

バイオ技術を利用した地域農林産物からの 新規機能性食品の開発 (第3報)

木村 英生・長沼 孝多・小嶋 匡人・恩田 匠

Development of Functional Food made from Local Agricultural Products (3rd Report)

Hideo KIMURA, Kota NAGANUMA, Masato KOJIMA and Takumi ONDA

要 約

高い抗酸化性とACE阻害活性を示したソルダムを原材料にして、ジャム、ジュースおよびパウダーを試作した。さらに、機能性成分として γ -アミノ酪酸 (GABA) を含有するソルダムジュース入りの乳酸菌飲料を試作した。

試作品は、いずれもソルダムに由来する色調と酸味を維持し、良好な味であった。ポリフェノールは、原材料のソルダムと比較して、ジャムは71.7%、ジュースは53.5%、パウダーは5.8倍の含有量であった。乳酸菌飲料は、GABAを12.0 (mg/100ml) 含有した。

Abstract

The experimental production of the jam, the juice and the powder were made from Sordum which was the fruitage showed high DPPH radical scavenging activity and ACE prevention activity. And the beverage which contained γ -aminobutyric acid (GABA) as a function component produced by lactic acid bacteria was manufactured.

These productions had the color tone and the acidity which were derived from Sordum, and were tasted good. The jam, the juice and the powder contained 71.7%, 53.5% and 5.8 times of polyphenol of the raw material. And the beverage contained 12.0 (mg/100ml) of GABA.

1. 緒 言

近年、高血圧や糖尿病に代表される生活習慣病の増加などを背景に、消費者の健康に対する関心が高まっている。特に、日常的な食を通して得られる健康の維持・増進効果は大いに注目されており、機能性を持つ食品の開発や、地域農林水産物の検索、および機能性成分の解析が全国的に行われている。

一方、山梨県は、扇状地による水はけの良さや日照時間が長いという土地柄から、果樹栽培が農業の中心であり、農業出荷額の60%近くを果実が占める。特にブドウ、モモ、スモモの収穫量は全国一であり、またカキ、リンゴ、サクランボなど気候や風土などその地域の特徴をいかした果樹栽培が行われている。本研究では、これまで、これら豊富な果実資源の高度利用と高付加価値化を目的として、その機能性、すなわちポリフェノール含有量、抗酸化活性、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性および抗アレルギー性の評価を行ってきた。その結果、スモモのソルダム¹⁻³⁾が、特に高いポリフェノール含有量、抗酸化活性およびACE阻害活性を示すことを明らかにした。ソルダムは、現在本県で栽培されている主要

なスモモ品種の一つで、7月中下旬に収穫され、鮮やかな赤色の果肉をもつことが特徴である。

そこで今年度は、ソルダムを原材料とし、高ポリフェノール含有量、高抗酸化活性を特徴とする食品を試作した。

また、さらなる機能性の付与のため、血圧降下作用⁴⁾や精神安定作用⁵⁾をもつ γ -アミノ酪酸 (GABA) に着目した。このGABAは、発芽玄米などの農産物に含まれるほか、乳酸菌など一部の微生物により生産⁶⁾されることが知られている。そこで、乳酸菌による発酵条件を決定し、GABAを強化した飲料を試作した。これにソルダムジュースを加え、ソルダム乳酸菌飲料を試作した。

2. 実験方法

2-1 供試果実

供試したソルダムは適熟期のものを使用し、平成18年7月から8月にかけて、本県南アルプス市の農園および甲府市の直売所から購入した。

2-2 ソルダムの機能性を活かした食品の試作

2-2-1 ソルダムジャム

ソルダムを除核後、果皮を含んだまま細断した。重量の2/3量のグラニュー糖を加えて加熱し、Brixが63°になるように煮詰めた。

2-2-2 ソルダムジュース

ソルダムを除核後、果皮を含んだまま細断し、ミキサーで均質化したものを裏ごしした。次いで遠心(8,000rpm, 30分間)し、上澄液に0.05% (w/v) ペクチナーゼ(ペクチナーゼG「アマノ」, 大野エンザイム)を加え、37°C, 2時間処理して清澄化した。80°C, 20分間加熱してペクチナーゼを失活させ、残渣を除いた。

