

平成17年度

# 試験研究成果概要

秋田県農林水産技術センター  
総合食品研究所

平成17年度

試験研究成果の概要

## 目 次

### 1. 平成17年度試験研究成果概要

#### (1) 県産農水産物の利用拡大に関する研究

県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

水産発酵食品の高品質化に関する研究

γ-アミノ酪酸強化発酵食品の高品質化に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4

ハタハタ加工廃棄物食品化技術の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6

食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析とその応用

発酵食品と農水産物の複合的利用による生理機能性の向上

フキノトウに含まれるラジカル捕捉活性を有する成分の化学構造・・・・・・・・・・ 8

フキノトウを利用した発酵食品の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10

高血圧予防因子の探索と機能解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12

高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14

香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 16

癌細胞転移抑制物質の探索と構造・特性解明・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18

#### (2) 食品及び酒類の品質高度化に関する研究

新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

コラゲナーゼ阻害活性を持つアルコール飲料の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20

アルドースレダクターゼ阻害活性を持つ果実酒の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22

特産野菜高付加価値加工技術の開発

漬物製造工程中の硝酸還元細菌の動向に基づく硝酸塩濃度制御・・・・・・・・・・ 24

漬物製造工程中の硝酸還元細菌の動向に基づく硝酸塩濃度制御（完了）・・・・・ 26

漬物製造における硝酸イオン濃度の低減化・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 28

漬物製造における硝酸イオン濃度の低減化（完了）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 30

秋田みその品質の高度化に関する研究

秋田みそ用醸造微生物の利用技術の開発と普及・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 32

北東北産穀類の製麴とその応用・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 34

県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

新形質米を活用した新たな米加工食品の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 36

新形質米を活用した新たな米加工品の開発と加工適性を向上させる栽培技術の解明・・ 38

米飯有効利用に関する研究－古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究・・・・・・・・ 40

生澱粉分解酵素利用・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 42

穀類粉を用いた新商品開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 44

穀類の活性酸素消去能を活用した製品と加工法の開発

大豆品種すずさやかの加工適性及び生理機能性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 46

小規模食品工場向け高度加工技術の開発

ジュール加熱技術開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 48

ジュール加熱技術開発（完了）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 50

米加工技術の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 52

(3) 微生物の利用技術に関する研究

白神由来乳酸菌を用いた機能性食品の開発 . . . . . 54

(4) 生物機能の解明と利用技術に関する研究

白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究

白神微生物の分離・選抜に関する基礎的研究 . . . . . 56

白神酵母の有効利用に関する研究 . . . . . 58

白神糸状菌及び耐熱性菌等の分離・同定と有効利用 . . . . . 60

放線菌等の分離・同定と有効活用に関する研究 . . . . . 61

微生物由来物質の探索と機能性評価法の研究 . . . . . 62

微生物由来物質の探索と機能性評価法の研究 . . . . . 64

(5) 食品の安全性と環境対策に関する研究

米加工副産物の有効利用に関する研究 . . . . . 66

植物性食品廃棄物からのゼロエミッションを目指した環境浄化技術の開発 . . . . . 68

植物性食品廃棄物からのゼロエミッションを目指した環境浄化技術の開発 (完了) . . . 70

(6) その他研究

消費者の求める食品の安全性と機能性をプラスした県産ブランド100%加工食品の開発 . 72

秋田比内地鶏の雄雛を利用した加工食品並びに製造技術の開発 . . . . . 72

県産農水産物の高付加価値化のための加工技術の開発とその応用 . . . . . 73

清酒酵母「原株6号酵母」からの泡無株の取得と醸造適性 . . . . . 74

凍結殺菌法を用いた「微発泡性にごり酒」の品質安定技術の確立と商品化 . . . . . 74

ブランデー製造について . . . . . 75

天然由来の化粧品成分の探索と高品質化粧品素材の開発 . . . . . 75

2. 平成18年度試験研究計画概要 . . . . . 76

## 単年度試験研究課題

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

水産発酵発酵食品の高品質化に関する研究

γ-アミノ酪酸強化発酵食品の製造技術開発に関する研究

担当部署：応用発酵部門、食品開発部門、酒類部門、生物機能部門

担当者名：塚本研一、佐々木康子、菅原真理、戸枝一喜、戸松誠、小笠原博信、樋渡一之、杉本勇人

協力分担：水産振興センター

予算区分：委託（独立行政法人食品総合研究所：食品の安全性および機能性に関する総合研究  
研究期間：中 2005年度（2004～2005年度）

### 1. 目的

近年、国産の農水産物やそれを原料とした加工品に対しての消費者の期待と需要は大きい。水産発酵食品のハタハタずしや畜肉発酵食品の発酵ソーセージ等の乳酸菌が関与する発酵食品において、グルタミン酸脱炭酸酵素を持ちγ-アミノ酪酸の生産能力を有する乳酸菌添加によりγ-アミノ酪酸を強化する技術の開発をこれまで行ってきた。その成果の一部を「γ-アミノ酪酸強化発酵食品の製造方法」として特許出願（特願2003-287680）した。この技術を基礎としてさらにγ-アミノ酪酸を増量する技術と製造現場レベルでも安定製造ができる技術の開発を目的とする。今年度はγ-アミノ酪酸強化ハタハタずしとγ-アミノ酪酸強化発酵ソーセージの安定製造技術の確立を目的とする。

### 2. 方法

- 1) 秋田県内で市販されている3タイプのハタハタずしについて現在の味の傾向を変えないで、乳酸菌 (*Lactobacillus brevis* IF012005) を添加しγ-アミノ酪酸を効率よく増強する最適条件を製造現場での試験を中心に検討した。また、乳酸菌の前培養条件についても検討した。
- 2) 3タイプのハタハタずしについてγ-アミノ酪酸含量を安定的に増強できるような製造方法を検討した。
- 3) 乳酸菌によるγ-アミノ酪酸増強とハタハタずしや発酵ソーセージの発酵・熟成を別々に行う方法についても新たに検討した。
- 4) ハタハタずしのγ-アミノ酪酸含量増強技術を応用し、ハタハタずしの場合よりハタハタの原料比率を上げ乳酸菌を添加し発酵を15℃で行う方法により、γ-アミノ酪酸が増強された新しいハタハタ糠漬け様発酵食品の製造技術を検討した。

### 3. 結果の概要

- 1) 秋田県内で市販されている3タイプのハタハタずしについて乳酸菌 (*Lactobacillus brevis* IF012005) を添加しγ-アミノ酪酸生産を行う製造条件を検討した結果、今年度は乳酸菌の前培養の培地に米糠が必要であることがわかり最終的に3タイプのハタハタずしについて基本的な製造条件が決定した。
- 2) 3タイプのハタハタずしについてγ-アミノ酪酸含量を安定的に増強できるような製造技術に関しては、乳酸菌によるγ-アミノ酪酸生産を米糠とグルタミン酸ナトリウムを主培地成分として単独で行い、その濾過液をそれぞれのハタハタずしに添加した後に発酵・熟成を行う方法を開発し、γ-アミノ酪酸が製品中100mg%以上とする目標をほぼ達成できた（図1）。
- 3) ハタハタずしのγ-アミノ酪酸含量増強技術を発展させ、ハタハタずしの場合よりハタハタの原料比率を上げて乳酸菌を添加し、発酵を15℃で6日行った。その結果γ-アミノ酪酸が増強された新しいハタハタ糠漬け様発酵食品の基礎製造技術を開発することができた。（図2，3，4）（表1）

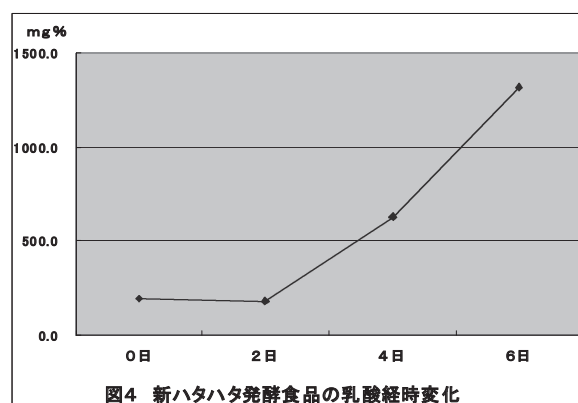
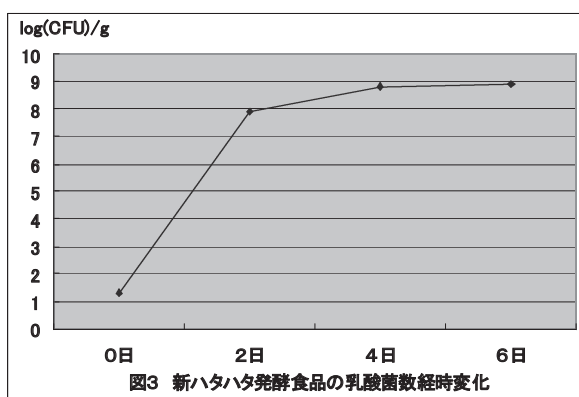
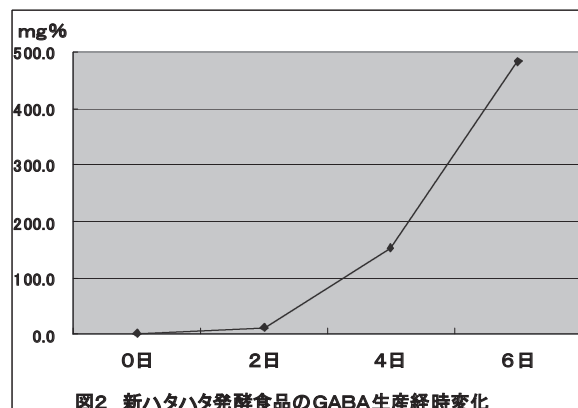
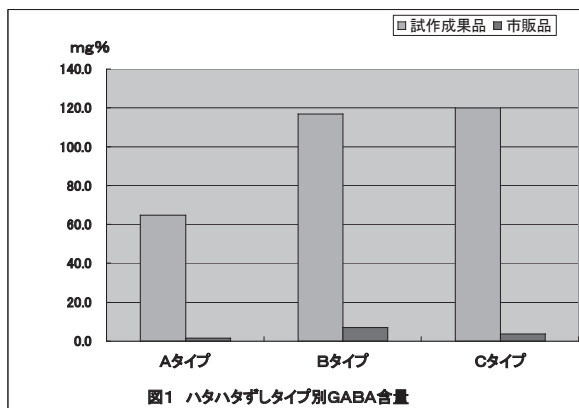


表1 新ハタハタ発酵食品の成分

水分	71.8%
水分活性	0.965
pH	5.3
γ-アミノ酪酸	482.5 mg%
乳酸	1319.3 mg%
乳酸菌数	$8.0 \times 10^8$
酵母数	$4.1 \times 10^4$
カビ数	$2.4 \times 10^3$
大腸菌群	陰性
E.coli	陰性
ビブリオ	陰性
クロストリジウム	陰性

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

次年度は委託事業が1年短縮されたため県単研究として継続する。今年度確立したハタハタずしの乳酸菌添加によるγ-アミノ酪酸生産強化する技術や新ハタハタ発酵食品を製造現場への技術普及を中心とする。

#### 5. 結果の発表、活用等

平成17年度「食品の安全性及び機能性に関する総合研究」推進会議で報告した。また、秋田県内の製造業者等に成果報告会や食品加工研修等で技術の普及を同時に進めていく。

## 単年度試験研究課題

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

水産発酵発酵食品の高品質化に関する研究

ハタハタ加工廃棄物食品化技術の開発

担当部署：応用発酵部門素材開発担当、食品開発部門食品加工担当

担当者名：塚本研一、佐々木康子、菅原真理、戸枝一喜

協力分担：水産振興センター

予算区分：国庫（バイオマスの環づくり交付金）

研究期間：継 2005年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

近年、国産の農水産物やそれを原料とした加工品に対しての消費者の期待と需要は大きい。したがって県産農水産物においても資源の有効利用技術開発により農水産業および農水産加工業を振興し、県産農水産物や加工品を消費者に供給していくことが重要である。水産物の中で特に県民魚であるハタハタ資源は、秋田県の漁業関係者の努力により近年ハタハタ資源は順調に回復している。したがって、流通量の増大に伴いハタハタずしを主とした加工用原料として利用が多くなってきた。秋田県において主要な水産発酵食品のハタハタずしは、製造工程で頭部、内蔵を除去するため加工廃棄物が多量に発生する。また、その他の加工においても内蔵は必ず除去している。したがって加工廃棄物減量と有効利用のため、その食品化技術を開発し付加価値の向上を図ることを目的とした。今年度はハタハタの主な加工廃棄物であるしらこ（精巢）について食品としての新規利用技術の開発を目的とする。その有効利用のため、ハタハタずしとしょうつる製造技術を利用して食品化を目指す。

### 2. 方法

- 1) ハタハタずしの製造方法に準じてしらこずしの試作を行った。
- 2) ハタハタ魚肉をハタハタしらこ（精巢）と置き換えて米飯、米麴を（比率しらこ10：米飯4.5：米麴0.5）混合し、5℃で20日熟成を行った。
- 3) 酵素法によるしょうつる製造方法に準じてしらこしょうつるの試作を行った。
- 4) しらこに対して30%の食塩と0.5%プロテアーゼアマノAを添加し室温で分解した。

### 3. 結果の概要

- 1) しらこずしについて試食評価では秋田県漁協製の凍結しらこを使用したのが解凍しそのまま使用したため生臭みやえぐみが非常に強かった。
- 2) しらこの食感はねっとりしてフォアグラやあんきも等に近いものがあり、生臭みやえぐみの問題を解決できれば実用化の可能性があると思われる。
- 3) しらこしょうつるについては平成18年2月末現在分解を継続中で4ヶ月目であり、液化は進行中である。ハタハタ魚肉使用時のように個体部と液体部のはっきりした分離は見られないが、全体的に液化は進んでいた。さらに分解を継続中である。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今後は今年度の試験を継続してしらこを原料とした飯ずしやしょうつるなどの製造技術を確立する。問題点としてはしらこ特有の生臭みやえぐみがあるが、その除去方法を確立することで高度不飽和脂肪酸のDHAが多く、アルギニン、DNAなど栄養的に有益な物質を多く含む素材という特性を生かすことができる。

### 5. 結果の発表、活用等

秋田県内の製造業者等に成果報告会や食品加工研修等で技術の普及を進めていく。





## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析とその応用

(2) 発酵食品と農水産物の複合的利用による機能性の向上

① フキノトウに含まれるラジカル捕捉活性を有する成分の化学構造

担当部署：生物機能部門生物機能第二担当・応用発酵部門発酵食品担当

担当者名：堀 一之、渡辺隆幸

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度 (2003～2007年度)

## 1. 目的

味噌は、通常味噌汁として農水産物と組み合わせられて食されるが、それらの複合的な生理機能性についての研究例はほとんど知られていない。本研究では、抗変異原性・DPPHラジカル捕捉活性等を指標として新たな味噌と農水産物の組み合わせによる機能性についての探索・解明を通じ、味噌の需要喚起と味噌をベースとした食品開発シードを提供しようとするものである。

前年度は味噌と組み合わせるべき農水産物素材のスクリーニングを実施した。そして、秋田県花であり”ふきのとう味噌”など組み合わせの実績がある「フキノトウ」に顕著なDPPHラジカル捕捉活性が認められた。そこで、今年度は同活性に関与する成分を中心にフキノトウ含有成分について精査することとした。

## 2. 方法

- 1) 研究材料：2005年4月秋田市雄和地区にて採集した食用として適した時期のフキノトウ 5.0 kgを実験に供した。
- 2) 抽出・分離：生鮮フキノトウを半分あるいは4分の1程度、縦方向に分割し凍結乾燥させた。凍結乾燥品は、ミルサー（イワタニ）で細砕の後、熱時メタノールで抽出した。得られたメタノールエキスを濃縮することなく、活性炭カラムに通じ、その後メタノール、メタノール-クロロホルム(7:3)、クロロホルムで順次溶出させた。この内、DPPHラジカル捕捉活性が強く認められたメタノール-クロロホルム(7:3)分画について、シリカゲル、セファデックスLH-20、ポリアミドC-200などの各種クロマトに付し下述の化合物を得た。
- 3) DPPHラジカル捕捉活性：没食子酸を標準物質として検量線を作成し、各試料の活性を没食子酸相当量として求めた。

## 3. 結果の概要

得られた活性を有する化合物の化学構造は、質量分析(MS)・核磁気共鳴(NMR)・赤外吸収(FT-IR)の各スペクトルの詳細な解析および紫外線吸収(UV)のシフト試薬添加スペクトル群の解析を総合し、フラボノール配糖体4種(1～4)とフェニルプロパノイド1種(5)であることを決定した。(Fig.1)

DPPHラジカル捕捉活性の大きさは、フラボノール配糖体類は没食子酸とほぼ同等(1.08～1.23 mmol/g)であったが、比較対象として同時に測定した非糖部化合物であるクエルセチンではおよそ3倍の強さを示し、さらにカフェ酸メチルエステルにおいても同等である3倍の強さを示したことから活性は糖部ではなくフェノール性水酸基部分に関連していることが示唆された。

加えて、エキス溶出分画、メタノール溶出分画についても含有成分の精査を行い、2種類のグ

リセロ糖脂質(モノガラクトシルジアシルグリセロール; MGDG、ジガラクトシルジアシルグリセロール; DGDG)および3種の単純脂質関連化合物(トリアシルグリセロール、1,3-ジアシルグリセロールおよび脂肪酸メチルエステル)の存在を確認したほか、フキノトウ特異のスピロ3環性セスキテルペンラクトンであるバツケノリド類と推定する化合物数種の存在を確認しており、現在それらの化学構造解析について鋭意検討中である。

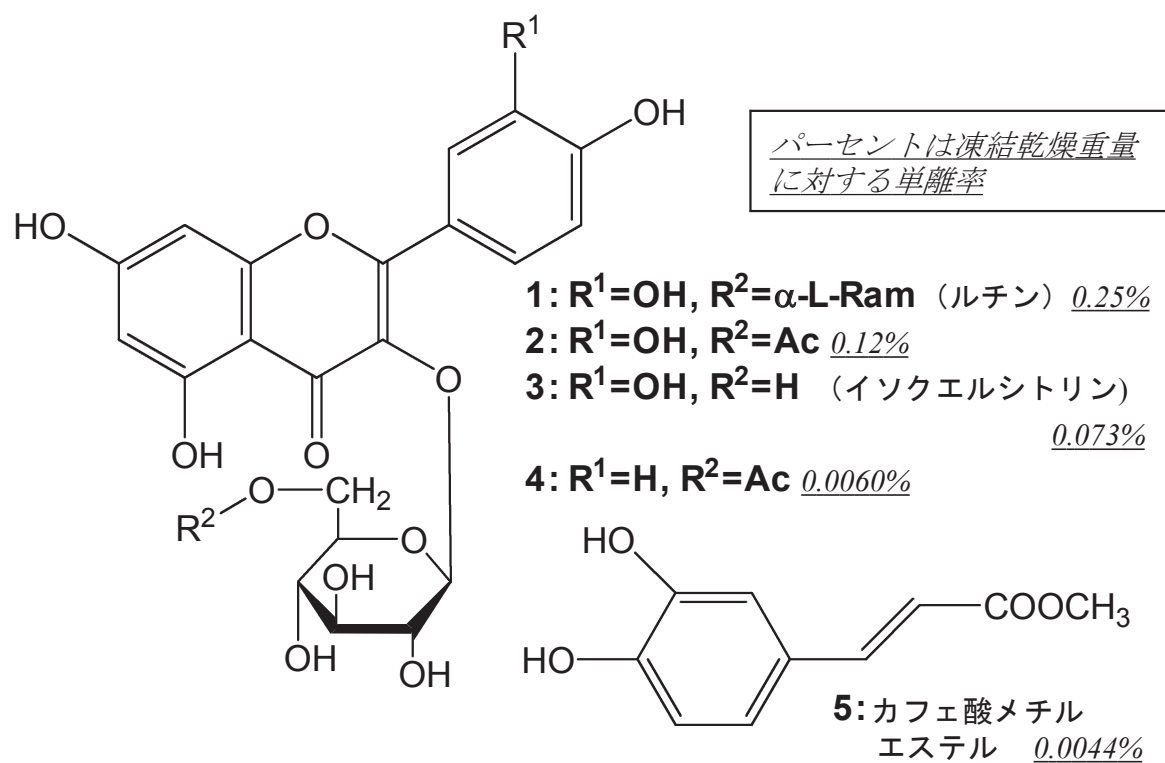


Fig. 1

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- 1) フラボノイド化合物を含め、フキノトウから得られた化合物について研究所が保有する各種生物活性評価に供し、それらの有用性について検討する。
- 2) ふきのとう味噌に加工した場合の活性化合物の保存あるいは変化について高速液体クロマトグラフィーを用いた検討を進めるが、状況によっては変化後の化合物について単離・化学構造実験を実施する可能性が生じるかも知れない。
- 3) フキノトウ特異化合物バツケノリド類の化学構造解析を行うが、追加の抽出・分離が必要となる可能性がある。

#### 5. 結果の発表、活用等

「フキノトウに含まれるラジカル捕捉活性物質の探索」  
 2006/3/28~30：日本薬学会第126年会（仙台）にてポスター発表予定

## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析と応用

(2) 発酵食品と農水産物の複合的利用による生理機能性の向上

②フキノトウを利用した発酵食品の開発

担当部署：応用発酵部門、生物機能部門

担当者名：渡辺隆幸、堀一之

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

味噌は主に味噌汁として農水産物と組み合わせられて食されるが、その複合的な生理機能性を調べた例は少ない。そこで味噌と食材を組み合わせた場合の生理機能性の研究を抗変異原活性、DP PHラジカル捕捉活性等を指標に行い、最終的に味噌の需要の喚起および新規食品開発のシードづくりに役立てる。平成17年度はフキノトウに含まれるラジカル捕捉活性成分の分画同定に加え、フキノトウを材料とする調合味噌（ふきのとう味噌）の試作を行い、ラジカル捕捉成分の定量方法の検討を行う。

### 2. 方法

1) フキノトウのラジカル捕捉活性成分の分画同定（別小課題にて詳述）

2) ふきのとう味噌の試作

県産フキノトウ100gにAOK139使用製品味噌400gを混合し5°Cで熟成。

3) HPLCによるフキノトウおよび「ばっけみそ」のラジカル捕捉活性成分の定量。

### 3. 結果の概要

1) フキノトウのラジカル捕捉活性成分として1:ルチン、2:ケルセチンアセチルグルコシド、3:ケルセチングルコシド、4:ケンフェノールアセチルグルコシド、5:カフェ酸メチルエステルを分画、同定した。以上の活性物質とケルセチンのラジカル捕捉活性と図1に示した。

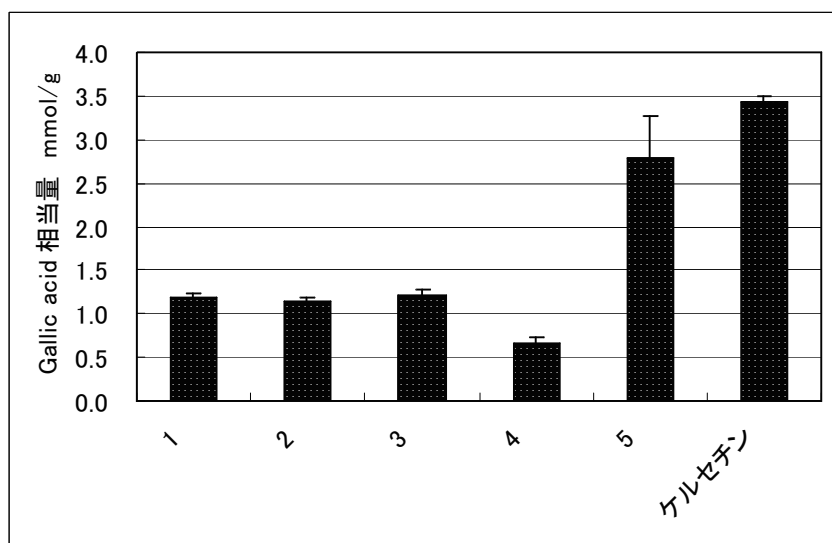


図1 ルチン類のラジカル捕捉活性

## 2) ふきのとう味噌の試作

フキノトウの香りと適度な苦みを持つ試作品が出来た。

## 3) HPLCによるフキノトウおよびふきのとう味噌のラジカル捕捉活性成分の定量

結果を図2に示したが、ふきのとうみその方が1:ルチンの割合が低くなった。

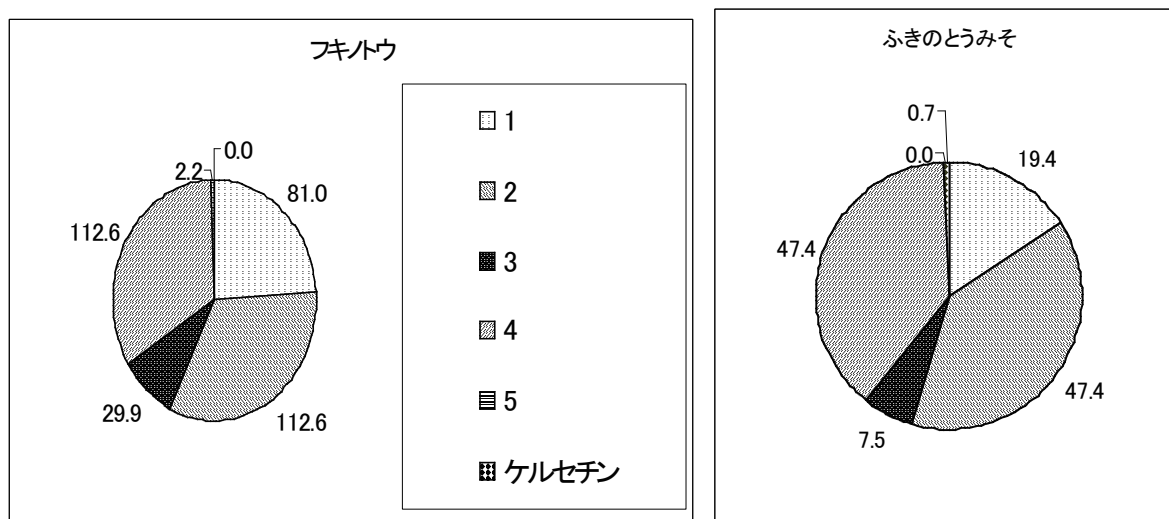


図2 フキノトウおよびふきのとう味噌のラジカル捕捉活性成分  
数字は含量 (mg / 100 g 新鮮重量)

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点、

ラジカル捕捉活性の強いふきのとう味噌製造方法の検討

フキノトウ特有成分の分画同定とその生理機能性の検討

必要な協力関係

次年度の具体的計画：別紙、当初計画の変更なし

## 5. 結果の発表、活用等

「フキノトウに含まれるラジカル捕捉活性物質の探索」(薬学会126年会、2006/3/28-30)

ふきのとう味噌の普及拡大を目的とする普及講習会、研修等の実施を図る(平成19年度以降)

## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析とその応用

中課題名：(3) 高血圧予防因子の探索と機能解析

担当部署：生物機能部門

担当者名：高橋砂織、樋渡一之、堀 一之

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

高齢疾患には様々な病態があり、それぞれに予防法や治療法が異なる。秋田県では、高血圧症の比率が高く大きな問題である。秋田県における高血圧の最大の原因は、食塩の過剰摂取である。これ以外に偏った食事の摂取もあげられる。このように、食事は高血圧に限らず健康維持に極めて重要である。これまで、食品関連血圧調節物質としては、アンギオテンシン変換酵素を標的としたものが主流であり、これに関連した特定保健用食品などの開発も行われている。しかしながら、血圧調節の根幹をなすレニンやレニンの内在性阻害タンパク質であるレニン結合タンパク質(RnBP)関連の食品由来調節物質の研究は行われてこなかった。そこで、本研究では、血圧調節の根幹を担うこれら酵素の特性を明らかにするとともに、食品由来の制御物質を探索し、構造機能相関を明らかとする。さらに、食による血圧制御の観点から、血圧管理と血圧調節機能を付与した食品の開発を目指す。本年度は、活性化した組換え型ヒトレニンとレニンの高感度測定用のアンギオテンシンIのラジオイムノアッセイ法を用いて各種食材由来のレニン阻害能を検討した。また、レニンの内在性阻害タンパク質 RnBP の機能解析を行った。

### 2. 方法

**レニン活性測定法：**超高感度のレニン活性測定法として、アンギオテンシノーゲンを基質としたラジオイムノアッセイ法を用いた。また、蛍光クエンチ基質も併用した。

**組換え型ヒトレニンの取得：**大腸菌で大量に発現したチオレドキシシ・プロレニン融合タンパク質を4M塩酸グアニジン等で可溶化した後、高濃度のアルギニンと界面活性剤により組換え体の巻き戻し条件を検討した。また、トリプシン処理により、活性型組換え酵素を取得した。

