

## 食品加工処理を施した発芽落花生における機能性成分調査

食品・化学技術室 藤枝 正之, 大垣 佳寛, 宮城 淳

Investigation of functional ingredients in germinated peanuts by food processing

Masayuki FUJIEDA, Yoshihiro OGAKI and Atsushi MIYAGI

千葉県の特産品である落花生に新たな付加価値（機能性）を持たせた製品（発芽落花生の加工品）の試作を行い、機能性成分等（総遊離アミノ酸、スクロース、総ポリフェノール等）の加熱加工処理による消長を調査した。

落花生の発芽前後で総遊離アミノ酸等の成分が増加し、加工処理（焙煎、蒸煮、レトルト）の方法の違いにより、成分減少の程度に違いがあることが分かった。

### 1. はじめに

千葉県の落花生生産量は、国内生産量の約80%を占めており、県の特産品として、菓子、総菜、調味料等、様々に加工し、販売されている。

落花生子実の種皮中には、血圧が高めの者の血管拡張反応を改善し、動脈硬化を防ぐと言われていたポリフェノール類であるレスベラトロールが含まれており<sup>1)</sup>、この定量分析結果が大垣ら<sup>2)</sup>により報告されている。また、落花生胚芽中に、 $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）をはじめとする遊離アミノ酸やポリフェノール類が多く含まれていると加藤<sup>3)</sup>により報告されている。

近年、人々の健康志向が高まるにつれ、機能性を持つ食品が求められてきていることから、落花生の機能性成分を高めるなど新たな付加価値をつける必要性が生じてきた。そこで我々は、落花生胚芽の機能性成分に着目し、この部分を生長（発芽）させることで機能性成分を増加させた発芽落花生を調製し、併せて、発芽落花生に食品（加熱）加工処理を施し、成分量の変化が生じるか調査することとした。

なお、成分分析の項目は、総遊離アミノ酸量及び遊離アミノ酸量、遊離糖のうちスクロース量、総ポリフェノール量とした。また、機能性評価のため、DPPH法により抗酸化能を測定することとした。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試料の調製

市販の生落花生（千葉半立、平成29年度千葉県産）を購入し、次の条件で発芽落花生を調製した。

生落花生を網袋に入れ、水道水に（30℃、6時間）浸漬し、水切り（20分）した後、恒温器内（30℃）で保存した。なお、恒温器内に水を張った蓋のできる食器用水切りトレイ（常時湿度70～80%、図1（左））を設け、この容器内に水に浸からないよう網袋を置いた（図1（右））。



図1 食器用水切りトレイ及び網袋入り生落花生

恒温保存開始後、一定の時間毎（16, 24時間後）に落花生を洗浄・加湿し（網袋ごと水道水で洗浄し、20分間水切り）、40時間まで生長（発芽）させた。

次に、発芽落花生（図2）に対して、表1の条件により加熱処理した。

表1 発芽落花生の加熱処理条件

処理法	手順
焙煎	ピーカーに試料を入れ、乾燥器中で加熱（約160℃、30分間）した。
蒸煮	試料を沸騰水中で、30分間茹でた。
レトルト	試料をレトルト用アルミ包材に入れ、脱気・シールした後、オートクレーブ中で121℃、15分間加熱した。



図2 発芽落花生 (40時間発芽生長させたもの)

落花生からの成分抽出は次のとおり行った。落花生試料を小型粉砕器 (SCM-40, 柴田科学器械工業 (株) 製) で粉砕してから, 200mL 三角フラスコに粉砕試料約 5 g, 75%エタノール 80mL を入れ, 冷却管を取り付けて, 沸騰水上で 2 時間加熱した。抽出液をろ紙 (No. 2) でろ過してから分液漏斗にろ液を移し, n-ヘキサンにより 1 回洗浄し, 溶媒留去後, 超純水で 50mL に定容し, 抽出試料とした。

## 2.2 試料の水分量測定

蓋付きアルミ皿 (事前に 60°C (常圧) で 1 時間乾燥させ恒量としたもの) に粉砕試料約 2 g を精秤し, 通風乾燥機中で 2 時間加熱乾燥 (130°C) 後, デシケータ中で放冷し, 重量を測定することにより, 水分量を求めた。なお, 水分量は落花生の乾物換算量に計算するため求めた。

## 2.3 総遊離アミノ酸の定量

抽出試料中の遊離アミノ酸総量は, GABA 当量として求めた。

抽出試料を 5 倍希釈した試料 200 $\mu$ L, ニンヒドリン溶液 (アミノ酸分析用ニンヒドリン 160mg を 80%エタノールに溶解させたもの) 200  $\mu$ L を 1.5ml マイクロチューブに入れ, 混合した後, ヒートブロック上で加熱 (80°C, 20 分) し, 放冷後, 分光光度計 (Ultrospec 3000, ファルマシア社製) により 570nm における吸光度を測定した。

