

# 植物性食品のおいしさと脂質酸化酵素

黒田 久夫

食品に含まれる脂質は、非酵素的または酵素的な酸化を受けてアルデヒド類・アルコール類・ヒドロキシ脂肪酸・その他の脂質酸化物に変換されるが、これらは食品のおいしさに対してポジティブまたはネガティブな影響を与える。近年、植物の脂質酸化酵素の構造と機能が次々と明らかにされ、リポキシゲナーゼ・脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ・ペルオキシゲナーゼの働きと食品品質との関連性について研究が進んでいる。また、ダイズとオオムギでは、リポキシゲナーゼを欠失する実用品種が育成され、食品産業に利用されている。本論文では、植物性食品を対象として、酵素が関与する脂質酸化と脂質酸化物が与える食品品質への効果について、現在までに得られている知見を整理する。

キーワード：脂質酸化 リポキシゲナーゼ 脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ  
ペルオキシゲナーゼ リポキシゲナーゼ欠失品種

食品に含まれる脂質は、非酵素的または酵素的な酸化を受けて、特有の香りや味を有するアルデヒド類・アルコール類・ヒドロキシ脂肪酸・その他の脂質酸化物に変換される。これらの化合物は、食品のおいしさに対して、ポジティブまたはネガティブな影響を与える。本論文の目的は、植物性食品を対象として、酵素が関与する脂質酸化と脂質酸化物が与える食品品質への効果について、現在までに得られている知見を整理することである。

ゲノム解読技術の進歩やゲノム編集技術の実用化により、有用作物の分子育種への期待が高まっている。一方、ゲノム解析により得られた遺伝情報が、食品の品質にどのような意味を持つかは十分に明らかにされていない。特に、加工調理される食品では、加工において成分の化学変化が生じるため、遺伝情報と食品品質との関係を一義的に関連づけることが難しい。筆者らは、遺伝子・タンパク質の配列情報、生化学的解析データと食品科学の文献情報についてシステマティックレビュー

を行い、食品の脂質酸化に関与するリポキシゲナーゼ及びその下流カスケード酵素と脂質酸化物をクエリーに、配列データベースと文献データベースを探索した<sup>1)</sup>。その結果、食品品質と成分、酵素と遺伝子、耐病性と遺伝子に関する情報は比較的多かったが、食品品質と酵素または遺伝子を結びつける情報は圧倒的に少なかった。従って、ライフサイエンスの分野で得られた知見を食品加工やおいしさの研究などの分野に結びつけるには、トランスレーショナルな研究が必要である。

一方、栄養学や家政学の分野において、脂質酸化及び脂質酸化酵素に関して、最新のライフサイエンス分野の情報が反映されているかについては課題がある。筆者は、家政・栄養学系のテキストについて、リポキシゲナーゼを探索ワードとしてテキストを探索し、テキストの周辺の記述の正確性と情報の新しさを分析したところ、概ね妥当と思われる部分と、新しい知見が十分に反映されていない部分があることを報告した（詳細は、第4章で論ずる）<sup>2)</sup>。

そこで、ライフサイエンスを専門としない読者

を対象として、植物性食品のおいしさに関与する脂質酸化酵素と脂質酸化物について、日本語の総説を執筆することにした。化合物については、構造とデータベースの情報 (PubChem CID; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) を示した。引用文献は、できる限り和文を多く掲載した。文献情報の検索は、CiNii (NII 学術情報ナビゲータ) と PubMed (The National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) を利用した。配列情報の検索は、NCBI (The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) を利用した (最終検索日 2021 年 3 月 20 日)。本論文が、ライフサイエンス分野の基礎研究と、栄養学や家政学の分野の研究との橋渡しになれば幸いである。

## 1. 植物性食品の脂質酸化に関与する脂質酸化酵素

植物性食品における脂質酸化の経路と、経路に関与する脂質酸化酵素の概要を図 1 に示す。脂質酸化酵素は太字で、化合物は通常のフォントで示す。酵素・化合物のうち、植物組織・植物体で活性・存在が確認されているが、植物性食品において分析されていないものは、グレーで示す。

植物性食品に含まれる脂質は、保存や加工調理の過程で酸化を受けて脂質ヒドロペルオキシドに変換されるか、またはリパーゼの働きを受けて脂肪酸に加水分解される。加水分解の結果生成した脂肪酸も酸化を受けて脂肪酸ヒドロペルオキシドに変換される。これらの酸化の過程は、非酵素的、または酵素リポキシゲナーゼ (LOX) の触媒作用により反応が進む。脂質ヒドロペルオキシド及び脂肪酸ヒドロペルオキシドは、化学的に不安定であり、金属の存在下、高温の条件下では、アルデヒド、アルコール、ヒドロキシ脂肪酸、その他の脂質酸化物に変換される。非酵素的な酸化の詳細は、成書を参照されたい<sup>3,4)</sup>。

この経路は、脂質酸化酵素によっても触媒され、脂肪酸ヒドロペルオキシドをアルデヒドとオキシ

酸に分解する脂肪酸ヒドロペルオキシドリナーゼ (HPL)、ヒドロキシ脂肪酸に変換するペルオキシゲナーゼ (PXG)、アルデヒドを異性化する酵素、アルデヒドをアルコールに変換するアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH)、ジャスモン酸類の生成に関与するアレンオキシド合成酵素 (AOS) などが知られている。以下、植物性食品において活性が確認されている酵素を中心として、各酵素の情報を第 1 章にまとめる。脂質酸化物の香りと味覚については、第 2 章で詳細に説明する。化合物の情報は、図 2 に示し、本文中では、初めて現れるところで図 2 の番号と PubChem CID を括弧内に示す。図 2 で構造を示さなかった化合物については、PubChem CID のみを示す。化合物の詳しい情報は、PubChem の情報を参照されたい。

### 1-1 リポキシゲナーゼ (LOX)

リポキシゲナーゼ (LOX) は、動物・植物・菌類に広く存在し、*cis*、*cis*-1, 4-ペンタジエン構造を持つ脂肪酸に酸素分子を付加する酸化還元酵素であり、活性中心に非ヘム鉄またはマンガンを有する<sup>5)</sup>。植物性食品に含まれる脂肪酸のうち LOX の主要な基質は、リノール酸 (1a, 5280450) とリノレン酸 (1b, 5280934) である。植物 LOX はリノール酸とリノレン酸に酸素分子を付加して、リノール酸 9-ヒドロペルオキシド (2a, 9548877)、リノール酸 13-ヒドロペルオキシド (2b, 5280720)、リノレン酸 9-ヒドロペルオキシド (2c, 101623263)、リノレン酸 13-ヒドロペルオキシド (2d, 5497123) を生成する。9-ヒドロペルオキシドと 13-ヒドロペルオキシドの生成比率は、酵素の種類によって異なる。また、脂質と遊離脂肪酸を基質とするが、基質親和性は酵素の種類によって異なる<sup>6)</sup>。

これまでに、多くの植物 LOX が研究され、3000 種類以上の植物 LOX 遺伝子の構造が報告されている。また、LOX の酵素学的な解析についても多くの報告が得られている<sup>5)</sup>。そのうち、ダイズ LOX は、古くから研究されており、酵素学的な解析が最も進んでいる。ダイズ粉は、小麦生地のカロテノイドを漂白したり、弾力性を調整したりするのに用いられているが、これは LOX の触媒作用による。例えば、製パンの際に、ダイズ

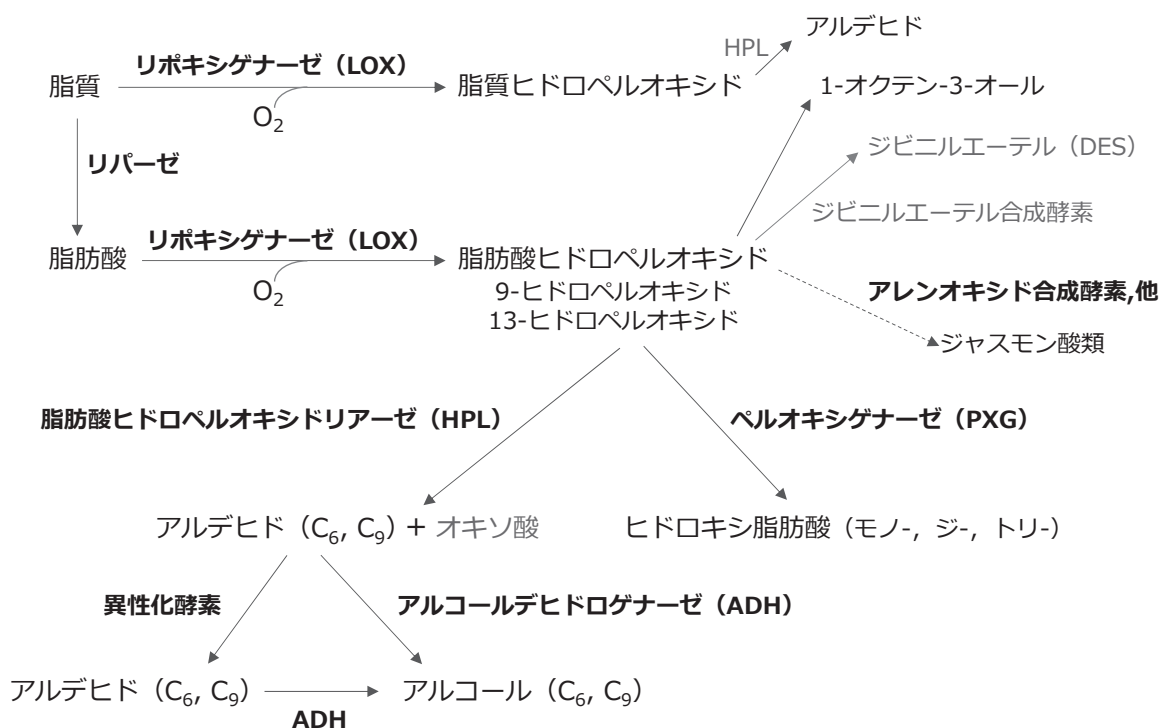


図1 植物性食品の脂質酸化の経路と関与する脂質酸化酵素

これまでに調査された植物の脂質酸化の経路と関与する脂質酸化酵素（太字）を示す。植物組織・植物体で確認され、植物性食品でまだ分析されていない酵素・化合物は、グレーで示す。

