

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

＜科学研究費助成事業（若手研究）＞

成澤朋之*

Behavior and Control Methods of Oxidative Enzymes in Dough Affecting Flavor Formation of Noodle Products

NARISAWA Tomoyuki*

抄録

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13-過酸化脂肪酸を生成するLOX-3の割合が高いことが明らかとなった。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。

キーワード：小麦、揮発性成分、リポキシゲナーゼアイソザイム、過酸化脂肪酸

1 はじめに

近年、我々は麺類の風味についての研究に着手してきた¹⁾。この背景としては、長年栽培されてきた小麦品種「農林61号」が耐病性などの理由により単収が減少してきたため、後継品種として埼玉県奨励品種となった「さとのそら」に置き換わったことに起因する。以前から農林61号は、麺などの加工品にした際に、外国産小麦にはない風味があると実需者から評価されてきた。しかしながら、後継品種のさとのそらはその風味が弱いという指摘が挙がっていた。特に、小麦粉加工品の中でもうどんに関しては、その原材料が小麦粉と食塩水という単純な組成であるために、麺の風味は原材料である小麦粉の影響を強く受けると考えられた。そこで我々はこれまでに、外国産小麦と農林61号のゆで麺において感じられる風味の差を官能評価

により確認し¹⁻³⁾、麺の加工工程における揮発性成分の変化を解明した⁴⁾。この加工工程での変化は、小麦粉への加水を行った生地調製時が最も大きく、ゆで工程において加熱される前に変化していたことから、加熱による化学反応ではなく酵素による反応であると推測した。そして、その変化がリポキシゲナーゼ(LOX)と呼ばれる不飽和脂肪酸酸化酵素によるものであり、またその活性に品種間差があり農林61号で顕著に高いことを解明してきた⁵⁾。

農林61号は、生地の揮発性成分に占めるアルデヒド類の比率が高いだけでなく、他の品種と比較して長鎖の不飽和アルデヒド類が多く、生地中で生成される揮発性成分のプロファイルが異なっていた。小麦粉に含まれるLOXには、アイソザイム(LOX-1~3)が存在し、アイソザイムにより生成するヒドロペルオキシ基の位置が異なることが知られている⁶⁾。このため、農林61号はアイソザイ

* 食品プロジェクト担当

ム組成が他の品種とは異なることが推定された。

そこで、麵製品の風味形成に影響する生地中の酸化酵素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。

2 実験方法

2.1 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、あやひかり及び関東 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 活性分析及び後述する 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。

2.2 LOX アイソザイムの分画

LOX アイソザイムの分画は既報⁷⁾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。

非吸着画分及び吸着画分を、それぞれ Nanodrop2000 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。

分画後の LOX 活性は既報⁷⁾の方法により測定した。

2.3 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⁷⁾の方法により分析した。

リノール酸溶液または α -リノレン酸溶液を基質として素通り画分及び保持画分の 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。

2.4 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^{5,7)}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。

2.5 統計解析

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

3 結果及び考察

3.1 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明らかとなった(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明らかとなった。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。

3.2 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

表 1 LOX アイソザイムの分画結果及び生成される過酸化脂肪酸の異性体比

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		α-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

