

## 県産素材を用いた高付加価値食品の開発

### －県産小麦麺の色調保持技術の開発（Ⅱ）－

小島登貴子\*<sup>1</sup> 樋口誠一\*<sup>1</sup> 仲島日出男\*<sup>2</sup>  
小内康弘\*\*

## Development of Value Added Food with Agricultural Products in Saitama Prefecture

### －Development of the Color Preservation Technology of Japanese salted noodles（Ⅱ）－

KOJIMA Tokiko\*<sup>1</sup>, HIGUCHI Seiichi\*<sup>1</sup>, NAKAJIMA Hideo\*<sup>2</sup>,  
ONAI Yasuhiro\*\*

#### 抄録

pH調整を目的として各種の酸を添加した麺はゆで後の時間の経過に伴い黄色みが退色し、このような麺の退色の抑制にはフェルラ酸等の抗酸化性成分の添加が有効であった。一方、酸添加のゆで麺にはリポキシゲナーゼ（LOX）活性が残存し、これが黄色み成分であるルテインの分解に関与するとみられた。また、pH3.8に調整した大豆LOX溶液では10分間加熱した場合でもLOX活性が認められ、酸性下で加熱耐性を有することが分かった。

キーワード：あやひかり，黄色み，ルテイン，リポキシゲナーゼ（LOX）

## 1 はじめに

埼玉県産小麦「あやひかり」は、ルテインを多く含有し、ゆで麺に加工した際に明るい黄色みが良好な麺となるが、ゆで後の麺の退色が商品価値の低下を引き起こす。ゆで麺の色調保持を目的として検討を行い、前報において、日持ち向上のためのpH調整剤の添加により退色が進むこと、ゆで後の経時的な黄色みの退色については小麦粉酵素リポキシゲナーゼ（LOX）活性の関与が示唆され、pH調整剤に加えてフェルラ酸やアスコルビン酸等の抗酸化性成分を少量添加することにより退色が抑制されたことを報告した。

脂肪酸の酸化酵素であるリポキシゲナーゼ（LOX）については大豆や大麦中をはじめとした

各種の植物由来の構造や作用機構、また、小麦関連では、パスタの黄色みの退色やパンの物性への影響等様々な報告がなされている<sup>1)~8)</sup>。

しかし、特にゆで麺のような加熱後の食品における活性については報告がない。そこで本研究では、ゆで麺の退色とLOX活性の関連性を調べ、ゆで麺の高品質化を目指して、黄色み保持技術をさらに検討することを目的とした。

## 2 実験方法

### 2.1 小麦粉の総ルテイン含量の測定

農林総合研究センター水田研究所より供与された小麦4品種（あやひかり、農林61号、さとのそら、ユメシホウ）をブラベンダーミルで試験製粉したA粉について製粉後から1年後までのルテイン含量の変化を調べた。小麦粉4.0gを50mlの栓付き三角フラスコに量りとり、水飽和ブタノールを20ml加え、マグネチックスターラーで1

\*<sup>1</sup> 北部研究所 生物工学担当

\*<sup>2</sup> 現 産業支援課

\*\* (株)新吉

分間攪拌した。15分静置後、遠心分離をして、上澄をろ紙でろ過後、分光光度計（日立製作所製320型自記分光光度計）により350nm～550nmの分光吸収スペクトルを測定した。総ルテイン含量は金子<sup>9)</sup>らの方法に基づき、ルテインの1mg/100ml溶液の449nmにおける吸光度2.336から算出した。

## 2.2 製麺及びゆで試験

市販のあやひかりブレンド粉を使用した。小麦粉200gに対して食塩添加量3.2%、加水38%で前報と同様に製麺した。麺に練り込むpH調整剤として各種酸を小麦粉に対して0.5%(w/w)添加した。また、フェルラ酸等の退色抑制成分を小麦粉に対して0.05%(w/w)添加した。

