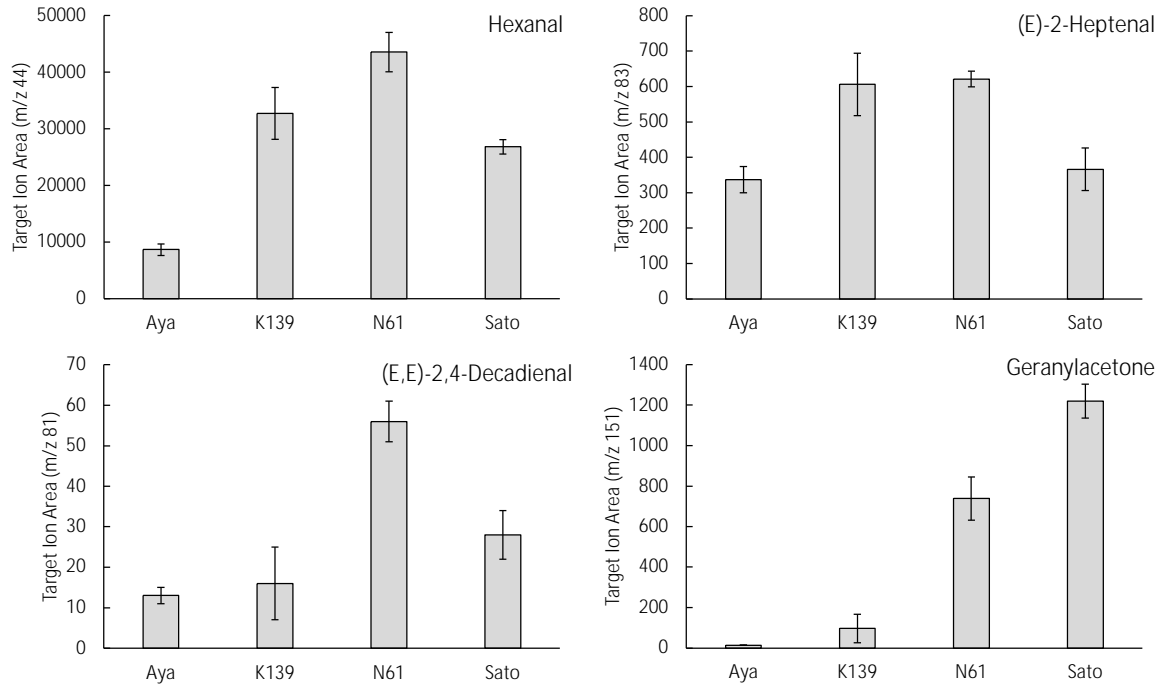


図 1 GC/MS 測定にて検出された代表的な化合物のターゲットイオン面積値(n=3、×10³)

LOX による脂肪酸酸化分解生成物と考えられる hexanal、(E)-2-heptenal、(E,E)-2,4-decadienal などの化合物が農林 61 号で多かった(図 1)。特に(E,E)-2,4-decadienal が相対的に多かった。これは農林 61 号が LOX-3 の多いアイソザイム組成となっているためであると考えられた。一方、geranylacetone はさとのそらで多かった。この geranylacetone はカロテノイドの酸化分解生成物であるという報告があり (Simkin *et al.*, 2004)、前報にてさとのそらの lutein 含有量が多いと報告されていることから (Narisawa *et al.*, 2019, 成澤 *et al.*, 2020)、lutein の含有量の多さに起因するものと考えられた。さらに、LOX-1 の代謝産物である 13-過酸化脂肪酸は、9-過酸化脂肪酸よりもカロテンを酸化しやすいという報告がある (Ramadoss *et al.*, 1978)。LOX-1 割合が高いさとのそらでは、過酸化脂肪酸と lutein の反応が LOX-1 割合が低い農林 61 号よりも起きたため、アルデヒド類の生成がされにくく、geranylacetone のようなカロテノイド分解生成物が生成されやすかったものと推測された。逆に農林 61 号は、アルデヒド類などの揮発性成分の生成に対して阻害物質として作用する lutein の含有量が低く、さらに総 LOX 活性の高さや LOX-3 の割合の高さなどが影響し、不飽和アルデヒド類が生成されやすい品種であることが判明した。この不飽和アルデヒド類を生成しやすいという特性が、麺にした際の独特な風味形成に大きな影響を与えたものと考えられる。

