

秋田県総合食品研究センター報告

第 12 号

平成22年(2010年)

Bulletin of the Akita Research
Institute of Food and Brewing
(*ARIF*)

No. 12, 2010



脳血流測定風景

☆熊谷昌則他「食品の外観嗜好評価時における前頭前野局所脳血流動態の解析」



雄のハタハタ

☆菅原千秋他「ハタハタ白子の素材化とその利用例」



秋田酵母No.12とNo.15の商品

☆渡辺誠衛他「秋田酵母No.12と秋田酵母No.15の開発」



秋田酒こまちの圃場

☆高橋仁他「清酒醸造における蒸米タンパク質の酵素分解に関する研究」



☆大能俊久「マイタケ (*Grifola frondosa*) による米飯テクスチャーの改良」

マイタケとその乾燥粉末

目 次

1. 原著論文（報文）	1
2. 原著論文（研究ノート）	29
3. 総説	33
4. 特許の概要	57
5. 学会発表要旨	63
6. 外部発表論文概要	105
7. 第1号～第12号総目次	111
8. 第1号～第12号人名索引	120
9. 秋田県総合食品研究センター報告規定	123

1. 原著論文（報文）

- ① 「食品の外観嗜好評価時における前頭前野局所脳血流動態の解析」・・・1
熊谷昌則、渡部素子、菅原千秋、高橋徹、秋山美展*
（*秋田県立大学生物資源科学部）
- ② 「ハタハタ白子の素材化とその利用例について」・・・7
菅原千秋、保莉美佳、加藤明津子、高橋徹、塚本研一、熊谷昌則*
（*連絡者）
- ③ 「秋田酵母 No. 12 と秋田酵母 No. 15 の開発」・・・14
渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛
- ④ 「マイタケ (*Grifola frondosa*) による米飯テクスチャーの改良」・・・24
大能俊久

食品の外観嗜好評価時における 前頭前野局所脳血流動態の解析

熊谷昌則¹⁾, 渡部素子¹⁾, 菅原千秋¹⁾, 高橋徹¹⁾, 秋山美展²⁾
(¹⁾ 秋田県総合食品研究センター、²⁾ 秋田県立大学)

Masanori KUMAGAI, Motoko WATANABE, Chiaki SUGAWARA,
Toru TAKAHASHI, and Yoshinobu AKIYAMA

【要 約】

従来とは異なる新規の食品評価法を開発することを目的として、被験者に、食品画像を視覚刺激として与え、その画像について嗜好性を評価させている時の前頭前野における局所脳血流変化を、近赤外分光法による脳血流測定装置 (NIRS) で測定し、解析した。その結果、おいしそうと思って画像を見ているときと、そうでないときでは、脳血流の変化量に違いが認められ、被験者の嗜好判断を NIRS で予測できる可能性が示唆された。

【緒 言】

食品の開発では、安全性や経済性などといった物質的因子に加え、おいしさや満足感などといった心理的因子が重視される。

心理的因子の評価法として、嗜好性や感性に係わるヒトの応答は、アンケート調査法や官能検査法などによる質問紙法によって、口頭または記述により抽出するのが一般的である¹⁾。抽出された嗜好、感性情報は形容詞や形容動詞によって表現されることから、これらは、明示的評価と呼ばれている。ときに明示的評価は、客観性、再現性、信頼性などに欠ける場合があり、代替法、すなわち、非明示的評価法の開発が求められている。

一方、形容詞や形容動詞などの表現によらない非明示的評価法としては、生理学的指標があり、例えば心拍数、血圧、体温、発汗量などがある。また、表情やしぐさなどの動作指標なども知られている。

我々は、食品評価時における被験者の嗜好や感性情報を、脳血流変化を指標として、非明示的に、脳から直接、読み取れないかどうか検討してきた。本研究では、特定のカテゴリーの中から、様々な食品画像を視覚刺激として与え、その画像評価時の前頭前野における局所脳血流変化について NIRS による検討を行ったので以下に報告する。

【方 法】

被験者は、口頭ならびに文書でのインフォームドコンセントの手続きがとられた、健常な右利きの 50～60 代男性 4 名（平均年齢 56.8 歳）、女性 3 名（同 58.3 歳）である。本実験は、中高齢者の嗜好評価実験のひとつとして実施された。食品の外観嗜好評価刺激として、今回はケーキ画像を用いた。被験者には 17 インチの CRT 上に、注視点画像 15 秒、ケーキ画像 30 秒（外観嗜好評価のタスク）、注視点画像 15 秒の順に提示（図 1）し、その後直ちに“おいしそう”か“おいそうでない”かの「嗜好」について評価を求めた。続いて 15 秒の開眼安静の後に、同様の手順で、計 10 枚の「画像」について、光トポグラフィー ETG-4000（日立メディコ）を用いて、前額部前頭前野表層部（3×5 モード；国際 10-20 法に基づき Fz を中心に 22Ch を配置；関心領域「ROI」を設定；図 3）におけるタスク中の脳血流変化量を計測した。脳血流変化量は、酸素化ヘモグロビン濃度長変化（Oxy-Hb/mM・mm）と、脱酸素化ヘモグロビン濃度長変化（Deoxy-Hb/mM・mm）、ならびに、これら両者の和（Total-Hb/mM・mm）として表される。データ解析にあたっては、ベースライン設定の前処理を行った後に、脳血流変化の「時間変化」として、タスク開始 0s～10s を早期変化、同 10s～20s を中期変化、そして同 20s～30s を後期変化と分類し、それぞれのデータに対して正規化（Z-score）処理を行った（図 2）。統計解析には、ソフトウェア IBM SPSS 18 を用いた。

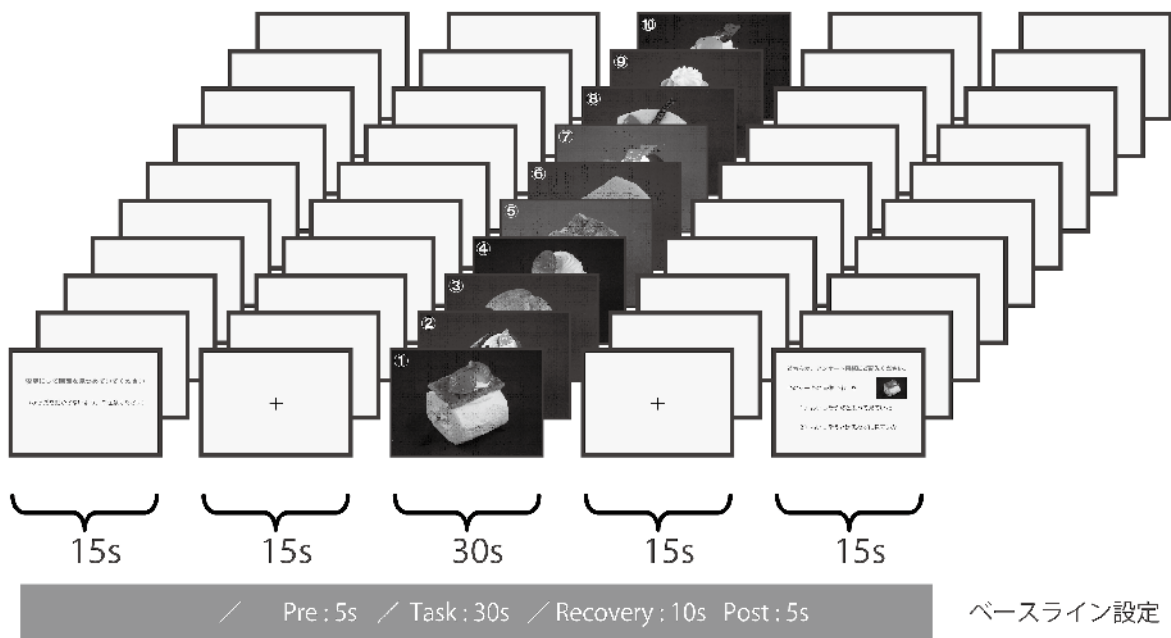


図 1 実験プロトコル

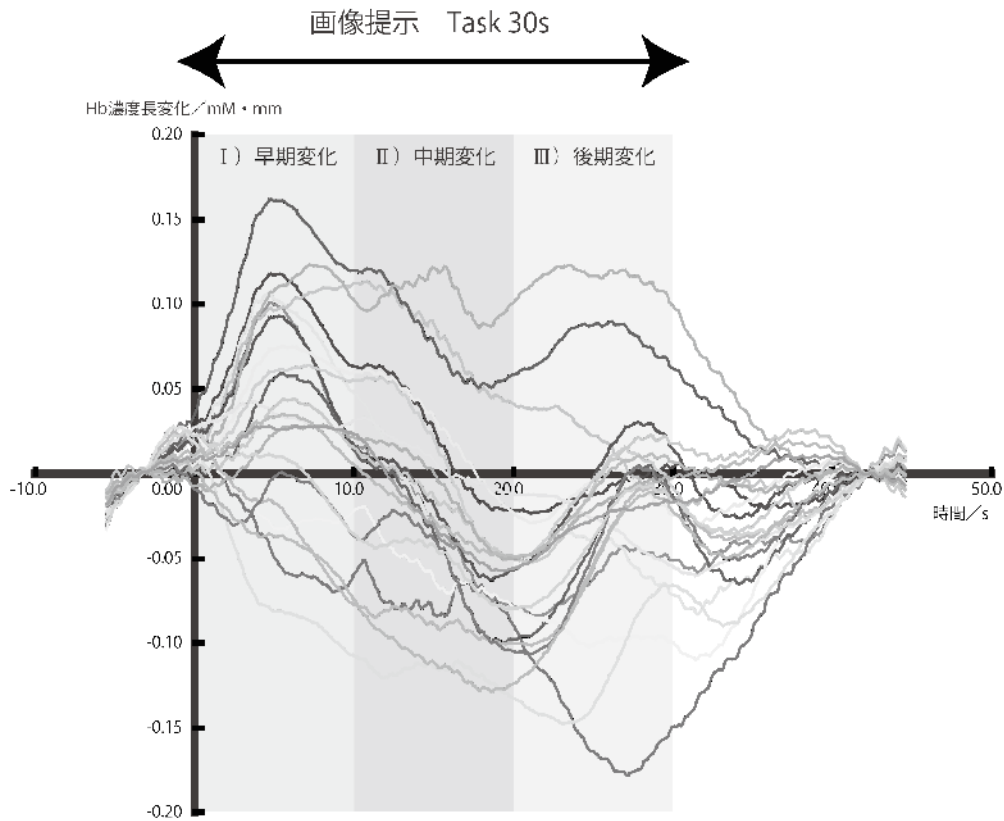


図2 被験者 A の画像①に対する Oxy-Hb の挙動 (全 22Ch)

脳血流変化量の正規化 (Z-Score)

- 1) 早期変化：〔Task 開始 0s ~ 10s の平均〕 - 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の平均〕 / 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の標準偏差〕
- 1) 中期変化：〔Task 開始 10s ~ 20s の平均〕 - 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の平均〕 / 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の標準偏差〕
- 1) 後期変化：〔Task 開始 20s ~ 30s の平均〕 - 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の平均〕 / 〔Task 開始前 5s ~ 開始 0s の標準偏差〕

【結果と考察】

正規化された Z-score に基づく脳血流変化量に対する分散分析の結果から、Oxy-Hb (表 1) については、嗜好、ROI、変化時間、画像について有意差が認められた。さらに、嗜好と変化時間、嗜好と画像の組み合わせについては交互作用も認められた。同様に、Deoxy-Hb (表 2) については、ROI、変化時間、画像が有意となり、ならびに嗜好と画像、嗜好と ROI と画像の組み合わせについては交互作用も有意となった。これらのことから、外観刺激に対する嗜好の違いが前頭前野表層の脳血流変化量に影響を及ぼすことが示唆された。そこで、次に、それぞれの ROI における嗜好の違いによる脳血流変化量を各被験者内で比較した。t 検定の結果 (図 3)、それぞれの被験者内においては“おいしそう”と違って画像を見ているときと、そうでないときでは、Oxy-Hb や Deoxy-Hb の変化量に有意差の認められた ROI が存在することから、NIRS により被験者の嗜好判断を予測できる可能性がある。しかしながら、それぞれの被験者間の比較では、ROI のみならず、Oxy-Hb や

Deoxy-Hb の変化量の増減については個人差があり、普遍的な法則性を見いだすには至らなかった。したがって今後は、この個人差を考慮した上で、事前に得られた被験者個人内における嗜好判断と脳血流変化量を教師データとして判別モデルを作成し、新たに得られる未知データに対して判別を試みるなどのシステムを構築する予定である。

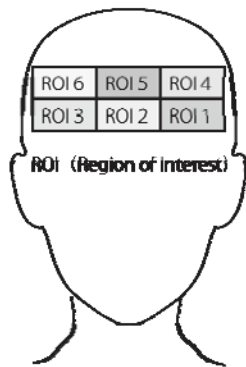
表 1 被験者間効果の検定 (Oxy-Hb)

要 因	自由度	平均平方	F 値	有意確率
嗜好	1	587.188	10.021	0.002 *
ROI	5	207.043	3.533	0.004 *
変化時間	2	530.986	9.062	0.000 **
画像	9	220.086	3.756	0.000 **
嗜好 × ROI	5	21.164	0.361	0.875
嗜好 × 変化時間	2	232.882	3.974	0.019 *
嗜好 × 画像	9	788.205	13.451	0.000 **
ROI × 変化時間	10	40.034	0.683	0.741
ROI × 画像	45	40.596	0.693	0.938
変化時間 × 画像	18	39.414	0.673	0.840
嗜好 × ROI × 変化時間	10	10.752	0.183	0.997
嗜好 × ROI × 画像	45	46.991	0.802	0.822
嗜好 × 変化時間 × 画像	18	70.399	1.201	0.252
ROI × 変化時間 × 画像	90	9.252	0.158	1.000
嗜好 × ROI × 変化時間 × 画像	90	9.613	0.164	1.000
誤差	900	58.598		
総和	1260			

表 2 被験者間効果の検定 (Deoxy-Hb)

要 因	自由度	平均平方	F 値	有意確率
嗜好	1	22.260	0.214	0.644
ROI	5	257.282	2.475	0.031 *
変化時間	2	729.656	7.020	0.001 **
画像	9	647.290	6.227	0.000 **
嗜好 × ROI	5	55.851	0.537	0.748
嗜好 × 変化時間	2	206.550	1.987	0.138
嗜好 × 画像	9	693.405	6.671	0.000 **
ROI × 変化時間	10	76.899	0.740	0.687
ROI × 画像	45	115.581	1.112	0.286
変化時間 × 画像	18	54.415	0.524	0.948
嗜好 × ROI × 変化時間	10	34.405	0.331	0.973
嗜好 × ROI × 画像	45	174.127	1.675	0.004 *
嗜好 × 変化時間 × 画像	18	122.358	1.177	0.273
ROI × 変化時間 × 画像	90	23.637	0.227	1.000
嗜好 × ROI × 変化時間 × 画像	90	28.303	0.272	1.000
誤差	900	103.944		
総和	1260			

