

平成19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

試驗研究成果概要

平成 19 年度

試験研究成果の概要

目 次

1. 平成19年度試験研究成果概要

(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

生理機能性の解明と加工技術開発

県産食材の生理機能性を活用した高齢者むけ食品の開発

食材由来高血圧予防因の探索と機能解析(完了) 4

咀嚼・嚥下機能、呈味強度の数値評価法の開発 6

温度および圧力を駆使した高品位な加工技術の開発

種々の圧力条件下におけるジュール加熱と品質評価 8

(2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究

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(完了) 10

新しい地域特産加工食品の開発

ハタハタ及びジュンサイを利用した加工品開発(完了) 12

米麴利用食品及び米麴の高品質化 14

米麴利用食品及び米麴の高品質化(完了) 16

県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

新形質米を活用した新たな米加工食品の開発

古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究 18

古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究、低グルテリン米の利用に関する研究(完了) 20

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 22

穀類粉を用いた新商品開発(完了) 24

生澱粉分解酵素利用 26

生澱粉分解酵素利用(完了) 28

秋田みその品質高度化に関する研究 30

秋田みその品質高度化に関する研究(完了) 32

(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

白神微生物バンクの有効利用に関する研究

放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究	34
放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究(完了)	36
真菌類の有効利用に関する研究	
酵母の有効利用に関する研究	38
酵母の有効利用に関する研究(完了)	40

麹菌等の高度利用化技術の開発

放線菌や細菌類との協約的分解系の検討	42
--------------------	----

食品廃棄物・農林水産廃棄物のカスケード利用によるゼロエミッション技術の開発

食品廃棄物・農林水産廃棄物を効率的にバイオエタノールに変換する技術の開発	44
食品廃棄物・農林水産廃棄物変換プロセスから副生する物質の処理・再利用技術の開発	46

(4) その他研究

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：食品の生理機能性と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究
生理機能性の解明と加工技術開発
県産食材の生理機能性を活用した高齢者向けの食品開発
食材由来高血圧予防因の探索と機能解析

担当部署：管理室、酵素・微生物グループ

担当者名：高橋砂織、堀 一之

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：新2007年度（2007～2009年度）

1．目的

県産食材の機能性探索の一環として、これまでに独自に開発したヒトレニン阻害アッセイ系を用いてレニン制御物質のスクリーニングを行う。また、これまでの研究で明らかとなっている大豆由来レニン阻害物質の精製を進め、構造機能相関解析を行う。

2．方法

組換えヒトレニンの大腸菌での発現と活性化：組換え型ヒトプロレニンの発現ベクターは、pETベクターを用いて構築した。組換え型プロレニンは、大腸菌 BL21(DE3)において封入体として発現した。封入体は、Takahashi らの方法で巻き戻しと活性化を行った [S. Takahashi *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**(12), 2913-2918 (2006)]。

レニン活性測定法：レニンの活性は蛍光消光基質 Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-His-Lys-(Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH₂ (*, 加水分解部位)を用いて測定した [S. Takahashi *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**(10), 2610-2613 (2007)]。

大豆抽出液の調製方法：一晩水に浸漬した大豆をオートクレーブした。冷却後、フードプロセッサーで粉碎し、遠心上清を回収した。得られた抽出液を Sep-Pak Vac C18 35cc (Millipore) に吸着させ、メタノール溶出画分を減圧乾燥した。

3．結果の概要

大豆抽出液を出発材料として各種クロマトグラフィーを用いてレニン阻害物質の精製条件を検討した。その結果、精製にある程度の目処が立った。

4．成果の活用面と留意点

大豆レニン阻害物質の大量精製を確立し、構造を明らかとし、新たな機能性食品開発のシーズとする。

5．残された問題とその対応

本研究課題は、平成20年度より県央エリア事業として継続される。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：県産食材の生理機能性を活用した高齢者むけ食品の開発
咀嚼・嚥下機能、呈味強度の数値評価法の開発

担当部署：食品機能グループ

担当者名：熊谷昌則、高橋徹、佐藤文華、秋山美展

協力分担：秋田県立大学生物資源学部石川匡子助教

予算区分：県単

研究期間：新2007年度（2007～2009年度）

1．目的

高齢者に特有身体的特徴や嗜好を総合的に考慮した食品の設計を可能にするために、食品の咀嚼・嚥下の難易度や呈味強度を数値表現するための評価法について検討する。

今年度は、味覚センサを用いた低ナトリウム塩の味質評価、ならびに嚥下困難者用とろみ調整剤が食材の味に与える影響について検討した。

2．方法

味覚センサの測定は味認識装置 SA-402（インテリジェントセンサーテクノロジー）を用いた。味覚センサ測定用試料として、低ナトリウム塩については、市販の調味塩3種とコントロールとして食塩を加えた、それぞれの1%水溶液を用いた。また、とろみ調整剤については、塩味（NaCl）、酸味（クエン酸）、うま味（MSG）、苦味（キニーネ）、苦味（イソ酸）、渋味（タンニン）のそれぞれの味覚センサ用標準味サンプル基準液に対して、とろみ調整剤をそれぞれ0.5%添加した試料を用いた。

3．結果の概要

低ナトリウム塩の味質評価について、それぞれの調味塩はそれぞれ異なった味覚センサ応答パターンを示し、塩味センサととろみ調整剤に対する応答は調味塩A > 調味塩C > 調味塩Bの順で強く、酸味センサに対する応答は調味塩B > 調味塩C > 調味塩Aの順で強いことが示された。苦味・渋味、渋味センサについてはほぼ同等の応答であった（図1）。なお、調味塩Aは塩化カリウム代替塩、調味塩Bはレモンソルト、調味塩Cは梅ソルトであり、官能検査でも味覚センサ応答と同様の味質評価が得られている。

とろみ調整剤が食材の味に与える影響について、味覚センサ標準味サンプル基準液に対する応答は、塩味ではほとんど影響が見られなかったが、それ以外の酸味、うま味、苦味、渋味に対しては、応答電位が変化していることから、これらの味に影響を与えていることが示唆された（図2）。

4．今後の問題点と次年度以降の計画

味覚センサの測定結果をふまえて、今後は嗜好性に優れた低ナトリウム塩の新規開発や、食材の味に与える影響の少ないとろみ調整剤の選択や新規開発に応用していく予定である。

5．結果の発表、活用等

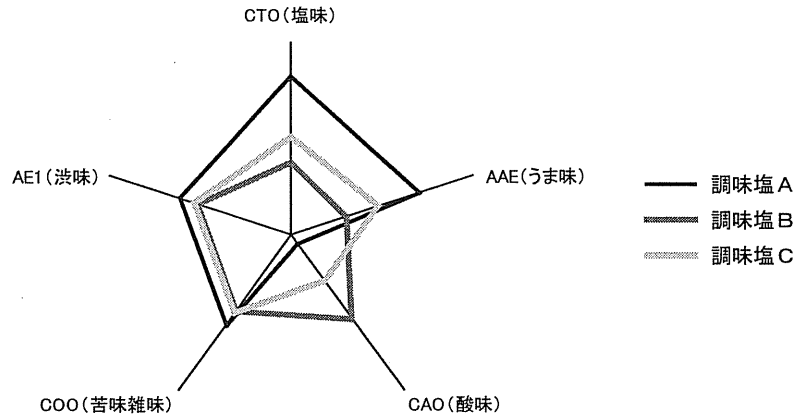


図1 市販低ナトリウム塩の味質評価
(それぞれの軸は味覚センサ応答相対値を示す)

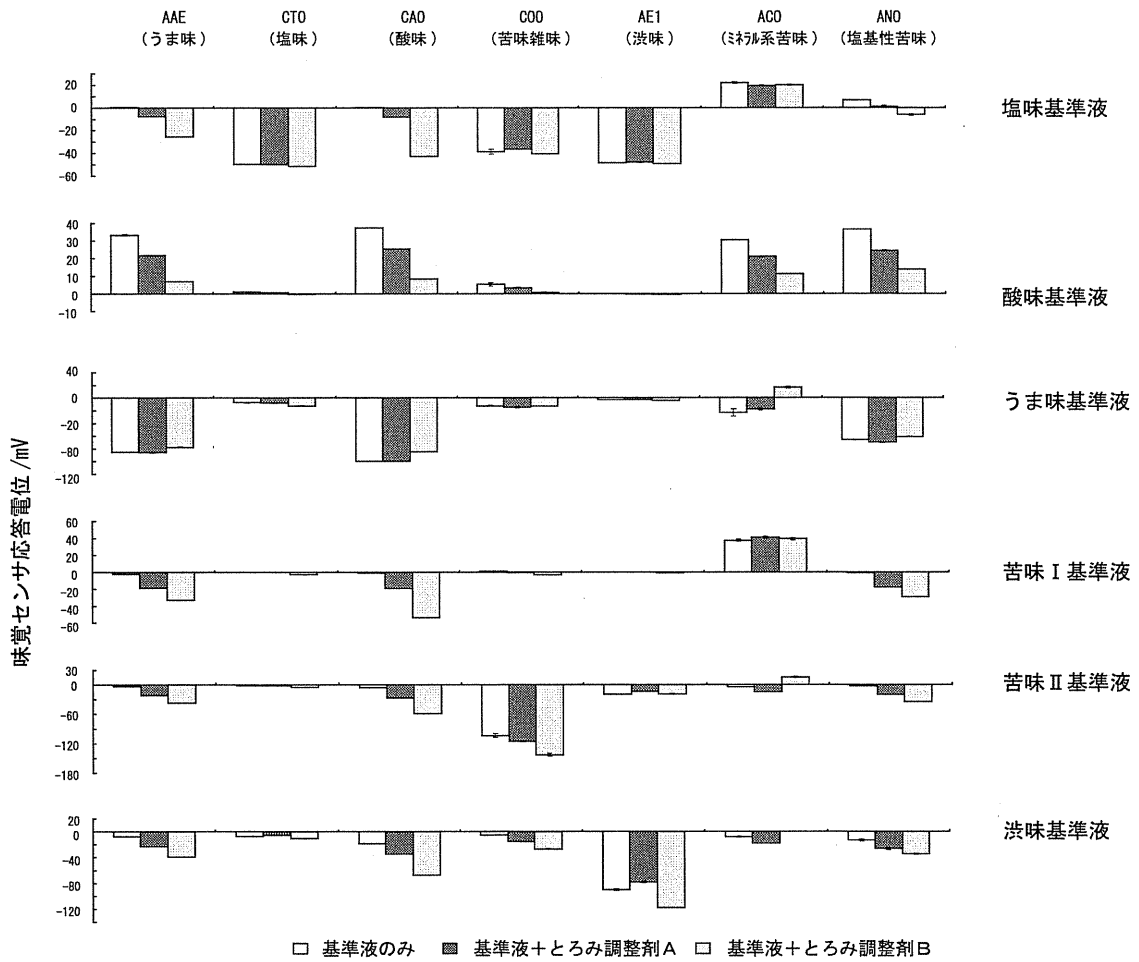


図2 標準味サンプル基準液に対するとろみ調整剤の影響

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：温度および圧力を駆使した高品位な加工技術の開発

（1）種々の圧力条件下におけるジュール加熱と品質評価

担当部署：食品機能グループ

担当者名：高橋徹、熊谷昌則、秋山美展

予算区分：県単

研究期間：継2007年度（2006～2008年度）

1. 目的

ジュール加熱法は、温度制御精度の高さや熱効率の良さなどの多くの利点を有しており、装置が小型、安価で汎用性にも富むことから、中小零細の食品メーカーの製造技術革新に大きく貢献することが期待されている。

昨年度は、これまで常圧の大気下で処理を行っていたジュール加熱加工を、減圧または加圧下で行うことを可能にしたジュール加熱用加減圧装置を開発した。そこで今年度は、本装置を用いて、食品の物性改良や機能性付加のための加熱や加減圧の物理処理を行い、その品質評価を目的とした。

2. 方法

1) 装置

実験に用いた装置を図1に示す。本装置は加減圧容器、加減圧ポンプ、ジュール加熱容器で構成され、 -0.05MPa から 0.2MPa までの加減圧処理を行うことができる。今回用いたジュール加熱容器のサイズは、内径 $7.9\times 4.3\times 10\text{cm}$ である。

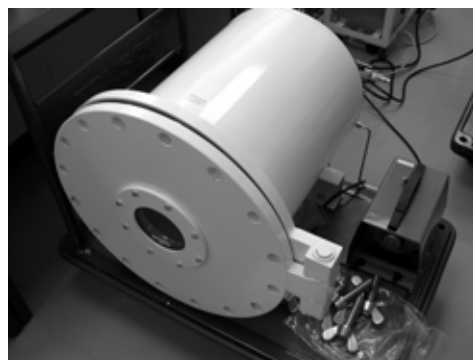


図1 ジュール加熱用加減圧装置

2) スポンジケーキ生地

市販のホットケーキミックス（森永製菓）50gに、全卵12.5gと水37.5gの割合（計100g）で調製した。

3) 調製条件

本装置での加熱条件は昇温5分で100℃達温後、10分間保持とし、常圧加熱（コントロール）、減圧加熱（ -0.03MPa ）、加圧加熱（ 0.03MPa ）の3試験区でスポンジケーキを調製した。

3. 結果の概要

図2に本装置で調製した3試験区のスポンジケーキの外観を示す。このときの生地の温度履歴は図3のとおりであった。図4～6にはそれぞれ生地の高さ、比容積、加熱減量を示したが、加熱時の圧力を調整することができる本装置を使うことによって、通常の常圧条件では調製することのできないスポンジケーキが容易に調製できることが示された。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

加熱時の圧力をコントロールすることが容易に行えることを利用して、食感などの物性改良のための最適条件について検討する。

5. 結果の発表、活用等

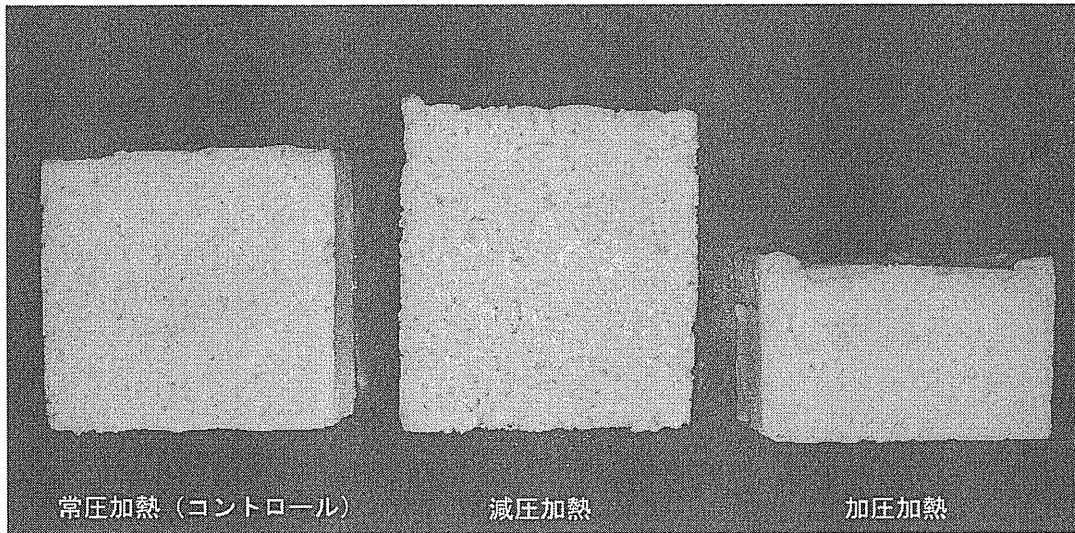


図2 圧力条件の違いによるスポンジケーキの容積変化

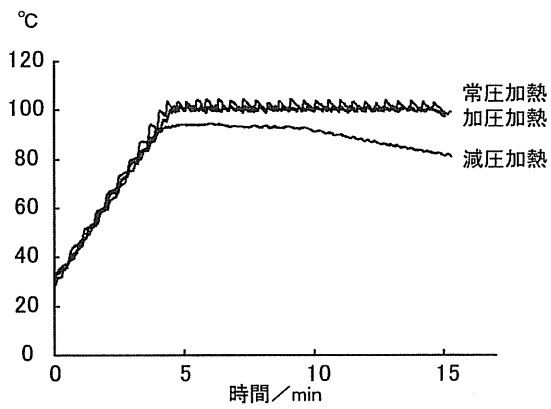


図3 生地温度履歴

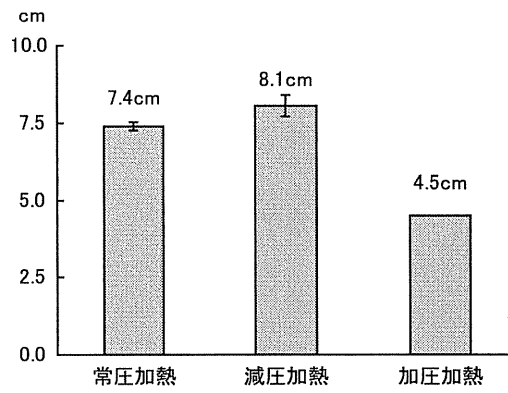


図4 生地の高さ

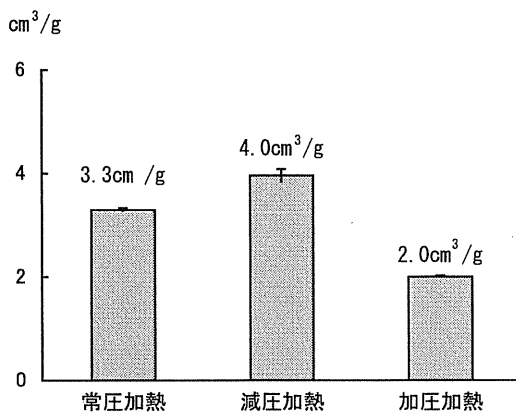


図5 生地の比容積

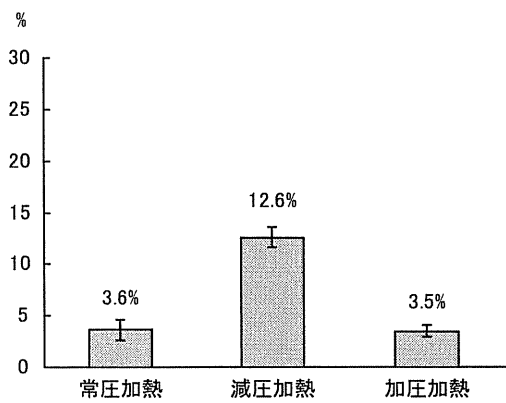


図6 生地の加熱減量

完了試験研究課題（2008年2月作成）

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（(1)食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究 1)食品の高度加工技術の開発）
(2)水産発酵食品の高品質化に関する研究

