# 科伽

# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号: 81101

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2017

課題番号: 15K00807

研究課題名(和文)革新的低温ストレスによる根菜類の美味しさファクターの制御

研究課題名(英文)Control of tastes in root vegetables by innovative low temperature stress

#### 研究代表者

高橋 匡 (TAKAHASHI, Tadashi)

地方独立行政法人青森県産業技術センター・工業部門・研究管理員

研究者番号:90512830

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):低温保管した市販ナガイモでは、糖量の変化はみられず、総ポリフェノールは増加傾向、遊離アミノ酸では、アラニン、セリン、アルギニンが比較的含有量が多く、ギャバが5 から-10 の低温保管によって増加することを見出した。次に、5 から-20 の任意温度条件下でギャバとグルタミン酸の変化を追跡した結果、-5 保管において最もギャバが増加し、同時にグルタミン酸の減少が見られたことから、凍結濃縮による酵素反応の促進が示唆された。

研究成果の概要(英文): Time-dependent changes in the contents of total sugar, total polyphenol and free amino acid of Chinese yam (commercial products) stored under the low temperature were investigated. The change of total sugar was not observed. Total polyphenol content of them in long term storage showed an increasing tendency. As the result of free amino acid analysis, Alanine, Serine and Arginine were relatively high, and Gamma Amino Butyric Acid (GABA) was increased between 5 and -10 . And, the changes of GABA and Glutamic Acid in Chinese yam stored at constant temperatures between 5 and -20 for a few weeks were investigated. The results showed that GABA was maximally increased and Glutamic Acid was maximally decreased at -5 in both commercial products and immediately after harvest. There was little change in the Chinese yam stored at -20 . These results suggest that GABA may be increased by the action of the glutamate decarboxylase in freeze concentration.

研究分野: 食品加工、冷凍

キーワード: 凍結濃縮 -アミノ酪酸 酵素反応 農産物

#### 1.研究開始当初の背景

青森県では越冬ナガイモや雪下ニンジンなどに見られるように、冬期間の寒さをうまく活用することで、甘味やうま味を引き出す栽培方法が定着していた。一方、農産物に低温ショックを与えることで甘味の増加やアミノ酸の急減を緩和するとの知見があった。このように、農産物に低温ストレスを付与することで、呈味関与成分の変化を生じることが経験的にも学術的にも知られていた。

## 2. 研究の目的

収穫後の農産物(根菜類)に対し、低温保管する温度帯と期間、温度差ショックおよびこれら低温ストレスを組み合わせた「革新的低温ストレス」の付与により、農産物中の呈味関与成分の増加を目指した。

## 3.研究の方法

本研究では申請時の目的を達成するため、 (1)ナガイモに対する低温ストレスが呈味 関与成分へ与える影響を検討した。その結果、 当初想定していなかった機能性成分 -アミ ノ酪酸 (Gamma-Amino Butyric Acid ; GABA) が特定の条件下で増加することを見出した ため、続いて(2)ナガイモに対する低温処 理が GABA とグルタミン酸の含有量に与える 影響について検証した。以上を通じて、凍結 時の濃縮に伴って酵素反応が促進したこと が期待されたことから、(3)ペクチナーゼ を用いた凍結濃縮試験を実施した。最後に、 ナガイモで確認された GABA の増加が他の農 産物においても同様に起こりうるのかを確 認するため、(4)各種農産物を用いた低温 処理試験を実施した。

# (1)ナガイモに対する低温ストレスが呈味 関与成分へ与える影響

#### 材料

青森県内で栽培された市販ナガイモを使用した。ナガイモ1本につき中心付近から4つの切片を得るため、上下方向に対する中央位置で切断後、切断面から上下5cmの位置で切断して円柱型(2個)とし、さらに長軸方向に二分して半円柱型(4個)とした。これを1切片ずつ個別に脱気包装(フィルム厚0.08mm)した。

## 方法

上記包装試料を5 で一晩放置した後、5 、-2 、-10 、-20 の温度で定期的に入れ替えを行い、最長で6週間保管した。保管前および保管後の試料について、80%エタノール抽出画分の糖含量測定(HPLCによるブドウ糖、果糖、ショ糖分析の合計値) 総ポリフェノール測定(フォーリンチオカルト法)およびアミノ酸分析(ポストカラム・ニンヒドリン法)を行った。