ゆで水に水道水3lを用い、生麺100gを8分間ゆでた。流水下で30秒水冷して水を切った後重量を測定し、生麺の重量に対する歩留まりを算出した。

ゆで麺5gに蒸留水50mlを入れ、ミルサーで30秒間攪拌した溶液のpHをpHメーター（堀場製）により測定した。

## 2.3 麺色の測定

ゆでた当日と、冷蔵庫で保存した3日後の麺のゆで麺の色調を色彩色差計（ミノルタ製CR-300）を用い前報と同様に1試料につき3回測色し、各麺につき3試料測定した。

## 2.4 LOX活性測定

大関ら<sup>10)</sup>およびLulai<sup>11)</sup>らの方法に基づき、ゆで麺の凍結乾燥粉末および大豆由来のLOX（SERVA社）の活性を測定した。ゆで麺乾燥粉末150mgに1mMジチオスレイトール(DTT)を含む50mMリン酸カリウム緩衝液(pH6.0)1.5mlを加えて4℃条件下で1時間抽出(15分ごとに30秒攪拌)した後、15,000r.p.m.で15分間遠心し、上澄を粗酵素液とした。酵素液20μlに2.9mlの50mMリン酸カリウム緩衝液と20μlの8mMリノール酸を添加し、234nmの吸光度の変化を測定した。

大豆由来LOX2mgを緩衝液1mlに溶解してゆで麺の粗酵素液と同様にLOX活性を測定し

た。緩衝液としてpH3.8～5.4は50mMのクエン酸緩衝液、pH6.0は50mMリン酸カリウム緩衝液、pH9.0は50mMホウ酸緩衝液を用いた。緩衝溶液の作成には、すべて特級試薬を用いた。

## 3 結果と考察

### 3.1 小麦粉の総ルテイン含量

4品種の小麦のA粉および市販のあやひかりブレンド粉の総ルテイン含量を図1に示す。試験製粉後の日数を示す。あやひかりやさとのそのA粉は農林61号に比べて総ルテイン含量が約2割高かった。ゆで麺試験で使用したあやひかりブレンド粉のルテイン含量は、あやひかりA粉の約6～7割であった。いずれの小麦粉も製粉後から徐々に減少するが、あやひかりやさとのその総ルテイン含有量は相対的に高かった。

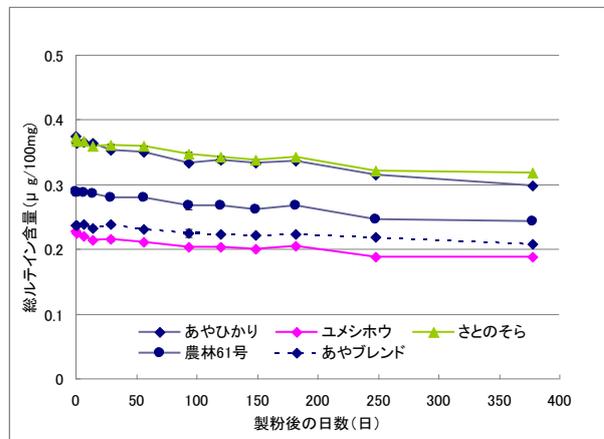


図1 小麦粉の総ルテイン含量の変化

### 3.2 各種酸を添加したゆで麺の色調変化

pH調整剤として各種酸を添加した麺の色調変化を調べた。表1にゆで3日後の麺の色調、目視による色相、pHおよび歩留まりを示す。

表1 各種酸添加麺の色調等

酸性分	L*	a*	b*	色相	pH	歩留
無添加	72.2	-3.01	10.0	+	6.1	1.88
フマル酸製剤	73.7	-1.81	6.84	-	4.7	1.88
リン酸	68.4	-2.28	6.76	-	4.0	1.62
酢酸	70.4	-1.43	3.73	--	4.9	1.82
フマル酸	70.6	-1.78	5.26	-	4.3	1.81
リンゴ酸	69.5	-1.36	3.48	--	4.5	1.79
コハク酸	71.2	-1.36	4.94	-	4.7	1.78
クエン酸	70.5	-1.42	5.54	-	4.6	1.72
酒石酸	69.3	-1.61	4.71	-	4.4	1.73
乳酸	69.6	-1.94	4.81	-	4.7	1.81

黄色みの退色は  $b^*$  で示され、 $b^*$  が 7 未満になると見た目にも退色が顕著となった。色相は目視により 3 段階 (+ : 黄色み有、- : 白く退色、-- : より白く退色) で評価した。

この結果、麺に添加した酸の種類によらず、ゆで麺の pH が 4~5 で退色が起こることが明らかになった。また、酸の添加量を増やして pH が 4 未満になると退色せず黄色く発色するとともに、ゆでどけが顕著になり歩留の低下につながった。

