

平成22年 5月6日現在

研究種目： 基盤研究（C）
 研究期間： 2007 ～ 2009
 課題番号： 19500658
 研究課題名（和文）
 カット野菜の新貯蔵法 シンナムアルデヒドによる褐変抑制機構の解明及び品質評価
 研究課題名（英文）
 A Novel Storage Method for Cut Lettuce. Mechanism of Inhibitory Effect of Cinnamaldehyde against Browning of Cut Lettuce and the Effect on Its Quality
 研究代表者
 村田 容常 （ MURATA MASATSUNE ）
 お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授
 研究者番号： 60210051

研究成果の概要（和文）：野菜や果物をカットし、放置、貯蔵すると褐変することは食生活上よく経験する現象である。近年カット野菜特にカットレタスの流通・消費が増大しているが、カットレタスの主たる品質劣化要因はこの褐変である。褐変の制御は困難であり、現在は低温流通、低温貯蔵でその速度を遅くすることで実用的に対処している。褐変を遅らせ日持ちを延長させる新たな制御法が求められている。我々は近年、シンナムアルデヒドにより酵素的褐変が抑制されることを見出した。本研究の目的は、シナモン由来のシンナムアルデヒドがどのような機構で褐変を抑制するかを明らかにするとともに、シンナムアルデヒド処理がカットレタスの微生物学的品質に及ぼす影響を評価することである。シンナムアルデヒド処理したカットレタスの PAL 活性は、貯蔵3日目に有意に抑制された。処理12時間後の PALmRNA の発現レベルを調べたところ、コントロールでは20-30倍に増加したが、処理区では5倍しか増加しなかった。以上の結果より、シンナムアルデヒドは、カットによる PAL の発現誘導を抑制することで、ポリフェノールの生合成誘導を阻害し、貯蔵褐変を抑制すると考えられた。シンナムアルデヒド処理したカットレタスの常在菌数は貯蔵中に増加したが、コントロールと有意差はなかった

研究成果の概要（英文）：When vegetables and fruits are cut and stored, the cut vegetable and fruits often turn brown during storage. We experience this phenomenon in usual food-life. Recently consumption of cut lettuce has been increasing, but its shelf time is limited by this browning. It is very difficult to regulate this browning, although cold transportation and storage partly repress the rate of browning. New method to regulate the browning is needed. We recently found that cinnamaldehyde inhibited the browning of cut lettuce. Here I examined how cinnamaldehyde inhibited the browning of cut lettuce during storage and the effect of cinnamaldehyde treatment on the microbiological quality of cut lettuce. We clearly showed that cinnamaldehyde inhibited the transcription of phenylalanine ammonia lyase (PAL). As PAL expression is repressed, the PAL activity was not raised during storage. As a result, the de novo synthesis of polyphenols was inhibited and the browning was repressed. Cut lettuce treated with cinnamaldehyde was compared with control lettuce. The number of microbes of treated lettuce was almost similar level to that of control during cold storage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：レタス、酵素的褐変、シナムアルデヒド、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、カット野菜

1. 研究開始当初の背景

(1) 野菜や果物をカットし、放置、貯蔵すると褐変することは食生活上よく経験する現象である。リンゴを切っておいておく、もしくはジュースにすると茶色くなるのは典型例であり、リンゴ中のポリフェノール類がポリフェノールオキシダーゼ (PPO) により酸化され、キノン体が生じ、このキノンが重合することで褐変する。この現象を酵素的褐変という。近年カット野菜特にカットレタスの流通・消費が増大しているが、カットレタスの主たる品質劣化要因は貯蔵中の褐変 (酵素的褐変) である。

(2) カットレタス褐変の制御は困難であり、現在は低温流通、低温貯蔵でその速度を遅くすることで実用的に対処している。そのため消費期限は3日程度と短く、褐変を遅らせ日持ちを延長させる安全でかつ簡便な新たな制御法が求められている。

(3) カットしていないレタス葉中にはポリフェノール類はほとんど存在しないため、ジュースにしても褐変しない。しかし、カットするという障害応答により、ポリフェノール生合成のキー酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) が誘導され、貯蔵中にポリフェノールが新たに合成される。合成されたポリフェノールはPPOの作用により順次酸化され、褐変していく (図1)。

よって、酵素的褐変を制御するには、ポリフェノール生合成系を抑制すればよいことになる。

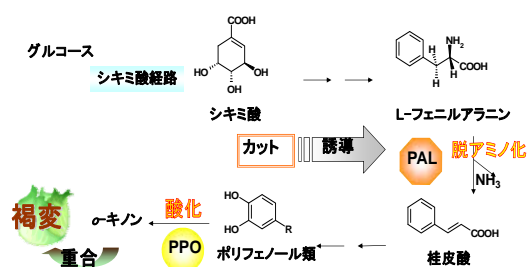


図1 カットレタスの貯蔵褐変機構 (PPO, ポリフェノールオキシダーゼ; PAL、フェ

ニルアラニンアンモニアリアーゼ)