# (2)ナガイモに対する低温処理が GABA と グルタミン酸の含有量に与える影響

## 材料

青森県内で栽培された市販ナガイモ(以下、市販区)および、(地独)青森県産業技術センター野菜研究所で試験栽培した収穫直後の新鮮なナガイモ(系統名「園試系 6」以下、新鮮区)を使用した。ここではナガイモを上下方向に対する中央位置で切断し、切断面から上下 10cm の位置で切断して円柱型とし、さらに長軸方向に中心で二分した後、1cm 幅に切断して半月型切片を得た。これを1切片ずつ説気包装(フィルム厚 0.08mm)した。

#### 方法

試料を 5 で一晩放置した後、5 、1 、-5 、-10 、-15 、-20 の不凍液に浸漬した。保管期間は市販区で2週間、新鮮区で8週間とした。それぞれ、保管前後の試料について80%エタノール抽出画分のGABAおよびグルタミン酸の測定(AccQ-Tag TM Ultra法)を行った。

# (3)ペクチナーゼを用いた凍結濃縮試験 方法

0.1%ペクチン(リンゴ由来)溶液に 0.01%ペクチナーゼ(新日本化学工業、スミチームPTE)を添加し、ペクチン・ペクチナーゼ混合溶液を調製し、沸騰温浴中で熱失活した試験区も加えた。これを-5 のエタノールブラインに部分的に浸漬し、開始から 14 時間の時点で氷晶を形成させ、徐々に氷晶を成長りに溶液部分を回収し、酵素反応に伴い生成するガラクツロン酸を測定(HPLC)した。また、5 保管と 50 保管(酵素反応の至適温度)も併せて行った。5 、50 のガラクツロン酸測定は 59 時間時点のみとした。

# (4)各種農産物を用いた低温処理試験 材料

市販品のナガイモ(青森県産) ゴボウ(青森県産) トマト(栃木県産) ジャガイモ(北海道産)を実験試料とした。

#### 方法

ナガイモは剥皮した状態で直径 4cm、高さ 5cm の円柱状に切り抜いた。ゴボウは剥皮せ ず、長さ 10cm に切断した。トマトは切断せ ずそのまま試料とした。ジャガイモは直径 2cm の円筒型抜きで縦横方向にくり抜いて試 料とした。いずれも脱気包装(20hPa)後、5 で一晩放置した。その後、リキッドフリーザ ーおよび冷凍冷蔵庫を使用して、氷点下保管 試験を行った。このうち、リキッドフリーザ ーでは試験開始時点(-1.5 )から液温を 2 日かけて段階的に下げて最終的に-5 を目 指し、その後、5日間継続した(ステップ-5 区)。冷凍冷蔵庫では-5 (-5 一定区)と -10 (-10 一定区)のエタノール溶液にそ れぞれ7日間浸漬した。保管前後の試料につ いて 80%エタノール抽出画分の GABA および グルタミン酸の測定 (AccQ-Tag TM UItra 法) を行った。

#### 4. 研究成果

(1)ナガイモに対する低温ストレスが呈味 関与成分へ与える影響

実施した試験のうち、一定温度で保管した 結果を図1から図3にまとめた。

今回の試験期間内では、呈味に関わるような糖量の増減は確認されなかった(図1)。

総ポリフェノールについては、保管条件によっては1.5倍ほどポリフェノールが増加する傾向も見られたものの、他の農産物と比べても特筆するような含有量には達しなかった(図2)。

遊離アミノ酸を一斉分析した結果、比較的含有量が高かったものは、アラニン、セリン、アルギニンであった(図は省略)。一方、血圧降下作用、精神安定作用などが注目されている機能性成分 GABA は-20 を除く試験区で経時的な増加が確認された(図3)。5 での増加と氷点下保管での増加は異なるメカニズムと考えられるが、-20 保管において増加が見られなかったことから、凍結速度が何らかの影響を及ぼしたものと考えられた。

