

## ニンニク加工品の品質評価(1)

誌名	研究報告
ISSN	13465236
著者名	大島,久華 松岡,博美 久保,和子 浅井,貴子 松原,梓 藤川,護
発行元	香川県産業技術センター
巻/号	19号
掲載ページ	p. 57-60
発行年月	2019年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# ニンニク加工品の品質評価（第1報）

## —メタボローム解析による品種および製造方法の異なる黒ニンニクの成分的特徴の解明—

大島 久華, 松岡 博美, 久保 和子, 浅井 貴子, 松原 梓, 藤川 護\*

品種および製造方法の異なる黒ニンニクの成分的特徴を解明することを目的とし、3品種（太倉、嘉定、福地ホワイト）および3製造方法（無加水、加水、活性炭入り）の黒ニンニクを試作し、その水溶性化合物に対してガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）にて分析し、メタボローム解析を行った。その結果、嘉定および太倉を原料とした黒ニンニクは、福地ホワイトと比較して、アミノ酸含量は少ないが、甘味が強く酸味が少ない傾向にあった。また、製造湿度の異なる無加水と加水タイプの比較では、無加水においてアミノ酸が多くなる傾向があったが、脱臭目的で用いる活性炭入りとなし（無加水）では差がないことが示唆された。

### 1 緒言

ニンニクは独特な香りや風味から、古来より世界各地で栽培され、香味野菜として常食されるとともに、その薬理作用から民間薬としても利用されてきた。

近年、ニンニクの抗菌作用<sup>1)</sup>をはじめ、血圧低下作用<sup>2)</sup>、コレステロール低下作用<sup>3)</sup>などの様々な健康機能的な報告されている。特にニンニクの温度と湿度を一定期間コントロールさせて製造される黒ニンニクは、甘酸っぱくフルーティーで食べやすい食味のほか、肝機能保護作用<sup>4)</sup>、抗酸化活性<sup>5)</sup>、抗がん作用<sup>6)</sup>などの健康機能面への期待から、広く食されつつある。

香川県は青森県に次いでニンニク出荷量が全国第2位であり、香川県産ニンニクを原料とした黒ニンニクも多く製造されている。香川県を始めとする関東以西では、暖地系ニンニクが栽培されており、寒地系ニンニクを原料とした黒ニンニクと味質が違っているとされている。また、黒ニンニクの製造方法は各社異なっており、ニンニク由来の水分のみを用いて製造される無加水タイプや水分を加えて蒸す加水タイプなどが挙げられる。一方、黒ニンニク製造現場において、加工中に発生するニンニク特有の臭いが問題になっており、活性炭を脱臭剤として用いる方法が検討されている。しかしながら、品種および製造方法が黒ニンニクの成分にどのような影響を与えるかの調査例は少ない。

そこで本研究では、品種および製造方法の異なる黒ニンニクの成分的特徴を解明することを目的とし、3品種（太倉、嘉定、福地ホワイト）および3製造方法（無加水、加水、活性炭入り）の黒ニンニクを試作し、その水溶性化合物をGC-MSで一斉分析し、メタボローム解析を行うことで味の特徴を形成している化合物を探索した。

### 2 実験方法

#### 2.1 分析材料および試薬

ニンニク鱗茎は、2018年8月に香川県農業試験場から提供されたもの（品種：太倉）、香川県農家から購入した

もの（品種：嘉定）、および青森県農家から購入したもの（品種：福地ホワイト）を用いた。

ニンニクに含まれる水溶性低分子化合物のオキシム化およびトリメチルシリル（TMS）化には、メトキシアミン・塩酸塩（シグマ-アルドリッチ製）、ピリジン（和光純薬製）、N-メチル-N-トリメチルシリルトリフルオロアセタミド（MSTFA）（GLサイエンス製）を用いた。

