

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350091

研究課題名(和文) 農産物の非加熱調理加工による革新的食素材変換プロセスの開発

研究課題名(英文) Innovative investigation of non-thermal processing of agro-products

研究代表者

上野 茂昭 (UENO, Shigeaki)

埼玉大学・教育学部・准教授

研究者番号：80410223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：農産物として緑茶，大豆を試料として選択した．非加熱調理加工技術として凍結解凍および高圧処理を選び，氷結晶生成または脂質相転移に起因する細胞損傷をトリガーとし，農産物中における酵素反応を進行させることにより，有用成分の富化および減少抑制技術を開発した．とりわけ，大豆においては，凍結および解凍条件を選択することにより，機能性成分である アミノ酪酸が，凍結解凍後の保存中に高蓄積する条件を見出した．また，高圧処理後に乾燥プロセスを経た緑茶のカテキン含量を検討したところ，無処理に比べて減少を抑制可能であることが明らかとなった．

研究成果の概要(英文)：Applications of non-thermal processing including freezing-thawing processing and high-hydrostatic pressure processing were investigated. The cell destruction caused by ice crystal formation or lipid phase changes, resulted in improving the enzymatic reaction and then investigated the enrichment or regulation method for the valuable components in bio-materials. Frozen-thawed soybean cotyledons were destroyed, and which led to improving the substrate transfer inside cell structure and enrichment of functional component such as gamma-aminobutyric acid. Additionally, we investigated that the catechine oxidation in fresh green tea leaves could be regulated by high pressure treatment.

研究分野：食物学

キーワード：非加熱加工 高圧処理 冷凍解凍 アミノ酸 ペプチド テクスチャ

1. 研究開始当初の背景

研究代表者上野はこれまでに、農産物に高圧処理を施した後に保存し、農産物内部での酵素反応および物質拡散を促進することにより、例えばタマネギ中に抗酸化活性物質であるケルセチンを増強することに成功すると共に、ダイズや玄米中に血圧上昇抑制物質である アミノ酪酸を高蓄積可能であることを明らかにしてきた。

農産物に対する前駆体添加および高圧処理の併用は、膜構造の不可逆的な相転移が生じ、機能性物質の前駆体が高圧処理に伴う物質移動の促進によって、細胞組織全体に基質が到達することにより、酵素反応が見かけ上促進されたと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、植物性食品である農産物を対象として、非加熱調理加工プロセス（高圧処理、高電界パルス処理、過冷却凍結）を外的ストレスと捉え、植物の持つストレス応答を積極的に利用し、農産物中に機能性物質を蓄積させることにより高付加価値化を目指す。

非加熱調理加工を施すことにより生じる内部構造変化、物性変化、生化学的变化を定量的に計測することにより、調理加工条件と種々の質的变化における相互関連性を見出す。これらの技術の拡張性・妥当性を検討するために、動物性食品についても適用する。

3. 研究の方法

本研究では、まず種々の農産物を試料とし、高圧処理装置、過冷却凍結を用いて非加熱調理加工を施す。食品の調理加工により誘起される試料内部の構造変化について、誘電特性計測および透過型電子顕微鏡(TEM)による内部構造観察を行い、内部構造の変化を示すパラメータを抽出し、調理加工条件、内部構造変化における相互関連性を検出する。

次に内部構造変化の結果として生じる物性変化について、力学特性、吸水乾燥特性などの物質移動への影響についてダイアグラムを作成し、さらに生化学的变化を定量的に評価する。

試料および試料調製

市販の大豆 10 g と水 30 g をポリエチレン包材に密封し、25℃ で 22 時間予備浸漬した。予備浸漬後の大豆は、予備浸漬溶液を拭き取り、凍結試験または高圧処理に供した。

凍結試験は小型超低温恒温器（ミニサブゼロ MC-711T, エスペック社製）を用いた。K 型熱電対を装着した試料は、小型超低温恒温器の試料棚に静置され、凍結雰囲気温度（庫内設定温度）-10℃、-20℃ および -70℃ において凍結実験を行った。また液体窒素を用いて -180℃ において凍結実験を行った。凍結後の試料は水中で解凍した後に室温に戻

