

メタボローム手法を用いた温海かぶの漬物加工における変化

○早坂亮祐* (指導教員 若山正隆** 曾我朋義***)

*慶應義塾大学 環境情報学部 4年 (2017年3月卒業予定)

慶應義塾大学 政策・メディア研究科 *慶應義塾大学 環境情報学部

*t13723rh@sfc.keio.ac.jp, ** wakayama@ttck.keio.ac.jp, *** sogas@sfc.keio.ac.jp

キーワード：食品メタボロミクス，温海かぶ，漬物

1 概要

山形県鶴岡市はユネスコ創造都市ネットワーク食文化部門に国内唯一選ばれ、食に注目が集まっている都市である。その鶴岡市を主産地に栽培されている在来作物に温海かぶという赤カブがある。温海かぶは主に発酵を用いない甘酢漬けとして消費される。かぶ漬物へ加工する間の代謝物の変化を調査するため、温海かぶを漬物に加工し、かぶと漬け汁の経時的な代謝物の違いを検証した。かぶ中のほとんどのアミノ酸や糖，有機酸が漬け汁を介して変動していることが示された本実験結果は，漬物加工過程への貢献の可能性がある。

2 背景

近年、ユネスコ無形文化遺産に『和食；日本人の伝統的な食文化』が選ばれるなど世界中から和食への関心が多く存在する。

慶應義塾大学鶴岡タウンキャンパスが存在する山形県鶴岡市はだだちゃ豆、庄内柿など様々な在来作物が存在し、ユネスコ創造都市ネットワーク食文化部門に国内唯一参加しており、鶴岡市の食文化について世界中から注目が集まっている。

多くの在来作物が存在する鶴岡市で最も在来品種が残っているものがカブである。一口にカブといっても胚軸部分の形状や色が異なるなど様々な形態のものが存在する(1)。その中でも温海かぶは山形県鶴岡市温海地域一霞地区を主産地として栽培されている、胚軸部が楕円球状で赤紫色に色づいた赤カブの1種である。この温海かぶは17世紀頃から現在まで伝統的な焼畑農法で栽培されている。アントシアニン系色素で鮮やかな赤紫色に色づいた胚軸表層部と内部の白の対比は美しい色彩を持つ。温海かぶは甘酢漬けとして親しまれている。温海かぶ漬物は表層部に存在していた赤紫色の色素が胚軸内部全体に広がり非常に鮮やかである。見た目だけでなくパリッとした歯ざわりが特徴の特産物として流通する。



図1 温海かぶ(左)と温海かぶ漬物(右)の写真。

漬物は食塩などの浸透圧や酢のpHを利用して食品の保存状態を高めた伝統食品である。漬物は大きく分けて沢庵やキムチのような発酵を用いる漬物と浅漬けのような用いない漬物に大きく分けられる(2)。近年の温海かぶは発酵を用いない甘酢漬けで漬けられている。

アミノ酸や糖類などといった生物中に存在する低分子化合物は代謝物質と呼ばれる。アミノ酸は甘味、酸味、苦味、塩味、旨味といった呈味に関係があると考えられており、醤油や日本酒では実際の食品との関連性を評価した報告もある(3-5)。糖は甘味に関与しているとされる。そのような代謝物質の種類や濃度を網羅的に解析する手法をメタボローム解析と呼ぶ。

漬物の代謝物質に関しては発酵を用いたものについては研究が進んでいるものの、温海かぶの甘酢漬けのような発酵を用いない漬物に関して代謝物質に着目した研究はあまり行われていない。

そこで本研究では発酵を用いない漬物の作成過程の代謝物質組成の変化を評価することを目的にする。本研究では、生の状態の温海かぶから実際に甘酢漬けを作成した。その間、漬物と漬け汁に関して経時的なサンプリングを実施し、メタボローム解析を実施した。

3 研究対象と手法

3.1 温海かぶの漬物作成

主産地である山形県鶴岡市温海地域一霞地区において焼畑農法で栽培された生産者の異なる温海かぶ 16 個体を対象とした。温海かぶは胚軸を半分に切断した片方のみを使用し、一つの袋に入れ、温海かぶ 1 kg あたり、穀物酢 100 mL、食塩 40 g、白砂糖 100 g になるよう調整した調味液を加え 4.6 kg の重石をのせ漬物を作成した。

3.2 サンプルング

温海かぶ漬物のサンプルングは漬け込み前の温海かぶ、漬け込み後 9、19 日目を対象とし、胚軸内部と皮の部位をサンプルング実施した。その際、漬物の重量も合わせて測定した。漬け汁は調味液そのもの、漬け込み後 0~11 日目、15~19 日目に毎日サンプルングを実施した。