以上の結果から推測される揮発性成分生成および阻害についての概略図を図 2 に示す。よって、小麦生地中の揮発性成分生成の制御には、小麦 LOX の特徴把握とカロテノイド含有量の分析を行い、目的に応じたブレンドが有効であることが考えられた。

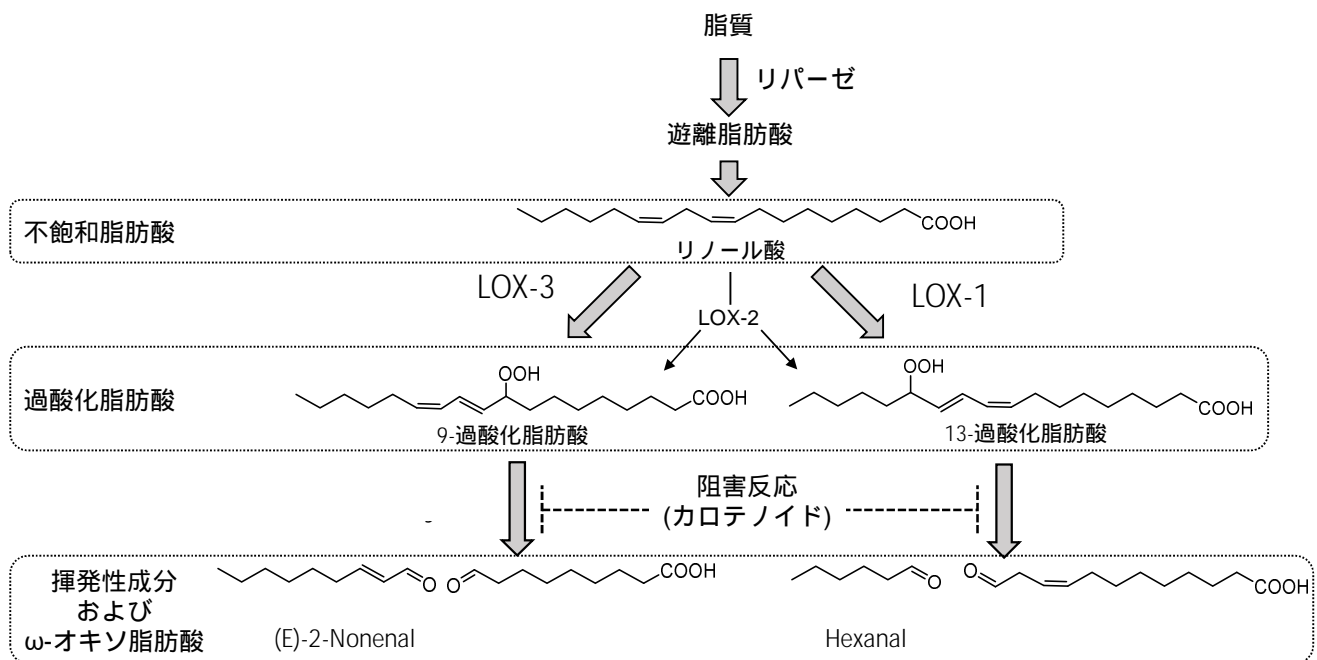


図2 小麦粉生地における不飽和脂肪酸のLOXによる酸化と揮発性成分の生成、および抗酸化物質の影響の概略図

<参考文献>

- Narisawa, T., Nakajima, H., Umino, M., Kojima, T., Yamashita, H., Kiribuchi-Otobe, C., Yamada, M., and Asakura, T. (2019) Cultivar differences in lipoxygenase activity affect volatile compound formation in dough from wheat mill stream flour. *J. Cereal Sci.*, **87**, 231–238.
- 成澤朋之, 仲島日出男, 海野まりえ, 乙部千雅子, 山田昌治, 朝倉富子, (2020) 埼玉県産小麦を使用した麺の風味形成要因の解明による高付加価値化, 日本食品科学工学会誌 **67**(9), 315–323.
- Narisawa T., Sakai K., Nakajima H., Umino M., Yamashita H., Sugiyama K., Kiribuchi-Otobe C., Shiiba K., Yamada M., Asakura T. (2024) Effects of fatty acid hydroperoxides produced by lipoxygenase in wheat cultivars during dough preparation on volatile compound formation. *Food Chemistry*, **443**, 138566.
- Ramadoss C.S., Pistorius E.K., Axelrod B. (1978) Coupled oxidation of carotene by lipoxygenase requires 2 isoenzymes. *Arch. Biochem. Biophys.*, **190**, 549–552.
- Simkin, A. J., Schwartz, S. H., Auldridge, M., Taylor, M. G., Klee, H. J., (2004) The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β-ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal*, **40**, 882–892.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Narisawa Tomoyuki, Sakai Koichiro, Nakajima Hideo, Umino Marie, Yamashita Haruyuki, Sugiyama Kenjiro, Kiribuchi-Otobe Chikako, Shiiba Kiwamu, Yamada Masaharu, Asakura Tomiko	4. 巻 443
2. 論文標題 Effects of fatty acid hydroperoxides produced by lipoxygenase in wheat cultivars during dough preparation on volatile compound formation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 138566 ~ 138566
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.foodchem.2024.138566	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 -

1. 著者名 成澤 朋之, 仲島 日出男, 海野 まりえ, 乙部 千雅子, 山田 昌治, 朝倉 富子	4. 巻 67
2. 論文標題 埼玉県産小麦を使用した麺の風味形成要因の解明による高付加価値化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 315 ~ 323