粉を生地に加えることにより、脂肪酸ヒドロペルオキシドを生成させて、製品に含まれるカロテノイドなどの色素をブリーチングすることにより、パンの色を白くすることができる。同様に、麺を製造するときに、ダイズ粉を生地に加えると、脂肪酸ヒドロペルオキシドがグルテニンタンパク質のシステイン残基のチオール基の酸化を促進し、グルテニンタンパク質間のジスルフィド結合が促進されて、麺の弾力性が高まる<sup>7,8)</sup>。小麦粉自体もLOXを有し、パスタ製造において同様なメカニズムで着色に影響を与える。Borrelliらは、小麦品種について分析を行った結果、小麦粉のLOX活性とβ-カロテン含量の損失の間に有意な相関を示している (r = 0.84, p < 0.001)<sup>9)</sup>。その他、様々な植物性食品においてLOX活性と食品品質との関連性が解析されている<sup>10)</sup>。

また、ダイズ・オオムギ・コメのLOX欠失品種が探索され、ダイズ・オオムギについては、実

用品種が育成されている。ダイズLOXは、ダイズの戻り臭（青臭み）に関与するが、LOX欠失ダイズを用いると豆乳や豆腐の香味が改善できることが示されている。オオムギLOXは、ビールの泡持ちと香味・香味耐久性に影響を与え、LOX欠失オオムギの麦芽を用いてビールを醸造すると、泡持ちと香味耐久性が向上することが示されている（詳細は3章で説明する）。

植物のLOXは、植物の成長や生体防御に必要な化合物を合成するための最初のステップを担っている。LOXは、植物組織が傷害を受けたり、食害や感染を受けたりすると遺伝子発現が誘導されることから、生体防御に関与すると考えられているが、その全容の解明は今後の研究の進展に期待される<sup>11)</sup>。

## 1-2 脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ (HPL)、異性化酵素とアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH)

脂肪酸ヒドロペルオキシドリアーゼ (HPL) は、脂肪酸ヒドロペルオキシドを分解してアルデヒドとオキソ酸を生成する酵素である。9-ヒドロペルオキシドと13-ヒドロペルオキシドを基質とするが、その基質親和性は、酵素の種類によって異なる。リノール酸9-ヒドロペルオキシドの分解では、(3Z)-ノネナール (6431042) と9-オキソノナン酸 (75704)；リノール酸13-ヒドロペルオキシドの分解では、ヘキサナール (3a, 6184) と12-オキソ-(9Z)-ドデセン酸 (9548789)；リノレン酸9-ヒドロペルオキシドの分解では、(3Z,6Z)-ノナジエナール (5352808) と9-オキソノナン酸；リノレン酸13-ヒドロペルオキシドの分解では、(3Z)-ヘキセナール (3b, 643941) と12-オキソ-(9Z)-ドデセン酸を生成する。脂肪酸ヒドロペルオキシドだけでなく、脂質ヒドロペルオキシドも基質とする HPL も存在する<sup>12)</sup>。

HPL の触媒作用で生じたアルデヒドは、異性化酵素と ADH によりさらに変換を受ける。異性化酵素 (3Z:2E-イソメラーゼ) は、(3Z)-ノネナールを (2E)-ノネナール (3d, 5283335) に；(3Z,6Z)-ノナジエナールを (2E,6Z)-ノナジエナール (3e, 643731) に、(3Z)-ヘキセナール (3b, 643941) を (2E)-ヘキセナール (3c, 10460) に変換する。これらの過程は非酵素的にも起こる。ADH は、ヘキサナール、(3Z)-ヘキセナール、(2E)-ヘキセナール、(3Z,6Z)-ノナジエナール、(2E,6Z)-ノナジエナールをそれぞれ、ヘキサノール (4a, 8103)、(3Z)-ヘキセノール (4b, 5281167)、(2E)-ヘキセノール (4c, 5318042)、(3Z,6Z)-ノナジエノール (6434541)、(2E,6Z)-ノナジエノール (4e, 5363833) に変換する。

HPL 活性と食品品質との関連性の研究は、LOX に比べると少ないが複数報告されている。ブドウの品種における HPL 活性とアルデヒド含量<sup>13)</sup>、ジュースやピューレの製造における温度や圧力と HPL 活性の変化<sup>14)</sup>、栽培化の過程での HPL 遺伝的変化<sup>15)</sup>、オリーブオイル製造における温度と HPL 活性<sup>16)</sup>、キュウリにおける HPL ア

イソザイムの発現と C<sub>6</sub> と C<sub>9</sub> アルデヒドの生成<sup>17)</sup>、リーキの保存条件による香り化合物と HPL 活性<sup>18)</sup>、ビール醸造の仕込工程における HPL 活性の挙動とビール老化指標との関連性<sup>19, 20)</sup> などが報告されている。

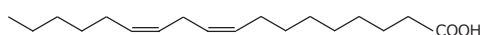
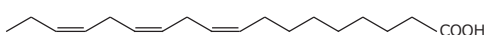
Salas と Sánchez は、オリーブオイル製造において、オリーブを磨砕した後に、水を加えて攪拌する工程 (マラキセーション, malaxation) における脂質酸化を分析するために以下の実験を行った。オリーブの粗抽出液 (酵素液) と<sup>14</sup>C 標識リノール酸を 0℃ -35℃ の条件で反応させて、ヒドロペルオキシド (LOX により生成)、オキソ酸とヘキサナール (HPL により生成) の生成量を測定した。その結果、オキソ酸とヘキサナールの生成が最大となる温度は、15℃であり、25℃を超えると減少した。ヒドロペルオキシドの生成量は、25℃で最大となり、30℃で減少した。一方、0℃ -35℃における粗抽出液の LOX 活性と HPL 活性を測定すると、HPL 活性は 15℃で最大となり 25℃を超えると減少した。LOX 活性は、25℃で最大となり、30℃で減少した。これらの結果から、マラキセーションにおけるヘキサナールの生成は、HPL が鍵酵素であると推定した。低温でマラキセーションを行うとオリーブオイルのフレーバーの強度が高まることが知られているが、HPL の作用で一部説明できるとしている<sup>16)</sup>。

Nielsen らは、西洋ネギ (リーキ) の調理加工と保存による硫黄化合物、短鎖アルデヒド、短鎖アルコール、LOX 活性、HPL 活性、ADH 活性の挙動を調べた。リーキを 4 mm または 15 mm の厚さに切り、空気または窒素を充填して、12 ヶ月冷凍保存し、経時的に LOX 活性、HPL 活性、ADH 活性を測定した。その結果、LOX 活性は窒素充填により経時的に活性が高まり、HPL 活性と ADH 活性は変化しなかった。切断の厚みは、LOX 活性と ADH 活性に影響しなかったが、HPL 活性は 15 mm に比べ 4 mm の切断において活性が高くなり、加工や保存の条件により、脂質酸化酵素の残存活性が変化することを示している<sup>18)</sup>。

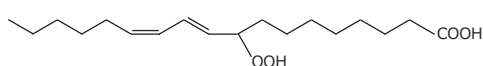
筆者らは、ビールの老化の原因物質とされている (2E)-ノネナールについて、原料である麦芽に含まれる酵素系と、仕込工程における (2E)-

**1. 脂肪酸**

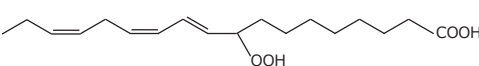
リノール酸 (1a, 5280450)

 $\alpha$ -リノレン酸 (1b, 5280934)**2. 脂肪酸ヒドロペルオキシド**

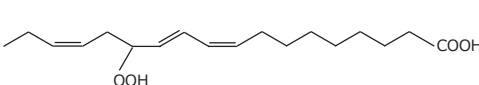
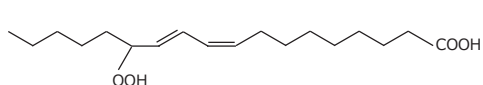
リノール酸9-ヒドロペルオキシド (2a, 9548877)



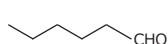
リノレン酸9-ヒドロペルオキシド (2c, 101623263)



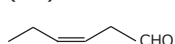
リノール酸13-ヒドロペルオキシド (2b, 5280720) リノレン酸13-ヒドロペルオキシド (2d, 5497123)