した。高圧処理は、セミオート式高圧処理装置（シン・コーポレーション社）を用いた。高圧処理温度は室温（20~25℃）の非加熱条件下で行った。これらの凍結解凍および高圧処理を施した試料を種々の分析に供した。

誘電特性計測

非加熱処理を施した大豆は、子葉の薄皮を剥ぎ取った後に外周部の水分を拭き取り、LCRメータ（3532-50, HIOKI 社製）を用いて、50~5 MHz におけるレジスタンスおよびリアクタンスを室温で測定することにより、Cole-Cole プロットを得た（n=15~20）。電極は針状白金電極を用い、電極間距離は 5.0 mm で一定とした。

顕微鏡観察

非加熱処理を施した大豆は、2% グルタルアルデヒド - 0.05 M リン酸ナトリウム緩衝溶液中で固定され、2% オスミウムテトラオキサイド - 0.05 M リン酸ナトリウム緩衝溶液中で組織固定を行った。固定後の試料は、アセトン溶液で脱水し、Spurr's resin に包埋した。包埋試料から適宜切片を調整し、光学顕微鏡（Eclipse Ci, Nikon）および透過型電子顕微鏡（H-7500, Hitachi）を用いて、微細構造の観察を行った。

アミノ酸分析

処理大豆を破碎し、遠心分離により限外ろ過を行った。

抗酸化活性測定

非加熱処理を施した鶏胸肉 5 g に、2% スルホサリチル酸 20 ml を加え、氷中でホモジネイトした。得られたホモジネイト液を遠心分離し、上清を抗酸化活性測定用試料とした。種々の条件で調製した試料の上清を、96 穴マイクロプレートに分注し、DPPH 混合溶液を添加し、室温で 10 分間静置した。

マイクロプレートリーダー（BioRad 社）を用いて 520 nm における吸光度を測定し、トロロックス当量（ $\mu\text{mol-Trolox/g}$ ）として抗酸化活性を推算した。

4. 研究成果

植物性試料として大豆、大麦粉および緑茶を、動物性試料として鶏肉およびタコを選択した。

大豆に凍結解凍処理を施し、種々の条件にて調製した大豆に含まれる γ -アミノ酪酸 (GABA) について、保存中の濃度変化を検討した。いずれの凍結試料においても GABA 濃度は保存中に増加し、また未大豆試料では凍結解凍または高圧処理を施した試料において、Cole-Cole 円弧が認められた。これらの試料では凍結温度は低いほど、また処理圧

力が高いほど Cole-Cole 円弧は小さくなった。このことから、処理後においても膨圧を維持する内部構造の存在が示唆された。

種々の処理を施した大豆試料の内部構造を TEM を用いて観察した。未処理（図 1）および高圧処理大豆では、小型のリピッドボディ(L)が大型のプロテインボディ(P)の周囲に密に存在した。未処理および高圧処理試料のリピッドボディは四角形に近い不定形であったのに対し、凍結解凍大豆（図 2）では円形に変化していた。

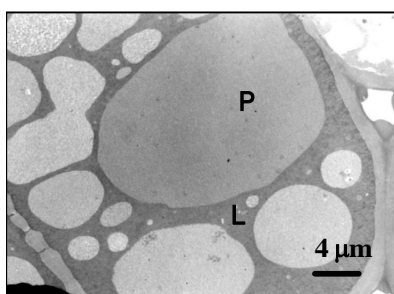


図 1 未処理大豆の内部構造

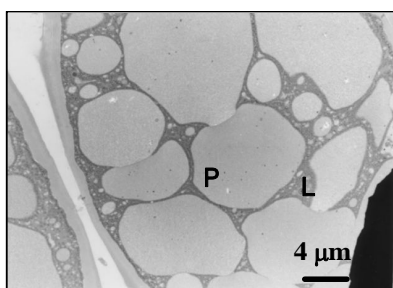


図 2 凍結解凍大豆の内部構造

高圧試料では、プロテインボディが未処理試料とほぼ同じ形を維持していた。他方、凍結温度 -20 では不定形なプロテインボディが認められ、凍結温度 -70 および -180 では、プロテインボディが一部破裂していた。特に -180 凍結試料では、プロテインボディ内部にリピッドボディが入り込んでいた。

以上より、凍結処理により大豆細胞内の膜構造は損傷を受けるものの、プロテインボディおよびリピッドボディの多くは変形したまま存在し、膨圧を有しているものと示唆された。