2-2-3 ソルダムパウダー

ソルダムを除核後、果皮を含んだまま細断し、-30°Cで凍結した。凍結乾燥機(DC-55A型, ヤマト科学)を使用して水分を除去した。

2-3 GABAを強化した乳酸菌飲料の試作

2-3-1 供試菌株

供試菌株は、当センターで分離された乳酸菌株のうち、MRS液体培地(1%L-グルタミン酸ナトリウム含む)での37°C, 5日間培養で、最もGABAを生産したNo.5株を使用した。なお、本株は、ホモ型乳酸発酵を行う乳酸桿菌の一種である*Lactobacillus plantarum*である。

供試菌株は、MRS液体培地で30°Cで培養した。試験に使用する際には、遠心分離(3,000rpm, 10分間)して培地を除去し、少量の滅菌生理食塩水で洗浄した後に使用した。

2-3-2 乳酸菌飲料の試作法

乳酸菌飲料の乳酸発酵の基質として、スキムミルク(脱脂粉乳(全酪連)を12% (w/w) で蒸留水に溶解)を使用した。スキムミルクは、あらかじめ85°C, 30分間の加熱殺菌処理を行った。このスキムミルクに、グルコース(1.0, 2.0%, 和光純薬), GABAの基質であるL-グルタミン酸ナトリウム一水和物(0.2, 0.5%, 和光純薬), 酵母エキス(0.05, 0.1%)あるいは0.01%ビタミンB₆(ピリドキシン塩酸塩, 和光純薬)を添加し、供試菌株を10⁸個/mlとなるように添加し、30°Cで培養した。なお、酵母エキスはBacto Yeast Extract(日本ベクトン・ディッキンソン, 以下Yeast Extract)と酵母エキス協和I.(協利醗酵, 以下酵母エキスL)の2種を使用した。また、ビタミンB₆はピリドキシン, ピリドキサル, ピリドキサミンの複合体であるが、食品添加物として使用できるピリドキシン塩酸塩について試験した。

2-3-3 乳酸菌飲料の分析法

乳酸菌飲料の分析は、蒸留水で2倍に希釈して均質化後、以下のように行った。すなわち、pHはpHメーターで、糖度は糖度計(DBX-55型, アタゴ)で測定した。乳酸

菌数は、GYP寒天培地を使用して生菌数を測定した。

GABA含有量は、乳酸菌飲料を0.01N塩酸で20倍に希釈後、0.5倍量の10%TCAを加えて混合し、遠心分離(5,000rpm, 20分間)した上澄液を0.2μmのマイクロフィルターでろ過し、高速アミノ酸分析機(J.-8500型, 日立製作所)で分析した。

2-3-4 ソルダム乳酸菌飲料の試作

乳酸菌飲料を80°C, 10分間加熱処理した後、ホモジナイザー(HG30型, 日立製作所)で均質化したものを裏ごしした。これに2-2-2のソルダムジュースを等量、上白糖を15%加えた。

2-4 試作品の一般成分および機能性分析方法

試作品の一般成分(水分, タンパク質, 脂質, 灰分, 炭水化物およびエネルギー)は、常法²⁾にしたがって分析した。ポリフェノール含有量, DPPHラジカル消去活性, ACE阻害活性は、試作品を既報¹⁾にしたがって前処理した後、既報¹⁻²⁾に従って分析した。ただし、ソルダムジュースはそのまま分析に供した。

3. 結果と考察

3-1 乳酸菌飲料の製造条件

3-1-1 酵母エキス, ビタミンB₆添加の検討

スキムミルクへの酵母エキスあるいはビタミンB₆添加が、GABA蓄積量, pH変動, 菌数変動, Brix変動におよぼす影響を試験した。スキムミルクに2.0%グルコース, 0.5%L-グルタミン酸ナトリウムを添加し、Yeast Extract(0.05, 0.1%)あるいは0.1%酵母エキスLあるいは0.01%ビタミンB₆を添加し、*L. plantarum* No.5株を添加して30°Cで最大21日間静置した結果を図1に示した。

GABA蓄積量は、Yeast Extract添加濃度を高くするにしたがい増加した。酵母エキスLは、同じ添加濃度のYeast ExtractよりもGABA蓄積量が増加した。また、ビタミンB₆添加によってもGABAが蓄積されたが、無添加区では、GABAは全く蓄積されなかった。

乳酸菌数は、ビタミンB₆添加区を除く試験区で、培養開始後3日目で最大(10⁷~10⁸個/ml)となった。ビタミンB₆添加区は培養開始後7日目で最大となった。Yeast Extract添加区(0.1%)および酵母エキスL添加区(0.1%)は、培養開始後3日目以降ゆるやかに菌数が減少した。

pHは、全ての試験区で徐々に低下したが、Yeast Extract添加区と酵母エキスL添加区では、21日目までpH3.8~4.2となったのに対し、無添加区ではpH5.3にとどまった。Brixは、無添加区ではほとんど減少しなかった。