“おいしそうでない” とき、 ▲: Z-score 増加 ▼: Z-score 減少



関心領域 (ROI) の設定

被験者 A (Female)	▼早期変化 Deoxy <0.05	▼早期変化 Deoxy <0.01	▼中期変化 Deoxy <0.1
	▲早期変化 Oxy <0.01 ▲中期変化 Oxy <0.05		▲早期変化 Oxy <0.1
被験者 B (Female)	▼早期変化 Oxy <0.05 ▼中期変化 Oxy <0.01 ▼後期変化 Oxy <0.1	▼早期変化 Oxy <0.05 ▼中期変化 Oxy <0.05 ▼後期変化 Oxy <0.1	▲早期変化 Deoxy <0.1
被験者 C (Male)	▲中期変化 Oxy <0.05		
被験者 D (Male)	▲後期変化 Deoxy <0.05	▲後期変化 Deoxy <0.1	▲早期変化 Deoxy <0.1
	▼中期変化 Oxy <0.1		
被験者 E (Male)	▲後期変化 Oxy <0.05		▼早期変化 Oxy <0.05
	▲後期変化 Oxy <0.05 ▼中期変化 Deoxy <0.1 ▼後期変化 Deoxy <0.05		
被験者 F (Female)	▲早期変化 Deoxy <0.01		▲後期変化 Deoxy <0.01 ▲中期変化 Deoxy <0.1
	▼早期変化 Oxy <0.05	▼早期変化 Oxy <0.05	▲早期変化 Deoxy <0.1
被験者 G (Male)	▲後期変化 Oxy <0.1		
	▼早期変化 Deoxy <0.05		▼早期変化 Deoxy <0.1

図3 嗜好の違いによる脳血流変化量で有意差が認められた ROI

ところで、このような嗜好判断は極めて高次な精神活動のひとつと考えられ、前頭前野との関わりに興味を持たれる。外観刺激に伴う嗜好に関わる脳活動を調べた先行研究として、磯尾ら²⁾は fMRI により視覚刺激の嗜好選択課題において前頭前野背外側部などに有意な活動が見られたと報告している。また、中村ら³⁾は色嗜好判断中に両側の前部前頭前野の活動が何らかの役割を果たしている、NIRS を用いて示している。さらに、星ら⁴⁾は NIRS により、強い不快感情が両側の腹外側前頭前野の Oxy-Hb の増加を、そして強い快感情は左背外側前頭前野の Oxy-Hb の減少を伴うことを見いだしている。一方、我々の研究グループ⁵⁾でも、事象関連電位を用いた研究において、寿司画像に対する嗜好の違いが P300 成分に影響を与えているとの知見を報告している。このように、外観刺激に対する嗜好評価時における精神・神経活動の違いは、非侵襲的脳機能計測データに少なからず反映されているものと考えられるが、さらに科学的な検証を積み重ねる必要がある。

【謝 辞】

本研究は、文部科学省都市エリア産学官連携促進事業「秋田県央エリア」（平成19～21年度）ならびに、科研費（22500751）の助成を受けて実施された。

【文 献】

- 1) 日科技連官能検査委員会編：官能検査ハンドブック新版，日科技連出版社，(1973)
- 2) 磯尾ら：お気に入りのブランド選びー嗜好に基づく意志決定についての fMRI 研究，第9回日本ヒト脳機能マッピング学会抄録集，70 (2007).
- 3) 中村ら：近赤外線分光法を用いた色嗜好判断中の皮質活動分析，日本色彩学会誌，32，185 (2008).
- 4) 星ら：快・不快感情に関連した前頭前野活動の検討；event-related NIRS 研究，臨床神経生理学，36，454 (2008).
- 5) 田中ら：ERP を指標とした食品評価に関する実験的検討ー寿司画像を用いた好み評価ー，生体医工学，47，623 (2009).

ハタハタ白子の素材化とその利用例について

菅原千秋, 保苺美佳, 加藤明津子, 高橋徹, 塚本研一, 熊谷昌則[§]
(秋田県総合食品研究センター)

Chiaki SUGAWARA, Mika HOKARI, Atsuko KATOU, Toru TAKAHASHI,
Ken-ichi TSUKAMOTO and Masanori KUMAGAI

[§]連絡先 (Corresponding author)

【要 約】

これまであまり利用されることの少なかったハタハタ白子の有効利用を目的として、白子中に含まれるアラキドン酸(ARA)やドコサヘキサエン酸(DHA)に着目し、その素材化と利用例について検討した。ARAは脳機能との係わりにおいて注目されている必須脂肪酸のひとつである。食事でバランス良く摂取することが求められており、ハタハタ白子を素材化することによってARAを強化した食品やサプリメントなどに応用可能である。

【緒 言】

ハタハタは、秋田県の県の魚に指定¹⁾されており、「秋田名物、八森ハタハタ、男鹿で男鹿ブリコ」と秋田音頭にも謡われているように、冬の秋田の味覚を代表する食材のひとつである。1992年9月から1995年8月の間、資源保護のための全面禁漁期間を経て、今年度、2009年漁期(10年6月まで)の漁獲可能量は2600トンとなっている²⁾。

ハタハタは、ブリコと呼ばれる卵を持ったメスが一般には珍重されるのに対して、オスの白子(精巣)は、小振りながらもクリーミーで上品な風味であるにもかかわらず、やや利用価値に乏しいとされている。しかしながら、予備検討の結果、ハタハタ白子中にはアラキドン酸(ARA)やドコサヘキサエン酸(DHA)などの不飽和脂肪酸が含まれることが分かった。

ARAは、DHAと同様に脳・肝臓・皮膚などの身体のあらゆる組織を構成する脂肪酸のひとつであるが、なかでもARAは乳幼児の成長や発育、とりわけ精神発達に重要な役割を担っていることが明らかにされている³⁾。これにともなって、2007年7月のコーデックス委員会(FAO(国連食糧農業機関)とWHO(世界保健機関)により設置された国際的な政府間機関)総会では、粉ミルクの規格において、DHAを配合する場合は、同量以上のARAの配合を推奨することで合意された⁴⁾。なお、ARAとDHAは、いずれも母乳には含まれているが、粉ミルクの主原料となる牛乳にはほとんど含まれていない。国内で販売されている粉ミルク商品の一例として、「明治ほほえみ」(明治乳業株式会社)にはARAが26mg/100g、DHAが100mg/100g、それぞれ配合されている。

一方、ARA は、高齢者の認知応答を改善するとの報告もあり⁵⁾、近年、注目を集めている。脂質栄養に関する世界最大の学会「ISSFAL (International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids) 2008」においては、東北大学の大隅やサントリーなどにより ARA の神経細胞に対する重要性が動物実験で実証されたことが発表され話題となっている⁶⁾。

このように、脳の働きに重要な役割を果たしている ARA は、加齢とともに体内レベルが低下することも明らかになってきた⁷⁾。ARA は、食事からの摂取が必要とされる必須脂肪酸のひとつに数えられている。ARA は、主に畜肉、鶏卵、魚類などに多く含まれているため、これらからバランス良く摂取することが重要である。その他、サプリメントの利用も有効な手段となり得る。

そこで本研究では、これまで有効資源として利用されることの少なかったハタハタ白子中の ARA や DHA に着目し、これを高品位な食品素材として利活用する方法について検討したので、以下に報告する。

【方 法】

1. 白子の成分分析

白子の栄養成分は、五訂日本食品標準成分表分析マニュアル⁸⁾ に準じて、水分、粗たんぱく質、粗脂肪、炭水化物、灰分、ナトリウム、エネルギーをそれぞれ定量した。また、遊離脂肪酸の組成比は、溶媒抽出法により脂肪酸画分を抽出したのち、メチルエステル化後、GC 分析に供して求めた。GC 条件は以下の通り。

装 置：ヒューレットパッカー社製 GC5890 II plus FID 仕様

カラム：VARIAN WCOT FUSED SILICA(50m, 0.25mm 径)

カラム温度：150～200℃ (2℃/min 昇温) 200～225℃ (5℃/min 昇温)
225℃ 8分保持

検出器温度：250℃

キャリアーガス：He 1ml/min (EPCモード)

試料注入量：1μl, スプリット比 (10 : 1)

2. 白子の素材化のための精製方法についての検討

生の白子中には外皮をはじめ、混入した血液等の夾雑物が含まれるため、そのままでは特有の臭気を発することから、素材化においては、それらの除去、精製が特に重要となる。そこで、本研究では、著者のひとりである塚本らが確立した方法⁹⁾を参考にして、夾雑物を酸性下で段階的に遠心分離して除去する方法について検討した。また、遠心分離機が使えない小規模加工施設でも対応可能となるように、遠心分離機を用いない簡便法についても検討した。

3. 用途開発

1) 錠剤型サプリメントの試作

原材料には、白子精製パウダー、結晶セルロース セオラス ST-100 (旭化成ケミカルズ株式会社)、トウモロコシデンプン(日本薬局方・和光純薬工業株式会社)、ステアリン酸カルシウム (日本薬局方・和光純薬工業株式会社) を使用した。これらを表 1 に示す配合で混合し、乳鉢ですり合わせ均一化した。ここで得られた粉末約 300mg を打錠機 ((有)ジェー・ジェー・インターナショナル製家庭用卓上打錠機 STORK ストーク) にて打錠し、試作品を作製した。

表 1 配合処方

原材料名	配合量/mg/錠	配合率/%
ハタハタ白子精製パウダー	247.5	82.5
結晶セルロース	30.0	10.0
デンプン	15.0	5.0
ステアリン酸カルシウム	7.5	2.5
合計	300.0	100.0

2) 白子を配合した各種食品の試作

菓子への添加例として、クッキー、パイ、プリン、おかき、蒸しパン、パン、ピザ生地などへ、白子精製ペーストの場合は全体重量の 5~20% を、また白子精製パウダーの場合は 0.5~5% をそれぞれ添加し、その試作品を評価した。

また、そう菜への添加例として、ハンバーグ、茶碗蒸し、つくね、かまぼこ、ゴマ豆腐などへ、白子精製ペーストを 10~50% 添加し、その試作品を評価した。

【結果と考察】

1. 白子の成分

表 2 にハタハタ白子中の栄養成分の定量結果を示した。ハタハタ白子はたんぱく質を主成分とし、脂肪含量が多いのが特徴である。表 3 にはハタハタ白子中の遊離脂肪酸の組成比を示した。ドコサヘキサエン酸 (DHA)、パルミチン酸、エイコサペンタエン酸 (EPA) などを主成分とし、アラキドン酸 (ARA) なども含有しているのが特徴である。

表 2 ハタハタ白子中の栄養成分

水分	82.3g/100g
粗たんぱく質	13.2g/100g
粗脂肪	2.6g/100g
炭水化物	0.0g/100g
灰分	1.9g/100g
ナトリウム	190mg/100g
エネルギー	319kJ/100g (76kcal/100g)

表3 ハタハタ白子中の脂肪酸組成比

脂肪酸名	略号	%
ミスチリン酸	14:00	1.8
パルミチン酸	16:00	16.6
パルミトレイン酸	16:1n7	2.5
ヘキサデカジエン酸	16:2n4	0.2
ヘキサデカトリエン酸	16:3n4	0.3
ステアリン酸	18:00	5.5
オレイン酸	18:1n9	11.3
シス-バクセン酸	18:1n7	7.3
リノール酸	18:2n6	0.9
リノレン酸	18:3n3	0.4
オクタデカテトラエン酸	18:4n3	1.9
ゴンドウ酸	20:1n9	0.3
アラキドン酸	20:4n6	4.2
エイコサテラエン酸	20:4n3	0.3
エイコサペンタエン酸	20:5n3	13.1
ドコサペンタエン酸	22:5n3	1.0
ドコサヘキサエン酸	22:6n3	32.3
	計	100.0

2. 白子の精製による素材化

白子の夾雑物を除去し、精製する方法を種々検討し、遠心分離機が使える加工施設向けの方法と、遠心分離機が使えない小規模加工施設向けに遠心分離機を用いない簡便法について検討し、以下に示すような処理法を確立した。これにより、高品位なハタハタ白子の食品素材化が可能となり、各種食品への利用が容易になった。

1) 遠心分離機を用いる処理法

水切りした白子（凍結試料については流水解凍後）に、等量の水を加えミキサーで破碎後、ザルで濾し、3%クエン酸で pH 6.5 に調整したのち、3000rpm、15分間の遠心分離処理を行った。上層を除去後、沈殿物と等量の水を加え、攪拌し、3%クエン酸で pH 6.0 に調整したのち、同様の遠心分離処理を行った。この操作を再度行って、最終的に pH 5.0 に調整して得られた下層の白色沈殿物を回収し、これを白子精製ペースト I とした（図1）。一部はさらに乾燥処理を行って、白子精製パウダー I とした。なお、この乾燥処理は凍結乾燥が望ましいが、温風乾燥も可能である。

2) 遠心分離機を用いない処理法 (簡便法)

水切りした白子 (凍結試料については流水解凍後) に等量の水を加え、速やかに 90℃まで加温し、それを保持し、5 分間加熱した。裏ごし後、等量のクエン酸溶液 (pH 4.0) を加え、同様に、速やかに 90℃まで加温し、それを保持し、5 分間加熱したのち、水切りし、これを白子精製ペースト II とした (図 2)。一部はさらに乾燥処理を行って、白子精製パウダー II とした。

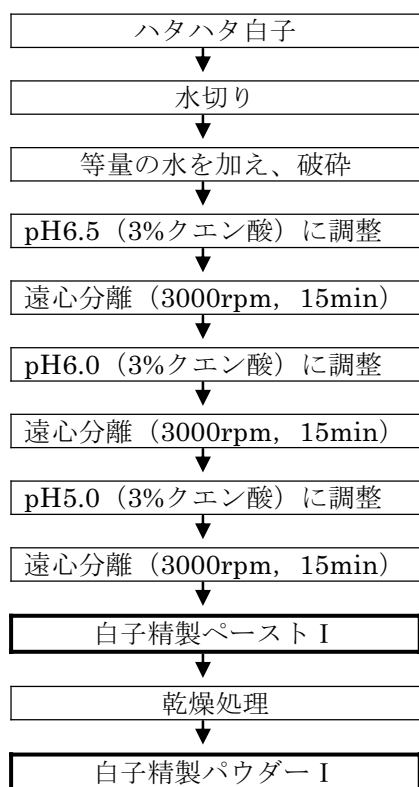


図 1 遠心分離機を用いる白子精製法

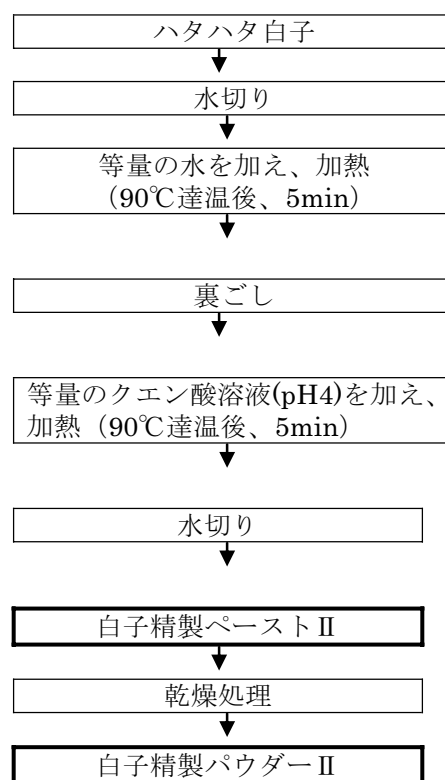


図 2 遠心分離機を用いない白子精製法 (簡便法)

表 4 に、ハタハタ白子精製パウダー中の脂肪酸の組成比を示した。また、比較のため、同様に処理されたサケ白子パウダーの分析値も示した。このとき、粗脂肪含量は、ハタハタ白子精製パウダー I が 14.5%、ハタハタ白子精製パウダー II が 24.3%、サケ白子パウダーが 11.0%であった。ややバラツキがあるものの、いずれの白子パウダーも粗脂肪含量が多いのが特徴である。そのなかで、ハタハタ白子精製パウダーのほうが、サケ白子パウダーよりも ARA の組成比がやや高い。