担当部署：食品開発グループ

担当者名：塚本研一

協力分担：水産振興センター

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1. 目的

近年、県産農水産物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。ハタハタ資源は順調に回復し、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。ハタハタの主な加工廃棄物であるシラコ（精巢）についてしょっつるの製造技術を利用して食品化を目指す。また、秋田県特産水産発酵食品としてのハタハタずしやしょっつるの消費は減少傾向であり、近年の消費者嗜好の多様性に対応するためには品質改善が必要である。そこでしょっつるの高品質化のため、新たな製造方法について検討し、高品質なしょっつるの製造技術開発も目的とした。

2. 方法

- 1)シラコを原料としたしょっつるの試作 秋田県漁協製の冷凍シラコ（精巢）を原料として、酵素法によるしょっつるの製造方法に準じて試作を行った。シラコ500gに対して150g(30%)の食塩とプロテアーゼアマノA2.5g(0.5%)を添加し室温で12ヶ月分解した。
- 2)しょっつるの原料の検討 ハタハタしょっつるの高品質化のためのハタハタの処理方法としょっつるの品質について検討した。原料としてハタハタ雌のドレス（頭部、内臓を除去したもの）、10%食塩で脱水処理したものおよび10%食塩で脱水処理した後2%乳酸浸漬処理したものについて対照と比較した。しょっつるの試作は原料の30%の食塩を添加し、酵素法により室温、12ヶ月で行った。
- 3)分析項目 各処理によるしょっつるの試作品についてpH（pHメーター）、塩分（硝酸銀滴定法）および遊離アミノ酸組成（自動アミノ酸分析計）の分析を行った。

3. 結果の概要

- 1)試作したシラコしょっつるの遊離アミノ酸組成はアルギニンが25.8%であり遊離アミノ酸の中で最も多かった（表1）。試作したしょっつるはやや苦味が感じられたが、アルギニンは苦味を有するアミノ酸であるため、シラコしょっつるの苦味には主にアルギニンよると考えられる。
- 2)ハタハタ雌ドレス、それに10%食塩で脱水処理したもの、10%食塩で脱水処理した後2%乳酸浸漬処理をした原料から試作したしょっつるの各アミノ酸組成に大きな違いは見られなかった（表1）。
- 3)旨味系、甘味系および苦味系の比率に大きな違いは見られなかったが、遊離アミノ酸の総量は10%食塩で脱水処理した後2%乳酸浸漬処理 > 10%食塩処理 > ドレス > ラウンド > ラウンド酵素なしの順となった（図1）。
- 4)食塩分はほぼ同じであることから、ハタハタドレスを10%食塩で脱水処理した後2%乳酸浸漬処理したものは食塩に対するアミノ酸量が最も多くなった。従って官能試験と合わせた評価が必要であるが、塩カドの少ないしょっつるになると推定される。

5)ハタハタドレスを使用し、10%食塩で脱水処理した後 2%乳酸浸漬処理を行うことにより遊離アミノ酸濃度を高め、従来のしょつつるより味の濃いしょつつるを製造することが可能であることがわかった。

4．成果の活用面と留意点

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。

5．残された問題とその対応

- 1)シラコしょつつるは固液分離の効率的方法を検討する必要がある。
- 2)高品質しょつつるの実用化のため官能評価と合わせ開発を進める予定である。

表1 試作しょつつるの遊離アミノ酸組成

アミノ酸	ハタハタメストレス		10%食塩処理		10%食塩処理→乳酸処理		シラコ+酵素	
	(mg/100ml)	組成 (%)	(mg/100ml)	組成 (%)	(mg/100ml)	組成 (%)	(mg/100ml)	組成 (%)
タウリン	39.6	0.4	47.7	0.5	23.3	0.2	62.3	0.6
アスパラギン酸	460.9	5.2	529.6	5.2	675.8	6.2	287.5	2.6
スレオニン	563.5	6.4	648.1	6.4	679.2	6.2	237.6	2.2
セリン	557.4	6.3	636.3	6.3	619.0	5.7	306.9	2.8
アスパラギン	190.5	2.1	218.2	2.2	221.7	2.0	31.5	0.3
グルタミン酸	1167.8	13.2	1351.4	13.3	1667.3	15.3	364.4	3.3
グリシン	391.2	4.4	467.3	4.6	425.6	3.9	109.6	1.0
アラニン	826.8	9.3	1058.5	10.4	1051.0	9.6	291.9	2.7
バリン	595.7	6.7	675.9	6.7	719.1	6.6	274.9	2.5
メチオニン	241.1	2.7	255.4	2.5	253.6	2.3	113.7	1.0
システイン	48.1	0.5	50.6	0.5	37.4	0.3	11.2	0.1
イソロイシン	368.7	4.2	374.5	3.7	420.5	3.8	230.2	2.1
ロイシン	548.5	6.2	532.5	5.2	504.9	4.6	395.2	3.6
チロシン	92.2	1.0	88.8	0.9	98.9	0.9	56.1	0.5
フェニルアラニン	353.9	4.0	385.1	3.8	419.8	3.8	203.4	1.9
ヒスチジン	162.3	1.8	191.7	1.9	222.6	2.0	65.5	0.6
リジン	1080.8	12.2	1257.5	12.4	1393.8	12.7	308.3	2.8
アルギニン	859.4	9.7	1009.5	9.9	1117.6	10.2	1215.8	11.1
プロリン	320.8	3.6	368.9	3.6	381.7	3.5	141.9	1.3
Total	8869.1	100.0	10147.5	100.0	10932.9	100.0	4707.7	43.1

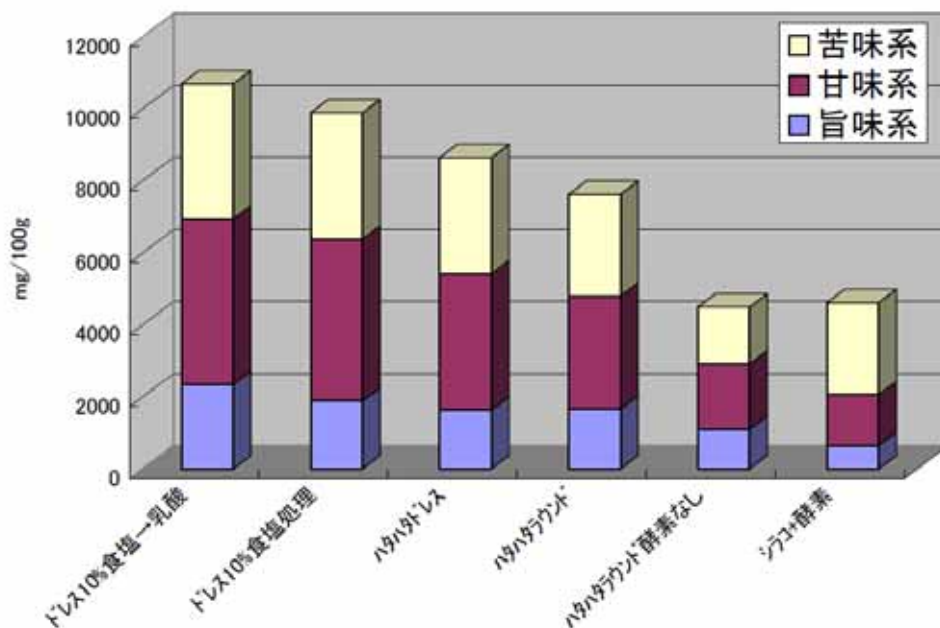


図1 しょつつる遊離アミノ酸の比較

完了試験研究課題（2008年2月作成）

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（(1)食品及び酒類の安全性と高度 1)加工技術に関する研究 食品の高度加工技術の開発）
新しい地域特産加工食品の開発
ハタハタ及びジュンサイを利用した加工品開発

担当部署：食品開発グループ、他

担当者名：塚本研一、水畜産加工担当

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1．目的

近年、県産農水産物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。ハタハタおよびジュンサイは秋田県の特産食品として全国的にも有名である。特産食品として今後も生き残っていくためには品質向上と新しい加工品の開発が必要である。これまでに得られた本研究課題の研究成果を応用しながら主にハタハタとジュンサイに関して高品質で新たな加工品を製造する方法について検討した。

2．方法

- 1)ジュンサイの黒変防止技術で使用したクエン酸浸漬法により処理したジュンサイについてフルーツとの配合を検討した。
- 2)ハタハタ卵加工品製造用のブリコ採取の際にメスハタハタドレスが同時にできるが、その有効な加工方法について検討した。
- 3)ハタハタずしの原料処理方法を基本として、ドレス中央部はハタハタずし用とし先端と尾部の利用を検討した。
- 4)レトルト加工の前処理としてレトルト加工でも魚肉が崩れない前処理方法を検討した。
- 5)ハタハタブリコの使用方法として海藻との組み合わせを検討した。

3．結果の概要

- 1)試作したフルーツジュンサイ（写真1）について食品加工研修等で評価を行った結果、ジュンサイは酢醤油など塩味系で食べるのが一般的であり、特に加工ジュンサイは酢酸で処理されているため甘味との相性がこれまでは薄かったが、今回の試作品はクエン酸のみで処理されているためフルーツとの違和感はなかった。
- 2)食品加工研修受講者から葉の大きいジュンサイでも試験をする必要があるという意見があり、これを含めて商品化の検討を進めたい。
- 3)ハタハタの前処理方法として水洗 塩漬け クエン酸処理 水洗の処理で生臭みが除去できた。さらに調理（写真2）するとほとんどハタハタ独特の生臭みは感じられなかった
- 4)また、ハタハタのレトルト前の処理として水分をできるだけ除去することが必要であることがわかった。
- 5)水分を除去する方法を検討した結果、脱水シート、焼処理、揚げ処理またはその組み合わせが有効であり、脱水シートと揚げ処理の組み合わせが生臭みが最も少なく良好であった。
- 6)ハタハタを脱水処理後では形態として二枚卸、腹開きでもレトルト加工（写真3）が可能であることがわかった。
- 7)ハタハタブリコ加工品とクロモおよびギバサとの混合を検討した結果、ギバサの粘りとブリコ加工品（特許法による）は違和感がなく、配合比率によって自在に食感が調製でき商品の種類が広がる可能性が示唆された（写真4）。

4．成果の活用面と留意点

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。

5．残された問題とその対応

- 1) ジュンサイはさらなる用途開発が必要である。
- 2) ハタハタは生臭み物質の解明と除去方法の確立が必要である。



写真1 フルーツジュンサイ



写真2 ハタハタ先端部唐揚げ



写真3 焼ハタハタ（開き）レトルト



写真4 ブリコ+ギバサのにぎりずし

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

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

米麴利用食品及び米麴の高品質化

担当部署：環境・食品安全グループ、食品開発グループ

担当者名：佐々木康子、塚本研一

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：継 2007年度（2006～2007年度）

1. 目的

米麴は、漬物、味噌、水産加工品などの伝統食品の原料となっており、県内では、米麴を多く使用する食品が好まれているが、嗜好の変化によりハタハタずしの販売は伸び悩んでいる。そこで、ハタハタずしの消費拡大のため、新しいタイプのハタハタずしを開発することを目的とする。また、製品の品質向上の面から、より衛生的にハタハタずしを製造する方法についても検討する。

2. 方法

1) 米麴の酵素活性に対するクエン酸添加の影響

クエン酸溶液または水(10ml)、種麴（白麴1号菌、焼酎白麴菌：秋田今野商店製）(0.007g)を米(20g)に添加して製麴した。キッコーマン社製のキットで -アミラーゼ、糖化力(グルコアミラーゼ、-グルコシダーゼ)、酸性カルボキシペプチダーゼ(ACP)の測定を行った。

表1 種麴の種類と添加したクエン酸の最終濃度

試験区	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
種麴	1号菌	1号菌	1号菌	1号菌	1号菌	焼酎用	焼酎用	焼酎用	焼酎用	焼酎用
クエン酸濃度(%)	0	0.25	0.50	0.75	1.0	0	0.25	0.50	0.75	1.0

2) 製麴時のクエン酸添加による *E. coli* 増殖抑制効果の検討

クエン酸溶液は、米麴中での最終濃度が0～0.1%になるように調製し、*E. coli* は、マクファーランド濁度1 (3.0×10^8 /ml)になるように懸濁させ、1000倍希釈して溶液を調製した。クエン酸溶液または水(10ml)、種麴(0.007g)(白麴1号菌)、*E. coli* 溶液(100 μ l)を米(20g)に入れて吸水させ、吸水直後に初発の *E. coli* 数を測定した。その後、製麴を行い、出麴の *E. coli* 数を測定した。*E. coli* 数測定には、ペトリフィルム(*E. coli*・大腸菌群数測定用：スリーエムヘルスケア社製)を使用した。

3) ハタハタずしの製造

水(50g)、種麴(白麴1号菌または焼酎白麴菌)(0.035g)を米(100g)に加え、米麴を製造した。同様に、0.25%クエン酸入り麴(種麴：白麴1号菌)を製造した。ハタハタドレスの尾を除去し、そぎ切りにして流水でさらし、ハタハタ重量の15%の食塩を混ぜて、一晚漬けた。塩漬後、水切りしたハタハタに3.5%に調製した食酢を同量入れ、一晚漬けた。米麴は、白麴1号菌麴と焼酎麴を表2の割合で混合したもの(A～E)を準備した。0.25%クエン酸入り麴(F)は混合せずに使用した。酢漬けたハタハタを水切りしたものの460g、ご飯と米麴を4:1に混合したものの500gを量り取り、これらを漬物容器に交互に重ねて、3.5kgの重石をして5日間で3週間熟成させた。

表2 米麴の配合割合

試験区	A	B	C	D	E	F
白麴1号菌麴	100	75	50	25	0	100(+0.25%クエン酸)
焼酎麴	0	25	50	75	100	0

3. 結果の概要

1) クエン酸入りの米麴の酵素活性を測定したところ、クエン酸濃度が高くなるに従って、酵素活性が落ちる傾向が見られたが、特にクエン酸濃度が0.5%以上で顕著だった(図1、図2、図3)。

2) 米麴のクエン酸濃度が0.02%以上で *E. coli* 増殖抑制効果が認められ、0.1%以上で *E. coli* が陰性になった(表3)。この結果から、製麴時にクエン酸を添加すれば、衛生的な米麴が製造でき、衛生的なハタハタずし製造につながると考えられる。

