

タケノコのえぐみ成分の同定

東洋食品工業短期大学 包装食品工学科
江角 友美

1. 研究の目的と背景

タケノコは春の代表的な食材の一つで、日本各地で生産されており、平成30年の国内生産量は25,363トンである¹。代表的な食用品種は孟宗竹である。

京都市近郊で栽培される孟宗竹タケノコは「京たけのこ」の名称でブランド化されている。この地域では、タケノコの栽培に古い歴史があり、京都式軟化栽培と呼ばれる手間と時間のかかる栽培が特徴である。この栽培法により、京たけのこは軟らかくえぐみが少ないと言われている。しかし徹底した生育環境の整備にも関わらず、えぐみの強いタケノコが時おり発生し、商品価値を損ねる事例がある。

タケノコのえぐみとは、舌の奥や喉の奥が痺れる刺激であり、飲み込んでしばらく経過してから感じる。えぐみの強度を外観から判別することは不可能であり、生産段階における選別は困難である。

そこで、えぐみの客観的な判別方法の開発が求められている。だが、えぐみの要因となる物質はこれまでの研究報告から明確に特定されていない。

ホモゲンチジン酸はタケノコのえぐみ原因物質として類推されている^{2,3}。後述するが、筆者はLC/MS分析と官能評価によって、タケノコ中のホモゲンチジン酸含量は閾値(13 µg/ml)以下であることを確認している(図1)。

そこで本研究では、高品質なタケノコの安定的な生産に寄与するため、タケノコに含まれるえぐみ成分の同定を目的とした。

2. 研究の方法

タケノコのえぐみ成分探索にはえぐみ強度の異なるサンプルが必要なため、タケノコを粉碎ろ過した抽出液の加熱程度を変え、えぐみ強度を制御したサンプルを作製した。強度差は官能評価で確認した。

えぐみ強度とえぐみ成分含有量は比例すると予想し、各サンプルのLC/MS分析結果を比較した。

さらに、えぐみ成分を絞り込むためイオン交換樹脂および合成吸着剤による分離を試みた。

3. 研究内容

3-1. 試料

タケノコは京都府産の孟宗竹を小川食品工業株式会社より提供を受けた。2019年3月から4月の時期に数回に分

け収穫した。外皮を除去し、冷蔵で輸送した試料を入手した。収穫翌日に根と姫皮を取り除き、適当な大きさに切った。アルミパウチに入れて真空包装し、-40℃の急速凍結後、-80℃で保存した。

3-2. 試薬

LC/MS分析はアセトニトリル(富士フィルム和光純薬(株), HPLC用)、ギ酸アンモニウム(富士フィルム和光純薬(株), 特級)を使用した。

塩酸(キシダ化学(株))、水酸化ナトリウム(富士フィルム和光純薬(株))、エタノール(甘糟化学産業(株))は全て食品添加物を用いた。

3-3. 抽出液の作製

流水解凍したタケノコを、フードプロセッサー(MK-K61, Panasonic)を用いておから状になるまで細断し、ナイロンメッシュで包み搾汁した。遠心分離機(himac CR22G II, HITACHI, ローター:R10A3)にて9000rpm, 15分間処理した上清を生タケノコ抽出液とした。

3-4. 加熱による抽出液のえぐみ強度調整

1) 加熱処理方法

生タケノコ抽出液を80gずつパウチに入れ、気泡を抜いて密封した。パウチ詰は次の2条件で加熱した。湯温85℃のウォーターバス(HWA-50D, AS ONE)にパウチ詰を沈め10分間加熱した。以後これを「W加熱液」と略す。小型高温高圧調理殺菌装置(40R-II型, 日本バイオコン(株))にて殺菌工程の温度を120℃, 時間を5分間として加熱処理した。以後これを「R加熱液」と略す。