**3. アルデヒド**

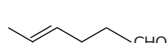
ヘキサナル (3a, 6184)



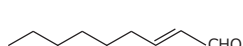
(3Z)-ヘキセナル (3b, 643941)



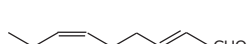
(2E)-ヘキセナル (3c, 10460)



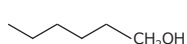
(2E)-ノネナル (3d, 5283335)



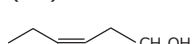
(2E,6Z)-ノナジエナル (3e, 643731)

**4. アルコール**

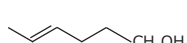
ヘキサノール (4a, 8103)



(3Z)-ヘキセノール (4b, 5281167)



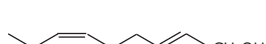
(2E)-ヘキセノール (4c, 5318042)



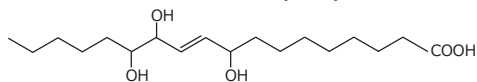
(2E)-ノネノール (4d, 5283335)



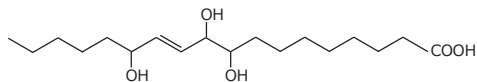
(2E,6Z)-ノナジエノール (4e, 5362833)

**5. ヒドロキシ脂肪酸**

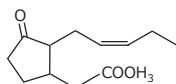
9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸 (5a, 5282966)



9,10,13-トリヒドロキシ-(11E)-オクタデセン酸 (5b, 5282965)

**6. その他**

ジャスモン酸メチル (6a, 5281929)



1-オクテン-3-オール (6b, 18827)

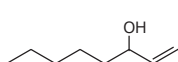


図2 植物性食品に含まれる脂肪酸と脂質酸化物の構造

本論文で示した化合物の一部について、その構造を示す。カッコ内は、本文中の整理番号と PubChem CID を (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) を示す。



ノネナールの挙動を解析した。麦芽中には、リノール酸9-ヒドロペルオキシドを分解して(2E)-ノネナールを生成させる活性が存在し、これが仕込工程中の(2E)-ノネナール生成の鍵酵素であることを示した<sup>19)</sup>。また、この活性がビールの老化を予測する指標と有意な相関を示すことを示し、さらにこの活性を部分生成して酵素学的に解析し、活性はHPLと異性化酵素からなることを示した<sup>20)</sup>。

これまでに、約170種類の植物HPL遺伝子の構造が明らかにされ、酵素学的な解析についても多くの報告が得られている<sup>6)</sup>。HPLの変異体を用いた解析から、ヘキサナールなどの低分子アルデヒドが植物のコミュニケーション分子として利用されていることが示されている<sup>21-23)</sup>。異性化酵素遺伝子は、1種類同定されている<sup>24)</sup>。ダイズにおいてADH活性の存在が報告されている<sup>25)</sup>

前述したように、HPLは、脂肪酸ヒドロペルオキシドだけでなく、脂質ヒドロペルオキシドを基質とする酵素も知られているが<sup>12)</sup>、食品の保存や加工調理との関連性はよく分かっていない。

### 1-3 ペルオキシゲナーゼ (PXG)

ペルオキシゲナーゼ (PXG) は、脂肪酸ヒドロペルオキシドを基質として、エポキシ脂肪酸を生成する酵素である<sup>11)</sup>。エポキシ基は容易に加水分解を受けて、ヒドロキシ脂肪酸に変換される。リノール酸9-ヒドロペルオキシドから9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸(5a, 5282966)が、リノール酸13-ヒドロペルオキシドから9,10,13-トリヒドロキシ-(11E)-オクタデセン酸(5b, 5282965)が生成する。

PXGは、エンドウでその活性が確認され<sup>26)</sup>、その後モデル植物であるアラビドプシスで遺伝子が同定された後<sup>27)</sup>、オーツ麦でも遺伝子が同定された<sup>28)</sup>。活性を発揮するには、ヘムとカルシウムが必要である。他の植物でも遺伝子の同定が進んでいる。

PXG活性と食品品質との関連性の研究は、わずかであるが報告されている。ソラマメとオーツ麦のPXG活性とオフフレーバー生成<sup>29)</sup>、ビール醸造の仕込工程におけるPXG活性とヒドロキシ

脂肪酸の生成などが報告されている<sup>30)</sup>。

### 1-4 その他の酵素

植物の脂質酸化酵素には、LOX, HPL, PXG, ADH以外に、リパーゼ、AOS, DESなどがある。リパーゼは、LOXの基質となる脂肪酸を生成する酵素として重要である。種子植物のリパーゼの遺伝子は、約2万4千種類存在する。AOSは、植物ホルモンであるジャスモン酸合成に関与し、香り物質であるジャスモン酸メチルの合成に関与する<sup>31)</sup>。DESは、ジビニルエーテルの合成に関与する<sup>32)</sup>。ジビニルエーテルは、抗菌作用があり、生体防御に関与していると考えられている<sup>33)</sup>。ジビニルエーテルがどのような香味を有するか、食品品質に影響を与えるのかは分かっていない。

## 2. 脂質酸化物の種類と香味

### 2-1 アルデヒド・アルコール

#### C<sub>6</sub>アルデヒド・C<sub>6</sub>アルコール

ヘキサナール、(3Z)-ヘキセナール、(2E)-ヘキセナールなどのC<sub>6</sub>アルデヒド、ヘキサノール、(3Z)-ヘキセノール、(2E)-ヘキセノールなどのC<sub>6</sub>アルコールは、特有の香りがある<sup>34)</sup>。C<sub>6</sub>アルデヒドとC<sub>6</sub>アルコールは、低い濃度では爽やかな香り(みどりの香り・果実的な香り; green, fruity)を与えるが、高濃度では反対に好ましくない香り(青臭い; grassy)となる。特にアルデヒドは、刺激があり、忌避性が高い。お茶や野菜などの食品においては、個人差があるが、低濃度では嗜好性を高めていると考えられる。反対に、豆乳などの大豆製品では、青臭い香りと認識され、嗜好性を低下させると考えられている。

C<sub>6</sub>アルデヒドとC<sub>6</sub>アルコールの官能閾値は、ppbレベルである。3点比較式臭袋のデータでは、ヘキサナール, 0.28 ppb; ヘキサノール, 6ppbと示されている<sup>35)</sup>。(2E)-ヘキセナールは青葉アルデヒド(leaf alcohol)、(3Z)-ヘキセノールは青葉アルコール(leaf aldehyde)と呼ばれ、(3Z)-ヘキセノールは緑茶の香りの一つとしても知られている<sup>34)</sup>。ヘキセナールは、二重結合の位置とシス・トランス配置により、香りの印象が変化する<sup>36)</sup>。(3Z)-ヘキセノールは、トマトの特徴的

な香気の一つと考えられている<sup>37)</sup>。その他の食品についても、ガスクロマトグラフィー・オルファクトメトリー (GC-O) による臭い嗅ぎを利用した化合物の香りの特徴解析と化合物の同定が進んでいる<sup>38)</sup>。

### C<sub>9</sub>アルデヒド・C<sub>9</sub>アルコール

C<sub>6</sub>アルデヒド・C<sub>6</sub>アルコールが低濃度で爽やかな香りを呈するのに対し、C<sub>9</sub>アルデヒド・C<sub>9</sub>アルコール、特にノネナールやノナジエナールなどC<sub>9</sub>アルデヒドは、低濃度でもネガティブな香りを有する。香りの特徴としては、油っぽい (fatty, waxy) などと表現される。

(2*E*,6*Z*) -ノナジエナールは、スマレ葉アルデヒドとして知られるが、キュウリの香り (cucumber) がする。キュウリの香りのうち、(2*E*,6*Z*) -ノナジエナールが約半分を占めるといふ<sup>34)</sup>。(2*E*,6*Z*) -ノナジエノールは、キュウリアルコールと呼ばれている<sup>34)</sup>。

キュウリのスライスを台所に置くとゴキブリが寄りなくなるが、活性成分は (2*E*) -ノネナールだったという報告がある<sup>39)</sup>。(2*E*) -ノネナールは、ビールのカードボード臭 (老化臭の一種) と考えられている (詳細は、第3章で説明する)。

2-ノネナール (二重結合のシス・トランスは不明) は、ヒトの加齢臭として同定されている。26-75歳 (計22名; 男13名、女9名) にシャツを着せて、シャツに吸着した成分をガスクロマトグラフィー質量分析計で分析したところ、検出された複数の成分のうち、2-ノネナールは40歳未満の被験者には検出されなかったのに対し、40歳以上は69%の被験者に検出された。他の成分は、年齢の区分で差がなかった<sup>40)</sup>。ヒトが生理的に嫌悪する香りが、植物性食品の嗜好性に影響を与えているのかも知れなく、興味深い。

### 1-オクテン-3-オール

1-オクテン-3-オール (6b, 18827) は、きのこの特徴的な香りとして、シイタケ・マツタケ・トリュフなどで同定されている<sup>41)</sup>。生合成経路として、リノール酸を基質として、(S)-10-hydroperoxy - (8*E*,12*Z*) -8,12-octadecadienoic acid から (R)-1-octen-3-ol が生成する経路が提案されている<sup>42)</sup>。その他に、泡盛 (蒸留酒) に特徴的な成分

<sup>43, 44)</sup>、つゆのkokに寄与する成分<sup>45)</sup>として報告され、鮎の可食部位から1-オクテン-3-オールが見つかった<sup>46)</sup>。