#### 2.2 黒ニンニクの試作

無加水タイプの黒ニンニクの試作は以下の通り行った。ニンニク鱗茎（太倉：n=4、嘉定：n=4、福地ホワイト：n=4）を、密閉パックに入れた後、温度72℃、湿度95%に設定した恒温恒湿器（IG401、ヤマト科学製）内に密閉パックごと置き、2週間加温した。

加水タイプは、ニンニク鱗茎（嘉定：n=5）を温度72℃、湿度95%に設定した恒温恒湿器内にそのまま置き、2週間加温した。

活性炭入りタイプは、ニンニク鱗茎（嘉定：n=5）と活性炭吸着材NS3（長峰製作所製）1個を、密閉パックに入れた後、温度72℃、湿度95%に設定した恒温恒湿器に密閉パックごと置き、2週間加温した。

加温した鱗茎は、皮を剥きりん片とし、用事まで-35℃で貯蔵した。

#### 2.3 分析試料の調整

分析試料の調製はPongsuwan<sup>7)</sup>らの方法を参考にして、以下のように行った。

生ニンニクは、りん片を約1.5 mmにスライスしたものを直ちに凍結乾燥後、1鱗茎から得られた全りん片を1試料として集約し、フードミルで粉碎した。黒ニンニクは、凍結保存していた試料を解凍し、1鱗茎から得られた全りん片を1試料として集約し、すり鉢ですり潰した。

調製した試料15 mgを2.0 ml容マイクロ遠心チューブに採取し、直径3 mmのジルコニアビーズ1個を入れ液体窒素で凍結後、凍結粉碎機（ビーズクラッシャー μT-12、タイテック製）で破碎した。破碎試料にメタノール-クロロホルム-超純水（5：2：2）1000 μlと0.2 mg/mlリビートル水溶液（内部標準物質）60 μlを加え、37℃、1,200 rpm、30分間加温振とうし、ニンニク中の成分を抽出した。次

\* 香川県産業技術センター発酵食品研究所

に、4℃、1,300 rpm、10分間遠心分離後、上清900 μlを、1.5 ml用マイクロ遠心チューブに回収した。この上清に400 μlの超純水を加え、4℃、1,300 rpm、10分間遠心分離した。生ニンニク抽出液においては、上清（メタノール-超純水相）400 μlを、黒ニンニク抽出液においては、上清800 μlを1.5 μl容マイクロ遠心チューブに採取し、遠心濃縮器（CVE-100D、東京理科器械製）でメタノールを留去後、マイクロ遠心チューブ中に残留した水溶液を-80℃で凍結させ、真空凍結乾燥した。

## 2. 4 GC-MS および HPLC による分析およびメタボローム解析

上記の方法により抽出した水溶性低分子化合物は、大西ら<sup>8)</sup>の方法に従い、TMS化してGC-MS（GCMS-QP2010、島津製作所製）による分析に供し、メタボローム解析を行った。

なお、GC-MS分析において、ニンニク中のフルクトース含量が高く同定できなかったため、フルクトースはKS-801カラム（昭和電工製）を備えたHPLC（島津製作所製）で分析した。得られたフルクトース含量をリビトール比で算出し、メタボローム解析に用いた。

## 3 結果と考察

### 3. 1 生ニンニクのメタボローム解析

生ニンニク3品種（太倉：n=3、嘉定：n=5、福知ホワイト：n=3）の水溶性低分子化合物について、メタボローム解析を行った結果、89成分が同定された。

同定された成分を主成分分析に供し、得られたスコアプロットを図1に示した。第1主成分および第2主成分で分散の約52%を説明でき、第1主成分の正側から負側に太倉、嘉定、福地ホワイトの順に分離された。このことから、暖地系（太倉および嘉定）と寒地系（福地ホワイト）では生ニンニクの成分組成が大きく異なることが明らかになった。

同じく、主成分分析における第1主成分のローディングプロットを図2に示し、内部標準物質リビトールのピークエリア面積との相対値が0.1以上のもの、かつ、ローディング値が-0.1以下および0.05以上のものの23成分を抽出した。第1主成分のローディングプロットは、スコアプロットにおける89成分の寄与度を表している。図1の第1主成分（横軸）において、暖地