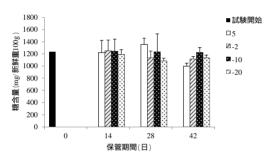


図1 低温保管に伴う糖含量

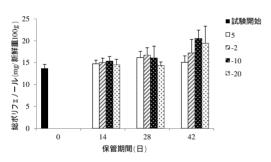


図2 低温保管に伴う総ポリフェノール量

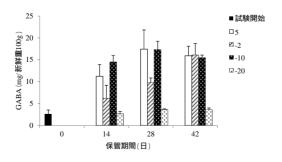


図3 低温保管に伴う GABA 含有量

(2)ナガイモに対する低温処理が GABA と グルタミン酸の含有量に与える影響

ナガイモ新鮮重 100g あたりの GABA 含有量を図4(市販区)と図5(新鮮区)に、同じくL-グルタミン酸含有量を図6(市販区)と図7(新鮮区)にそれぞれ示した。いずれも試験開始時点の含有量は点線で表示した。

保管試験開始時点の GABA 含有量は、市販区で 8.2mg/100g であったのに対し、新鮮区では 3.6mg/100g と開きがあった。これが品種間差か市販区の収穫時期や出荷前貯蔵の影響によるものかは判断できないものの、一般的に収穫後のナガイモは、品質保持のために 4 前後で貯蔵されていることや、図4の5 保管でも GABA が増加していたことから、市販用ナガイモを出荷するまでの低温貯蔵中に GABA が増加した可能性が考えられた。

また、保管試験を行った結果、GABAが最大値を示したのは市販区、新鮮区ともに-5 保管であり、GABAが増加した試験区ではいずれもグルタミン酸の減少を確認した。これに加え、市販区-5 保管(図6)ではグルタミン酸が1週目で消失し、その後のGABA増加が見られなかったことから、グルタミン酸脱炭酸酵素の働きによってGABAが生成したと考えられた。

しかしながら、グルタミン酸脱炭酸酵素の 至適温度は 40 から 55 と言われており、 今回 GABA 増加が顕著であった-5 から-10 の温度帯から大きく外れていることから、今 回確認された現象は、凍結速度に応じてナガ イモ内部で起こる組織破壊と凍結濃縮が関 与したものと考えている。すなわち、試料内 部で氷晶が成長するのに伴い、組織を破壊し ながら酵素と基質を含む未凍結領域を徐々 に狭まることで、酵素と基質の接触確率が上 昇し、結果として酵素反応が加速したと仮定 した。-5 から-20 にかけて温度依存的に GABA の生成量が減少したことも、凍結速度が 早まるほど組織的損傷が抑えられたためと 考えている。現に-20 の不凍液に液浸した 際には、急速凍結と判断できる速度で最大氷 結晶生成帯を通過しており、GABA も変化して いなかった。一方、図5の-5 保管において GABA 含量にバラツキが見られたことからも、 安定的に GABA 生産するためには過冷却状態 を強制的に解消することも検討する必要が ある。

また、市販区の図6ではいずれの保管温度でもGABAの増加と相反してグルタミン酸が減少したものの、新鮮区の図7では1と5において早い段階で増加したグルタミン酸が時間とともに減少した。これは、新鮮区の試料が収穫直後の若いナガイモであったため、グルタミン酸を起点としたアミノ酸代謝が優先された可能性が考えられた。以上のように、酵素反応によってGABAを生成するには、その基質となるグルタミン酸を増やしつも減らさない温度管理が重要となる。

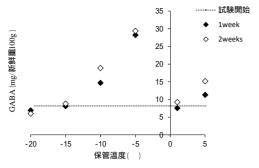


図4 低温保管による GABA 含有量(市販区)

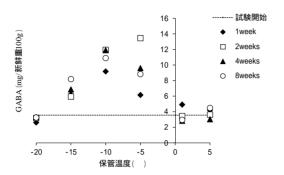


図 5 低温保管による GABA 含有量(新鮮区)

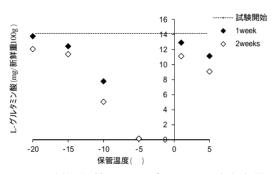


図 6 低温保管によるグルタミン酸含有量 (市販区)