### 2-2 ヒドロキシ脂肪酸

トリヒドロキシオクタデセン酸は、苦味または収斂味を呈する。ダイズLOX (粗酵素) とリノール酸を反応させて得られた9,12,13-トリヒドロキシ-10-オクタデセン酸と9,10,13-トリヒドロキシ-11-オクタデセン酸の混合物の苦味の閾値は、0.6-0.9  $\mu$  mol/mL (200-300 ppm) と報告されている<sup>47)</sup>。0.35% アルコール溶液では、10ppm程度で弱い収斂味があると報告されている<sup>48)</sup>。

ジヒドロキシオクタデセン酸・トリヒドロキシオクタデセン酸は、ビールの泡持ちとキレを低下させる。トリヒドロキシオクタデセン酸はビール中に、4-12 mg/Lの濃度で含まれ、1 mg/Lの添加により泡持ちを低下させる<sup>48)</sup>。5 mg/Lのトリヒドロキシオクタデセン酸が含まれるビールに、ビールから抽出したトリヒドロキシオクタデセン酸を終濃度15mg/Lとなるように加えたところ、キレ (smoothness) が有意に低下し、収斂味の持続性 (astringent duration) と苦味の持続性 (bitterness duration) が有意に上昇した。トリヒドロキシオクタデセン酸は、収斂味の持続性を増加させることにより、キレを低下させると考えられ、トリヒドロキシオクタデセン酸を低下させることによりビールのキレを高めることができるとしている<sup>49)</sup>。パン粉の苦味物質を探索したところ、9,12,13-トリヒドロキシ- (10*E*) -オクタデセン酸が探索された<sup>50)</sup>。ケシの実の苦味物質から9,10,13-トリヒドロキシオクタデセン酸が見つかった<sup>51)</sup>。

トリヒドロキシオクタデセン酸は、健康機能性も有する。トリヒドロキシオクタデセン酸は、 $10^{-8}$ - $10^{-4}$  mol/Lの濃度で動脈硬化プラーク由来培養細胞のコレステロール量を低下させ、DNA合成を阻害する。また、ウサギ動脈バルーン障害モデルにおいて0.1mg/kg/dayの投与で内膜肥厚を37%減少させ、治療薬ニフェジピンの効果よりも高かった<sup>52)</sup>。また、9,12,13-トリヒドロキシ- (10*E*) -オクタデセン酸 (ピネリン酸; カラスビシャク

Pinellia ternata の塊茎由来) は、漢方薬の小青竜湯の抗アレルギー作用の活性成分として報告されている<sup>53)</sup>。オボアルブミンで感作させたマウスのオボアルブミン特異的 IgE の産生を 50  $\mu$ g/kg/day のレベルで低下させた。また、インフルエンザワクチンの経口アジュバントとしても期待されている<sup>54,55)</sup>。

### 2-3 その他の化合物

HPL の反応からオキソ酸類が生成するが、オキソ酸類の香り・味はよく分かっていない。オキソ酸の一つトラウマチンは癒傷作用を有する植物ホルモンとして知られるが、リノール酸 13-ヒドロペルオキシドまたはリノレン酸 13-ヒドロペルオキシドと HPL との反応で生成する 12-オキソ-(9Z)-ドデセン酸に由来する<sup>6,11,21)</sup>。

ジャスモン酸メチル (6a, 5281929) は、フローラルな香りを有するが、煎茶の香りとして同定されている<sup>56)</sup>。その他、ケトール、モノヒドロキシオクタデセン酸など多数の脂質酸化物が植物性食品に存在するが<sup>10)</sup>、それらの香り・味、そして食品品質への効果はほとんど分かっていない。

## 3. LOX 欠失品種

### 3-1 LOX 欠失ダイズ

ダイズ種子は、3種類の LOX、L-1, L-2, L-3 を持つが、これらの3種類全てを欠失させた実用品種が育成されている<sup>57-59)</sup>。さらに、サポニン低減や他の実用形質を組み合わせた品種も育成されている<sup>60)</sup>。

LOX 欠失ダイズを用いると、豆乳・豆腐の香味を改善できることが示されている<sup>58,61)</sup>。特に、豆乳は、健康機能が優れているが特有の青臭みがあり、この香りを苦手とする消費者に敬遠されていて、LOX 欠失ダイズの利用が期待されている。この青臭みは、豆乳の製造における処理温度を上昇させて LOX を抑制することにより低減させることも可能であるが、タンパク質が不溶化し、収率が低下してしまう<sup>62)</sup>。LOX 欠失ダイズは、製造工程を変更することなく、ダイズ製品の嗜好性を高め、加工食品の品質を改善できる可能性を有する。

一方、LOX 欠失ダイズの嗜好性は、個人差があることが示されている<sup>63)</sup>。豆乳と豆腐の嗜好性を人種・文化背景で分析すると、ダイズを多く食べている文化の人種は、LOX 欠失ダイズから作った豆乳と豆腐を物足りなく感じ、反対に普通ダイズで作った豆乳と豆腐にコクを感じ、嗜好性が高かった<sup>64)</sup>。LOX から生成する青臭みと嗜好性の関係は、今後より詳しく研究する余地がある。

ダイズ LOX のアイソザイム L-3 は、ヘキサナール生成に寄与せず、他の化合物を生成させるために、むしろヘキサナール生成を抑制する<sup>65)</sup>。従って、L-3 のみを有するダイズ品種は、LOX 全欠失ダイズ品種よりも、香味特性が優れる可能性がある。また、ヘキサナールはダイズ食品のオフフレーバーとなるアルデヒドのごく一部であるとの主張もある<sup>66)</sup>。豆乳などダイズ加工品の嗜好性を高めるには、その他のアルデヒドを低減することも効果的であろう。一方、LOX 欠失ダイズから製造された食品のトリヒドロキシオクタデセン酸の含量については、調べた限り報告がない。LOX 欠失ダイズは、一般消費者向けにも販売されており、入手できる。今後、様々な食品に利用されることが期待される。

### 3-2 LOX 欠失オオムギ

前述したように、(2E)-ノネナールは、ビールのカードボード臭(老化臭の一種)であり、9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸は、ビールの泡持ちを低下させ、ビールに収斂味を与える。これらは、脂質の酸化に由来すると考えられていたが、この経路に酵素が関与するかどうかについては、意見が分かれていた<sup>67,68)</sup>。

ここで、理解を容易にするために、ビールの製造工程について説明する(図3)。ビールの製造工程では、オオムギ種子を発芽させ、焙燥して麦芽を作り(熱をかけて乾燥させ、風味をつける)、麦芽を粉碎、温湯と混合して酵素反応を起こさせタンパク質・デンプン・脂質を分解させる。ここで発酵に必要なアミノ酸・糖質(主にマルトース)と脂肪酸が生成する。この工程を仕込工程といい、麦芽と温湯を混ぜてもろみ状にしたものをマイシェという。この後、マイシェから穀皮などの不



溶物をろ過により除去し、ホップを添加、煮沸して麦汁が作られる。次に、麦汁に酵母を添加して発酵され、ビールができる。仕込工程は、ビールの製造に不可欠な工程であるが、同時に望ましくない脂質酸化も進む<sup>69)</sup>。

ビール醸造工程は、高压高温の煮沸を経るために、生成する脂質酸化物は主に非酵素的に生成すると信じられていた。しかし、筆者らはこれに疑問を持ち、一連の生化学的な解析により、(2E)-ノネナールと 9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸は、マイシェを製造するときリノール酸を基質として LOX-1, 9-/13HPL, 異性化酵素 (3Z:2E-イソメラーゼ)、PXG の触媒作用により生成することを示した<sup>19, 20, 30)</sup>。発芽種子中には、LOX-1 と LOX-2 の 2 種類の LOX が発現しているが、焙燥の工程を経ると LOX-2 はほとんど失活するために<sup>70)</sup>、マイシェで働く LOX は、LOX-1 である。

そこで、上記の経路を遮断した時に (2E)-ノネナールと 9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸の生成を抑制されるかを確かめるた

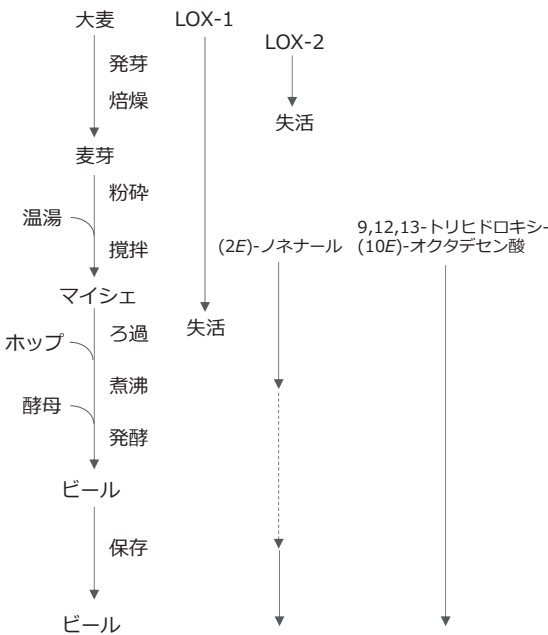


図 3 ビール製造工程と LOX, (2E)-ノネナールと 9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸の挙動