3) パネル22名でハタハタずしの官能試験を行った。A、B、C、D、E、Fについて順位づけした結果から、Fを好むグループとFを好まないグループの2つにパネルが大別されることが分かったため、Fを好むグループ(パネル12名)とFを好まないグループ(パネル10名)について、それぞれフリーマンの検定を行ったところ、Fを好むグループは $F_0^2 = 25.10$ で1%有意、Fを好まないグループは $F_0^2 = 14.51$ で5%有意になった。Fを好むグループはハタハタずしが嫌いだと答えたパネルが多く、Fを好まないグループはハタハタずしが好きだと答えたパネルが多かった。どちらのグループもAとEの評価が悪く、B、C、Dの評価が良かった。Fは、酸味のバランスがよく甘みがあり、酢酸の香りが柔らかいという特徴があり、新しいタイプのハタハタずしとして新たな市場を開拓できる可能性がある。

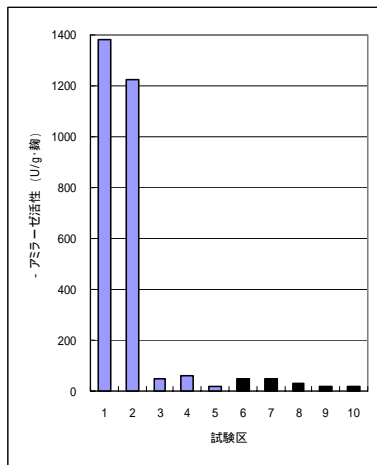


図1 米麴の - アミラーゼ活性

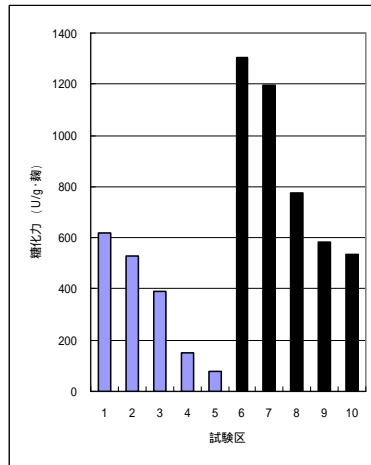


図2 米麴の糖化力

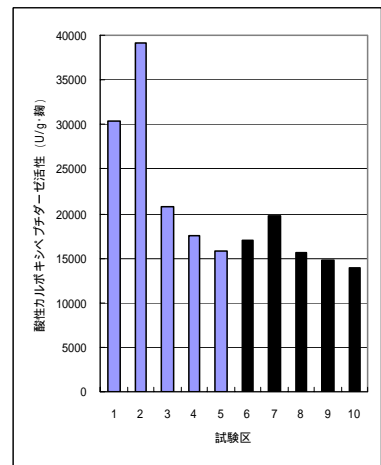


図3 米麴の ACP 活性

表3 製麴時のクエン酸添加による *E. coli* 数の変化

クエン酸濃度 (%)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10
初発の <i>E. coli</i> 数 (CFU/g)	3400	4600	4100	2800	3300	3800	3600	3600	2900	3000	3000
出麴の <i>E. coli</i> 数 (CFU/g)	30000	5700	2200	1500	2200	260	240	38	5	8	0

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今回は、クエン酸入りの米麴を作成するのに 米を用いたので、米麴を目的のクエン酸濃度にするには、何%のクエン酸で米を浸漬すればよいか検討が必要。

5. 結果の発表、活用等

なし

完了試験研究課題（2008年2月作成）

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
米麴利用食品及び米麴の高品質化

担当部署：環境・食品安全グループ、食品開発グループ

担当者名：佐々木康子、塚本研一

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2006～2007年度）

1. 目的

米麴は、漬物、味噌、水産加工品などの伝統食品の原料となっており、県内では、米麴を多く使用する食品が好まれているが、嗜好の変化によりハタハタずしの販売は伸び悩んでいる。そこで、ハタハタずしの消費拡大のため、新しいタイプのハタハタずしを開発することを目的とする。また、製品の品質向上の面から、衛生的にハタハタずしを製造する方法についても検討する。

2. 方法

(1) 2006年度の方法

1) 米麴の製造と分析：種麴(0.035g)(白麴1号菌、焼酎白麴菌：秋田今野商店製)、水50mlを米(100g)に加え、製麴した。酵素活性測定は、 α -アミラーゼ、糖化力(グルコアミラーゼ、 β -グルコシダーゼ)、酸性カルボキシペプチダーゼについて、キッコーマン社製のキットを用いて行った。

2) ハタハタずしの製造

ハタハタの下処理：ハタハタドレスの尾を除去し、そぎ切りにして流水でさらし、ハタハタ重量の15%の食塩を混ぜて、一晚漬けた。塩漬後、水切りしたハタハタに3.5%濃度に調製した食酢を同量入れ、一晚漬けた。

a) 従来法 酢漬けしたハタハタ1kg、ご飯と米麴を4:1に混合したもの1kgを量り取り、これらを漬物容器に交互に重ねて、2kgの重石をして5日で3週間熟成させた。

b) 新規法 米麴：ご飯：水=1:1:2の重量比で混合し、60℃で3時間糖化させ甘酒を作成した。酢漬けしたハタハタ1kgに甘酒1kgを加え、2kgの重石をして、5日で3週間熟成させた。

(2) 2007年度の方法

1) 米麴の酵素活性に対するクエン酸添加の影響：クエン酸溶液または水(10ml)、種麴(白麴1号菌、焼酎白麴菌)(0.007g)を米(20g)に添加して製麴し、酵素活性を測定した。

表1 種麴の種類と添加したクエン酸の最終濃度

試験区	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
種麴	1号菌	1号菌	1号菌	1号菌	1号菌	焼酎用	焼酎用	焼酎用	焼酎用	焼酎用
クエン酸濃度(%)	0	0.25	0.50	0.75	1.0	0	0.25	0.50	0.75	1.0

2) 製麴時のクエン酸添加による *E. coli* 増殖抑制効果の検討：クエン酸溶液は、米麴中での最終濃度が0~0.1%になるように調製し、*E. coli* は、マクファーランド濁度1 (3.0×10^8 /ml)になるように懸濁させ、1000倍希釈して溶液を調製した。クエン酸溶液または水(10ml)、種麴(白麴1号菌)(0.007g)、*E. coli* 溶液(100 μ l)を米(20g)に入れて吸水させ、吸水直後に初発の *E. coli* 数を測定した。その後、製麴を行い、出麴の *E. coli* 数を測定した。*E. coli* 数測定には、ペトリフィルム(*E. coli*・大腸菌群数測定用：スリーエムヘルスケア社製)を使用した。

3) ハタハタずしの製造：水(50g)、種麴(白麴1号菌または焼酎白麴菌)(0.035g)を米(100g)に加え、

米麴を製造した。同様に、0.25%クエン酸入り麴(種麴：白麴1号菌)を製造した。ハタハタの下処理は、(1)-2)と同様に行った。米麴は、白麴1号菌麴と焼酎麴を表2の割合で混合したもの(A~E)を準備した。0.25%クエン酸入り麴(F)は混合せずに使用した。酢漬けたハタハタを水切りしたもの460g、ご飯と米麴を4:1に混合したもの500gを量り取り、これらを漬物容器に交互に重ねて、3.5kgの重石をして5日3週間熟成させた。

表2 麴の配合割合

試験区	A	B	C	D	E	F
白麴1号菌麴	100	75	50	25	0	100 (+0.25%クエン酸)
焼酎麴	0	25	50	75	100	0

3. 結果の概要

(1) 2006年度の結果

- 1) 新しいタイプのハタハタずしを製造するため、焼酎麴に着目し、その特徴を調べた。α-アミラーゼ活性は白麴1号菌麴が焼酎麴の20倍以上、糖化力は焼酎麴が白麴1号菌麴の1.5倍以上であることがわかった。また、焼酎麴は、白麴1号菌麴の2倍以上のクエン酸を生産した。
- 2) 製法について、ご飯と米麴を混合してそのまま漬け込む従来法と、ご飯と米麴をあらかじめ糖化して漬け込む新規法を比較検討した。官能検査の結果、従来法の評価が高かったため、漬け込み方法は従来法がよいと判断した。

(2) 2007年度の結果

- 1) ハタハタずし製品に衛生的な問題がある場合、米麴由来の場合もあることから、米にクエン酸を浸漬して製麴することで衛生的なハタハタずしの製造が可能になるのではないかと考え、検討を行った。クエン酸で浸漬することによる酵素活性への影響を調べるため、クエン酸入りの麴の酵素活性の測定を行った。クエン酸濃度が高くなるに従って、酵素活性が落ちる傾向が見られたが、特にクエン酸濃度が0.5%以上で顕著だった。また、クエン酸濃度0.02%以上で*E. coli*増殖抑制効果が認められ、0.1%以上で陰性になったので、製麴時にクエン酸を添加すれば、衛生的な米麴が製造できると考えられる。
- 2) 2006年度の結果を受け、白麴1号菌麴と焼酎麴を混合して使用すれば、漬け込み中の糖化が進みやすくなり、麴菌の相互作用により新しい風味が生じる可能性があると考え、2種類の米麴を混合してハタハタずしを製造した。なお、クエン酸入りの米麴を使用した場合についても同時に試験を行った。

パネル22名でハタハタずしの官能試験を行った。A、B、C、D、E、Fについて順位づけした結果から、Fを好むグループとFを好まないグループの2つにパネルが大別されることが分かったため、Fを好むグループ(パネル12名)とFを好まないグループ(パネル10名)について、それぞれフリーマンの検定を行ったところ、Fを好むグループは $\chi^2 = 25.10$ で1%有意、Fを好まないグループは $\chi^2 = 14.51$ で5%有意になった。Fを好むグループはハタハタずしが嫌いだと答えたパネルが多く、Fを好まないグループはハタハタずしが好きだと答えたパネルが多かった。どちらのグループもAとEの評価が悪く、B、C、Dの評価が良かった。Fは、酸味のバランスがよく甘みがあり、酢酸の香りが柔らかいという特徴があり、新しいタイプのハタハタずしとして新たな市場を開拓できる可能性がある。

4. 成果の活用面と留意点

ハタハタずしが嫌いな消費者向けにはクエン酸入り麴を使用したもの、万人受けするものを製造するには2種類の米麴を混ぜたものを使用するとよいと考えられる。また、クエン酸入り麴を使用すれば、風味の面で斬新で、かつ衛生的なハタハタずしが製造できる。

5. 残された問題とその対応

米麴のクエン酸濃度を目的の濃度にするには、何%のクエン酸で米を浸漬すればよいか検討が必要。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発
新形質米を活用した新たな米加工食品の開発
古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究

担当部署：食品開発グループ

担当者名：大能俊久

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007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年頃から遊離脂肪酸の関与、細胞壁の架橋構造、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。

これまでの研究から、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。本年度は、新米、古米を各種の溶液で加熱した際のタンパク質の挙動と、米デンプンを添加した場合の米飯テクスチャー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) 米飯テクスチャー

秋田県産あきたこまちの新米、古米を各種溶液で炊飯して米飯テクスチャーをテンプレッサーで測定した。また、米デンプンを1、または3%添加した場合の米飯テクスチャーを測定した。

2) 加熱時脱離固形分

新米、古米サンプル5gをプリンカップに採り、各種溶液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、液を105℃で3時間加熱乾燥して加熱時脱離固形分を求めた。また、加熱時脱離固形分の成分を定量した。

3) 加熱時のタンパク質の挙動

新米、古米に3倍量の各種溶液を加えて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2倍量の蒸留水を加えた後液から米粒を除去し、その液にA溶液〔1Mトリス塩酸バッファー（pH6.8）1mL、BPB1mg、グリセロール2mL、ME1.2mL、SDS0.4gを蒸留水で10mLにしたもの〕を加えて90℃で2分熱処理した上清（加熱後脱離タンパク質液）について、SDS-PAGEを行った。

3．結果の概要

1) 前年度までの結果

これまで、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、SS結合還元剤で改良されること、脱気貯蔵してもテクスチャーの劣化を抑えられずグルテリンの酸化の進行を抑制できないこと、などが分かった。加熱時脱離固形分は、新米で多く古米で少ないこと、SS結合還元剤で米飯のバランス度も加熱時脱離固形分も増加することが分かった。

2) 今年度の結果

新米、古米を各種の溶液で加熱処理した場合の加熱時脱離固形分と米飯のバランス度の相関を調べた（図1）。ピアソンの相関係数法により相関を検定したところ、0.1%の危険率で相関が認められた。このことから、米粒からの脱離固形分の増加が米飯テクスチャーに関与すると推測した。加熱時脱離固形分は主にデンプンからなることから（表1）、古米に米デンプンを添加して米飯テクスチャーを調べた（表2）。米デンプンを添加しても、米飯テクスチャーに有意な変化は認められなかった。このことから、加熱時脱離固形分量は米飯のバランス度に影響を与えないと判断した。

加熱後脱離タンパク質を調べたところ、米飯のバランス度が高い古米をSS結合還元剤で加熱した場合に、グルテリンの脱離量が増加すること（図2）、新米も古米に比べてグルテリンの脱離量が増加することが分かった（図3）。このことから、米粒表層の主にグルテリンを蓄積するプロテインボディの脱離が米粒表層の脱離を引き起こし、それらが米粒表層から減少することが米飯テクスチャーに関与すると判断した。

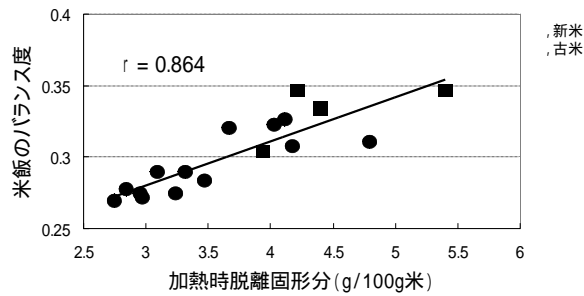


図1 加熱時脱離固形分と米飯のバランス度の相関

表1 加熱時脱離固形分の成分(乾物換算値)

	含量 (%)
粗タンパク質	3.1
粗脂肪	2.4
灰分	1.8
ショ糖	1.4
グルコース	1.2
フルクトース	0.1
デンプン等の多糖類	90.0

表2 デンプンを添加した場合の米飯テクスチャー

デンプン添加量 (%)	硬さ (N)	粘り (N)	バランス度
	平均値 ± 標準偏差	平均値 ± 標準偏差	平均値 ± 標準偏差
0	33.8 ± 4.6	9.19 ± 0.55	0.277 ± 0.042
1	32.2 ± 4.5	9.18 ± 0.58	0.291 ± 0.046
3	33.0 ± 3.5	9.35 ± 0.66	0.287 ± 0.039

米飯30粒を測定した。

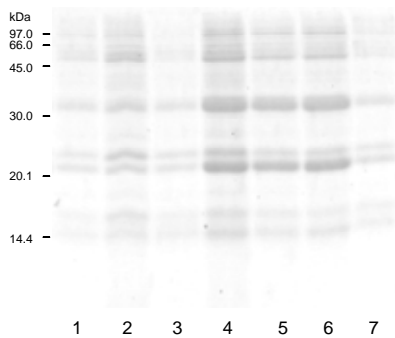


図2 各種溶液と加熱後脱離タンパク質

1レーン: 蒸留水; 2レーン: リン酸水素2ナトリウム; 3レーン: アスコルビン酸; 4レーン: 亜硫酸ナトリウム; 5レーン: システイン; 6レーン: DTT; 7レーン: ヨウ素酸カリウム。

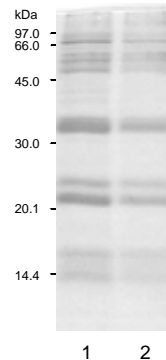


図3 新米、古米の加熱後脱離タンパク質

1レーン: 新米; 2レーン: 古米。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

グルテリンを蓄積するプロテインボディの脱離量が米飯テクスチャーに関与することが明らかとなったが、テクスチャー劣化の詳しい機構が分かっていない。そこで、古米化の機構の解明を「県産米の新規用途開発によるさらなる高付加価値化に関する研究」で継続して行う予定である。そして、古米米飯を含む米飯の改質と、米の貯蔵方法等について検討する。マイタケを使用した米飯テクスチャーの改良については県央エリアで研究を行い、新商品等に結びつきたい。

5. 結果の発表、活用等

大能他、日本食品科学工学会第54回大会(2007年9月、福岡市)
 Ohno *et al.*, Food Sci. Technol. Res., **13**, 301-304 (2006).
 Ohno *et al.*, Biosci. Biotechnol. Biochem., **71**, 2912-2920 (2006).