以上の結果から、本菌の場合、GABAの蓄積には酵母エキスの添加が必須と推察され、その有効成分はビタミン

ンB₆と考えられた。

GABA生成に関わる酵素はグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD)⁶⁾ で、補酵素としてピリドキサルリン酸を必要とする。細胞内においては、ピリドキシン、ピリドキサル、ピリドキサミンは相互に変換可能で、必要に応じてリン酸化されるため、本試験でもピリドキシン塩酸塩の添加でGABAの生成が行われたと考えられた。

また、本試験では、*L. plantarum* No.5株の増殖が定常期に達した後に、GABAの蓄積が認められた。宇川ら⁶⁾によると、乳酸菌のGAD活性は、対数増殖期に現れるものと、定常期以降に現れるものに大別される⁶⁾と報告しているが、本菌は後者の菌株であると考えられた。

したがって、本菌株を用いてGABAを強化した乳酸菌飲料を製造する場合、本菌の定常期以降の増殖が可能な発酵条件を設定することが重要と考えられた。

3-1-2 グルコース、L-グルタミン酸ナトリウム添加の検討

スキムミルクへのグルコースおよびL-グルタミン酸ナトリウム添加が、GABA蓄積量におよぼす影響につい

て試験した。グルコース添加濃度が高くなるにしたがい、GABA蓄積量が増加した(図2)。また、乳酸菌数はグルコース添加量が増すにしたがい増加し、いずれの試験区でも3日目で最大となった。その後、乳酸菌数は減少したが、グルコース添加量が高い試験区は急激に減少した。いずれの試験区でも、乳酸菌数は最大 $1.0 \sim 1.5 \times 10^8$ (個/ml)であった。

また、GABAの基質であるL-グルタミン酸ナトリウムの添加量が増すにしたがい、GABAの蓄積量は若干増加した(図には示さない)。

GABAを高生産する乳酸菌として*L. brevis*⁶⁾が挙げられる。本菌種は、ヘテロ型乳酸発酵を行う乳酸桿菌の一種で、特にNBRC 3345株とNBRC 12005株のGABA生成能力が高いという報告がある。NBRC 3345株について検討したところ、スキムミルクに2.0%グルコース、0.5%L-グルタミン酸ナトリウム、0.1%Yeast Extractを添加した条件でのGABA蓄積量は、7日で25.9 (mg/100ml)であり、*L. plantarum* No.5株の場合と比較し、およそ2倍のGABA蓄積量となったが、pHはほとんど