めに、また、より優れた品質のビールを醸造できるオオムギを育種するために、LOX-1 活性を欠失するオオムギ種子を遺伝資源より探索・育成し、ビールを醸造して確かめた。その結果、カードボード臭が低減し、泡持ちが向上することが示された<sup>71)</sup>。その後、別のグループにおいても、変異体をスクリーニングして LOX-1 を欠失するオオムギ品種が育成され、(2E)-ノネナールを低減できることが確認されている<sup>72)</sup>。

新鮮なビールにはカードボード臭がなく、保存によりカードボード臭が現れる。これは、仕込工程で生成した (2E)-ノネナールが発酵中に何らかの物質と結合して見かけ上検出されず、ビールの保存により結合が解かれて (2E)-ノネナールが遊離してくるのだという<sup>73)</sup>。どのような物質が (2E)-ノネナールと結合しているのかは証明されていないが、LOX-1 を欠失するオオムギを用いた醸造より、LOX-1 の酵素作用がカードボード臭を生成させることが証明された。一方、9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸は、マイシェで生成したものが、その後の工程で変化を受けることなく、ビールに移行すると考えられる。LOX-1 を欠失するオオムギを用いてビールを醸造しても、(2E)-ノネナール、または 9,12,13-トリヒドロキシ-(10E)-オクタデセン酸はゼロにはならないので<sup>71)</sup>、非酵素的な酸化の経路、その他の酵素も関与する可能性は残されている。

一般消費者は、酒税法上ビール (1 度以上) を醸造することはできなく、また麦芽も市販されていないが、LOX 欠失オオムギの麦芽を一部利用したビールを市場で入手できる。将来的には、LOX-1 欠失オオムギが世界的に普及されていくと考えられている<sup>74)</sup>。

### 3-3 LOX 欠失コメ

コメ糠には、LOX-1, LOX-2, LOX-3 の 3 種類の LOX が存在する。そのうち LOX-3 は、全 LOX 活性の 80-90% を占める<sup>75)</sup>。イネの品種 Daw Dam は、遺伝的に LOX-3 を欠失しており、保存によるオフフレーバー (古米臭) を低減できることが期待されている。Daw Dam とコシヒカ

りの過酸化物質価とカルボニル価を比較すると、Daw Dam の過酸化物質価とカルボニル価はコシヒカリよりも低下していた<sup>76)</sup>。また、保存によるペンタナール、ヘキサナール、ペンタノールの増加が抑制されていた<sup>77)</sup>。Daw Dam と実用品種との交配が進められており、古米臭が抑制された常温貯蔵性の優れた実用品種の育成が期待されている<sup>75)</sup>。

コメのオフフレーバーとして、ペンタナール、ヘキサナール、ペンタノール以外に、ヘプタナール、2-ノネナール、3-ペンテン-2-オン、オクタナールが提案され、特に2-ノネナールの寄与が高いことが報告されている<sup>78)</sup>。また、イネ種子から9,12,13-トリヒドロキシ-10-オクタデセン酸が検出されている<sup>79)</sup>。9,12,13-トリヒドロキシ-10-オクタデセン酸は、リノール酸9-ヒドロペルオキシドから生成することが示唆され、LOXとPXGの関与が推定される。LOX欠失コメは、保存性だけでなく、香味の改善の効果も期待できるかもしれない。

#### 4. 今後の展望と課題

この章では、植物性食品の脂質酸化と脂質酸化酵素の研究の課題と展望と、LOX欠失素材の有効利用について述べる。

##### 4-1 植物性食品の脂質酸化と脂質酸化酵素の研究の課題と展望

##### トリヒドロキシオクタデセン酸と植物性食品の苦味・収斂味

前述したように、トリヒドロキシオクタデセン酸には、苦味・収斂味があり、ダイズ食品・ビール・コメ以外にも、様々な食品の香味を低下させている可能性がある。従って、香味の優れた食品を開発するには、食品中のトリヒドロキシオクタデセン酸含量のコントロールも効果的であると考えられる。トリヒドロキシオクタデセン酸を定量するには、カルボキシ基とヒドロキシ基を保護してガスクロマトグラフィーで測定するか<sup>80)</sup>、高速液体クロマトグラフィー質量分析計で測定する2つの方法がある<sup>81)</sup>。前者は、抽出と誘導体化が必要であり、後者は、誘導体化は必要でないが、機

器が非常に高価で手軽には分析できない難しさがある。しかし、これまで述べたように、トリヒドロキシオクタデセン酸は、苦味や収斂味を有し、食品の香味を低下させると考えられることから、ダイズ食品・ビール以外にも、様々な食品で分析して、香味との関連性を研究する価値があると考えられる。また、トリヒドロキシオクタデセン酸は常圧・室温において比較的安定な化合物であり、他の食品成分と反応・結合することもなく、揮発性も非常に低いので、食品にそのまま残存する。従って、食品の脂質酸化による品質低下のマーカーとして有用と考えられる。

このように食品の香味に大きな効果を与え、健康機能性をも有するトリヒドロキシオクタデセン酸であるが、残念ながら家政・栄養学系のテキストには、調べた限り記載が全くなかった<sup>2)</sup>。また、トリヒドロキシオクタデセン酸の生成を触媒するPXGについての記載も見られなかった<sup>2)</sup>。トリヒドロキシオクタデセン酸とPXGの研究報告を家政・栄養系のテキストに掲載することにより、食品科学の学びの幅と奥行きが広がり、さらに食のおいしさと栄養の研究分野の裾野が広がることを期待したい。

##### HPL, PXG と食品の品質

ライフサイエンス分野では、HPLとPXGに関する報告が多数あり、多くの遺伝子とタンパク質の構造も決定されている。しかし、そのほとんどが耐病性や植物生理の研究である。前述したように、HPL・PXGと食品の品質との関係を分析した研究例は、LOXに比べると圧倒的に少ない<sup>1)</sup>。

筆者らは、ビールの老化臭である(2E)-ノネナールの生成経路を解析する中で、イネとオオムギの9-/13-HPLを解析し、3つの遺伝子*OsHPL1*、*OsHPL2*、*HvHPL2*を同定した<sup>82, 83)</sup>。我々が解析する前までは、単子葉植物において9-ヒドロペルオキシドを分解するHPLは見つかっておらず、酵素活性が存在するかどうか不明であった。その中で、*OsHPL1*、*OsHPL2*が同定できた理由として、イネの全ゲノム情報が利用できたことが大きかった。双子葉植物のHPLとの配列の相同性を利用して候補遺伝子を探索し、AOSだと解釈されていたcDNAを*in vitro*の条件でタンパク質

を発現させて、リノール酸と反応させた生成物を解析することにより、遺伝子の機能を同定することができた。このような方法で、PXGや他の脂質酸化酵素遺伝子の同定も進んでいくと考えられる。今後も、色々な作物のゲノムが解読されると予想されるが、作物のゲノム情報から脂質酸化酵素遺伝子が探索され、食品の品質との関連性が解析されていくことを期待する。

#### 脂質を基質とする脂質酸化酵素について

現在、植物性食品の酵素的な脂質酸化は、脂質がリパーゼにより分解され、遊離脂肪酸が酸化して、脂質酸化物が生成される経路が中心として論じられている(図2)。一方、脂質を基質とするLOX<sup>84)</sup>と脂質ヒドロペルオキシドを基質とするHPLが存在する<sup>12)</sup>。食品の脂質酸化におけるこれらの酵素の寄与については、ほとんど分かっていない。

また、植物の油糧種子や果実の細胞には、リピッドボディ(オイルボディとも呼ばれる)という構造体があり、外側がオレオシン、カレオシン、リン脂質、内側がトリアシルグリセロールで構成されている。種子の発芽の際にこの構造体が消失することから、この過程で発芽に必要なエネルギーを供給していると考えられている<sup>85)</sup>。植物性食品に含まれるリピッドボティが食品の保存や加工中にどのように変化していくかはとても興味深く、今後の研究の進展が待たれる。

#### 植物性食品の嗜好性と脂質酸化物

これまで述べたように、アルデヒド類・アルコール類・ヒドロキシ脂肪酸は、特有の香味を持ち、植物性食品の香味に大きな影響を与えている。ただ、前述したLOX欠失ダイズで作製した豆乳の嗜好性のように、嗜好性が食習慣や人種で大きく異なる例が見られる。従って、人によってオフフレーバーとを感じるものが、おいしいと感じる場合も多々あると考えられる。おいしさの個人差と、なぜ個人差が生まれるかは大変興味深く、今後の研究が期待される。

また、トマト・キュウリ・ダイズ食品など、酵素系の研究が進んでいる植物性食品と、全く調べられていない植物性食品がある。例えば、レタスはサラダに多く利用されるが、レタスを食べると

き、レタスを噛むことにより組織が壊れて脂質酸化酵素反応が起きるのだろうか?アルデヒド類・アルコール類が生成して、おいしさに影響を与えているのだろうか?例えば、ビニールでパックされたサラダなどは、保存条件により脂質酸化酵素の活性が変化して、パッケージの素材により、アルデヒド類・アルコール類の生成が変化し、おいしさに変化は起きるのであるだろうか?アルデヒド類・アルコール類・ヒドロキシ脂肪酸は、野菜嫌いなどと関係していないだろうか?脂質酸化物の含量をコントロールすることにより植物性食品の嗜好性を改善して、食習慣の改善につなげることは可能であろうか?たくさんの疑問があり、食品学の研究テーマとして、興味が尽きない。