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

新形質米を活用した新たな米加工食品の開発

古米米飯のテクスチャー劣化に関する研究、低グルテリン米の利用に関する研究

担当部署：食品開発G

担当者名：大能俊久

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007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年頃から遊離脂肪酸の関与 細胞壁の架橋構造 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。

また、新形質米として育成された低グルテリン米は、易消化性のグルテリンが少なく難消化性のプロラミンが多く、腎臓疾患患者に向いていると考えられている。しかし、低グルテリン米は米飯が硬くなるという問題があるとされている。

そこで、精米貯蔵した古米や低グルテリン米の米飯テクスチャーを把握し、その変化の原因を解明し、米飯テクスチャーの改良を行うことを目的に研究を行った。

2．方法

1) 米飯テクスチャーの測定

各種の米を各種の溶液で炊飯し、米飯テクスチャーをテンシプレッサーで測定した。また、マイタケと浸漬した場合の米飯テクスチャーも測定した。

2) タンパク質の変化

新米、古米の表層粉を調整してその表層粉から、10mM水酸化ナトリウム、1%SDSからなる溶液でタンパク質を抽出した。遠心した上清を溶液〔1Mトリス塩酸バッファー（pH6.8）1mL，BPB2mg，グリセロール4mLを蒸留水で10mLにしたもの〕と混合してSDS-PAGEを行った。

3) 加熱時のタンパク質の挙動

新米、古米に3倍量の各種溶液を加えて1時間浸漬後、80℃の湯浴中で5分間加熱処理した。湯浴から取り出し2倍量の蒸留水を加えた後液から米粒を除去し、その液に溶液〔1Mトリス塩酸バッファー（pH6.8）1mL，BPB1mg，グリセロール2mL，ME1.2mL，SDS0.4gを蒸留水で10mLにしたもの〕を加えて90℃で2分熱処理した上清について、SDS-PAGEを行った。

3．結果の概要

1) 低グルテリン米春陽の米飯は硬くてバランス度が低い（表1）

2) マイタケと長時間浸漬することで米飯テクスチャーが改良できる（表1）

3) 古米はタンパク質の酸化が進行している（図1）

4) 脱気貯蔵しても米飯テクスチャーの劣化を抑制できない

5) 古米の米粒の表層を削ることで米飯テクスチャーが改良できる

6) SS結合還元剤で炊飯することで米飯テクスチャーが改良できる（図2）

7) 古米の米飯テクスチャーの劣化は、グルテリンの酸化重合が進行して加熱時に米粒表層から脱離するグルテリン（プロテインボディ）が減少し、米粒表層の残留も増加することから起こると判断した（図3）

表1 各種米飯のテクスチャー

	マイタケ添加量	浸漬時間	硬さ (N)	粘り (N)	バランス度	外観等
春陽 A	0%	1hr	42.1	9.4	0.228	硬くて粘りなし
	0.35%	15hr	36.2	10.5	0.294	良好
	1.0%	15hr	36.3	10.7	0.299	ベタつきすぎ
春陽 B	0%	15hr	41.8	10.3	0.248	硬くて粘りなし
	0.35%	15hr	35.5	10.4	0.295	良好
	1.0%	15hr	36.7	10.6	0.291	ベタつきすぎ
LGC	0%	1hr	32.8	8.3	0.258	粘らない
ソト	0.1%	15hr	27.6	9.2	0.336	良好

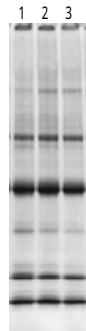


図1 古米の表層粉から抽出したタンパク質

1レーン:新米、2レーン:古米(含気貯蔵)、3レーン:古米(脱気貯蔵)

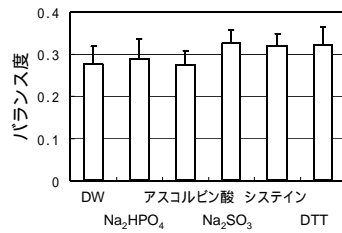


図2 各種溶液で炊飯した場合のバランス度

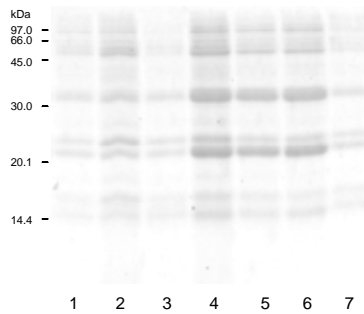


図3 各種溶液と加熱後脱離タンパク質

1レーン:蒸留水; 2レーン:リン酸水素2ナトリウム; 3レーン:アスコルビン酸; 4レーン:亜硫酸ナトリウム; 5レーン:システイン; 6レーン:DTT; 7レーン:ヨウ素酸カリウム。

4. 成果の活用面と留意点

今回の研究成果を、県央エリア2-1c「心身機能の維持が期待される中・高齢者向け加工食品等の開発」や新規課題「県産米の新規用途開発によるさらなる高付加価値化に関する研究」で活用する予定である。

5. 残された問題とその対応

グルテリンを蓄積するプロテインボディの脱離量が米飯テクスチャーに関与することが明らかとなったが、テクスチャー劣化の詳しい機構が分かっていない。そこで、古米化の機構の解明を「県産米の新規用途開発によるさらなる高付加価値化に関する研究」で継続して行う予定である。また、古米米飯を含む米飯の改質と、米の貯蔵方法等についても検討したい。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：食品及び酒類の品質高度化に関する研究
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：食品開発グループ

担当者名：高畠 聡

協力分担：あきた米加工食品研究会連絡協議会

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2005年度～2007年度）

1．目的

県産米及び穀類の新規需要を開拓するための加工技術および商品ブランド等を開発し、業界の発展に寄与する。

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、加速試験後18か月および24か月について、定法により調理し、試食検討をおこなった。
- ・新規米加工食品の開発
米加工食品の新商品開発を行い、米加工食品の新規商品ブランドについて開発をおこなった。

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18、24か月後の稲庭うどんの若干の劣化は認められたが、食味として許容できる範囲の品質であった。
- ・新規米加工食品の開発
製菓製パン用の色素米粉およびミックス粉の製品開発および用途開発を行った。
あきた純米ぱんとして「白焼き純米ぱん」の商品化およびブランド構築を行った。

4．残された問題点

- ・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
新規需要を喚起するための商品開発
- ・米加工食品の開発
さらなる需要開拓のための商品開発および商品ブランドの開発

5．結果の発表、活用等

あきた若杉国体における「白焼き純米パン」の販売
県内小学校における総合学習事業支援（羽後町田代小学校）
東北アグリビジネスフェアにおける米加工食品の紹介 等

あきた純米シリーズ



2007 あきた純米クリスマスケーキ（純米シューロール・マロン）



完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：食品及び酒類の品質高度化に関する研究
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：食品開発グループ

担当者名：高畠 聡

協力分担：（有）大成食品、あきた米加工食品連絡協議会

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2005～2007年度）

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。

製菓、製パンを中心とした米加工食品の商品開発を行い、米加工食品の新規ブランドを構築する。

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、60、90、120、180、240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、6、12、18、24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。
- ・新規米加工食品商品の開発および米加工食品ブランドの構築
おもに製菓、製パンを中心とした米加工食品の商品開発および販売促進システムについて開発し、新規米加工食品ブランドの構築を行う。

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。
加速試験18、24か月後の稲庭うどんの若干の劣化は認められたが、食味として許容できる範囲の品質であった。
- ・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。
- ・新規米加工食品商品の開発および米加工食品ブランドの構築
新規米加工食品として約250種のアイテムについて検討し、「あきた純米ぱん」および「あきた純米ガトーショコラ」等を商品化し、「あきた純米ブランド」を構築した。

4．成果の活用面と留意点

「純米ブランド」に関しては、あきた米加工食品研究会連絡協議会を継続し、ブランドの拡大を目指す。（首都圏へのブランド進出等）

5．残された問題点とその対応

稲庭うどんについては稲庭うどん協議会等と連携し、新たなる需要喚起のための研究開発、ブランド開発を行う。

「あきた純米」ブランドについては、新規ブランドカテゴリーを開発し、その拡大を目指す。



単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

(2)生澱粉分解酵素利用

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：金子隆宏

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1. 目的

生澱粉分解酵素(RSA)を用いて、米粉などを 化することなく酵素処理をすることで、澱粉粒本来の特徴を残しつつ糊化及び老化特性などの改変が期待される。また RSA は澱粉粒に穿孔し有孔化澱粉を形成するが、この有孔化澱粉は包接能が予想され、味、香り、など有効成分の保持安定化などの機能性澱粉としての用途が期待される。この RSA の活用により県産穀類等の澱粉質の新規需要開発に寄与する。

2. 方法および結果の概要

昨年度までに：県内製粉工場より見出した高度生澱粉資化生菌3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法で本酵素遺伝子をクローニングし、その構造解析を行った。それらの結果から、触媒作用に係わる4つの保存領域の確認、タカアミラーゼとの比較による立体構造の推定、アミノ酸置換による生澱粉吸着能の獲得の可能性、他の放線菌アミラーゼとの比較によるC-末端ドメインの意義などに言及した。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：某大手酵素メーカー2社に*Streptomyces*属RSAをサンプル提供し、現在評価試験中である。また、*Streptomyces*属以外の残り2株のうち、*Aeromonas*属由来のRSAの解析を行ったところ、本菌株は生澱粉1%、ペプトン0.5%、イーストエキス0.5%、CaCl₂10mMの液体培地で、27°C、120rpm回転撹拌で1昼夜培養時に最大RSA活性を示した。本培養液の遠心上清を粗酵素液とし、澱粉基質から生じる還元力をソモギーネルソン法で測定したところ、本粗酵素はpH6.0、40°Cで最大の力価を示したが、35°Cでも最大の90%程度、30°Cで70%程度の力価を示した(図1)。

3. 今後の問題点と次年度以降の計画

得られたRSA3者はそれぞれ異なる形状を残しながら生澱粉粒を穿孔していく(次項完了試験研究課題の図参照)。そのため、得られた有孔化澱粉もそれぞれ異なった物性変化を示すことが予想され、様々な用途への使い分けが期待される。また RSA 自身も様々な酵素科学的特性を示し、たとえば *Streptomyces* 属由来の RSA は耐熱性が高い(図2)ため生澱粉の単独での糖化用に、また *Aeromonas* 属由来のものは至適温度が中温域であるため他の酵素あるいは微生物などと併用しての生澱粉糖化への応用が期待される。

本研究課題においては、*Streptomyces* 属由来の RSA の蛋白レベル及び遺伝子レベルでの解析に重点が置かれたが、上記の通り残り2者の RSA を含めた酵素科学的特性や、得られる有孔化澱粉の物性、さらにはそれらの応用研究など興味を持たれるところである。これらの点は研究テーマ「麹菌等の高度利用化技術の開発」で引き続き取り組んでいきたい。

4. 結果の発表、活用等

- ・結果の文献発表：*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(6), 1073-1081 (2005)
- ・研究会への報告：日本農芸化学会、日本応用糖質科学会、等々で発表。
- ・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、それをを用いた形質転換体及びその利用」

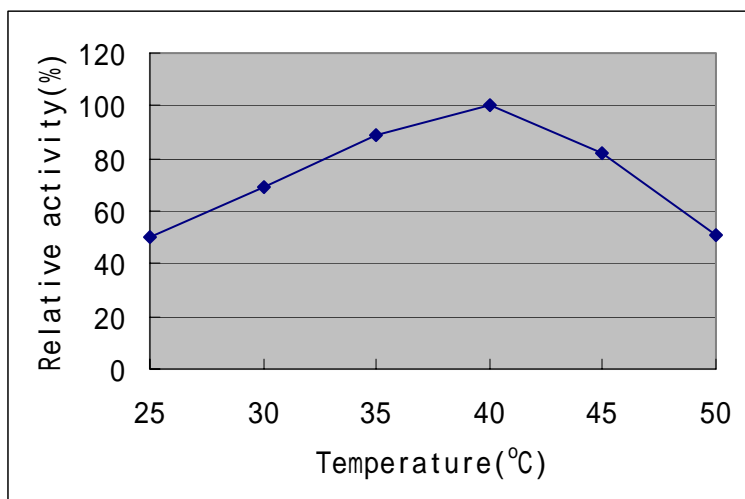


図1. *Aeromonas* 属由来 RSA の反応至適温度(粗酵素での測定, 本文参照)

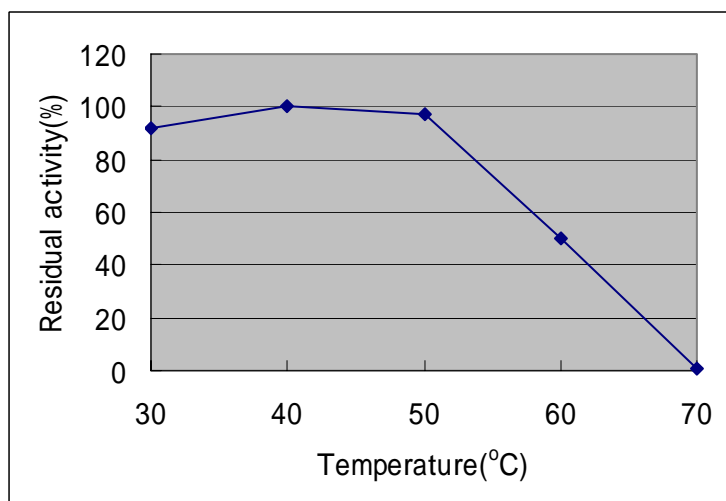


図2. *Streptomyces* 属由来 RSA の温度安定性(精製酵素)

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

(2)生澱粉分解酵素利用

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：金子隆宏

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1. 目的

生澱粉分解酵素(RSA)を用いて、米粉などを 化することなく酵素処理をすることで、澱粉粒本来の特徴を残しつつ糊化及び老化特性などの改変が期待される。また RSA は澱粉粒に穿孔し有孔化澱粉を形成するが、この有孔化澱粉は包接能が予想され、味、香り、など有効成分の保持安定化などの機能性澱粉としての用途が期待される。この RSA の活用により県産穀類等の澱粉質の新規需要開発に寄与することを目的とした。

2. 方法および結果の概要

県内製粉工場より見出した高度生澱粉資化生菌3株を、その16s塩基配列よりそれぞれ *Streptomyces*属、*Aeromonas*属、*B. cereus*株と同定した。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法で本酵素遺伝子をクローニングし、その構造解析を行った。それらの結果から、触媒作用に係わる4つの保存領域の確認、タカアミラーゼとの比較による立体構造の推定、アミノ酸置換による生澱粉吸着能の獲得の可能性、他の放線菌アミラーゼとの比較によるC-末端ドメインの意義などに言及した。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。某大手酵素メーカー2社の依頼により、この *Streptomyces*属RSAをサンプル提供し、評価試験が進行中である。また、*Streptomyces*属以外の残り2株のうち、*Aeromonas*属由来のRSAの解析を行ったところ、本菌株は生澱粉1%、ペプトン0.5%、イーストエキス0.5%、CaCl₂10mMの液体培地で、27℃、120rpm回転撹拌で1昼夜培養時に最大RSA活性を示した。本培養液の遠心上清を粗酵素液とし、澱粉基質から生じる還元力をソモギーネルソン法で測定したところ、本粗酵素はpH6.0、40℃で最大の力価を示したが、35℃でも最大の90%程度、30℃で70%程度の力価を示した。

3. 成果の活用面と留意点

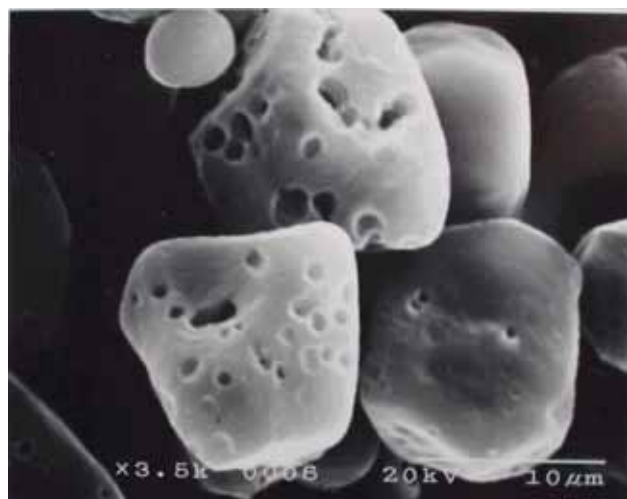
- ・結果の文献発表：*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(6), 1073-1081 (2005)
- ・研究会への報告：日本農芸化学会、日本応用糖質科学会、等々で発表。
- ・マスコミ等への発表：なし
- ・知的所有権の取得：特許出願(特開2005-143440)「新規アミラーゼ、該アミラーゼ生産能を有する微生物及びその製造方法」
特許出願(特願2005-208480)「新規遺伝子、それを用いた形質転換体及びその利用」