### 3.3 退色抑制成分の添加効果

次に、これらの酸添加により退色が生じる条件において、前報から麺の退色抑制効果が高かったフェルラ酸の添加効果を調べた。表 2 にゆで 3 日後の麺の色調、目視による色相、pH および歩留を示す。

この結果、各種酸の添加により退色が生じる pH4~5 の場合でも、フェルラ酸を同時に添加することで退色が抑えられることが明らかになった。フェルラ酸の添加量は小麦粉に対して 0.05 % (w/w) 以下で効果があったが、添加量が 0.01 % (w/w) 以下になると効果の持続性がやや劣った。

表 2 フェルラ酸の添加効果

酸性分	退色抑制成分	L*	a*	b*	色相	pH	歩留
フマル酸製剤	フェルラ酸	71.9	-3.16	9.94	+	4.4	1.86
リン酸		68.1	-3.45	10.8	+	4.0	1.66
酢酸		70.1	-2.95	8.93	+	4.8	1.77
フマル酸		70.2	-3.04	9.27	+	4.2	1.78
リンゴ酸		69.2	-3.00	9.10	+	4.5	1.72
コハク酸		70.1	-2.96	9.02	+	4.7	1.78
クエン酸		70.3	-2.99	9.20	+	4.5	1.75
酒石酸		68.6	-3.03	9.09	+	4.3	1.71
乳酸		69.7	-3.00	9.18	+	4.4	1.81

次に、フェルラ酸に構造の似たフェノールカルボン酸類や抗酸化性を有する成分について退色抑制効果を調べた。色調保持効果が認められた成分について表 3 に示した。カフェイン酸、クロロゲン酸、カテキンについては麺に若干苦みを付与した。また、トコフェロールは油液であり、製麺現場での取り扱いには白い粉末で味のないフェルラ酸が適すると考えられた。

表 3 各種抗酸化性成分の添加効果

酸成分	退色抑制成分	L*	a*	b*	色相	pH	歩留
フマル酸製剤	フェルラ酸	71.9	-3.16	9.94	+	4.4	1.86
	カフェイン酸	74.1	-2.56	8.70	+	4.5	1.89
	クロロゲン酸	73.8	-2.39	8.39	+	4.5	1.89
	カテキン	70.2	-1.61	9.64	+	4.7	1.93
	トコフェロール	73.0	-2.53	8.92	+	4.4	1.83

### 3.4 ゆで麺乾燥粉末の LOX 活性

あやひかりブレンド粉を用いて 3 種類 (No.1 : pH 調整剤無添加、No.2 : pH 調整剤添加、No.3 : pH 調整剤+フェルラ酸添加) 製麺した。ゆで直後に冷凍したものと、冷蔵庫 (5°C) で 1 週間保存して No.2 の麺で退色を確認後冷凍したもの、それぞれの凍結乾燥粉末を作成し、粗酵素抽出液の LOX 活性を測定した (図 2)。

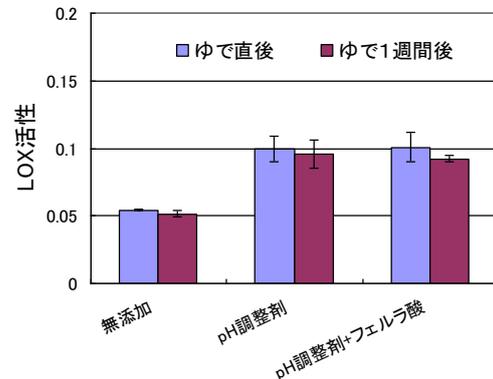


図 2 ゆで麺乾燥粉末の LOX 活性

この結果、pH 調整剤を添加した麺は無添加の麺に比べて LOX 活性が約 2 倍残存していた。また、ゆで直後と冷蔵庫で 1 週間保存したもので LOX 活性に違いは見られなかった。pH 調整剤のみの添加で退色が生じた麺とフェルラ酸を添加して色調が保持された麺とでは LOX 活性値はほぼ同様であったことから、フェルラ酸は LOX 活性を阻害するのではなく、LOX の働きにより生じた脂質ラジカルを捕捉することで、ルテインの分解を抑制し、色調保持に効果を示すものと推察された。

### 3.5 大豆由来リポキシゲナーゼの活性

これまでの結果から、ゆで麺において退色が生じる原因として、1) LOX 活性が加熱後も活性を有し、ルテインの分解を促進する。2) LOX 活性の加熱耐性には pH が影響し、酸性側で加熱耐性