素材化されたペーストならびにパウダーの官能評価では、やや褐変 (薄褐色) した外観を有し、ハタハタ塩焼き様の特有の風味があるが、白子の生臭みは軽減されている、との結果であった。

表4 ハタハタ白子精製パウダー中の脂肪酸組成比

脂肪酸名	略号	パウダーⅠ %	パウダーⅡ %	(参考) サケ白子 パウダー %
ミスチリン酸	14:00	1.8	2.1	2.5
パルミチン酸	16:00	14.1	19.0	19.7
パルミトレイン酸	16:1n7	3.4	3.2	2.5
ヘキサデカジエン酸	16:2n4	0.3	0.2	1.8
ヘキサデカトリエン酸	16:3n4	0.5	0.5	0.2
ステアリン酸	18:00	4.6	6.1	3.9
オレイン酸	18:1n9	14.1	14.4	12.3
シス-バクセン酸	18:1n7	7.1	8.1	5.4
リノール酸	18:2n6	1.1	1.2	1.0
リノレン酸	18:3n3	2.6	2.0	0.8
オクタデカテトラエン酸	18:4n3	0.0	0.7	1.6
ゴンドウ酸	20:1n9	0.3	0.4	0.4
アラキドン酸	20:4n6	7.9	4.4	2.6
エイコサテラエン酸	20:4n3	0.3	0.3	0.7
エイコサペンタエン酸	20:5n3	11.9	11.8	21.8
ドコサペンタエン酸	22:5n3	1.2	1.0	3.4
ドコサヘキサエン酸	22:6n3	28.7	24.6	19.3
	計	100.0	100.0	100.0

3. 錠剤型サプリメントの評価

図3にハタハタ白子パウダーを配合したサプリメント試作品の外観を示した。配合処方表は表1に示したとおりである。今回は打錠時に特にフレーバーづけは行わなかったが、ハタハタ白子精製パウダーには特有の風味があるため、官能評価から、それをマスキングするための香料などの配合が望ましいと考えられる。

本試作品1錠(300mg)あたり、計算上、ARAは23mg、DHAは176mg、それぞれ含まれている。同様なARA含有サプリメントとして、サントリーウエルネス株式会社からソフトカプセルで「アラビタ」が発売されているが、本品は1日当たり6粒の摂取を推奨しており、6粒(1.89g)あたりの成分はARA/240mg、DHA/240mg、アスタキサンチン/1mgとなっている¹⁰⁾。なお、これに含まれるARAは発酵法で製造されている。ちなみに、本品の通常価格は1錠当た



図3 ハタハタ白子パウダーを配合したサプリメント試作品

り 35 円なので、210 円／日と見込まれる。このように、サプリメントはハタハタ白子パウダーの高付加価値商品として非常に有望なアイテムのひとつとして考えられる。

4. 白子を配合した食品の評価

素材化されたハタハタ白子精製ペースト、精製パウダーとも、生臭みは軽減されたものの、特有の風味を有するため、添加する食品の種類や添加量によっては、試作品の風味に影響を与えた。クッキー、パイなどといった焼き菓子のように、高温で調理するものほど、臭みは軽減された。また、ハンバーグなどはスパイスによるマスキング、風味づけの効果などもあつてか、添加量を増やしても嗜好性の低下は見られなかった。単体で風味に特徴のあるしょうつるやカレー粉を併用することにより、白子素材の風味はマスキングされた。味への効果では、ほとんどの場合、後味に濃厚感が付与されたが、これは主に脂質成分の影響と考えられる。

一方、塩味ベースのおかきに添加した場合などは、ハタハタ白子精製パウダーの風味が塩味の増強に寄与しているのではないかとの興味深い結果も得られた。引き続き、検討中である。

【謝 辞】

本研究は、文部科学省都市エリア産学官連携促進事業「秋田県央エリア」（平成 19～21 年度）を活用して行われた。

【文 献】

- 1) 秋田のシンボル，秋田県公式 WEB サイト <http://www.pref.akita.lg.jp>
- 2) 平成 21 年度 第 3 回 秋田県ハタハタ資源対策協議会資料，秋田県公式 WEB サイト <http://www.pref.akita.lg.jp>
- 3) 古賀良彦、高田明和編集；脳と栄養ハンドブック，p.110，サイエンスフォーラム（2008）.
- 4) ブレインヘルス・ニュース，日本ブレインヘルス協会，No.23 （2007.7.20）.
- 5) 古賀良彦，日本栄養・食糧学会大会講演要旨集，57，25（2003）.
- 6) 8th International Congress of ISSFAL（Kansas City, Missouri,USA, from May 18th-22nd 2008）
- 7) 松崎ら，日本栄養・食糧学会大会講演要旨集，61，195（2007）.
- 8) 科学技術庁資源調査会食品成分部会編（1997）五訂日本食品標準成分表分析マニュアル
- 9) 株式会社ニチロ，栄養補助食品，特公平 6-22467，1994.3.30
- 10) サントリーウエルネス株式会社 WEB サイト http://www.suntory-kenko.com/lineup/prod_a_02.aspx

秋田酵母No12 と秋田酵母No15 の開発

渡辺誠衛・田口隆信・高橋 仁・大野 剛
(秋田県総合食品研究センター 酒類グループ)

Seiei WATANABE, Takanobu TAGUCHI,
Hitoshi TAKAHASHI and Tsuyoshi OONO

【要約】

今までの秋田にはなかった特徴のある清酒を開発するために、消費者に一番近い酒販店を開発メンバーとし、全国の売れ筋商品を調査・分析し、目標とする酒質を設定した。そのための酵母を秋田県総合食品研究センター醸造試験場保存株 887 株の中から選抜・改良・酒造適性を確認後、消費者の求める清酒を開発した。選抜した 2 株を「秋田酵母No12」、「秋田酵母No15」と命名し、平成 20 年 12 月から秋田県酒造協同組合から配布している。平成 21 年 6 月現在、「秋田酵母No12」を使用した清酒は 16 社 20 アイテム、「秋田酵母No15」を使用した商品は 5 社 6 アイテムが商品化され好評を得ており、県内並びに首都圏へ秋田県産酒の需要開発を図っている。

【諸言】

近年、清酒の多様化、差別化、そして、より一層の高品質化を目的として積極的な優良清酒酵母の分離・改良・育種が広く行われており、その実用株の開発が進められている。特に、吟醸酒用酵母として、香りに特徴のある酵母の分離・育種に関して多くの研究が報告されており、芦田ら¹⁾、柳内ら²⁾、秋田ら³⁾は、酢酸イソアミル高生産性酵母、市川ら⁴⁾は、セルレニン耐性株よりカプロン酸エチル高生産性酵母、秋田ら⁵⁾、福田ら⁶⁾は、 β -フェネチルアルコール、酢酸 β -フェネチル高生産性酵母、また、日本醸造協会では、きょうかい 1601 号⁷⁾、きょうかい 1701 号⁸⁾、きょうかい 1801 号⁹⁾等の実用株を精力的に開発している。これら特定の香気成分を高生産する酵母は、清酒に香気の面で特徴づけが可能であり、吟醸酒の高品質化・清酒の多様化に多大に貢献している。

本研究では、消費者ニーズに重点を置き、消費者に最も近い酒販店等の意見を参考にしながら、全国の売れ筋商品を調査・分析し、消費者の求める清酒の開発を最終目標とした。そのために、値ごろ感を考慮した市販酒を対象として、今までの秋田にはない特徴のある清酒酵母の選抜・育種を行い、実用化と商品開発を行い、秋田県産酒の消費拡大を図ることを目的とした。

【実験方法】

1. 開発メンバー

秋田県酒造組合（酒造技術研究委員会、需要開発委員会、秋田醸友会）、秋田県分析研究会、秋田県総合食品研究センター醸造試験場と秋田市内 4 酒販店の約 15 名のメンバーで行った。

2. 目標とする酒質の設定

1) 売れ筋商品の購入

酒販店の協力により全国で良く売れている商品（売れ筋商品）の清酒 13 点（A～M）を購入した。2100 円～3570 円の価格帯で、本醸造酒、純米酒、大吟醸酒など商品構成はバラエティーに富んでいた。

表 1 売れ筋商品の種類と価格

No.	銘柄	種類	価格(円/1.8L)
1	A	本醸造酒	2,447
2	B	純米酒	3,045
3	C	特別純米酒	2,573
4	D	純米吟醸酒	2,730
5	E	純米吟醸酒	3,570
6	F	純米吟醸酒	2,625
7	G	純米吟醸酒生原酒	3,150
8	H	大吟醸酒	3,150
9	I	本醸造酒	2,243
10	J	吟醸酒生詰	2,993
11	K	純米吟醸酒	3,150
12	L	純米吟醸酒	2,730
13	M	吟醸酒生酒	2,100

2) 品質評価

A～M の市販清酒 13 点について、商品開発メンバー 11 名で、売れている市販酒の理由として、香りや味の特徴の有無に重点をおいて、香り・味・総合評価をそれぞれ 5 点法（1:良～5:悪）で評価した。

3) 香気成分と有機酸組成

香気成分は、ヒューレットパッカー社製のガスクロマトグラフィーを用いてヘッドスペース法¹⁰⁾で測定した。有機酸組成は、日本電子株式会社製の C-3000 を用いて 4 成分を測定した。

3. 酵母の選抜

1) 供試菌株

昭和 50 年代からの醸造試験場保存酵母 887 株を供した。

2) モデル醪発酵試験

887 株からこれまでの酵母のデータを参考に 200 株をモデル醪発酵試験に供した。モデル醪は、アルコール脱水麴を用いた培地¹¹⁾（8g アルコール脱水麴、22ml 麴エキス Be'6.5、1ml 酵母培養液）で 15℃、14 日発酵させた。上槽後のろ液について、発酵力は振動式密度計（京都電子社製、DA-310）を用いて日本酒度で求めた。一般成分と香気生成能は、国税庁所定分析法¹²⁾に従い測定した。

4. 小仕込試験

原料米は、精米歩合 40%の秋田酒こまちを使用し、総米 600 g の酵母仕込みの 3 段仕込みで行った。品温は、最高温度は 10～11℃とした。22 日目の醪のろ液について一般成分と香気成分を測定した。

5. 中間規模醸造試験

精米歩合 60%の秋田酒こまちを用いて、総米 150Kg の中間規模の純米酒醸造試験を検討した。AK-1（秋田流・花酵母）を対照とし、分離番号№12 酵母と №15 酵母の 2 株を試験区分として、醪の最高品温を 12℃とした。上槽の目標を日本酒度-1～+1 とし、上槽後の清酒について、前記同様に一般成分と香気成分を測定した。

6. 現場醸造試験

1) 仕込み

秋田県酒造組合と県内清酒製造場の協力を得て、現場醸造試験を行った。原料米や精米歩合、仕込みの大きさ等は特に制限はしなかった。

2) アンケート調査

現場醸造試験に協力して頂いた杜氏さんへ 12 項目についてアンケート調査を行った。

7. №15 酵母の泡無株の取得

フローズフローテーション法¹³⁾で№15 酵母から泡無変異株の取得を試みた。高泡形成酵母には気泡付着性があり、泡無株には気泡付着性がない性質を利用して泡無株の分離を試みた。

8. 泡無株の中間規模醸造試験

№15 酵母の泡無株の酒造適性を把握する目的で、精米歩合 55%の秋田酒こまちを用いて総米 150Kg の中間規模醸造試験を行った。

【 実験結果 及び 考察 】

1. 目標とする酒質の設定

1) 売れ筋清酒の官能試験

購入した 13 点の清酒について、香り・味・総合評価の評点と短評を表 2 に示した。その結果、I の商品が、香りの平均評点が 2.09、味の平均評点が 1.73、総合の平均評点が 1.45 で、評点分布でも、香りで 4 名が 1 と評価し、味で 5 名が 1 と評価し、総合評価で 8 名が 1 と評価した I が最も高く評価された。続いて、香りと味では評価が分かれたが、総合評価で 4 名が 1 と評価した M の商品が 2 番目に評価が高かった。

表 2 売れ筋清酒の官能結果（評点と短評）

No	銘柄	評点(平均点)			短 評
		香り	味	総合	
1	A	3.36	3.27	3.55	薄い、炭臭、水のように、きれい、薄い、甘焦げ、酢酸エステル、個性なし、
2	B	4.27	3.73	4.09	老香味、雑味、苦味、重い、熟成香、
3	C	3.55	3.09	3.55	味多い、老香、軽快、きれい、味のり良い、カラメル臭
4	D	2.73	2.45	2.36	味あり、キレ良い、線細い、ふくらみ不足、酸調和、エステル臭
5	E	3.27	2.73	3.18	木香様臭、未熟臭、ツワリ様、酢エチ、酵母臭
6	F	2.36	2.27	2.00	酸味、炭酸？、酸はなれ、ややつわり、香りおだやか、酸強い、甘+酸、バランス良
7	G	4.00	3.45	4.00	生老香強い、色あり、苦味、雑味、生過熟、クセ、
8	H	2.91	2.64	2.82	香り高い、甘ダレ、生老香、麴ばな、
9	I	2.09	1.73	1.45	バナナ様の香り、上品な甘さ、まろやか、吟香、軽快、バランス良い、
10	J	2.64	2.09	2.27	香り低い、苦味、酸適、バランス良、ぶなん、軽快、ややかたい、
11	K	2.55	2.27	2.45	平凡、味がたい、特徴弱い、木香様臭？麴バナ、香りほしい、苦味、
12	L	2.82	3.27	3.45	酸うく、香り低い、生老香、きれい、
13	M	2.73	3.09	2.45	香り高すぎ、甘い、カプロン酸エチル高い、コストパフォーマンス高い

2) 売れ筋清酒の香気成分

酢酸エチル、ノルマルプロパノール、イソブタノール、酢酸イソアミル、イソアミルアルコール、カプロン酸エチルを定量し、レンダーチャートで図 1 に示した。それぞれの香気成分パターンを比較すると、目標とする I と M の香気成分パターンに特徴が見られ、香りの面からも特徴を持つ清酒であることが確認された。

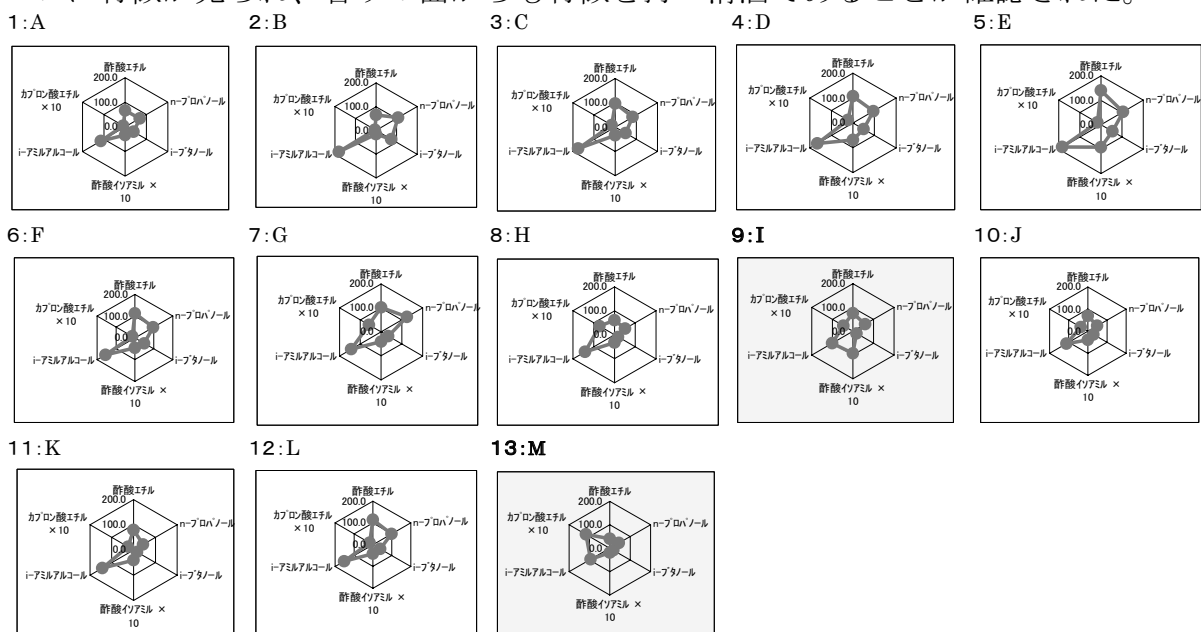


図 1 売れ筋清酒の香気成分パターン

3) 売れ筋清酒の有機酸組成

クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸を定量し、レーダーチャートで図 2 に示した。それぞれの有機酸パターンを比較すると、目標とする I と M の有機酸パターンに大きな差はなかったが、総有機酸量には違いがあることが分った。