検量線溶液は, GABA を純水で希釈したものを用いた。

## 2.4 遊離アミノ酸の定量

遊離アミノ酸の定量は, 超高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (Nexera 及び LCMS-8030, (株) 島津製作所製) を用いた。遊離アミノ酸 (GABA, グルタミン酸) の分析条件は, 表 2 条件 1 とした。

表 2 遊離アミノ酸の定量分析条件

分離カラム : Intrada Amino Acid (100mm $\times$ 3mm i.d.),

### 【条件 1】

移動相流量 : 0.3mL/min, カラム温度 : 35°C

移動相 A : ギ酸/アセトニトリル=0.3/100

移動相 B : 100mM ギ酸アンモニウム

グラジエント条件 (移動相 B) :

15% (0min)  $\rightarrow$  100% (8min)  $\rightarrow$  100% (10min)

LC/MS 定量分析 : ESI positive

SIM 分析 m/z 設定値 : 104.1 ( $\gamma$ -アミノ酪酸), 148.1 (グルタミン酸)

抽出試料の前処理 : 0.01N 塩酸で 2 倍に希釈し,

0.20  $\mu$ m セルロースアセテート製メンブレンフィルターで濾過してから分析に供した。

検量線溶液の調製 : GABA 及びグルタミン酸を超純水で希釈した。

### 【条件 2】

移動相流量 : 0.6mL/min, カラム温度 : 35°C

移動相 A : アセトニトリル/テトラヒドロフラン/  
100mM ギ酸アンモニウム/ギ酸=9/75/16/0.3  
(v/v/v/v)

移動相 B : アセトニトリル/100mM ギ酸アンモニウム=20/80 (v/v)

グラジエント条件 (移動相 B) :

0%(0min) $\rightarrow$ 0%(3min) $\rightarrow$ 17%(9min) $\rightarrow$ 100%(15min)

LC/MS 定量分析 : ESI positive

SIM 分析 m/z 設定値 : 205.1 (トリプトファン), 166.1 (フェニルアラニン), 182.1 (チロシン), 132.1 (ロイシン), 132.1 (イソロイシン), 150.0 (メチオニン), 118.1 (バリン), 120.1 (スレオニン), 106.0 (セリン), 147.1 (グルタミン), 76.0 (グリシン), 133.0 (アスパラギン), 147.0 (リジン), 175.1 (アルギニン)

抽出試料の前処理 : 移動相 B で 2 倍又は 5 倍に希釈し, 0.45  $\mu$ m セルロースアセテート製メンブレンフィルターで濾過してから分析に供した。

検量線溶液の調製 : 市販のアミノ酸混合標準液を全自動アミノ酸分析装置用クエン酸緩衝液で 25 倍に希釈した後, 移動相 B で希釈した。

また, その他の遊離アミノ酸 14 種 (トリプトファン, フェニルアラニン, チロシン, ロイシン, イソロイシン, メチオニン, バリン, スレオニン, セリン, グルタミン, グリシン, アスパラギン,

リジン，アルギニン) の分析条件は，表 2 条件 2 とした。

## 2.5 遊離糖（スクロース）の定量

落花生中には遊離糖として，スクロース，スタキオース，グルコースが含まれている<sup>4)</sup>と報告されているが，今回はこれら糖類のうち，主として含まれるスクロースを高速液体クロマトグラフ（L-6000series，(株)日立製作所製）を用いて定量した。分析条件は，表 3 のとおり。

表 3 遊離糖の定量分析条件

---

分離カラム：Shodex KS-801 (300mm×8mm i.d.)，
移動相流量：1 mL/min，カラム温度：80℃
移動相：超純水，検出器：示差屈折率計 (RID)
抽出試料の前処理：超純水で 25 倍に希釈し，0.45 μm セルロースアセテート製メンブレンフィルターで濾過してから分析に供した。
検量線溶液の調製：スクロースを超純水で希釈した。

---

## 2.6 総ポリフェノールの定量

抽出試料 50μL，2%炭酸ナトリウム溶液 1000μL，80%エタノール 50μL を 1.5ml マイクロチューブに入れ，混合して 2 分後に，フォーリン-チオカルト試薬 50μL をさらに加えて混合し 30 分間静置し反応させた。この溶液の 750nm の吸光度を分光光度計 (Ultrospec 3000，ファルマシア社製) により測定した。