**食材由来レニン阻害物質の探索：**キノコ類などの農水産物由来メタノールエキスなどを用い、上記レニンの活性阻害能を検定した。

**RnBP の機能解析：**各種動物由来 RnBP とブタ腎臓から精製したレニンとを用いて、相互作用に及ぼすヌクレオチドの役割を検討した。

### 3. 成果の概要

**組換え型ヒトレニンの活性化条件の検討：**図1に巻き戻しが完了したチオレドキシシ・プロレニン融合タンパク質のトリプシンによる活性化条件を示した。トリプシン処理により時間とともに融合タンパク質 (Fusion Protein) のバンドが消失し、成熟型酵素 (Mature) の生成されることが確認された。発現した酵素活性は、ヒトレニンの抗体で特異的に阻害された(図2)。また、本酵素を用いて、食材由来のレニン阻害物質の探索を行った。一部の食材でレニン活性の阻害傾向が見られた(図3)。

**RnBP の機能解析：**ヌクレオチドがレニンと RnBP との相互作用に影響を与えていることが示唆された。今後詳細な検討が必要である。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

ヒトレニンを用いたスクリーニング系が確立したことから、今後食品由来制御物質の探索等を進め、構造機能相関を探る。また、RnBP とレニンとの相互作用解析を進め、阻害様式の解明に迫る。

## 5. 結果の発表、活用等

- 1) 堀 一之、中田和子、小沼純貴、杉山俊博、高橋砂織、  
第19回キチン・キトサンシンポジウム (千葉市)
- 2) 高橋砂織、堀 一之  
食品酵素化学研究会第5回学術講演会 (福山市)
- 3) Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hiwatashi, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Yukio Kiozumi, and Toshihiro Sugiyama  
*Biomed. Res.* **26**, 117-121 (2005)

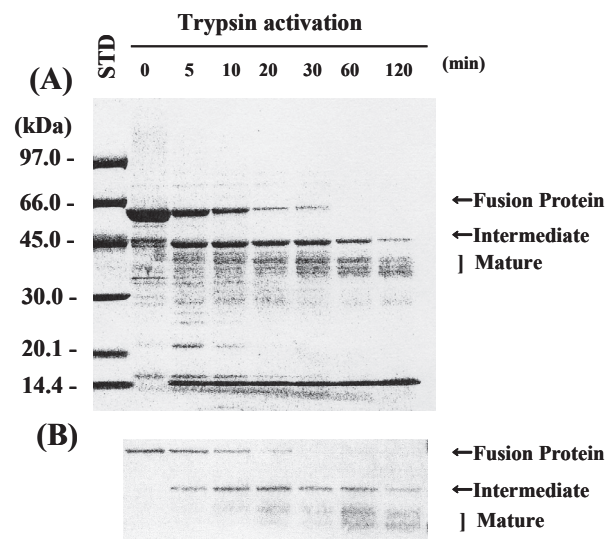


図1 組換えレニンのトリプシンによる活性化  
(A) CBBによるタンパク質染色、  
(B) ヒトレニン抗体による Western blotting

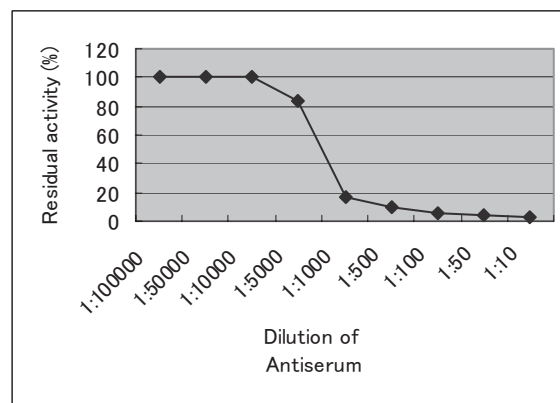


図2 レニン抗体による活性阻害

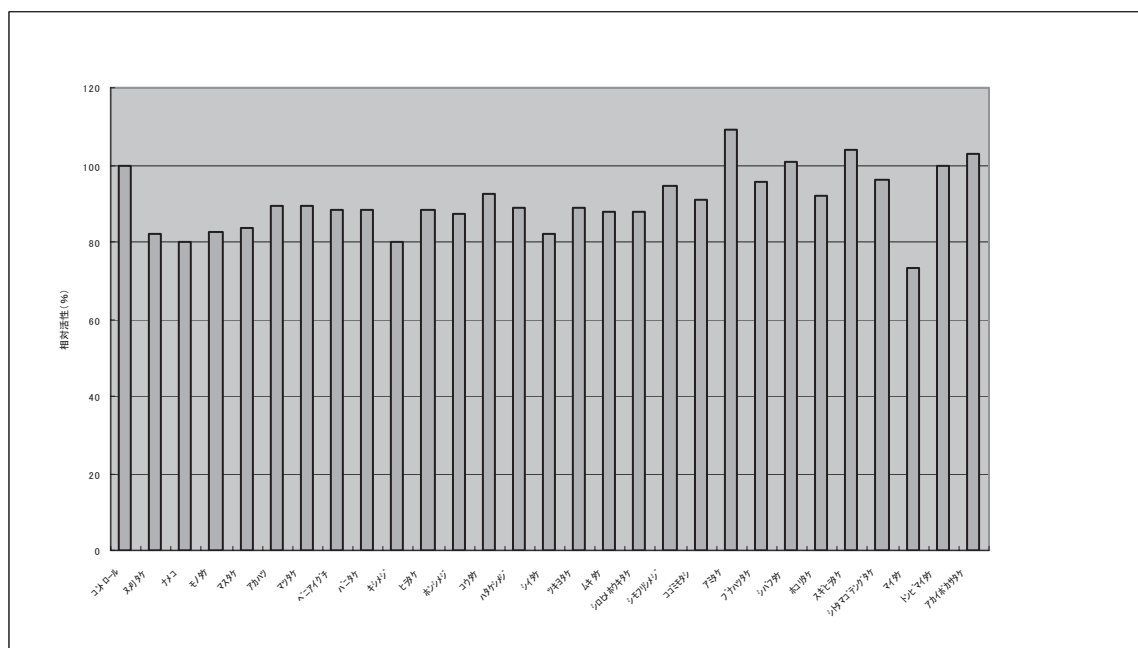


図3 各種キノコ抽出液によるレニン活性阻害

## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析とその応用

(4) 高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

①色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解明

担当部署：生物機能部門 生物機能第二担当

担当者名：畠 恵司

協力分担：中央家畜衛生所

予算区分：県単

研究期間：継 2005 年度（平成 2003～2006 年度）

### 1. 目的

白髪は加齢に伴い、毛根に存在する色素細胞（メラノサイト）のメラニン産生能低下が一因であると考えられている。前年度までは、県産食材を“抗白髪”化粧品素材に展開する目的で、キク科植物よりメラニン産生亢進物質 lupeol を単離し、メラニン産生機構解明を行ってきた。一方、メラノサイトは発生学上、神経冠細胞から、神経芽細胞、メラノblastを経て成熟・分化することが知られている。そこで、本年度からは、神経・色素細胞発生プログラムの全容解明を目指し、マウス新生児よりメラノサイトを調製した。また、神経芽細胞分化誘導因子の単離も行なった。本研究で得られる知見は、県内企業と共同で進めている“抗白髪剤”開発において、有益な情報を与えるものである。

### 2. 方法

#### 2.1 マウスメラノサイトの調製

マウスメラノサイトは、県中央家畜衛生所 阿部 由香技師のご協力で、C57BL/6 黒色系マウス新生児（生後 1 日）表皮より、調製した。

#### 2.2 神経細胞分化誘導因子

神経芽細胞（Neuro2A）分化誘導因子は、五加皮（ウコギ皮生薬）メタノールエキスを単離に供した。

### 3. 結果の概要

#### 3.1 マウスメラノサイト

マウス新生児の表皮（図 1）をトリプシン/EDTA 処理することにより、表皮由来細胞を得た。この表皮由来細胞のほとんどがケラチノサイト（角化細胞）であると考えられるが、メラノサイト選択培地で培養することにより、メラノサイトが選択的に増殖した（図 2）。

#### 3.2 五加皮由来神経細胞分化誘導因子

神経芽細胞 Neuro2A 分化誘導因子を、五加皮メタノールエキスからの単離を試みている。現在のところ、 $10^{-7}$  g/ml の濃度で作用するなど、強力な分化誘導因子であることが分かっている（図 3）。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

次年度は、マウス由来のメラノblastを調製し、lupeol 処理後の表現型（メラニン色素産生や樹状突起の伸長有無）を検討する。また、本年度単離した成熟メラノサイトと、表現型や細胞内シグナル伝達系を比較することにより、lupeol 処理の影響を調べる。五加皮由来の神経細胞分化誘導因子に関しては、単離・構造解析後、神経突起伸長メカニズムについて検討する。

本年度の結果より、メラノサイト以外に、マウス新生児由来の皮膚細胞（ケラチノサイトや繊維芽細胞）の単離も可能となったため、食品成分による細胞老化を通じた皮膚老化防止へと展開する予定である。

## 5. 結果の発表、活用等

- 1) Hata K., Hori K., Murata J., Takahashi S. “Remodeling of Actin Cytoskeleton in Lupeol-Induced B16 2F2 Cell Differentiation” *J. Biochem.*, **138**, 467-472 (2005)
- 2) 畠 恵司, 高橋 砂織, 堀 一之 “Lupane 型トリテルペンによる色素細胞分化誘導” *生薬学雑誌*, **60**, 9-14 (2006)

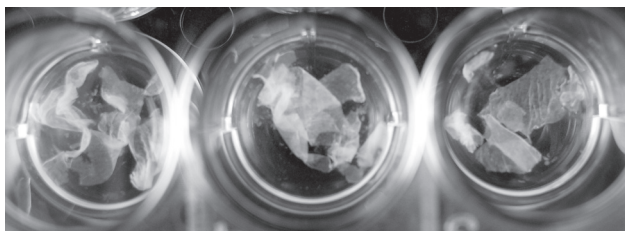


図 1 マウス新生児表皮 (セロファン膜状)

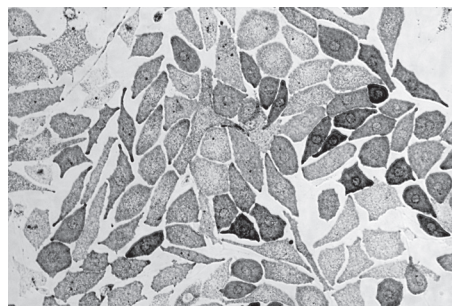


図 2 マウスメラノサイト

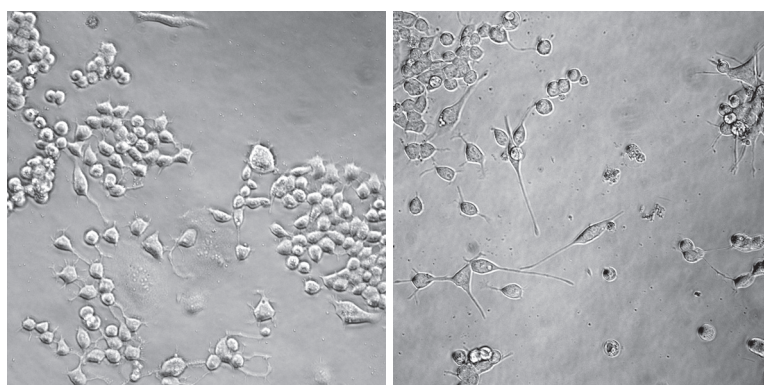


図 3 神経芽細胞 (Neuro 2A、左)ならびに五加皮処理同細胞 (右)



## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析と応用

(4) 高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

②香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用

担当部署：生物機能部門生物機能第二担当

担当者名：堀 一之

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度 (2003～2007年度)

### 1. 目的

本研究は、いわゆる生活習慣病（糖尿病合併症、高血圧症、メラノーマ細胞による抗白髪など）に評価を絞り、秋田にある食材の中から新たなる高齢疾患の予防・抑止につながる知見を得ようとするものである。当該小課題では、秋田に特徴的な香味系野菜の未利用部位を含み未だ詳細な成分検討がなされていないものについて大量抽出による含有成分検討を実施し、各種評価系に供し検討することを目的とする。既に2004年度はミョウガの未利用部位である間引き地上部について検討を行ってきたが、2005年度はミョウガ食用部位（花蕾）について詳細な含有成分検討を行う。

### 2. 方法

- 1) 研究材料：ミョウガはあきた白神農協より入手(2004・9月、7.5 kg)した。
- 2) 抽出分離：ミョウガは新鮮な状態で縦方向に切断し、液体窒素を用いて急速凍結後凍結乾燥させた(630g)。その後、メタノールで加熱還流抽出を行い、抽出液を濃縮せず活性炭カラムに通じ、メタノール、クロロホルム-メタノール(3:7)、クロロホルムで順次溶出させた。エキス溶出分画とメタノール、クロロホルム-メタノール(3:7)溶出分画を合わせた分画について各種カラムクロマトや分別結晶化を駆使し、後述の化合物を単離した。

### 3. 結果の概要

本研究で明らかとなった化合物12種（ミョウガ由来で圧倒的に含有量の多い $\alpha$ -ピネン、 $\beta$ -ピネンは除外した）の化学構造をFig. 1に示した。**A**～**E**の5種類はメタノール溶出分画由来の高極性の化合物であり、**E** (DGDG)はミョウガ間引き地上部にもその存在が確認されている化合物であるが脂肪酸部が混合物であった。**C**、**D**はセブレロシド（グルコシルセラミド）であり、**D**は結晶化で単一となり8位幾何異性が**E**であるaralia-cerebrosideと決定した。一方、化合物**F**～**L**はメタノール、クロロホルム-メタノール(3:7)溶出分画より得られた低極性化合物である。**G**の化学構造は未決定であるがlabdane型ジテルペンのフラノラクトンmarrubiinのデオキシ体と推定しており、新規化合物の可能性はある。なお、一部の化合物についてMMP阻害活性評価に供したが、現在のところ有為な活性を示すものは得られていない。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- 1) ミョウガの成分検索は終了とする。得られた化合物群の活性評価については更に検討したい。
- 2) **G**の構造決定については、ラクトン開環後さらに誘導體化・X線結晶解析が必要であるが、手持ち量との兼ね合いがあり活性の有無を先に確認したい。
- 3) 次の大量抽出・構造検討の対象としてセリ根（秋田で特異的に食用としている）を選択し、既に入手・凍結乾燥済であるので、検討を開始する予定である。

5. 結果の発表、活用等

- 1) ミョウガについては、間引き地上部のグリセロ糖脂質（一部新規有り）が投稿準備中である。
- 2) 花蕾部の成分研究については、化合物Gについてのブレークスルーを期待している。
- 3) セレブロシドは角質セラミド代謝基質であることから保湿成分として近年注目の化粧品素材であり、スクアレンとともに食材ミョウガのイメージ向上情報として利用していきたい。

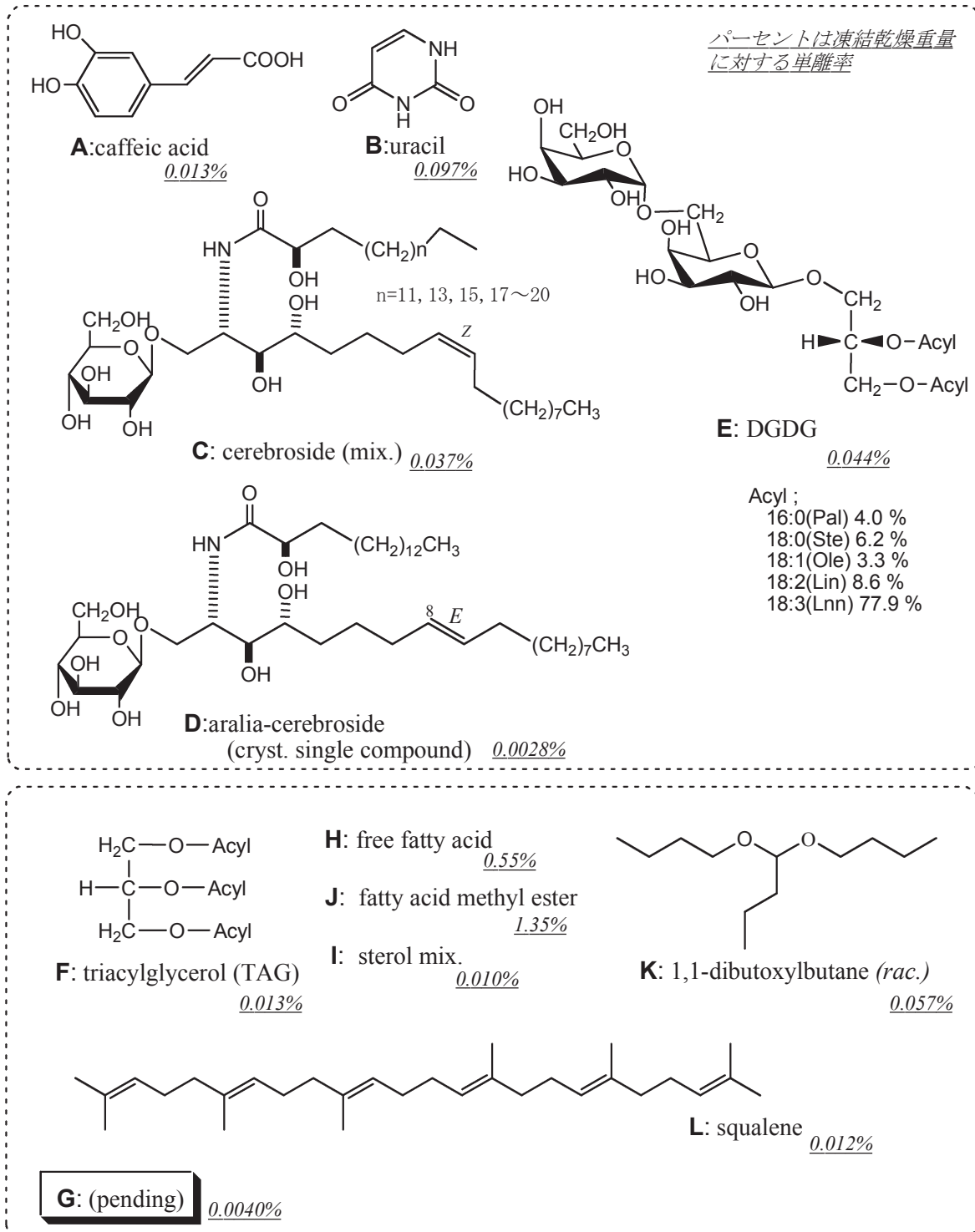


Fig. 1

## 単年度試験研究課題

研究課題：食材に由来する高齢疾患予防因子の機能解析とその応用

(4) 高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

③ 癌細胞転移抑制物質の探索と構造・特性解明

担当部署：生物機能部門生物機能第二担当

担当者名：樋渡一之、畠恵司、堀一之

協力分担：(株)坂本バイオ

予算区分：県単

研究期間：継 2005 年度 (2003～2007 年度)

### 1. 目的

高齢社会の到来とともに、高齢者特有の疾患が増大してきている。近年食品の安全性や生理機能性の解明に対するニーズが増加してきており、当研究所開所以来このテーマに関する研究が行われてきた。本課題では、県内からの食品素材に生理機能を付与し、販路拡大に役立てることを目的とした。

本年度は、癌の転移・浸潤や皮膚のしわの形成に関与すると考えられているマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の阻害剤を取得することを目的として、県内産山菜・海草類およびこれまで当研究所で単離された化合物群に対して MMP 阻害活性によるスクリーニングを行った。

### 2. 方法

- ・ 対象 秋田県産山菜 (39 種) および海藻 (28 種) のメタノールエキス等  
(総合食品研究所食材エキスライブラリー由来)
- ・ 酵素 ヒト線維肉腫細胞株 HT1080 から精製した MMP-2
- ・ 基質 蛍光消光型合成ペプチド基質  
MOCAC-Pro-Leu-Gly-Leu-A2pr (Dnp)-Ala-Arg-NH<sub>2</sub> (ペプチド研究所)

#### ・ 実験方法

基質溶液に山菜・海藻エキスおよび 4-aminophenylmercuric acetate (AMPA) で活性化した MMP-2 を添加し、37℃で 16 時間反応させた。反応終了後、MMP による基質の分解を蛍光 (Ex 328nm、Em 393nm) で測定し、測定対象の MMP 阻害活性を評価した。

### 3. 結果の概要

- ・ 昨年度までに蛍光基質による MMP 活性測定系を構築した。本年度はこの方法を用いた。
- ・ 測定の結果、多くのメタノールエキスで MMP の阻害効果が確認された。
- ・ メタノールエキス自体の蛍光測定を行ったところ、多くのエキスが測定に使用する波長域に吸収や蛍光を持つことが判明し、阻害活性の測定を妨害することが明らかとなった。
- ・ エキス中の妨害物質の存在を考慮した上で阻害効果を測定するため、以下の式により MMP 阻害活性 (= Inhibitory Index) を求めることとした。

$$\text{“Inhibitory Index”} = \text{“Inhibitory Effect (\%)”} - \text{“Interfering Effect (\%)”}$$

Inhibitory Effect: MMP の基質分解による蛍光が阻害された割合

Interfering Effect: 標準蛍光物質の蛍光が妨害された割合

- ・ この結果、ミヤマイラクサ、エゾセハズ、ミル、ケウルシグサ等に高い MMP 阻害活性が認められた。
- ・ これまでに当研究所で単離されたいくつかの化合物について、MMP 阻害活性を測定したが、活性は認められなかった。

図 山菜および海藻メタノールエキスのMMP-2阻害活性

	和名	学名	Inhibitory Effect (%)	Interfering Effect (%)	Inhibitory	
山菜	スギナ	<i>Equisetum arvense</i>	25.7	14.5	11.1	
	ゼンマイ	<i>Osmunda japonica</i>	6.5	0.6	5.9	
	ワラビ	<i>Pteridium aquilinum</i>	16.0	12.7	3.3	
	クサソテツ	<i>Matteuccia struthiopteris</i>	74.1	72.5	1.6	
	ミヤマイラクサ	<i>Laportea macrostachya</i>	64.5	12.2	52.2	
	ウワバミソウ	<i>Elatostema umbellatum</i>	38.2	18.5	19.7	
	イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	78.7	47.2	31.5	
	ギシギシ	<i>Rumex japonicus</i>	65.3	45.7	19.6	
	ニリンソウ	<i>Anemone flaccida</i>	52.3	42.1	10.2	
	ウスバサイシン	<i>Asiasarum sieboldii</i>	48.0	43.0	5.0	
	コンロンソウ	<i>Cardamine leucantha</i>	67.4	34.1	33.4	
	ワサビ	<i>Wasabia japonica</i>	26.6	17.4	9.2	
	トリアシショウマ	<i>Astilbe thunbergii</i>	59.1	42.9	16.1	
	ヤグルマソウ	<i>Rodgersia podophylla</i>	76.8	41.1	35.7	
	クズ	<i>Pueraria lobata</i>	34.5	12.4	22.1	
	モロヘイヤ	<i>Corchorus olitorius</i>	42.8	-5.8	48.6	
	ウド	<i>Aralia cordata</i>	14.8	3.0	11.9	
	タラノキ	<i>Aralia elata</i>	43.3	1.9	41.4	
	コシヤク	<i>Anthriscus sylvestris</i>	7.4	-34.8	42.2	
	エゾニユウ	<i>Angelica ursina</i>	-354.0	-164.9	-189.1	
	ハマボウフウ	<i>Glehnia littoralis</i>	-92.6	-61.3	-31.3	
	セリ	<i>Oenanthe javanica</i>	18.8	21.2	-2.5	
	ヒレハリソウ	<i>Symphytum officinale</i>	26.5	14.0	12.5	
	ニワトコ	<i>Sambucus sieboldiana</i>	76.2	79.6	-3.4	
	ツルニンジン	<i>Codonopsis lanceolata</i>	-18.0	-24.7	6.6	
	モミジガサ	<i>Cacalia delphinifolia</i>	67.8	39.1	28.7	
	ホンナ	<i>Cacalia hastata</i>	-36.1	-17.6	-18.6	
	ノアザミ	<i>Cirsium japonicum</i>	69.3	53.0	16.3	
	フジアザミ	<i>Cirsium purpuratum</i>	97.2	93.8	3.4	
	フキ	<i>Petasites japonicus</i>	65.1	50.5	14.6	
	オキノゲシ	<i>Sonchus asper</i>	90.7	76.0	14.7	
	ノビル	<i>Allium grayi</i>	18.2	22.4	-4.2	
	カタクリ	<i>Erythronium japonicum</i>	63.3	64.4	-1.1	
	ノカンゾウ	<i>Hemerocallis fulva</i>	65.1	58.3	6.8	
	コハギボウシ	<i>Hosta albo-marginata</i>	51.4	57.1	-5.7	
	オオギバボウシ	<i>Hosta montana</i>	35.1	32.1	3.0	
	シオデ	<i>Smilax riparia</i>	27.1	38.6	-11.4	
	ミョウガ	<i>Zingiber mioga</i>	18.7	1.1	17.6	
	海藻	アナアオサ	<i>Ulva pertusa</i>	3.3	2.5	0.8
		ミル	<i>Codium fragile</i>	78.2	6.9	71.3
		アミジグサ	<i>Dictyota dichotoma</i>	47.6	18.8	28.8
		エゾヤハズ	<i>Dictyopteris divaricata</i>	98.5	16.7	81.8
		イシモズク	<i>Sphaerotrichia divaricata</i>	27.9	14.9	12.9
		ケウルシグサ	<i>Desmarestia viridis</i>	78.7	9.4	69.3
ツルアラメ		<i>Ecklonia stolonifera</i>	67.4	85.2	-17.8	
ワカメ		<i>Undaria pinnatifida</i>	-36.1	19.3	-55.4	
フミスジモク		<i>Sargassum confusum</i>	64.5	38.7	25.8	
イソモク		<i>Sargassum hemiphyllum</i>	90.5	29.7	60.7	
アカモク		<i>Sargassum horneri</i>	24.0	19.5	4.5	
ヤツマタモク		<i>Sargassum patens</i>	74.1	25.4	48.7	
ウミトラノオ		<i>Sargassum thunbergii</i>	46.6	48.1	-1.6	
ヨレモク		<i>Sargassum siliquastrum</i>	88.3	53.7	34.5	
マクサ		<i>Gelidium elegans</i>	69.3	60.0	9.3	
キョウノヒモ		<i>Grateloupia okamurae</i>	63.3	34.2	29.1	
フダラク		<i>Grateloupia lanceolata</i>	97.2	46.4	50.8	
ホソバミリン		<i>Solieria tenuis</i>	67.8	8.7	59.1	
オゴノリ		<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	-15.4	33.0	-48.5	
オキツノリ		<i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i>	35.1	52.5	-17.3	
ツノマタ		<i>Chondrus ocellatus</i>	50.5	25.6	24.9	
フシツナギ		<i>Lomentaria catenata</i>	51.4	14.3	37.0	
イギス		<i>Ceramium kondoi</i>	29.9	27.4	2.5	
コノハノリ		<i>Laingia pacifica</i>	65.1	7.1	58.0	
イソムラサキ		<i>Symphyocladia latiuscula</i>	93.4	60.6	32.8	
アマモ		<i>Zostera marina</i>	-19.3	61.1	-80.4	

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本結果から考えて、蛍光基質による MMP 活性の測定は、妨害物質が存在する場合困難である。そこで、全く異なる酵素活性測定手法であるゼラチンザイモグラムによる阻害活性測定を二次スクリーニングとして実施し、ここで陽性であったものから阻害物質の精製を行うこととする。

#### 5. 結果の発表、活用等

現時点では特になし

## 単年度試験研究課題

研究課題：新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

担当部署：酒類部門酒類第2担当

担当者名：進藤 昌

協力分担：University of Economic Science and Public Administration (Hungary)

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

国産果実酒の現状は、農業の構造問題、国産果実酒の低価格化、低価格輸入果実酒の増大、流通の激変、国産果実酒文化の変遷や形成不全等の問題を抱え、非常に厳しい状況にある。これは県内産果実酒も例外ではない。一方で近年の健康ブームにより、果実酒中に存在するポリフェノールの機能性が注目されており、消費者の需要も伸びつつある。そこで高い機能性を付与した果実酒を開発することで、県内産果実酒の品質の高度化と市場の拡大に大きく貢献できると期待される。