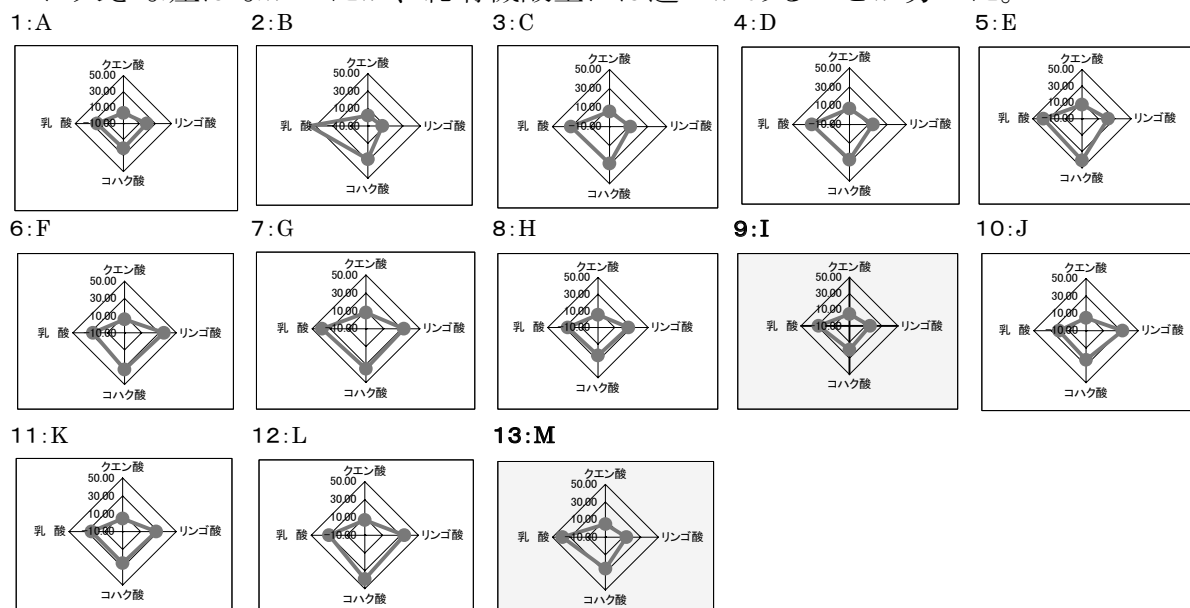


図 2 売れ筋清酒の有機酸組成パターン

4) 目標とする酒質

以上の結果から、2つのタイプの酒質を目標とした。1つ目の目標とする酒質はIのタイプ、「さわやかな上立香と、まろやかで上品かつ後味きれいなタイプ」で食中酒タイプ。2つ目の目標とする酒質はMのタイプ「カプロン酸エチルが高く、香り華やかで味膨らみのあるタイプ」に決定した。以降、目標に合致する酵母の選抜を行うこととした。

2. 酵母の選抜

1) モデル醪発酵試験

200株についてモデル醪発酵試験を行い、上槽後の成分(アルコール、日本酒度、酸度、アミノ酸度、香気成分)を測定した。総合的に評価し、目標の性質に近い酵母11株を選抜した。

2) 小仕込試験

上槽後の一般成分と香気成分の結果を表3に示した。分離№12酵母(NF-35(2))は、やや発酵が緩慢な傾向があったが、酢酸イソアミルが13.8ppmで、目標とする1つ目の酒質のタイプである「さわやかな上立香で上品かつ後味きれいなタイプ」として選抜候補株とした。2つ目の目標とする酒質のタイプとして、「カプロン酸エチルが高く、香り華やかで味膨らみのあるタイプ」として分離№15(No.406 4G)を選抜候補とした。分離№15は、カプロン酸エチルが10.3ppmと高く酢酸イソアミルが5.3ppmと吟醸香のバランスが良く、従来のカプロン酸エチル高生産株とは性質が異なり、イソアミルアルコールが103.5ppmと低く、酸度も1.6と味の面でも調和のとれた株だった。

表3 小仕込試験上槽時成分

仕込№	菌株名	対照・試験	泡の有無	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	醪22日目 香気成分(ppm)				合否
								酢酸エチル	酢酸イソアミル	i-アミルアルコール	カプロン酸エチル	
1	AK-1	対照1		-9.8	14.3	1.5	1.0	115.3	11.6	159.4	3.3	
2	こまち酵母(1)	対照2		-1.4	13.9	1.0	0.8	68.4	11.0	280.4	6.1	
3	華こまち酵母	対照3		-7.8	12.9	1.1	1.0	73.0	12.6	279.3	5.1	
4	秋田今野№24	対照4		-1.7	15.2	1.3	0.9	63.7	5.6	102.1	12.5	
5	K-1401	対照5		-2.5	16.2	1.8	1.0	128.1	10.2	142.6	2.2	
6	K-1601	対照6		-2.5	15.2	1.2	0.9	72.4	10.9	311.3	8.8	
7	K-1701	対照7		-2.8	14.7	1.4	1.0	70.1	13.8	231.0	9.0	
8	K-1801	対照8		0.4	16.2	1.3	0.9	56.1	3.6	105.6	14.5	
9	こまち酵母(2)	対照9		-2.2	15.6	1.5	0.9	73.0	5.3	127.6	7.5	
10	AK-5(AK1CA3-10)	試験1	無	-11.4	15.2	1.8	1.0	141.3	18.3	211.8	2.6	○
11	A-7池見	試験2	有	-5.8	16.3	1.8	1.2	125.4	11.1	187.5	2.4	
12	NF-35(2)	試験3	無	-12.1	14.2	1.6	1.1	122.5	13.8	171.9	3.2	◎
13	KMAK.6.4G	試験4	やや有	-16.6	12.7	1.3	1.3	21.9	1.3	64.4	16.2	
14	KM9.4G	試験5	やや有	-16.7	12.7	1.3	1.3	18.4	1.0	46.3	13.6	
15	No.406 4G	試験6	やや有	-7.4	15.4	1.6	1.1	61.9	5.3	103.5	10.3	◎
16	No177KMAK.3.4G	試験7	有	-1.4	15.6	1.4	1.0	48.4	3.0	99.1	7.4	
17	No190.6	試験8	有?	-2.3	14.9	1.5	1.1	75.3	5.4	122.3	6.6	○
18	No192.1	試験9	有?	-0.6	15.7	1.5	1.0	60.0	5.2	103.1	10.9	
19	NF-35(1)	試験10	無	-16.3	13.5	1.8	1.2	79.2	4.6	154.1	1.4	
20	KM.i-Am耐No.6	試験11	無	-5.1	14.7	1.6	1.2	80.8	6.8	119.3	6.9	

3) 中間規模醸造試験

上槽後の一般成分と香気成分を表4と表5に示した。上槽までの醪日数は、AK-1酵母の29日に比べ、№12酵母は32日、№15酵母は30日と若干長くなる傾向が見られたが酒造特性面から問題がないと判断した。酸度は、№12酵母が1.7、№15酵母が1.8と適度な酸生成となった。

香気成分は、小仕込と同様の傾向となり、№12酵母は酢酸イソアミルが8.0ppm、酢酸エチルが104.2ppm、№15酵母はカプロン酸エチルが6.3ppm、イソアミルアルコールが116.7ppmとなり、ほぼ目標とする値となった。

表4 中間規模醸造試験 (一般成分)

醪順号	酵母	醪日数 (日)	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	グルコース (%)	ヒルビン酸 (ppm)
1号	AK-1	29	+1.1	17.0	1.8	0.9	0.7	58.5
2号	№12	32	+2.1	17.3	1.7	1.0	0.8	44.4
3号	№15	30	+1.1	17.0	1.8	1.3	0.8	32.6

表5 中間規模醸造試験 (香気成分) (ppm)

醪順号	酵母	酢酸エチル	n-ブチanol	i-ブチanol	酢酸イソアミル	i-アミルアルコール	カプロン酸エチル
1号	AK-1	99.9	61.1	48.6	7.9	170.6	2.7
2号	№12	104.2	62.2	69.7	8.0	185.0	3.3
3号	№15	61.3	47.0	33.2	3.5	116.7	6.3

酵母開発メンバー13名で5点法(1:良~5:悪)で官能試験を行った結果を表6、短評を表7に示した。評点の平均値は、AK-1の2.69に比べ、№12酵母は2.08、№15酵母は2.54と両酵母とも高い評価となった。短評は、№12酵母は「バナナ様、スッキリ、軽快、後味良」、№15酵母は「吟香、華やか、メロン・洋ナシ様、酸良好」と、ほぼ目標とする酒質となった。

表6 中間規模醸造試験 (官能結果)

醪順号	酵母	評点(平均値)
1号	AK-1	2.69
2号	№12	2.08
3号	№15	2.54

表7 中間規模醸造試験 (短評)

醪順号	酵母	短評
1号	AK-1	立香あり、切れ良い、酸、立ち香、上品、軽快な香り、 甘くうまい、きれいな、エステル臭、爽快、軽快、やや硬い、苦味、渋味、荒い 含み良、後味渋い、おちついた香り、酢エチ、ややムレ香、味良、ブナン、つわり、酸はなれ、
2号	№12	バナナ様、スッキリ、軽快、後味良い、さらっと系、原酒様、味薄い?、苦渋有り、立ち香、上品、上立香あり、 味うすい、シャープさに欠ける、きれいな、やや酢エチ、火入れ後期待、やや酸味、切れあり、都会っぽい シャープ、清涼感、含み香、身薄?、秋上がり?上品、バランス良、リンゴ様、線細い
3号	№15	吟香、カブ高い、華やか、メロン・洋梨様、酸良好、ふんわり感、ざらつく、苦渋、 立ち香はで、濃厚味わい、すっきり、味やや重い、苦味、膨らみほしい、崩れ 酸味、香り高い甘い、カブ適度、やや紙様、雑味、

3. 現場醸造試験

1) 仕込内容

表 8 に示すように、A~J の 10 製造場、20 醪で現場醸造試験を行った。仕込内容は、№12 酵母は 9 場 12 醪（アルコール添加酒 5 醪、純米酒 7 醪）、№15 酵母は 3 場 6 醪（アルコール添加酒 2 醪、純米酒 4 醪）、№12 酵母と№15 酵母の混合仕込が 1 場 2 醪（純米酒）だった。特に、製造条件を指定しなかったため、原料米や精米歩合や仕込量などさまざまな仕込みがあった。

表 8 現場醸造試験（仕込内容）

試料	酵母名	酒類	製造場	原料米	精米歩合(%)	総米(Kg)
1	№12酵母 (9場) (12点)	アル添酒	B	麴:吟の精、掛:秋田酒こまち	麴55、掛58	800
2			I	出羽燦々、秋の精	50	1500
3			E	秋田酒こまち	45	3000
4			D	山田錦	41	750
5			E	山田錦	35	750
6		純米酒	A	秋田酒こまち	55	800
7			A	秋田酒こまち	55	800
8			C	秋田酒こまち	55	557
9			G	秋田酒こまち	55	900
10			G	秋田酒こまち	麴50、掛55	900
11			F	美山錦	50	900
12			H	もと・麴:吟の精、掛:めんこいな	50	900
13	№15酵母 (3場) (6点)	アル添酒	E	秋田酒こまち	45	3000
14		E	山田錦	35	750	
15		純米酒	G	秋田酒こまち	55	900
16			G	秋田酒こまち	麴50、掛55	900
17			J	秋田酒こまち	50	2000
18			E	秋田酒こまち	35	750
19	№12酵母	純米酒	B	麴:吟の精、掛:秋田酒こまち	麴55、掛58	800
20	混合発酵	純米酒	B	麴:吟の精、掛:秋田酒こまち	麴55、掛58	800

2) 上槽後成分

上槽後の一般成分と香気成分を表 9 と表 10 に示した。ほぼ中間規模醸造試験と同様の傾向となり、平均醪日数は、№12 酵母のアルコール添加酒で 31 日、純米酒で 27.4 日と、№15 酵母に比べるとやや長くなる傾向があった。酸度は、№12 酵母と№15 酵母共に 1.6~1.8 と適度な酸生成となった。

香気成分もほぼ中間規模醸造試験と同様の傾向となり、現場への技術移転の面から特に問題はないと考えられた。

表 9 現場醸造試験（上槽後成分）

酵母名	種類	仕込	醪日数 (日)	上槽時(アル添酒はアル添前)			
				日本酒度	アルコール(%)	酸度(ml)	アミノ酸度(ml)
№12酵母	アル添酒	4場5点	31.0	-0.6	16.9	1.6	1.1
	純米酒	5場7点	27.4	-0.6	17.0	1.8	1.3
№15酵母	アル添酒	1場2点	26.0	-1.1	17.3	1.8	1.0
	純米酒	3場4点	25.8	-0.8	17.6	1.7	1.3

表 10 現場醸造試験（香気成分）

(ppm)

酵母名	仕込		酢酸エチル	n-プロパノール	i-ブタノール	酢酸イソアミル	イソアミルアルコール	カプロン酸エチル
№12酵母 (9場12点)		平均	83.9	75.9	57.4	6.0	155.8	3.2
		最小	57.1	52.3	32.7	4.3	126.8	2.1
		最大	138.9	104.8	72.3	8.0	185.2	4.5
№15酵母 (3場6点)		平均	74.6	66.6	27.5	3.4	105.3	5.4
		最小	48.7	57.7	23.5	2.6	90.5	4.6
		最大	92.3	71.3	37.5	3.7	129.7	6.6

2) アンケート結果

№12 酵母について 10 社から回答を頂き、その結果、①切れは、普通（2 場純米酒で遅れ傾向）、酸度は普通からやや高め。②香りは、さわやか・軽快でバナナ様。③味は、軽快タイプで都会的、どちらかという使いやすい酵母。④高泡を形成しない。

№15 酵母については 4 社から回答を頂き、その結果、①高カプロン酸エチル酵母としては、切れは良好で酸度は高め。②香りは、華やか（メロン様・洋梨様）で膨らみあり。③味も良く、どちらかという使いやすい酵母。④高泡を形成する、泡無株を要望。などの意見を頂いた。特に、№15 酵母については、泡無株の要望が多かった。

4. №15 酵母から泡無株の取得

培養とフローズフローテーションを 20 回繰り返す、泡無株の分離を試みた。液部（残液）と泡部（廃液）の酵母数を分光光度計で吸光度（OD₆₆₀）で求めた。結果を図 3 に示した。