系は正側、寒地系ニンニクは負側を示していることから、第1主成分のローディングプロットにおいて正の値の絶対値が大きい化合物（ピルビン酸、オキサロ酢酸、S-アリル-L-システイン、フェニルアラニンなど）が暖地系ニンニクに、負の値の絶対値が大きい化合物（アミノ酸、糖など）が寒地系に多く含まれているといえる。そのうち、血圧降下作用を有することが知られているγ-アミノ酪酸は、福地ホワイトと嘉定の間および福地ホワイトと太倉の間に有意差（T-検定、危険率5%）が認められた。

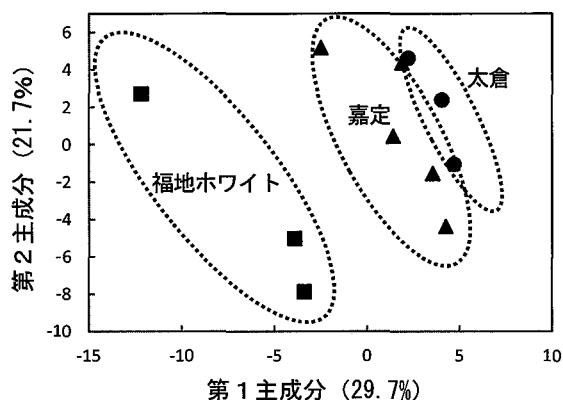


図1 生ニンニクの品種差における主成分分析（スコアプロット）

### 3. 2 品種の異なる黒ニンニクのメタボローム解析

黒ニンニク3品種（太倉：n=4、嘉定：n=4、福知ホワイト：n=4）の水溶性低分子化合物についてメタボローム解析を行った結果、108成分が同定された。

同定された成分を主成分分析に供し、得られたスコアプロットを図3に示した。第1主成分および第2主成分で分散の約48%を説明でき、第1主成分で寒地系（福地ホワイト）と暖地系（太倉および嘉定）を、第2主成分で太倉と嘉定を区別することができた。

同じく、主成分分析における第1主成分のローディングプロットを図4に示し、リビトールとの相対値が0.1以上のもの、かつ、ローディング値が-0.05以下および0.05以上のものの29成分を抽出した。図3の第1