各加熱液を3-3.と同様に遠心分離し、上清を加熱液とした。

2) 官能評価

パネルは本学教員および公益財団法人東洋食品研究所所員のうち、事前の試験でえぐみ強度を識別できた者を選抜した。

2点識別試験法により、W加熱液とR加熱液のえぐみ強度を識別評価した。

3) LC/MS分析

W加熱液とR加熱液に50%アセトニトリルを同量添加し、フィルターろ過した試料をポジティブイオンモードで

測定した。

成分の検出には、LC-Q-TOF/MS装置 (LC装置: UFLCXR, 島津製作所 (株); TOF/MS装置: microTOF-Q II, BRUKER Daltonics) を用いた。

カラムは Zorbax Rx-SIL (3.0 × 100 mm-id, 粒形 1.8 μm, アジレントテクノロジー社) を用いた。

液体クロマトグラフィーの条件は以下の通りである。流速: 0.4 ml/min, 注入量: 5 μl とした。移動相は A 液: 20 mM ギ酸アンモニウム, B 液: アセトニトリルを用いた。カラム温度は 40°C に設定した。B 液を 90% で 4 分間保持した後, 20 分かけて 10% に下げるグラジエント条件とした。

質量分析は以下の条件で行った。イオン化法: ESI (Electrospray Ionization), 走査範囲: m/z 50-1000, 乾燥ガス: N₂ (200°C, 7.0 L/min), ネブライザー圧: 1.6 Bar, 測定イオン: ポジティブイオン, キャピラリー電圧: 4500 V とした。

3-5. イオン交換樹脂によるえぐみ成分の吸着・溶離

1) 吸着

タケノコは一般に加熱して食すことから加熱液を試料に用いた。3-4. 2) の結果より, W 加熱液は R 加熱液よりえぐみが強い傾向にあった。以上の理由から W 加熱液を試料として使用した。試料のえぐみは試験ごとに確認し, えぐみのある試料を用いた。

イオン交換樹脂について, 官能評価で口に入れても安全性が担保されるよう食品添加物等の規格基準に適合した樹脂を使用した。Na⁺形強酸性陽イオン交換樹脂 (Amberlite 200CT, ORGANO, 旧輸入元: ロームアンドハース社, 現輸入元: デュポン社), Cl⁻形強塩基性陰イオン交換樹脂 (Amberlite IRA900J) および遊離塩基型弱塩基性陰イオン交換樹脂 (Amberlite IRA67) を一晩水に浸した。

W 加熱液と各イオン交換樹脂 (体積比 1:2) を三角フラスコに入れ, シェイキングバス (BW 20, ヤマト科学 (株)) にて 85 回/分, 3 時間振とうした。No.5A 濾紙で樹脂と抽出液を分離した。樹脂を除去した抽出液をイオン交換樹脂処理液とした。

2) 溶離

処理液から分離した陽イオン交換樹脂は倍量の 0.5 M HCl 溶液を用い, 陰イオン交換樹脂は倍量の 0.5 M NaOH 溶液を用い, それぞれ三角フラスコ内で, 3 時間振とうした。濾紙で樹脂と抽出液を分離した。それぞれの液を陽イオン交換樹脂溶離液, 陰イオン交換樹脂溶離液とした。

3) 中和

イオン交換樹脂処理液および溶離液を中和して W 加熱液の pH に調整した。

4) 官能評価

イオン交換樹脂処理液は 3-4. 2) と同様の方法で評価した。イオン交換樹脂溶離液はえぐみの有無を評価した。

3-6. 合成吸着剤によるえぐみ成分の吸着・溶離

1) 吸着

食品添加物等の規格基準に適合した合成吸着剤を使用した。スチレン系合成吸着剤 (Amberlite FPX66) を一晩水に浸し, 膨潤させて用いた。

W 加熱液と合成吸着剤 (体積比 1:2) を三角フラスコに入れ, 3 時間振とうした。濾紙で樹脂と抽出液を分離した。樹脂を除去した抽出液を合成吸着剤処理液とした。

2) 溶離

合成吸着剤処理液から分離した合成吸着剤と 80% エタノール (体積比 1:2) を三角フラスコに入れ, 3 時間振とうした後, 樹脂を除いた。

3) 乾燥・溶解

樹脂を除いたエタノール溶液を遠心エバポレーター (miVac QUATTRO concentrator, Genevac 社) にて常温で減圧乾固させた。元の W 加熱液の半量の水で溶解し, フィルターでろ過した試料を合成吸着剤溶離液とした。