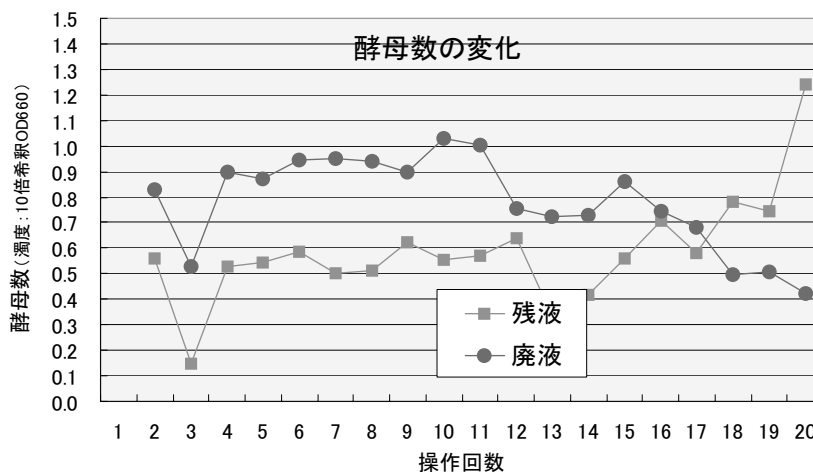


図 3 泡無株の分離

液部（残液）の吸光度が 14 回目付近から増加し、18 回で泡部（廃液）の吸光度を越えた時点で泡無株が取得されたと推察した。さらに 20 回までフローズフローテーションを継続した。

一次スクリーニングとして、泡無株と思われるシングルコロニーを 50 株釣菌し、アルコール脱水麴を用いた発酵試験¹¹⁾を行い、一般成分と香気成分から 20 株を選抜した。二次スクリーニングは、20 株について小仕込試験を行い、泡の形成、発酵力、香気成分、生酸性から最終的に№15 酵母の泡無株 1 株を選抜した。

№15 酵母の泡無株について、小仕込試験、中間規模醸造試験を行い、酒造適性に問題ないことを確認した。

5. 商品化

選抜した 2 株を「秋田酵母№12」と「秋田酵母№15」と命名し、平成 20 年 12 月から秋田県酒造協同組合から配布している。これら 2 種類の酵母は、個性豊かな市販純米酒を対象とした酵母であり、平成 21 年 6 月現在で「秋田酵母№12」を使用した商品は 16 社 20 アイテム、「秋田酵母№15」を使用した商品は 5 社 6 アイテムと好評を得ており、県内並びに首都圏へ秋田県産酒の需要開発を図っている。



秋田酵母№12 と秋田酵母№15 の商品

【 引用文献 】

- 1) S. ASHIDA, E. ICHIKAWA, K. SUGINAMI & S. IMAYASU : *Agric. Biol. Chem.*, 51(8), 2061-2065(1987)
- 2) 柳内敏靖, 清川良文, 若井芳則 : 醗酵工学, 67(1), 159-165(1989)
- 3) 秋田 修, 蓮尾徹夫, 原 昌道, 吉沢 淑 : 醗酵工学, 67(1), 7-14(1989)
- 4) 秋田 修, 井田哲郎, 小幡孝之, 原 昌道 : 醸協, 85(7), 501-505(1990)
- 5) 市川英治 : 醸協, 88(2), 101-105(1993)
- 6) K. FUKUDA, M. WATANABE, K. ASANO, H. UEDA & S. OHTA : *Agric. Biol. Chem.*, 54(1), 269-271(1990)
- 7) 吉田 潔, 稲橋正明, 野呂二三, 中村欽一, 野白喜久雄 : 醸協, 88(7), 565-569(1993)
- 8) 吉田 潔, 稲橋正明, 中村欽一, 秋山裕一, 野白喜久雄 : 醸協, 89(8), 647-651(1994)

- 9) 稲橋正明：醸協, 96(10), 679-687(2001)
- 10) 吉沢 淑：醸協, 68(1), 59-61(1973)
- 11) 斉藤久一, 渡辺誠衛、田口隆信、高橋 仁：醸協, 87(12), 915-921(1992)
- 12) 注解編集委員会編：第四回改定国税庁所定分析法注解, p7-p33, 日本醸造協会(1973)
- 13) 清酒酵母研究会編：改正 清酒酵母の研究, p219-p249, 清酒酵母研究会(1980)

マイタケ(*Grifola frondosa*)による 米飯テクスチャーの改良

大能俊久

(秋田県総合食品研究センター)

Toshihisa OHNO

【要 約】

マイタケ (*Grifola frondosa*) を使用した米飯テクスチャーの改良について検討を行った。マイタケを古米に対して 0.05%から 0.35%加えて水浸漬を 15 時間程度行うことで、米飯を軟らかくて粘りのある性状に変化させられることが分かった。このような変化は、プロテアーゼ活性が低減したマイタケには認められない。このことから、マイタケに含まれるプロテアーゼが米飯テクスチャーに関与すると推測した。

【緒 言】

米飯のおいしさには米飯の硬さや粘りなどの物性が大きく関与しているとされ¹⁾、日本では軟らかくて粘る米飯が一般的に好まれる²⁾。そして、古米は米飯が硬くて粘らないことから評価が低いとされる^{3),4)}。この古米の米飯テクスチャー改良法として、プロテアーゼを使用するものが報告されている⁵⁾。しかし、このプロテアーゼは微生物から採取し粗精製したプロテアーゼであり、安心や安全を志向する消費者からは敬遠されると考えられる。一方、炊き込み飯等でご飯と一緒に食されるマイタケは強力なプロテアーゼを持っていることが報告されている⁶⁾⁻⁸⁾。食材であるマイタケを使用して古米の米飯テクスチャーが改良できるのであれば消費者は受け入れ易いと考えられる。そこで、マイタケによって米飯テクスチャーの改良ができるのかを調べた。併せて、その機構についても一部検討を行った。

【実験方法】

1. マイタケで浸漬した米飯テクスチャーの測定

試料として、あきたこまちの BG 無洗米をアルミパウチ中で 30℃ 5 ヶ月貯蔵して古米化させた米を使用した。米飯の調製方法は、まずマイタケ乾燥粉碎品（乾燥マイタケ）を、米 10g に対して 0、5、35mg 添加して、蒸留水 16mL を加え、1、または 15 時間室温で浸漬した。米あたりのマイタケ添加量は、それぞれ 0、0.05、0.35%となる。浸漬終了後、20mL の蒸留水で 3 回米を洗浄した後、米と蒸留水を合わせて 26g としてプリンカップに入れ電気炊飯器（松下電器製 SR-W100）で炊飯した。30 分蒸らした米飯をシャーレに移して約 90 分静置した。その後テンシプレッサー（タケトモ電

機製 TTP-50BX II 型) を使用して米飯テクスチャーの測定を行った。米飯粒 1 粒ずつについて、元の高さの 10% まで 2mm/s の速度で圧縮を行い、最圧縮点で 0.1 秒の停止時間を取り、その後 2mm/s の速度で引張りを行った。圧縮荷重の最大値を硬さ、引張り荷重の最大値を粘りとし、粘りを硬さで割った値をバランス度とした。

マイタケに含まれるプロテアーゼは、通常の熱処理では失活しにくい⁸⁾。そこで、特殊な熱処理⁹⁾を行い、プロテアーゼを低減したマイタケ粉碎品(熱処理マイタケ)についても 35mg 添加して 15 時間浸漬し、米飯テクスチャーの測定を同様に行った。熱処理マイタケではプロテアーゼ活性が 10% 以下に低減しているのに比べ、乾燥マイタケはプロテアーゼ活性がほとんど残っていると考えられる。いずれの試験区も、米飯粒 30 粒以上について測定した。

2. マイタケ浸漬によって可溶化するタンパク質由来物量の測定

米飯テクスチャーの測定と同様の条件で古米を浸漬し、1、または 15 時間浸漬後に浸漬液を回収して、12000rpm10 分遠心した上清を元素分析装置(住化分析センター製スミグラフ NCH-21)用セルに採取し乾燥した。そのセルを元素分析装置により燃焼させて窒素量を定量し¹⁰⁾、その値にタンパク質換算係数 5.95 をかけて可溶化するタンパク質由来物量とした。なお、乾燥マイタケや熱処理マイタケ浸漬の場合は、マイタケ由来の窒素量を差し引いた値とした。

3. 有意差の検定

各測定値間の有意差の検定は、スチューデントの t 検定、またはテューキーの多重比較法 ($p < 0.05$) により行った。可溶化タンパク質由来物量と米飯のバランス度の相関関係の検定は、ピアソンの相関係数法によった。

【結果と考察】

1. マイタケを添加した場合の米飯テクスチャー

あきたこまち古米を乾燥マイタケ 35mg とともに 1 時間浸漬した場合の米飯テクスチャーを表 1 に示す。乾燥マイタケを添加した場合は、無添加に比べて米飯の硬さがやや減少し、粘りとバランス度がやや上昇したものの、硬さ、粘り、バランス度ともに無添加との間に有意差は認められなかった。また、マイタケとともに浸漬した米飯は、若干茶色味を帯びておりマイタケ由来の臭いもした。これらは 15 時間浸漬した場合にも認められた。

15 時間浸漬した場合は、乾燥マイタケ 5mg 添加、35mg 添加ともに無添加に比べて有意にバランス度が上昇し、乾燥マイタケ 35mg 添加では無添加に比べて有意に軟らかくもなっていた(表 2)。一方、熱処理マイタケ 35mg 添加では、無添加に比べて有意な変化はなかった。

以上のことから、古米に対して乾燥マイタケを 0.05% から 0.35% 添加して 15 時間程度の浸漬をすることで米飯のバランス度が有意に上昇すること、軟らかくて粘りのある性状に改良することが分かった。また、乾燥マイタケで長時間浸漬した場合のみ米

表1 マイタケと1時間浸漬した場合の米飯テクスチャー

マイタケ添加量	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	35.0±4.1	9.15±0.48	0.265±0.032
乾燥マイタケ 35mg	33.8±4.8	9.33±0.60	0.281±0.042

スチューデントのt検定により有意差を検定したところ、危険率5%でいずれも有意差が認められなかった。

表2 マイタケと15時間浸漬した場合の米飯テクスチャー

マイタケ添加量	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	33.4±4.7 bc	9.32±0.62 a	0.284±0.038 a
乾燥マイタケ 5mg	31.8±3.6 b	9.69±0.53 b	0.309±0.044 b
乾燥マイタケ 35mg	27.5±3.5 a	9.39±0.49 ab	0.347±0.040 c
熱処理マイタケ 35mg	35.5±3.5 c	9.46±0.47 ab	0.269±0.033 a

チューキーの多重比較法によって有意差 ($p < 0.05$) を検定した。共通の英小文字を含まない測定値の間には有意差がある。

飯テクスチャーが改良し、熱処理マイタケでは長時間浸漬しても改良しない。乾燥マイタケではプロテアーゼ活性がほとんど残っており、熱処理マイタケでは低減していると推測できることから、マイタケに含まれるプロテアーゼが米飯テクスチャーに関与している可能性がある。

2. マイタケ浸漬によって可溶化するタンパク質由来物量の変化

浸漬時にプロテアーゼが働いた場合、米粒中のタンパク質が分解し低分子化して浸漬液中に溶け出すと考えられる。そして、プロテアーゼ活性が高いほど可溶化するタンパク質由来物量は多いと考えられる。そこで、可溶化するタンパク質由来物の量を調べた(表3)。

古米を1時間浸漬した場合、マイタケ無添加では13mg、乾燥マイタケ35mg添加では32mgであった。浸漬時間を15時間に延長することで、マイタケ無添加は34mg、乾燥マイタケ5mg添加は54mg、乾燥マイタケ35mg添加は115mgとなり、1時間浸漬に比べて増加した。一方、熱処理マイタケ35mg添加では36mgであり、無添加と

表3 浸漬により可溶化するタンパク質由来物量

浸漬時間	マイタケ添加量	タンパク質由来物量 (mg/100g米)
1時間	0	13
	乾燥マイタケ 35mg	32
15時間	0	34
	乾燥マイタケ 5mg	54
	乾燥マイタケ 35mg	115
	熱処理マイタケ 35mg	36

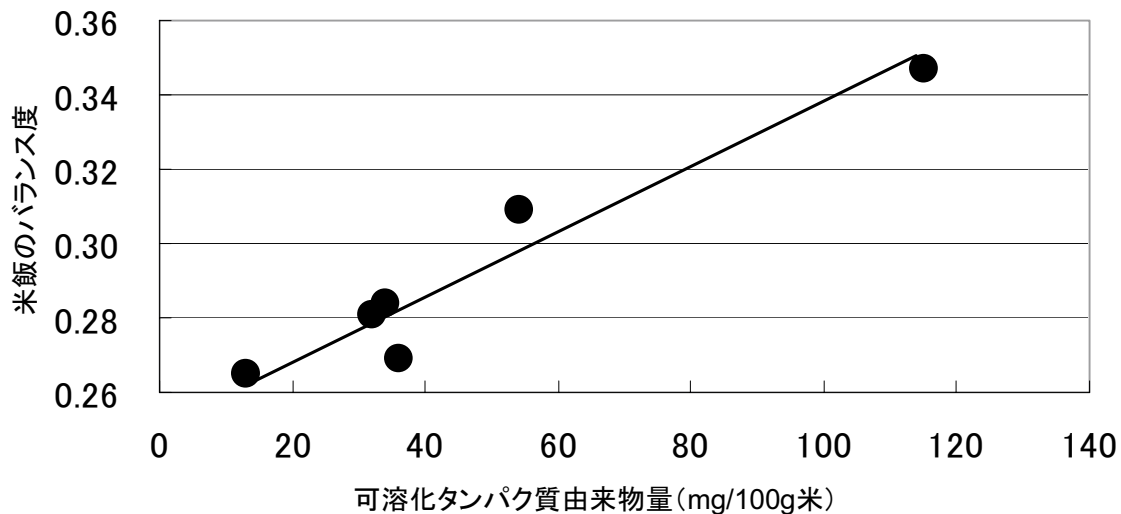


図1 可溶化タンパク質由来物量と米飯のバランス度の相関

ほぼ同じ値であった。乾燥マイタケ 15 時間浸漬では、マイタケに含まれるプロテアーゼが長時間にわたって作用し、米タンパク質が分解して浸漬液中に溶出したために増加したと考えられる。このことは、米粒を基質として乾燥マイタケはプロテアーゼ活性が高く、熱処理マイタケはプロテアーゼ活性が低いことを示している。

可溶化したタンパク質由来物量と米飯のバランス度の相関を調べてみた (図 1)。相関係数は 0.965 で 1% の危険率で相関が認められた。可溶化タンパク質由来物量と米飯のバランス度に相関が認められたことから、マイタケに含まれるプロテアーゼが米飯テクスチャーを改良した可能性がある。また、それに加えて、可溶化するタンパク質由来物量が米飯のバランス度や米飯テクスチャーの指標になりうる場合があることが示された。

【引用文献】

- 1) 谷達雄, 吉川誠次, 竹生新治郎, 堀内久弥, 遠藤勲, 柳瀬肇, 栄養と食糧, **22**, 452-461(1969).
- 2) 岡部元雄, *New Food Industry*, **19**(4), 65-71(1977).
- 3) 渋谷直人, 岩崎哲也, 柳瀬肇, 竹生新治郎, 日食工誌, **21**, 597-603(1974).
- 4) 豊島英親, 木村俊範, 吉崎繁, 藤井幸代, 岡留博司, 塚根保夫, 盛田正樹, 田嶋義三, 大坪研一, 食科工, **45**, 683-691 (1998).
- 5) Watanabe, M., Arai, E., Honma, K. and Fuke, S., *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2725-2731(1991).
- 6) 木元幸一, 林あつみ, 草間正夫, 菅原龍幸, 青柳康夫, 栄食誌, **47**, 43-48 (1994).