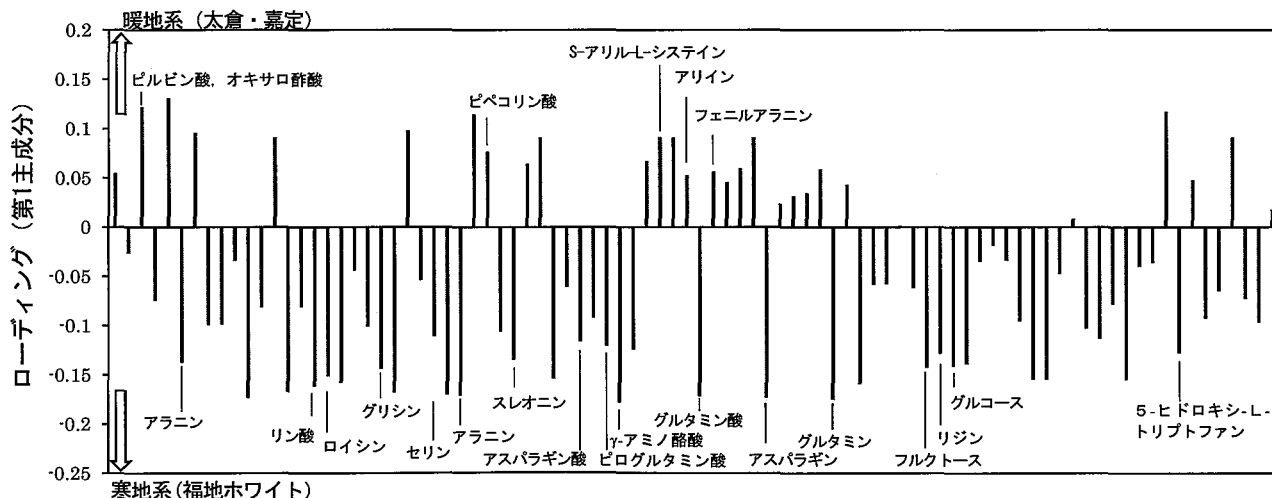


図2 生ニンニクの品種差における主成分分析（ローディングプロット）

主成分(横軸)において、寒地系は正側、暖地系黒ニンニクは負側を示していることから、第1主成分のローディングプロットにおいて正の値の絶対値が大きい化合物(アミノ酸、有機酸など)が寒地系に、負の値の絶対値が大きい化合物(ピルビン酸、オキサロ酢酸、フェニルアラニン、フルクトースなど)が暖地系に多く含まれているといえる。このことから、暖地系黒ニンニクは寒地系に比べて、アミノ酸含量は少ないが、甘味が強く酸味が少ない可能性があることが示唆された。そのうち、ロイシン、リンゴ酸、 $\gamma$ -アミノ酪酸、フェニルアラニンは、福地ホワイトと嘉定の間および福地ホワイトと太倉の間で有意差(T-検定, 危険率5%)が認められた。

生ニンニクにおいて、寒地系ニンニクではアミノ酸が多かったことから、黒ニンニクにおいても、寒地系でアミノ酸が多くなったと考えられた。一方、生ニンニクにおいて、寒地系に多く含まれていたフルクトースは、黒ニンニクでは暖地系に多く含まれていた。黒ニンニクは製造工程で、多糖類の分解によってフルクトースが増加することが知られている<sup>9)</sup>。そのため、黒ニンニク製造工程で暖地系ニンニクでは寒地系に比べて、よりフルクトースが増加したと考えられた。

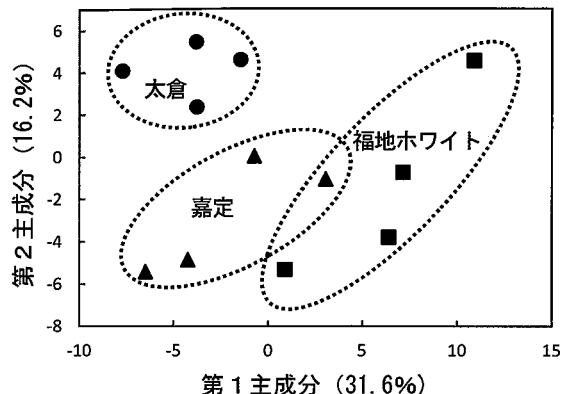


図3 黒ニンニクの品種差における主成分分析(スコアプロット)