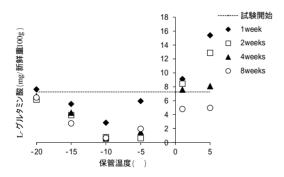


図7 低温保管によるグルタミン酸含有量 (新鮮区)

(3)ペクチナーゼを用いた凍結濃縮試験ペクチナーゼ溶液を用いた温度別試験を行い、各溶液のガラクツロン酸濃度と、濃縮による増加分を差し引き酵素反応に伴う純粋なガラクツロン酸増加分を併せて図8に示した。

-5 区では20時間、35時間、59時間と時間の経過に伴うガラクツロン酸の増加が見られ、氷点下においても酵素反応が進行する結果が示された。35時間、59時間の結果は、

5 や酵素の至適温度となる 50 での反応を 上回っており、凍結濃縮領域において酵素反 応が促進されることが示唆された。

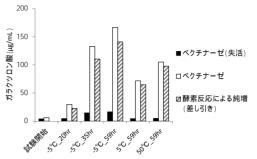


図8 ペクチナーゼ溶液を用いた凍結濃縮 に伴うガラクツロン酸の増加

(4)各種農産物を用いた低温処理試験 試料を浸漬した液温の実測値(平均)は、 ステップ区では試験開始から 24 時間は -1.5 、24 時間から 48 時間までは-3.4 その後、試験終了までの5日間は-5.4 であ った。一方、-5 一定区では-4.7 (7日間) -10 一定区では-9.8 (7日間)であった。 GABA およびグルタミン酸含有量について 図9から12に示した。ナガイモ(図9)と ゴボウ(図10)では、試験開始時点に比べ、 全ての試験区で GABA が増加し、グルタミン 酸の減少が見られた。一方、トマト(図11) では低温処理の違いによる GABA、グルタミン 酸の変動は見られず、ジャガイモ(図12) では-5 および-10 へ浸漬した試験区にお いて GABA 増加とグルタミン酸減少の傾向が 見られた。試料サイズや成分組成に伴う凍結 速度が影響したものと思われ、凍結濃縮を速 度的に制御する重要性が示唆された。

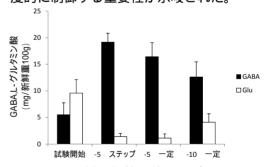


図9 低温保管に伴うナガイモの GABA およびグルタミン酸含有量

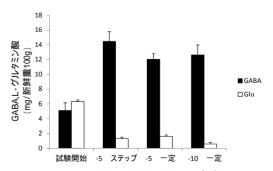


図10 低温保管に伴うゴボウの GABA およびグルタミン酸含有量

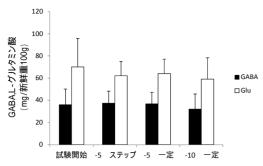


図11 低温保管に伴うトマトの GABA およびグルタミン酸含有量

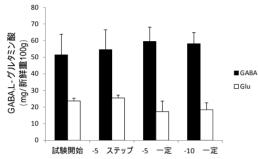


図12 低温保管に伴うジャガイモの GABA およびグルタミン酸含有量

## 5 . 主な発表論文等

# [学会発表](計2件)

高橋 匡、工藤 謙一、鈴木 徹、低温処理 がナガイモの成分に及ぼす影響、2016 年度日 本冷凍空調学会年次大会、2016

高橋 匡、工藤 謙一、鈴木 徹、低温処理 がナガイモの成分に及ぼす影響(第2報) 2017年度日本冷凍空調学会年次大会、2017

## 〔その他〕

平成 29 年度産業技術連携推進会議東北地域 部会(食品・バイオ分科会)発表(2017年11月30日、盛岡市)

#### 6.研究組織

# (1)研究代表者

高橋 匡 (TAKAHASHI, Tadashi)

地方独立行政法人青森県産業技術センタ

ー・工業部門・研究管理員

研究者番号:90512830

# (2)研究協力者

鈴木 徹(SUZUKI, Toru)

工藤謙一(KUDOH, Ken-ichi)

加藤陽治 (KATO, Yoji)