本年度は、県内産果実酒のヒトI型コラゲナーゼ阻害活性について検討を行った。さらに機能性成分を保持した新規なリキュール製造法についても検討を行った。

### 2. 方法

ヒトI型コラゲナーゼの阻害活性は、蛍光標識されたI型コラーゲンを基質としてI型コラゲナーゼを用いて反応を行い、反応終了液の上清を蛍光光度分光光度計を用いて励起波長 495nm、蛍光波長 520nm で蛍光強度の測定を行い活性を調べた。MMP阻害活性の測定は蛍光標識ゼラチン (*pig skin*) を基質としてコラゲナーゼタイプIV (*Clostridium histolyticum*) を用いて反応を行い、反応終了液の上清を蛍光光度分光光度計を用いて励起波長 495nm、蛍光波長 520nm で蛍光強度の測定を行い活性を調べた。

### 3. 結果の概要

#### 前年度までの要約

- ・県内産果実酒12種類のMMP阻害活性を調べたところ、プラムおよび山葡萄を原料にして醸造したワインに高い阻害活性が見られた。その他の果実を原料にした果実酒では阻害活性が見られなかった。
- ・MMP阻害活性とポリフェノール含量の相関を調べた結果、ポリフェノール含量が高いほどMMP阻害活性が高いことが示唆された。しかし、同じポリフェノール濃度でも阻害活性に差が見られたことより、ポリフェノール以外の物質も関与していることが考えられる。

#### 本年度の結果

##### ・ヒトI型コラゲナーゼ阻害活性

MMP阻害活性の高かった果実酒を中心に、ヒトI型コラゲナーゼの阻害活性を調べた。その結果、表1に示したように、プラムの赤ワインとブルーベリーワインの阻害活性が高かった。ヒトI型コラゲナーゼはポリフェノールにより強く阻害されることが判っており、プラムとブルーベリーのポリフェノールが阻害に関与したと推察される。

##### ・機能性リキュールの開発

ホップには強い糖尿病合併症阻害効果があることが判っている。そこで、ホップを原料としたリキュールの可能性について検討を行った。日本酒100mlにホップを0～0.1g添加しMMP阻害活性を測定した結果、0.025g/100mlで90%の阻害活性を示すことが判明した(表2)。また、官能検査の結果、ホップのさわやかな香りのあるもののやや苦味を感じた。

表1 県内産果実酒の I 型コラゲナーゼ阻害活性

果実酒	原料	I 型コラゲナーゼ阻害活性(%)
葛巻ロゼ	ぶどう	45
ブルーベリーワイン	ブルーベリー	74
薫風	リンゴ	58
かまくらワイン	ぶどう	61
プラムの舞	プラム	61
高城プラムワイン	プラム(白ワイン)	ND
太陽の華	プラム(赤ワイン)	71
十和田湖高原ワイン	山葡萄	61

ND: not detected

表2 ホップ入りリキュールのMMP阻害活性と総フェノール量

ホップ(%w/v)	I 型コラゲナーゼ阻害活性(%)	総フェノール(ppm)
0.000	27	229
0.010	58	248
0.025	90	255
0.100	99	270

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

ホップのポリフェノール成分の効率的抽出法と苦味成分を抑える方法を検討し、ホップと日本酒または蒸留酒をベースとした機能性リキュールの製造方法を確立する。

#### 5. 結果の発表、活用等

特になし

## 単年度試験研究課題

研究課題：新規機能性を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

担当部署：酒類部門酒類第2担当

担当者名：戸松 さやか

協力分担：University of Economic science and Public Administration (Hungary)

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

県産果実酒は、低価格化、低価格輸入果実酒の増大等の問題を抱え、厳しい状況にある。秋田県ワイン協議会を設立してから、県内の果実酒業界から当研究所に対し、果実酒への機能性を中心とした付加価値を付与するための研究を行って欲しいとの要望が出されていた。そこで新規な機能性成分の探索とその成分を増強した果実酒等の開発をし、県内産果実酒等の品質の高度化と、差別化による市場拡大を目指す。

昨年度までに糖尿病合併症治療への有効性が注目されているアルドースレダクターゼ(AR)阻害について調べ、ワイン酵母の発酵代謝産物にAR阻害活性があることが示唆された。今年度はこのAR活性阻害成分について検討した。

### 2. 方法

AR阻害活性の測定はヒト筋肉細胞起源の組み換え体ARを用い、グリセルアルデヒドとの反応により消費されるNADPHの吸光度変化を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。総フェノール量の測定はフォーリン・シオカルト法で行い、没食子酸の標準液で検量線を作成し、算出した。また、果汁およびワインの分画はE. Gomez-Plazaらの方法<sup>1)</sup>に従い(図1)、カftarリック酸の抽出・分離は奥田ら方法<sup>2)</sup>に従って行った。

### 3. 結果の概要

秋田県産果実酒のAR阻害活性を調べたところ、プラムやブルーベリーを原料にした果実酒及び赤ワインでAR阻害活性が高く、総フェノール量との相関関係が見られた。また果汁とそれを発酵してできたワインを比較したところワインの阻害活性が高く、ワイン酵母の発酵代謝産物による阻害が示唆された。

果汁およびそれを発酵してできたワインを図1のように分画したところ、どちらも画分Cに高いAR阻害活性が認められた。また画分Bはワインで高い阻害活性を示し、赤ワインと白ワインで同様の結果が得られたことから、発酵代謝産物によるAR阻害成分は画分Bに含まれていると考えられ、E. Gomez-Plazaらの報告<sup>1)</sup>より画分Bは主にフェノール酸が含まれていると推察された。ワインの酢酸エチル抽出液をSephadex LH20で分離し、ワインの主要なフェノール酸であるカftarリック酸ピークIVを得て、ARを測定したが、阻害活性は認められず、ピークI付近に強い阻害活性が認められた(図3)。現在、阻害活性ピークを分離・精製し同定を試みている。また、他の数種類のフェノール酸についてAR阻害活性を調べたが、高い阻害活性を示すものはなかった。発酵前後で阻害活性に大きな差は見られないが高い阻害活性をもつ画分Cはアントシアニンやフラボノール等が含まれていると考えられる。これらのフェノール化合物には高いAR阻害活性があると推察された。

また、ワインの機能性成分として知られているリスベラトロールにはAR阻害活性は認められず、プロアントシアニジンをもつブドウ種子ポリフェノールであるグラヴィノール(キッコーマン(株))はAR阻害剤として知られているクロロゲン酸と同程度の阻害作用を示した。

1) E. Gomez-Plaza, *et al.*, J. Agric. Food. Chem., **48**, 736-741 (2000)

2) 奥田徹ら. J. ASEV Jpn., **16**, 14-21 (2005)

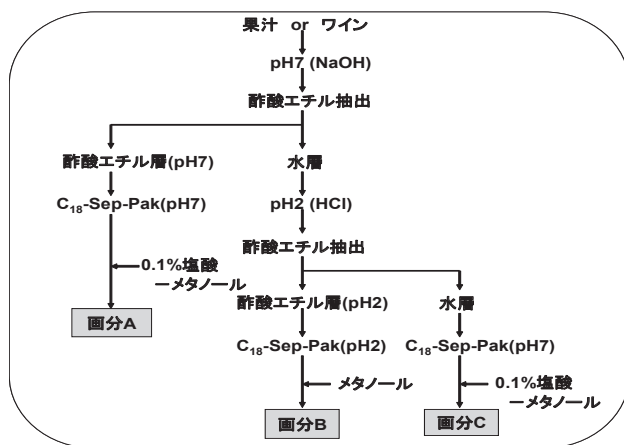


図1. 分画方法

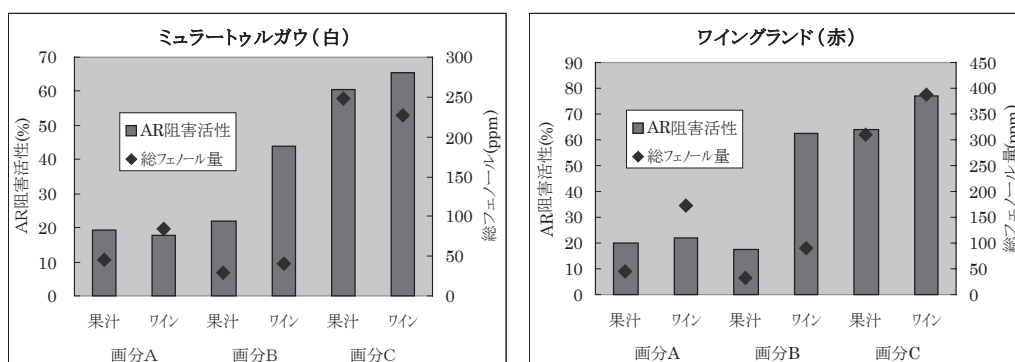


図2. フェノール画分の発酵による変化と AR 阻害活性への影響

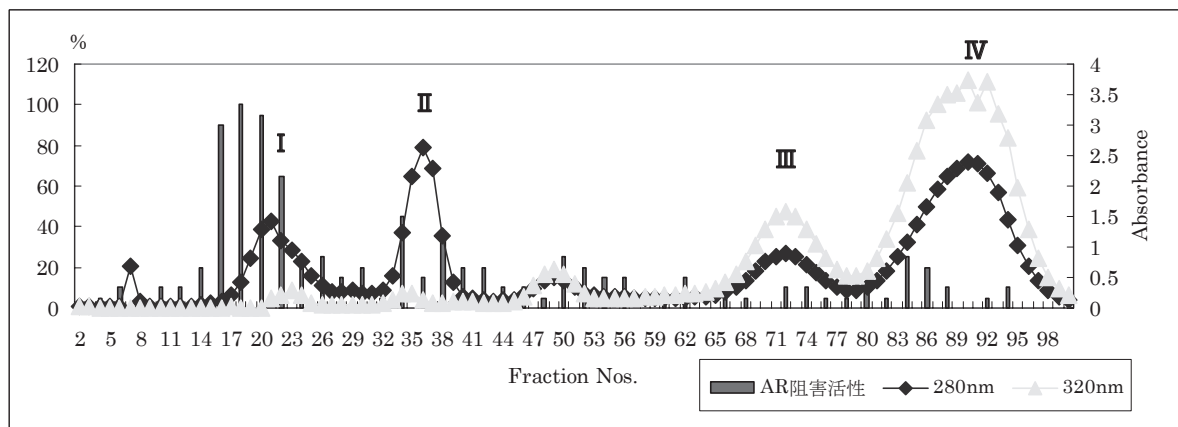


図3. ワイン抽出液の Sephadex LH20 カラムによる分画と AR 阻害活性

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点：機能性成分の決定と醸造法

必要な協力関係：University of Economic science and Public Administration (Hungary)

次年度の具体的計画：効率的に機能性成分を付与させる醸造方法を検討し、一定の品質が保てるよう条件を設定する。

#### 5. 結果の発表、活用等

日本農芸化学会 2005 年度大会にて発表

2005 年 7 月特許出願



## 単年度試験研究課題

研究課題：特産野菜高付加価値加工技術の開発

漬物製造工程中の硝酸還元細菌の動向に基づく硝酸塩濃度制御

担当部署：応用発酵部門

担当者名：菅原久春

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：中 2005年度（2003～2005年度）

### 1. 目的

浅漬け、キムチ等の市販漬物にどれくらいの硝酸塩が蓄積しているか硝酸イオン濃度を調査する。次に硝酸イオン濃度の違う野菜とでモデル試験を行い、原料からの硝酸イオンの推移・変化について分析し比較検討を行う。

また、亜硝酸塩の生成には硝酸還元能を持つ大腸菌群などが関与する。そこで、次亜塩素酸ナトリウムと同等の効果を持つとされ厚生労働省が許可した電解水（弱アルカリ性水（食塩を介して電解）、微酸性水（塩酸を介して電解））、また牡蛎殻由来の焼成カルシウムやキトサン等の抗菌製剤で野菜からの除菌と生育阻止を行うことで、漬物製造で亜硝酸イオンを生成しない漬物を製造する。

今回は、グリシンで硝酸還元細菌の生育が抑制できるか、また食塩濃度の差異で乳酸菌の生育に相違が認められるか検討した。

### 2. 方法

1) 供試微生物(硝酸還元細菌・乳酸菌)-----別表

2) 分析方法

硝酸塩、亜硝酸塩はRQフレックス法で分析した。また、硝酸還元細菌については、標準培地(酵母エキス、ペプトン、グルコース)を用意し硝酸塩を調整した(食塩1.5%, pH5.5)。乳酸菌についてはG・Y・P液体培地を基本とし食塩を調整した(pH6.0)。

L型培養管(液体培地10 ml)に初発菌数が $10^5$  cells/ml になるように調整しグリシンを1%、2%添加し硝酸還元細菌の抑止と亜硝酸塩への還元を、乳酸菌では食塩を0～10%添加して増殖の抑止度を見た。培養はいずれも30℃で振とう培養した。培養中の生育曲線はアドバンテック東洋TN-112D温度勾配バイオフォトレコーダを使用して求めた(0.D. 660 nm)。休眠期間は微生物が増殖を始めるまでの時間とし、660 nmにおける-LogT値が0.025以上になった時間を増殖期の開始とした。添加したグリシン、食塩などについてb(増殖速度係数)、 $\tau$ (2倍増殖世代時間)、休眠時間などで微生物増殖抑制効果を評価した。

### 3. 結果の概要

1) 硝酸還元細菌

この条件(食塩1.5%, pH5.5)では*Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, などは生育が認められなかった。一方、*Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* 等は増殖可能であった。グリシン2%添加区で、増殖が認められなかったのは*Escherichia coli* だけであった。他は若干の生育遅延は認められるがグリシンだけで増殖を阻止することは困難であった。

2) 乳酸菌

今回、供試した乳酸菌を食塩0, 3, 5, 6, 7, 8, 10%と食塩濃度を変えてどの食塩濃度から生育ができないか( $b^2/hr^2$ ) で総合判断した。

食塩6%から生育が困難なのは *Lact. brevis*, 7%では *Leuc. mesenteroides*, *Lact. lactis* KLC1527D, 8%では *L. p 1067*, *S. thermophilus*, *L. delbrueckii*, *L. sakei*, *L. fructivorans*, *E. faecium*, *E. faecalis* であった。10%の食塩から生育できない乳酸菌は *L. p 1067*, *L. I 12007* などで、あきらかに食塩濃度の差異で乳酸菌の生育に相違が認められた。

表1 硝酸還元細菌のグリシンによる阻害効果と亜硝酸塩還元率

			b	$\tau$	hr	1	2	3	5	(日, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , %)
<i>Escherichia coli</i> グリシン	0%		0.1609	4.3160	21.0	0	0	0		
	1%	IFO 3301	0.1567	4.4230	26.5	0	0	0		
	2%		-	-	-	0	0	0		
<i>Serratia marcescens</i> グリシン	0%		-	-	-	0	0	0		
	1%	IFO 3046	-	-	-	0	0	0		
	2%		-	-	-	0	0	0		
<i>Bacillus cereus</i> グリシン	0%		-	-	-	0	0	0		
	1%	IFO 13474	-	-	-	0	0	0		
	2%		-	-	-	0	0	0		
<i>Bacillus lichniformis</i> グリシン	0%		0.5955	1.1640	11.0	35	17	18		
	1%	IFO 12200	0.5413	1.2805	13.3	32	9	6		
	2%		0.4962	1.3969	16.3	8	22	22		
<i>Enterobacter aerogenes</i> グリシン	0%		0.5955	1.1640	8.6	22	44	40		
	1%	IFO 13782	0.5413	1.2805	9.1	29	37	32		
	2%		0.4581	1.5131	9.6	28	49	38		
<i>Enterobacter cloacae</i> グリシン	0%		0.5955	1.1640	9.3	45	46	49		
	1%	IFO 13783	0.5413	1.2805	10.4	43	35	17		
	2%		0.4511	1.5366	11.7	32	31	18		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> グリシン	0%		0.4962	1.3969	16.4	8	48		45	
	1%	IFO 9614	0.4581	1.5131	18.9	5	18		28	
	2%		0.3503	1.9787	24.6	0	15		25	

表2 食塩濃度の差異による乳酸菌の生育阻害

			b	$\tau$	hr	b <sup>2</sup> /hr <sup>2</sup>				b	$\tau$	hr	b <sup>2</sup> /hr <sup>2</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC14917	食塩	0%	0.5357	1.2939	12.1	2.77	<i>Lactobacillus sakei</i> HS-1	食塩	0%	0.5220	1.3280	9.2	2.60
		3%	0.3953	1.7535	14.9	1.00			3%	0.4524	1.5323	12.9	1.00
		7%	0.1747	3.9676	30.1	0.05			7%	0.1519	4.5629	25.5	0.03
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC801	食塩	0%	0.4378	1.5833	12.3	1.55	<i>Lactococcus lactis</i> 12007	食塩	0%	0.5816	1.1918	10.0	5.11
		3%	0.3991	1.7368	13.9	1.00			3%	0.4071	1.7025	15.8	1.00
		7%	0.1859	3.7286	29.2	0.05			7%	0.1508	4.5968	35.5	0.03
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	食塩	0%	0.3953	1.7536	15.3	4.31	<i>Enterococcus faecium</i>	食塩	0%	0.5900	1.1747	10.0	9.02
		3%	0.2627	2.6390	21.1	1.00			3%	0.3231	2.1452	16.4	1.00
		7%	0.0153	45.4523	49.9	0.00			7%	0.1348	5.1417	36.6	0.04
<i>Streptococcus thermophilus</i> IFO3535	食塩	0%	0.2661	2.6048	13.9	3.75	<i>Enterococcus faecalis</i>	食塩	0%	0.5655	1.2258	10.7	2.36
		3%	0.2110	3.2858	21.4	1.00			3%	0.5026	1.3790	14.7	1.00
		7%	0.0499	13.8907	63.3	0.01			7%	0.2423	2.8602	36.6	0.04
<i>Lactobacillus brevis</i> ATCC8281	食塩	0%	0.4474	1.5493	11.5	0.12	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	食塩	0%	0.1894	3.6597	31.6	2.29
		3%	0.3084	2.2473	21.2	1.00			3%	0.1851	3.7455	46.7	1.00
		7%	-	-	-	-			7%	0.0925	7.4910	102.3	0.05
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC4797	食塩	0%	0.5428	1.2769	9.9	5.80	<i>Lactococcus lactis</i> KLC1527D	食塩	0%	0.8309	0.8342	8.0	3.78
		3%	0.3510	1.9749	15.5	1.00			3%	0.6786	1.0215	12.6	1.00
		7%	0.1112	6.2311	37.52	0.02			7%	0.0377	18.3860	98.5	0.00

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

「特産野菜高付加価値加工技術の開発」の課題は終了し、技術指導など技術の移転を実施することになる。このとき、食塩濃度、pHの差異等で微生物の生育に相違が認められることなどから製品の塩分、pHなど品質の把握が必要となってくる。

#### 5. 結果の発表、活用等

得られた成果について、学会等で発表する。

## 完了試験研究課題

研究課題：特産野菜高付加価値加工技術の開発

漬物製造工程中の硝酸還元細菌の動向に基づく硝酸塩濃度制御

担当部署：応用発酵部門部門

担当者名：菅原久春

協力分担：

予算区分：県単・委託（野菜茶業研究所：高度化事業）

研究期間：完 2005年度（2003～2005年度）

### 1. 目的

浅漬け、キムチ等市販漬物の硝酸塩濃度の実態を把握する。また、漬物製造工程中での硝酸塩濃度の推移・変化について硝酸塩濃度の蓄積に相違が認められるか調査する。さらに、原料野菜からの除菌方法を検討するとともに硝酸還元細菌の生育を確実に阻害し、亜硝酸塩が生成しない漬物製造方法を構築する。

### 2. 方法

- 1) ダイコン、キムチ等の浅漬けの硝酸塩濃度は市販されている商品を購入し比較検討した。
- 2) ダイコン、ハクサイ等を漬物の素に漬け込み硝酸塩濃度の推移・変化を検討した。
- 3) 野菜の除菌について電解水等を用いて最適な方法を検討した。
- 4) 硝酸還元細菌の生育を阻止し亜硝酸塩が生成しない条件・方法をpH、日持ち向上剤等で検討した。

### 3. 結果の概要

- 1) ダイコンを原料とした浅漬け(18検体)の硝酸塩濃度の平均は1,100ppmで、ハクサイ(10検体)は、1,060ppmであった。梅漬けが4,000ppm、キュウリ・カブ・ショウガ・ナスは300ppmとダイコン・ハクサイを原料とした漬物の1/3以下の濃度であった。
- 2) 醤油ベース液体浅漬けの素は500～600ppm、ペースト状キムチの素は1,000～1,500、米麴を主体とした漬物の素(甘酒)は100ppm以下と相違があった。同じダイコン、ハクサイを漬け込んでもキムチの硝酸塩濃度が高く、それに比してこうじ漬け(甘酒タイプ)が低い傾向にあった。漬け床(漬け液)が原料野菜よりも低い硝酸塩濃度であればダイコン、ハクサイなどは硝酸塩濃度を低くすることが可能であった。
- 3) pHが酸性に傾くほど硝酸還元細菌は増殖ができなかった。アルカリ性側(pH8.2)電解次亜水で除菌効果は認められるが、微酸性(pH5.2)側でより除菌の効果が認められた。このことは、野菜貯蔵中に微生物の菌相が変化したためと推察した。
- 4) 硝酸塩(1,000ppm, 2,500ppm)を50%以上資化し亜硝酸塩を生成する硝酸還元細菌は*Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* などであった。供試した硝酸還元細菌の生育はpH4.0で認められず、pH4.5で*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* が生育したにすぎなかった。また、キトサン、グリシン、ソルビン酸が硝酸還元細菌(大腸菌群に属している微生物)の増殖を阻止していた。アリルイソチオシアネート、ビタミンB<sub>1</sub>が続いていた。

### 4. 成果の活用面と留意点

微酸性(pH5.2)側の次亜塩素酸水や1%酢酸水で野菜を洗浄除菌し、漬物製造時にキトサン、グリシンを併用すれば硝酸還元細菌の生育阻止が可能である。従って亜硝酸塩の生成は阻止できる。漬け床、漬け液の調整で硝酸塩濃度を原料野菜より低減した漬物製造が可能である。野菜の除菌に電解水製造装置を購入しなくても、氷酢酸で代替できます。

### 5. 残された問題とその対応

特にありません。



## 単年度試験研究課題

研究課題：特産野菜高付加価値加工技術の開発  
漬物製造における硝酸イオン濃度の低減化

担当部署：応用発酵部門素材開発担当

担当者名：佐々木康子、菅原久春

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：断 2005年度（2003～2005年度）

### 1. 目的

安心・安全な食品への消費者の関心は年々高まっており、野菜についても例外ではない。野菜由来の硝酸イオンが直接、健康に悪影響を与えるかどうかについては解明されていないが、ヒトの体内で硝酸イオンが亜硝酸イオンに還元されると、健康に害を及ぼす可能性があると言われていいる。硝酸イオンに対する不安から、低硝酸野菜への消費者のニーズが高まっていることを受け、農林水産省では、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「野菜における硝酸塩蓄積機構の解明と低減化技術の開発」（2002-2004年度）という事業を行ったが、本研究所も課題を分担した。事業終了後、継続して研究を行い、今年度は、さまざまな漬物における硝酸イオン濃度低減の条件について検討した。

### 2. 方法

#### 1) 硝酸イオン濃度の測定

硝酸イオン濃度の測定は、RQフレックス（MERCK社製）で行った。

#### 2) サンプル サンプルの漬物は以下の条件で製造した。

- ダイコン塩漬　ダイコン(5mm厚、銀杏切り)に40%の差し水（最終塩分濃度2%）をし、同様に、40%の差し水で3回漬け込みを行い、漬込1日毎にサンプリングした。
- キュウリ塩漬　キュウリ（1cm厚の輪切り）に40%の差し水をし（最終塩分濃度1.5%）、同様に、40%の差し水で2回漬け込みを行い、漬込1日毎にサンプリングした。
- カブ塩漬　カブ(5mm厚、銀杏切り)を30%の差し水をし（最終塩分濃度1.2%）、同様に、30%の差し水で2回漬け込みを行い、漬込1日毎にサンプリングした。
- ハクサイ塩漬（刻み）　ハクサイを1.5cm幅に切り、40%の差し水をし（最終塩分濃度1.5%）、同様に、40%の差し水で3回漬け込みを行い、漬込1日毎にサンプリングした。
- ハクサイ塩漬（4つ割）　ハクサイを縦に4つ割し、40%の差し水をし（最終塩分濃度1.5%）、同様に、40%の差し水で3回漬け込みを行い、漬込1日毎にサンプリングした。
- 生ハクサイ（部位別）　ハクサイを外葉から数枚ずつ剥がして9区分に分けた。
- 生ダイコン（部位別）　ダイコンを皮、先端部分（全体重量の5%）、残り部分に分けた。
- ダイコン漬　食塩濃度とシヨ糖濃度の変化によるダイコン漬の硝酸イオン濃度の変化を調べるため、それぞれ食塩濃度を1～4%、シヨ糖濃度を5～30%の間で漬込を行い、漬込1日目～3日目までサンプリングした。

### 3. 結果の概要

- ダイコン、カブ、ハクサイは、硝酸イオン濃度が高く、キュウリは、低かった。
- キュウリ塩漬では、40%の差し水で2回漬け込むことにより、硝酸イオン濃度を約50%減少させることができたが、ダイコン塩漬、カブ塩漬、ハクサイ塩漬では、差し水を増やして漬込回数を増やしても、硝酸イオン濃度は減少しないことがわかった。これは、野菜の水分だけが漬液に移行し、硝酸イオンは移行しにくいいためであると考えられる。ダイコン、カブ、ハクサイは、キュウリに比べ、野菜組織が壊れにくく、細胞内の硝酸イオンが分離しにくい構造になっているた

めではないかと推察された。

3) ハクサイは、外葉ほど硝酸イオン濃度が高く、内側になるほど低くなっていることがわかった。よって、外葉を何枚か捨てれば、硝酸イオン濃度を低下させることができると考えられる。

4) ダイコンについては、皮の硝酸イオン濃度は、残り全体と比べるとほぼ同じくらいであった。根の先端は、残りの部位と比べて、硝酸イオン濃度が約 2.5 倍高いことがわかったので、根の先端を切り落として捨てることで、硝酸イオン濃度を低下させることができると考えられる。

5) ダイコン漬について、食塩濃度とショ糖濃度をそれぞれ変化させて、硝酸イオン濃度の変化を調べたが、食塩濃度とショ糖濃度を高くしても、漬液の硝酸イオン濃度は増加しなかった。また、1 日以上漬けても、漬液中の硝酸イオン濃度は、1 日目とほとんど変わらなかった。

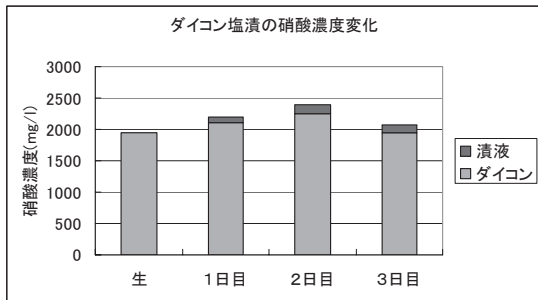


図1 ダイコン塩漬の硝酸イオン濃度

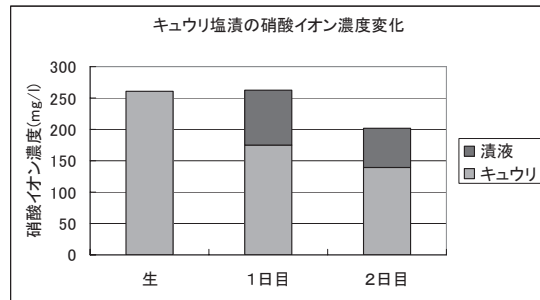


図2 キュウリ塩漬の硝酸イオン濃度

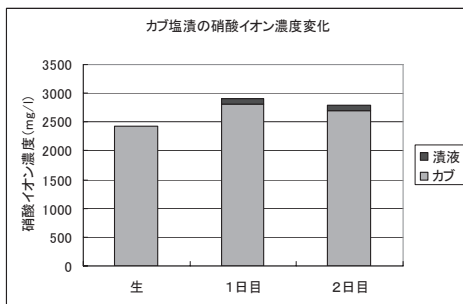


図3 カブ塩漬の硝酸イオン濃度

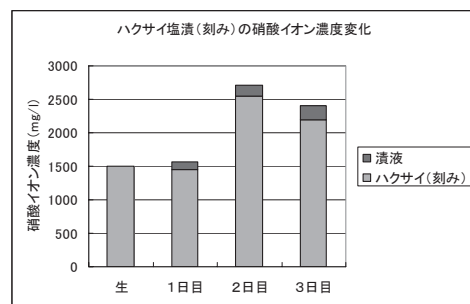


図4 ハクサイ塩漬(刻み)の硝酸イオン濃度

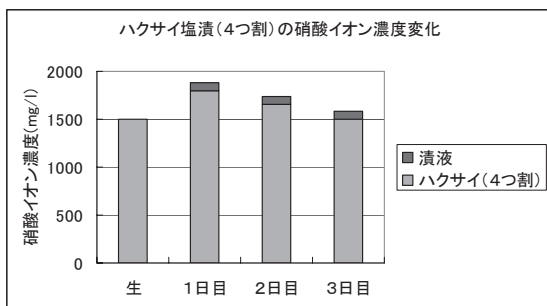


図5 ハクサイ塩漬(4つ割)の硝酸イオン濃度

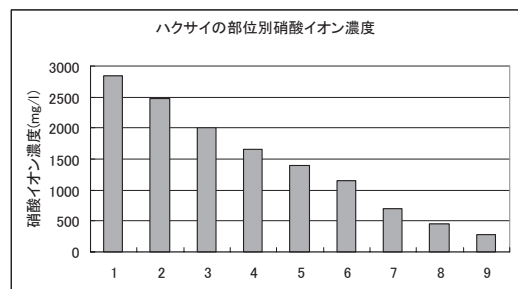


図6 ハクサイの部位別硝酸イオン濃度

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今回の漬込条件では、ダイコン、カブ、ハクサイの漬物は、硝酸イオン濃度が減らせなかった。