- 7) 瀬口正晴, 森本直明, 阿部誠, 吉野世美子, *New Food Industry*, **44**(7), 7-11 (2002).
- 8) Nonaka, T., Ishikawa, H., Tsumuraya, Y., Hashimoto, Y., Dohmae, N. and Takio, K., *J. Biochem.*, **118**, 1014-1020(1995).
- 9) 加賀屋明良, 井上俊三, 高橋砂織, 高橋慶太郎, 佐藤君蔵, 日本特許第 3874178 号
- 10) 大能俊久, 熊谷昌則, 堀一之, *食科工*, **47**, 37-40 (2000).

2. 原著論文（研究ノート）

- ① 「乳酸菌の神経成長因子様活性」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 29
戸松 誠、木村貴一、戸枝一喜*
（*東京農業大学生物産業学部）

乳酸菌の神経成長因子様活性

戸松 誠*、木村貴一*、戸枝一喜**

(*秋田県総合食品研究センター、**東京農業大学生物産業学部)

Makoto TOMATSU, Kiichi KIMURA, and Kazuki TOEDA

【要約】

痴呆症等の治療にも有用とされる神経成長因子と同様の活性を示す成分を白神山地から分離した乳酸菌の培養液中に見いだした。この成分は、熱失活しない低分子物質で、比活性は陽性対照としたカルノシン酸よりも高かった。さらに、本菌株はヨーグルトを作ることができ、そのヨーグルト中にも同活性成分を生産していることがわかった。

【緒言】

高齢化社会への移行に伴って老年型痴呆症、なかでも脳器質性障害が増加する傾向にあり、非常に大きな社会問題となってきた。脳器質性傷害は、原因の違いにより脳血管性痴呆症、およびアルツハイマー型痴呆症に分類される。現在、脳血管性痴呆症に対しては、脳血管拡張薬などがある程度の効果を示すことが知られている。しかし、アルツハイマー型痴呆症に対しては、その発症機序はまだ完全には解明されておらず、国内で承認されている治療薬は現在、1つしかない。そのため、老年型痴呆、特にアルツハイマー型痴呆症に対して有用な医薬品の開発が所望されている。

近年は、神経細胞から分泌される神経成長因子 Nerve growth factor (NGF) などの神経栄養因子が加齢に伴う神経変性疾患に対して可能性のある治療剤として報告され¹⁾、注目を集めている。NGF は、神経組織の成長および機能維持にとって重要かつ不可欠な因子である。さらに、NGF は、パーキンソン病などの神経変性疾患に対しても有効であることが示唆されている。これにより、生体内の NGF レベルを上昇させることは、痴呆症、中枢機能障害等の治療にも有用であると考えられている。NGF はまた、他の神経栄養因子と同様に、歯周病と歯髄疾患の治療剤²⁾、肥満症治療剤³⁾、養毛化粧品⁴⁾ としての利用可能性が報告されている。

しかし、NGF の大量調製は困難であることから、NGF 自体の使用には多くの課題があり、一般に NGF 自体を臨床で用いることは非常に困難である。そこで、NGF と同様の活性を示す成分を自然界から探索する研究が多数報告されている。なかでも生体に対して安全性を高めるという観点から、食品にも利用される植物由来の抽出物を用いた報告として、ミカン科植物由来の poly alkoxy flavonoid 類⁵⁾、ローズマリー由来のカルノシン酸⁶⁾ がある。これらの使用は、生体に対して副作用予防の点で有用であるものの、こうした植物抽出物は一年を通じての生産量・収穫量の確保等が必ずし

も安定していないので、同等またはそれ以上の NGF 様活性を有する他の安全な供給源として天然物のバリエーションの拡大が望まれる。

このような観点から、例えば、この活性を有する成分を生産する微生物を探索することは有用であり、既に酵母 *Candida antarctica* の細胞外糖脂質成分が NGF 様活性を示すことが報告されている⁷⁾。この成分は、機能性両親媒性物質（バイオサーファクタント）の一種である mannosylerythritol lipids である。また、酵母（*Saccharomyces* 属、*Candida* 属、*Kluyveromyces* 属）抽出分画物の脳機能改善剤⁸⁾、および乳酸菌発酵乳、乳酸菌と酵母の共生発酵乳が脳機能改善作用等を有する⁹⁾ことが開示されている。しかしながら、これらの報告での脳機能改善作用を有する成分は特定されておらず、またこれらが NGF 様活性を示すかどうかも明らかにされていない。

本研究では、乳酸菌 *Lactococcus lactis* の培養液中に NGF 様活性成分が存在することを明らかにし、さらにこの乳酸菌を用いた発酵食品中にもこの活性が存在していることを述べる。

【実験方法】

1) 乳酸菌の分離・同定

本菌株は、秋田県山本郡八森町（現在の八峰町）の世界自然遺産「白神山地」緩衝地域より所管官庁の許可を得て採取した腐葉土 0.1g を、生理食塩水中に懸濁し、この懸濁液 1ml を、1%寒天を含む *Lactobacilli* MRS 培地（Difco）20ml で混釈し、30℃で 3 日間培養し純粋に分離・取得した。

乳酸菌の同定は、16S rDNA の塩基配列相同性比較と糖質資化性試験により行った。16S rDNA は、*E. coli* において保存性の高い領域¹⁰⁾から構築したプライマーを用いたコロニーダイレクト PCR で、およそ 1,500bp を取得し、解読した塩基配列を Fasta および Blast をもちいて相同性比較を行った。糖質資化性試験は、API 50 CH / CHL（日本ビオメリュー）を用いて行った。

2) NGF 様活性の測定方法

ウマ血清 1%、ウシ胎児血清 0.5%を含む DMEM 培地に PC12 細胞（ラット副腎髄質褐色細胞腫由来）を 1×10^4 細胞/ml になるようにコラーゲンコートされた 96 穴マイクロプレート（Greiner）に 90 μ l ずつ播種し、37℃、5%CO₂ 条件下で培養した。1 日後、被検物質 10 μ l を添加し培養を続けた。経時的に細胞を倒立顕微鏡にて観察し、神経突起の長さが細胞の長径以上になった細胞数の視野全域の細胞数に対する割合を算出し、NGF 様活性とした。

3) NGF 様活性画分の調製

分離した乳酸菌のうち、最も活性の高い No. 3463 aH 株について、以下検討した。グルコース 10%、ペプトン 1%、酵母エキス 0.5%から成る培地に接種し、30℃で 2 日間回転培養した。培養液を一部取り、公称分画分子量 3,000 の遠心式限外濾過膜（Centricon 3, Millipore）にて分画した。さらに、分子量 3,000 以下の画分については、100℃、5 分間の加熱処理を行い、熱安定性を調べた。培養液の一部はまた、Sep-Pak

C18 (Waters) に供し、水で洗浄後、20, 50, 100%メタノールで順次溶出液を集め、活性を測定した。活性画分はエバポレーターで濃縮乾固させ、比活性を陽性対照のカルノシン酸 (Sigma、純度 91%以上) と比較した。

4) ヨーグルトの NGF 様活性

市販の脱脂粉乳、または豆乳に乳酸菌を接種し、25°Cで数日間静置し、ヨーグルト様のゲル状に変化するか観察した。その後、カードについては、水を加えてホモジナイズした後の遠心分離上清を試料溶液とした。乳清は、直接、試料溶液とした。それぞれを上記の方法に準じて Sep-Pak C18 による分画を行い、活性を測定した。

【結果と考察】

分離した乳酸菌のいくつかに NGF 様活性が認められたが、最も活性の強かったのは No. 3463 aH 株であった。この株は、塩基配列相同性比較と糖質資化性試験より *Lactococcus lactis* と同定された。また、他の活性を有する株のいくつかも同種と推定された。この株の培養液中に認められる本活性成分は熱失活せず、分子量 3,000 以下の水溶性低分子物質と考えられた。また、Sep-Pak C18 に吸着し、メタノールで溶出されることがわかった (図 1)。この時、メタノール濃度 20、および 100%で溶出される画分に活性があることから、複数の活性成分が存在していると考えられる。最も比活性の強かったのは 100%メタノール溶出画分で、カルノシン酸と同等以上の活性を示した (図 2)。表 1 に性質をまとめた。

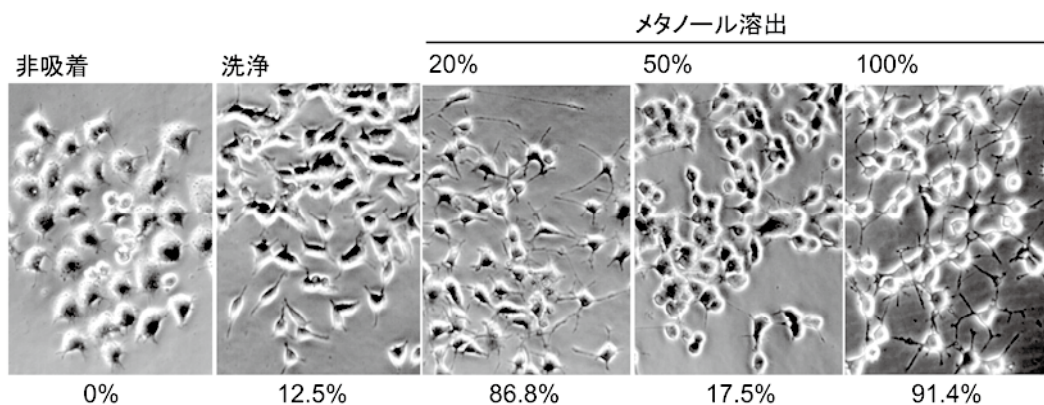


図1 NGF 様活性成分の Sep-Pak C18 による分画

下段の数値は、神経突起を伸長させた細胞の割合

次いで、本菌株を用いた発酵食品としてヨーグルトを選び、活性の有無を調べた。本菌株を接種した牛乳、豆乳ともに数日でゲル状に変化したことから、ヨーグルトを作る能力があることがわかった。できたヨーグルトのカードについては Sep-Pak C18 の 100%メタノール溶出画分に、また乳清については同 20%画分に、活性が認められた。今後、活性成分の単離・同定や、他の発酵食品・医薬品素材等への展開に興味もたれる。

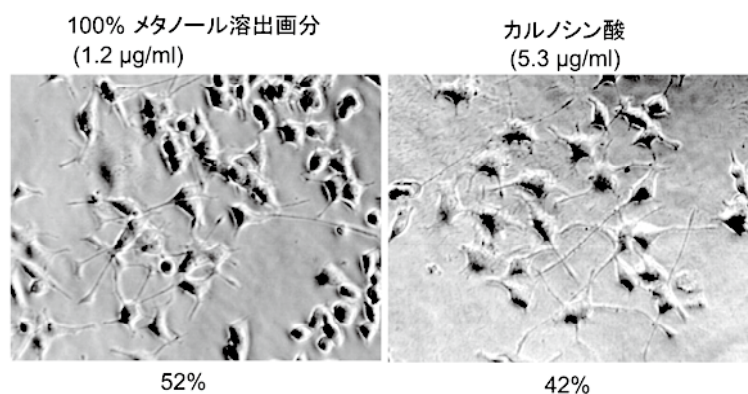


図2 NGF 様活性成分の比活性の比較

下段の数値は、神経突起を伸長させた細胞の割合

表1 *L. lactis* 3463 aH 株の NGF 様活性成分の性質

熱安定性	あり(100°C, 5min で失活せず)
分子量	3,000 以下
可溶性	水, メタノールに可溶
Sep-Pak C18 吸着性	あり(メタノール 20, および 100%で溶出)

【謝辞】

乳酸菌の培養、保存等していただいた保莉美佳氏に感謝いたします。また、討議・助言をいただいた塚本研一博士、大能俊久博士、高畠 聡氏に感謝いたします。

【引用文献】

- 1) B. Conor, M. Dragunow, The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain. *Brain Res. Rev.*, **27**, 1-39 (1998)
- 2) 再公表特許 W02005/025605
- 3) 特開平 10-279500
- 4) 特開平 11-255623
- 5) 特開 2002-060340
- 6) 特開 2007-230945
- 7) H. Isoda, H. Shinmoto, M. Matsumura, T. Nakahara, The neurite-initiating effect of microbial extracellular glycolipids in PC12 cells. *Cytotechnology*, **31**, 163-170 (1999)
- 8) 特開 2005-213205
- 9) 特開平 9-023848
- 10) K. Mori, K. Yamazaki, T. Ishiyama, M. Katsumata, K. Kobayashi, Y. Kawai, N. Inoue, H. Shinano. Comparative sequence analysis of the genes coding for 16S rRNA of *Lactobacillus casei*-related taxa. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **47**, 54-57 (1997)

3. 総説

- ① 「フキノトウの抗肥満効果に関する研究」・・・・・・・・・・ 33
渡辺隆幸

- ② 「清酒醸造における蒸米タンパク質の酵素分解に関する研究」・・・・・・・・ 47
高橋仁、伊藤俊彦*、佐藤勉**、岩野君夫*
(*秋田県立大学生物資源科学部、** (株) 秋田今野商店)

フキノトウの抗肥満効果に関する研究

渡辺隆幸

1. フキノトウおよびフキについて

フキ (*Petasites japonicus*)^{1,2)}は、キク科フキ属に属する日本原産の山菜・野菜であり、日本および朝鮮、中国に分布する雌雄異株の多年草である。早春に咲く花のつぼみはフキノトウと呼ばれ、この花茎は葉柄とともに食用にされており、「フキノトウ味噌」などの形態で食されている。秋田県では昭和29年に「県の花」：秋田を象徴する花として選定されている。フキの近縁種は西洋においては頭痛の緩和効果など、その薬用効果が研究されている。日本においてもフキノトウは古くから鎮咳などの効果があるとされているものの、近年の薬学的または栄養学的研究は極めて少なく、フキノトウと肥満に関する研究例は皆無である。

2. フキノトウの *in vitro* における抗肥満効果の検証

肥満とは組織的にみると脂肪細胞が大量の脂肪を蓄積し、肥大化した状態のことを示す。細胞レベルにおいては脂肪組織内で繊維芽状の前駆脂肪細胞が脂肪細胞に分化することにより脂肪細胞の数、およびサイズの増加が生じ肥満が発生すると定義される。よって前駆脂肪細胞からの脂肪細胞への分化抑制は抗肥満効果をもたらすことが期待される。マウス由来脂肪細胞3T3-L1細胞を用いてフキノトウの抗肥満効果を検討した。

フキノトウエキス作成

2007年5月、秋田県秋田市雄和において自生するフキ (*Petasites japonicus*) の花つぼみ、すなわちフキノトウを採集した。フキノトウを洗浄、凍結乾燥にかけ、ミルにより粉末化を行った。200g ずつの粉末をそれぞれ5倍量のエタノール、もしくは水により沸騰条件下にて抽出し、抽出液を乾固させた。その結果32gのエタノール抽出エキス (PJET) と64gの熱水抽出エキス (PJHW)を得た。



Fig.1 秋田県内に自生するフキノトウ
(秋田市、雄和、高尾山 2007年5月撮影)