が強くなる。ことが推察された。そこで、市販の大豆 LOX を用いて LOX 活性の加熱耐性を測定した。

ゆで麺の粗酵素抽出液の LOX 活性値を基に、予備試験から大豆 LOX を緩衝溶液に溶解する濃度を 2 mg/ml とした。各 pH の緩衝液に溶解したところ、pH9.0 の緩衝液にはよく溶解したが、pH3.8~6.0 では懸濁し沈殿が残った。そこで、大豆 LOX の各 pH の緩衝溶液について遠心分離 (15000 r.p.m.、5 min) 前後で LOX 活性を比較した。

この結果、大豆 LOX は pH により溶解度が異なり、LOX 活性は溶解度に依存することが分かった (図3)。

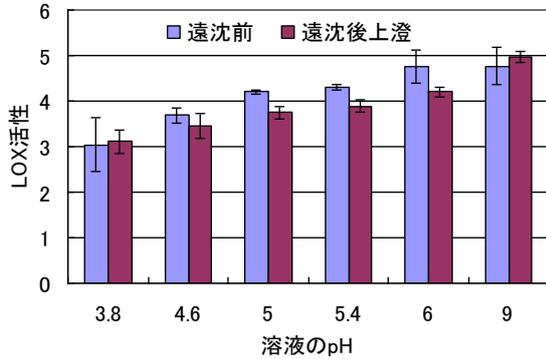


図3 各pHの緩衝液に溶解した大豆LOXの活性

次に、各 pH の LOX 緩衝溶液 1 ml を 10 ml のガラス製の遠沈管に入れ、沸騰水の湯浴中で 3 分間加熱し 15 分間流水下で水冷した後、生じた沈殿を遠心分離 (15000 r.p.m.、5 min) で除いた上澄の LOX 活性を測定した (表4)。

表4 ゆで麺乾燥粉末の LOX 活性

pH	LOX活性(加熱3分)	
	平均	標準偏差
3.8	3.77	0.11
4.6	ND	-
5.0	ND	-
5.4	ND	-
6.0	ND	-
9.0	2.29	0.16

ND : Not Detection (不検出) n = 3

この結果、大豆 LOX は、pH3.8 と pH9.0 で加熱

耐性を有する一方で、pH4.6~6.0 では 3 分間の加熱により失活することが分かった。

さらに、大豆 LOX の pH3.8 の緩衝溶液における加熱耐性について加熱時間の影響を調べた。大豆 LOX の pH3.8 緩衝溶液 1 ml を 10 ml のガラス製の遠沈管に入れ、沸騰水の湯浴中で 3、5 および 10 分間加熱し 15 分間流水下で水冷した後、生じた沈殿を遠心分離で除いた上澄の LOX 活性を測定した (図4)。

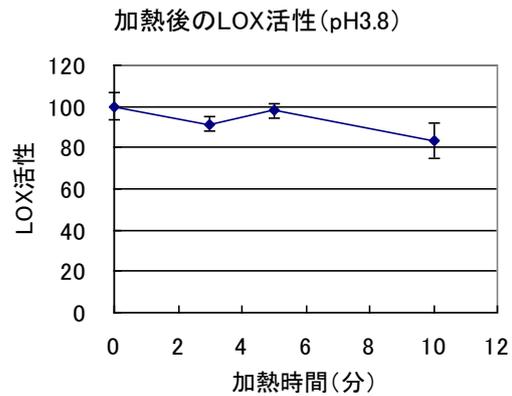


図4 大豆LOXの活性への加熱時間の影響 (加熱無しの LOX 活性を 100 としたときの割合)

この結果、大豆 LOX は pH3.8 では、10 分間の加熱後も 8 割程度の活性が保たれることが示された。

#### 4 まとめ

あやひかりを用いたゆで麺は明るい黄色みの特徴である。この色調保持について検討した結果以下のことが分かった。

- (1) あやひかりやさとのそらの A 粉の総ルテイン含量は農林 61 号に比べて約 2 割高く、製粉後徐々に減少するものの、相対的に高かった。
- (2) 麺に添加した酸の種類によらず、ゆで麺の pH が 4~5 で退色が起こり、フェルラ酸等の抗酸化性成分を同時に添加することで退色が抑えられることが明らかになった。
- (3) pH 調整剤を添加したゆで麺は無添加の麺に比べて LOX 活性が約 2 倍になった。また、フェルラ酸を添加して色調が保持された麺でも LOX 活性は pH 調整剤のみ添加した麺とほぼ同様であ

