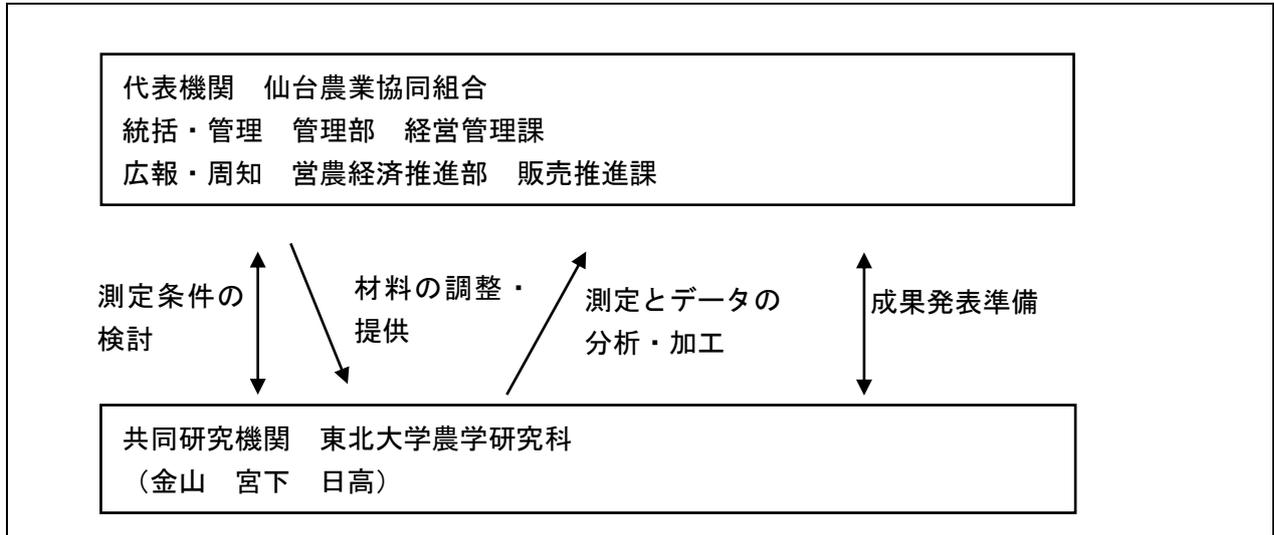


# 令和2年度「仙台市放射光施設活用事例創出事業（トライアルユース事業）」 事例報告書詳細

## 1 課題名

仙台において重要な枝豆品質のナノレベルの見える化と評価法の完成

## 2 測定にあたっての体制（社外委託先を含め記載）



## 3 背景と測定目的

### ○背景

枝豆は野菜や果実の中では比較的単価の高い品目であり、収益性が高く、仙台市では東日本大震災で被災した沿岸部の農業生産を支援するために2013年に仙台枝豆プロジェクトを始め、産地化に取り組んできた。近年は、消費地と生産現場が近いという仙台市の立地を生かした今朝採り枝豆の取組みを行い、一定の成果を挙げている。しかし、全国的にみるとその存在感はまだ不十分であり、産地の発展のためにはさらなるアイデアと努力が必要である。特に品質の向上と安定化は最も重要な課題であるが、美味しさの科学的指標は未だ確立していない。甘さについては糖度や糖組成により容易に測定可能であるが、特に、物理性に関わる食感（テクスチャー）の評価は難しく、その原因の1つとして、内部構造や生体分子の状態を非破壊で観察する方法がなかったことが挙げられる。