(4) 我々はこれらの研究を背景に、新たな安全で安心できる褐変制御法を開発する目的で食品由来ポリフェノール生合成酵素阻害剤を探索し、G R A S (generally recognized as safe) であるシナムアルデヒド (CNMA) により酵素的褐変が抑制されることを見出した (*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 672, 2006)。

2. 研究の目的

(1) シナモン由来のCNMAがどのような機構でカットレタスの貯蔵褐変を抑制するかを明らかにする。

(2) CNMA処理が貯蔵したカットレタスの品質特に微生物学的安全性に及ぼす影響を評価する

3. 研究の方法

(1) カットレタスをCNMA溶液 (0.5 g/L 1% EtOH) に30分間浸漬した後2回水洗し、ラップに包み、4°Cで貯蔵した。ポジティブコントロールとして、ヒートショック (HS) 処理 (50°Cで90秒間の処理後、4°Cで冷却) したカットレタスも貯蔵した。

(2) 褐変度は目視で評価した (0、褐変していない; 1、やや褐変している; 2、褐変している; 3、ひどく褐変している)。PAL活性は吸光度法 (290nmによる桂皮酸増加量の測定) で測定した。PALタンパク質量は抗ペプチドPAL抗体を作成し、ウェスタンブロッディング法で測定した。PAL mRNAの発現量は、リアルタイムPCR法で測定した。

(3) 常在菌数は、一般細菌数としてSPC培地で測定した。また、食中毒菌としてサルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌0157を接種したカットレタスについても、CNMA処理、HS処理した後貯蔵し、菌数変化を調べた。培地としてXLD agar、マンニット食塩培地、CHROM agar™ 0157を用い、各菌数を選択的に測定した。

(5) 統計処理は多重検定法 (Turkey 法) で行った。

4. 研究成果

(1) HS 処理は PAL のカットによる誘導を抑制することが知られている。HS をポジティブコントロールとして CNMA によるカットレタスの貯蔵褐変に対する抑制効果を調べた。CNMA 処理、HS 処理ともに、カットレタスの貯蔵褐変を有意に阻害した (図 2)。

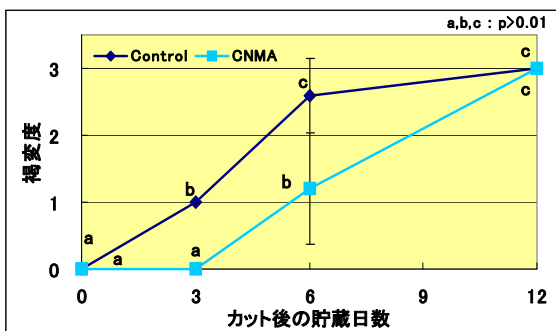
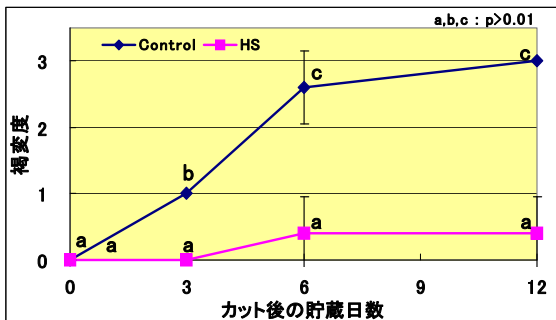


図 2 シンナムアルデヒド (CNMA) 処理及びヒートショック (HS) 処理によるカットレタスの貯蔵褐変に対する抑制効果

(2) 次に CNMA 処理の PAL 活性の誘導に対する影響を調べたところ、HS 処理よりは弱いですが、カット 3 日目の PAL 活性誘導を有意に抑制した (図 3)。

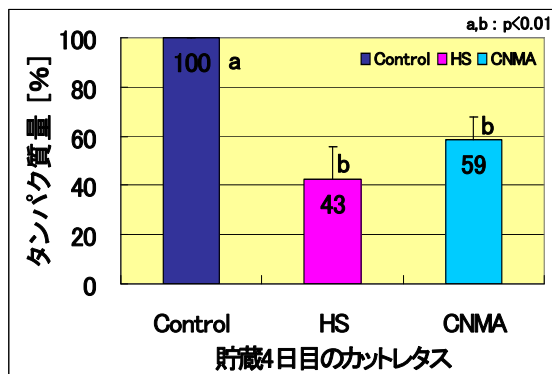


図 3 シンナムアルデヒド (CNMA) 処理及びヒートショック (HS) 処理によるカットレタスの PAL 活性の誘導に対する抑制効果

この抑制が酵素阻害によるものであるか、タンパク質量が減ることによるものであるかを調べるため、PAL タンパク質の発現量をウェスタンブロット分析で調べた。その結果、PAL タンパク質量は半量程度に減少していた (図 4)。