検量線溶液は，没食子酸を純水で希釈したものをを用いた。

## 2.7 抗酸化能の測定

機能性評価方法として選択した抗酸化能の測定は，沖<sup>5)</sup>の試験方法を参考とした。

抽出試料と 99.5%エタノールを 1 対 1 で混合した後，50%エタノールで 2 倍又は 8 倍に希釈し，抗酸化能試験液を調製した。

抗酸化能試験液と 50%エタノールを様々な比率 (1 対 3，2 対 2，3 対 1) で混合した溶液 400μL，200mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) 溶液 200μL，400mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 溶液 200μL を 1.5ml マイクロチューブに入れ，混合した後，遮光して室温中で 20 分間反応させ，520nm の吸光度を測定した。

Trolox 検量線溶液は，100μM Trolox 溶液と 50%

エタノールを様々な比率 (0 対 4，7 対 3，1 対 3，2 対 2，3 対 1，4 対 0) で混合し調製したものをを用いた。

落花生中の抗酸化能は，抽出試料の一次回帰式 (濃度対吸光度) と Trolox 検量線溶液の一次回帰式 (濃度対吸光度) の傾きの比を求めて計算した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 落花生の発芽前後の成分量変化

各落花生試料中の総遊離アミノ酸量及び遊離アミノ酸量，スクロース量，総ポリフェノール量を表 4 及び表 5 にまとめた。

落花生の発芽前後で，総遊離アミノ酸量が約 1.8 倍増加し，遊離アミノ酸は最大約 35 倍に増加したが，スクロース量及び総ポリフェノール量は，それぞれ約 30%，約 12%減少した。

落花生の発芽前後でスクロース量が減少した理由は，発芽成長に利用されたこと，発芽前の吸水操作時に浸漬液中へ溶出したことが考えられる。また，落花生の発芽前後で総ポリフェノール量が減少した理由も，スクロースと同様なものと考えられる。

一方，遊離アミノ酸は落花生の発芽前後で大幅に増加したが，これは発芽生長のためにアミノ酸が活発に合成されているのが理由となっているものと思われる。

### 3.2 発芽落花生の加熱処理の成分量変化

発芽落花生に加熱処理を行うことで，全体的に成分量が減少した。

焙煎処理では，加熱前後で総遊離アミノ酸量と総ポリフェノール量はほとんど変わらず，遊離アミノ酸量は最大で約 35%減少した。一方，一部の遊離アミノ酸とスクロース量は増加したが，これらの増加原因は現在調査中である。

蒸煮処理では，加熱前後で全ての成分が減少しており，例えば遊離アミノ酸のグリシンは約 96%減少していた。蒸煮では，落花生を長時間茹でたことにより，ゆで汁への成分流出が顕著になったものと考えられる。

レトルト処理では，加熱前後で分析した全ての成分が減少し，最大約 43%減少した成分もあった。

これら加熱加工による成分量の増減から，焙煎処理，レトルト処理，蒸煮処理の順に栄養価の減耗が少ないことが分かった。

### 3.3 総ポリフェノール量と抗酸化能の関係

落花生の抗酸化能を持つ物質として、ポリフェノールがあげられていることから、本項で総ポリフェノールと抗酸化能の関係を調べた。

表5の総ポリフェノール量と抗酸化能を対比してプロットしたのが、図3である。この結果から、総ポリフェノール量と抗酸化能は、弱い正の相関

(決定係数 $R^2=0.428$ ,相関係数 $R=0.654$ )が見られることが分かった。しかしながら、相関性をより精度高く解析するためには、ポリフェノール以外の抗酸化物質、例えば、ビタミン類、メイラード反応生成物等の成分量を測定し、考慮する必要があると思われる。