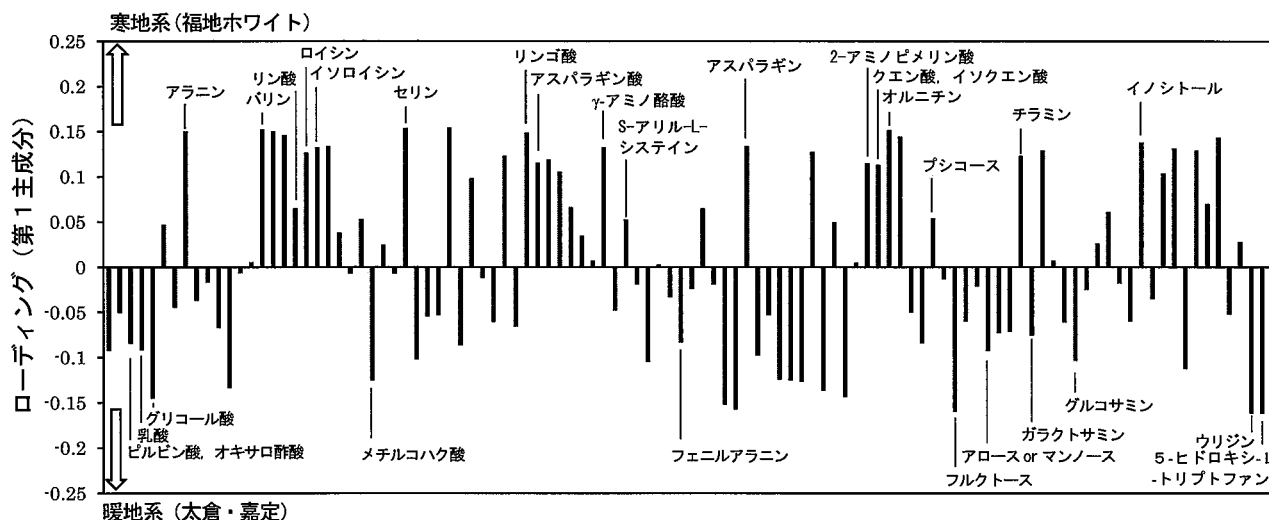


図4 黒ニンニクの品種差における主成分分析(ローディングプロット)

### 3.3 製造方法の異なる黒ニンニクのメタボローム解析

嘉定を原料とした黒ニンニクを3タイプ(無加水:n=4, 加水:n=5, 活性炭入り:n=5)で試作し、水溶性低分子化合物についてメタボローム解析を行った結果、104成分が同定された。

同定された成分を主成分分析に供し、得られたスコアプロットを図5に示した。第1主成分および第2主成分で分散の約37%を説明でき、第1主成分で加水と無加水および活性炭入りの2つのグループに分類することができた。

同じく、主成分分析における第1主成分のローディングプロットを図6に示し、リピトールとの相対値が0.1以上のもの、かつ、ローディング値が-0.1以下および0.1以上のもの17成分を抽出した。図5の第1主成分(横軸)において加水は正側、無加水および活性炭

は負側に分離されていることから、第1主成分のローディングプロットにおいて正の値の絶対値が大きい化合物(乳酸、シュウ酸、糖など)が加水に、負の値の絶対値が大きい化合物(アミノ酸など)が無加水および活性炭入りに多く含まれているといえる。そのうち、加水と無加水の間ではシュウ酸塩に、加水と活性炭の間では乳酸、シュウ酸塩、リブローズ、チロシンに有意差(T-検定, 危険率5%)が認められた。

以上のことから、無加水と加水タイプでは味の特長は異なるが、活性炭入りとなし(無加水)では差はないと示唆された。加水タイプが無加水タイプと特長が異なるのは、製造工程における湿度が起因して熱の伝わり方が異なるものと考えられた。

### 4 結言

本研究により、黒ニンニクの品種の違いにより生じる

各種化合物含量の差異が明らかとなった。暖地系ニンニク（太倉および嘉定）は、寒地系（福地ホワイト）と比較して、生ニンニク時からアミノ酸が少なく、黒ニンニクを製造した場合も、アミノ酸が少ない結果となった。また、酸味が少なく、甘味が強い傾向にあった。

また、製造湿度の異なる無加水と加水タイプの比較では、無加水においてアミノ酸が多くなる傾向があったが、脱臭目的で用いる活性炭入りとなし（無加水）では差はないことが示唆された。