#### 5. 結果の発表、活用等

なし。

## 完了試験研究課題

研究課題：特産野菜高付加価値加工技術の開発  
漬物製造における硝酸イオン濃度の低減化

担当部署：応用発酵部門素材開発担当

担当者名：佐々木康子、菅原久春

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：完 2005 年度（2003～2005 年度）

### 1. 目的

安心・安全な食品への消費者の関心は年々高まっており、野菜についても例外ではない。野菜由来の硝酸イオンが直接、健康に悪影響を与えるかどうかについては解明されていないが、ヒトの体内で硝酸イオンが亜硝酸イオンに還元されると、健康に害を及ぼす可能性があると言われていいる。硝酸イオンに対する不安から、低硝酸野菜への消費者のニーズが高まっていることを受け、農林水産省では、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「野菜における硝酸塩蓄積機構の解明と低減化技術の開発」（2002-2004 年度）という事業を行ったが、本研究所も課題を分担した。事業終了後、継続して研究を行い、さまざまな漬物における硝酸イオン濃度低減の条件について検討した。

### 2. 方法

#### 1) 硝酸イオン濃度の測定

野菜や漬物には、重量の 2 倍の水を添加し、ミキサーにかけ、濾過してサンプルとし、RQ フレックス（MERCK 社製）で硝酸イオン濃度の測定を行った。

#### 2) サンプル

a) 漬物は、表 1 の条件で製造した。

表 1 漬物の製造条件

	ダイコン塩漬	キュウリ塩漬	カブ塩漬	ハクサイ塩漬 (刻み)	ハクサイ塩漬 (4つ割)
カット方法	5mm 厚 银杏切り	1cm 厚 輪切り	5mm 厚 银杏切り	1.5cm 幅	縦に 4つ割
差し水	40%	40%	30%	40%	40%
最終塩分濃度	2.0%	1.5%	1.2%	1.5%	1.5%
漬込回数	3	2	2	3	3

b) 生ハクサイ（部位別） ハクサイを外葉から数枚ずつ剥がして外側から 9 区分に分けて、それぞれをサンプルとした。

c-1) 生ダイコン（部位別） ダイコンを縦に 1/4 に切り、首から根の先までを長さで三等分にし、首の方から A、B、C とした。また、他の 1/4 部分については、全体を Whole とした。

c-2) 生ダイコン（部位別） ダイコンを皮部分、先端部分（全体重量の 5%）、残り全体部分に分け、サンプルとした。

d) ナス塩漬 ナスに食塩 3%とミョウバン 0.3%をまぶして 3 時間色止めし、下漬（下漬液の配合：ナスの 80%重量の水、全体の 4.3%の食塩、全体の 0.5%のビタミン C）を 3 日間行った。本漬は、下漬したナスに対して、水が同量、全体に対して、食塩 4.5%、ビタミン C 0.2%の配合で 5 日間漬け込んだ。

- e) ダイコン漬 食塩濃度とシヨ糖濃度の変化によるダイコン漬の硝酸イオン濃度の変化を調べるため、食塩濃度を1~4%、シヨ糖濃度を5~30%の間で変化させて漬込を行い、漬込1日目~3日目までサンプリングした。

### 3. 結果の概要

- 1) ダイコン、カブ、ハクサイは、硝酸イオン濃度が高く、ナス、キュウリは、低かった。
- 2) キュウリ塩漬では、40%の差し水で2回漬け込むことにより、硝酸イオン濃度を約50%減少させることができた。また、ナス塩漬も本漬込条件で半分以下に低減できることがわかった。ダイコン塩漬、カブ塩漬、ハクサイ塩漬では、差し水を増やして漬込回数を増やしても、硝酸イオン濃度は減少しないことがわかった。これは、野菜の水分だけが漬液に移行し、硝酸イオンは移行しにくいためであると考えられる。ダイコン、カブ、ハクサイは、野菜組織が壊れにくく、細胞内の硝酸イオンが分離しにくい構造になっているためではないかと推察された。
- 3) ハクサイは、外葉ほど硝酸イオン濃度が高く、内側になるほど低くなっていることがわかった。よって、外葉を何枚か捨てれば、硝酸イオン濃度を低下させることができると考えられる。
- 4) ダイコンについては、根の先端に近くなるほど、硝酸イオン濃度が高くなっているが、皮では、特に高くはなかった。根の先端は、残りの部位と比べて、硝酸イオン濃度が約2.5倍高かったので、根の先端を切り落とすことで、硝酸イオン濃度を低下させることができると考えられる。
- 5) ダイコン漬について、それぞれ食塩濃度とシヨ糖濃度を変化させて、硝酸イオン濃度の変化を調べたが、食塩濃度とシヨ糖濃度を高くしても、漬液の硝酸イオン濃度は増加しなかった。また、1日以上漬けても、漬液中の硝酸イオン濃度は、1日目とほとんど変わらなかった。

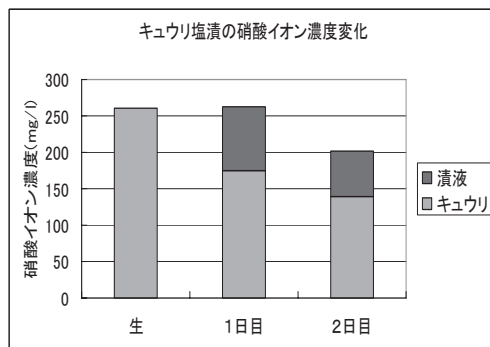


図1 キュウリ塩漬の硝酸イオン濃度

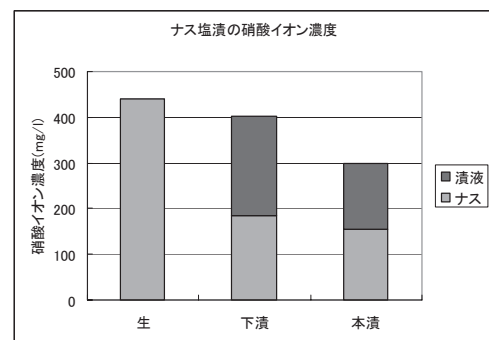


図2 ナス塩漬の硝酸イオン濃度

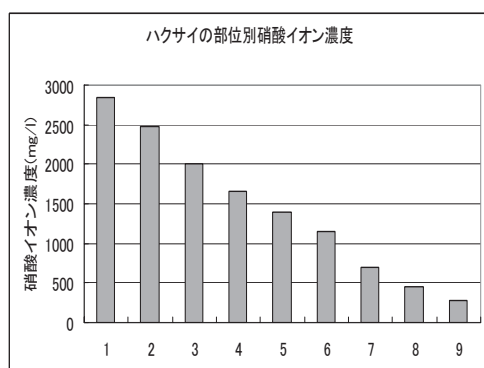


図3 ハクサイの部位別硝酸イオン濃度

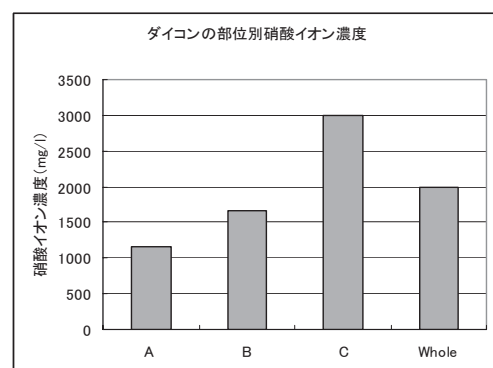


図4 ダイコンの部位別硝酸イオン濃度

### 4. 成果の活用面と留意点

5. 残された問題とその対応



単年度試験研究課題

研究課題：秋田みその品質の高度化に関する研究

(2)秋田みそ用醸造微生物の利用技術の開発と普及

担当部署：応用発酵部門発酵食品担当

担当者名：渡辺隆幸、尾張かおる

協力分担：秋田今野商店

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度（2003～2006年度）

1. 目的

近年、全国各地で味噌の品質高度化、差別化が試みられており、当県においても産地ブランドの強化、独自性のある商品開発支援が緊急かつ重要となっている。

当研究所で開発した味噌用種麹菌AOK139は味噌醸造中に脂質を高効率で分解、遊離脂肪酸を大量に生産する性質を有している。新麹菌を酵母および乳酸菌と組み合わせることにより、生理機能性と品質の高い秋田みその製造を目指すことを目的としている。

平成17年度は味噌の香り成分でもある抗変異原成分、脂肪酸エチルエステルを高含有する味噌の製造技術について酵母、乳酸菌の併用、種麹のブレンド等の検討を行い、高品質、高機能性味噌の製造に向けた技術的蓄積を図る。小仕込み試験に加え、県内企業においてAOK139使用味噌の商品化に役立てるための試験醸造を図る。

2. 方法

- 1) AOK139と乳酸菌、酵母併用技術の検討
- 2) 種麹のブレンドによる味噌中の脂肪酸エチル生成
- 3) 県内企業での試験製造

味噌小仕込み試験を実施  
味噌小仕込み試験を実施  
2企業で実施

3. 結果の概要

- 1) AOK139と乳酸菌、酵母併用技術の検討

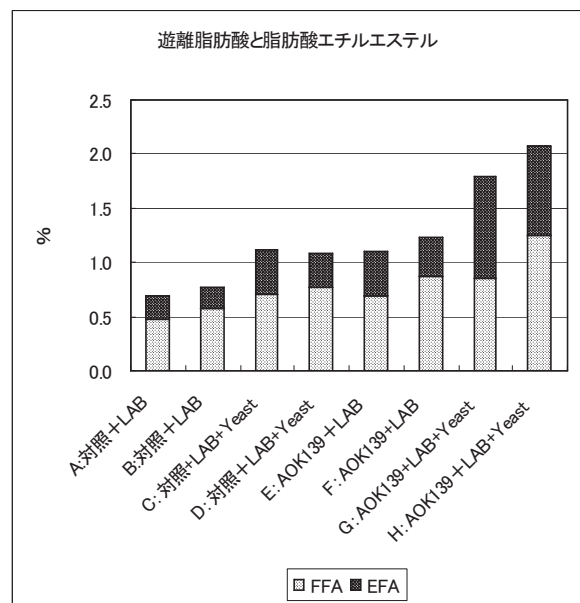
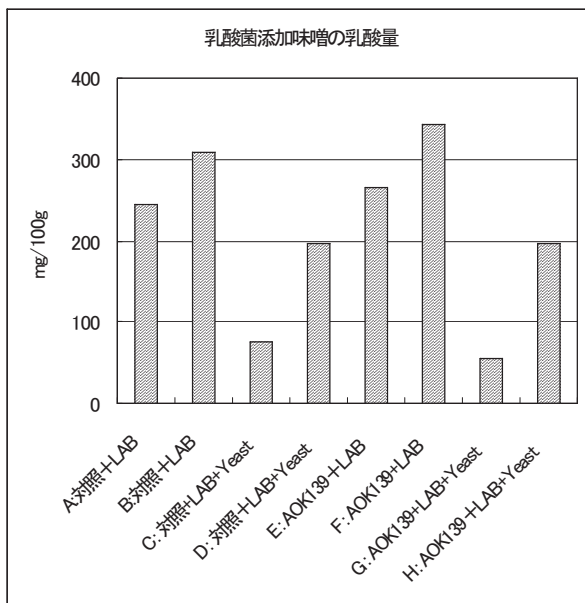


図1 AOK139、酵母、乳酸菌添加味噌の乳酸量

図2 AOK139、酵母、乳酸菌添加味噌の脂質

AOK139を使用した味噌は対照（従来の味噌用麹菌）使用味噌と同様の乳酸発酵

酵母添加による脂肪酸エチルエステル増加が認められた。

## 2) 種麴のブレンドによる味噌中の脂肪酸エチル生成

表 味噌用種麴とAOK139を混合接種した米麴の酵素力価

AOK139 混合率	$\alpha$ -アミラ ーゼ	糖化力	ACP	リパーゼ	セルラー ゼ
0	7.12	0.97	1.63	17.60	11.65
20	6.71	1.27	1.19	18.85	12.51
40	7.07	1.48	1.33	21.35	11.27
60	7.07	1.67	1.44	20.30	19.13
80	7.20	2.04	1.49	22.30	19.49
90	8.06	2.02	1.50	22.30	19.55
100	12.31	3.22	1.78	24.85	23.10

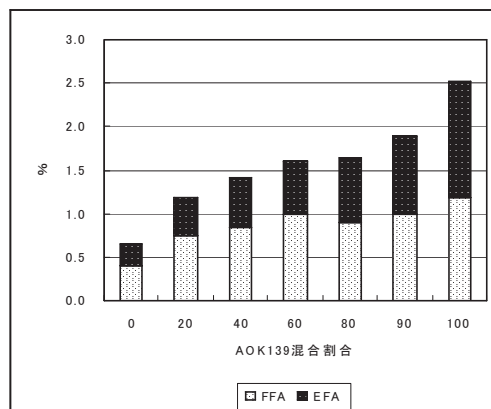


図3 ブレンド種麴使用味噌の脂質

今野商店味噌用種麴に対するAOK139の混合比率を上げることにより米麴の $\alpha$ -アミラーゼ、糖化力、リパーゼ、セルラーゼが増加し、製造した味噌の脂肪酸エチルエステル量も増加した。種麴のブレンドにより味噌中の脂肪酸エチルエステル量の加減が可能であることを認めた。

## 3) 県内企業でのAOK139使用味噌の試験製造

2企業において試験中

## 4) その他

麴の $\beta$ -グルコシダーゼと味噌のイソフラボンアグリコン量の関連について検討。

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点、

製麴時の諸条件が麴の品質、酵素力価に与える影響の検討

味噌製造時の諸条件が味噌の品質に与える影響、EFAを指標として味噌の品質向上を図る。

味噌製造業界、消費者全般へのEFAの有用性の訴求。

必要な協力関係 秋田今野商店他

次年度の具体的計画、当初計画の変更なし

## 5. 結果の発表、活用等

特許出願「発酵食品用種麴及び該種麴を用いる発酵食品の製造法」

文献および記事

麴の $\beta$ -グルコシダーゼと米味噌のイソフラボンアグリコン量 (味噌の科学と技術53, 388-393)

新味噌用麴菌の開発とその利用 (温故知新) H17. 7. 15発行

口頭発表

秋田味噌のイソフラボンアグリコン量と麴の $\beta$ -グルコシダーゼ (第53回全国味噌技術大会)

抗変異原性に基づく味噌用麴菌の開発 (第4回フードフォーラム北東北) H17. 11. 18

抗変異原性を指標とする味噌用麴菌の開発 (あきた産学官連携F&知の種苗交換会) H17. 12. 1

ポスター発表

抗変異原性を指標とする味噌用麴菌の開発 (平成17年度食品関係技術研究会) H17. 11. 10

## 単年度試験研究課題

研究課題：秋田みその品質の高度化に関する研究(H15～19)

北東北産穀類の製麴とその応用

担当部署：応用発酵部門 発酵食品担当

担当者名：畑山 誠

協力分担：高橋慶太郎、尾張かおる、渡辺隆幸

予算区分：県単（競争的研究資金事業（大豆））

研究期間：継 2005年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

北東北で生産される穀類で製麴試験を行い、その製麴方法の確立を図ることを目的とし、得られた麴で味噌やパンの製品バリエーションを増やす試みを行うとともに、その機能性探索についても試験を進める。本年度は、飯米を対照穀類として、ひえ、あわ、きび、紫黒米、小麦の製麴を行った。また、雑穀の麴を用いて味噌の試験醸造を行い、その成分と機能性について調べた。

### 2. 方法

1) 供試原料：飯米（めんこいな）、ひえ、あわ、きび、紫黒米、小麦  
種 麴：味噌用9点、焼酎用1点、酒母用1点

2) 製麴試験

製麴は恒温恒湿機中で蓋麴法に習い行った。得られた麴について酵素力価分析等を行った。

3) 雑穀味噌の製造試験

通常のみ麴味噌の製造法に準じて仕込み、2ヶ月間の温醸の後、分析と官能試験に供した。

4) 雑穀味噌の一般成分分析と官能試験

5) 雑穀味噌の機能性試験

DPPHラジカル捕捉活性と抗変異原活性（Ames試験）を行った。

### 3. 結果の概要

1) 製麴試験結果

すべての供試原料で麴として利用可能な酵素力価を持つ麴が得られた。

原 料	種麴	酵素力価(U/g麴)		
		$\alpha$ アミラーゼ	糖化力	酸性CAP
米	みそ	1000～2000	200～1000	5500～ 9300
ひ え	〃	900～1200	150～ 600	13000～24000
あ わ	〃	1400～2200	220 ～800	16000～26000
き び	〃	1500～2400	170～1200	18000～27000
紫黒米	焼酎	50～ 80	1100～2000	6400～ 8900
小 麦	酒母	2000～2500	240～ 300	10000～15000

\*酵素力価は乾物換算値

2) 雑穀味噌の成分分析結果

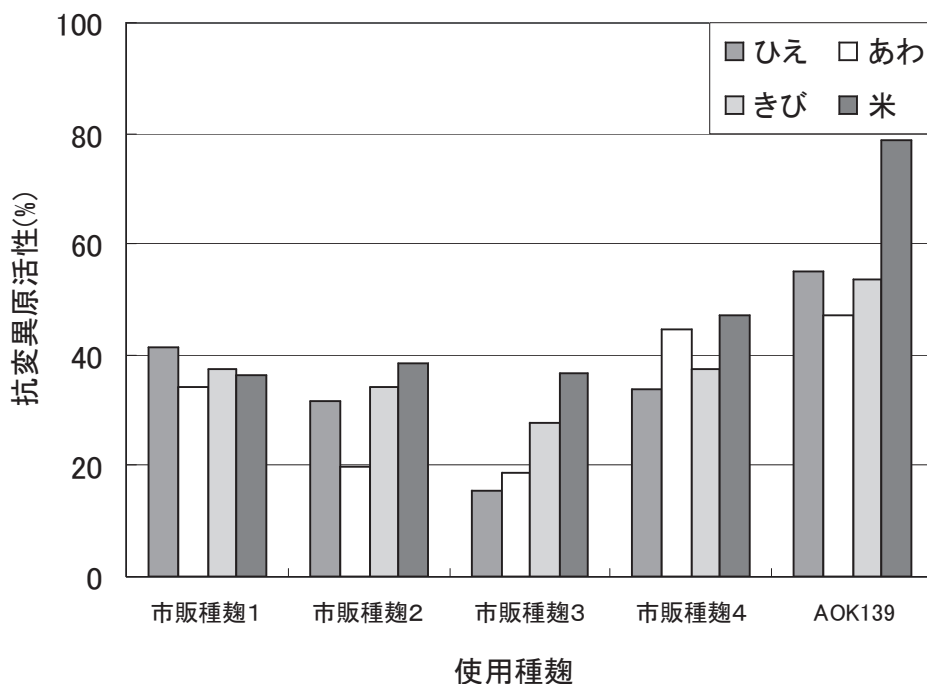
ひえ、あわ、きびの雑穀味噌は、米味噌と比較して還元糖とアルコール分が低く、明度とホルモール窒素が高い傾向にあった。

3) 雑穀味噌の官能試験結果

あわ味噌は米味噌と同程度の評価、ひえ、きび味噌はやや低い評価であった。また雑穀味噌は、組成や舌触りから米味噌と同程度の水分含量では不足という指摘があった。

#### 4) 機能性試験結果

DPPHを用いたラジカル補足活性は、雑穀麴の味噌は米麴味噌と同等からやや低い活性であった。Ames法で行った抗変異原活性試験の結果、種麴AOK139の活性が他の市販種麴菌より全ての味噌で高かった。また雑穀麴味噌の抗変異原活性は米麴味噌と比較して、同等からやや低い活性であった。



図、雑穀味噌の抗変異原活性

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

雑穀麴味噌は、官能検査で組成に難があり、なめらかさが不足していると指摘された。そこで水分含量を増やした味噌を仕込み、発酵期間を長くして、組成改善に取り組みたい。また、雑穀等の麴および麴の糖化物を原料としたパンの製造試験、紫黒米麴を使った食品の製造試験に取り組みたい。

#### 5. 結果の発表、活用等

未定

## 単年度試験研究課題

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

中 課 題：新形質米を活用した新たな米加工食品の開発

担当部署：食品開発部門

担当者名：大久長範

協力分担：農業試験場作物部・水稲育種担当 小玉郁子、聖霊女子大 鶴巻ひとみ

予算区分：県単（競争的資金）

研究期間：継 2005 年度（2005～2006 年度）

### 1. 目的

秋田県農業の基盤である「米」の加工特性を把握し食品産業への米の利用を促進する。具体的には、低アミロースの特性を活かした加工品を開発し、食品産業の活性化を図ることを目的としている。低アミロース米は澱粉のアミロース含量が 5 から 15%と一般粳米より低く、加工米飯、米菓、チルド寿司飯等の加工に適しているが、今回は低アミロース米を「早炊き米」（無浸漬、無洗）として利用が可能かどうか検討することとした。

### 2. 方法

- 1) 試験試料：秋田県農業試験場の圃場及び委託試験圃場で栽培した低アミロース米（淡雪こまち）などの玄米を 90%に搗精し使用した。
- 2) アミロースの定量方法：Juliano の方法に従って見かけのアミロース含量を測定した。
- 3) 飽和水分率（精米米粒）：25℃で 24 時間水に浸した精米を桐山吸引ロートで濾過し、135℃で 2 時間乾燥させた。重量変化から最大吸水量を求めた。
- 4) 炊飯米をテンシプレッサー（タケモト電機製 TTP-50B2 型）で硬さを測定した。岡留らの方法に従い、炊飯米の高さの 90%(H2)の変形を加えたときの硬さ（H2）と粘り（-H2）を測定し、それらの比（バランス度、-H2/H2）を求めた。

### 3. 結果の概要

前年度までの要約：農業試験場では低アミロース米である秋田半糯 80 号を開発し「淡雪こまち」として種苗登録した。品種特性：早生の早、並の耐倒伏性、強い耐冷性、収量はでわひかり並、玄米品質はスノーパール並。気象条件、栽培年あるいは栽培地によりアミロース含量が 3 から 10 %で変化することが分かっていた。

当該年度に得られた結果：

#### 1) 低アミロース米の特性

1 5 年度産淡雪こまちはあきたこまちよりも吸水速度が早いことがわかった。RVA で調べた糊化開始温度は、あきたこまち 66.5℃に対し、65.6℃と約 1℃低いものであった。

#### 2) 無浸漬炊飯

加水量を変えて炊飯し米飯粒のテクスチャーを測定したところ、未浸漬炊飯でも硬さが低くなった。バランス度（-H2/H2）は 30 分間浸漬後に炊飯したあきたこまちに近づき、加水 160%ではあきたこまちは越える 0.27 となった（表 1）。

#### 3) アミロース含量と飽和水分率

何種類かのもち米、低アミロース米、粳米のアミロース含量と飽和水分率の関係を調べた。吉井らが指摘している通り、それらには負の相関があった（図 1）。また精米（白米）の白度と飽和水分率には正の相関が認められた（図 2）。

表1 淡雪こまち炊飯米の粘弾性

	硬さ (N)	粘り (N)	バランス度
淡雪こまち (未浸漬)			
140%加水	32	7.6	0.24
150%加水	31	7.5	0.24
160%加水	28	7.6	0.27
あきたこまち (浸漬30分)			
150%加水	35	8.8	0.25
160%加水	33	8.6	0.26

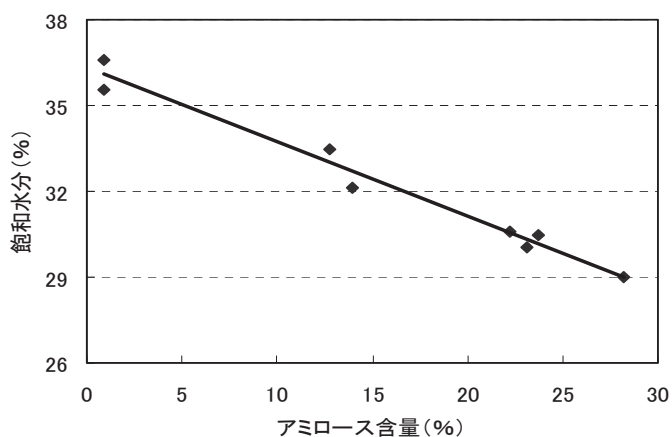


図1 アミロース含量と飽和水分率

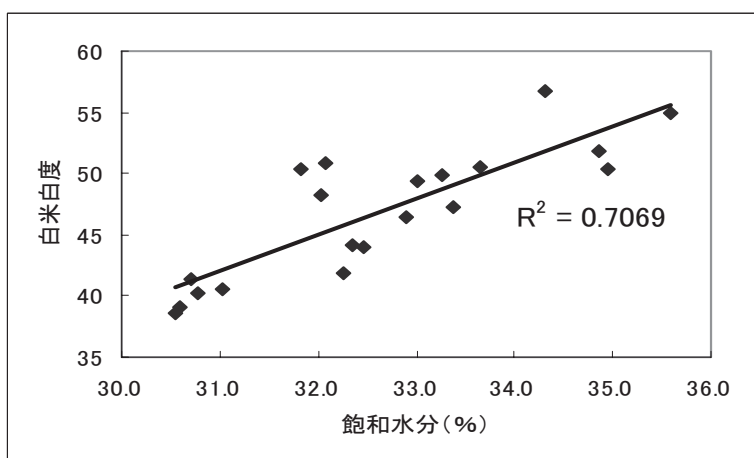


図2 精米(白米)白度と飽和水分率

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点：見掛けのアミロース含量が高めにでているので定量法を再検討すると同時に試料の点数を増加させ、アミロース含量と飽和水分の関係を明らかにする。無浸漬でしかも短時間で炊飯できる条件（アミロース含量と加水量との関係）を見出す。

必要な協力関係：県農業試験場では栽培法（移植・直播、施肥量、登熟温度など）とアミロース含量の関係を調査している。

#### 5. 結果の発表、活用等

結果を取り纏め調理科学会あるいは食品科学工学会で発表する予定

## 単年度試験研究課題

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

新形質米を活用した新たな米加工品の開発と加工適性を向上させる栽培技術の  
解明

担当部署：食品開発部門食品工学担当

担当者名：高橋徹，大久長範

協力分担：農業試験場

予算区分：県単（競争的資金）

研究期間：継 2005 年度（2005～2006 年度）

### 1. 目的

米の消費拡大に向けた取り組みが各方面で進められているが，原料コストが高いために食品製造企業にとっては使いたくても使えない状況が続いている。農業試験場で新規に開発された秋田 63 号は従来のウルチ米と比較して収量が多く，加工用米としてのコストの低減が期待されている。そこで，秋田 63 号の物理化学特性と調理加工適性を明らかにすることを目的とした。

### 2. 方法

あきたこまちおよび秋田 63 号を測定に供した。

#### ①精米試験

小型精米機による 90%搗精歩留まりでの碎米発生率を求めた。

#### ②米粉の物理化学特性

米粉のアミロース量，平均粒子径，糊化特性を測定した。

#### ③製パン特性

小麦粉の 30%置換による食パンをホームベーカーリーにて試作して，比容積を測定した。

### 3. 結果の概要

#### ①精米試験

秋田 63 号は搗精歩留まり 90%までに要した時間はあきたこまちよりも短かった。一方，完全整粒の割合が 87%であり，あきたこまちよりも約 10%低い値であることから，搗精時の碎米が発生しやすい品種である。