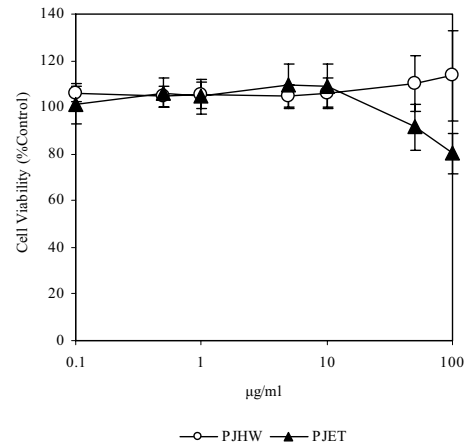


Fig.2 Cell viability of
P. japonicus extract

フキノトウ抽出エキスの細胞毒性

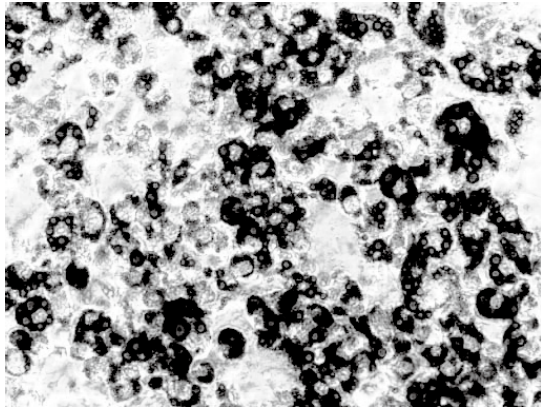
3T3L-1細胞を96ウェルプレートで培養、コンフルエントとなったからサンプルを添加、2日後、培養を終了しフキノトウエキスを加え、細胞の活性 (Viability) を細胞増殖試薬 WST-1 (ロシュ、ダイアグノスティックス社) により測定した結果を Fig. 2 に示した。フキノトウ抽出エキスのうちエタノール抽出エキス (PJET) は極めて高濃度では細胞活性を弱めたが、熱水抽出エキスは全く細胞活性を低めることはなかった。今回の結果からフキノトウのエキスの細胞毒性は非常に弱く、3T3L-1細胞に損傷を与える可能性は極めて低いといえる。

3T3-L1細胞観察結果

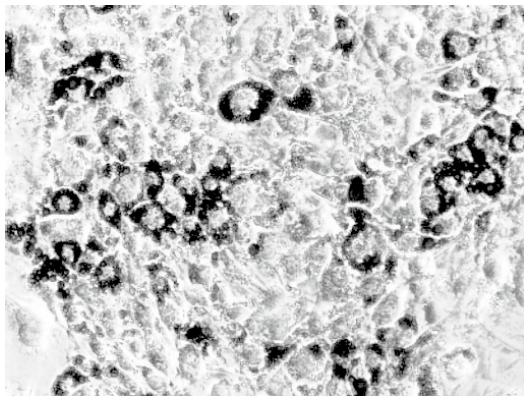
3T3L-1細胞の脂肪細胞への分化能の高い株を得るためのスクリーニングを実施、選択した分化能の高い株を用いて、フキノトウの抗肥満効果を調べた。フキノトウ抽出エキスを添加した結果、脂肪細胞の分化抑制が明確に認められた。(Fig. 3) 特にPJETを添加した場合、顕著に抑制された。一方PJHWの抑制効果は微弱であった。

脂肪蓄積量の比較

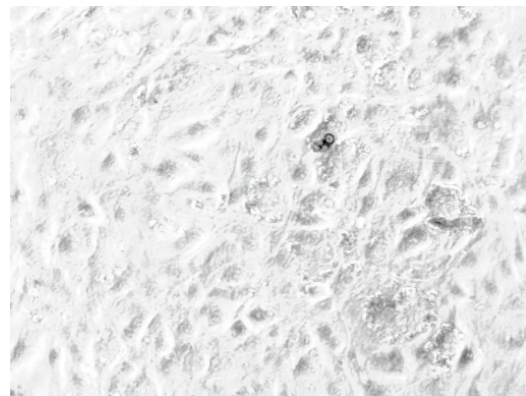
分化後オイルレッドOにより染色、その後、色素を抽出して脂肪蓄積量を比較した結果、(Fig. 4)、PJET 10 µg/ml 添加で脂肪蓄積量が50%以下に低下することが認められた。



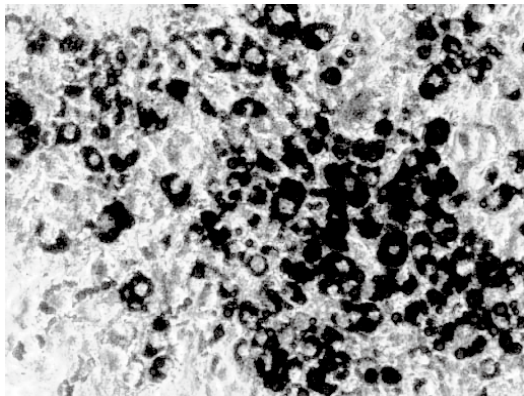
対照 (溶媒 20%エタノール 添加)



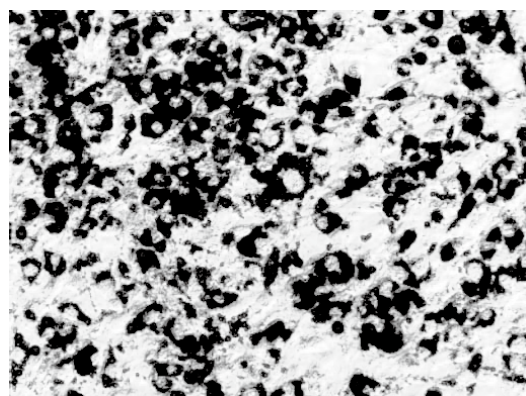
PJET (5 μg/ml 添加)



PJET (10 μg/ml 添加)



PJHW (5 μg/ml 添加)



PJHW (10 μg/ml 添加)

Fig. 3 フキノトウ抽出エキスの 3T3-L1 脂肪細胞分化抑制

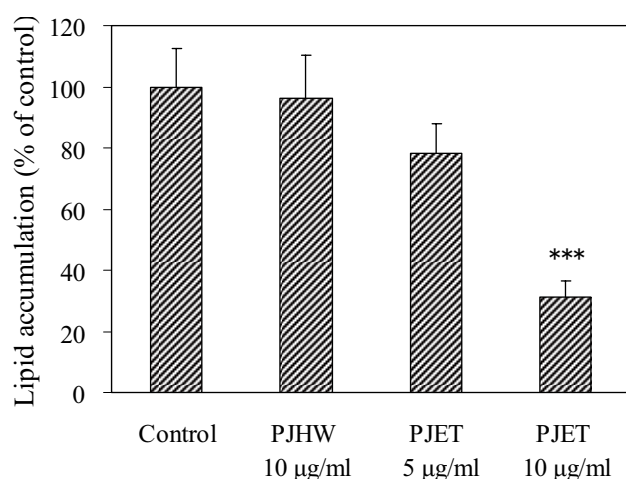


Fig. 4 Effects of *P. japonicus* extract on 3T3-L1 cell intracellular lipid accumulation.

3T3-L1 cells were cultured in maturation medium with vehicle (20% ethanol, final concentration 0.2%) (A), 5 µg/ml PJET (B), or 10 µg/ml PJET (C) for 7 days, and stained with oil red O (bar:100 µm). Oil red O stained lipid droplet accumulation, which is expressed relative to control cells and shown as the mean ±S.D. (n=6) (D). Asterisk indicates significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) from the control.

GPDH 活性の評価

GPDH 活性 (グリセロール 3 リン酸脱水素酵素) は、ジヒドロキシアセトンリン酸から中性脂肪の合成に必要なグリセロール 3-リン酸を生成する酵素である。GPDH 活性はグルコースからの脂肪合成で起こる前駆細胞の脂肪蓄積にともない上昇することが知られており、脂肪細胞分化の重要な示標の一つである³⁾。GPDH 活性は分化初期に徐々に増加し、分化終了後は徐々に減少をする。今回の実験では誘導培地での 2 日間の培養を経過後、成熟培地培養 4 日目に GPDH 活性を測定した。Fig. 5 にその結果を示した。PJHW5 µg/ml あるいは 10 µg/ml 添加では GPDH 活性に変化が認められなかったが、PJET の添加 5 µg/ml 以上すなわち 5 µg/ml と 10 µg/ml 添加では極めて高い有意の活性低下を認めた。($p < 0.001$) この結果より、極めて重要な脂質合成酵素、GPDH 活性を PJET が低下させることを明確に認めた。

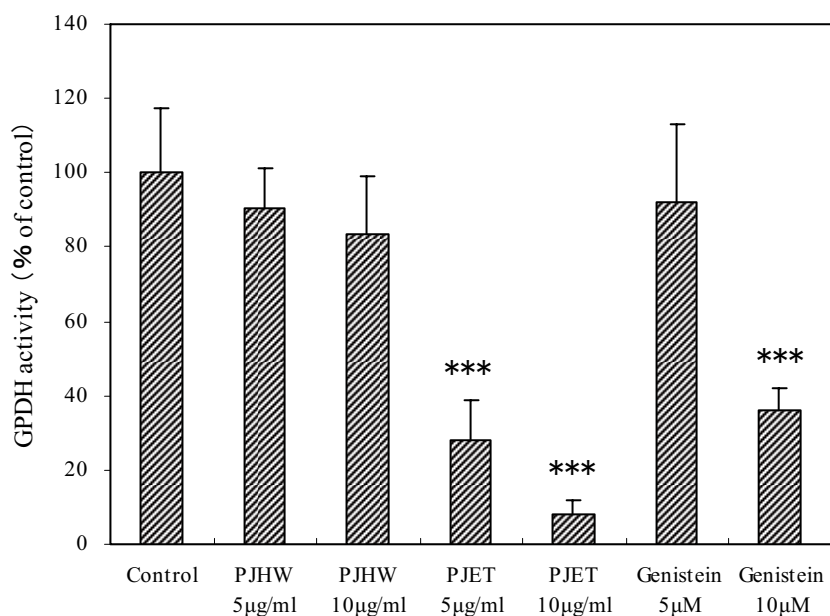


Fig.5 Effect of *P. japonicus* extract on GPDH activity

3T3-L1 adipocytes were incubated in maturation medium with vehicle, PJHW or PJET, and harvested 4 days after the initiation of differentiation. GPDH activity extracted by sonication was measured spectrophotometrically by the change in absorbance at 340nm of dihydroxyacetone phosphate. GPDH activity was expressed as mU/mg protein, where 1mU is the oxidation activity of 1nM NADH/min. Values are the mean \pm SD (n=4). Asterisk indicates significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) from the control.

転写因子、脂肪酸合成酵素およびサイトカイネース

前駆脂肪細胞の分化は様々な因子の複合的な展開によって進展するが、その最初期に細胞内情報伝達経路の活性化を行う転写因子の発現により引き起こされる⁵⁾。経路の活性化には3つの転写因子すなわちPPAR γ 、C/EBPファミリー (C/EBP α 、C/EBP β および C/EBP δ)、ADD1/SREBP-1c (adipocyte determination and differentiation factor 1)が直接的に関与していることが知られている⁶⁻⁸⁾。そのため脂肪細胞分化の過程の初期段階でPPAR γ ファミリー、C/EBPファミリー、SREBP-1cの遺伝子発現が認められる⁵⁾。発現したPPAR γ はC/EBP α の発現を引き起こすとされている。これらの転写因子PPAR γ とC/EBP α は最終的な脂質生成を統括しているといわれている。3つの転写因子：PPAR γ 、C/EBP α 、SREBP-1c

は脂肪細胞の分化の過程において主要で極めて重要な働きをしている。また脂肪酸構成酵素 FAS (fatty acid synthetase) は直接、脂肪合成に関与する主要な酵素である。レプチンは脂肪細胞から分泌されるが、生体の糖の取り込みと消費の制御に重要な役割を果たすペプチドで食欲の調節を行う重要なサイトカインース (ホルモン) である。

以上の転写因子、脂肪合成酵素、サイトカインースの発現量にフキノトウエキスが与える影響を調べるために分化誘導後 3T3-L1 細胞に PJET 5 μ g/ml を添加、分化誘導 4 日目に細胞で発現した RNA を cDNA に転写、RT-PCR により測定した。対照は溶媒のみを添加して同様に操作した。ハウスキーピング遺伝子として β アクチンを用いて各 RNA の発現量を相対値として求めた結果を Fig. 8 に示した。PJET 添加区の転写因子は対照と比較して SREBP-1c が有意に低下していることを認めた ($p < 0.05$)。さらに PPAR γ , C/EBP α は PJET の添加により極めて明瞭な発現量の低下が認められた ($p < 0.001$)。これらの結果により PJET による前駆脂肪細胞の分化抑制は分化初期において転写因子発現減衰によってなされていることが示唆された。また FAS の RNA 発現量も極めて明確に低下していることを認めた。レプチンの RNA 発現量は対照と比較して有意な差を認めるに至らなかった。

以上の結果より PJET の脂肪細胞分化に関する転写因子の発現抑制効果および脂肪合成酵素の発現抑制効果が明らかになった。フキノトウの脂肪細胞分化抑制効果については従来の報告例はなく、最初の報告である。なお茶カテキンの脂肪細胞の分化抑制が PPAR γ , C/EBP の発現抑制によることが報告されている⁹⁾。フキノトウの抑制作用は茶カテキンの抑制作用と共通する点があるといえる。

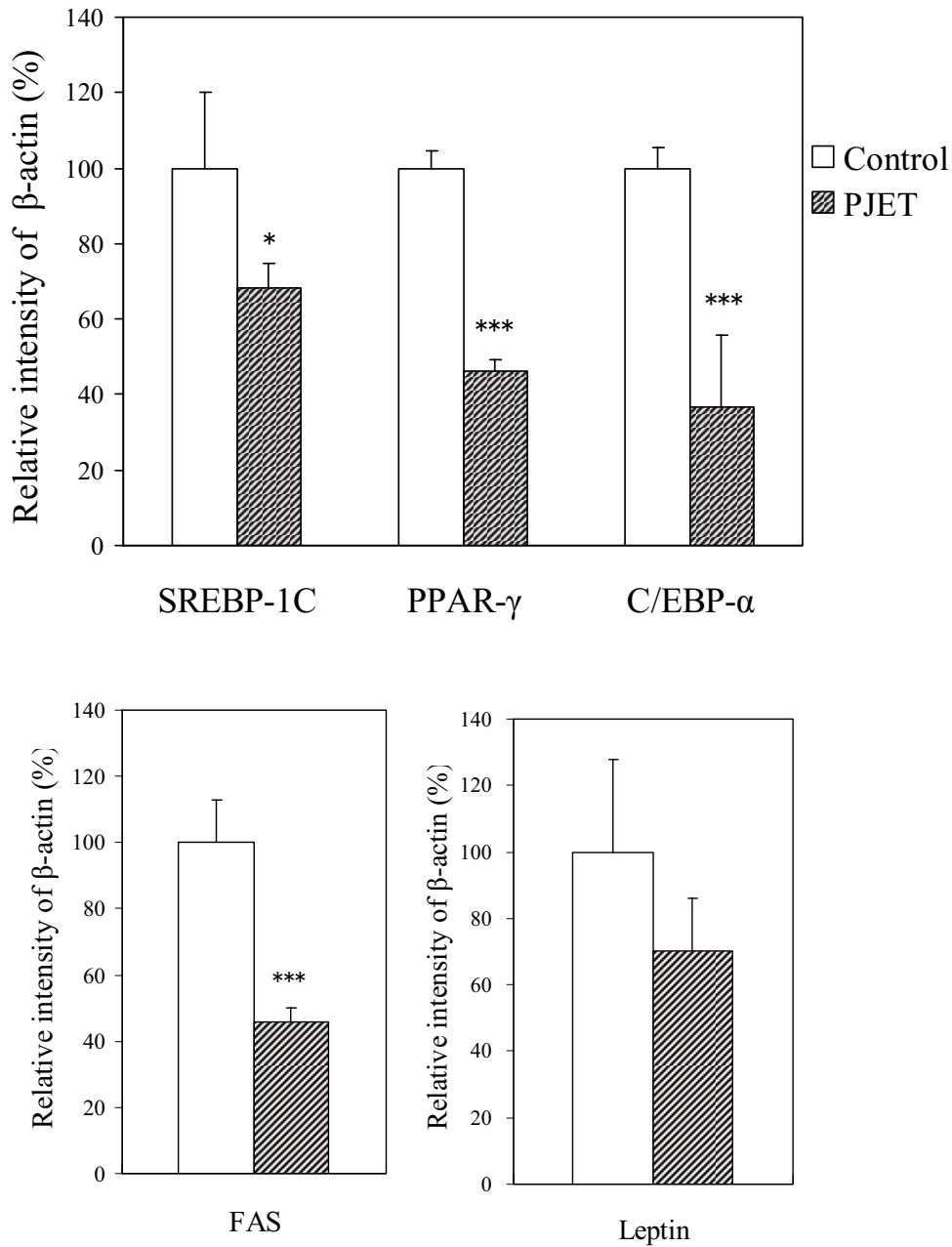


Fig. 8 mRNA expression of adipogenic transcription factors, enzymes, and cytokines in 3T3-L1 cells.