4) 官能評価

合成吸着剤処理液は 3-4. 2) と同様の方法で評価した。合成吸着剤溶離液はえぐみの有無を評価した。

4. 研究の実施経過

4-1. タケノコ中のホモゲンチジン酸含量

官能評価でえぐみを確認した W 加熱液について, ホモゲンチジン酸含有量を LC/MS 解析により確認した。ホモゲンチジン酸の標品 (20 μg/ml) は保持時間 1.3 分付近に検出されたが, W 加熱液はほとんど検出しなかった。(図 1) ホモゲンチジン酸の閾値は 13 μg/ml であることから², えぐみは他の物質に起因すると考えた。

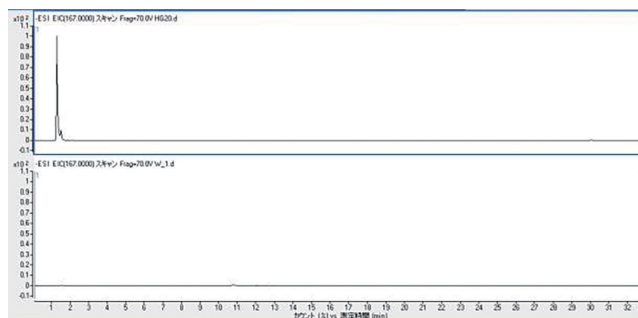


図 1 ホモゲンチジン酸 (上段) および W 加熱液 (下段) の LC/MS 解析

4-2. えぐみ成分の冷凍耐性

冷凍保管しても、タケノコにえぐみを感じることから、えぐみ成分は冷凍に一定程度の耐性があると考えられる。

4-3. 加熱による抽出液のえぐみ強度調整

W 加熱液と R 加熱液のえぐみ強度を官能評価したところ、有意に W 加熱液が強かったが、サンプルによっては有意差が無いものもあった。(表 1)

高温加熱の R 加熱液のえぐみが弱くなることから、加熱方法により、えぐみ強度を制御できることがわかった。

表 1 W 加熱液と R 加熱液のえぐみ強度の官能評価結果

試行回	1	2	3	4
評価人数 (n)	11	10	9	9
W が強いと回答した人数	9	8	5	8
有意差	有り*	無し	無し	有り*

* : $p < 0.05$

W 加熱液と R 加熱液のえぐみ強度に有意差のあったサンプルについて、LC/MS 分析を行った。

W 加熱液と R 加熱液の MS クロマトグラムを図 2 に示した。両者のピーク強度を比較したところ、明確な差異は無く、えぐみに寄与すると思われる成分は見出せなかった。

4-4. イオン交換樹脂によるえぐみ成分の吸着・溶離

陽イオン交換樹脂処理液および W 加熱液について、10 名のパネルで 2 点識別試験法による官能評価を行った。評価者全員が W 加熱液のえぐみが強いと回答した。よって、陽イオン交換樹脂にえぐみ成分が吸着することが判明した。陰イオン交換樹脂処理液はえぐみの弱化が見られなかったため、えぐみ成分が吸着しなかったと考えられる。

次に強酸を用いて陽イオン交換樹脂からのえぐみ成分溶離を試みたが、陽イオン交換樹脂溶離液はえぐみを感じなかった。今回の溶離操作ではえぐみ成分が溶離しなかった

と考える。そこで溶離時の HCl 溶液の濃度を高くしたところ、中和による強い塩味が発生し、えぐみの評価が妨げられた。以上のことから、えぐみ成分は強酸性陽イオン交換樹脂に吸着するが、強塩基性陰イオン交換樹脂には吸着しなかった。さらに陽イオン交換樹脂から溶離させるのは困難であることがわかった。

4-5. 合成吸着剤によるえぐみ成分の吸着・溶離

合成吸着剤の処理液について、12 名のパネルで 2 点識別試験法による官能評価を行った。W 加熱液のえぐみと比較したところ、評価者全員が合成吸着剤処理液より W 加熱液のえぐみが強いと回答した。よって、W 加熱液のえぐみ成分は合成吸着剤に吸着されることがわかった。