今後、さらに研究を進めることにより、これら成分の生成機構や、官能的な評価を行い、総合的に味の特徴を解明していきたい。

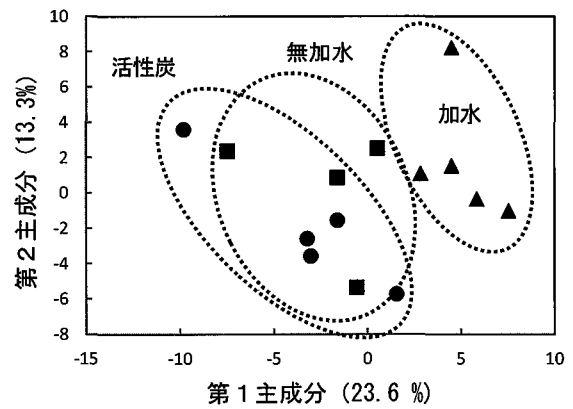


図5 黒ニンニクの製造差における主成分分析（スコアプロット）

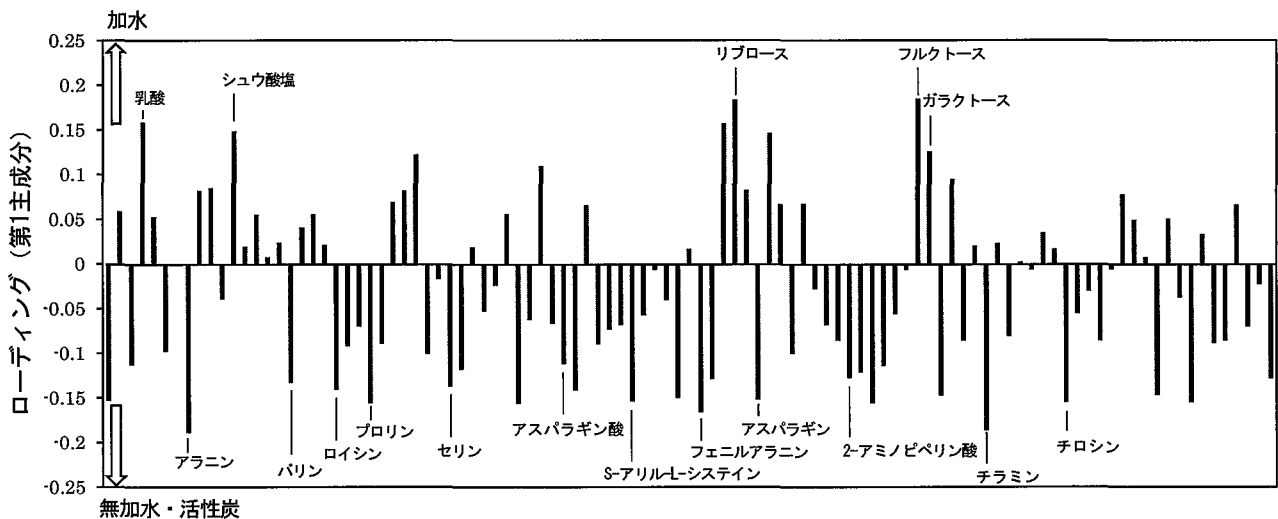


図6 黒ニンニクの製造差における主成分分析（ローディングプロット）

#### 参考文献

- 1) Jonkers D. *et al.* : Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **43**, 837-839 (1999).
- 2) Wang HP *et al.* : Effect of garlic on blood pressure: a meta-analysis, *J. Clin. Hypertens.*, **17**, 223-231 (2015).
- 3) Gorinstein S. *et al.* : Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats, *Life Sci.*, **78**, 655-663 (2006).
- 4) 河崎祐樹ら：黒ニンニク含有サプリメント摂取による肝機能保護作用, *日本栄養・食糧学会誌*, **70**, 109-115 (2017).
- 5) Kim J. *et al.* : A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts, *Int. J. Food Sci.*, **47**, 1176-1182 (2012).
- 6) Wang X. *et al.* : Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo, *Mol. Med. Rep.*, **5**, 66-72 (2012).
- 7) Pongsuwan W. *et al.* : Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting, *Agric. Food Chem.*, **55**, 231-236 (2007).
- 8) 大西茂彦ら：クルマエビ飼育用餌へのオリーブ搾油滓添加効果, *香川県産業技術センター平成26年度研究報告*, **15**, 70-72
- 9) Liang, T. *et al.* : Comprehensive NMR Analysis of Compositional Changes of Black Garlic during Thermal Processing, *J. Agric Food Chem.*, **63**, 683-691 (2015).