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3136/nskkk.67.315	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 成澤 朋之, 江原 雅人, 原田 雅典, 海野 まりえ, 金子 雅明, 仲島 日出男	4. 巻 70
2. 論文標題 高灰分ストリーム粉の添加による国産小麦を原料としたパンの風味変化	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 279 ~ 291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3136/nskkk.nskkk-d-23-00002	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10件（うち招待講演 4件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 仲島日出男, 成澤朋之, 杉山健二郎, 山田昌治
2. 発表標題 麺製品の風味向上を目的とした生地熟成条件の検討
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成澤朋之
2. 発表標題 麵の加工工程における揮発性成分の変化
3. 学会等名 BMSコンファレンス（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成澤朋之
2. 発表標題 Improving Local Food Brands -Domestic Wheats for Japanese Udon Noodles-
3. 学会等名 TCJS Early-Career Scholar Forum（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成澤朋之
2. 発表標題 うどんにおける地粉の風味とは何か? -埼玉県産小麦を中心に-
3. 学会等名 日本食品科学工学会 第70回記念大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 原田 雅典 , 成澤 朋之 , 海野 まりえ , 江原 雅人 , 金子 雅明 , 仲島 日出男
2. 発表標題 高灰分ストリーム粉の活用による発酵種の変化とパン性状への影響
3. 学会等名 日本食品科学工学会 第70回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 仲島日出男, 成澤朋之, 原田雅典, 海野まりえ, 江原雅人, 金子雅明
2. 発表標題 高灰分ストリーム粉を活用した発酵種によるパン風味の変化
3. 学会等名 日本食品科学工学会 第70回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 成澤朋之
2. 発表標題 国産小麦を使用した小麦粉加工品の風味特性解析およびその加工品への応用
3. 学会等名 日本食品科学工学会 令和6年度 関東支部大会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 成澤 朋之, 仲島 日出男, 朝倉 富子
2. 発表標題 小麦生地調製時における揮発性成分生成と連動した水溶性成分の変化
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 成澤朋之, 原田雅典, 海野まりえ, 江原雅人, 金子雅明, 仲島日出男
2. 発表標題 高灰分ストリーム粉の添加による国産小麦を原料としたパンの風味の変化
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成澤朋之, 仲島日出男, 山下治之, 杉山健二郎, 乙部千雅子, 椎葉究, 山田昌治, 朝倉富子
2. 発表標題 抗酸化物質含有量の品種間差が麵生地中の揮発性成分生成に与える影響
3. 学会等名 日本食品科学工学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 成澤朋之	4. 発行年 2022年
2. 出版社 缶詰技術研究会	5. 総ページ数 7
3. 書名 食品と容器	

〔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
---------	---------