#### ②米粉の物理化学特性

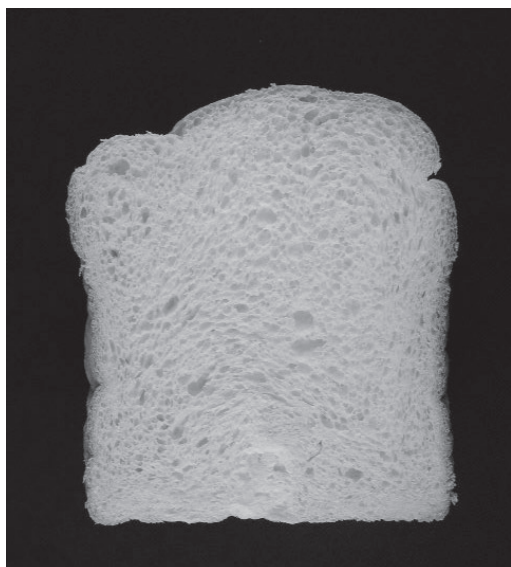
各米粉の分析結果を表 1 に示した。秋田 63 号はあきたこまちよりもアミロース量が多かったが，平均粒子径や糊化特性には差異は見られなかった。糊化特性測定における最高粘度は秋田 63 号が小さく，アミロース量あるいはでん粉の微細構造の違いによる影響が考えられる。

表 1 米粉の物理化学特性値

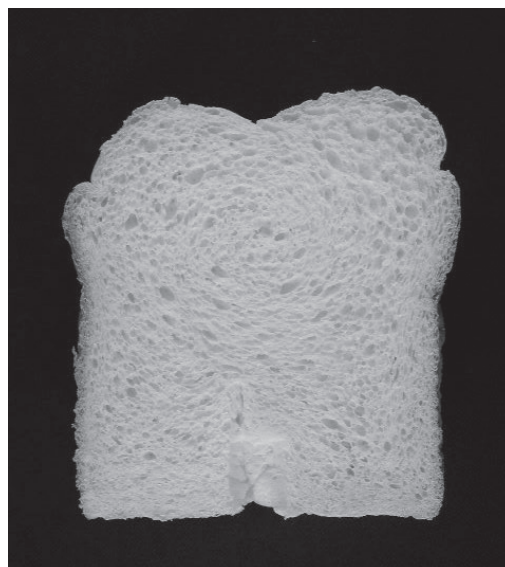
	たん白質 [%]	アミロース量 [%]	平均粒子径 [ $\mu$ m]	糊化温度 [ $^{\circ}$ C]	糊化吸熱 エンタルピー [kJ/kg]
秋田 63 号	6.5	18.9	135	61.6	7.2
あきたこまち	6.2	17.5	136	62.3	7.5

### ③製パン特性

秋田 63 号およびあきたこまちを配合した食パンの断面写真および比容積を図 1 に示した。比容積に差は見られず、外観はあきたこまちを用いたパンと比較して遜色なかった。内相の硬さの経時的変化を明らかにする予定である。



秋田 63 号  
比容積  $3.46 \times 10^{-3} [\text{m}^3/\text{kg}]$



あきたこまち  
比容積  $3.45 \times 10^{-3} [\text{m}^3/\text{kg}]$

図 1 食パンの断面写真

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

パンあるいはめん、菓子におけるでん粉の老化特性とそれに及ぼす要因を解明する。

### 5. 結果の発表、活用等



## 単年度試験研究課題

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

米飯の有効利用に関する研究

古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究

担当部署：食品開発部門資源利用担当

担当者名：大能俊久

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

米を貯蔵すると、炊飯した際の米飯の硬さや粘りが変化してくる。古米は一般的に好まれないが、それは古米米飯が硬くて粘らないためである。この古米化によるテクスチャー変化の原因については、1970年頃から①遊離脂肪酸の関与②細胞壁の架橋構造③タンパク質の重合や変性、などの説が出ているが、詳しく分かっていない。

平成14年度から古米に関わる研究を進めていく中で、古米米飯のテクスチャー変化にタンパク質が関与している可能性があることを指摘してきた。これらの変化は、タンパク質が酸化してSS結合を形成し重合することで起こると推察した。本年度は、含気貯蔵に加えて脱気貯蔵の古米について、米飯テクスチャーや米飯になるまでの挙動について検討を行い、古米のテクスチャー劣化の原因を探った。

### 2. 方法

#### 1) 新米と古米の米飯テクスチャー

秋田県産あきたこまち無洗米（無処理、含気5ヶ月30℃貯蔵、脱気5ヶ月30℃貯蔵）をそのまま1.6倍量の炊飯溶液に1時間浸漬後、ナショナル電気炊飯器SR-W100で炊飯し、2時間後の米飯テクスチャーをテンシプレッサーで測定した。

#### 2) 新米と古米の溶出固形分

新米、古米サンプル5gをプリンカップに採り、蒸留水8mlを加えて1時間浸漬後、80℃の湯浴中にプリンカップごと移して時々攪拌しながら5分間湯浴中で加熱処理を行った。湯浴から取り出し蒸留水10mlを加えた後液と米粒を分離し、浸漬液を回収して、105℃で3時間加熱乾燥して溶出固形分を求めた。

#### 3) 浸漬時に脱離したタンパク質のSDS-PAGE

新米、古米米粒10gを蒸留水、または8mM亜硫酸ナトリウム水溶液16ml中で1時間浸漬した。その後浸漬液を回収して減圧下で乾燥させた。この固形分に1mlのA溶液（55mMトリスバッファー、5%メルカプトエタノール、1%SDS、pH7.0）を加えて溶解した。遠心した上澄（タンパク質濃縮液）をB溶液（0.1Mトリスバッファー、pH6.8、0.02%ブロモフェノールブルー、40%グリセロール）と混合して電気泳動にかけた。

### 3. 結果の概要

#### 1) 前年度までの結果

これまで、古米の表層は酸化が進んでいること、古米のテクスチャーが米粒の外層を削ることで改良されること、還元剤で改良されること、などが分かった。

#### 2) 今年度の結果

含気貯蔵、脱気貯蔵の古米の米飯テクスチャーを表2に示した。古米のテクスチャー劣化にタンパク質の酸化が関与するという推測から、脱気貯蔵でバランス度の低下が抑えられると予測したが、脱気貯蔵も含気貯蔵とほぼ同様に米飯の硬化が起こるという結果となった。

次に、古米のテクスチャー劣化の機構を明らかにするべく以下の研究を行った。まず新米と古米の溶出固形分の測定を行い結果を表2に示した。溶出固形分は、新米で多く古米で少ない結果

となり、米飯のバランス度の結果と一致していた。このことから、古米のテクスチャー劣化は加熱時に溶出する固形分が減少することが原因であると推測した。また、浸漬時に脱離したタンパク質を図1に示した。古米は脱離するタンパク質が少なく、それが亜硫酸ナトリウム溶液による浸漬で改良されることが分かった。以上のことから、酸化が主因かは判断できないが古米ではタンパク質の難溶化が起り、米粒からの固形分の脱離が抑えられてテクスチャーを劣化させていると推測される。

表1 サンプルの履歴

名称	履歴
新米A	秋田県産あきたこまちの無洗米
古米B	新米Aを30℃で5ヶ月含気貯蔵したもの
古米C	新米Aを30℃で5ヶ月脱気貯蔵したもの

表2 新米または古米米飯のテクスチャーと溶出固形分

	テクスチャー			溶出固形分 (g/100g精米)
	硬さ(N)	粘り(N)	バランス度	
新米A	32.57±3.98	9.80±0.55	0.304±0.033	3.94±0.30
古米B	35.03±4.46	9.25±0.68	0.269±0.041	2.75±0.16
古米C	35.45±4.41	9.57±0.69	0.274±0.037	3.24±0.14

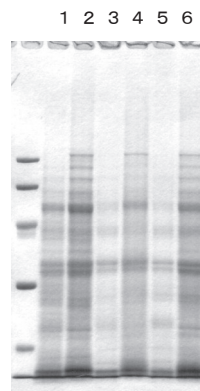


図1 浸漬時に脱離するタンパク質のSDS-PAGE

1レーン:新米A(DW浸漬)、2レーン:新米A(Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>浸漬)、  
3レーン:古米B(DW浸漬)、4レーン:古米B(Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>浸漬)、  
5レーン:古米C(DW浸漬)、6レーン:古米C(Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>浸漬)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

古米化の機構の解明を継続して行う予定である。さらに、古米の改質や古米化しにくい貯蔵方法も検討する。

#### 5. 結果の発表、活用等

今後、学会発表と学会誌への投稿を予定している。

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

生澱粉分解酵素利用

担当部署：食品開発部門資源利用担当

担当者名：金子隆宏

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継続 2005年度（2003～2007年度）

## 1. 目的

県産米等の新規需要開拓の為、生澱粉分解酵素(RSA)を用いて、米粉などを $\alpha$ 化することなく酵素処理し、澱粉粒本来の特徴を残しつつ、糊化及び老化特性などを改変させる。また澱粉粒を有孔化し、包接効果など種々の機能性を付与する。さらには、無蒸煮糖化により、米粉中の熱感受性有用成分(蛋白成分、揮発性成分、香味ほか機能成分)の非加熱抽出なども試みる。

本年度は酵素遺伝子のシーケンス確認、他の放線菌アミラーゼとの比較、組換えなど試みた。

## 2. 方法及び結果の概要

前年度までに：県内製粉工場より見出した高度生澱粉資化性菌三株を、その16s塩基配列よりそれぞれ*B. cereus*、*Aeromonas*属、*Streptomyces*属と同定した。このうち*Streptomyces*属の生成する生澱粉分解酵素を精製し、特性解析した。また、二段階PCR法にて本酵素遺伝子をクローニングし、その構造解析を行った。さらに、本遺伝子を*S. cerevisiae*で発現させ、酵素の安定生産を可能とした。

本年度は：既知の $\alpha$ -アミラーゼに共通して見られる、触媒作用に係わる4つの保存領域が本酵素遺伝子にも見出されること、また本酵素成熟蛋白は431アミノ酸残基で構成され最も小さい $\alpha$ -アミラーゼのひとつであること、その立体構造はタカアミラーゼ(487残基)とほぼ類似していると思われること、グルコアミラーゼ、CGTaseなどの様な生澱粉吸着ドメインなどは有せず、内部のアミノ酸の置換により生澱粉吸着能を獲得したと思われること、など推定した。また、他の放線菌由来の $\alpha$ -アミラーゼは何れも431残基以上からなり、本酵素のC-末端側に40～100アミノ酸残基を付加した形であった。にもかかわらず、生澱粉に対する活性比は本酵素と比して様々であり、これら放線菌の場合C-末側の付加と、生澱粉吸着能とが直接の相関ではないことなど推定した。

## 3. 今後の問題点と次年度以降の計画

本年度までの3か年で基礎データの解析をほぼ完了した。以降2か年で酵素処理澱粉の調製、特性解析など応用研究に進みたい。

## 4. 結果の発表、活用等

・結果の文献発表：*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(6), 1073-1081(2005)

：Die starke 投稿準備中

・研究会への報告：本年度はなし

・マスコミ等への発表：なし

・知的所有権の取得：

特許出願(特開 2005-143440)「新規アミラーゼ、該アミラーゼ生産能を有する

微生物及びその製造方法」

特許出願(特願 2005-208480)「新規遺伝子、それを用いた形質転換体及びその利用」

(秋田県での電子出願第1号)

```

E-2248.txt          1  SPPGDKDVTADLFEWNYASVAKECTTALGPAGYGYVQVSPPEHIQGAQWWTSYQPVSYK  60
coelicolor.txt     1  SPPGDKDVTAVMFEWKFTSVAQAQCTDTLGPAGYGYVQVSPPEHIQGGQWWTSYQPVSYR  60
limosus.txt        1  APPGAKDVTAVLFEWKFASVARACTDLSLGPAGYGYVQVSPPEHIQGSQWWTSYQPVSYK  60
lividans (TK21) .txt 1  SPPGDKDVTAVMFEWKFTSVAQAQCTDTLGPAGYGYVQVSPPEHIQGGQWWTSYQPVSYR  60
lividans (TK24) .txt 1  SPPGDKDVTAVMFEWKFTSVGQAQCTDTLGPAGYGYVQVSPPEHIQGGQWWTSYQPVSYR  60

E-2248.txt          61  IAGRLGDRTAERFMVDTCHAAGVKVVVDVFNHMSAGSGTGTGSSYTKYDYPGLYSVYD  120
coelicolor.txt     61  IAGRLGDRAQEKSMVDTCHAAGVKVVADSVVNHMSAGNGTGTGSSYTKYDYPGLYSSND  120
limosus.txt        61  IAGRLGDRAAFKSMVDTCHAAGVKVVADSVFNHMAAGSGTGTGSSAYOKYDYPGLWISGAD  120
lividans (TK21) .txt 61  IAGRLGDRAQEKSMVDTCHAAGVKVVADSVVNHMSAGNGTGTGSSYTKYDYPGLYSSND  120
lividans (TK24) .txt 61  IAGRLGDRAQEKSMVDTCHAAGVKVVADSVVNHMSAGNGTGTGSSYTKYDYPGLYSSND  120

E-2248.txt          121 FDDCTSQVSNYSDRWVQHCCELVLGLADLDTGEEYVRKTIAGYMNDDLTLGVGDGFRIDAAK  180
coelicolor.txt     121 LDNCTSQINNYGDRFVQVECELVLGLADLDTGEDYVRGKIAGYLNDDLTLGVGDGFRIDAAK  180
limosus.txt        121 MDDCRSEINDYGNRANVQNCCELVLGLADLDTGESYVRDRIAAYLNDDLTLGVGDGFRIDAAK  180
lividans (TK21) .txt 121 LDNCTSQINNYGDRFVQVECELVLGLADLDTGEDYVRGKIAGYLNDDLTLGVGDGFRIDAAK  180
lividans (TK24) .txt 121 LDNCTSQINNYGDRFVQVECELVLGLADLDTGEAYVRGKIAGYLTDDLTLGVGDGFRIDAAK  180

E-2248.txt          181 HIPAGDLANIKSRLTSPSAYWKEVVIYGAAGEAVQPSSEYTGNDVQVEFRYAYDLKRVFTSE  240
coelicolor.txt     181 HMAAADLAAIKSRLSPNVYWKHEAIYGAGEAVSPTEYVGSQDVQVEFRYARDLKRVENGE  240
limosus.txt        181 HMPAADLTAIKAKVNGSTYWKQEAHGAAGEAVQPSSEYLGTDVQVEFRYARDLKRVFQNE  240
lividans (TK21) .txt 181 HMAAADLAAIKSRLSPNVYWKHEAIYGSAGEAVSPTEYVGSQDVQVEFRYARDLKRVLQGE  240
lividans (TK24) .txt 181 HMAAADLAAIKSRLSPNVYWKHEAIYGAAGEAVSPTEYVGSQDVQVEFRYARDLKRVENGE  240

E-2248.txt          241 KLAYLITNYGEGWGYLNSVAVGVFVDNHDTERNGSTLNYKSGADYTLAIVFMLAWPYGAPD  300
coelicolor.txt     241 NLAYLKNFGEAWGHLPSDEAAVFVTNHDTERNGEITLTYKDGATYTLAIVFMLAWPYGSPD  300
limosus.txt        241 NLAHLKNFGEDWGYMASGKSAVFVDNHDTERGGDTLNYKNGSAYTLAIVFMLAWPYGSPD  300
lividans (TK21) .txt 241 NLAYLKNFGEAWGHLPSDEAAVFVTNHDTERNGEITLTYKDGATYTLAIVFMLAWPYGSPD  300
lividans (TK24) .txt 241 NLAYLKNFGEAWGHLPSDEAAVFVTNHDTERNGEITLTYKDGATYTLAIVFMLAWPYGSPD  300

E-2248.txt          301 VHSYEWSDRDAGPPNGQVNAQYSDGWKQHWAPREIKSMVAFRNTARCGQAVANWWDNNG  360
coelicolor.txt     301 VHSYEFTEHDAGPPNGQVNAQYSDGWKQHWAREISSMVGERNTARCGQVTDWWDNNG  360
limosus.txt        301 VHSYEFTEHDAGPPNGTVNAQYSDGWKQHWAPREISSMVGLRNTASCGQVTDWWDNNG  360
lividans (TK21) .txt 301 VHSYEFTEHDAGPPNGVQVNAQYSDGWKQHWAREISSMVAFRNTARCGQVTDWWDNNG  360
lividans (TK24) .txt 301 VHSYEFTEHDAGPPNGQVNAQYSDGWKQHWAREISSMVAFRNTARCGQVTDWWDNNG  360

E-2248.txt          361 NAIAFGRGKAYVAIHEGSSLRTRTFQTSLPAGDYQVQNTPTVTVNSSQOSTATLGSNT  420
coelicolor.txt     361 DQIAFGRGSKAYVAIHEGTSLRTRTFQTSLPAGDYQDVQTKGKVTVDGAGRFTATLGAGT  420
limosus.txt        361 DQIAFGRGKAYVAIHEGSLRTRTFQSLPGGAYQDVQSGRSVTVGSDGTFATVAAGT  420
lividans (TK21) .txt 361 DQIAFGRGSKAYVAIHEGTSLRTRTFQTSLPAGDYQDVQTKGKVTVNGAGRFTATLGAGT  420
lividans (TK24) .txt 361 DQIAFGRGSKAYVAIHEGTSLRTRTFQTSLPAGDYQDVQTKGKVTVDGAGRFTATLGAGT  420

E-2248.txt          421 ALALYAGKSSC-----  431
coelicolor.txt     421 AVALHVGARTCDGGDPGDPDPS-SGVSFVAVDATTSWGQNIYVTGNRPELGN-----  471
limosus.txt        421 ALALHTGARTCSGGGTG-PGTGQ-TSASFHVNATTAWGENIYVTGDQAALGNWDPARALK  478
lividans (TK21) .txt 421 AVALHVGARTCDGGDPGDPDPSFRRVPSAVDATTSWGQNIYVTGNRPELGNWNPGGALQ  480
lividans (TK24) .txt 421 AVALHVGARTCDGGDPGDPDPS-SGVSFVAVDATTSWGQDIYVTGNRPLGHWDPPGGGLQ  479

E-2248.txt          431 -----  431
coelicolor.txt     471 -----  471
limosus.txt        479 LDPAAYPVWKLVDVPLAAGTPFQYKYLKRDAAAGKAVWESGANRTATVGTGTGALTNDTWRG  538
lividans (TK21) .txt 481 LDPAAYPVWKRDELPEGTTTFEYKYLKRDAGNVTWESGANRTATVNTTKT-TLNDTWRN  539
lividans (TK24) .txt 480 LDPAAYPVWKRDELPEGTTTFEYKSLRKADAGNVTWESGANRTATVNTTKT-TLNDTWRN  538

```

Fig. E-2248 由来の生澱粉分解酵素と放線菌由来の  $\alpha$ -アミラーゼ 4 種との比較

## 単年度試験研究課題

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

穀類粉を用いた新商品開発

担当部署：食品開発部門食品加工担当

担当者名：高島 聡

協力分担：(有)大成食品、米加工食品研究会（主幹企業：(株)淡路製粉）

予算区分：県単

研究期間：継（～2008年）

### 1. 目的

稲庭うどん等の県内地域特産麺類の高品質化により県産麺類の販売促進をはかり、業界の発展に寄与するために県産米粉および小麦等の加工技術の開発を行う。

米粉の利用拡大をするため、米粉パスタ（仮称）および冷凍米粉パン（仮称）を開発し、商品化を推進する。また、冷凍米粉パン（仮称）の解凍条件を検討し、解凍システムを構築する。

### 2. 方法

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討  
県内稲庭うどんおよび大手製麺メーカーの乾麺について、40℃ 1か月の加速試験を行い、加速試験直後および加速試験後3か月について、定法により調理し、試食検討をおこなった。
- ・米粉パスタ（仮称）の開発  
(有)大成食品（横手市平鹿醍醐）を指導し、イタリア製押し出し式パスタマシンを用いて、米粉パスタ（仮称）を試作する。
- ・冷凍米粉パン（仮称）の開発  
(財)あきた企業活性化センター主催事業と連動して、冷凍米粉パン（仮称）を開発し、その解凍条件を検討し、販売のための解凍システムを構築する。

### 3. 結果の概要

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討  
加速試験直後および加速試験3か月後の稲庭うどんの食味に劣化は認められなかった。
- ・米粉パスタ（仮称）の開発  
イタリア製押し出し式パスタマシンを用いて、米粉85、小麦粉グルテン15および米粉100の生米粉パスタ（仮称）を開発した。これを乾燥することにより乾燥米粉パスタがえられた。
- ・冷凍米粉パン（仮称）の開発  
米粉85 小麦粉グルテン15の割合において、冷凍米粉パン（仮称）を開発した。  
また、冷凍米粉パン（仮称）を解凍する方法として、自然解凍法、電子レンジ解凍法、オープン解凍法 を開発し、冷凍米粉パン（仮称）解凍システムを開発した。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討  
引き続き保存試験をおこない、劣化する条件を検討する。
- ・冷凍米粉パン（仮称）の開発  
米粉のさらなる利用拡大をはかるため、製パン用米粉ミックス粉を製粉メーカーと開発し、一般家庭 においても米粉パンができるシステムについて開発する。  
また、製パンのみならず、米粉の洋菓子への利用も検討し、米粉洋菓子の県内ブランドの構築を目指す。

### 5. 結果の発表、活用等

米粉パスタ（仮称）・・・秋田県種苗交換会 知事賞受賞

冷凍米粉パン（仮称）・・・(財)あきた企業活性化センター 研究会事業 成果発表

米粉パスタ（仮称）



米粉パスタ（仮称）メニュー例



## 単年度試験研究課題

研究課題：県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術開発

中課題：1) 穀類の活性酸素消去能を活用した製品と加工法の開発  
2) 大豆品種すずさやか加工適性及び生理機能性評価（県競争資金課題）

担当部署：食品開発部門 食品工学担当

担当者名：秋山美展、大久長範

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

近年の食品に係わる事件や事故によって、食品やその原料生産者に対する社会の目はますます厳しいものになってきている。その一方で、食と健康や美容との関係に対する関心が高まっており、食によって健康の維持・増進をはかりたいとする人が増えてきている。

食品中の活性酸素消去成分が、がんや生活習慣病の予防に有効であることはすでに多くの科学的データによって支えられている。米をはじめ雑穀等の穀類はいずれも活性酸素消去成分を含むが、その活性は必ずしも高いものではない。しかしながら、穀類は大豆や茶などのフラボノイドと共存することにより、その活性酸素消去活性が著しく高められる効果（活性酸素消去相乗効果）のあることを見いだしており、この相乗効果を活用することにより、既存食品の活性酸素消去活性を化学的な修飾なしに数倍程度まで高めることが可能となる。

平成 17 年度の目的は、1) 活性酸素消去能の高い食品の開発、2) すずさやかの加工適性及び生理機能性評価、である。

### 2. 方法

#### 1) 活性酸素消去能の高い食品の開発

米や穀類を主原料とした活性酸素消去能の高い食品を開発するため、米、大豆、雑穀（アワ、ヒエ、キビ）を混合した際に発現する活性酸素消去相乗効果を調べた。米、大豆、雑穀粉末の各について 0, 20, 40, 60, 80, 100 % の 6 レベルの配合率とし、計 21 通りの配合パターンを作製しその活性酸素消去能を測定した。

#### 2) すずさやかの加工適性と生理機能性の評価

すずさやかの加工適性と活性酸素消去能の評価を行った。県農業試験場より提供された産地別すずさやか 5 種を原料として定法により豆腐、飲用豆乳、米粉配合パンを作製しその官能評価を行った。また、すずさやか 5 種の活性酸素消去能の評価を行った。

### 3. 結果の概要

#### 1) 活性酸素消去能の高い食品の開発

米、大豆、雑穀の間の活性酸素消去相乗効果を調べた。図 1 に米、大豆、雑穀（アワ、ヒエ、キビ等量混合）によって発現する活性酸素消去相乗効果を示す。米 20%、大豆 20%、雑穀 60% の配合パターンのとき最大の活性酸素消去相乗効果を示すことが明らかになった。

#### 2) すずさやかの加工適性と生理機能性の評価

産地別すずさやか 5 種を原料として定法により豆乳を調製し、その官能品質と活性酸素消去能を評価した結果を表 1 に示す。すずさやかはいずれも不快味、不快臭はなく、豆乳やパン等への加工適性は高いと判断される。百粒重や活性酸素消去能は試料により多少の差が見られたが、試料点数が少ないため有意な産地間差であるか否かは判断できない。

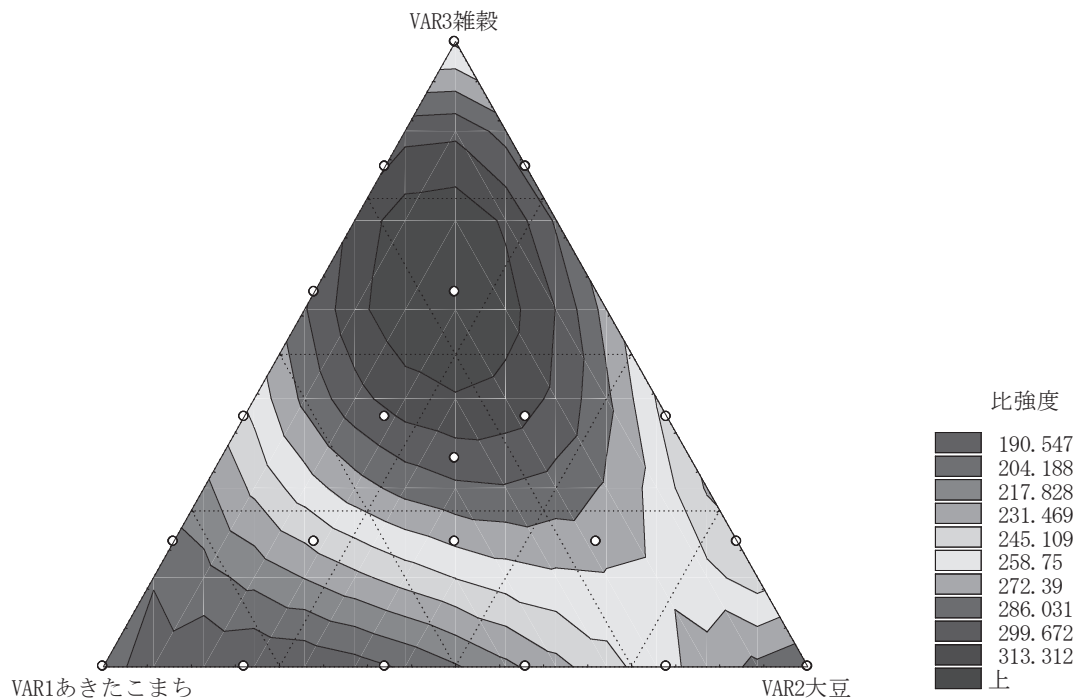


図 1 米、大豆、雑穀によって発現する活性酸素消去相乗効果

表 1 産地別ずさやかかの加工適性評価と活性酸素消去能

試料名	不快味	不快臭	加工適性			比活性酸素消去能 (1mM 没食子酸=100)
	(エグ味、苦み)	(ヘキサナル臭)	豆腐	豆乳	パン	
秋田産標播	◎	◎	○	◎	◎	28
秋田産晩播	◎	◎	○	◎	◎	42
比内産	◎	◎	○	◎	◎	24
能代産	◎	◎	○	◎	◎	26
太田産	◎	◎	○	◎	◎	33
リュウホウ(比較品)	○	△	◎	○	○	30

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- 1) 試験研究上の残された問題点：特になし。
- 2) 連携・協力：県農業試験場、(株)四季菜、(株)あきたこまち生産者協会、(株)ヤマダフーズ、(株)ポッカコーポレーション

#### 5. 結果の発表、活用等

学会発表：日本農芸化学会 2006 年大会

企業による商品化：『ぷりん de こまち』(株)四季菜、『ポッカ五穀乳』(株)ポッカコーポレーション



## 単年度試験研究課題

研究課題：小規模工場向けの高度加工技術の開発

(1)ジュール加熱技術開発

担当部署：食品開発部門 食品工学担当

担当者名：秋山美展、高橋徹

協力分担：秋田大学工学資源学部機械工学科システム設計講座

予算区分：県単

研究期間：終 2005年度（2003～2005年度）

### 1. 目的

従来までの食品加工技術や装置の開発は、装置価格、処理量、操作技術などから見て、中小零細メーカーを対象として開発されたものではなく大手中心のものであった。そのため、中小零細規模が大多数である県内食品メーカーにとっては新規技術や装置の導入が困難な状況であった。この問題解決のためには、県内メーカーの実情に合わせた技術や装置の開発が不可欠である。ジュール加熱装置は小型、安価であるため、中小零細メーカー向けの装置であるが、更にプログラム加熱法（昇温中に任意の温度で昇温停止・保持を行い、一定時間後再び昇温する方法）を組み合わせることで、その機能をより高度にすることができる。

