

## 論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨

学位申請者氏名: 小林 泰斗

学位の種類: 博士(食品栄養学)

学位記番号: 博(健)甲第 20 号

学位授与年月日: 平成 31 年 3 月 5 日

指導教員: 高崎健康福祉大学教授

松岡 寛樹

審査委員: 主査 高崎健康福祉大学 教授

綾部 園子

副査 高崎健康福祉大学 教授

岡村 信一

副査 高崎健康福祉大学 教授

田中 進

### 【論文題目】

酸性緩衝剤を用いた低温熟成タクアン漬けの鮮黄色化促進技術の開発

Enhancement of yellowing for low-temperature aged takuan-zuke using acidic buffering agents.

### 【論文の内容の要旨】

#### 1. はじめに

タクアン漬けは、脱水処理されたダイコンを塩もしくは塩糠とともに漬け込み、常温下で長期間熟成させて製造する。この過程でダイコンは多段的な反応を経て、特徴的な鮮黄色へと変化する(Fig.1)。しかし、この黄色は蛍光灯の光に弱く、店頭に陳列されると退色する。この黄色を保持するために、人工もしくは天然着色料が添加物として使われている。現在では、黄変防止と低塩化のために低温条件下での熟成が主流となる一方、黄変しないダイコンの品種開発といった試みも始まっている。我々の研究室では、自然に発色するタクアン漬けの色に着目し、その黄変化条件の解析と同時に食品機能の解析を行ってきた。これまでの研究により、常温塩蔵後期の黄変化反応にとって温度だけでなく、熟成中の pH の変動が律速因子になる事が報告されている。予備実験において黄変化を防ぐ目的で酸性 pH 緩衝剤を加えたところ、短期低温熟成条件においても黄変化反応を促進させることを見出した。そこで本研究では、酸性低温塩蔵下での黄色色素関連物質の詳細な動態解析を行い、低温熟成における鮮黄色化促進技術の確立、さらに、機能性解析として黄色関連物質の抗酸化活性を明らかにすることでタクアン漬けの高付加価値化を図ることを目的とした。

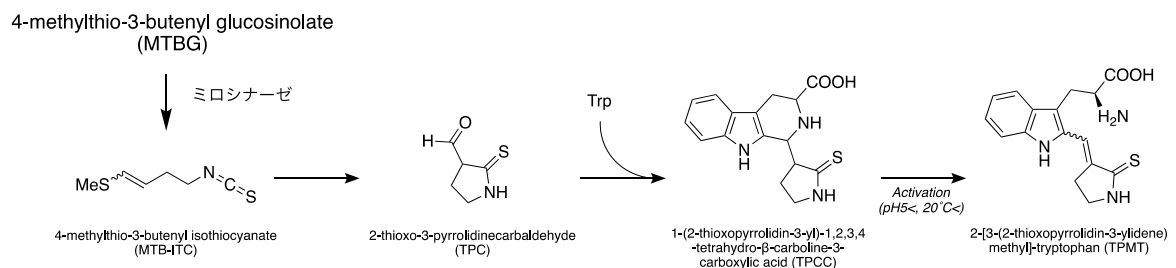


Fig.1 タクアン漬けの黄変化機構

## 2. 方法

### 1) タクアン漬けの 2-thioxo-3-pyrrolidine carbaldehyde (TPC)の定量方法の確立

従来法では分析困難である TPC について、4-(*N,N*-dimethylaminosulfonyl)-7-hydrazino-2,1,3- benzoxadiazole (DBD-H)蛍光誘導体化試薬による、反応条件の検討を行った。

### 2) 酸性低温製造によるタクアン漬けの黄変化メカニズムの解析

- ① タクアン漬け試料の調製:「干し理想」ダイコンを用い、日干しならびに塩押しによる 2 週間の脱水処理の後、pH 緩衝剤を併用した 2 ヶ月間の塩蔵熟成により製造した。
  - ② 分析項目:水分、塩分および pH の測定を行なった。MTB-ITC は GC、そして 6 種の黄色色素関連物質(Fig.1)については HPLC による定量分析を行った。
- ### 3) 黄色関連物質の抗酸化活性試験:Superoxide dismutase (SOD)様活性、Cu<sup>2+</sup>キレート活性、ヒドロキシラジカル(OH)消去活性、一重項酸素(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)消去活性、DPPHラジカル消去活性、ABTSラジカルカチオン消去活性、ORAC法による抗酸化試験を行った。

## 3. 結果と考察

### 1) DBD-H を用いた TPC 分析法の確立

抽出と同時に DBD-H による蛍光誘導体化反応を行うことで、簡便で頑強かつ高感度・高選択的な TPC 分析法を確立した。これにより、大根おろしでは TPC が MTB-ITC の主要な分解生成物として存在し、タクアン漬けの黄変化反応においても重要な中間体になりうることを明らかにした。本分析法は、食品だけでなく生体中の挙動解析にも応用可能であることが示唆された。