3.3 メタボローム測定とデータ解析

サンプルングした温海かぶ漬物および漬け汁から代謝物質を抽出した。抽出物をアミノ酸などのイオン性代謝物質についてはキャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析計 (CE-TOF MS) を用いて、糖類は液体クロマトグラフィー-トリプル四重極質量分析計 (LC-MS/MS) を用いてそれぞれ測定した。

測定されたデータをもとに主成分分析は JMP ver.12, ヒートマップの作成および階層的クラスタリングは MeV ver.4.8 を用いて行った。

4 結果

4.1 温海かぶ漬物中の変動

温海かぶ漬物に含まれる代謝物質を対象に主成分分析を実施した (図 2)。主成分分析のスコアプロットでは 1 プロットが 1 サンプルを表しており、プロット間の距離が近ければ近いほど類似したメタボロームプロファイルであることを示す。その結果、処理前で大きく存在していたプロットが日を追うごとに小さくなる傾向を示した。処理前では非常に異なったメタボロームプロファイルを示したが、19 日目ではより類似したメタボロームプロファイルに変化していた。

スコアプロットの胚軸内部と皮のプロットに着目すると、日を追うごとにプロット間の距離は小さくなるもののプロットが分かれる結果になった。

代謝物質に着目すると 19 種類測定されたタンパク質構成アミノ酸のうち 14 種類、8 種類測定された糖類では 6 種類においてそれぞれ漬け上がりに近づくにつれて濃度の上昇が見られた。

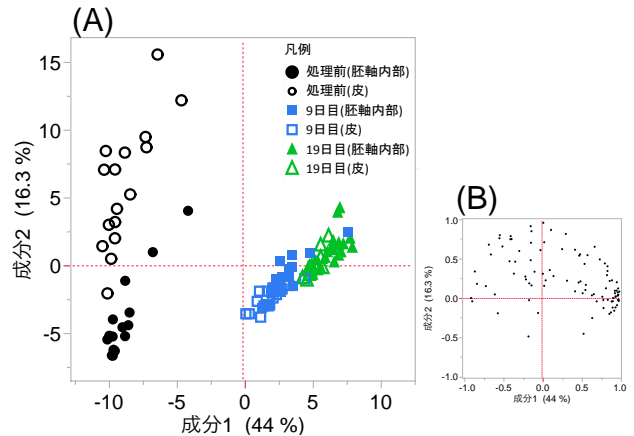


図 2 温海かぶ漬物中の代謝物質の主成分分析。

A はスコアプロットを示し、1つのプロットが1サンプルを表す。丸プロットが漬け込み処理前、四角プロットが9日目、三角プロットが19日目のサンプルを示し、黒塗りが胚軸部分、白塗りが皮を表す。B はローディングプロットを示し、1つのプロットが代謝物質を示す。A と B どちらも横軸が主成分 1、縦軸が主成分 2 を表す。

4.2 漬け汁中の代謝物質

漬け汁の糖とアミノ酸に関して時系列変化について階層的クラスタリングを実施した結果を図 3 に示す。

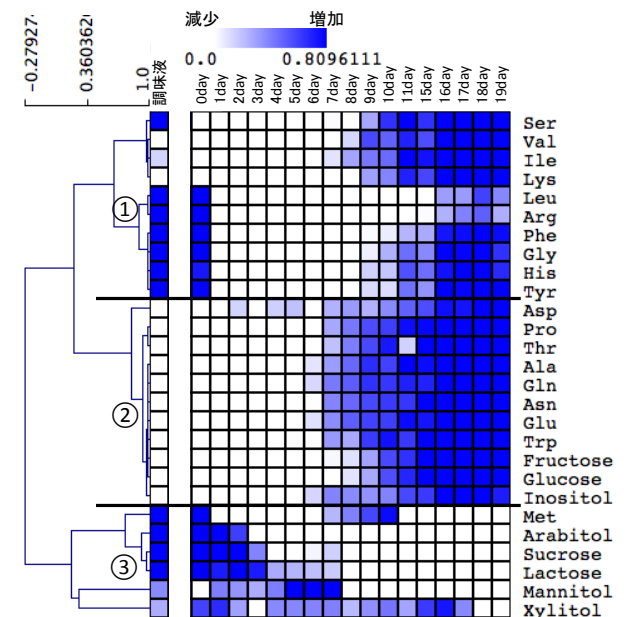


図 3 漬け汁中の代謝物質に関する階層的クラスタリング。

1 列がそれぞれの漬け汁を表し、1 行がそれぞれの代謝物質を表す。色が濃いほど比較的濃度が高いことを示す。代謝物質にのみピアソンの相関係数に基づく階層的クラスタリングを実施した。左から調味液、漬け込み後 0~11 日目、15~19 日目にそれぞれ採取した漬け汁の値を示す。漬け込み後 5、6 日目の糖データは欠損していたため、両隣の値を元に予測した値を用いた。

階層的クラスタリングを行った結果、①漬ける前の調味液と漬け過程の後半で多くなったもの、②漬け過程後半で多いもの、③調味液で多くつけ過程

で徐々に少なくなるものの 3 グループに分割された (図 3). ①と②において糖やアミノ酸の濃度に関して経過時間が長いほど増加するという傾向が見られた.