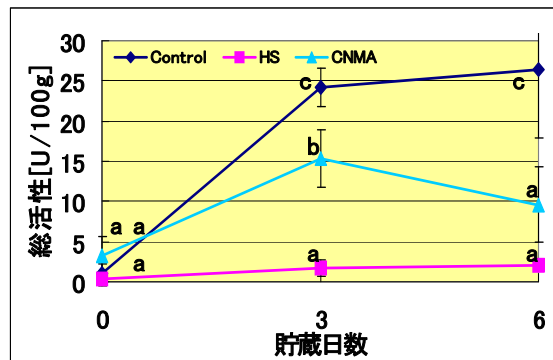


図 4 シンナムアルデヒド (CNMA) 処理及びヒートショック (HS) 処理によるカットレタスの PAL タンパク質の誘導に対する抑制効果

(3) HS 処理は、翻訳段階を阻害することで PAL タンパク質の誘導を抑制することが知られている。PAL mRNA 量を調べた結果、カット直後と比較をして、カット 12 時間後の PAL mRNA の発現量は、未処理のコントロールや HS 処理では 20-30 倍に増加したが、CNMA 処理では 5 倍しか増加しなかった (図 5)。以上の結果により、CNMA 処理は PAL の転写を抑制し、その結果ポリフェノールの生合成誘導を抑え、結果として褐変を抑制すると思われた。

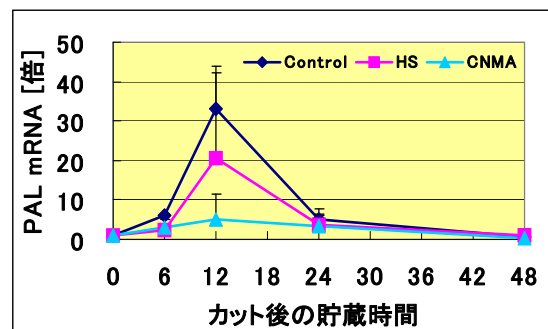


図 5 シンナムアルデヒド (CNMA) 処理及びヒートショック (HS) 処理によるカットレタスの PAL mRNA の誘導に対する影響

(4) 常在菌数は貯蔵中に増加したが、貯蔵 6 日目までは HS 処理、CNMA 処理ともにコントロー

ルと有意差はなかった。しかし、HS 処理では 12 日目に 10 log CFU / g まで有意に増加した。CNMA 処理では 8 log CFU / g までしか増加せず、コントロールと有意差はなかった (図 6)。食中毒菌数は、処理直後は菌により 3~5 log CFU / g と幅があったものの、コントロールとの間に有意差はなかった。三種の菌全てにおいて HS 処理、CNMA 処理ともに 12 日間の貯蔵ではコントロールと有意差は見られなかった。

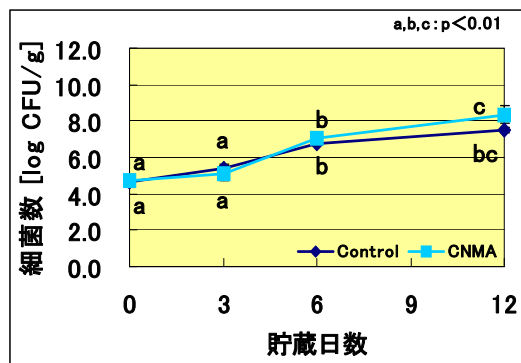
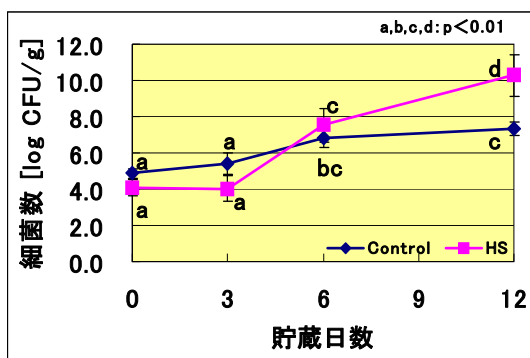


図 6 シンナムアルデヒド (CNMA) 処理及びヒートショック (HS) 処理によるカットレタスの貯蔵中の一般細菌数に対する影響

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 奥村紗矢、村田容常、ヒートショックもしくはシンナムアルデヒド処理したカットレタスの貯蔵における細菌数の消長、第 55 回日本食品科学工学会、平成 20 年 9 月 7 日、京都大学
- ② 奥村紗矢、高宮利加子、田中恵理子、島村裕子、村田容常、シンナムアルデヒドによるカットレタスの褐変抑制機構、2009 年度日本農芸化学会大会、平成 21 年 3 月 28 日、福岡国際会議場

[図書] (計 1 件)

村田容常、褐変防止法の選択と利用方法、Science Forum、カット野菜品質・衛生管理ハンドブック、第 9 章、第 1 節、泉秀実編、2009、277-283

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 容常 (MURATA MASATSUNE)
お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授
研究者番号：60210051

(2) 研究分担者

寺沢 なお子 (TERASAWA NAOKO)
金沢大学・教育学部・教授
研究者番号：00227513

(3) 連携研究者

無し