### ○目的

昨年度、東北大学農学研究科と共同で本トライアルユース事業に取り組み、枝豆の美味しさの評価を目的として、X線位相CT法によって世界で初めて枝豆の微細構造の3D視覚化に成功した。詳細は下記のこれまでの取り組み状況の通りであるが、昨年度は組織レベルでの構造とテクスチャーのうち主に硬さとの関係を明らかにすることができた。一方、美味しさに関わる歯ざわりあるいは滑らかさの評価は難しく、新たな解析方法を検討する必要性が考えられた。そこで本提案課題では、X線位相CT法では測定できないが、テクスチャーと関わる可能性の高いタンパク質、油脂、炭水化物の高次構造を小角散乱X線法（SAXS）で解析することで、未解明のテクスチャー要素の見える化を実現する。すなわち本研究の目的は、新たな手法（SAXS）により生体分子レベルでの解析を進め、いわばマイクロレベルからナノレベルへの進化により美味しさの見える化技術を発展させ、あわせて評価法を完成させることである。

4 測定方法（測定手法、測定セットアップ、使用ビームラインなど）

○材料

枝豆（品種ミヤギシロメ）を収穫後 blanching 処理（2分程度ボイル）して冷凍保存した半製品を流水解凍し、莢から取り出した。これを4%食塩水で2分、6分、または15分追加ボイルして氷水で急速に冷やしたものを測定材料とした。このように異なるゆで時間で処理した枝豆について、昨年度の官能評価において硬さの評価が異なること（ゆで時間が長いほど柔らかい）や、旨味・甘味がゆで時間が長いほど増すこと、評価者により歯ざわりや舌ざわり、風味について好みが変わることがすでに分かっている。対照区として、追加ボイルを行わなかったもの、blanching 処理を行わずに冷凍保存したもの（生枝豆）についても測定を行った。

○測定方法

枝豆サンプルは約1mm厚にスライスし、SPring-8のビームラインBL19B2で小角X線散乱（SAXS）解析を行った。具体的には、各処理区3サンプルについて断面の中央とその上下左右合わせて5点について散乱光を測定した。また、生枝豆、blanching 処理、2分および6分追加ボイルしたものについては各1サンプルを300μmピッチでマッピング測定を行った。測定にはBL19B2の第3ハッチを使用し、X線のエネルギーは18keV、照射時間10秒、カメラ長を3mとして $q=0.06\sim 3\text{ nm}^{-1}$ の範囲で散乱光を測定した。

5 結果および考察（代表的なグラフや図を用いて分かりやすく説明すること）

1シフト目はポイント測定を行った（図1）。その結果、生の枝豆では $q=0.6\text{ (nm}^{-1}\text{)}$ および $q=1.1\text{ (nm}^{-1}\text{)}$ 付近に特徴的なピークが観察された一方、blanching 処理後にはそれらが明瞭には観察されなくなり、追加ボイルしたものではほぼ完全に消失したものと見えた（図2A,B）。一方、blanching 処理サンプルでは $q=0.18\text{ (nm}^{-1}\text{)}$ 付近を頂点とするピークが出現したが、追加ボイルが2分、6分と長くなるにつれてピークの位置が $q=0.22\text{ (nm}^{-1}\text{)}$ 付近に移動した（図2A,B）。このことは、ゆでる処理によって現れた何らかの構造が、長時間加熱によりさらに変化した可能性を示唆する。