#### 4-2 LOX欠失品種の有効利用

##### これまでの育種と、これからの育種

前述したようにダイズとオオムギでは、LOXを欠失する実用品種が育成され、食品産業に利用されている。これまでの品種の育成方法は、酵素活性をスクリーニングしてLOX欠失品種や変異体を見つける方法が主流であった<sup>86)</sup>。2020年にノーベル化学賞を授与されたジェニファー・ダウドナとエマニュエル・シャルパンティエにより開発されたCRISPR/Cas9は<sup>87)</sup>、ゲノム解読技術の革新とゲノム解析の低コスト化とあいまって、手軽な技術となりつつあり、今後の作物の育種の方法を大きく変える可能性がある。遺伝子編集された食品を一般消費者が選択し普及するかは別の問題があるが、今後、他の作物でも遺伝子編集技術を利用した品種が開発されると予想される。ゲノム編集技術が成熟し、パブリックアクセプタンスが進めば、HPL・PXGなどの脂質酸化酵素を欠失させた作物の育種も進むであろう。最近、グルタミン酸脱炭酸酵素遺伝子を改変したトマトが開発され、厚生労働省の専門家会議にて安全性が認められ、開発した企業から販売・流通の届出が厚生労働省に提出された<sup>88)</sup>。市場に流通するまでには時間がかかると思われるが、遺伝子編集作物が食卓に並ぶ日もそう遠く無いと予想される。作物のゲノム解析や、遺伝子編集技術に関しても、家政・栄養学の食品学などのテキストで十分解説す

る必要があるだろう。

### LOX 欠失品種のおいしさ以外の価値：栄養と安全性の観点

LOX 欠失品種は LOX がいないことによりオフフレーバーが低減されて嗜好性が高まるが、栄養学的にどのような変化が起こるかは、あまり調べられていない。動物実験では、ラットにおける亜鉛と鉄の利用性や<sup>89)</sup>、ラットにおけるカルシウムの利用性<sup>90)</sup>について報告があるが、どちらも LOX 欠失品種と普通品種の差異は見られていない。

古い食品学のテキストを見ると、LOX が不飽和脂肪酸を酸化するので、脂質の栄養的価値が損失するという記述が見られる。筆者は、これに疑問を持ち、まず文献検索によりこの事実があるかどうかを調べたが、直接的なデータを見つけることができなかった<sup>2)</sup>。そこで、市販されている LOX 欠失ダイズ（品種：すずさやか）と普通大豆（品種：とよまさり）を市場から購入し、豆乳と煮大豆を作製して、C<sub>18</sub> 脂肪酸（ステアリン酸・オレイン酸・リノール酸・リノレン酸）の含量を調べた<sup>91, 92)</sup>。その結果、LOX の基質となるリノール酸・リノレン酸は、両品種の豆乳で有意な差が見られなかった<sup>91)</sup>。煮大豆においてもリノール酸の含量について有意な差は無く、リノレン酸の含量は LOX レス品種の方が少し多かったが 1 割程度の差であり、栄養学的な損失を考えるほどでは無かった<sup>92)</sup>。従って、少なくともこれらの品種間では、LOX の作用による栄養価の損失を考える必要はないと考えられる。

LOX 欠失品種では、脂質酸化物の生成が抑制されるが、毒性を有する脂質酸化物が低減される効果はあるだろうか？脂質酸化の結果生じる化合物の中で最も毒性の高い物質の一つとして、4-ヒドロキシ-2-ノネナール（4HNE）が知られている。この化合物の LD<sub>50</sub> は、35mg/kg（ラット）、69mg/kg（マウス）であり（PubChem）、様々な疾患に関与すると考えられている<sup>93)</sup>。4HNE は、生体の酸化ストレス・老化のバイオマーカーとして利用されているが<sup>94)</sup>、食品の酸化劣化のマーカーにもなりうる。新鮮な食用油には、4HNE がほとんど含まれていないが、180℃ 60 分間の加熱で 3-15 mg/kg 生成すると報告されている<sup>95)</sup>。ダ

イズ LOX-1 は、(3Z)-ノネナールを酸化して、4S-ヒドロペルオキシ-(2E)-ノネナールを生成し、4S-ヒドロペルオキシ-(2E)-ノネナールは、PXG により 4HNE に変換される<sup>96)</sup>。ヒトにおいて、4HNE を摂取した時の毒性や変異原性はよくわかっていないし、また食用油以外のダイズ食品における 4HNE 含量は不明であるが、LOX 欠失品種は、LOX を有する普通品種に比べて 4HNE 含量が少ない可能性があり、研究の余地を残している。

また、LOX 欠失品種は、香り成分が普通品種に比べて相対的に低くなるが、ヒトの生理機能にどのような影響を与えるであろうか？米国での調査では、(2E)-ヘキセナールの一人当たり毎日の平均摂取量は、2,390 μg/person per day と報告されている<sup>97)</sup>。LOX 欠失ダイズ食品を利用すると、アルコールやアルデヒド類の摂取が少なくなることが予想されるが、ヒトの生理機能にどのような影響を与えるか興味深い。

### LOX 欠失品種の開発における日本の貢献

これまで、ダイズ・オオムギ・コメにおいて LOX 欠失品種が探索され、ダイズ・オオムギについては、実用品種が育成されている。これらの研究と開発において、日本の研究グループは中心的役割を果たしてきた。家政・栄養学系のテキストを調べたところ、一部の食品学のテキストに、LOX 欠失ダイズのストーリーが紹介されていたが<sup>2)</sup>、調査した限りオオムギとコメについては記述がなかった。育成された LOX 欠失品種の有効利用のためにも、ぜひ家政・栄養学系のテキストにおいて啓蒙を進めて欲しいと期待する。

### **利益相反**

本論文に関して、開示すべき利益相反関連事項はない。

### **参考文献**

- 1) 黒田久夫、三木香奈、小高早央里「食品の脂質酸化をテーマとした主要穀類のゲノム情報と文献情報のシステムティックレビュー」『2017 年度生命科学系学会合同年次大会第 40 回日本分子生物学会年会第 90 回日本生化学会大会プログラム』p.518 3P-1305



- (2017)
- 2) 黒田久夫「家政・栄養学系テキストにおける脂質酸化及び脂質酸化酵素に関する情報の調査」『日本家政学会第71回大会研究発表要旨集』p.133 (2019)
  - 3) 内山充『過酸化脂質と生体』学会出版センター(1985)
  - 4) German, J.B. "Food processing and lipid oxidation" in Impact of Processing on Food Safety, edited by Jackson et al., Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, p.23-50 (1999)
  - 5) Siedow, J.N. Plant lipoxygenase: Structure and function. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 42: 145-188 (1991)
  - 6) Feussner, I and Wasternack, C. The lipoxygenase pathway. Annu. Rev. Plant Biol. 53: 275-97 (2002)
  - 7) Hoseney, H.R., Faubion, J. and Sidhu, J.S. Mixograph studies. IV. The mechanism by which lipoxygenase increases mixing tolerance. Cereal Chem., 57: 163-166 (1980)
  - 8) 安部智子「食品加工におけるリポキシゲナーゼの活用」生物工学 96: 710 (2018)
  - 9) Borrelli, G.M. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. Cereal Chem., 76: 335-340 (1999)
  - 10) Baysal, T. and Demirdöven, A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. Enzyme and Microbial Technology 40: 491-496 (2007)
  - 11) Blee, E. Phytooxylipins and plant defense reactions. Prog. Lipid Res., 37: 33-72 (1998)
  - 12) Nakashima, A., Reuss, S. H., Tasaka, H., Boland, W., Takabayashi, J. and Matsui, K. Traumatins and dinortraumatins-containing galactolipids in Arabidopsis: their formation in tissue-disrupted leaves as counterparts of green leaf volatiles. J. Biol. Chem., 288: 26078-26088 (2013)
  - 13) Qian X., Xu, X.-Q., Yu, K.-J., Zhu, B.-Q., Lan, Y.-B. Duan, C.-Q. and Pan, Q.-H. Varietal dependence of GLVs accumulation and LOX-HPL pathway gene expression in four *Vitis vinifera* wine grapes. Int. J. Mol. Sci., 23: 1924 (2016)
  - 14) Chakraborty, S., Srinivasa R.P. and Mishra, H.N. High-pressure inactivation of enzymes: A review on its recent applications on fruit purees and juices. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 13: 578-596 (2014)
  - 15) Matsui, K. Ishii, M., Sasaki, M., Rabinowitch, H. D. and Ben-Oliel, G. Identification of an allele attributable to formation of cucumber-like flavor in wild tomato species (*Solanum pennellii*) that was inactivated during domestication. J. Agric. Food Chem., 55: 4080-4086 (2007)
  - 16) Salas, J.J. and Sánchez, J. The decrease of virgin olive oil flavor produced by high malaxation temperature is due to inactivation of hydroperoxide lyase. J. Agric. Food Chem., 47: 809-812 (1999)
  - 17) Chen, S. Zhang, R., Hao, L., Chen, W. and Cheng, S. Profiling of volatile compounds and associated gene expression and enzyme activity during fruit development in two cucumber cultivars. PLoS One 10: e0119444 (2015)
  - 18) Nielsen, G. S. Melchior Larsen, L. and Poll, L. Formation of aroma compounds during long-term frozen storage of unblanched leek (*Allium ampeloprasum* var. *Bulga*) as affected by packaging atmosphere and slice thickness. J. Agric. Food Chem., 52: 1234-1240 (2004)
  - 19) Kuroda, H., Furusho, S., Maeba, H. and Takashio, M. Characterization of factors involved in the production of 2 (*E*)-nonenal during mashing. Biosci. Biotechnol. Biochem., 67: 691-697 (2003)
  - 20) Kuroda, H. Kojima, H., Kaneda, H. and Takashio, M. Characterization of 9-fatty acid hydroperoxide lyase-like activity in germinating barley seeds that transforms 9 (*S*)-hydroperoxy-10 (*E*), 12 (*Z*)-octadecadienoic acid into 2 (*E*)-nonenal. Biosci. Biotechnol. Biochem., 69: 1661-1666 (2005)
  - 21) 松井健二「植物生理活性短鎖アルデヒド生合成系の生理・生化学的研究」日本農芸化学会誌 74: 1319-1328 (2000)
  - 22) Shiojiri, K. Kishimoto, K., Ozawa, R., Kugimiya, S., Urashimo, S., Arimura, G., Horiuchi, J., Nishioka, T., Matsui, K. and Takabayashi, J. Changing leaf volatile biosynthesis in plants: an approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 16672-16676 (2006)