4. 残された問題とその対応

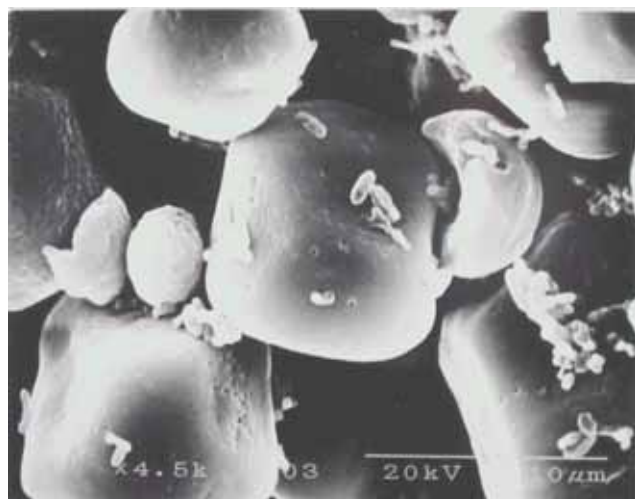
得られた RSA 3者はそれぞれ異なる形状を残しながら生澱粉粒を穿孔していく(図)。そのため、得られた有孔化澱粉もそれぞれ異なった物性変化を示すことが予想され、様々な用途への使い分けが期待される。また RSA 自身も様々な酵素科学的特性を示し、たとえば *Streptomyces* 属由来の RSA は耐熱性が高いため生澱粉の単独での糖化用に、また *Aeromonas* 属由来のものは至適温度が中温域であるため他の酵素あるいは微生物などと併用しての生澱

粉糖化への応用が期待される。

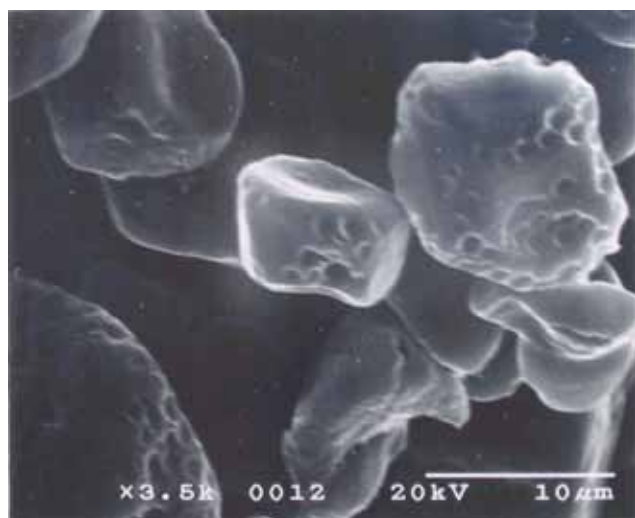
本研究課題においては、*Streptomyces* 属由来の RSA の蛋白レベル及び遺伝子レベルでの解析に重点が置かれたが、上記の通り残り 2 者の RSA を含めた酵素科学的特性や、得られる有孔化澱粉の物性、さらにはそれらの応用研究など興味を持たれるところである。これらの点は研究テーマ「麹菌等の高度利用化技術の開発」で引き続き取り組んでいきたい。



Streptomyces 属由来 RSA による有孔化澱粉



Aeromonas 属由来 RSA による有孔化澱粉



B. cereus 株由来 RSA による有孔化澱粉

単年度試験研究課題(2008年2月作成)

研究課題：農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

(4) 秋田みその品質高度化に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：渡辺隆幸

協力分担：秋田今野商店、秋田県味噌醤油工業協同組合、県内味噌製造企業11社、
JA全農秋田、秋田大学工学資源学部、
戸枝一喜、保苅美佳

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度(2003~2007年度)

1. 目的

本研究は県産大豆の味噌への加工適性を把握とそれに基づく原料処理技術の検討および秋田独自の醸造微生物の活用により農産物の新規需要を開拓すると同時に新規発酵食品の開発と産地ブランド強化を図ることを目的とする。当研究所が開発した麹菌A0K139とゆらら酵母を活用することで抗変異原性を有する香気成分、脂肪酸エチルエステル(EFA)を高濃度に含む味噌の製造が可能であること、A0K139の県産大豆リュウホウの加工適性改善効果により、高品質の味噌製造が可能であることが明らかになっている。以上の研究蓄積の普及の結果、昨年度、「まるごと秋田味噌」の商品化が実現した。平成19年度は普及効果の拡大に資する目的から「まるごと秋田味噌」の普及支援、県産大豆加工適性の検討、秋田味噌由来新規機能成分の探索を実施する。

2. 方法

1) 県産大豆(平成18年産)の味噌への加工適性

県産大豆リュウホウ、4産地(能代市、大潟村、潟上市、横手市)を用いて製造した味噌の品質を検討した。

2) まるごと秋田味噌の技術支援

製造現地にて技術支援を実施した。

3) 秋田味噌の新規機能成分の探索

3-A 「まるごと秋田味噌」の神経細胞分化促進効果

3-B 市販味噌中のオリゴ糖の分析

3. 結果の概要

1) 平成18年産県産大豆の味噌への加工適性

平成18年度産リュウホウに関してもA0K139使用により主に組成面の改善効果を認めた。(表)

2) まるごと秋田味噌の技術支援

県内企業2社の製造現地にて、製麹工程を中心に技術支援を実施した。
秋田わか杉国体等のイベントにおいて販売促進活動の支援を行った。

3) 秋田味噌の新規機能成分の探索

3-A 「秋田まるごと味噌」の神経細胞の分化促進効果

明確な活性を認めるに至っていない。

3-B 市販秋田味噌中のオリゴ糖の分析

平成19年秋田県味噌醤油品評会の出品市販味噌30点の糖分析の結果、直接還元糖16.41%、グルコース12.29%、イソマルトース2.13%であった。

区分	種麹	大豆産地	Y %	x	y	pH
1	今野みそ用	能代市	16.79	0.4432	0.3994	5.27
2	今野みそ用	大潟村	18.63	0.4425	0.3994	5.34
3	今野みそ用	天王町	16.87	0.4418	0.399	5.32
4	今野みそ用	横手市	16.99	0.4434	0.3986	5.42
5	AOK139	能代市	15.40	0.4484	0.3998	5.27
6	AOK139	大潟村	17.01	0.4444	0.3993	5.32
7	AOK139	天王町	14.43	0.4438	0.3972	5.41
8	AOK139	横手市	17.15	0.445	0.4008	5.36

区分	組成	色調	味
1	わずかに硬め	良好	うま味あり
2	弾力あり	赤味あり	バランス良好
3	わずかに硬め	ややくすみ	すっきりとした味
4	良好	ややくすみ	甘みあり
5	なめらか	良好	味のバランス良い
6	弾力あり、なめらか	冴えあり、良好	バランス良好
7	弾力あり、なめらか	良好	良好
8	なめらか、わずかに粘り	冴えあり良好	深みのある味

表 小仕込み味噌の熟成終了時の分析結果

4. 今後の問題点

まるごと秋田味噌製造に関する技術的課題、チロシナーゼの影響、製麹時の遅延に関しては技術指導の形態で支援を継続する。

この問題点の対策および秋田味噌、秋田醤油の品質高度化に関して平成20年度、別課題「麹菌等の高度利用化技術の開発」において継続する。

5. 結果の発表、活用等

発表

「まるごと秋田味噌の開発について」(秋田県総合食品研究所研究発表会) 2007/6/27

「地場産米、大豆を活用し食品産業との共同開発による新規発酵食品の開発」(東北地域農林水産食品ハイテク研究会 食品部会セミナー) 2007/8/10

「まるごと秋田味噌の開発」(秋田県産学官連携フォーラム2007知の種苗交換会) 2007/11/14

研修
食品加工研修「現代味噌事情2007プラス」 2007/9/20

商品化事例

「まるごと秋田味噌」

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

（4）秋田みその品質高度化に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：尾張かおる、渡辺隆幸

協力分担：JA全農秋田、水田総合利用促進課、流通経済課、食彩秋田推進チーム、農業試験場、秋田今野商店、秋田県味噌醤油工業協同組合、県内味噌製造企業11社、秋田大学工学資源学部
戸枝一喜、保苅美佳

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1．目的

近年、全国各地で農産物およびその加工食品の差別化、ブランド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。

一方、県産大豆は減反政策の影響で作付け量が増加しており、自給率向上の必要性、消費者の安全志向などから加工食品への利用技術の開発は極めて重要となっている。

本研究は県産原材料の味噌の加工適性を把握、それに基づく加工技術を開発する一方、秋田独自の醸造微生物を活用することにより、農産物の新規需要を開拓すると同時に新規発酵食品の開発と産地ブランド強化を図ることを目的とする。

2．方法

A. 県産大豆の加工生成の把握と新規加工技術の開発

・県内各産地産リュウホウ（平成13～18年産）農業試験場にて栽培の8品種（東北124号、東北135号、おおすず、リュウホウ、タチユタカ、エンレイ、あきたみどり、秋試緑1号）について条件を変えた蒸煮試験、味噌小仕込み試験を行い、物性的（レオメーターを用いた硬さ測定等）、品質的（官能検査）評価を加えることにより加工技術の開発を実施した。

B. 新麹菌AOK139の利用技術の開発

- ・AOK139とゆらら酵母、乳酸菌AL-1併用技術の検討
- ・味噌中の脂肪酸エチル増加技術についての検討

C. まるごと秋田味噌の開発支援

- ・米麹製造現場における新麹菌
- ・消費者モニタリングテストとホームユーステストの実施。

D. 秋田味噌の新規機能成分の検索

- ・秋田味噌のイソフラボンの分析と麹菌由来 -グルコシダーゼの影響に関する検討
- ・「まるごと秋田味噌」の神経細胞分化促進効果の探求
- ・市販秋田味噌中のオリゴ糖の分析

3．結果の概要

A. 県産大豆の加工生成の把握と新規加工技術の開発

- ・県産大豆リュウホウの味噌加工時の物性が硬めであることを確認。
- ・脱皮処理、煮熟方法、麹歩合の増加によるリュウホウの加工適性改善効果を認めた。
- ・新麹菌AOK139利用によるリュウホウの加工適性改善効果を認め、その原因としてセルラーゼおよび大豆種皮分解酵素の関与が示唆された。

B. 新麹菌AOK139の利用技術の開発

- ・AOK139とゆらら酵母併用による味噌中の脂肪酸エチル増加技術を開発した。

C. まるごと秋田味噌の開発支援

- ・麹製造現地での製麹時の適性な温度管理について企業と共同で検討を実施。
- ・消費者モニタリングテストおよびホームユーステストにより、味噌の食習慣、購買機会の調査、試作品のラベルデザイン、価格帯について調査を行った。

D. 秋田味噌の新規機能成分の検索

- ・秋田味噌のイソフラボン6成分をHPLCにて分析、そのアグリコン化に大豆由来の β -グルコシダーゼ活性が有効であることを認めた。
- ・秋田味噌30点を糖分析した結果、平均値は直接還元糖16.41%、グルコース12.29%、イソマルトース2.13%であった。

4. 成果の活用面と留意点

商品化事例 味噌用麹菌「AOK139」(秋田今野商店)

「まるごと秋田味噌」(まるごと秋田味噌研究会：県内11企業)

発表特許出願「発酵食品用種麹及び該種麹を用いる発酵食品の製造法」

文献および記事

- 「遊離脂肪酸含量および抗変異原性に基づく味噌用麹菌の選択」日食工誌、51,698-702(2004)
- 「高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討」秋田県総合食品研究所報告、(2005)
- 「県産味噌のイソフラボン量と配糖体、アグリコンの比率」秋田県総合食品研究所報告、(2005)
- 「麹の β -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)
- 「新味噌用麹菌の開発とその利用」(温故知新)H17.7.15発行

口頭発表、講演およびポスター発表

紫研会第57回通常総会記念講演「県産大豆の加工適性について」H16.4.23

- 「秋田味噌のイソフラボンアグリコン量と麹の β -グルコシダーゼ」(第53回全国味噌技術大会)
- 「味噌の品質に及ぼす大豆処理効果」(日本食品科学工学会第52回大会)H17.8.30
- 「抗変異原性を指標とする味噌用麹菌の開発」(平成17年度食品関係技術研究会)H17.11.10
- 「抗変異原性に基づく味噌用麹菌の開発」(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麹菌の開発」(あきた産学官連携F&知の種苗交換会)H17.12.1
- 「大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討」(日本食品科学工学会第53回大会)H18.8.29
- 「まるごと秋田味噌の開発について」(秋田県総合食品研究所研究発表会)H19.6.27
- 「地場産米、大豆を活用し食品産業との共同開発による新規発酵食品の開発」(東北地域農林水産食品ハイテク研究会 食品部会セミナー)H19.8.10
- 「まるごと秋田味噌の開発」(秋田県産学官連携フォーラム2007知の種苗交換会)H19.11.14

食品加工研修での活用 「現代味噌事情」(2004~2007)

5. 残された問題とその対応

新商品「まるごと秋田味噌」の技術的問題解決と秋田味噌高度化について別課題および技術指導により対応する。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：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

微生物・酵素利用の高度化

白神微生物バンクの有効利用に関する研究

放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究

担当部署：管理室、酵素微生物グループ

担当者名：高橋砂織、小笠原博信、堀 一之、菅原真理

協力分担：葦沢悟（食総研）

予算区分：県単

研究期間：完 2007 年度（2003～2007 年度）

1．目的

世界自然遺産に登録されている白神山地のブナ林は約八千年の継続生態系を保持してきている。したがって、白神山地には多くの可能性を持った微生物の存在することが予想されている。そこで、白神山地の腐葉土を分離源として多くの微生物を分離選抜し、その有効活用を目指す。本年度は、*Paenibacillus* sp. B38 株由来 D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ (Paenidase, パエニダーゼ) に対する阻害物質生産菌の分離とパエニダーゼの構造について検討した。

2．方法

放線菌の液体培養：保存菌株をワックスマン培地液体培地（1% グルコース、1% ポリペプトン、0.5% 肉エキス、0.3% NaCl pH 7.0）に植菌し、30℃にて培養した。培養後、遠心分離し、上清を回収した。

パエニダーゼの活性測定方法：Suc-[D-Asp]-MCA（ペプチド研究所）を基質としてパエニダーゼとの反応で生じた遊離のアミノメチルクマリンの蛍光を励起波長 380 nm および蛍光波長 460 nm で測定した [S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* 139(2), 197-202 (2006)]。反应用緩衝液としては、50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.02% Tween 20, 0.02% Na₃N を用いた。

菌体 DNA の精製：*Paenibacillus* sp. B38 株をワックスマン培地で培養し、菌体を回収した。菌体より定法に従い DNA を精製した。

精製パエニダーゼの N 末端構造解析：精製酵素を SDS-PAGE 後、PVDF 膜に転写した。パエニダーゼのバンドを切り出し、ペプチドシーケンサーにて N 末端構造を決定した。

パエニダーゼ遺伝子のクローニング：菌体より精製したゲノム DNA を鋳型として N 末端ペプチド配列より設計したプライマーセットを用いて PCR 法によりパエニダーゼ遺伝子を取得した。

3．結果の概要

（パエニダーゼ阻害物質生産菌の探索）

耐熱性菌約 500 株と放線菌約 1,000 株をスクリーニングし、阻害活性を示した放線菌 S1016 株と S1017 株を選抜した。

（パエニダーゼの特性解析）

PCR 法によりパエニダーゼの全領域を含むクローンを取得した。その結果、パエニダーゼは 322 残基のアミノ酸で構成されていることが明らかとなった。

4．今後の問題点と次年度以降の計画

放線菌 S1016 株及び S1017 株由来パエニダーゼ阻害物質の精製と構造解析によりパエニダーゼとの結合様式を明らかにする必要がある。一方、パエニダーゼ遺伝子を取得したことから、今後遺伝子の発現パターン解析や大量発現と結晶化条件検討を加えて、3次元構造を明らかとすることが重要である。

5．結果の発表、活用等

(学会発表)

葦沢悟、北岡本光、小林秀行、高橋砂織「原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ (Paenidase) のクローニング」

第3回 D-アミノ酸研究会 (徳島市、平成 19 年 9 月 14 日発表)

Satoru Nirasawa, Motomitsu Kitaoka, Hideyuki Kobayashi, and Saori Takahashi, Cloning of novel D-aspartyl endopeptidase, Paenidase, from prokaryote.

International Meeting of the International Proteolysis Society 2007

(Patras, Greece, 平成 19 年 10 月 23 日発表)

Satoru Nirasawa, Motomitsu Kitaoka, Hideyuki Kobayashi, and Saori Takahashi, Primary structure of novel D-aspartyl endopeptidase, paenidase, from prokaryote.