次いで、合成吸着剤溶離液のえぐみの有無を確認したところ、パネル 9 名全員が溶離液にえぐみがあると回答した。

したがって、えぐみ成分は合成吸着剤に吸着し、さらに溶離も可能である事が分かった。

5. 研究から得た結論・考察

MS クロマトグラムで検出された成分が多過ぎたため、えぐみ成分を抽出液から分離して分析に供する必要があると思われる。

えぐみ成分の同定には至っていないが、合成吸着剤を利用してえぐみ成分を吸着・溶離することが可能となった。これを発展させてえぐみ成分の分画ができるを考える。

本研究の結果から、えぐみ成分の性質の一部が判明した。加熱処理温度の高いタケノコ抽出液のえぐみが弱くなったことから、加熱温度の調節により、えぐみ強度を制御できる可能性が示唆された。

陽イオン交換樹脂は正の電荷を持つ物質を吸着する。えぐみ成分が強酸性陽イオン交換樹脂に吸着したことから、正の電荷を持つと言える。

スチレン系合成吸着剤は疎水性の有機化合物を吸着する性質がある。えぐみ成分が吸着したことから、疎水性の性質を持つと考えられる。

合成吸着剤の溶離液は水溶液であることから、えぐみ成分は親水性の性質も有すると推定される。

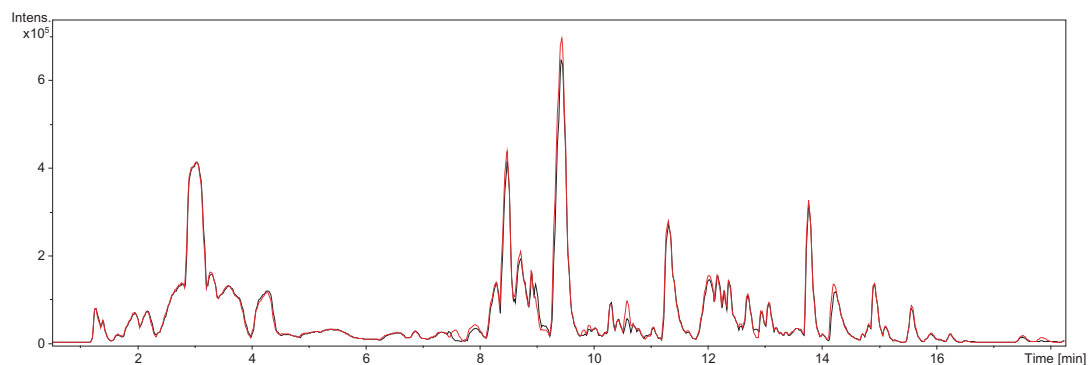


図 2 W 加熱液 (赤) と R 加熱液 (黒) のベースピーククロマトグラム

6. 残された問題, 今後の課題

引き続き, えぐみの原因物質の解明を行う。まずは合成吸着剤を利用する。本研究ではバッチ法を採用したが, 今後はカラム法に発展させ, 分画を行う予定である。

えぐみ成分の性質が判明したことから, これらを糸口に分析方法を検討する。

7. 参考文献

- 1 農林水産省, 特用林産物生産統計調査 平成 30 年主要品目別生産動向 (12) たけのこ, <https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00501004&tstat=000001021191&cycle=7&year=20180&month=0&tclass1=000001021192&tclass2=000001132663> より引用
- 2 長谷川千鶴, 筍の「えぐ味」の研究, 生化学, **30**, 706-708 (1958)
- 3 Kozukue, E., Tsuchida, H. & Mizuno, S., Determination of Homogentisic Acid in Bamboo Shoots by Column Chromatography on Sephadex G-10 and Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography., *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **57**(3), 549-554 (1988).
- 4 古川秀子, おいしさを測る 食品官能検査の実際, 幸書房, 東京 (2007).
- 5 (公社)日本フードスペシャリスト協会編, 三訂食品の官能評価・鑑別演習, 建帛社, 東京 (2016)