漬物の重量の変化は処理前から 9 日目の間で有意に減少しており, 9 日目と 19 日目の間では有意な変化は見られなかった (図 4).

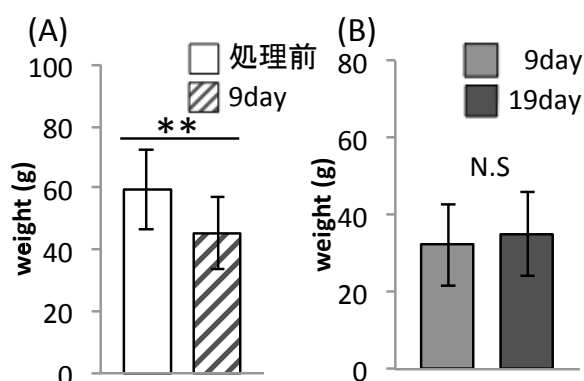


図 4 漬物の重量変化.

A は処理前 (白) と 9 日目 (斜線) のサンプリング前の漬物の重量を示す. B は 9 日目のサンプリング後 (灰色) と 19 日目 (黒) の漬物の重量を示す. 値は 16 個体の平均値, エラーバーは標準偏差を表す. マンホイットニーの U 検定を行い, ** は $P < 0.01$, N.S. は有意差がないことを表す.

5 議論

温海かぶを漬物に漬けることで個体間の差が小さくなっていることが示唆された.

食塩水の浸透圧的作用によって, 野菜の細胞内に存在する水分が外部に浸出し, 浸透圧が強くなると, 原形質分離が起き, 細胞の生命活動が停止する細胞死の状態になるとされる(2). 漬物重量の減少は水分が温海かぶから漬け汁中に浸出したことに起因したものであると考えられる. 水分の浸出に合わせて温海かぶからアミノ酸や糖類も浸出している可能性が示唆される.

温海かぶ漬物においても 19 種類中 14 種類のアミノ酸や 8 種類中 6 種類の糖類において漬け上がりに近づくにつれて増加が見られている.

温海かぶ漬物は漬け汁を介して均一化されている可能性が示唆される.

6 展望

メタボローム解析を用いて温海かぶ漬物を測定することによって, 生の状態から漬物に加工した際の代謝物質の特徴づけが可能となる. それにより, 漬物加工過程の最適化および温海かぶ漬物のブランド化に貢献する可能性がある.

謝辞

本研究を行うにあたり, 研究方針などご指導くださいました慶應義塾大学政策・メディア研究科の若山正隆特任助教授に心より御礼申し上げます. 温海かぶのサンプルを快くご提供いただきました, 五十嵐勇一氏, 山形県鶴岡市温海地域一霞の皆様にご心より感謝申し上げます. また, 質量分析装置を用いた測定等でお世話になりました, 農林水産メタボロームグループの研究者と技術員の皆様, メタボロームグループの学生の皆様, 慶應義塾大学先端生命科学研究所の皆様にご御礼申し上げます. 最後に素晴らしい研究環境や機会を与えてくださいました曾我朋義教授, 富田勝教授に深く御礼申し上げます. ありがとうございました.

参考文献

1. 青葉高. カブ=植物としての特性. 農業技術大系 野菜編 第9巻 かぶ. 農文協; 1991. p. 基3-18.
2. Miyao S. Japanese Pickles "Tsukemono." Japanese J Lact Acid Bact. 2002;13(1):2-22.
3. Kirimura J, Shimizu A, Kimizuka A, Ninomiya T, Katsuya N. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods. J Agric Food Chem [Internet]. American Chemical Society; 1969 Jul [cited 2016 Jan 9];17(4):689-95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jf60164a031>
4. Sugimoto M, Koseki T, Hirayama A, Abe S, Sano T, Tomita M, et al. Correlation between sensory evaluation scores of Japanese sake and metabolome profiles. J Agric Food Chem [Internet]. American Chemical Society; 2010 Jan 13 [cited 2016 Jan 9];58(1):374-83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jf903680d>
5. Yamamoto S, Bamba T, Sano A, Kodama Y, Imamura M, Obata A, et al. Metabolite profiling of soy sauce using gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry and analysis of correlation with quantitative descriptive analysis. J Biosci Bioeng [Internet]. 2012 Aug [cited 2016 Jan 9];114(2):170-5. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/22608993>