第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会大会 (横浜市、平成 19 年 12 月 13 日発表)

葦沢悟、北岡本光、小林秀行、高橋砂織「原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ (Paenidase) の一次構造」

2008 年度日本農芸化学会大会 (名古屋市、平成 20 年 3 月 27 日発表予定)

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：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

微生物・酵素利用の高度化

白神微生物バンクの有効利用に関する研究

放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究

担当部署：管理室、酵素微生物グループ、食品機能グループ

担当者名：高橋砂織、小笠原博信、畠恵司、樋渡一之、堀 一之、菅原真理

協力分担：杉山俊博（秋田大学医学部）、葦沢悟（食総研）

予算区分：県単

研究期間：2003～2007年度

1. 目的

世界自然遺産に指定されている白神山地は、ブナ林が約八千年の継続生態を保持してきている。したがって、白神山地には多くの可能性を持った微生物の存在することが予想されている。そこで、白神山地の腐葉土を分離源として多くの微生物を分離選抜し、その有効活用を図ることを目的とする。

2. 方法

放線菌の分離と純粋培養：土壌を生理食塩水に懸濁し、放線菌分離培地に植菌した。30℃培養後、放線菌をワックスマン斜面培地（1% グルコース、1% ポリペプトン、0.5% 肉エキス、0.3% NaCl、1.5% 寒天、pH 7.0）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とり、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：分離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、酵素活性検定や阻害活性検定に供した。

D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ(DAEP)、パエニダーゼの活性測定方法：新規合成基質 Suc-[D-Asp]-pNA を考案し、(株)ペプチド研究所にて依頼合成した。本基質を使用し、耐熱性菌や放線菌の非加熱培養液を用いて DAEP 生産菌をスクリーニングした。

パエニダーゼの精製と性質：*Paenibacillus* sp. B38 株の培養液より種々のクロマトグラフィーにより DAEP を精製し、その諸性質を検討した。

精製パエニダーゼのN末端構造解析：精製酵素を SDS-PAGE 後、PVDF 膜に転写した。パエニダーゼのバンドを切り出し、ペプチドシーケンサーにてN末端配列を決定した。

パエニダーゼ遺伝子のクローニング：菌体より精製したゲノムDNAを鋳型としてN末端ペプチド配列より設計したプライマーセットを用いて PCR 法によりパエニダーゼ遺伝子を取得した。

3. 結果の概要

放線菌及び耐熱性菌の分離：白神山地の腐葉土より、放線菌約 4,100 株と耐熱性菌約 1,100 株を分離した。

DAEP 生産菌の探索と酵素の諸性質：放線菌及び耐熱性菌の非加熱培養液を用いてスクリーニングした結果、目的に叶う酵素生産菌を分離した。得られた細菌は、16s rDNA の解析などから *Paenibacillus* sp. B38 株と同定された。また、本菌が生産する酵素をパエニダーゼ (Paenidase, *Paenibacillus* sp. D-Aspartyl Endopeptidase) と命名し、その諸性質を明らかとした。

パエニダーゼ阻害物質生産菌の探索：耐熱性菌と放線菌をスクリーニングし、阻害活性を示した放線菌 6 株 (N9 株、F70 株、S2262 株、S2502 株、S1016 株及び S1017 株) を選抜した。**パエニダーゼの特性解析：**PCR 法によりパエニダーゼの全領域を含むクローンを取得した。その結果、パエニダーゼは 322 残基のアミノ酸で構成されていることが明らかとなった。

4 . 成果の活用面と留意点

(特許)

高橋砂織、小笠原博信、畠 恵司、樋渡一之、堀 一之

「D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ及びその生産菌」特開 2006-271275

(論文発表)

Y. Liu, S. Takahashi, H. Ogasawara, H. G. Seo, M. Kawagoe, F. Hirasawa, N. Gou, Y. Ueno, T. Kameda, and T. Sugiyama, Protection of hepatocytes from apoptosis by a novel substance from actinomycetes culture medium. *Biomed. Res.* **26**(1), 9-14, 2005

S. Takahashi, H. Ogasawara, K. Hiwatashi, K. Hori, K. Hata, T. Tachibana, Y. Itoh, and T. Sugiyama, Paenidase, a novel D-aspartyl endopeptidase from *Paenibacillus* sp. B38: Purification and substrate specificity. *J. Biochem.* **139**(2), 197-202, 2006

(学会発表)

Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, Kazuyuki Hori, Tadanori Tachibana, Yoshifumi Itoh, and Toshihiro Sugiyama, Bacterial D-aspartyl endopeptidase. 第 7 8 回日本生化学会大会 (神戸市、平成 17 年 10 月 21 日発表)

高橋砂織、小笠原博信、樋渡一之、堀 一之、畠恵司、立花忠則、伊藤義文、杉山俊博「原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ」

第 1 回 D-アミノ酸研究会 (東京都、平成 17 年 7 月 1 日発表)

高橋砂織、小笠原博信、堀 一之「D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ
-新規酵素 Paenidase の性質について-」

第 6 回食品酵素化学研究会 (奈良市、平成 18 年 9 月 2 日発表)

葦沢悟、北岡本光、小林秀行、高橋砂織「原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ (Paenidase) のクローニング」

第 3 回 D-アミノ酸研究会 (徳島市、平成 19 年 9 月 14 日発表)

Satoru Nirasawa, Motomitsu Kitaoka, Hideyuki Kobayashi, and Saori Takahashi, Cloning of novel D-aspartyl endopeptidase, Paenidase, from prokaryote.

International Meeting of the International Proteolysis Society 2007
(Patras, Greece, 平成 19 年 10 月 23 日発表)

Satoru Nirasawa, Motomitsu Kitaoka, Hideyuki Kobayashi, and Saori Takahashi, Primary structure of novel D-aspartyl endopeptidase, paenidase, from prokaryote.

第 30 回日本分子生物学会・第 80 回日本生化学会大会 (横浜市、平成 19 年 12 月 13 日発表)

葦沢悟、北岡本光、小林秀行、高橋砂織「原核微生物由来 D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ (Paenidase) の一次構造」

2008 年度日本農芸化学会大会 (名古屋市、平成 20 年 3 月 27 日発表予定)

5 . 残された問題とその対応

放線菌由来パエニダーゼ阻害物質の精製と構造解析によりパエニダーゼとの結合様式を明らかにする必要がある。一方、パエニダーゼ遺伝子を取得したことから、遺伝子の発現パターン解析や大量発現系構築を行い、本酵素の立体構造を明らかとすることが必要である。また、パエニダーゼの有効活用に関する研究の進展が望まれる。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効利用に関する研究
真菌類の有効利用に関する研究
酵母の有効利用に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：高橋慶太郎

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2007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。

19年度は白神山地の土壌より分離した真菌類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株について食品加工適性の検討を行う。また、選抜微生物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高度利用を図る。

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4760株（本年度新規保存355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）およびCer最小培地（ガラクトシルセレブロシド1.0%、寒天1.8%）・Gal-Cer最小培地（ガラクトシルセレブロシド1.0%、ガラクトース0.1%、寒天1.8%）

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

糖セレブロシド定性分析；定法により菌体より抽出・分画後、TLCでクロロホルム・メタノール・水（65:25:4）により展開し硫酸噴霧後加熱発色

3. 結果の概要

保存真菌類1448株を30℃で40時間培養し、培養上清のpHおよび酵母型生育菌804株の湿菌体・乾菌体量を測定した。図1に示した湿菌体量と乾菌体量との相関では、湿菌体量が多く（1.7g/培養液45ml以上）かつ乾菌体量/湿菌体量が0.07以上の株が3株観察された。18年度の7株と合わせ、これまで10株の物質高蓄積株が取得された。また、培養上清のpHでは、pH3.5以下になる5株が取得され、最も低いpHは3.24であった。これら5株は酸生産酵母として興味深い。

18年度の中性糖脂質蓄積株取得予備選抜試験の結果、Cer最小培地での選抜が有効であることが確認されたので、同一手法で保存株の1/2に当たる2200株中の酵母型生育菌985株について中性糖脂質蓄積株の一次選抜試験を行い、42株を取得した。二次選抜ではこの42株をYPD液体培地で培養し、洗浄菌体から糖脂質画分を抽出し、TLCにより定性分析を行ったところ10株で中性糖脂質の蓄積が確認された。この10株の中から菌体収量・ガラクトシルセレブロシド画分収量等を考慮して7株を選抜した（図2）。

白神こだま酵母については、サプリメントへの利用から胆汁酸耐性を確認した。またコンポストへの広範囲な展開のため、能代市の市民団体「コンポスト見なおし隊」の協力で実証試験を行っている（図3）。

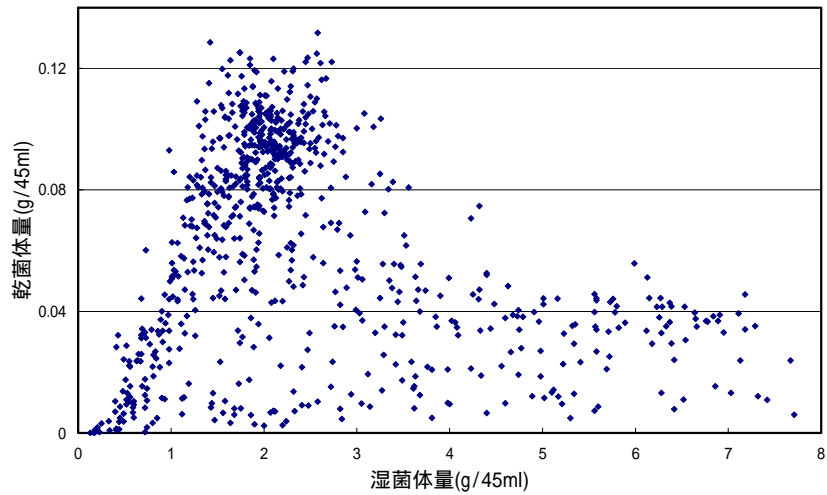


図1 . 白神酵母の湿菌体量と乾菌体量相関

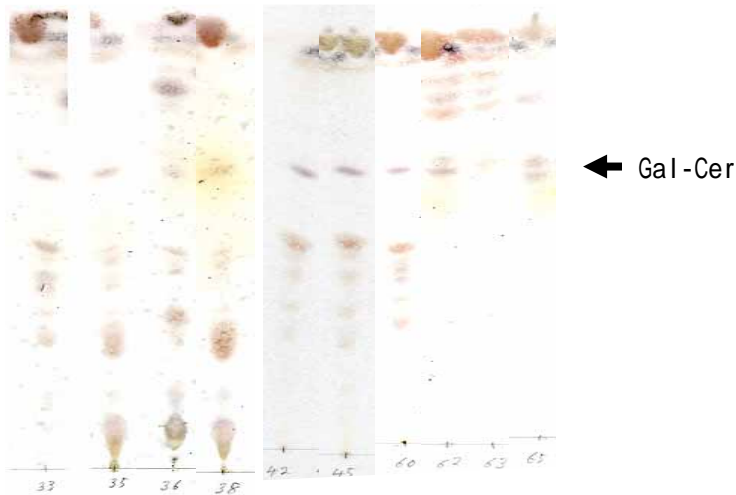


図2 . 酵母菌体内の糖脂質蓄積



図3 . 白神こだま酵母
コンポスト実証試験

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保存株の解析を進める必要がある。

約5000株の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

- ・地域研究機関の技術開発とクラスター形成への貢献 フードシステム研究 14(2),52-60(2007)
- ・白神微生物群の分離・保存とその利用 食品と技術 436,19-21(2007)

完了試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効利用に関する研究
真菌類の有効利用に関する研究
酵母の有効利用に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：高橋慶太郎

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2007年度（2003～2007年度）

1. 目的

酵母は産業上有用な微生物であり、種々の製品製造に使用されている。これまで白神山地から野生酵母を分離し特性解析を行ってきたが、熱や浸透圧などの物理的ストレスに対する耐性が非常に強くまた、増殖性に優れた株が多く取得されてきた。そこでより多くの白神酵母を分離し、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した。また、製パン用酵母として既に広範囲で利用されている白神こだま酵母の多方面への利用を促進する。

2. 方法

- ・特性解析 保存株を栄養培地で培養して培養液のpH や色・香り及び菌体収率等を観察・測定した。
- ・選抜試験 セレブロシド蓄積株の取得を目指し、選抜方法の確立とこの手法を用いた蓄積株の選抜を行った。また、白神こだま酵母とは異なる特性の製パン用酵母を発酵力・増殖性等から選抜した。
- ・白神こだま酵母 高ストレス耐性を利用したサプリメント開発・コンポスト利用及び酵母配合製パン用プレミックス開発のため各種ストレス耐性の検討を行った。

3. 結果の概要

- ・特性解析 新規に分離保存した1359株を合わせ保存白神真菌類は4760株に達したが、その約91%の4322株について特性解析の一部が終了した。新種の可能性のある株が14株、菌体内に著量の物質蓄積が期待される株が10株、高い酸生産性を示す7株が見つかった。
- ・選抜試験 セレブロシドを培地成分とする新規なセレブロシド蓄積株の選抜手法を開発し、この手法を用いてガラクトシルセレブロシド画分を蓄積する7株を選抜した。また、白神こだま酵母とは異なる食感のパンを作る新たな酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を取得した。
- ・白神こだま酵母 胃酸耐性及び胆汁酸耐性が通常の製パン用酵母より遙かに高いことが確認され、従来の製パン用酵母を配合したサプリメントとは異なる製品開発が可能となった。また、コンポスト利用へ向けての実証試験を行っているところである。さらに、国内初の酵母配合製パン用プレミックスを開発した。

4. 成果の活用面と留意点

特性解析及び選抜試験の結果を受け、製品開発のために民間企業と8件の共同研究を実施した。その中で、新規製パン用酵母は製品化され販売中である。特許出願は2件行った。

5. 残された問題とその対応

約5000株の白神真菌類の産業利用を促進するため、今後も県内外の企業と積極的に共同研究を進める予定である。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：麹菌等の高度利用化技術の開発

(5)放線菌や細菌類との協約的分解系の検討

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：金子隆宏、小笠原博信、高橋砂織、堀一之

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：新2007年度（2007～2009年度）

1. 目的

生澱粉分解酵素(RSA)による生澱粉糖化は、澱粉の糖化が不要でありコストメリットが高い。また、生澱粉糖化によって生じた有孔化澱粉は、原料澱粉とは異なった物性や、包接能を示すことなどが期待される。これまでに金子らは放線菌、*Aeromonas* 属、*B. cereus* 株に由来する RSA を見出している。他方、新たに見出した *Paenibacillus* 属 1 菌株はコロニーの周りに粘性多糖を生じ、本菌株が生成する複数の酵素群(図 1)が共役し澱粉を粘性多糖へと変換していることが想像される。本研究ではこれらの糖質関連酵素の蛋白レベル、遺伝子レベルでの解析を行い、澱粉などの安価な糖質からの新規機能性糖質の生成への利用を目指す。

2. 方法

菌株はすべて県内某製粉工場排水汚泥から得られたものである。得られた菌株は平板培養、液体培養の他、軟寒天培地による刺し芽培養も行い、培養の条件検討を行った。上記の *Aeromonas* 属及び *Paenibacillus* 属の 2 菌株は嫌気性菌であったため静置培養の他、スターラーやロータリーシェイカーによる低速撹拌での液体培養も試みた。得られた培養上清から澱粉吸着、Butyl-、DEAE-、CM-Toyopearl I 及び Toyopearl I-HW55(S)などで酵素の精製を試みた。酵素活性はヨード法あるいは Somogyi-Nelson 法などで測定した。

3. 結果の概要

先行課題「県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発」において、3種 RSA のうち放線菌に由来する酵素の解析をほぼ終了している。本酵素は某大手酵素メーカー 2 社からサンプル要請があり、現在先方にて評価試験中である。本年度は *Aeromonas* 属由来の酵素(図 2)の解析を行った。粗酵素液では pH は 6.0、40°C で最大の力価を示したが、35°C でも最大の 90%程度、30°C で 70%程度の力価を示した。

他方、上記 *Paenibacillus* 属の培養上清を電気泳動後ヨード澱粉反応で活性染色を行うと、赤紫、青紫、白色などのバンドが 5 個程度検出された(図 1)。また、本菌株に由来する粘性多糖の糖組成はほぼ全てがグルコースであり、澱粉を炭素源としたときのみ粘性多糖を生成することなどから、本菌株が生成する酵素群がさまざまに共役し澱粉質を粘性多糖へと変換していることが推察された。

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

現在、*Aeromonas* 属由来の RSA 及び *Paenibacillus* 属の酵素群を精製中である。それぞれの酵素の、単一蛋白での特性解析や N-末端アミノ酸配列などを決定し、遺伝子クローニングへ備えたい。