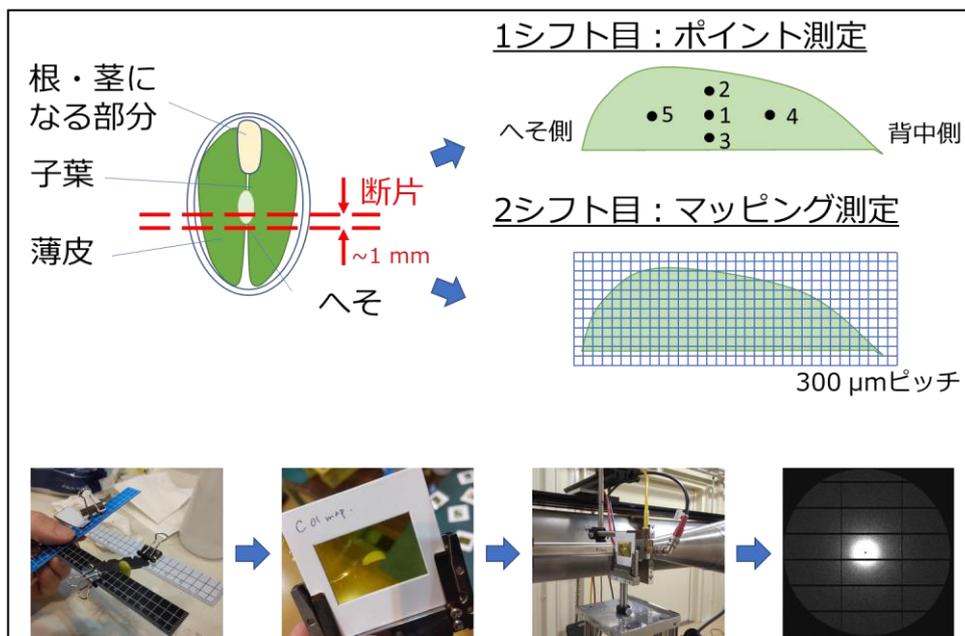


図1 材料の準備と測定

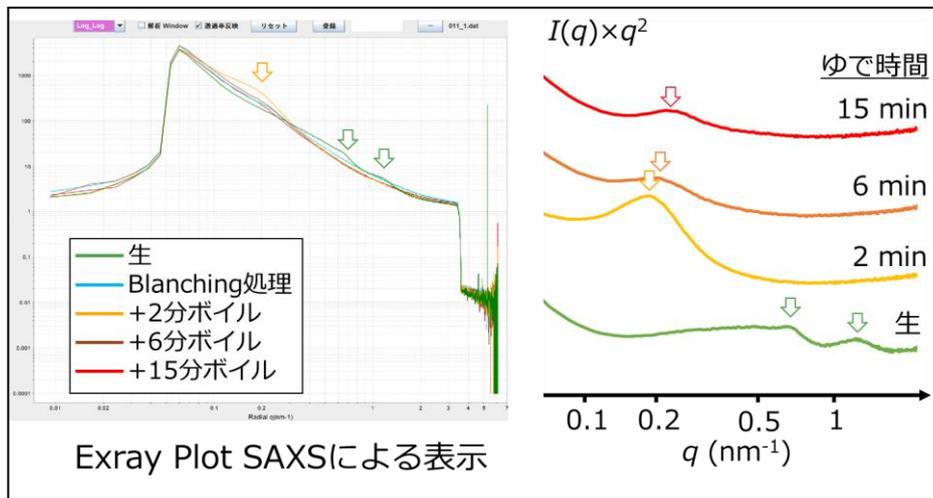


図2 ポイント測定の代表的な結果

そこで2シフト目はマッピング測定を行った。その結果、生の枝豆で観察された  $q=0.6 \text{ (nm}^{-1}\text{)}$  および  $q=1.1 \text{ (nm}^{-1}\text{)}$  付近の散乱光は主に枝豆の外側で強かった一方 (図3 上段)、ゆでることで現れた  $q=0.2 \text{ (nm}^{-1}\text{)}$  付近の散乱光はへそ寄りの狭い領域で特に強いことが分かった (図3 下段)。このことから、生の枝豆で消失した何らかの構造とゆでた枝豆で出現した何らかの構造の間には直接的な関係がないものと推察された。このマッピング結果は、今後それぞれの構造がどのような物質によるものであるかを検討する上で有用なデータであると思われる。