表4 遊離アミノ酸量一覧

	発芽落花生								
	発芽前	発芽後(加熱処理前)			焙煎処理後		蒸煮処理後		レトルト処理後
	mg/100g	mg/100g	増加倍率	mg/100g	増加倍率	mg/100g	増加倍率	mg/100g	増加倍率
	D.W.	D.W.	発芽後 /発芽前	D.W.	焙煎処理後 /発芽後	D.W.	蒸煮処理後 /発芽後	D.W.	レトルト処理後 /発芽後
総遊離アミノ酸量 ( $\gamma$ -アミノ酸相当量)	786	1432	1.82	1389	0.97	814	0.57	1289	0.90
メチオニン	0.1	3.9	34.6	5.3	1.34	1.5	0.38	3.5	0.90
$\gamma$ -アミノ酪酸	2.8	58.5	20.9	37.9	0.65	11.5	0.20	33.4	0.57
ロイシン	1.3	15.8	12.5	16.4	1.04	2.8	0.18	12.2	0.77
セリン	6.4	32.3	5.03	32.7	1.01	9.3	0.29	20.9	0.65
スレオニン	3.4	14.9	4.38	14.5	0.98	2.2	0.15	10.4	0.70
トリプトファン	2.9	8.8	3.00	7.9	0.89	2.0	0.23	6.2	0.70
グリシン	3.9	10.2	2.60	7.7	0.76	0.4	0.04	6.7	0.66
アルギニン	59.6	120.3	2.02	104.7	0.87	39.7	0.33	83.4	0.69
リジン	128.3	249.0	1.94	214.6	0.86	85.2	0.34	178.7	0.72
アスパラギン	145.3	179.9	1.24	185.9	1.03	37.3	0.21	120.5	0.67
フェニルアラニン	38.8	45.6	1.17	47.3	1.04	18.9	0.41	39.3	0.86
グルタミン酸	68.2	69.3	1.02	62.4	0.90	32.1	0.46	63.2	0.91
バリン	24.3	19.5	0.80	18.9	0.97	trace	—	22.5	1.15
チロシン	trace	23.9	—	24.0	1.01	trace	—	16.5	0.69
イソロイシン	trace	6.3	—	6.5	1.03	trace	—	4.1	0.65
グルタミン	trace	10.0	—	7.3	0.72	trace	—	trace	—

(脚注) traceは、検出されたが検量線の範囲外であったものを示す。

表5 遊離糖（スクロース量）、総ポリフェノール量、抗酸化能一覧

	発芽落花生								
	発芽前	発芽後(加熱処理前)		焙煎処理後		蒸着処理後		レトルト処理後	
	濃度	濃度	増加倍率	濃度	増加倍率	濃度	増加倍率	濃度	増加倍率
			発芽後 /発芽前		焙煎処理後 /発芽後		蒸着処理後 /発芽後		レトルト処理後 /発芽後
スクロース量	5.2	3.7	0.71	4.4	1.19	1.9	0.51	3.3	0.89
総ポリフェノール量	355	314	0.88	312	0.99	207	0.66	294	0.94
抗酸化能	8.5	3.3	—	3.0	—	2.8	—	3.6	—

(注) スクロース量の濃度は g/100g D.W, 総ポリフェノール量の濃度は mg/100g D.W (没食子酸相当量), 抗酸化能の濃度は mmol-Trolox 相当量/100gD.Wとしている。

抗酸化能 / mmol-Trolox 相当量/100g D.W

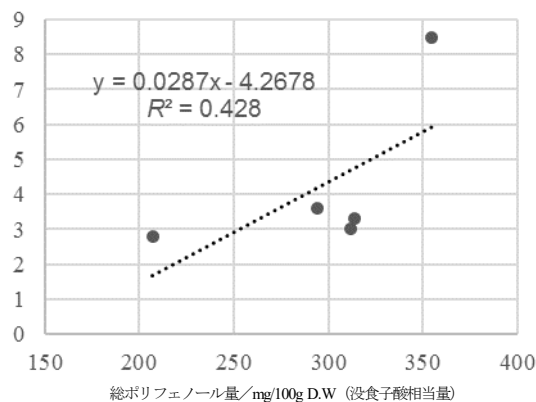


図3 総ポリフェノール量と抗酸化能の相関性

#### 4. まとめ

落花生を発芽させ、さらに加熱処理したものについて、成分分析及び機能性評価を行った。

落花生の発芽処理で、遊離アミノ酸量は増加し、スクロース量及び総ポリフェノール量が減少することが分かった。

発芽落花生の加熱処理（焙煎、蒸着、レトルト）において、一部を除き、成分が減少する方向性を示し、最も成分量の減耗が少なかったものは、焙煎処理であることが分かった。

また、機能性の評価として、発芽落花生及びその加工品の総ポリフェノール量と抗酸化能の相関関係を調査したところ、弱い正の相関が見られることが分かった。

#### 参考文献

- 1) Wong RH, et.al, *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*, 21(11), 851-856, (2011)
- 2) 大垣佳寛ら, 日本食品科学工学会誌, Vol.50, No.12, 570-573, (2003)
- 3) 加藤守匡, 山形県立米沢栄養大学 地域連携・研究推進センター活動報告書(2), 23-26, (2016)
- 4) Chintana Oupadissakoon, et.al, *Peanut Science*, 7, 55-60, (1980)
- 5) 沖智之, 平成19年度農林水産省補助事業 食品機能性評価マニュアル第II集, pp71-78