- 23) 松井健二、望月智史「植物が香り化合物を出す仕組み、吸う仕組み」化学と生物 56: 95-103 (2018)
- 24) Kunishima, M Yamauchi, Y., Mizutani, M., Kuse, M., Takikawa, H. and Sugimoto, Y. Identification of (*Z*)-3: (*E*)-2- hexenal isomerases essential to the production of the leaf aldehyde in plants. *J. Biol. Chem.*, 291:14023-14033 (2016)
- 25) Yukawa, N., Takahashi, Y., Fujimura, T., Fujino, S., Hasegawa, K., Takamura, H. and Matoba, T. Alcohol formation from aldehydes by endogenous alcohol dehydrogenase in soybean extracts. *J. Home Econ. Jpn.*, 43:193-198 (1992)
- 26) Ishimaru, A. and Yamazaki, I. Hydroperoxide-dependent hydroxylation involving "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-reducible hemoprotein" in microsomes of pea seeds. A new type enzyme acting on hydroperoxide and a physiological role of seed lipoxygenase. *J Biol. Chem.*, 252: 6118-6124 (1977)
- 27) Hanano, A., Burcklen, M., Flenet, M., Ivancich, A., Louwagie, M., Garin, J., Blée, E. Plant seed peroxygenase is an original heme-oxygenase with an EF-hand calcium binding motif. *J Biol. Chem.*, 281: 33140-33151 (2006)
- 28) Meesapyodsuk, D. and Qiu, X. A peroxygenase pathway involved in the biosynthesis of epoxy fatty acids in oat. *Plant Physiol.*, 157: 454-463 (2011)
- 29) Yang, Z., Piironen, V. and Lampi, A.M. Lipid-modifying enzymes in oat and faba bean. *Food Res. Int.*, 100: 335-343 (2017)
- 30) Kuroda, H., Kobayashi, N., Kaneda, H., Watari, J. and Takashio, M. Characterization of factors that transform linoleic acid into di- and trihydroxy-octadecenoic acids in mash. *J. Biosci. Bioeng.*, 93: 73-7 (2002)
- 31) Hamberg, M and Gardner, H. W. Oxylipin pathway to jasmonates: biochemistry and biological significance. *Biochim. Biophys. Acta* 1165: 1-18 (1992)
- 32) Itoh, A. and Howe, G. A. Molecular cloning of a divinyl ether synthase. *J. Biol. Chem.*, 276: 3620-3627 (2001)
- 33) Fammartino, A. Cardinale, F., Göbel, C., Mène-Saffrané, L., Fournier, J., Feussner, I., Esquerré-Tugayé, M.T. Characterization of a divinyl ether biosynthetic pathway specifically associated with pathogenesis in tobacco. *Plant Physiol.*, 143: 378-388 (2007)
- 34) 畑中顯和『みどりの香り—植物の偉大なる知恵』丸善株式会社 (2005)
- 35) 永田好男、竹内教文「三点比較式臭袋法による臭気物質の閾値測結果」日本環境衛生センター所報論文集 17: 77-89 (1990)
- 36) Hatanaka, A. The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34: 1201-1218 (1993)
- 37) Kreissl, J. and Peter Schieberle, P. Characterization of Aroma-Active Compounds in Italian Tomatoes with Emphasis on New Odorants. *J. Agric. Food Chem.*, 65: 5198-5208 (2017)
- 38) Kirchhoff, E. and Schieberle, P. Determination of key aroma compounds in the crumb of a three-stage sourdough rye bread by stable isotope dilution assays and sensory studies. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 4304-4311 (2001)
- 39) Maugh II, T.H. To attract or repel, that is the question. *Science* 218: 278 (1982)
- 40) Haze, S., Gozu, Y., Nakamura, S., Kohno, Y., Sawano, K., Ohta, H. and Yamazaki, K. 2-Nonenal newly found in human body odor tends to increase with aging. *J. Invest. Dermatol.*, 116: 520-524 (2001)
- 41) Mustafa, A. M. Angeloni, S., Nzekoue, F.K., Abouelenein, D., Sagratini, G. Caprioli, G. and Torregiani, E. An overview on truffle aroma and main volatile compounds. *Molecules* 25: 5948 (2020)
- 42) Akakabe, Y., Matsui, K. and Kajiwarra, T. Stereochemical correlation between 10-hydroperoxyoctadecadienoic acid and 1-octen-3-ol in *Lentinula edodes* and *Tricholoma matsutake* mushrooms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69: 1539-1544 (2005)
- 43) 福田央、韓錦順、山田修「市販泡盛の揮発性成分組成の特性」日本醸造協会誌 111:261-270 (2016)
- 44) 福田央、韓錦順「泡盛中の1-オクテン-3-オール由来と蒸留の挙動」日本醸造協会誌 111: 750-757 (2016)

- 45) 早瀬文孝、渡辺寛人「つゆの香気成分とコク寄与成分」日本醸造協会誌 109: 161-167 (2014)
- 46) 章超樺、平野敏行、鈴木健、白井隆明「アユ組織における特有な揮発性成分の酵素的生成」日本水産学会誌 58: 559-565 (1992)
- 47) Baur, C. Grosch, W., Wieser, H. and Jugel, H. Enzymatic oxydation of linoleic acid: formation of bitter tasting fatty acids. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 164: 171-176 (1977)
- 48) 藪内精三「ビールの脂質成分と品質」日本醸造協会誌 75: 273-276 (1980)
- 49) Kaneda, H. Takashio, M., Shinotsuka, K. and Okahata, Y. Adsorption to or desorption of beer components from a lipid membrane related to sensory evaluation. *J. Biosci. Bioeng.*, 92: 221-226 (2001)
- 50) Bin, Q and Peterson, D. G. Identification of bitter compounds in whole wheat bread crumb. *Food Chem.*, 203: 8-15 (2016)
- 51) Lainer, J. Characterization of Bitter-Tasting Oxylipins in Poppy Seeds (*Papaver somniferum L.*) *J. Agric. Food Chem.*, 68: 10361-10373 (2020)
- 52) Orekhov, A. N. and Panossian, A. G. Trihydroxyoctadecadienoic acids exhibit anti-atherosclerotic and antiatherogenic activity. *Phytomedicine* 1: 123-126 (1994)
- 53) Nagai, T., Kiyohara, H., Munakata, K., Shirahata, T., Sunazuka, T., Harigaya, Y. and Yamada, H. Pinellic acid from the tuber of *Pinellia ternata* Breitenbach as an effective oral adjuvant for nasal influenza vaccine. *Int. Immunopharmacol.*, 2: 1183-1193 (2002)
- 54) Nagai, T., Shimizu, Y., Shirahata, T., Sunazuka, T., Kiyohara, H., Omura, S. and Yamada, H. Anti-allergic activity of a Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to (Xiao-Qing- Long-Tang)" on airway inflammation in a mouse model. *Int. Immunopharmacol.*, 4: 1353-65 (2004)
- 55) Nagai, T., Shimizu, Y., Shirahata, T., Sunazuka, T., Kiyohara, H., Omura, S. and Yamada, H. Oral adjuvant activity for nasal influenza vaccines caused by combination of two trihydroxy fatty acid stereoisomers from the tuber of *Pinellia ternata*. *Int. Immunopharmacol.*, 10: 655-661 (2010)
- 56) Kumazawa, K. and Masuda, H. Identification of potent odorants in Japanese green tea (Sen-cha). *J. Agric. Food Chem.*, 47:5169-5172 (1999)
- 57) 喜多村啓介、菊池彰夫「青臭みのない大豆の育種」日本醸造協会誌 82: 76-79 (1987)
- 58) 古田収、羽鹿牧太「リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の育成とその加工利用について」日本醸造協会誌 92: 573-578 (1997)
- 59) Hajika, M., Kitamura, K., Igita, K. and Nakazawa, Y. Genetic relationships among the genes for lipoxygenase-1, -2 and -3 isozymes in soybean [*Glycine max* (L.) MERRILL] seed. *Japan J. Breed.*, 42: 787-792 (1992)
- 60) 境哲文、菊池彰夫、高田吉丈、河野雄飛、国司 功、手塚正教、浅尾弘明、島田信二「リポキシゲナーゼ全欠失・サポニン組成改良ダイズ系統「東北151号」「東北152号」の特性 東北農業研究 55: 59-60 (2002)
- 61) Yuan, S. and Chang S. K. Selected odor compounds in soymilk as affected by chemical composition and lipoxygenases in five soybean materials. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 426-431 (2007)
- 62) 大村芳正、武知博憲「豆乳のフレーバーに及ぼす温水処理の影響」日本食品工業学会誌 37:278-280 (1990)
- 63) 島田和子、野村寛美、原由美、藤本房江、喜多村啓介「豆腐の食味に及ぼす大豆リポキシゲナーゼの影響」日本食品科学工学会誌 45: 122-128 (1998)
- 64) Yang, A., Smyth, H., Chaliha, M., and James, A. Sensory quality of soymilk and tofu from soybeans lacking lipoxygenases. *Food Sci. Nutr.*, 4: 207-215 (2015)
- 65) 高村仁知「食品中の脂質の酸化生成物による風味変化」オレオサイエンス 7: 231-235 (2007)
- 66) Yukawa, N., Takamura, H., Kitamura, K. and Matosa, T. Proportion of hexanal to total carbonyl compounds in soybean extracts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59: 723-724 (1995)
- 67) Bamforth, C.W. Enzymatic and non-enzymatic oxidation in the brewhouse: a theoretical consideration. *J. Inst. Brew.*, 105: 237-242 (1999)