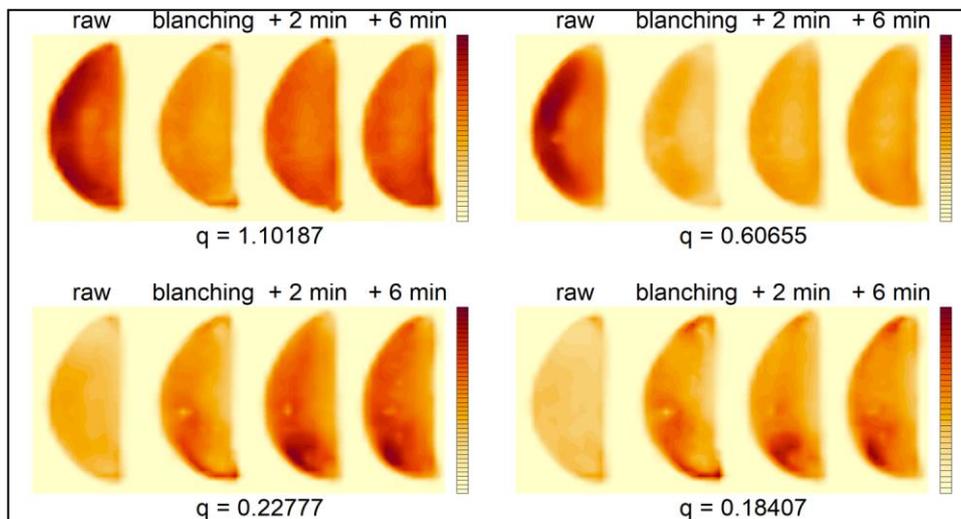


図3 マッピング測定の結果。ポイント測定でピークが検出された  $q$  付近のみ掲載した。

## 6 今後の課題

### ○解析についての課題

今回の SAXS 解析では枝豆の内部には何らかの構造体が存在し、ゆでると消失するもの、逆にゆでると出現するものが存在することが示唆された。しかし、これらが実際にどのような物質であるかは明らかでない。枝豆の成分は上述の通りタンパク質、油脂、炭水化物からなるが、上述のように今後 SAXS でのマッピングの結果とこれらの状態の変化を突き合わせて解析することで、どのような物質が状態変化しているのかを明らかにする必要がある。

枝豆のタンパク質の大半は glycinin および  $\beta$ -conglycinin

という多量体タンパク質であることが知られており、これらの状態に着目した解析を Blue-native PAGE 等の方法で行うほか、デンプンや油脂の状態変化については透過型電子顕微鏡観察により解析することを予定している。さらに、これらの成分の状態変化と歯ざわりや舌ざわり、風味の変化の相関を明らかにすることで、枝豆の新しい調理方法の提案や品種の育成につながる知見を確立したい。

### ○放射光の利用に関する課題

食品成分の解析は均一化したサンプルについて行われることが多いが、昨年度の位相差 X 線 CT、今年度のマッピング測定では食品の形を保ったまま解析することができ、より多くの情報を得ることができた。放射光を利用した解析は美味しさの見える化に有用な評価法になるものと思われる。

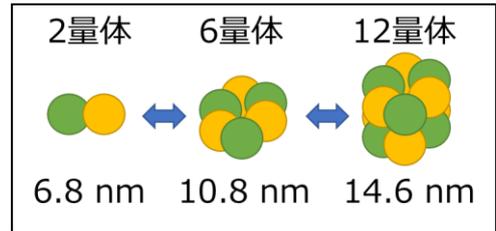


図4 glycinin の多量体化状態とおおよその大きさ

## 7 参考文献

Víctor, M., Ruiz-Henestrosa, P., Martínez, M.J., Patino, J.M.R., Pilosof, A.M.R. A Dynamic light scattering study on the complex assembly of glycinin soy globulin in aqueous solutions. 2012. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89: 1183-1191.

Brosey, C.A., Tainer, J.A. Evolving SAXS versatility: solution X-ray scattering for macromolecular architecture, functional landscapes, and integrative structural biology. *Current Opinion in Structural Biology* 2019. 58: 197-213.

Zhao, H., Li, W., Qin, F., Chen, J. Calcium sulphate-induced soya bean protein tofu-type gels: Influence of denaturation and particle size. 2016. *International Journal of Food Science and Technology* 51: 731-741.