5. 結果の発表、活用等

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

- ・研究会への報告：日本農芸化学会、日本応用糖質科学会、等々で発表。
- ・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、それをを用いた形質転換体及びその利用」



図1 . *Paenibacillus* 属菌株の培養上清を電気泳動後、ヨード澱粉反応にて活性染色。

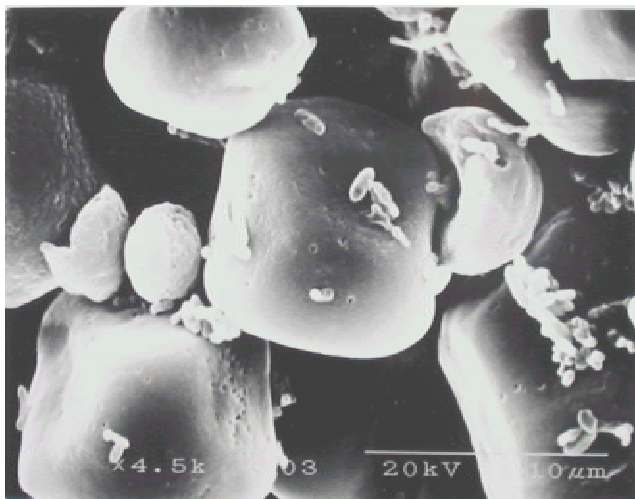


図2 . *Aeromonas* 属由来のRSA による有孔化澱。

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：食品廃棄物・農林水産廃棄物のカスケード利用によるゼロエミッション技術の開発

(1)食品廃棄物・農林水産廃棄物を効率的にバイオエタノールに変換する技術の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：進藤 昌

協力分担：東京大学大学院農学生命科学研究科、秋田県立大学システム科学技術学部、

(独)食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所、新日本石油(株)、長瀬産業(株)、

予算区分：国庫・委託(農林水産省、NEDO,環境省、秋田県水田総合利用課、秋田県環境枠)

研究期間：新2007年度(2007~2009年度)

1. 目的

食品業界および農林水産業界から大量に排出される廃棄物バイオマスからバイオ製品や高付加価値物質を生産する資源循環型社会を目指す。また、バイオ製品を普及させることにより炭酸ガスの排出を抑制し地球温暖化を防止する。具体的には、食品工場から排出されるおから、稲庭そうめんの切れ端、醤油残渣、焼酎残渣などの生ごみ、さらに農林水産廃棄物である木質系廃棄物、アスパラガスなどの野菜くず、稲わら、重金属を含むファイトレメディエーションバイオマス並びに産業米を原料にして機能性物質、新規2次加工食品の製造技術の開発を行なう。また最終残渣からバイオエタノールへ変換する技術の開発を目指す。

今年度は、秋田杉、広葉樹、廃菌床、稲わらを原料としたバイオエタノール生産技術の開発および新規な5炭糖発酵システムの開発を行なった。

2. 方法

各種バイオマスの前処理は、ボールミルによる粉碎を行い平均粒径20-100 μ mの粉碎物を得た。粉碎バイオマスの糖化は、各種セルラーゼ、ヘミセルラーゼによる酵素糖化を行った。発酵は*Saccharomyces cerevisiae*および*Pichia stipitis*を用いた。各種糖の分析は、酵素法およびDIONE Xを用いて定量を行った。エタノールおよびキシリトールの分析は、酵素法により定量を行った

3. 結果の概要

3.1. 秋田杉からのバイオエタノール生産技術の開発

秋田杉粉碎物の糖化条件を検討し、メイセラゼとヘミセルラーゼを同時に作用させることによりマンノースとガラクトースの生産量が上昇することが判明した。秋田杉の糖化液は、グルコースとマンノースで全糖の80%を占めており、これらの糖のエタノール変換を目的として*S. cerevisiae*を用いて並行複発酵を行い59(g/L)のエタノール得た(図1)。これにより1tの乾燥秋田杉から230Lのバイオエタノールを生産することが可能となる。

3.2. カドミウム(Cd)含有米からのバイオエタノール生産技術の開発

Cd米を原料にしたバイオエタノール生産技術の開発について検討を行った。その結果、米に含有するCdの影響を受けずに酵母でバイオエタノールを生産できることが判明した。また、酵母の種類によりCdの回収率に差があり、凝集能を有する酵母が有用であることが判明した。

3.3. 稲わら等の未利用部分を効率的にバイオエタノールに変換する技術の開発

稲わらの粉碎物の糖化試験を行い、酵素糖化によりグルコースを得ることができた。しかし、キシロースの収率は低く、*P. stipitis*による発酵試験では、エタノール収率が低かった。

3.4. 廃菌床・広葉樹からのバイオエタノール生産技術の開発

自然界から、キシロースを発酵できる菌のスクリーニングを行い2株の菌を取得した。同定の結果、2株とも*Pichia stipitis* Pignalに近縁な新種の酵母であった。

3.5. セルロース原料からの高効率エタノール製造モデルシステムの構築

*S. cerevisiae*と*P. stipitis*を用いた2段階発酵法により8(w/v%)のエタノールを生産させることに成功した。(図2)

3.6. セルロース系バイオマス酵素糖化の高効率化をめざした新規セルラーゼの取得と大量生産技術の開発(組換え酵母による糖化液からの発酵特性の検討)

組換え酵母として使用する *Pichia pastoris* の発酵特性を検討し、グルコースから理論値の 90% 以上の収率でエタノールを生産できることが判明した。(図 3)

3.7.担子菌による whole crop の直接バイオエタノール生産技術の開発

担子菌の中からエタノール生産能の高い菌を検索し *Flammulina velutipes* FV2 を得た(図 4)。この菌をペレット状に形成し、繰り返しのエタノール生産を行わせた所 4 回にわたり安定に発酵させることができた。

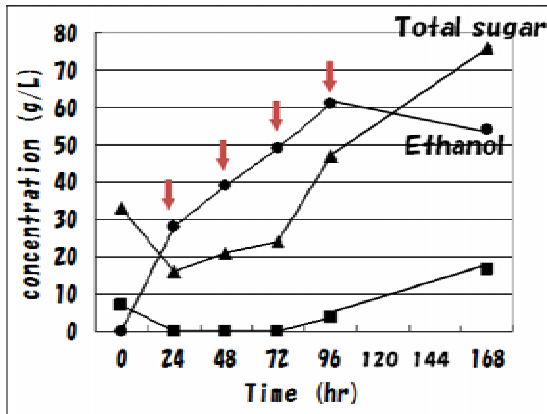


図 1. 秋田杉からの並行複発酵によるバイオエタノール生産

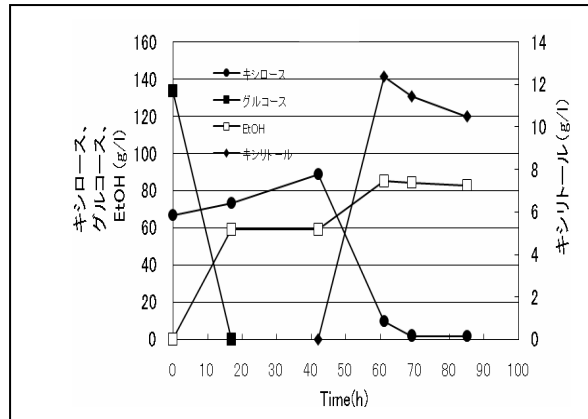


図 2. *S. cerevisiae* と *P. stipitis* を用いた 2 段階発酵法によるバイオエタノール生産

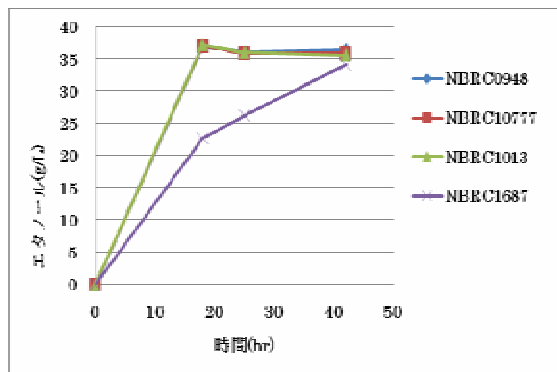


図 3. *Pichia pastoris* によるバイオエタノール生産

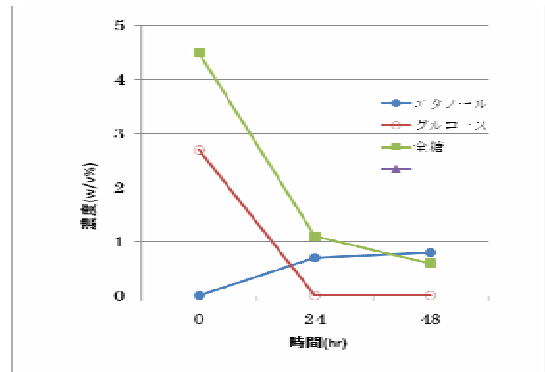


図 4. 担子菌によるバイオエタノール生産

4. 今後の問題点と次年度以降の計画

P. stipitis を用いた広葉樹および稲わらからの並行複発酵システムでは、発酵速度やエタノール収率が低い。次年度以降は、発酵速度を促進する条件検討および発酵阻害物質の検索を行う。また、ベンチスケールでのバイオエタノール生産システムについて検討を行う。

5. 結果の発表、活用等

特許出願：特願 2007-185456 「エタノール製造方法」

学会発表：1. 13th European congress of Biotechnology (Barcelona) 「Simultaneously saccharification and bioethanol production from powder of Japanese cedar」
2. 日本農芸化学会「秋田杉からの並行複発酵によるバイオエタノール生産技術の開発」

マスコミ等への発表：秋田魁新報(平成 19 年 9 月 12 日) 他

単年度試験研究課題（2008年2月作成）

研究課題：食品廃棄物・農林水産廃棄物のカスケード利用によるゼロエミッション技術の開発
(2) 食品廃棄物・農林水産廃棄物変換プロセスから副生する物質の

処理・再利用技術の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：戸松 さやか

協力分担：独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

予算区分：県単・委託（委託先名：農林水産省）

研究期間：継 2007年度（2007～2009年度）

1. 目的

食品業界および農林水産業界から大量に排出される廃棄物バイオマスからバイオ製品や高付加価値物質を生産する資源循環型社会の構築を目指す。また、バイオ製品を普及させることにより炭酸ガス排出を抑制し地球温暖化を防止する。具体的には食品工場から排出されるおから、稲庭そうめんの切れ端、醤油残渣、焼酎残渣などの生ゴミ、さらに農林水産廃棄物である木質系廃棄物、アスパラガスなどの野菜くず、米、稲わら、重金属を含むファイトレメデーションバイオマスを原料にして、機能性物質、新規2次加工食品の製造技術の開発を行う。また、最終残渣からバイオエタノールへ変換する技術の開発を目指す。

今年度は野菜、米、稲わら、木質系廃棄物を原料にして、酵素系の評価方法で機能性を検索した。

2. 方法

1) 試料抽出液の調整：乾燥試料 1g につき 30ml の水または熱水、メタノール、酢酸エチルで抽出した。この抽出液を濾過し、エバポレーターで濃縮後、適宜希釈して試料抽出液とした。

2) アルドースレダクターゼ(AR)阻害活性の測定：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。

3) コラゲナーゼ阻害活性の測定：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 (*Clostridium histolyticum*)を用いて反応を行い、蛍光光度計を用いて励起波長 485nm、蛍光波長 515nm で蛍光強度を測定し、活性を調べた。

4) チロシナーゼ阻害活性の測定：マッシュルーム由来のチロシナーゼを用い、L-DOPA から生じる DOPA quinone の生成度を 492nm における吸光度を測定することにより調べた。

5) ヒアルロニダーゼ阻害活性の測定：ヒアルロン酸からヒアルロニダーゼの作用により遊離する N-アセチルグルコサミンに p-ジメチルアミノベンズアルデヒドを作用させ、585nm における吸光度を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。

6) 抗酸化性の測定：有色安定ラジカルである DPPH のラジカル消去による退色を 530nm における吸光度を測定し、抗酸化性を調べた。

3. 結果の概要

1) 米、米糖化・発酵残渣抽出物の検討

秋田 63 号玄米およびその粉碎物を抽出し検討したところ、玄米をメタノールあるいは酢酸エチルで抽出したものに、100 µg/ml で AR 阻害活性が認められた。また、玄米を糖化した上清およびその残渣凍結乾燥物、さらに糖化後酵母で発酵させた発酵上清およびその残渣凍結乾燥物を抽出したが、阻害が認められなかった。

2) スギ、スギ糖化・発酵残渣抽出物の検討

秋田スギの粉碎物を抽出し検討したところ、高いチロシナーゼ阻害活性があり、特にメタノール抽出物は 0.1 µg/ml で 70%の阻害活性が認められた。また、メタノール抽出物には抗酸化活性

があり、10 µg/ml で AR 阻害活性も認められた。この秋田スギの粉碎物を酵素糖化した上清およびその残渣凍結乾燥物、さらに糖化後酵母で発酵させた発酵上清および残渣凍結乾燥物を抽出し検討したところ、発酵残渣には高い阻害活性が認められた。このことからスギからバイオエタノール製造後、残渣から機能性物質を抽出することが可能と推察された。

3) 広葉樹および廃菌床抽出物の検討

ブナ・アカシア・ナラの木の混合物およびブナの廃菌床の粉末を抽出し検討したところ、抗酸化活性があり、AR およびコラゲナーゼ、チロシナーゼ、ヒアルロニダーゼ阻害活性が認められた。特にブナ・アカシア・ナラ混合物のメタノールおよび酢酸エチル抽出物は 1 µg/ml で 70%の AR 阻害活性があった。

4) 稲わら抽出物の検討

平成 18 年度産あきたこまち稲わら粉碎物を抽出し検討したところ、やや弱いものの AR およびチロシナーゼ阻害活性が認められた。

5) 野菜・果実抽出物の検討

10 種類の野菜およびブドウ、プラムの発酵残渣抽出物を検討したところ、ブドウの発酵残渣のメタノール抽出物は抗酸化活性および AR、コラゲナーゼ、チロシナーゼ阻害活性が認められた。また、数種の野菜のメタノールあるいは酢酸エチル抽出物にも阻害活性を示すものがあつた。

表 1 . 抽出物の機能性

	AR阻害	コラゲナーゼ阻害	チロシナーゼ阻害	ヒアルロニダーゼ阻害
米				
米糖化残渣				
米発酵残渣				
スギ				
スギ糖化残渣				
スギ発酵残渣				
ブナ・アカシア・ナラ				
ブナ廃菌床				
稲わら				
ナガイモ				
モロヘイヤ				
ネギ				
サトイモ				
ハウレンソウ				
セリ				
シイタケ				
カボチャ				
ミョウガ				
アスパラ				
ブドウ発酵残渣				
プラム発酵残渣				
	: 試料濃度 100 µg/ml で阻害活性 50% 以下		: 試料濃度 1 µg/ml で阻害活性 50% 以上	
	: 試料濃度 100 µg/ml で阻害活性 50% 以上		: 試料濃度 0.1 µg/ml で阻害活性 50% 以上	
	: 試料濃度 10 µg/ml で阻害活性 50% 以上			

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：機能性成分の抽出方法および同定

必要な協力関係：独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所、

次年度の具体的計画：広葉樹・稲わら等の発酵残渣の機能性検索

スギおよび広葉樹の機能性成分の抽出

5 . 結果の発表、活用等

特になし

研究課題以外の試験研究成績

区 分	: 外部資金 (雑豆類需要促進研究情報収集事業)
研 究 名	: 雑豆類の新規生理機能探索に関する研究
研 究 期 間	: 平成19年度 (平成18年10月 ~ 平成19年9月)
関 連 ニ - ズ	: 雑豆 (小豆、インゲンなど) の機能性・製菓企業等
担 当	: 高橋砂織、堀 一之、金子隆宏
協力・分担関係	: 熊谷昌則、若林三郎、財団法人 日本豆類基金協会補助金

【概要】

目的：

秋田の小豆生産量は、年間約600トン(2003年)で、北海道を除く国内では5本の指に入る生産県である。また、秋田では古来より小豆粉を原料とした特産和菓子「もろこし」が生産されており、多くの愛好者に親しまれている。しかしながら、その消費量は延びているとは言い難い現状がある。一方、国内の雑豆の消費は年々低下傾向が。そこで、本研究では血圧調節系酵素であるレニンを標的としてその抑制活性を雑豆類から探索するとともに、その機能性を強化した雑豆素材開発の可能性を探ることを目的とする。

方法：

(組換え型ヒトレニンの調製)

全長ヒトプロレニン cDNA クローンを鋳型に PCR を行い、pET32a ベクターに組み込みチオレドキシシン・ヒトプロレニン融合タンパク質発現ベクター pETHRN1 を構築した。これを大腸菌 BL21(DE3) にトランスフォームし、融合タンパク質を封入体として大量発現させた。封入体を 4M 塩酸グアニジンで可溶化後、高濃度のアルギニンと界面活性剤に対して透析した。透析により段階的にアルギニンと界面活性剤濃度を低下させ、融合タンパク質を巻き戻した。得られた融合タンパク質をトリプシン処理で活性化し、阻害検定に用いた。

(豆類抽出液の調製方法)

豆 25g に蒸留水 300ml を加え洗浄し、洗浄液を除去した。洗浄を計 3 回行い、洗浄豆に蒸留水 250ml を加え室温で一晩放置後、115℃、30 分のオートクレーブ処理を行った。その後、フードプロセッサで豆を破碎し、10,000 x g, 30 分間の遠心分離にて上清を回収した。上清を Sep-Pak Vac 35cc カラムに吸着させ、メタノールで溶出した。溶出液を減圧乾固し、一定量の水に溶解してレニン阻害活性を評価した。

(レニン阻害活性の検定)

ヒトレニン活性測定用の蛍光クエンチ基質 (Nma-Ile-Arg-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-Thr-His-Lys-DnpNH₂) を設計し、依頼合成した。5 μl のヒトレニン溶液 (5 μg/ml) に 5 μl の阻害検定溶液を加える。これに 40 μM の基質を含む 40 μl の 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 0.1 M NaCl, 0.02% NaN₃, 0.02% Tween 20 を加え 37℃ で 120 分間反応する。0.2 ml の蒸留水を加え反応を停止し、励起波長 340 nm、蛍光波長 440 nm で蛍光を測定した。

研究成果：

(論文発表)

Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Masanori Kumagai, and Saburo Wakabayashi, Human renin inhibitory activity in legumes. *J. Biol. Macromol.* 7(3), 49-54 (2007).