緑茶製造では、摘採後速やかに蒸し工程にて酸化酵素等を失活させ乾燥後に商品となるものの、蒸し工程における成分変化が長年の課題であった。

本研究では試料採取後、2 時間以内に高圧処理を施すことにより、蒸し工程の代替を検討した。具体的にはカテキン酸化反応に及ぼす高圧処理の影響を検討した。生茶葉に 25、50 または 70 で高圧処理(200MPa)を施し、一定温度下で 5 日間乾燥し、乾燥前後のカテキン類濃度を HPLC で定量した。高圧処理直後、カテキン類の含有量は比較的減少したが、

乾燥後の残存量からカテキン類分解速度の低下が示唆された。また高圧処理大麦粉の粘度は顕著に減少した。

農産物を用いた高たんぱく質食材の非加熱軟化処理、冷凍および高圧の併用処理による機能性および嗜好性成分の富化を試みた。

頭足類であるタコを試料として非加熱軟化試験において、透過型電子顕微鏡を用いた組織構造観察を行ったところ、農産物破砕液（キウイフルーツ、ダイコン、パイナップル、マイタケ）への浸漬処理、凍結解凍処理、高圧処理（200 MPa）により、筋原繊維の方向性が乱れ、筋繊維間の隙間が顕著となった。ただし、凍結解凍処理後に浸漬処理を施した試料では、浸漬処理の効果は顕著ではなかった。この時、いくつかの試料においてグルタミン酸濃度が顕著に増加した。

さらに動物性試料として鶏肉を選択し、冷凍解凍、高圧処理の各単独処理および併用処理の機能性および成分変化について検討した。過型顕微鏡観察では、それぞれ顕著な差異が認められたものの、ペプチドや抗酸化活性測定においては、限られた条件のみで有意に増加、改善が認められた（図 3）。

以上より、冷凍解凍、高圧処理または併用処理により、動物性食品を軟化しつつ、特定の成分を富化可能であることが分かった。

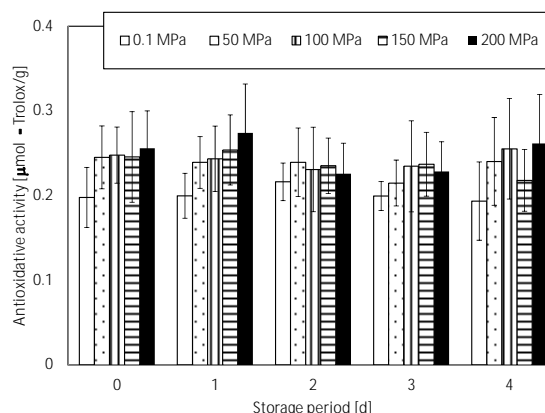


図 3 鶏胸肉の抗酸化活性

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）

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Rika Kobayashi, Norihito Kimizuka, Manatbu Watanabe, Toru Suzuki, The effect of supercooling on ice structure in tuna meat observed by using X-ray computed tomography, International Journal of Refrigeration -REVUE INTERNATIONALE DU FROID, 60, 270-277 (2015) 査読あり 2015 年 11 月
2. Shigeaki Ueno, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, Effect of Freezing Storage on Inactivation of *Escherichia coli*

- in Liquid Whole Egg with Sucrose and High Hydrostatic Pressure Treatment, Proceedings of International Congress on Refrigeration 2015, ICR0302, 査読あり, 2015年8月
3. Shigeaki Ueno, Natsuko Iryo, Shoji Sasao, Tetsuya Araki, Norihito Kimizuka
Generation of gamma-aminobutyric acid (GABA) in soybean by freezing and subsequent storage, Proceedings of International Congress on Refrigeration 2015, ICR0110, 査読あり, 2015年8月
 4. 保科宏道, 林朱, 大谷知行, 上野茂昭, 小川雄一, テラヘルツイメージング・分光による凍結食品計測の可能性, 冷凍, 419-426 (2015) 査読あり, 2015年7月
 5. Shigeaki Ueno, Toru Shigematsu, Mineko Karo, Mayumi Hayashi, Tomoyuki Fujii,
Effect of high hydrostatic pressure on water absorption of adzuki beans, Foods, 4, 148-158 (2015) 査読あり, 2015年5月
 6. Shigeaki Ueno, Hirokazu Ichinoi, Jiahui Zhao, Tomoyuki Fujii, Degradation of Fish Gelatin Using Hot-Compressed Water and the Properties of the Degradation Products, High Pressure Research, 35(2), 203-213 (2015) 査読あり, 2015年4月
 7. 上野茂昭, 小川雄一, 遠赤外光の食品への応用 ~ ミリ波を用いた水分推定の可能性 ~, 冷凍, 90, 107-110 (2015) 査読あり, 2015年4月