- 68) Drost, B.W., Van den Berg, R., Freijee, F.J.M., Van der Velde, E.G. and Hollemans, M. Flavor stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 48: 124-131 (1990)
- 69) Kobayashi, N., Kaneda, H., Kuroda, H., Watari, J., Kurihara, T. and Shinotsuka, K. Behavior of mono-, di-, and trihydroxyoctadecenoic acids during mashing and methods of controlling their production. *J. Biosci. Bioeng.*, 90: 69-73 (2000)
- 70) Yang, G. and Shwarz, P. B. Activity of lipoxygenase isoenzymes during malting and mashing. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 53: 45-49 (1995)
- 71) Hirota, N., Kuroda, H., Takoi, K., Kaneko, T., Kaneda, H., Yoshida, I., Takashio, M., Ito, K. and Takeda, K. Brewing performance of malted lipoxygenase - 1 null barley and effect on the flavor stability of beer. *Cereal Chem.*, 83: 250-254 (2006)
- 72) Oozeki, M., Sotome, T., Haruyama, N., Yamaguchi, M., Watanabe, H., Okiyama, T., Kato, T., Takayama, T., Oyama, M., Nagamine, T., Suzuki, Y., Toyoshima, T., Sekiwa, T., Oono, K., Saito, T., Usui, M., Arai, S., Kumekawa, T., Suzuki, E., Shirama, K., Kihara, M., Hoki, T., Matsubara, H. and Ryo Ohsawa, R. The two-row malting barley cultivar 'New Sachiho Golden' with null lipoxygenase-1 improves flavor stability in beer and was developed by marker- assisted selection. *Breed. Sci.*, 67: 165-171 (2017)
- 73) 安井哲二「ビールのカードボード臭について」日本醸造協会誌 96: 94-99 (2001)
- 74) 蛸井潔「ビールをはじめとする酒類の香り研究について - 近年の成果とトレンド -」日本醸造協会誌 110: 479-488 (2015)
- 75) 鈴木保宏「古米臭の少ないイネ品種を選抜する DNA マーカーの開発 - 常温貯蔵性が優れる品種の作出に向けて」におい・かおり環境学会誌年 42: 265-275 (2011)
- 76) Suzuki, Y., Yasui, T., Matsukura, U. and Terao, J. Oxidative stability of bran lipids from rice variety [*Oryza sativa* (L.) ] lacking lipoxygenase-3 in seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 3479-3483 (1996)
- 77) Suzuki, Y., Ise, K., Li, C., Honda, I., Iwai, Y. and Matsukura, U. Volatile components in stored rice [*Oryza sativa* (L.) ] of varieties with and without lipoxygenase-3 in seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1119-24 (1999)
- 78) Lam, H. S. and Proctor, A. Milled rice oxidation volatiles and odor development. *Food Sci.*, 68: 2676-2681 (2003)
- 79) Ohta, H., Shida, K., Peng, Y.L., Furusawa, I., Shishiyama, J., Aibara, S. and Morita, Y. The occurrence of lipid hydroperoxide-decomposing activities in rice and the relationship of such activities to the formation of antifungal substances. *Plant Cell Physiol.*, 31: 1117-1122 (1990)
- 80) Kobayashi, N., Kaneda, H., Kuroda, H., Kobayashi, M., Kurihara, T., Watari, J. and Shinotsuka, K. Simultaneous determination of mono-, di-, and trihydroxyoctadecenoic acids in beer and wort. *J. Inst. Brew.* 106: 107-110 (2000)
- 81) Yuan, Z.X., Majchrzak-Hong, S., Keyes, G.S., Iadarola, M.J., Mannes, A.J., Christopher, E. and Ramsden, C.E. Lipidomic profiling of targeted oxylipins with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 410: 6009-6029 (2018)
- 82) Kuroda, H., Oshima, T., Kaneda, H. and Takashio, M. Identification and functional analyses of two cDNAs that encode fatty acid 9-/13-hydroperoxide lyase (CYP74C) in rice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 1545-54 (2005)
- 83) 黒田久夫「ビール老化に関与するオオムギの脂質酸化酵素の研究」日本植物生理学会年会およびシンポジウム講演要旨集 S011-S011 (2006)
- 84) Holtman, W.L., Vredenburg-Heistek, J.C., Schmitt, N.F. and Feussner, I. Lipoxygenase-2 oxygenates storage lipids in embryos of germinating barley. *Eur. J. Biochem.* 248: 452-458 (1997)
- 85) 神坂泰「植物、微生物における脂質の蓄積と細胞内代謝過程」化学と生物 40: 22-28 (2002)
- 86) 黒田久夫「穀類中のリポキシゲナーゼ活性の測定方法」特許第3715839号 登録日平成17年9月2日(2005) <https://www.j-platpat.inpit.go.jp/p0200>
- 87) 遠藤亮, 賀屋秀隆, 土岐精一「CRISPR/Cas9によ



- るゲノム編集技術の進展と作物への応用 発展し続ける CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集技術」化学と生物 56: 759-768 (2018)
- 88) 農林水産省消費者・安全局農産安全管理課「ゲノム編集技術の利用に得られた生物の使用等に係る確認結果 GABA 高蓄積トマト ( # 87-17)」令和 2 年 12 月 (2020)  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/attach/pdf/nbt\\_tetuzuki-4.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/tetuduki/attach/pdf/nbt_tetuzuki-4.pdf)
- 89) Martino, H.S., Martin, B.R., Weaver, C.M., Bressan, J., Esteves, E.A. and Costa, N.M. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. *J. Food Sci.* 72: S689-95. (2007)
- 90) Martino, H.S., Martin, B.R., Weaver, C.M., Bressan, J., Moreira, M.A. and Costa, N.M. A soybean cultivar lacking lipoxygenase 2 and 3 has similar calcium bioavailability to a commercial variety despite higher calcium absorption inhibitors. *J. Food Sci.* 73: H33-5 (2008)
- 91) 黒田久夫「大豆の加工時におけるリポキシゲナーゼの脂肪酸含量への影響」『日本家政学会第 72 回大会研究発表要旨集』p.124 (2020)
- 92) 黒田久夫「リポキシゲナーゼ欠失大豆の栄養的価値に関する研究 (I) - 煮大豆の脂肪酸と一般成分の分析」『日本家政学会第 73 回大会研究発表要旨集』p.114 (2021)
- 93) Shoeb, M., Ansari, N.H., Srivastava, S.K. and Ramana, K.V. 4-Hydroxynonenal in the pathogenesis and progression of human diseases *Curr. Med. Chem.* 21: 230-237 (2014)
- 94) 大澤俊彦「食品機能評価におけるバイオマーカーの重要性」*日薬理誌* 132: 140 ~ 144 (2008)
- 95) 箭田浩士, 亀山真由美「食用油の加熱によって生じる有害アルデヒド 4-hydroxy-2E-nonenal およびその類縁化合物 4-hydroxy-2E-hexenal の定量分析」*独食総研報* 76: 51-57 (2012)
- 96) Gardner, H.W. and Grove, M.J. Soybean lipoxygenase-1 oxidizes 3Z-nonenal. A route to 4S-hydroperoxy-2E-nonenal and related products. *Plant Physiol.* 116: 1359-1366 (1998)
- 97) Adams, T.B., Lucas Gavin, C., T aylora, S.V., Waddellb, W.J., Cohen, S.M., Feron, V.J., Goodman, J., Rietjens, I.M.C.M., Marnett, L.J., Portoghese, P.S. and Smith, R.L. The FEMA GRAS assessment of  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated aldehydes and related substances used as flavor ingredients. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2935-2967 (2008)
- 
- (受付 2021.3.25 受理 2021.6.24)