### 2) 酸性低温製造による黄変化メカニズムの解明

酸性緩衝剤を用いて塩蔵熟成中の pH を 4.5 未満に制御する事で、低温でもタクアン漬けを鮮黄色化させることに成功した。続いて、既知の黄色色素関連物質の動態解析した結果、MTB-ITC 分解物である TPC は他の関連物質と比較して顕著に高かった。TPC とともに色素前駆体である TPCC の基質となる tryptophan は日干しダイコンのみで増大することを見出し、その生成能の違いが TPCC 合成の律速因子になることを明らかにした。さらに、pH の低下は TPCC 増大を誘導したが、本条件下では続く黄色色素(TPMT)への反応効率はわずか 1~2% であった。以前の報告では、常温条件では変換効率が 29%であり、さらに色特性も異なるため、本研究で見出された黄色物質は TPMT とは異なる化合物であることが示唆された。

### 3) 黄色色素関連物質の抗酸化活性

黄色色素関連物質の抗酸化活性試験の結果、SOD様活性、ORAC、ABTS<sup>+</sup>消去活性、DPPH消去活性においては、塩蔵工程に伴い蓄積するTPMT>TPCC>TPCの順で活性が高くなることを見出した。また、Cu<sup>2+</sup>キレート活性ではTPCC、OH消去活性ではTPCが特異的に高く、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>消去活性では供試試料全ての活性はほぼ同等であることを見出した。しかし、先の実験で得られた定量結果から熟成2ヶ月後のタクアン漬けの抗酸化活性は、TPC含量に依存す

ることが明らかになった。

#### 4. 総括的考察

本研究により、酸性 pH 緩衝剤を併用した低塩低温熟成において、着色料を使わない鮮黄色化したタクアン漬けの製造を可能にした。さらに、タクアン漬けの TPC が機能性を発揮するのに十分な量であることを見出し、抗酸化食品としてのタクアン漬けという付加価値を得た。これらの成果は、漬物という和食文化を世界に発信し、同時に我々日本人が漬物という伝統的な和食素材の見直すための大きな足がかりになることが期待される。

#### 【論文審査の結果の要旨】

論文の審査は、主査と副査 2 名による審査と公開発表の場における最終試験により行われた。本論文は、緒言、第一章「DBD-H を用いた TPC 分析法の確立」、第二章「酸性低温製造による黄変化メカニズムの解明」、第三章「黄色色素関連物質の抗酸化活性」、および総括からなる。

第一章では、これまで生成および分解反応が活発であるため分析が困難な、TPC の高感度・高選択的かつ簡便で頑固な分析方法を確立した。

第二章では、タクアン漬け黄色色素関連物質の動態を詳細に解析した結果、TPCC 生成において、tryptophan 含量および pH が律速因子になることを明らかにした。さらに、酸性条件下の低温短期熟成でタクアン漬けが鮮黄色化することを明らかにし、この黄変化が未知の黄色色素による可能性を見出した。

第三章では、タクアン漬け黄色関連物質について、種々の抗酸化活性試験を行い、それぞれの黄色色素関連物質は、高い抗酸化活性を有していること明らかにした。これは、タクアン漬けの長期熟成の意義を示唆するものである。第二章で測定した、タクアン漬け中の黄色色素関連物質の存在量から、TPC が機能性を発揮するのに十分な量であり、抗酸化食品としてのタクアン漬けの価値を見出した。

本論文は、TPC 分析法の確立し、黄色色素関連物質の動態を解明し、酸性条件下における未知色素の存在の示し、黄色色素関連物質の抗酸化活性試験によるタクアン漬けの抗酸化食品としての可能性を見出した点で注目すべき新知見を有するものであった。その主たる 3 つの章のうち、第一章の内容はすでに査読のある原著論文として掲載されている<sup>1)</sup>。第二章の内容についても投稿して現在審査中である。また、第三章の内容については、類似する化合物についての検討を加えることで、優れた学術論文として発表できると考えられる。本論文は、タクアン漬けの製造現場および消費者のニーズを意識した視点に立って、鮮黄色化技術を科学的に理論づけたものであり、本研究科博士課程に相応しい内容であると言える。

以上により、論文審査および最終審査の結果に基づき、審査委員会において慎重に審議した結果、本論文が博士(食品栄養学)の学位に十分値するものであると判断した。

1) Kobayashi, T., Kumakura, K., Kobayashi, W., Takahashi, A. and Matsuoka, H., Determination of 2-thioxo-3-pyrrolidinecarbaldehyde in salted radish root (Takuan-zuke) by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection after pre-column

derivatization using 4-(*N,N*-dimethylaminosulfonyl)-7-hydrazino-2,1,3-benzoxadiazole. *Separations*, **4**, 35 (2017).