〔学会発表〕(計22件)

1. 奥山理子, 島田玲子, 上野茂昭, 食物繊維高含有大麦粉を用いた揚げ物の力学特性, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
2. 笹尾翔士, 上野茂昭, 林真由美, 重松亨, 厚沢季美江, 金子康子, 荒木徹也, 大麦粉の粘度に及ぼす高圧処理の影響, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
3. 佐藤華那子, 吉江由美子, 島田玲子, 上野茂昭, 燻製醤油のにおい特性に関する研究, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
4. 長田仁花, 猪籠夏子, 島田玲子, 厚沢季美江, 金子康子, 上野茂昭, 鶏胸肉の抗酸化活性への高圧処理-凍結解凍併用処理の効果, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
5. 劉修銘, 上野茂昭, 荒木徹也, 緑茶茶葉の酵素反応に及ぼす高圧処理の影響, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
6. ジャッキータグバセ, 上野茂昭, 吉江由美

- 子, 荒木徹也, 冷凍ドリアンの品質特性に関する研究, 日本食品科学工学会平成28年度関東支部大会, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県, 2016年3月5日
7. 笹尾翔士, 上野茂昭, 高圧処理を用いた大麦粉の改質, 日本家政学会関東支部学生大会, 共立女子大, 千代田区, 東京都, 2016年2月20日
 8. 奥山理子, 上野茂昭, 高食物繊維含有大麦粉を用いた食品の調理特性, 日本家政学会関東支部学生大会, 共立女子大, 千代田区, 東京都, 2016年2月20日
 9. 笹尾翔士, 荒木徹也, 猪籠夏子, 上野茂昭, 大豆の組織構造および成分に及ぼす非加熱処理の影響, 2015年度日本冷凍空調学会年次大会, 早稲田大学, 新宿区, 東京都, 2015年10月20日
 10. 林真由美, 井口晃徳, 重松亨, 上野茂昭, 高圧殺菌加糖液卵に対する凍結保存の影響, 2015年日本冷凍空調学会年次大会, 早稲田大学, 新宿区, 東京都, 2015年10月20日
 11. Shigeaki Ueno, Mayumi Hayashi, Akinori Iguchi, Toru Shigematsu, Effect of Freezing Storage on Inactivation of Escherichia coli in Liquid Whole Egg with Sucrose and High Hydrostatic Pressure Treatment, International Institute of Refrigeration, International Congress on Refrigeration, Yokohama, Kanagawa, 2015年8月16日
 12. Shigeaki Ueno, Natsuko Iryo, Shoji Sasao, Tetsuya Araki, Norihito Kimizuka
Generation of gamma-aminobutyric acid (GABA) in soybean by freezing and subsequent storage, International Institute of Refrigeration, International Congress on Refrigeration, Yokohama, Kanagawa, 2015年8月16日

〔図書〕(計1件)

1. 加糖液卵における大腸菌の高圧死滅挙動, 高圧力バイオサイエンスとバイオテクノロジー, 三恵社, 45-50, 上野茂昭, 君塚道史, 林真由美, 長谷川敏美, 井口晃徳, 重松亨 (野村一樹, 藤澤哲郎, 岩橋均編集), 総ページ数155. 2015年11月

〔その他〕

ホームページ等
<http://park.saitama-u.ac.jp/~kasei/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
 上野 茂昭 (UENO, Shigeaki)
 埼玉大学・教育学部・准教授
 研究者番号: 80410223
- (2) 研究分担者
 君塚 道史 (KIMIZUKA, Norihito)
 宮城大学・食産業学部・准教授

研究者番号：90553446

島田 玲子 (SHIMADA, Reiko)
埼玉大学・教育学部・准教授
研究者番号：60331451