(国際学会発表)

Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Masanori Kumagai, and Saburo Wakabayashi, Renin inhibitor in legumes. International Conference on Food Factors for Health Promotion 2007 (ICOFF 2007) (京都市、平成 19 年 10 月 23 日発表)

(国内学会発表)

高橋砂織、堀 一之、熊谷昌則、若林三郎「雑豆類由来レニン阻害物質について」
2008 年度日本農芸化学会大会 (名古屋市、平成 20 年 3 月発表予定)

研究課題以外の試験研究成績

区 分	平成18年度 競争的研究資金事業
研 究 名	「テラヘルツ領域分光技術の食品産業への応用」に係る実施可能性調査
担 当 部 署	食品機能グループ、酵素・微生物グループ、管理室
担 当 者 名	熊谷昌則、堀一之、高橋砂織、高橋徹、畠恵司、樋渡一之、戸枝一喜
研 究 期 間	平成19年度
協力・分担関係	株式会社テラヘルツ研究所、秋田大学工学資源学部

【概要】

<目的>

この調査は、新規産業創出のための次世代基盤技術として国内外から注目されているテラヘルツ分光領域技術への理解を深めるために、その基礎から応用までを幅広く情報収集することによって、食品産業への応用可能性について検討することを目的に行われるものである。

<方法>

テラヘルツ分光領域技術に関する文献、関連学会等の動向調査、先端研究機関の動向調査とテラヘルツ分光機器メーカーである株式会社テラヘルツ研究所においてラボ試験を実施した。

<成果>

1) 関連学会の動向調査

日本分析化学会分析化学討論会(平成19年5月19日~20日:宇都宮大学)

「テラヘルツ領域の分光技術の最前線と分析化学」

2007分析展セミナー(平成19年8月29日:幕張メッセ国際会議場)

「産業から見たテラヘルツ波時間領域分光の現在と将来展望」

日本光学会(平成19年11月26~28日:大阪大学)

「テラヘルツ波技術の最新動向 高まる応用への期待」

日本農芸化学会(平成20年3月26日~29日:名城大学) 予定

日本化学会(平成20年3月26日~30日:立教大学) 予定

2) 先端研究機関の動向調査

東北大学大学院農学研究科テラヘルツ生物学講座小川研究室(平成19年9月13日)

3) 試験研究

株式会社テラヘルツ研究所において、粳米(あきたこまち)と糯米(きぬのはだ)のテラヘルツ分光スペクトル測定のためのラボ試験を実施した(図1)。その結果、テラヘルツ波は粳米と糯米の違いであるアミロース/アミロペクチンを識別できる可能性が示された。

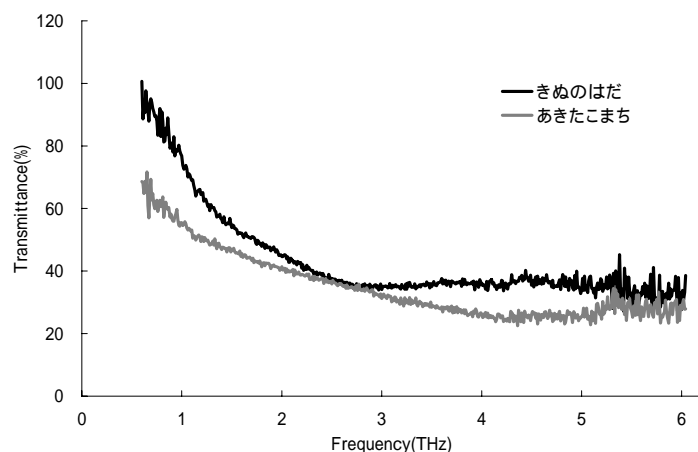


図1 米試料のテラヘルツ領域分光スペクトル

研究課題以外の試験研究成績

区	分：地域振興局農林部、農業研修センターならびに市町村との連携
研	究 名：農産物加工法の技術移管
担	当 部 署：食品機能グループ
担	当 者 名：熊谷昌則、高橋徹
研	究 期 間：平成19年度
協	力・分担関係：地域振興局農林部、農業研修センター、市町村農林振興担当部署

【概要】

<目的>

県内の農産加工グループ、女性起業グループによる農産加工品の製造販売は、新規雇用機会の創出や地域経済の活性化、主力農産物のブランド化促進などにおいて重要な活動となっている。しかしながら、隣県と比較して販売額が少なく、加工品の数も少ないことが課題となっているので、これらのグループに対して地域振興局農林部、農業研修センターならびに市町村と連携して農産物加工法を技術移管することによって、加工品を増やし、販売額の増加を目指すことを目的とした。

<方法>

農産加工グループ、女性起業グループは小規模の団体が多く、またその数も多いため、効率的に技術移管を進めるために、県の各地域振興局ならびに農業研修センター、各市町村の農林振興担当部署と連携して、それぞれの主催研修会などを通じて農産物加工法の指導、普及を図った。

今年度、講師派遣依頼に基づいて、連携して研修会等を実施した地域振興局、農業研修センター、市町村は次の通りであった。

実施日	連携先	内容	参加者
H19. 6. 28	鹿角市農村支援機構	米粉シフォンケーキ	19
H19. 7. 19	山本地域振興局	米粉パン	16
H19. 8. 24	農業研修センター	農産物付加価値講座講演	20
H19. 8. 30	鹿角市農村支援機構	じょうよ饅頭（香り五葉ずんだ餡）	20
H19. 9. 7	農業研修センター	香り五葉ずんだもち	29
H19. 10. 10	平鹿地域振興局	農業横手塾講演	5
H19. 10. 30	農業研修センター	米粉チーズパン、塩大福	27
H19. 11. 7	山本地域振興局	米粉パン（ムラサキイモ餡）	10
H19. 12. 12	大仙市協和庁舎農林課	ブルーベリー大福	6
H19. 12. 18	雄勝地域振興局	リンゴジャム	24
H19. 2. 8	雄勝地域振興局	アップルパイ	31
H19. 2. 13	山本地域振興局	ウド饅頭、ウドおやき	10
H19. 2. 19	仙北地域振興局	食品開発セミナー講演	57
計 13回			274名

<成果>

農産物加工法の技術移管により、米粉シフォンケーキ（道の駅鹿角）、ムラサキイモ米粉パン、じょうよ饅頭（道の駅二ツ井）、米菓子こまちまき（黒川屋：横手市）、ブルーベリー大福（道の駅協和）などが商品化された。

研究課題以外の試験研究成績

区 分	共同研究
研 究 名	秋田の山菜・温泉水を利用した化粧品の商品開発 (中小企業庁小規模事業者新事業全国展開支援事業)
担 当 部 署	食品機能グループ
担 当 者 名	熊谷昌則
研 究 期 間	平成19年度
協力・分担関係	秋田県商工会連合会

【概要】

<目的>

秋田県商工会連合会では、中小企業庁の平成19年度小規模事業者新事業全国展開支援事業の採択を受けて、秋田の山菜・温泉水を利用した化粧品の商品開発に取り組むことになった。事業の目的は、秋田の資源を利用した、秋田を売り込むための商品開発を行って、事業者を育成し、地域の活性化に資すること、そして地域産業の連携を図ることによって新たな事業者を創出することにある。1次産業と2次産業そして3次産業の連携でこの事業を実施する。

<方法>

- 1) 実施体制・・・事業推進委員会を設置し、その下に運営委員会、商品開発委員会、プロモーション委員会を設置する。委員には農業生産者、温泉経営者、化粧品製造業者、食品加工業者、美容組合、流通業者、温泉研究家、マーケティング・広告代理店、あきた企業活性化センター、総合食品研究所、商工会連合会などから構成される。
- 2) 商品開発委員会・・・秋田の山菜として活性酸素消去能が期待されるコゴミと、抗酸化能が期待されるジュンサイについて、それぞれ生産者から提供された食材を、食品加工業者により乾燥粉末化処理した。また、温泉水については妙乃湯温泉と南郷温泉を加熱処理、ろ過処理した。これらの原材料を化粧品製造業者に製造委託し、試作品を得るとともに、使用感についてモニター調査を行った。

<成果>

1) 試作品

- 洗顔フォーム（弱酸性とするために、pH2.5の妙乃湯温泉を配合）
- 化粧水（中性とするために、pH6.5の妙乃湯温泉を配合）
- クリーム（コゴミとジュンサイの抗酸化効果、しっとり感を持たせ、pH8.4の南郷温泉源泉を配合）
- 濃縮温泉水（妙乃湯温泉）20倍濃縮品
- 濃縮温泉水（南郷温泉）20倍濃縮品



2) プレゼンテーション

平成20年2月5-8日に東京ビッグサイトで開催された「ニッポンいいもの再発見！春2008」に出展参加した。なお、本誌作品は県外メーカーに委託されたものであるため、今後は県内業者（既存または新規）による事業化にむけて検討することになっている。

研究課題以外の試験研究成績

区 分: 秋田県学術国際部 戦略的共同研究プロジェクト推進事業 研 究 名: 高品質化粧品素材の研究開発のためのプロジェクト 研 究 期 間: 平成19年度(平成 17年度 ~ 19年度) 協力・分担関係: (株)坂本バイオ、(株)スカイライト・バイオテック、秋田県立大
--

【概要】

【実施項目】

鹿角霊芝エキス GANO™ の開発と利用拡大[(株)坂本バイオ、総食研]
シベリアカラマツエキス“ジグベルチン”の美白作用[(株)坂本バイオ、総食研]
アキシノゲン(キク科植物)エキスの抗白髪化粧品素材化[(株)坂本バイオ、総食研]
ルペオールの抗肥満作用[(株)スカイライト・バイオテック、総食研]
地衣菌培養液からのメラニン産生制御物質の探索[(株)スカイライトバイオテック、秋田県立大、総食研]

【成果発表】

1. 学会誌

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)

畠 恵司, 堀 一之, 高橋 砂織, 天然成分でメラニン産生制御. 産業技術連携推進会議 東北・北海道地域部会 研究論文集, **5**, 113-116 (2006)

秋山 美展, 戸枝 一喜, 畠 恵司, 地域農産物活用のための高機能食品開発プロジェクトを追うシリーズ 9-秋田県の機能性食品に対する取り組み-, 食品と開発, **42**, 60-61 (2007)

Hata K., Mukaiyama T., Tsujimura N., Sato Y., Kosaka Y., Sakamoto K., Hori K., Differentiation-Inducing Activities of Lupane Triterpenes on a Mouse Melanoma Cell Line, *Cytotechnology*, **52**, 151-158 (2006)

Sasaki H., Kawarasaki S., Sugawara M., Hata K., Effects of Lupeol on Visceral Fat Weight and Serum Lipoprotein Profile in High-Fat Diet Fed Mice. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, in press.

Hata K., Ogawa S., Makino M., Mukaiyama T., Hori K., Iida T., Fujimoto Y., Lupane Triterpenes with a Carbonyl Group at C-20 Induce Cancer Cell Apoptosis. *J. Nat. Med.*, in press

2. 出版物

畠 恵司, 向山 俊之, アンチ・エイジングシリーズ2 『皮膚の抗老化最前線』、NTS 出版社(2006)

Mukaiyama T., Tsujimura N., Ohtaka S., Kosaka Y., Hata K., Hori K., Sakamoto K., Anti-melanogenic Activity of Ergosterol Peroxide from Ganoderma Lucidum on a Mouse Melanoma Cell Line, The Proceedings of the JAACT Kyoto, in press

Hata K., Mukaiyama T., Tsujimura N., Sato Y., Kosaka Y., Sakamoto K., Hori K., Differentiation-Inducing Activities of Lupane Triterpenes from Lactuca Indica on a Mouse Melanoma Cell Line, The Proceedings of the JAACT Kyoto, in press

3. マスコミ報道

魁新報誌 平成 18 年 12 月 26 日朝刊、 朝日新聞 平成 19 年 1 月 11 日朝刊、 魁新報誌 平成 19 年 6 月 2 日朝刊、 河北新報 平成 19 年 6 月 5 日朝刊、 魁新報誌 平成 19 年 10 月 29 日朝刊

研究課題以外の試験研究成績

区 分: JST 産学共同シーズイノベーション化事業顕在化ステージ 研究 名: 色素細胞成熟・分化機構の解明と抗白髪化粧品素材開発 研究 期間: 平成19年度(平成 18～19年度) 協力・分担関係: ㈱坂本バイオ、日本大学

【概要】

【実施項目】

ルパン型トリテルペンによるメラニン細胞分化誘導機構解明[総食研]
ルパン型トリテルペン誘導体の合成研究[日本大学]
メラニン産生促進活性評価ならびに構造解析[総食研]
アキノゲシエキスの安全性評価試験[㈱坂本バイオ]
ヒト皮膚三次元モデル及び褐色モルモット等を使用したメラニン産生能評価試験[㈱坂本バイオ、総食研]

【成果の概要】

ルパン型トリテルペンのメラニン細胞の分化誘導機構として、メラニン色素の合成器官であるメラノソーム輸送に係る分子群(Rab27a および Myosin Va)の発現誘導が認められた。また、構造活性相関の研究より、C-20 位にカルボニル基を有するルパン型トリテルペンは、メラノーマを始めとする腫瘍細胞選択的にアポトーシスを誘導した。さらに、代表的なルパン型トリテルペンであるルペオールについて、ヒト皮膚三次元モデルならびに褐色モルモット皮膚におけるメラニン産生促進能を確認した。ルパン型トリテルペンを多量に含むアキノゲシエキスの安全性を、7 項目(経口毒性、皮膚一次刺激性、皮膚連続刺激性、眼刺激性、光毒性、突然変異性、感作性)について確認した。

【成果発表】

Hata K., Mukaiyama T., Tsujimura N., Sato Y., Kosaka Y., Sakamoto K., Hori K., Differentiation-Inducing Activities of Lupane Triterpenes on a Mouse Melanoma Cell Line, *Cytotechnology*, **52**, 151-158 (2006)

Hata K., Ogawa S., Makino M., Mukaiyama T., Hori K., Iida T., Fujimoto Y., Lupane Triterpenes with a Carbonyl Group at C-20 Induce Cancer Cell Apoptosis. *J. Nat. Med.*, in press

研究課題以外の試験研究成績

区	分：	受託研究					
研	究	名：	白神微生物を活用した食品残渣の資源化				
研	究	期	間：	平成19年度（平成19年度）			
協	力	・	分	担	関	係：	能代市

【概 要】能代市内で排出される食品残渣を白神微生物により物質変換し、資源物質を生産することを目的とした。今年度は、残渣モデルで高い増殖性を示す糸状菌類の選抜試験を行った。

平成 19 年度 試験研究成果概要

発 行 平成 20 年 7 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/>