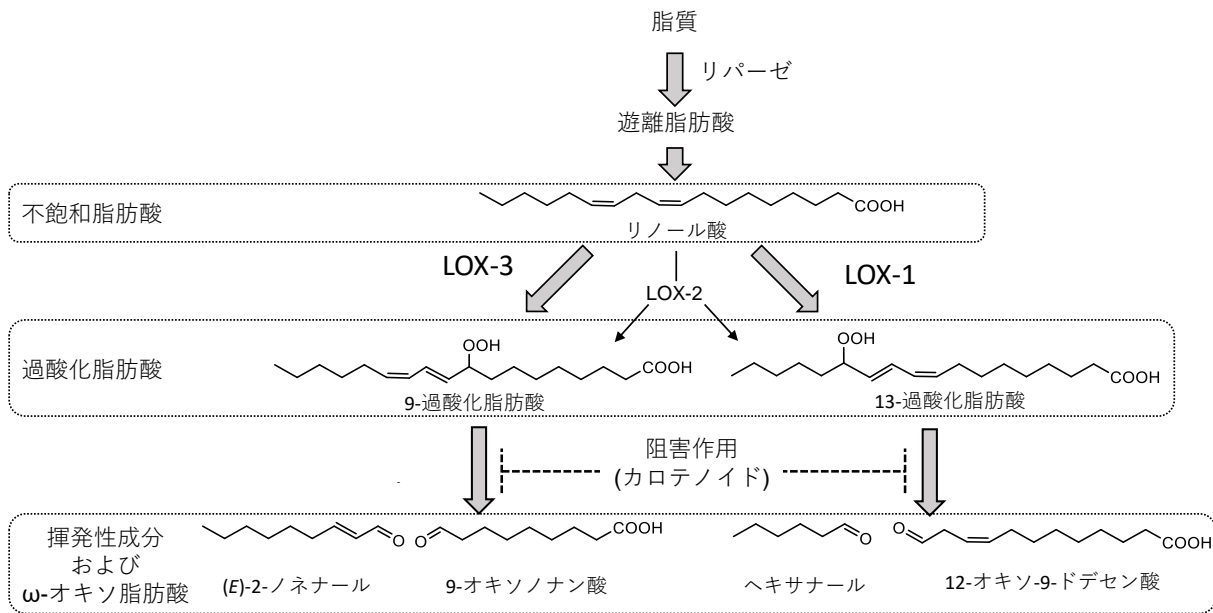


図 1 小麦粉生地における不飽和脂肪酸の LOX による酸化と揮発性成分の生成、及びカロテノイドなどの抗酸化物質による阻害作用の概略図

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。

LOX による脂肪酸酸化分解生成物と考えられるヘキサナール、(E)-2-ヘプテナール、(E,E)-2,4-デカジエナールなどの化合物が農林 61 号で多かった。特に(E,E)-2,4-デカジエナール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、ゲラニルアセトン(注)はさとのそらで多かった。このゲラニルアセトン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⁸⁾、前報にてさとのそらのルテイン含有量が多いと報告されていることから^{1,5)}、ルテイン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⁹⁾。LOX-1 割合が高いさとのそらでは、過酸化脂肪酸とルテインの反応が農林 61 号より起きやすかったためアルデヒド類の生成がされにくく、ゲラニルアセトン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ルテインの含有量が低く、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及び阻害についての概略図を図1に示す。

4 まとめ

本研究では、農林61号とさとのそらを使用したうどんの風味に差が出る原因について、LOXのアイソザイム組成から解明を試みた。その結果、農林61号では以前からLOX活性が高い品種であると報告されていたが、そのLOXのアイソザイム組成はLOX-3の割合が高いという特徴を有していることが明らかとなった。さらに、以前の報告^{1,5)}により小麦粉中に含まれる抗酸化物質のうち、ルテインの含有量が揮発性成分生成に影響していることが示唆された。

以上のことから、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。

謝辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました東京電機大学の椎葉久教授に感謝の意を表します。なお、本研究はJSPS科研費JP20K13834の助成を受けて実施したものです。

参考文献

- 1) 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, 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 (2020).
- 2) 成澤朋之, 小島登貴子, 横堀正敏, 樋口誠一, 鈴木康修, 仲島日出男, 山田昌治, フレーバー評価技術の確立による製品の高付加価値化と品質管理への応用 一埼玉県産小

麦粉について一, 埼玉県産業技術総合センター研究報告 13, 28-32 (2015).

- 3) 成澤朋之, 仲島日出男, 樋口誠一, 横堀正敏, 高橋広子, 小島登貴子, 山田昌治, フレーバー評価技術の確立による製品の高付加価値化と品質管理への応用(第2報) 一埼玉県産小麦粉について一, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, 14, 27-31 (2016).
- 4) Narisawa, T., Nakajima, H., Umino, M., Kojima, T., Asakura, T., Yamada, M. Volatile compounds from Japanese noodles, "udon," and their formation during noodle-making. *J. Food Process. Technol.*, 8, 11, (2017).
- 5) Narisawa, T., Nakajima, H., Umino, M., Kojima, T., Yamashita, H., Kiribuchi-Otobe, C., Yamada, M., and Asakura, T. Cultivar differences in lipoxygenase activity affect volatile compound formation in dough from wheat mill stream flour. *J. Cereal Sci.*, 87, 231-238, (2019).
- 6) 畑中顯和, 植物起源の「みどりの香り」, 化学と生物. 31: 826-834, (1993).
- 7) Narisawa T., Sakai K., Nakajima H., Umino M., Yamashita H., Sugiyama K., Kiribuchi-Otobe C., Shiiba K., Yamada M., Asakura T. Effects of fatty acid hydroperoxides produced by lipoxygenase in wheat cultivars during dough preparation on volatile compound formation. *Food Chemistry* 443, 138566 (2024).
- 8) Simkin, A. J., Schwartz, S. H., Auldridge, M., Taylor, M. G., Klee, H. J. 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, (2004).
- 9) Ramadoss C.S., Pistorius E.K., Axelrod B. Coupled oxidation of carotene by lipoxygenase requires 2 isoenzymes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 190, 549-552, (1978).