り、フェルラ酸の添加は LOX 活性自体を阻害していないことが明らかになった。

(4) 大豆 LOX は pH により緩衝液への溶解度が異なり、LOX 活性は溶解度に依存した。

(5) 大豆 LOX 緩衝溶液は、pH4.6~6.0 では3分間の加熱により失活したが、pH3.8 と pH9.0 で加熱耐性を有し、pH3.8 では10分加熱後も8割程度の活性が残った。

以上の結果から、ゆで麺の退色と色調保持の機構を以下のように考察した。つまり、麺をゆでる際に、麺に添加した酸の影響によって局所的に pH が4未満となることで小麦粉中の LOX が加熱後も残存し、この働きにより生じた脂質ラジカル等により、黄色みの成分ルテインが分解して退色が生じる。そして、フェルラ酸は脂質ラジカルを捕捉することでルテインの分解を抑制し、ゆで麺の色調が保持される。

今後、新品種小麦でありルテイン含量の高い「さとのそら」の栽培拡大・麺への加工の増加が見込まれることから、本技術を活用したゆで麺の高品質・高付加価値化が期待される。一方、小麦粉には、LOX 以外にカタラーゼやポリフェノールオキシダーゼなど酵素が含まれることから<sup>12)</sup>、麺の品質に対する各種酵素活性の複合的な影響についてさらなる検討が期待される。

#### 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お茶の水女子大学の村田容常教授に感謝の意を表します。

本技術に関して特許「品質保持剤およびその用途」を出願中。

#### 参考文献

- 1) Alan R. Brash: Lipoxygenases: occurrence, Functions, Catalysis, and Acquisition of Substrate, J. Biological Chem. Vol.274, 34(1999)23679-23682
- 2) V. Gökmen, A. Serpen, Atli, and H. Köksel: A Practical Spectrophotometric Approach for the Determination of

- Lipoxygenase Activity of Durum Wheat, Cereal Chem., **84**, (2007)290-293
- 3) Rebeca Garcia, Nadia Kaid, Caroline Vignaud, and Jacques Nicolas: Purification and Some Properties of Catalase from Wheat Germ (*Triticum aestivum* L.), J. Agric. Food Chem.,**48**,(2000)1050-1057
- 4) 南出隆久：過日、野菜の脂質とリポキシゲナーゼの生理作用, 食工学会誌, 24(1977)186-199
- 5) Taner Baysal a, Ashlhan Demirdoven Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review, Enzyme and Microbial Technology, 40(2007)491-496
- 6) K. SHIIBA, Y. NEGISHI, K. OKADA, and S. NAGAO: Purification and Characterization of Lipoxygenase Isozymes from Wheat Germ, Cereal Chem., **68**, (1991)115-122
- 7) Jacques Nicolas, Maria Autran and Roger Drapron Purification and Some Properties of Wheat Germ Lipoxygenase, J. Sci. Food Agric.,**33**,(1982)365-372
- 8) M. D. Permyakova, V. A. Trufanov, T. A. Pshenichnikova, and M. F. Ermakova : Role of Lipoxygenase in the Determination of Wheat Grain Quality ,Applied Biochemistry and Microbiology, **46**(2010) 87-92.
- 9) Kaneko, S., Nagamine, T. and Yamada, T.: Esterification of Endosperm Lutein with Fatty Acids during the Storage of Wheat Seeds , Biosci. Biotech. Biochem., **59**,(1995)1-4
- 10)大関美香ら：我が国のビール大麦品種におけるリポキシゲナーゼ活性の変異と新たな活性欠失突然変異系統の作出,育種学研究,**9**,(2007)55
- 11) Lulai e.c., and Baker C. W. : Physicochemical Characterization of Barley Lipoxygenase, Cereal Chem., **53**, (1976)777-786
- 12) Jean-François Delcros, Lalatiana Rakotozafy, Aline Boussard, Sylvie Davidou, Catherine Porte, Jacques Potus, and Jacques Nicolas: Effect of Mixing Conditions on the Behavior of Lipoxygenase, Peroxidase, and Catalase in Wheat Flour Doughs, Cereal Chem., **75**, (1998)85-93