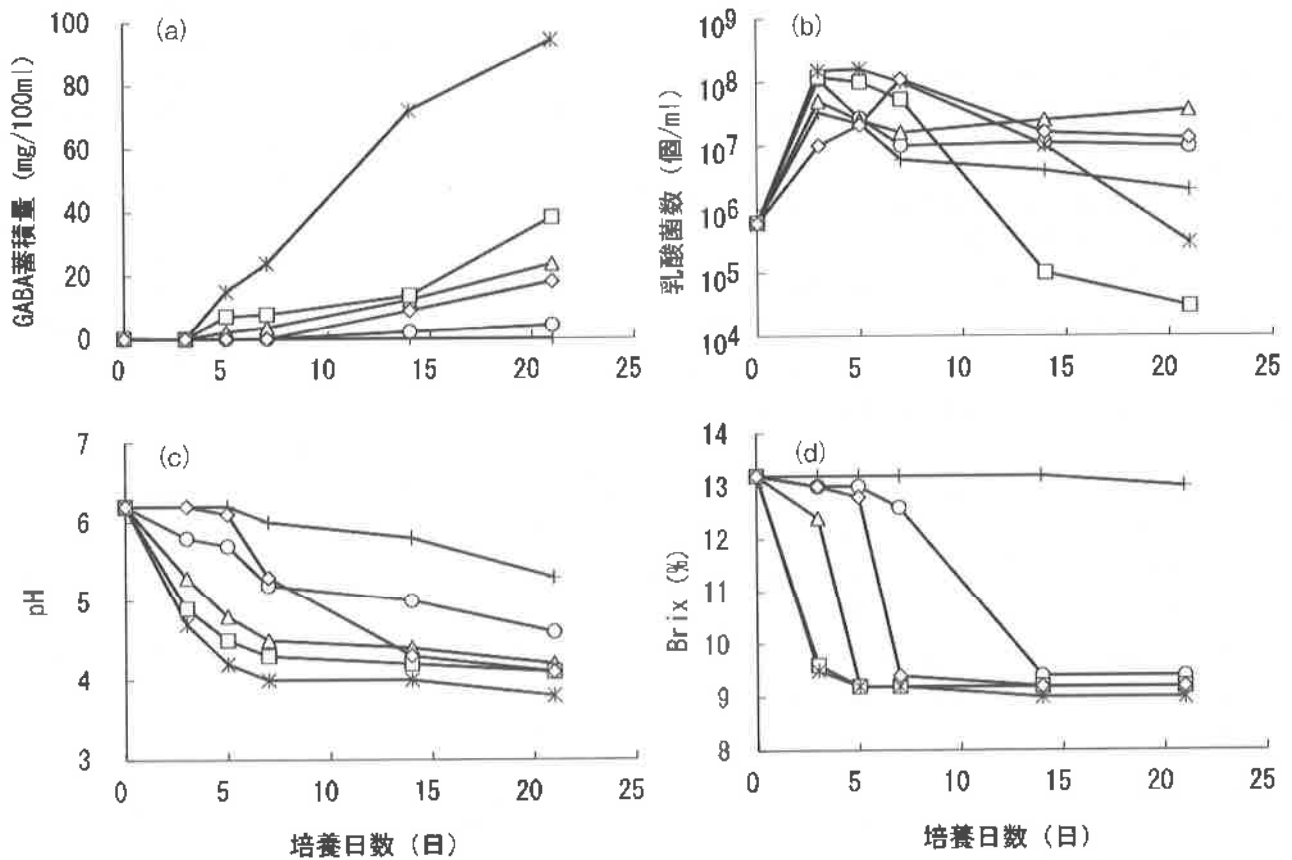


図1 スキムミルクにおける乳酸菌*L. plantarum* NO.5を用いたGABA生産試験
(a) GABA蓄積量 (b) 乳酸菌数 (c) pH (d) Brix

—+— 無添加区 —○— Yeast Extract添加区 (0.01%)
—△— Yeast Extract添加区 (0.05%) —□— Yeast Extract添加区 (0.1%)
—*— 酵母エキスL添加区 (0.1%) —◇— ビタミンB₆添加区 (0.01%)

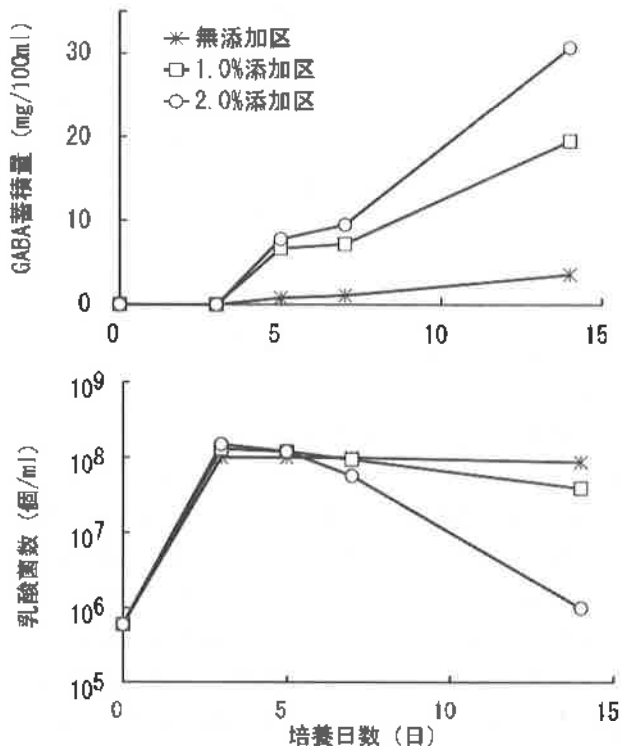


図2 グルコース添加濃度によるGABA蓄積量と乳酸菌数の変化

低下しなかった。

以上の結果から、GABAを強化した乳酸菌飲料を調製するための発酵条件は、スキムミルクに、2.0%グルコース、0.5%L-グルタミン酸ナトリウム、0.1%酵母エキスを添加後、供試菌株を10⁵個/mlとなるように添加し、培養期間を30℃で7日間と設定した。