本研究の目的は、プログラム加熱法を導入したジュール加熱技術を完成させ、中小零細規模の食品製造業に最適な加工技術を普及することである。

平成 17 年度の目的は、ジュール加熱による冷凍肉や冷凍魚の効率的解凍法の開発である。そのために、ジュール加熱における発熱および電位場解析と多点電極による均一加熱法の導入を行う。

### 2. 方法

#### 1) ジュール加熱における発熱解析

##### a 電極配置と発熱挙動

対象性のない固形の食品材料を対象にジュール加熱を行う場合、電極の密着性や並行性以外にも、加熱対象と電極の空間的配置が重要な技術要件となる。このような場合の発熱挙動を明らかにするためモデルを用いて発熱挙動の観察とシミュレーションを行った。

##### b 差分法による電位場解析

加熱対象の電気伝導率が明らかな場合、食品材料内の電位分布を予測できれば発熱挙動の推定が容易になる。差分法を用いてモデル材料内の電位分布の推定を行い、発熱予測を行う。

#### 2) プログラム加熱法の有効性検証と操作条件の最適化

プログラム加熱法の有力な応用展開として、冷凍ブロック肉や大型冷凍魚などの迅速かつ高品位な解凍の実用化が期待される。実用化へ向けたラボスケールの解凍試験を行う。

##### a 解凍工程への応用

冷凍ブロック肉の解凍試験

##### b 多点電極システムの導入

4対電極システムの作製

### 3. 結果

#### 1) ジュール加熱における電極配置と発熱および電位場分布解析

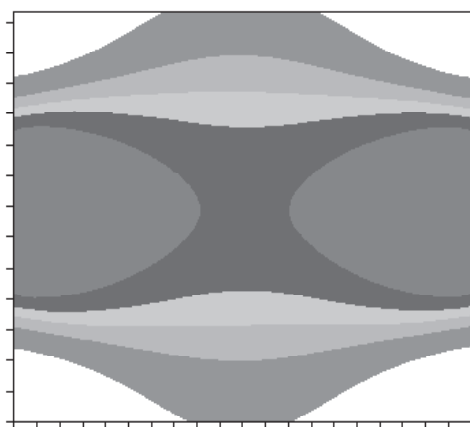


図 1 a 並行板状電極による発熱挙動

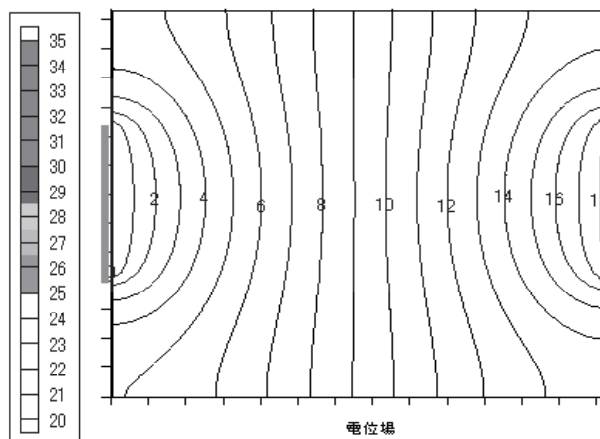


図 1b 並行板状電極による電位場分布

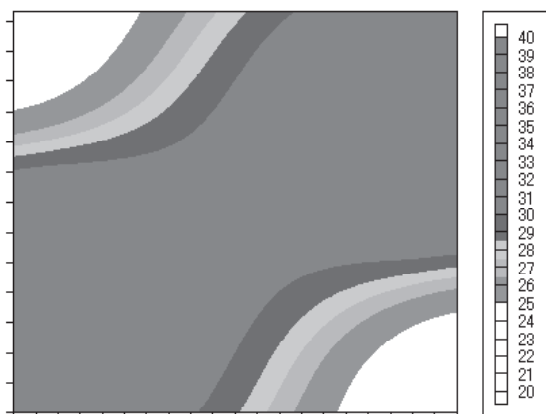


図 2a 斜対板状電極による発熱挙動

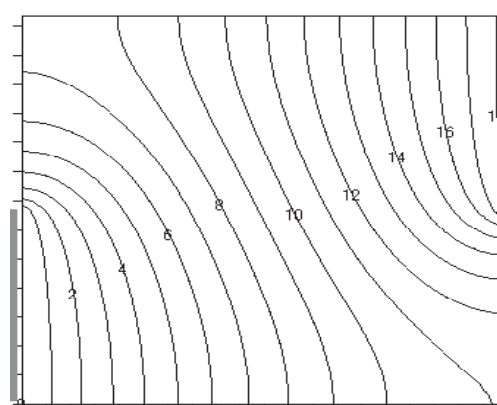


図 2b 斜対板状電極による電位場分布

電位場分布における等電位線に対して直角の方向が、電流密度最大の方向に一致し、かつその最大傾斜線に沿って発熱することが確認された。これらの結果より、電位場シミュレーションより材料の発熱挙動を推定することが可能であると考えられる。

## 2) プログラム加熱法による冷凍ブロック肉の解凍

100(長軸)×60(短軸)×70(長さ)mm程度の牛スネ肉を材料としてジュール解凍試験を行った。流水解凍の1/6以下の時間で同程度の解凍品質が得られた。ジュール解凍法の優位性が確認された。

表 1 冷凍ブロック肉のジュール解凍

解凍方法	所要時間(分)	解凍品品質	特徴
室温(22℃)放置	180	△	ドリップ中
冷蔵庫(7℃)放置	500以上	◎	ドリップ最小
流水浸漬	80	○	ドリップ小
電子レンジ解凍	8	×	解凍ムラ、表面加熱変性
ジュール解凍	12	○	ドリップ小、一部未解凍

4. 今後の問題点と次年度以降の計画 ジュール解凍は18年度新規課題に引き継ぐ。

5. 結果の発表、活用等 学会発表5件、シンポジウム講演1件、論文投稿2編。

## 完了試験研究課題

研究課題：小規模工場向けの高度加工技術の開発

(1) ジュール加熱技術開発

担当部署：食品開発部門食品工学担当

担当者名：秋山美展、高橋徹

協力分担：秋田大学工学資源学部

予算区分：県単

研究期間：完 2005 年度（2003 ～ 2005 年度）

### 1. 目的

従来までの食品加工技術や装置の開発は、装置価格、処理量、操作技術などから見て、中小零細メーカーを対象として開発されたものではなく大手中心のものであった。そのため、中小零細規模が大多数である県内食品メーカーにとっては新規技術や装置の導入が困難な状況であった。この問題解決のためには、県内メーカーの実情に合わせた技術や装置の開発が不可欠である。ジュール加熱装置は小型、安価であるため、中小零細メーカー向きの装置であるが、更にプログラム加熱法（昇温中に任意の温度で昇温停止・保持を行い、一定時間後再び昇温する方法）を組み合わせることにより、その機能をより高度にすることができる。プログラム加熱法の実用化により、炊飯加工、ゲル強度の高い豆腐製造、解凍工程の合理化などが可能になると期待される。

本研究の目的は、プログラム加熱法を導入したジュール加熱技術を完成させ、中小零細規模の食品製造業に最適な加工技術を普及することである。

### 2. 方法

- 1) ジュール加熱における発熱解析
  - a 発熱過程の可視化
  - b 有限要素法による発熱過程のシミュレーション
  - c 電位場分布に基づく発熱挙動の推定
- 2) プログラム加熱法の有効性検討
  - a 豆乳蒸煮工程へのプログラム加熱法の適用。
  - b 解凍工程へのプログラム加熱法の適用。
- 3) プログラム加熱装置と技術の普及

### 3. 結果の概要

- 1) ジュール加熱における発熱解析と温度分布シミュレーション手法の開発

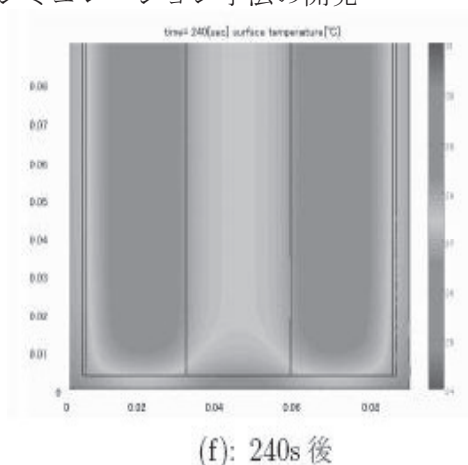
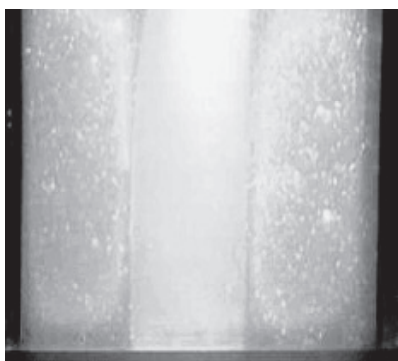


図 1a 多成分混在系における発熱可視化

図 1b 多成分混在系における発熱シミュレーション

温度により可逆的に回折色が変化する感温液晶を用いて食品内部の温度変化を非破壊的かつ連続的に観察する手法を開発した(図 1a)。有限要素法を用いて発熱シミュレーションを行い(図 1b)、観察結果とよい一致を示すことを確認した。これら手法の開発により、ジュール加熱における材料の発熱挙動や温度分布をすいてすることが可能となった。

## 2) プログラムジュール加熱による新しい加工技術の開発

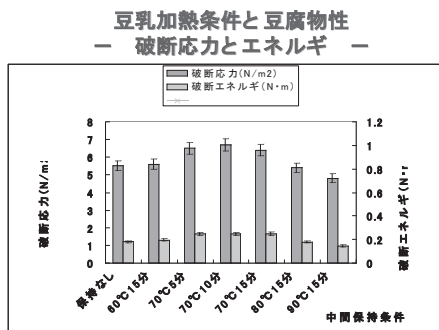


図 2 プログラム加熱効果

豆乳の蒸煮工程にプログラム加熱法を適用した結果、豆腐ゲル物性の改変が可能になった(図 2)。

ジュール加熱法を酵素処理、発酵工程に適用し、甘酒の連続生産システムを開発した。図 3 はナタ漬け製造メーカーに導入された実用規模の連続甘酒製造システムである。汎用型プログラムジュール加熱装置の開発が県競争資金事業に採択された(図 4)。

## 3) プログラム加熱装置と技術の普及

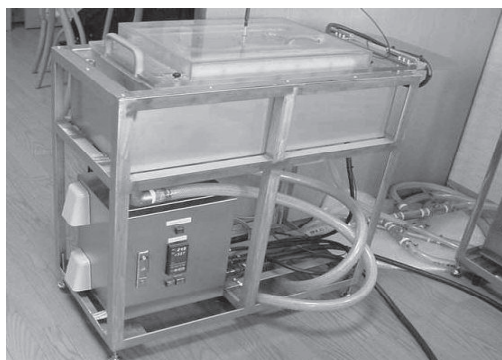


図 3 連続甘酒製造システム



図 4 汎用型プログラムジュール加熱装置

## 4. 成果の活用面と留意点

- 1) 学会発表 14 件：日本食品工学会 2003 大会(2003)、2003 国際食品工業展アカデミックプラザ(2003)、電気学会/電子・情報・システム部門大会(2003)、日本食品工学会 2004 大会、2004 国際食品工業展アカデミックプラザ(2004)、計測自動制御学会 2004 年大会(2004)、計測自動制御学会 2004 年東北支部大会(2004)、日本食品科学工学会東北支部大会(2004)、2005 年電気学会(2005)、他
- 2) シンポジウム講演 1 件：日本食品工学会 2005 年大会シンポジウム(2005)
- 3) 論文投稿 2 編：ジュール加熱技術を応用した清酒殺菌システムの 2 自由度制御、計測自動制御学会論文集, Vol. 2005 No.6 (2006)、ジュール加熱現象の可視化と有限要素解析、日本食品工学会誌、投稿中(2006)

## 5. 残された問題とその対応

プログラムジュール加熱技術の開発は 18 年新規課題『温度および圧力処理を駆使した高品位なローコスト加工技術の開発』において継続実施する。

## 単年度試験研究課題

研究課題：小規模食品工場向けの高度加工技術の開発

(2)米加工技術の開発

担当部署：食品開発部門食品工学担当

担当者名：高橋徹，秋山美展

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2005 年度（2003～2005 年度）

### 1. 目的

発芽玄米はその機能性や市場性の高さなどから県内でも非常に期待されているが、製品の微生物管理が十分にされていないことが多い。また、清酒製造時の副産物である搗精粉（白糖）の利用による米粉原料単価を抑えた菓子類の製造技術の開発を目的とする。今年度は蓄積した技術の普及と GABA 高含有玄米の開発を目的とした。搗精粉の利用については、技術ならびに情報の普及を図り、搗精粉の通年利用が可能な保存条件を明らかにすることを目的とした。

### 2. 方法

#### ①GABA 高含有発芽玄米の実地試験

籾発芽方式による発芽玄米製造に GABA 液浸漬工程を試験的に導入して、微生物試験ならびに GABA 含有量を測定した。

#### ②光触媒による発芽玄米用水の殺菌

浸漬水を反応管に二酸化チタン皮膜シリカゲルとともに投入して、攪拌しながら低圧水銀灯（450W）を照射した。各処理時間後の発芽玄米浸漬水を約 10mL 採取して微生物検査に供した。

#### ③搗精粉の保存試験

搗精粉（搗精歩留まり 86～75%）を $-20^{\circ}\text{C}$ ， $5^{\circ}\text{C}$ ， $15^{\circ}\text{C}$ ， $25^{\circ}\text{C}$ で保存した際の脂肪酸度，色特性，水分および微生物数を測定した。

### 3. 結果の概要

#### ①GABA 高含有発芽玄米の実地試験

発芽工程終了後に GABA 液浸漬工程を付加することによって、発芽玄米の GABA 含有量が GABA 液濃度に応じて現行製品の 3.3 倍（77.7mg/100g）まで増加させることが可能となった。微生物数は $10^6$ オーダーで現行製品と同程度であった。電解水による洗浄および浸漬を組み合わせたが、籾表面の効果的な除菌がされなかったと考えられる。籾発芽方式における微生物制御は今後の課題である。

表 1 GABA 高含有発芽玄米の実地試験における微生物および GABA 含有量

製造工程	GABA 濃度 [mg/ml]	一般生菌数 [CFU/g]	カビ・酵母 [CFU/g]	GABA 含有量 [mg/100g]
GABA 液浸漬	10	$5.0 \times 10^6$	$4.0 \times 10^1$	77.7
	2	$1.0 \times 10^7$	$8.4 \times 10^2$	52.5
現行	-	$1.0 \times 10^7$	$2.6 \times 10^2$	23.3

#### ②光触媒による発芽玄米用水の殺菌

光触媒効果による玄米表面に付着している微生物の殺菌を期待したが、主に紫外光による

殺菌であると判断された。今回は玄米に紫外線を直接照射する実験は実施しなかった。なお、光触媒による農産物の殺菌技術開発に取り組んでいる研究機関もあるが、長時間の紫外線照射による影響を明らかにする必要がある。

表 2 微生物数の経時変化

光触媒		処理時間 [分]			
		0	30	60	180
一般生菌数 [CFU/ml]	有	$1.6 \times 10^6$	$4.7 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$	$2.0 \times 10^2$
	無	$1.1 \times 10^6$	$1.7 \times 10^5$	$2.0 \times 10^3$	$2.6 \times 10^2$
カビ 酵母 [CFU/ml]	有	$6.3 \times 10^3$	$2.1 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$	$3.0 \times 10^1$
	無	$3.8 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$	-	$2.0 \times 10^1$

### ③ 搗精粉の保存試験

搗精粉の脂肪酸度は、保存期間が長くなるにしたがって増加した。また、保存時の温度が高いほど短期間で増加し、25℃における6ヵ月後の脂肪酸度は4℃ならびに-20℃での保存時に対してそれぞれ約3倍および約6倍であった。米の貯蔵中でも同様の現象が見られるが、搗精粉の脂肪酸度が米よりも増加しやすい。色特性については、25℃で保存した搗精粉の明度が低下する傾向にあったが、色差は大きくなかった。また、保存中の一般生菌数は、25℃において減少傾向であったがいずれの試験区も $10^5$ 個以上であった。この結果、搗精粉の長期間（6ヶ月以上）の保存には、脂肪酸度の増加抑制の面から低温、望ましくは4℃以下と考えられる。

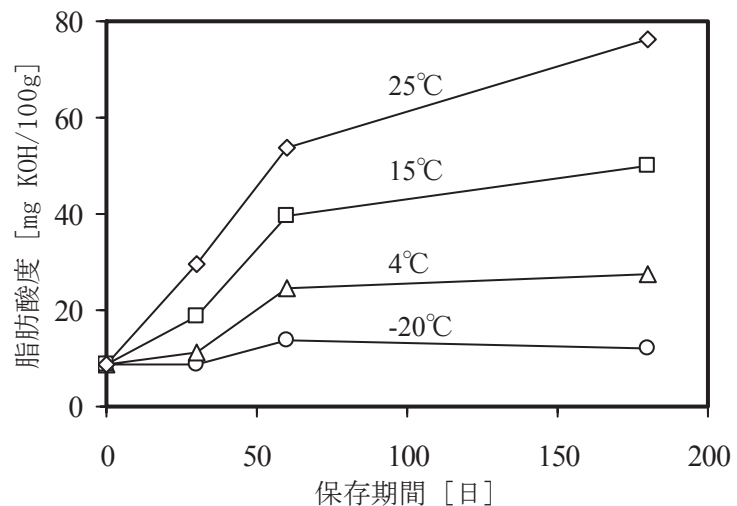


図 1 保存中における搗精粉の脂肪酸度の変化と温度の影響

なお、研究成果の一部は技術研修（搗精粉を利用した菓子製造）を開催して、情報提供および技術普及を図った。

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

籾発芽方式における微生物制御が課題であり、技術相談等を通じて改善していきたい。搗精粉は醸造あるいは機能性食品素材の製造原料としての価値が増加している。米粉の代替としての利用は限られてくると予想されるが、これまで得た知見を課題等に活用していく予定である。

## 5. 結果の発表、活用等

知的所有権：特願 2005-096794 論文：Cereal Chem., 82(2005). 日本レオロジー学会誌,33(2005). ジャパンフードサイエンス, 44(2005). 学会発表：調理科学会年次大会

## 単年度試験研究課題

研究課題：白神由来乳酸菌を用いた機能性食品の開発

担当部署：応用発酵部門 素材開発担当  
担当者名：木村貴一・高橋慶太郎・菅原久春  
協力分担：なし  
予算区分：県単  
研究期間：新 2005 年度（2005～2007 年度）

### 1. 目的

乳酸菌 KLC 1527D 株「作々楽(ささら)」のナイシンを利用したバイオプリザベーションによる食品の日持ち向上効果とともに GABA による機能性を付与した他に類を見ない独創性に優れた食品の開発を目指す。県内外で人気の高い白神乳酸菌を利用した健康志向・高級志向の消費者にアピールする新規発酵利用食品を開発し、県内食品産業の活性化を支援することを最終目標とする。本年度は a. 白神乳酸菌 KLC 1527D 株の GABA 生産特性解明、b. KLC 1527D 株 GAD の生産に及ぼす栄養因子の解明、c. 白神山地由来乳酸菌保存株の充実を目指した。

さらに、有用乳酸菌の取得を目的に、d. 乳酸生産能に特徴のある乳酸菌の分離・選抜を目指した。

### 2. 方法

a. 及び b. GABA 生産性に与える塩の影響を調べる目的で、培地中に塩素イオンを含む塩を加え、あるいは、培地を代えて 30℃にて 4 日間培養し、上清中に含まれる GABA 量を TLC にて確認した。

c. 白神山地核心地域にて土壌サンプリングを行い、適切な培地を用いて酸生産菌の単離を行った。

d. 乳酸菌保存株より酸生産能の高い 35 株を選び、そのうち低温増殖性に優れかつ酸生産性に優れた 1 株を選抜し、16S rDNA 塩基配列解析、糖質資化性試験、DNA-DNA ハイブリダイゼーションによる同定試験を行った。

### 3. 結果の概要

a. 及び b. *Lactococcus lactis* の保有する GABA 生成に関わるグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD) 遺伝子は塩素イオンによって誘導されることが知られている。そこで、培地中に 1%の食塩を添加すると、GABA 生成量が 2 倍程度増加することがわかった(図 1)。そこで塩の種類を変えて同様の試験を行ったところ、特に塩化マグネシウムが塩化ナトリウムに比べて約 2 倍程度 GABA 生成能を向上させることがわかった(図 2)。これらの結果から、塩化マグネシウムを加えた場合、無添加区にくらべて GABA 生成能を約 4 倍向上することが出来た。GABA は一日あたり 80mg 程度摂取すればよいとされている。故に、KLC 1527D 株を利用した発酵食品は、天然塩あるいはにがりを使用することで GABA 生産性向上と生成期間の短縮が可能と認められた。

c. 白神山地核心地域に関係所轄の許可を得た上で土壌採取を行い、新たに土壌 436 点を得た。この結果、研究所保有土壌は 3904 点となった。

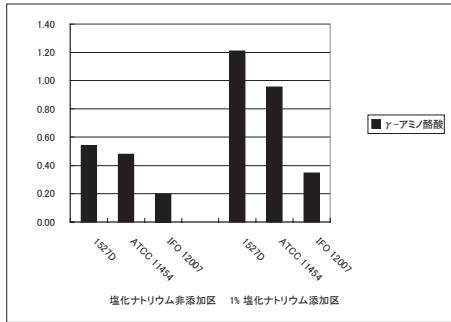


図 1 GABA 生産性に与える食塩の影響

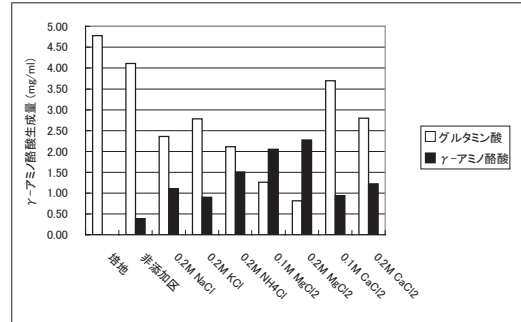


図 2 GABA 生産性に与える様々な塩の影響

d. 研究所の保有する乳酸菌バンクから最も低温増殖性に優れ、高い酸生産能を有する1株を選び、同定試験を行ったところ、*Lactobacillus sakei*に属することがわかった。その他、従来株にはない様々な特徴を有することがわかり、白神由来の本乳酸菌*Lactobacillus sakei* KLB 3138aC株は、独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに17産生寄 第245号（FERM AP-20731）として寄託された。

従来、生酛清酒など一部の清酒製造工程において*Lb. sakei*に属する乳酸菌などが積極的に活用されているが、白神由来乳酸菌を使用することで、さらなる差別化が可能になることから、県内各酒造場より清酒製造に適した白神山地由来の乳酸菌の選抜と白神乳酸菌を利用した清酒製造法の開発が期待されている。本乳酸菌KLB 3138aC株はこれらのニーズに応えうる乳酸菌である。そこで、酒類第一研究室の新野囑託職員および大野研究員の協力を仰ぎ、研究体制を整えた上で、本乳酸菌 KLB 3138aC 株の酒造適性試験と、生酛清酒製造法の開発を行った。現在、本乳酸菌及び本乳酸菌を用いた清酒製造法などの特許を申請中である。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本乳酸菌を活用した発酵食品および酒類は、従来にない風味と特徴を持つ。

本乳酸菌は清酒製造のみならず、様々な発酵食品に利用可能である。次年度以降、本乳酸菌を活用した発酵食品製造法および、清酒製造法の確立を目指し、さらなる研究を行う必要がある。

#### 5. 結果の発表、活用等

・ KLC1527D 株と GABA 高生成法に対して修正特許出願

特許公開 2005-192553

[発明の名称]低温で良好な生育を示し、ナイシンを高生産する糖質資化性に優れた新規乳酸菌および酒類の火落ち防止技術等への利用

[概要] 従来のナイシン生産菌と比較して低温で良好な生育を示し、ナイシンを高生産する糖質資化性に優れた性質を持つ白神土壌由来の新規乳酸菌と、ナイシンによる火落菌防止技術などについて。

・ 白神由来の乳酸菌

*Lactobacillus sakei* KLB 3138aC 株は、独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに17産生寄 第245号（FERM AP-20731）として寄託、特許申請中



## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究  
(1) 白神微生物の分離・選抜に関する基礎的研究

担当部署：生物機能部門

担当者名：高橋砂織、高橋慶太郎、小笠原博信

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

微生物は、人々の生活に多大な恩恵を与えており、様々な有用微生物無くしては人間の生活が成り立たないと言える。世界自然遺産に指定されている白神山地は、微生物遺伝子資源の宝庫である。白神山地には多くの可能性を秘めた微生物が生存していると考えられる。そこで、白神山地の森林土壌より出来るだけ多くの微生物を分離・選抜し、データベース化を進めるとともに、その有効活用を図る。今年度も昨年と同様に耐熱性菌と放線菌を中心に分離・選抜を進める。

### 2. 方法

**放線菌の分離と純粋培養**：土壌約0.1gを10mlの生理食塩水に懸濁し、その一部を放線菌選択培地（アルギニン・グリセロール・塩類培地）に植菌した。30℃で数日培養後、放線菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**耐熱性菌の分離と純粋培養**：土壌を生理食塩水に懸濁し70℃、30分間加熱処理後その一部を普通寒天培地に植菌した。30℃で24時間培養後、菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し30℃にて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収し、加熱処理及び非加熱処理に区分して冷凍及び冷蔵にて保存した。

### 3. 成果の概要

平成17年度は、放線菌約300株と耐熱性菌約400株を分離・選抜した。液体培養上清はそれぞれの目的に応じて、検定に付した。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

平成18年度以降は、取得した微生物の特性解明と有効活用を中心に研究を進める予定である。

### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 高橋砂織他、第1回D-アミノ酸研究会（東京都）
- 2) 高橋砂織他、第78回日本生化学会大会（神戸市）
- 3) Takahashi S., *et al.* (2006) *J. Biochem.* **139**, 197-202
- 4) 特願 2005-096326



## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究

2. 白神酵母の有効利用に関する研究

担当部署：応用発酵部門発酵食品担当

担当者名：高橋慶太郎

予算区分：県単

研究期間：継 2005 年度（2003～2007 年度）

### 1. 目的

白神山地の土壌等より野生酵母を分離し、その特性を解明するとともに、有用酵母の選抜を行い、これら酵母を使用した製品開発を目的とする。

17年度は分離した酵母の基礎的な特性分析を進めるとともに特性分析の終了した酵母について食品加工適性の検討を行う。また、選抜酵母による環境負荷低減化を検討する。さらに、白神こだま酵母の各種特性を十分に引き出した製パン法を確立する。

### 2. 方法

供試菌株；当研究所で白神山地の土壌より分離・保存している真菌類4127株

培地；YPD液体培地（グルコース3%、ポリペプトン1%、酵母エキス0.5%、固体培地は寒天1.8%をプラス）

特性解析；増殖性－固体培地上での菌体増殖度を観察、発酵性－ファーモグラフで測定、製パン性－自動製パン機により製パンして評価

### 3. 結果の概要

特性解析－本年度新たに分離・保存した真菌類567株中出芽酵母144株、分裂酵母6株、偽菌糸形成酵母357株、糸状菌類60株であった。このうち約13%の株が4℃での良好な生育を示した。

新規実用酵母－白神こだま酵母に続く新規な製パン用酵母の選抜を行い、1株（SKY3560株）を取得した。同定試験の結果、本酵母は *Saccharomyces cerevisiae* と同定された。この酵母のガス発生を観察したところ図1・2の結果となった。この結果を基に製パン試験を行ったところ良好な比容積を示し食感に特徴のあるパンが得られた。

環境負荷低減化真菌類－昨年度、選抜した低グルコース濃度下での高濃度リン酸及びアンモニア態窒素の高資化性真菌類100株より、稲庭うどん副産物をモデルとした環境負荷低減化真菌類の二次選抜を行い *Aspergillus* 属と簡易同定された5株を取得し、稲庭うどん副産物の製麴・消化試験を行ったところBx7～22の消化液が得られた。

白神こだま酵母の高度利用－白神こだま酵母の持つ、製パン用酵母として高い乾燥耐性を利用した製パン用プレミックスの開発を行った。また、パン生地にアミノ酸を対小麦粉で0.06～0.12%添加することによりガス発生量が増大することが明らかとなった（図3）。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