3-2 試作品の一般成分、アミノ酸、機能性分析

試作品の一般成分分析結果を表1に、アミノ酸組成を表2に示した。また、それぞれのポリフェノール含量、DPPHラジカル消去活性、ACE阻害活性を表3に示した。

試作品の一般成分は、他の果実ジャムやジュース類と類似したものであった。また、アミノ酸はアスパラギンとプロリンを豊富に含んでおり、これは原材料のソルダム由来のものであると考えられた。なお、ソルダム乳酸菌飲料にはグルタミン酸が多く含まれているが、これはGABA生成に利用されず残ったものと考えられた。

機能性成分では、ジャムは、グラニュー糖の添加量を考慮した場合、原材料のソルダムから28.3%のポリフェノール含有量が減少した。これは、調製時の加熱の影響と考えられた。また、ジュースのポリフェノール含有量は原材料のソルダムの53.5%であった。DPPHラジカル消去活性は、ほぼポリフェノール含有量と同じ傾向で増減していた。一方、ACE阻害活性は、ポリフェノール含有量の減少率よりも比較的高かった。

これら試作品は、いずれも、原材料に由来する鮮やか

表1 試作品の一般成分

	ソルダム ジャム	ソルダム ジュース	ソルダム パウダー	ソルダム 乳酸菌飲料
エネルギー (kcal/100g)	236	36	307	80
一般成分 (g/100g)				
水分	41.0	90.8	21.9	79.7
タンパク質	0.4	0.2	3.9	1.6
脂質	0.3	0.1	1.2	0.1
炭水化物	58.0	8.5	70.2	18.1
灰分	0.3	0.4	2.8	0.5

表2 試作品のアミノ酸組成

	ソルダム ジャム	ソルダム ジュース	ソルダム パウダー	ソルダム 乳酸菌飲料
含有量 (mg/100g)				
スレオニン	3	3	156	3
バリン	3	5	136	7
メチオニン	不検出	不検出	不検出	不検出
イソロイシン	2	2	103	2
ロイシン	1	1	34	1
フェニルアラニン	1	1	14	1
リジン	1	2	14	2
ヒスチジン	1	1	100	2
アスパラギン酸	4	5	250	9
アスパラギン	120	185	8927	124
グルタミン酸	3	18	523	136
グルタミン	3	4	253	不検出
グリシン	1	1	37	1
アラニン	17	17	326	12
チロシン	1	不検出	16	不検出
セリン	8	9	256	8
γアミノ酪酸	5	4	340	12
オルニチン	0	不検出	5	不検出
アルギニン	1	0	18	1
プロリン	78	32	4011	22

表3 試作品のポリフェノール含有量、DPPHラジカル消去活性およびACE阻害活性

	ソルダム ジャム	ソルダム ジュース	ソルダム パウダー	ソルダム 乳酸菌飲料
ポリフェノール含有量 (没食子酸相当量 mg/100g)	147	115	1238	40
DPPHラジカル消去活性 (Trolox相当量: μmol/100g)	905	872	7149	229
ACE阻害活性 (IC ₅₀ :g/100ml)	10.5	10.5	0.6	>20

な赤色と酸味を維持し、さまざまな用途が考えられた。パウダーは、ポリフェノール含有量などの機能性が高く、扱いが簡便であるため、菓子原材料としてだけではなく、ポリフェノール強化剤としても使用できると考えられた。

4. 結 言

ポリフェノールを高濃度で含有するソルダムを用いて、代表的な果実加工品であるジャム、ジュースをはじめとして、パウダー、GABA含有乳酸菌飲料を試作した。

これらは、ソルダムに由来する色調と酸味を有し、高いポリフェノール含有量が特徴であった。

参考文献

- 1) 木村英生, 辻政雄, 恩田匠, 長沼孝多: 山梨県工業技術センター報告, Vol.19, p.6 (2005)
- 2) 木村英生, 長沼孝多, 小松正和, 恩田匠: 山梨県工業技術センター報告, Vol.20, p.5 (2006)
- 3) 木村英生, 長沼孝多, 小松正和, 恩田匠: 日本食品科学工学会大会講演要旨集 (2006)
- 4) 梶本修身, 平田洋, 西村明: 健康・栄養食品研究, Vol.6 (2), p1 (2003)
- 5) 田中千賀子, 加藤隆一: New薬理学, 南江堂 (2003)
- 6) 早川潔, 上野義栄, 川村眞也, 谷口良三, 小田耕平: 生物工学会誌, Vol.75 (4), p.239 (1997)
- 7) 日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員 編: 新・食品分析法, 光琳 (1997)