有効利用のため、特性解析を行っていない分離・保存株の解析を進める必要がある。

4000株を超える白神真菌類の産業利用を促進するため、県内外の企業と積極的に共同研究を進める予定である。

### 5. 結果の発表、活用等

特許出願予定－「酵母乳酸菌を配合した食品用ミックス粉」

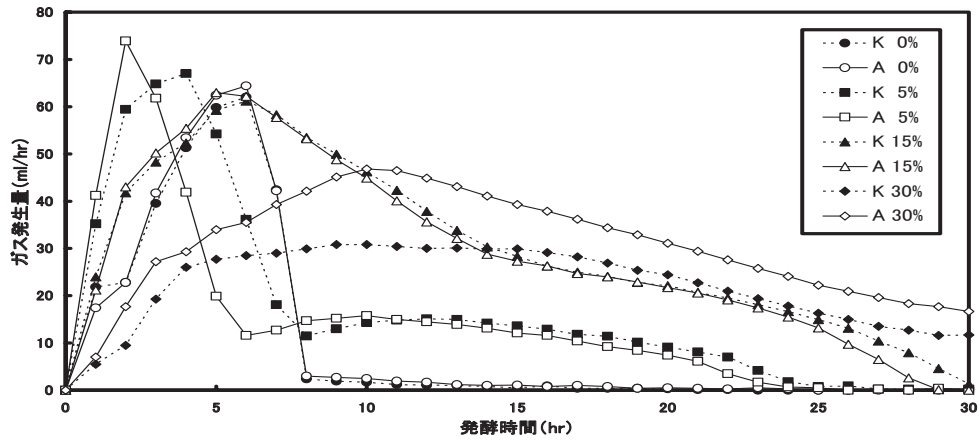


図1 パン生地中の糖濃度の違いによる白神こだま酵母と SKY3560 株のガス発生パターン比較  
(K : 白神こだま酵母、A : SKY3560 株)

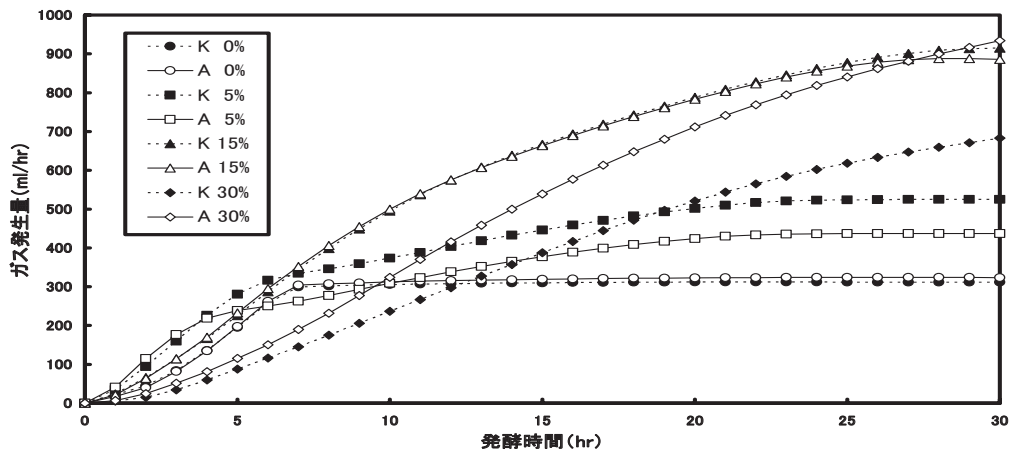


図2 パン生地中の糖濃度の違いによる白神こだま酵母と SKY3560 株のガス蓄積比較  
(K : 白神こだま酵母、A : SKY3560 株)

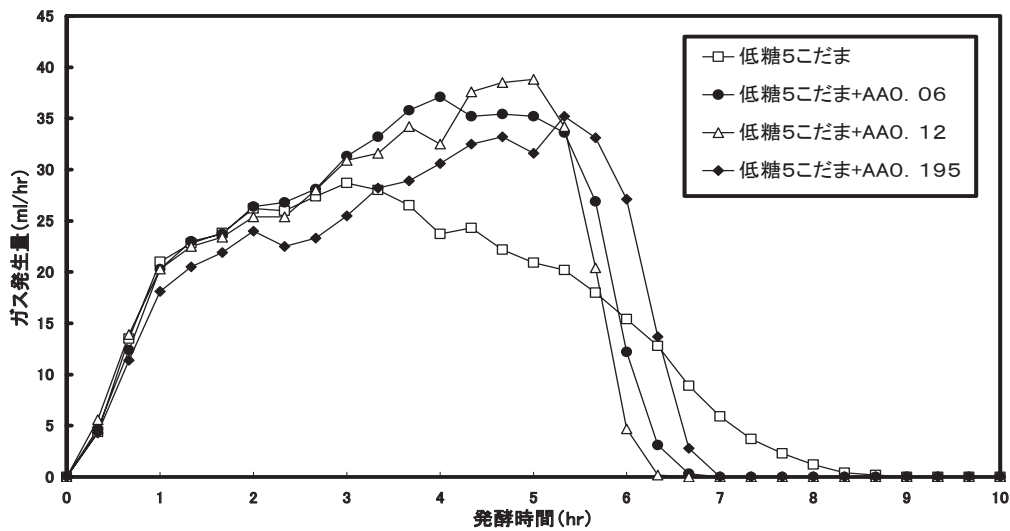


図3 白神こだま酵母を使用した製パンにおけるアミノ酸の影響

## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究  
(3) 白神糸状菌及び耐熱性菌等の分離・同定と有効活用

担当部署：生物機能部門

担当者名：小笠原博信、樋渡一之、高橋砂織、

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

微生物は、人々の生活に多大な恩恵を与えており、様々な有用微生物無くしては人間の生活が成り立たないと言える。世界自然遺産に指定されている白神山地は、微生物遺伝子資源の宝庫である。白神山地には多くの可能性を秘めた微生物が生存していると考えられる。そこで、白神山地の森林土壌より出来るだけ多くの微生物を分離・選抜し、データベース化を進めるとともに、その有効活用を図る。今年度は、昨年と同様に耐熱性菌を中心に分離・選抜を進めるとともに、新規酵素や酵素阻害物質生産菌の取得を目指した。

### 2. 方法

**耐熱性菌の分離と純粋培養**：土壌を生理食塩水に懸濁し70℃、30分間加熱処理後その一部を普通寒天培地に植菌した。30℃で24時間培養後、菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し30℃にて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収し、加熱処理及び非加熱処理に区分して冷凍及び冷蔵にて保存した。

### 3. 成果の概要

新たに耐熱性菌約300株を分離・選抜した。液体培養上清はそれぞれの目的に応じて、検定に付した。また、D-アスパラギン酸を特異的に認識する酵素（D-Aspartyl endopeptidase）の生産系を確立した。さらに、取得した酵素を Paenidase と命名し、その酵素学的性質を明らかにした。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

平成18年度は、取得した微生物の特性解明と有効活用を中心に研究を進める。

### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 高橋砂織他、第1回D-アミノ酸研究会（東京都）
- 2) 高橋砂織他、第78回日本生化学会大会（神戸市）
- 3) Takahashi S., *et al.* (2006) *J. Biochem.* **139**, 197-202
- 4) 特願 2005-096326

## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究  
(4)放線菌等の分離・同定と有効活用に関する研究

担当部署：生物機能部門

担当者名：高橋砂織

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

微生物は、人々の生活に多大な恩恵を与えており、様々な有用微生物無くしては人間の生活が成り立たないと言える。世界自然遺産に指定されている白神山地は、微生物遺伝子資源の宝庫である。白神山地には多くの可能性を秘めた微生物が生存していると考えられる。そこで、白神山地の森林土壌より出来るだけ多くの微生物を分離・選抜し、データベース化を進めるとともに、その有効活用を図る。今年度は、昨年と同様に放線菌の分離・選抜を進めるとともに、新規酵素や酵素阻害物質生産菌の探索を目指した。

### 2. 方法

**放線菌の分離と純粋培養**：土壌約0.1gを10mlの生理食塩水に懸濁し、その一部を放線菌選択培地（アルギニン・グリセロール・塩類培地）に植菌した。30℃で数日培養後、放線菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し30℃にて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収し、加熱処理及び非加熱処理に区分して冷凍及び冷蔵にて保存した。

**新規酵素阻害物質生産菌の探索**：Paenidaseを標的酵素としてその阻害剤生産菌のスクリーニングを行った。

### 3. 成果の概要

平成17年度は、約300株の放線菌を分離・選抜した。液体培養上清はそれぞれの目的に応じて、検定に付した。また、Paenidaseを標的酵素としてその阻害剤生産菌のスクリーニングを行い目的に叶う数株を分離した。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今後は、取得した放線菌の特性解明と有効活用を中心に研究を進める予定である。

### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 高橋砂織他、第1回D-アミノ酸研究会（東京都）
- 2) 高橋砂織他、第78回日本生化学会大会（神戸市）
- 3) Takahashi S., *et al.* (2006) *J. Biochem.* **139**, 197-202
- 4) 特願 2005-096326

## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究  
(5)微生物由来物質の探索と機能性評価法の研究

担当部署：生物機能部門

担当者名：堀 一之、小笠原博信、梶恵司、樋渡一之、高橋砂織

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

世界自然遺産に指定されている白神山地は、微生物遺伝子資源の宝庫である。白神山地には多くの可能性を秘めた微生物が生存していると考えられる。そこで、白神山地の森林土壌より出来るだけ多くの微生物を分離・選抜し、その有効活用を図る。今年度は、新規酵素の精製とその特性解明を目的とした。

### 2. 方法

**耐熱性菌の分離と純粋培養**：土壌を生理食塩水に懸濁し70℃、30分間加熱処理後その一部を普通寒天培地に植菌した。30℃で24時間培養後、菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し30℃にて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収し、加熱処理及び非加熱処理に区分して冷凍及び冷蔵にて保存した。

**新規酵素 Paenidase の精製と性質**：*Paenibacillus* sp. B38 株培養液より各種クロマトグラフィーで酵素を精製し、その諸性質を検討した。Paenidase の基質は、Suc-[D-Asp]-MCA もしくは Suc-[D-Asp]-pNA を用いた。

### 3. 成果の概要

スクリーニングの結果、D-アスパラギン酸を特異的に認識する酵素生産菌 *Paenibacillus* sp. B38 株を取得した。本菌由来酵素を Paenidase と命名した。また培養液より各種クロマトグラフィーで分子量の異なる2種類の Paenidase (I 及び II) を精製した。表1に精製概要を、また、図1に精製標品の SDS-PAGE を示した。Paenidase I/II の至適 pH は 8.0 程度で 40℃付近までは安定であった(図2)。各種酵素の基質を用いて検討した結果、本酵素は、D-Asp を特異的に認識していることが明らかとなった(表2)。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

新規酵素 Paenidase の精製方法が確立されたことから、今後本酵素の構造機能相関を明らかにするとともに、その阻害物質生産菌の取得を目指す。また、他の有用新規酵素の取得に向けて新たな基質設計を行いスクリーニングを進める。

### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 高橋砂織他、第1回D-アミノ酸研究会(東京都)
- 2) 高橋砂織他、第78回日本生化学会大会(神戸市)
- 3) Takahashi S., *et al.* (2006) *J. Biochem.* **139**, 197-202
- 4) 特願 2005-09632

表 1 Paenidase の精製

	Total activity (U)	Total protein (mg)	Specific activity (U/mg)	Purification (-fold)	Yield (%)
Culture medium	1500	5090	0.29	1	100
Ammonium sulfate	1320	737	1.79	6.2	88.0
DEAE batch	1034	419	2.47	8.8	68.9
Sephacryl S-100 HR	733	4.2	17.5	60.3	48.9
DEAE-Sepharose FF	583	2.5	233	803	38.9
1st Mono Q P-I <sup>*1</sup>	129	0.159	811	2800	8.6
P-II <sup>*2</sup>	222	0.144	1540	5310	14.8
2nd Mono Q P-I <sup>*1</sup>	102	0.043	2370	8170	6.8
P-II <sup>*2</sup>	187	0.065	2880	9930	12.5

Paenidase activity was measured using Suc-[D-Asp]-MCA as a substrate.

<sup>\*1</sup>P-I, paenidase I; <sup>\*2</sup>P-II, paenidase II.

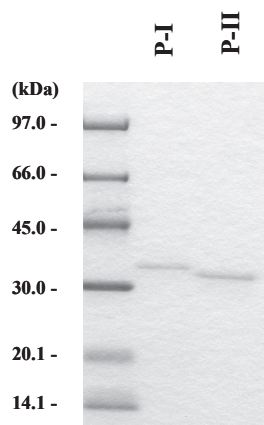


図 1 Paenidase I/II の SDS-PAGE

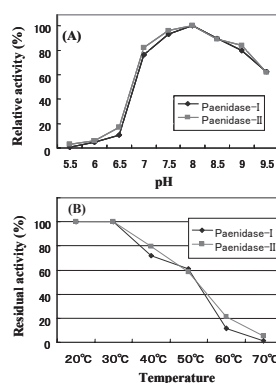


図 2 Paenidase I/II の至適温度 (A) と温度安定性 (B)

表 2 Paenidase I/II の基質特異性

Substrates	Proteinase/peptidases	Relative activity (%)	
		Paenidase I	Paenidase II
Suc-[D-Asp]-MCA	DAEP	100	100
Arg-MCA	Cathepsin H	<0.1	<0.1
Bz-Arg-MCA	Trypsin	<0.1	<0.1
Boc-Gln-Ala-Arg-MCA	Trypsin	<0.1	<0.1
Pro-Phe-Arg-MCA	Kallikrein/Proteasome	<0.1	<0.1
Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-MCA	Caspase-1	0.7	0.4
Ac-Asp-Glu-Val-Asp-MCA	Caspase-3/7/8	1.8	1.2
Ac-Val-Glu-Ile-Asp-MCA	Caspase-6	0.5	0.3

Final substrate concentration was 0.5 mM.



## 単年度試験研究課題

研究課題：白神微生物バンクの構築とその有効活用に関する研究  
(5) 微生物由来物質の探索と機能性評価法の研究

担当部署：生物機能部門

担当者名：堀一之、小笠原博信、畠恵司、樋渡一之、高橋砂織

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2005年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

白神微生物バンク由来の菌体内外の生産物を研究対象とし、有用な生理活性を持つ化合物を検索し、化学構造を明らかにする。さらに、構造関連活性を指標とし、生理機能性を発現する機構の解明を目指す。

今年度は、新規酵素の精製とその特性解明を目的とし研究を行った。

### 2. 方法

**耐熱性菌の分離と純粋培養**：土壌を生理食塩水に懸濁し 70℃・30 分間加熱処理後その一部を普通寒天培地に植菌した。30℃・24 時間培養後、菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し 30℃にて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収し、加熱処理及び非加熱処理に区分して冷凍及び冷蔵にて保存した。

**新規酵素 Paenidase の精製と性質**：Paenibacillus sp. B38 株培養液より各種クロマトグラフィーで酵素を精製し、その諸性質を検討した。Paenidase の基質は、Suc-[D-Asp]-MCA もしくは Suc-[D-Asp]-pNA を用いた。

**Paenidase 阻害物質のスクリーニングおよび生産菌の同定**：Paenidase 活性を指標に分離放線菌約 300 株からの培養上清について、阻害活性のスクリーニングを行った。強い阻害活性を有する上清が S2262 株の培養液より得られ、16S- r DNA(1.4kbp)の分析結果から、本菌は *Streptomyces* sp. (100%相同性) と同定された。

### 3. 成果の概要

- 1) スクリーニングの結果、D-アスパラギン酸を特異的に認識する酵素生産菌 *Paenibacillus* sp. B38 株を取得した。
- 2) 本菌由来酵素を Paenidase と命名した。また培養液より各種クロマトグラフィーで分子量の異なる 2 種類の Paenidase (I 及び II) を精製した。Paenidase I/II の至適 pH は 8.0 程度で 40℃付近までは安定であった。各種酵素の基質を用いて検討した結果、本酵素は、D-Asp を特異的に認識していることが明らかとなった。
- 3) Paenidase 阻害物質生産菌 S2262 株 (*Streptomyces* sp. と同定) をスクリーニングした。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

新規酵素 Paenidase の精製方法が確立されたことから、今後本酵素の構造機能相関を明らかにするとともに、その阻害物質生産菌の取得を目指す。また、他の有用新規酵素の取得に向けて新たな基質設計を行いスクリーニングを進める。

### 5. 結果の発表、活用等



## 単年度試験研究課題

研究課題：米加工副産物の有効利用に関する研究

無洗米粕からの乳酸発酵による有用物質（ $\gamma$ -アミノ酪酸、乳酸）の生産

担当部署：食品開発部門食品加工担当

担当者名：戸枝一喜、保苺美佳、木村貴一、高橋 徹

協力分担：東北農業研究センター、秋田銘醸株式会社

予算区分：県単・委託（東北農業研究センター：バイオリサイクル研究事業）

研究期間：新・継・中・断 2005年度（2005～2009年度）

### 1. 目的

秋田県の主力農産物である米は玄米で出荷されるほか、白米でも相当量出荷されている。精米の際に糠が多量に発生する。また、日本酒製造においても精米に伴い、赤糠、白糠が多量に発生する。県内で発生する米糠（白糠を含む）としては21,000トンと推定されている。これらの米副産物の中で白糠はその殆どが県外に低価格で出荷されている。このような背景から、糠を原料として高付加価値化した食品の開発が望まれている。一方、これら糠には種々の栄養成分が含まれているため、GABA、乳酸等の発酵原料として利用可能である。

無洗米の製造の際に多量に発生する無洗米粕には糖質、蛋白、繊維が多く含まれているため乳酸菌発酵原料として有望であり、乳酸菌の発酵生産により期待できる有用物質としては $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）、乳酸がある。そこで、今年度は無洗米粕から乳酸菌発酵によりGABAまたは乳酸の効率的生産技術開発を目的とする。

### 2. 方法

- (1) 無洗米粕からの *L. brevis* を用いた乳酸発酵による GABA 生産のために、無洗米粕の前処理法として酵素処理を評価した。
- (2) 乳酸発酵による GABA 高生産条件を確定するために、グルタミン酸ナトリウム（MSG）の最適添加量を検討した。
- (3) 次年度予定のパイロットスケール試験を踏まえ GABA 発酵液の固液分離に用いる加圧濾過用の濾布を評価した。
- (4) 研究所保有の食品への利用が可能な乳酸菌の中から液体培養により乳酸を高生産する菌を選抜した。

### 3. 結果の概要

- (1) 無洗米粕を栄養源として乳酸発酵を行ったが、GABA の高い生産性は認められなかった。しかし、無洗米粕を糖化酵素処理することにより GABA 生産が著しく改善された（図1）。無洗米粕の糖化酵素処理によりグルコース、イソマルトース、マルトース等が生成し、この内グルコース、マルトースが乳酸菌の炭素源と利用されることが判明した（図2）。
- (2) 無洗米粕重量に対し、MSG を9%～15%添加したところ添加量の増加に伴い GABA 生成量の増加が認められたが、未反応の MSG も増加した（表1）。9%の MSG 添加量では GABA への変換効率が98%以上であり、生成した GABA 濃度が1.2%（W/V）であった。この GABA 生産性は現行の赤糠を用いた実生産と同程度の高いものであった。
- (3) 濾過速度、濾過液の性状の点から濾過膜 TMF-7090K-1.5（大塚実業製）が良好であった。
- (4) 供し乳酸菌25株から80g/L以上の高い乳酸生産能を持つ菌がグルコースで2株、スクロースで2株認められた。（表2）。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- (1) GABA のパイロットスケール生産試験
- (2) 乳酸高生産菌によるジャー培養条件の検討

#### 5. 結果の発表、活用等

GABA 製造残渣を含む飼料に関する知的所有権申請を目指す。



図1 無洗米粕の酵素処理

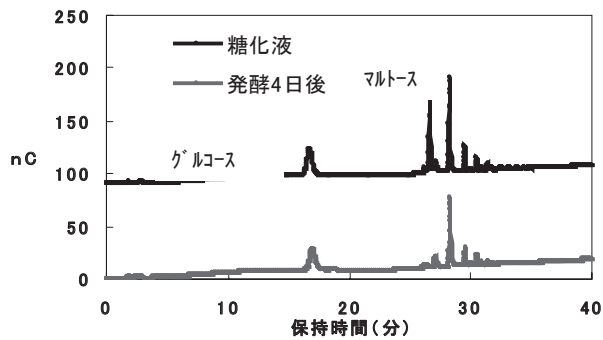


図2 酵素処理液の乳酸発酵による糖の利用

表2 乳酸高生産菌の選抜

乳酸菌	乳酸生成量(g/L)	
	グルコース	スクロース
201	42.9	1.7
202	49.5	40.1
203	27.8	2.3
204	53.2	53.1
205	66.2	60.9
206	80.9	4.5
207	52.9	61.2
208	70.2	74.2
209	77.5	81.3
210	53.4	52.7
211	26.2	1.4
212	46.3	1.0
213	31.5	1.0
214	48.5	0.2
215	67.0	71.3
216	73.7	73.9
217	79.4	1.2
218	26.1	2.3
219	40.5	54.4
220	76.9	83.9
221	64.2	79.1
222	66.6	76.1
223	72.3	0.9
224	92.8	71.1
KLC1527D	48.2	34.4

表1 MSG 添加量の影響

	MSG(%)		
	9	12	15
MSG(mg/g)	0.9	4.4	10.4
GABA(mg/g)	11.6	13.6	14.5

## 単年度試験研究課題

研究課題：植物性産業廃棄物からのゼロエミッションを目指した環境浄化技術の開発

担当部署：酒類部門酒類第2担当

担当者名：進藤 昌

協力分担：秋田県立大学生物資源学部、秋田県立大学システム科学技術学部、秋田県立大学木材高度加工研究所、環境センター

予算区分：県単

研究期間：継 2005 年度（2002～2005 年度）

### 1. 目的

秋田県では、農産物の加工において穀物の殻やおから等多くの植物性食品廃棄物が排出されており、焼却又は埋め立てにより廃棄されるため環境に対する負荷が大きい。一方、環境保全のための生分解性プラスチックが開発されているが、原料である乳酸の価格が高いため広く使用されていない。また、炭酸ガスの排出が規制され始めている現在、化石燃料に変わるエネルギー源が期待されている。そこで、食品廃棄物から得られたバイオエタノールをエネルギー源として利用し、さらに乳酸を原料にした生分解性プラスチックを作ることが可能になれば炭酸ガスの排出の規制に大きく寄与することができると期待される。そこで、本研究課題では、農産廃棄物からの乳酸とバイオエタノールの生産について検討を行った。

平成17年度は、カドミウム汚染米、コーヒー粕からのエタノール生産と、木材バイオマスの糖化方法について検討を行った。

### 2. 方法

農産廃棄物原料として 1.1ppm のカドミウム (Cd) を含有した玄米 (Cd 米) 及びコーヒー粕と木材廃棄物を用いた。Cd 米は糖化酵素により、コーヒー粕と木材廃棄物は希硫酸を用いてそれぞれ糖化した。Cd 米からのエタノール発酵は、玄米 50g に脱イオン水 120ml を入れ 121℃で 15 分加熱・冷却後、酵素と酵母を用いて発酵を行わせた。Cd の分析は、ICP 発光分析で定量した。コーヒー粕および木材バイオマスは酸処理糖化後の液を水酸化カルシウムで中和した後、酵母を用いて発酵を行った。

全糖量はフェノール硫酸法、単糖の分析は DIONEX、エタノールは酵素法を用いて定量を行った。

### 3. 結果の概要

本年度の結果及び考察

#### I. カドミウム米からのバイオエタノール生産

加熱処理後の Cd 米に糖化酵素とプロテアーゼを添加し、さらに同時に酵母を植菌して並行複発酵を行わせたところ、12.06g のエタノールを得ることが出来た。発酵終了時の上清には米に含有していた Cd 量の 28% が遊離していた。また、発酵終了後の遠沈残渣を pH2.8 の 0.1% 乳酸溶液で処理したところ 40% の Cd を遊離させることができた(表 1)。Cd の遊離は酵母の種類により差があり、さらに Cd を取り込んだ酵母は、乳酸溶液の処理だけでは Cd を遊離しないことが判明した(表 2)。また、1.1ppm の Cd を含有した玄米は、酵母の発酵に影響しないことが判明した(図 1)。

#### II. コーヒー粕からのバイオエタノール生産

コーヒー粕を 1% 硫酸で 121℃で 3 時間処理することにより、糖化することに成功した。この糖化液を用いて酵母による発酵を行わせたところ 1g のコーヒー粕から 0.24g のエタノールを得ることが出来た。

#### III. 木材廃棄物の糖化条件の検討

チップ状に破碎した秋田杉を 1% 硫酸で 121℃で 3 時間処理することにより、糖化することに成功した。また、糖化収率は、粒径が小さいほど高くなり、ロッドミル粉碎で得られた平均粒径

100 μm の木材粉碎物がもっとも糖化収率が高かった。

表1. バイオエタノール発酵における粉碎米と玄米のCdの挙動

画分	粉碎米		玄米	
	Cd(mg)	Cd含有率(%)	Cd(mg)	Cd含有率(%)
カドミウム米	0.055	100	0.055	100
発酵終了時の上清	0.0154	28	0.0024	4.4
残渣の酸処理液上清	0.022	40	0.01	18.2
酸処理後の残渣	0.0176	32	0.0426	77.4

表2. 酵母の違いによる玄米中のCdの挙動

画分	K11		NBRC0224	
	Cd(mg)	Cd含有率(%)	Cd(mg)	Cd含有率(%)
カドミウム米	0.0550	100	0.0550	100
発酵終了時の上清	0.0022	4	0.0024	4.4
残渣の酸処理液上清	0.0020	3.6	0.0100	18.2
酸処理後の残渣	0.0508	92.4	0.0426	77.4

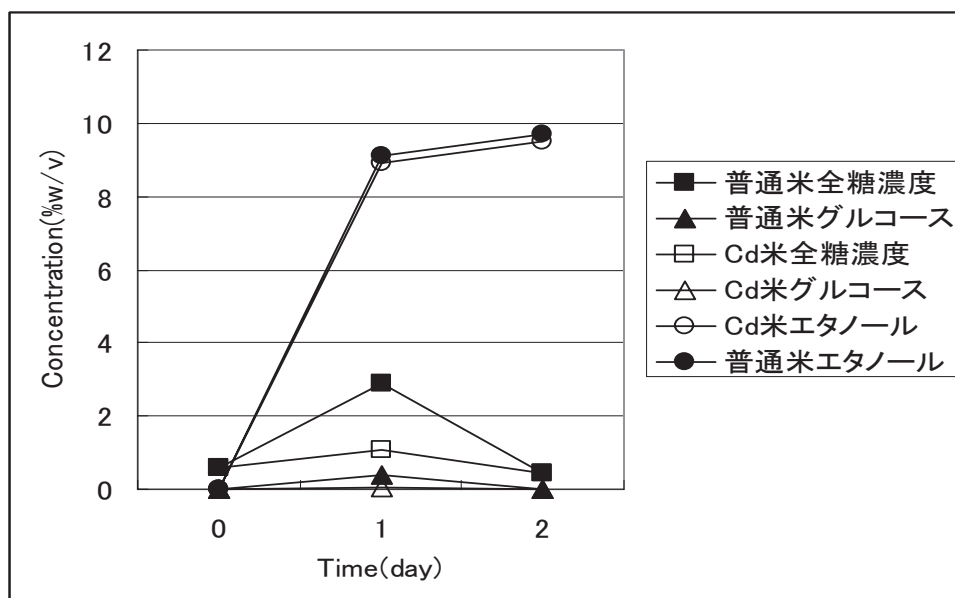


図1. カドミウム含有米と普通米を原料にしたときの発酵経時変化

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点：木材バイオマスからのバイオエタノール生産システムの確立

必要な協力関係：秋田県立大学生物資源学部、システム科学技術学部、木材高度加工研究所、

次年度の具体的計画：地域コンソ、および県環境枠にて引き続きバイオエタノール生産について検討を行う。

#### 5. 結果の発表、活用等

結果の文献発表：①Production of bioethanol from spent grain, a by-product of beer production. *Journal of Biotechnology* 118: 165-166, (2005). ②Continuous production of bioethanol from spent grain, a by-product of beer production. *J. Inst. Brew.* (投稿中)

研究会等への報告：①12th European Congress on Biotechnology (Denmark), ②平成17年度日本農芸化学会大会

## 完了試験研究課題

研究課題：植物性産業廃棄物からのゼロエミッションを目指した環境浄化技術の開発

担当部署：酒類部門 酒類第2担当

担当者名：進藤 昌

協力分担：秋田今野商店(株)、(独)産業技術総合研究所、秋田県立大学生物資源学部、秋田県立大学システム科学技術学部、秋田県立大学木材高度加工研究所、環境センター

予算区分：国庫（中小企業技術開発産学官連携促進事業）

研究期間：完 2005年度（2002～2005年度）

### 1. 目的

秋田県では、農産物の加工において穀物の殻やおから等多くの植物性食品廃棄物が排出されており、焼却又は埋め立てにより廃棄されるため環境に対する負荷が大きい。一方、環境保全のための生分解性プラスチックが開発されているが、原料である乳酸の価格が高いため広く使用されていない。また、炭酸ガスの排出が規制され始めている現在、化石燃料に変わるエネルギー源が期待されている。そこで、食品廃棄物から得られたバイオエタノールをエネルギー源として利用し、さらに乳酸を原料にした生分解性プラスチックを作ることが可能になれば炭酸ガスの排出の規制に大きく寄与することができると期待される。そこで、本研究課題では、農産廃棄物からの乳酸とバイオエタノールの生産について検討を行った。

### 2. 方法

モデル植物性食品廃棄物としてモルト粕を用いた。廃棄物の爆砕処理は、耐圧 40kg/cm<sup>2</sup>、容量 2L の爆砕装置を用いて行った。また爆砕可溶化液の糖化は、市販の酵素剤を用いて行った。全糖量はフェノール硫酸法、単糖の分析は DIONEX、エタノールは酵素法を用いて定量を行った。酵母の固定化はガラスビーズに吸着増殖させることにより調製した。

### 3. 結果の概要

#### I. モルト粕の物理的物質変換に関する検討

- ・モルト粕を 30kg/cm<sup>2</sup> で1分間爆砕処理したときに最も可溶化率および糖の収率が高かった。
- ・爆砕可溶化液をグルコアミラーゼとセルラーゼで処理したときに最も単糖生成率が高かった。

#### II. モルト粕からの乳酸生産に関する検討

- ・爆砕可溶化液の *Lactobacillus rhamnosus* NBRC14710 による最適発酵温度は37℃であった。
- ・爆砕可溶化液に Tween80 を添加することにより発酵速度および生産量を上げることが出来た。また、固定化乳酸菌を用いて40日間にわたり安定に繰り返しの連続生産を行う事ができた

#### III. モルト粕からのバイオエタノール生産に関する検討

- ・ペントース発酵酵母とヘキソース発酵酵母の2種類の酵母を用いることにより、それぞれ単独で発酵を行わせた場合よりも糖からのエタノール収率が高くなることが判明した。
- ・2種類の酵母をガラスビーズに固定化し全糖濃度17%に調製した爆砕可溶化液を用いて繰り返しの連続生産を行うことに成功した。

#### IV. カドミウム米 (Cd米) からのバイオエタノール生産

- ・加熱処理後の Cd 米に糖化酵素とプロテアーゼを添加し、さらに同時に酵母を植菌して並行複発酵を行わせたところ、50g の Cd 米から 12.06g のエタノールを得ることが出来た。
- ・発酵終了時の上清には米に含有していた Cd 量の 28% が遊離していた。また発酵終了後の遠沈残渣を pH2.8 の 0.1% 乳酸溶液で処理したところ 40% の Cd を遊離させることができた。Cd の遊離は酵母の種類により差があり、さらに Cd を取り込んだ酵母は、乳酸溶液の処理だけでは Cd を遊離しないことが判明した。

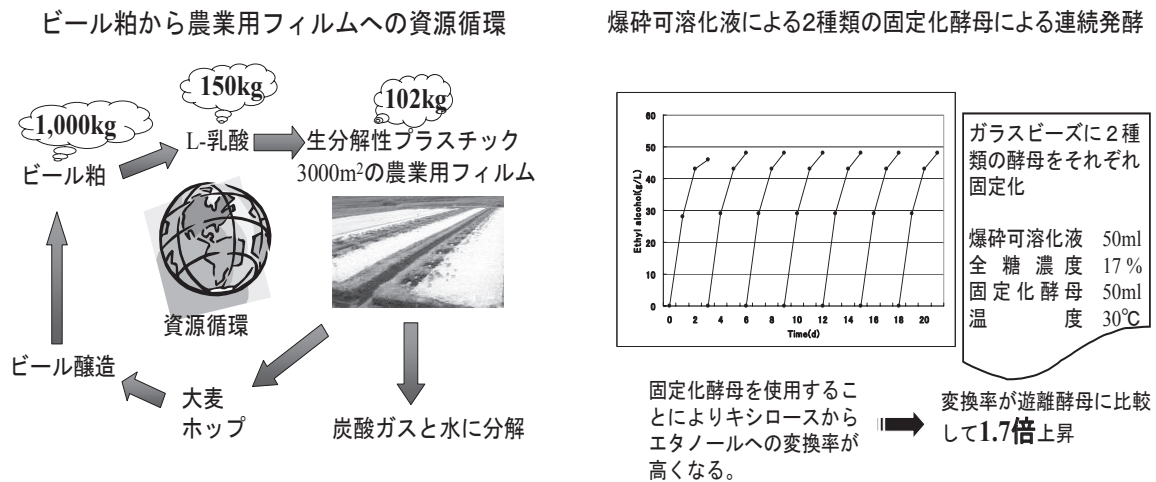
#### V. コーヒー粕からのバイオエタノール生産

コーヒー粕を 1% 硫酸で 121℃ で 3 時間処理する事により、糖化することに成功した。この糖化

液を用いて酵母による発酵を行わせたところ 1g のコーヒー粕から 0.24g のエタノールを得ることが出来た。

## VI. 木材廃棄物の糖化条件の検討

チップ状に破碎した秋田杉を 1% 硫酸で 121°C で 3 時間処理することにより、糖化することに成功した。また、糖化収率は、粒径が小さいほど高くなり、ロッドミル粉碎で得られた平均粒径 100µm の木材粉碎物がもっとも糖化収率が高かった。



## 4. 成果の活用面と留意点

- 文献発表：①Production of L-lactic acid from spent grain, a by-product of beer production *Journal of Institute of Brewing*, 110, 347-351, (2004). ②Production of L-lactic acid from malt feed, a by-product of beer production. *Proceedings International Symposium on Organics Recycling* 365-370, (2004). ③食品工場の廃棄物から乳酸をつくる。化学と生物 **42(9)**, 571-572, 2004 ④食品産業廃棄物からの生分解性プラスチック原料の乳酸の生産。エコインダストリー、**12(9)**, 14-19, 2004, ⑤食品工場の廃棄物から生分解性プラスチックをつくる。あきた経済 **6**, 16-22, (2005). ⑥Production of bioethanol from spent grain, a by-product of beer production. *Journal of Biotechnology* **118**: 165-166 ,(2005) ⑦Continuous production of bioethanol from spent grain, a by-product of beer production. *J. Inst. Brew.* (投稿中)
- 研究会への報告：①平成15年度日本農芸化学会大会 ②平成15年度産学官連携促進事業推進委員会(平成16年1月30日) ③平成16年度産学官連携促進事業推進委員会(平成17年2月24日) ④有機資源循環利用技術国際シンポジウム ⑤産業技術連携会議生命工学部会 ⑥平成16年度日本農芸化学会大会 ⑦12th European Congress on Biotechnology (Denmark)、 ⑧平成17年度日本農芸化学会大会
- マスコミ等への発表、秋田魁新聞、日本経済新聞、日経産業新聞、重工業新聞、日本中小企業新聞、テレビ各社等
- 知的所有権：①特許公開 2004-254542 「食品廃棄物からの乳酸の製造方法」  
②特許願 2004-174938 「重金属汚染植物からの乳酸生産と重金属の除去方法」

## 5. 残された問題とその対応

本研究で得られた成果を基に引き続き以下のテーマで検討を行う。

- ①ファイトレメディエーションバイオマスからの乳酸とバイオエタノール生産に関する研究。
- ②木材バイオマスからのバイオエタノール生産に関する研究。



研究課題以外の試験研究成績

区 分：平成17年度競争的資金事業  
 研 究 名：消費者の求める食品の安全性と機能性をプラスした県産ブランド100%加工食品の開発  
 研 究 期 間：平成17年度（平成17～18年度）  
 協力・分担関係：農業試験場

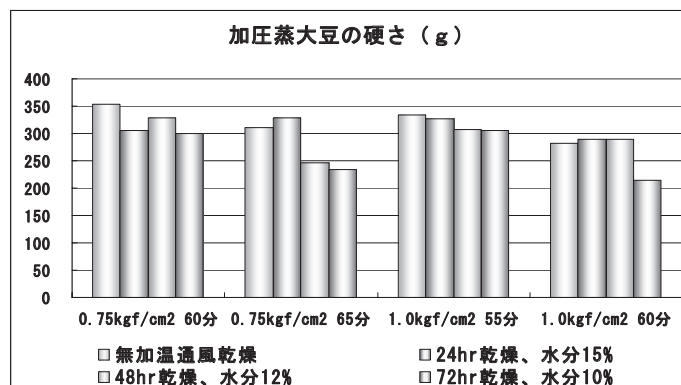
【概 要】

**目的** 県産大豆の供給拡大とそれを用いた新たな味噌の開発

**方法** 大豆の品質変動要因を味噌製造面から探るために、蒸煮試験及び仕込試験を行う。  
 機能性を付加するために香気成分 HEMF 高生成酵母を開発する。

**結果の概要**

1. 農試大豆では、収穫後の加熱条件の設定により水分を減少させると、蒸煮後硬さが柔らかくなる傾向にあった。
2. 秋田県味噌醤油工業協同組合加盟 15 工場から得た 39 サンプルから 271 株の酵母を得た。18%食塩存在下での生育可能 pH による分類、食塩濃度 0%、18%および 21%での生育状況、顕微鏡観察などの結果から、61 株の酵母を取得した。



区 分：外部資金  
 研 究 名：秋田比内地鶏の雄雛を利用した加工食品並びに製造技術の開発  
 研 究 期 間：平成17年度  
 協力・分担関係：農畜産振興課，畜産試験場，農業公社畜産振興部

【概 要】

県内の比内地鶏生産は昨今の地鶏ブームもあり、順調に増加している。一方、生産農家の一部には雛不足による飼養管理施設の有効活用がなされていないという意見もある。雄雛はその肉の硬さや臭いの面で好まれない理由から農家では、ほとんど飼養されていなかった。そこで、雄雛を加工食品原料として有効利用可能であることを明らかにすることを目的とした。

120日齢の雄のもも肉、手羽、内臓を惣菜あるいはつまみ風に調味してレトルト処理した。内臓は地鶏としての特徴をそれほど示さなかったが、もも肉や手羽はレトルト処理後も適度な弾力があり、試食者の評価も高かった。雄肉は加工用原料としての利用には、何ら問題ないことがわかった。

区	分：食品産業活性化事業（流通経済課）
研 究 名：	県産農水産物の高付加価値化のための加工技術の開発とその応用
研 究 期 間：	平成17年度
協力・分担関係：	武田水産（株）、（株）ユニレックス 他

### 【概要】

#### <目的>

高電場を利用した食品加工技術により県産農水産物を加工し、高付加価値の地域特産品を開発して、地域の新規食品事業の創出を促す。

また、地域特産品の開発コンセプト等の立案において、感性工学手法を用い、新商品開発、評価手法の開発を行う。

#### <方法>

本年度は本研究の予備的段階として、高付加価値の地域特産品を開発するための、商品アイテムの候補を探索し、商品開発の可能性を検討するとともに、商品のプロトタイプを作成し、感性工学的手法により商品コンセプト等の検討を行う。男鹿地域開催される新規商品開発研修において商品開発研修の講師を務めることにより、その研修会において男鹿地域における地域特産品のコンセプト案等を研修参加者から探索し、検討を行った。

#### <成果>

新商品開発研修において、「男鹿で観光向けにあったら良いもの」というテーマについて、ブレインストーミング法により約150のテキストデータを収集し、これについてテキストマイニングし、テーマについてのキーワードを抽出した。

ブレインストーミング法で収集したテキストデータの例

NO	内容
10	男鹿弁の語りを聞きながら家庭料理を体験
11	男鹿でナマハゲの人形焼きをつくる(デッカイもの)
12	男鹿でハタハタのつくだ煮(てり焼き)をハタハタのパッケージに入れて売る
13	男鹿でお菓子の箱にナマハゲのお面をつけて売る
15	男鹿で(水族館)つり堀で(海)活魚の販売(男鹿の魚) つったものをもらえる 料金あり
16	男鹿で(門前)サザエとワカメを売るときの容器をナマハゲの箱にする
17	男鹿で若美メロンと男鹿なしのババヘラアイス
18	男鹿で(柴灯まつり)ナマハゲセットとして甘酒+タラ汁
19	男鹿で「夏いか」の一匹焼きを水族館で売る
20	男鹿で売店の袋をナマハゲの形にする

ブレインストーミング法により、「なまはげ・ナマハゲ」、「はたはた、ハタハタ、鱒」を抽出した。男鹿の新規商品開発のキーワードを「なまはげ・ナマハゲ」、「はたはた、ハタハタ、鱒」とした。

高電場を利用した高付加価値な地域特産品開発の手段として、高電場スモーク装置を用いた高品位かつ生産効率のよいくん製品の開発の予備試験をおこない、現行のくん製方式（熱くん法）によるハタハタのくん製とハタハタの焼き干しについて、そのプロトタイプを試作した。

プロトタイプの手ハタハタのくん製等について、高電場スモーク装置での製造条件について、前処理方法、スモーク処理条件の検討を行った

区	分：技術指導
研	究 名：清酒酵母「原株6号酵母」からの泡無株の取得と醸造適性
研	究 期 間：平成17年度（平成16～継続）
協	力・分担関係： 新政酒造（株）

### 【目的】

「きょうかい6号酵母」は新政酒造（株）から分離された酵母であり、現在、（財）日本醸造協会から全国に販売されている。新政酒造（株）ではその原株を使っており、平成16年度に、「原株6号酵母」を改良して泡無株「新6号酵母」を分離し、小仕込試験で醸造適性を確認した。平成17年度は、「新6号酵母」の現場における酒造適性と商品化を検討した。

### 【方法】

60%美山錦を原料とし、「原株6号酵母」と「新6号酵母」による純米酒現場醸造試験を行い、酵母・醪経過の解析と一般成分・香気分析の分析を行った。また、官能試験により商品の品質設計を行った。

### 【成果】

「原株6号酵母」に比べ「新6号酵母」が発酵が旺盛でアルコール生成が高くなり、逆に酸度は低くなった。製成酒の香気成分は、「原株6号酵母」に比べ「新6号酵母」がカプロン酸エチルが25%高くなった。総合的に「新6号酵母」の酒造適性が優れていることが確認され、平成17年9月に特別純米酒「新政六號」1.8Lと720mlとして商品化された。

区	分：秋田県清酒分析研究会 共同開発
研	究 名：凍結殺菌法を用いた「微発泡性にごり生酒」の品質安定技術の確立と商品化
研	究 期 間：平成17年度（平成16～継続）
協	力・分担関係：研究会会員 県内8清酒製造場 4個人会員

### 【目的】

清酒醪を凍結すると酵母が死滅することが知られており、その凍結殺菌法を利用して、平成16年に、県内1清酒製造場から「微発泡性にごり生酒」を商品化した。しかし、酵素の活性は維持されており、甘辛の変化、酵素による品質の変化等の課題が残った。

平成17年度は、本製品のさらなる品質安定技術の確立と、他の清酒製造場への技術移転を目的とした。

### 【方法】

新たに3社からの製造希望があり、品質設計・商品設計等をアドバイスした。本年度は、4社から商品化され、官能試験によりガスの状態や品質をチェックした。

A社とB社：10%程度のごり割合

C社とD社：100%のごり酒、ややアルコール低め

各商品中の酵母の死滅をメチレンブルー染色とプレート法で測定した。

### 【成果】

A社とB社のようなにごり割合が10%程度の「にごり酒」はガス圧も低く、酵母の死滅率もほぼ100%で商品として極めて安定していた。C社とD社のようなアルコールが低めで100%の「にごり酒」はガス圧がやや高く、酵母の死滅率が100%に達していないことが解った。酵母の死滅率は、凍結と解凍の回数を増やすことによりほぼ100%にすることができた。

区 分：技術指導  
研 究 名：ブランデー製造について  
研 究 期 間：平成17年度（平成16～17年度）  
担 当 者：杉本勇人、進藤 昌  
協力・分担関係：有限会社天鷲ワイン

【目 的】

プラムを原料とした、ブランデー、ホワイトブランデーの製造技術の確立を行い、品質の向上を目指す。

【方 法】

現場の蒸留器を用いて、University of Economic science and Public Administration (Hungary)のパニック博士の手法を基に、蒸留条件、初留・主留・後留の回収割合などの条件をつめ、雑味等を除去する技術を確立し、ホワイトブランデー（プラムパーリンカ）を製造した。また、樽熟成ブランデーの製造は、各樽の熟成度を把握し、ブレンドを官能評価等により細かく行い、樽貯蔵ブランデー（Amasagi-Roman 天鷲浪漫）を製造した。

【成 果】

プラムパーリンカ 県庁記者発表 平成 17 年 11 月 15 日

ホワイトブランデー プラムパーリンカ (300 ml 1,800 円) 平成 17 年 12 月 1 日 発売

樽貯蔵ブランデー Amasagi-Roman 天鷲浪漫

(120 ml 1,200 円、330 ml 2,000 円) 平成 18 年 3 月 3 日 発売

区 分：戦略的共同研究プロジェクト推進事業（学術国際部 競争的資金）  
研 究 名：天然由来の化粧品成分の探索と高品質化粧品素材の開発  
研 究 期 間：平成17年度（平成 17～ 19年度）  
協力・分担関係：㈱坂本バイオ、㈱スカイライト・バイオテック、秋田県立大学

【目的】

秋田県内企業、大学および公設試によるコンソーシアム形成を通じて、県内における新規産業を創出し、産業振興を図る。本課題では、㈱坂本バイオの鹿角霊芝や、㈱スカイライト・バイオテックならびに秋田県立大学による地衣菌エキスに含まれる化粧品成分の探索を行い、それら特徴を前面に押し出した化粧品素材の開発を行う。

【成果】

- 1) ㈱坂本バイオにおいて、鹿角霊芝エキス GANO™ が開発された。また、マキアレーベル社より、GANO™ を使用した化粧水REISI EXmediが発売された。
- 2) 庄司 真弓, 菅原 美貴子, 佐々木 裕樹, 畠 恵司, 堀 一之, 高橋 砂織, 原 光二郎, 山本 好和 ”培養地衣類 *Thelotrema subtile* 抽出物のメラニン合成抑制活性” 日本薬学会 第 126 年会にて発表予定
- 3) 畠 恵司, 堀 一之, 高橋 砂織 ”天然成分によるメラニン産生制御” 産業技術連携推進会議 東北・北海道地域部会研究論文集 (2006)
- 4) 畠 恵司, 向山 俊之 ”マンネンタケ由来メラニン合成抑制物質の美白効果”, アンチエイジングシリーズ 2 『皮膚の抗老化最前線』 エヌ・テイ・エス出版 (2006 年 6 月発刊予定)



平成18年度

## 試験研究計画の概要

## 1 研究計画の基本方針

総合食品研究所では、県内食品企業等からの研究ニーズ、食品産業の動向、県の施策等を踏まえ、食品の加工及び酒類の製造に関する研究開発を推進しています。また、研究成果や技術の普及指導を実施し、これまで、県産農産物に含まれる健康の維持・増進に寄与する機能性成分の解明や新たな酵母、乳酸菌、麹菌の収集と選抜、改良、さらに、味、香り等の風味、鮮度を保持する高度な加工技術の開発を進め、研究成果の県内企業への迅速な技術移転により、多くの「秋田ブランド商品」開発を支援し、産業活性化に寄与してきました。これまで研究所で蓄積してきた研究成果やノウハウを基盤に、更なる産業支援を進めるため、重点研究領域を次の3領域に絞り込み、研究課題への取り組みを進めます。

### 〈重点研究領域〉

- 1) 食品の生理機能と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究
  - ア. 生理機能性の解明と加工技術開発
  - イ. 物理化学特性の解明と加工技術開発
- 2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究
  - ア. 食品の高度加工技術開発
  - イ. 酒類の高度醸造技術開発
  - ウ. 食品の安全性に関する研究
- 3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究
  - ア. 微生物・酵素利用の高度化
  - イ. 環境対応技術開発

消費者は、食の健康維持・増進機能に対する期待と食の安全・安心と信頼性に対する要求を増大させています。一方企業では、特保食品など健康関連商品の市場が拡大し、大企業を中心に商品開発が進められています。本県においては、他県に先駆け高齢化が加速進行しており、研究所では、高齢者やその予備軍を対象とした、食による健康維持・増進機能を付与した機能性食品や素材の開発に取り組みます。また、これまでの高齢者向け加工食品は、栄養面からの評価が主体であったため、味覚機能の面からの評価に取り組み、食品の物性を改善する新たな加工法の開発に取り組みます。

また、本県の主要な農産物である米とハタハタに代表される県特産資源をターゲットとした新規需要を掘り起こす、新たな加工法の開発に取り組みます。酒類については、酒質の個性化とバラエティ化を進めるため、新しい醸造技術の開発に取り組むとともに、酒造好適米「秋田酒こまち」の酒造特性を活かす新たな酒造技術の開発に取り組みます。食品の安全については、微生物的な汚染の感染経路や食品汚染菌の生理特性について、基礎的な研究に取り組み、安全・安心な加工食品の提供と消費者に信頼されるための食品加工技術の開発を進めます。

環境対策については、食品企業や農産物生産現場から発生する残渣等からのエネルギーや有用物質生産に取り組むとともに、食品工場でのゼロエミッション化のための技術開発を行います。さらに、今後取り組む研究対象において、研究所の豊富なシーズである微生物群や酵素の高度利用技術を組み合わせ、多面的に研究を進めます。

## 2 平成18年度 研究課題の概要

### (1) 食品の生理機能と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究 (2 課題)

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
<p>新たな生理機能の解析とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発</p> <p>【食品開発、食品機能、環境食品安全、酒類、応用発酵、酵素微生物・県単】 〈平成15～19年〉</p>	<p>県産食材の中から生活習慣病（糖尿病合併症、高血圧症）、抗腫瘍作用の予防効果のある活性物質の機能解析をすすめ、活性物質の効率的かつ安定的生産方法を確立し、地域食品産業振興を図るために、県産農産物を活用した高付加価値商品の開発を支援する。</p> <p>また、県産ブドウは、ポリフェノール含量が低いため、それ以外の新規な機能性成分の探索とその成分を増強した果実酒等を開発をし、県内産果実酒等の品質の高度化と差別化による市場拡大を目指す。同時に、これら成分を付与した蒸留酒を開発する。さらに、果実蒸留酒の新規機能性成分の探索を行う。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 糖尿病合併症予防および抗腫瘍性因子の探索と機能解析</li> <li>2 発酵食品と農水産物の複合的利用による機能性の向上</li> <li>3 高血圧予防因子の探索と機能解析</li> <li>4 高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析</li> <li>5 新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発</li> </ol>
<p>《新規》 温度及び圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発</p> <p>【食品機能・県単】 〈平成18～20年〉</p>	<p>従来の食品加工技術や装置は、県内食品産業にとって高価格で大型であるために新規導入が困難であった。このため、加工工程別の温度および圧力の最適処理条件を探索し、食品添加物や化学的処理に依存しない新しい加工技術を開発する</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 高品位穀類粉末の開発</li> <li>2 圧力可変プログラム式ジュール加熱装置の開発</li> </ol>

### (2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究 (5 課題)

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
<p>県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発</p> <p>【食品開発、環境・食品安全・県単】 〈平成15～19年〉</p>	<p>鮮魚ハタハタとハタハタ卵の粘りを失わない品質保持技術の開発とハタハタ等の県産水産物を利用した発酵食品や製造技術を開発し、実用化と普及を図る。</p> <p>また、廃棄される黒変ジュンサイの原因を解明し、防止法等の品質向上技術の開発と新しいジュンサイ加工品の開発のための貯蔵方法を検討する。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 ハタハタの品質保持技術の開発</li> <li>2 水産発酵食品の抗酸化性に関する研究</li> <li>3 新しい地域特産加工食品の開発</li> <li>4 米麴利用食品及び米麴の高品質化に関する研究</li> </ol>

(2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究 (続き)

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
<p>県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術開発 【食品開発、食品機能、酒類、応用発酵・県単】 〈平成15～19年〉</p>	<p>県産米の需要拡大を図るため、県農試で育成した新形質米、次世代酒米品種等の清酒や腎臓病患者向けの米飯等新しい用途を開発する。 また、穀類需要拡大のため穀類の持つ活性酸素を消去する機能の活用、穀類の超微粉化や米粉の原料コストの低減を目指した搗精粉利用など新規加工法を開発する。 さらに、県産大豆を用い、当研究所で開発した麹菌・酵母・乳酸菌を組み合わせ、色・味・香り・機能性を合わせ持つ高品質秋田みそ製造技術の開発と普及を図る。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 新形質米を使った加工米食品の開発</li> <li>2 穀類の活性酸素消去能を活用した製品と加工法の開発</li> <li>3 大豆品種すずさやかの加工適正及び生理機能性評価</li> <li>4 生澱粉分解酵素利用</li> <li>5 穀類粉を用いた新商品開発</li> <li>6 秋田酒こまち玄米評価法の確立</li> <li>7 秋田みその品質高度化に関する研究</li> </ol>
<p>原料水の特性解明と食品製造への有効利用 【酒類、食品機能・県単】 〈平成16～18年〉</p>	<p>本県の豊かな自然をイメージできる水を原料水とした食品製造に関わるデータベースを構築し、秋田の水の特長を生かした清酒及び米飯加工食品の秋田ブランド食品開発と既存商品の改良に利用する。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 米飯加工食品の分析調査・データベースの高度解析</li> <li>2 原料水の分析調査</li> <li>3 原料水が醸造微生物に与える影響の検討</li> </ol>
<p>《新規》 醸造用微生物の高度複合活用技術の開発 【酒類・県単】 〈平成18～20年〉</p>	<p>酵母の混合発酵中の個々の酵母を判別し、酵母の個々の特性を生かしながらの安定した再現性のある清酒の混合発酵製造法を確立する。また、麹菌に関しても特徴的な麹菌を混合使用して、独自性を維持した高品質の清酒を製造法を確立する。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 色素・栄養要求性による酵母の判別方法</li> <li>2 単一麹菌の培養試験</li> </ol>
<p>《新規》 食品汚染細菌の検出と防御技術に関する基盤研究 【応用発酵・県単】 〈平成18～20年〉</p>	<p>清酒腐敗菌（火落菌）や食品腐敗菌の多くは加熱処理の困難な原材料に付着して混入する可能性があるが、混入経路や増殖のプロセスは不明な場合が多い。食品腐敗菌の somni cell (休眠細胞) 状態の生理特性の解明を基に、食品腐敗菌の混入経路、増殖、消滅などを解明する。</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 somni cell 判別法の開発</li> <li>2 somni cell 化条件の検討</li> </ol>



(3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究 (3 課題)

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
<p>白神微生物バンクの有効活用に関する研究 【応用発酵・酵素・微生物・県単】 〈平成15～19年〉</p>	<p>多くの有用微生物が眠っている白神山地からの微生物分離・選抜手法を確立し、大規模な白神微生物バンクを作る。 分離・選抜された白神微生物を活用し、製パン、酒類、味噌醤油製造業（酵母）、漬物、酒類・味噌、乳製品製造業（乳酸菌）、各種発酵工業（麹菌）など広く県内産業を振興し、新規製造業の創出にも貢献する。</p>	<p>1 真菌類の有効利用に関する研究 2 乳酸菌を用いた機能性食品の開発 3 放線菌及び耐熱性菌由来有用酵素と酵素阻害物質等に関する研究</p>
<p>有用麹菌遺伝子の解析 【酵素・微生物、応用発酵・県単】 〈平成16～18年〉</p>	<p>実用麹菌株の広範な比較遺伝子解析を行い、醸造現場で蓄積されてきた有用遺伝子の特徴を解明するとともに、醸造に応用可能な遺伝子の検索を行う。</p>	<p>1 新規遺伝子解析法の開発 2 新規トラッピング法の開発 3 有用麹菌株育種への応用 4 味噌用麹菌の有用形質関連遺伝子のスクリーニング</p>
<p>米加工副産物からの有効活用に関する研究 【食品開発・国庫】 〈平成17～21年〉</p>	<p>米加工副産物となる米糠から GABA やビフィズス菌増殖活性因子等の機能性成分の強化技術を開発と、その利用食品の開発を行う。 秋田の気候にあった低温発酵性の乳酸高生産菌を用いた食品用乳酸製造技術を開発する。</p>	<p>1 無洗米粕からの乳酸発酵による有用物質の生産 2 GABA 生産乳酸菌の分離選抜及び特性解明</p>

## 平成17年度 試験研究成果概要

発行 平成19年1月  
発行者 秋田県農林水産技術センター総合食品研究所  
〒010-1623  
秋田市新屋町字砂奴寄4-26  
tel 018-888-2000(代) fax 018-888-2008  
<http://www.arif.pref.akita.jp>

この印刷物は200部作成し、印刷経費は1部当たり287.70円です。