3T3-L1 cells were in maturation medium without (□) or with 5 μg/ml PJET (■) for 4 days. Graphs show the mRNA expression of adipogenic transcription factors (A), adipogenic enzymes (B), and adipocytokines (C). Data are expressed relative to control cells and are the means ± S.D. (N=4). Asterisk indicates significantly different (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) from the control

3.フキノトウの in vivo における抗肥満効果の検証

高脂肪食摂食マウスを用いた動物実験によりフキノトウの抗肥満効果について検討した。食餌由来の肥満マウスに対するフキノトウエキスの効果を確認するため、体重の測定のみならず脂肪組織重量の測定、さらに血液中のパラメーターの測定を実施した。

C57BL/6J マウスの体重および組織重量の比較

日本チャールズリバー社から入手した 21 匹の C57BL/6J マウスを用いて実験を行った。飼育条件は室温：23 ± 2° C、湿度：55 ± 10%、照明時間：7:00-19:00 点灯、換気回数：10-15 回/時間 30%フレッシュエアー方式で実施した。予備飼育期間は 1 週間でその間の飼料は固形通常飼料 CE-2（日本クレア株式会社）を用いた。予備飼育後、ランダムに 7 匹ずつ 3 グループに分け、3 週間の本飼育を実施した。各グループは同一の飼育ゲージ（ポリカーボネート樹脂製、日本クレア株式会社）に 7 匹ずつ入れて飼育した。本飼育の飼料は通常食区（ND）：固形通常飼料 CE-2、高脂肪食区（HFD）：高脂肪飼料、高脂肪食＋フキノトウエタノールエキス添加区（HFD+EE）：1 %PJET を含む高脂肪飼料をそれぞれ自由摂食させて飼育した。飼料摂取量は各グループすなわちゲージごとに毎日測定した。そのため摂食量についての統計的な解析は実施しなかった。体重重量は個体ごとに毎日測定した。本飼育期間終了後、16 時間の絶食を経て、動物を全採血による安楽死をさせて解剖し、肝臓、腸管膜脂肪組織および精巣周囲脂肪組織を採取して重量を測定した。全採血はヘパリン処理血液として採取した後に血漿分離を行い生化学的な分析を行った。なお本動物実験は秋田県総合食品研究所倫理委員会の承認を得て、その監督下で実施した。

試験で設定した 3 つのグループ、通常食グループ（ND）、高脂肪食グループ（HFD）、高脂肪＋フキノトウエタノールエキス添加食グループ（HFD+EE）、各試験期間中の摂取量の平均を Fig. 4-1 に示した。HFD グループと HFD+EE グループの摂取量はほとんど同じであったことから、フキノトウエキス添加によるマウスの摂取量への影響は極めて少なかったといえる。Fig. 10 に予備飼育、および本飼育期間の各グループの平均体重を示した。HFD グループは ND グループと同様なコンスタントな体重上昇を示しているが、その上昇幅は大きく最終的に両グループの平均体重には平均の体重差で 7.46 g の差が生じた。HFD+EE グループは HFD グループと比較して試験開始時から体重増加の遅延が認められ、最終的には両グループの平均体重に 5.36g の差が生じていた。試験終了時の体重、肝臓、脂肪組織重量を Fig. 11 に示した。

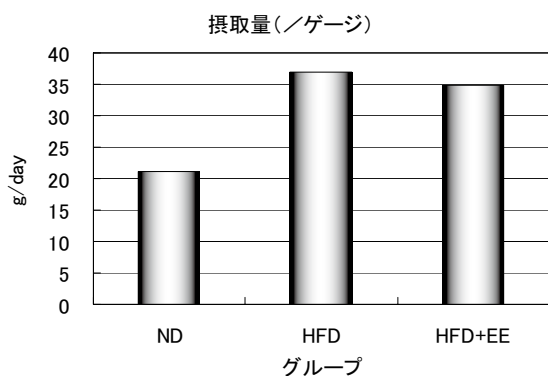


Fig. 9 マウスの飼料摂取量平均値

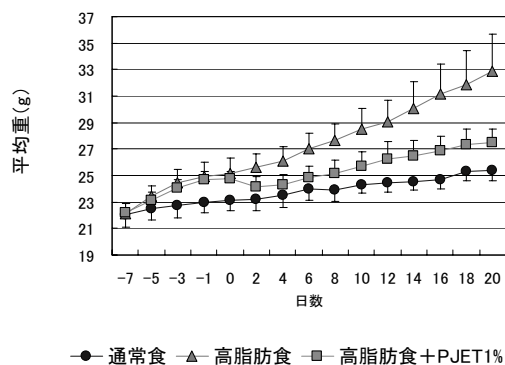
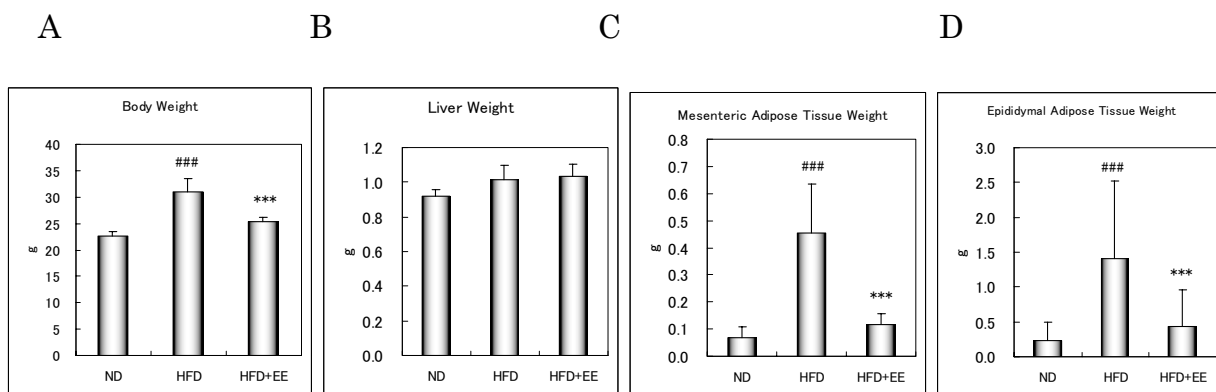


Fig. 10 マウスの体重の変化



Figs. 11 Body weight, tissue weight of mice

A: Body weight, B: Liver weight, C: Mesenteric Adipose Tissue Weight D: Epididymal Adipose

Tissue Weight Values are given as means \pm S.D. (n=7)

$p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ HFD vs. ND

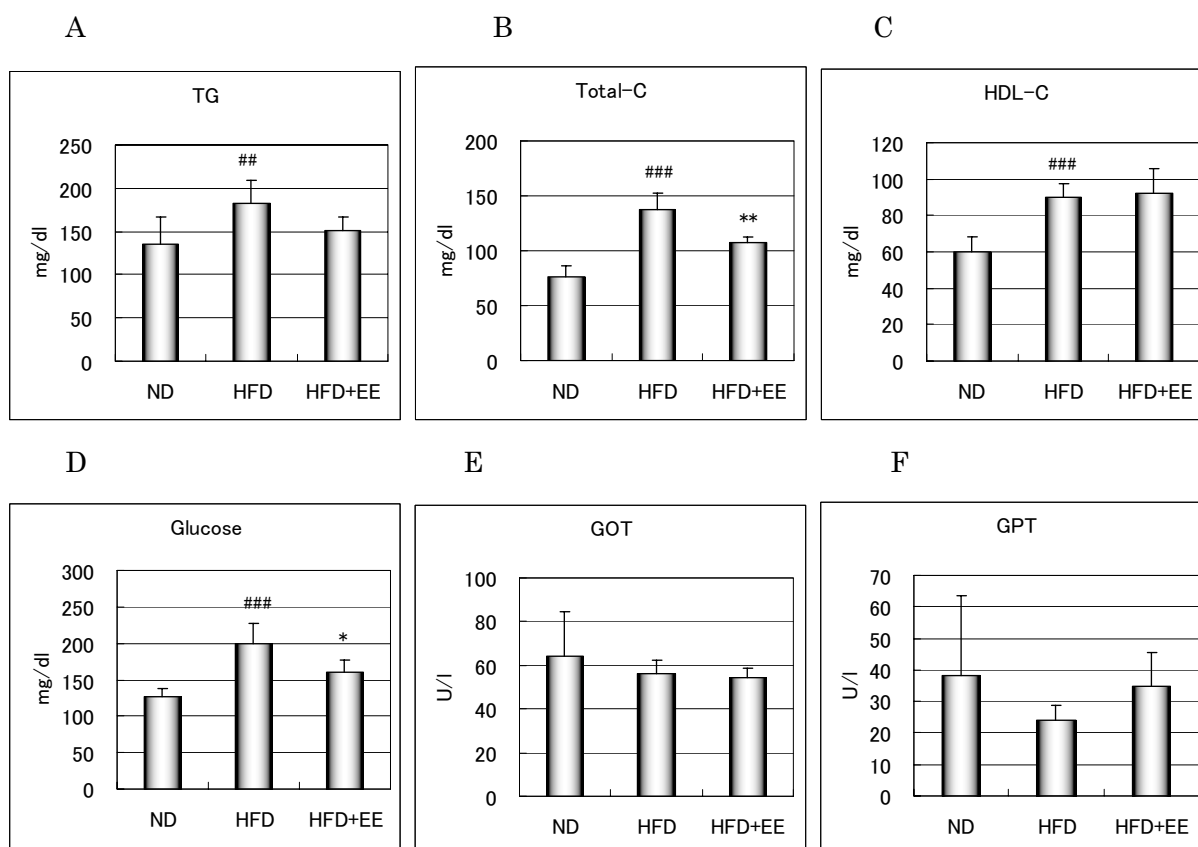
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ HFD vs. HFD+EE

マウスの体重、腸管膜脂肪組織重量、精巣周囲脂肪重量ともに通常食グループ (ND) と高脂肪食グループ (HFD) では明らかな増加が認められ、有意差もきわめて高かった。この結果から高脂肪食に誘導されるマウスの肥満に対してフキノトウエキスが体重および体脂肪の蓄積を強く抑制することが明らかになった。

生化学的解析

血漿内のトリグリセライド、総コレステロール、HDL-コレステロール、GOT (glutamic oxaloacetic transaminase)、GPT (glutamine pyruvic transaminase) と血糖値はフジフィルム社製のドライケムシステムを用いて酵素的に測定した。 Figs. 12 にマウスの血液中パラメーターの分析結果を示した。

ND グループと HFD グループを比較するとトリグリセライド、総コレステロール、HDL コレステロール、血糖値とも HFD グループが明らかに高い値を示しており、極めて高い有意差が認められている。一方、肝臓の酵素である GOT、GPT は肝臓重量と同様に両グループに有意な差異が発生しなかった。その原因は本飼育 3 週間で実施した本試験の飼育期間が短すぎたためと考える。HFD グループと HFD+EE グループ間を比較すると総コレステロールと、血糖値において HFD+EE グループが明らかに低いことが認められた。しかしながら血中トリグリセライド、HDL コレステロール、GOT、GPT には両グループ間に有意な差が認められなかった。以上のことから高脂肪食に誘導される血中パラメーターの上昇に関してもフキノトウエキスの添加が血糖値、総コレステロールの上昇を抑える改善効果を示すことが認められた。以上、フキノトウエキスの添加が内臓機能に与える効果の検証はまだ十分とはいえないものの、非常に強い抗肥満効果をフキノトウエタノールエキスが有していることがマウスを用いた動物実験でも認められた。本試験では、マウスの運動量、発生熱量等の消費エネルギーの計測、もしくは代謝物の分析などは実施していない。フキノトウの生体における体脂肪蓄積抑制効果のメカニズム解明は今後の課題となる。本試験で認めたフキノトウエタノールエキスの抗肥満効果の原因を他の研究例から推測すると、ケルセチン¹⁰⁾ や茶カテキン¹¹⁾ で認められているようなエネルギー消費の増加、あるいは桔梗 (*Platycodi Radix Ameliorate*) のサポニン¹²⁾ に関して報告されているようなエネルギーの吸収阻害、あるいはエネルギー消費増加と吸収阻害双方がその要因となっている可能性が考えられる。



Figs. 12 マウスの血中パラメーターの結果

A: トリグリセライド、B: 総コレステロール、C: HDL-コレステロール、D: 血糖値、E: GOT、F: GPT
 Values are given as means \pm S.D. (n=7) # p <0.05, ## p <0.01, ### p <0.001 HFD vs. ND
 * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 HFD vs. HFD+EE

4. 総括

メタボリックシンドロームは内臓脂肪型肥満を共通の要因として高血糖、脂質異常、高血圧が引き起こされる状態である。内臓脂肪型肥満の予防は生活習慣病の発病を抑え健康の維持に役立つのみならず、医療費の抑制など社会的にも極めて大きな課題となっている。

現在、様々な食品に存在する抗肥満因子の探索が世界中で活発に行われている。代表的な抗肥満因子を有する食品資源として茶カテキン、ケルセチン、イソフラボンなどに代表される多様なフラボノイド化合物がある。しかしながら食資源の種類は膨大で、いまだに抗肥満因子の探索が実施されていない食資源も多い。

抗肥満研究に最も多く用いられているマウス由来 3T3-L1 前駆脂肪細胞を用いた実験と

高脂肪食により誘導された肥満マウスを用いた実験を実施し、フキノトウの抗肥満効果について検討した。

その結果、フキノトウのエタノール抽出エキス (PJET) が細胞レベルで 3T3-L1 前駆脂肪細胞の脂肪細胞への分化抑制を顕著に示すことを顕微鏡観察により示した。フキノトウ熱水抽出エキスでは抑制効果が認められなかったが、フキノトウエタノールエキスを $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加することにより極めて強力な抑制効果が認められ $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加でも明確に認められた。これらの結果は脂肪滴のオイルレッド O の染色結果から定量的に示された。さらに脂質合成に関する主要な酵素 GPDH 活性の測定結果からもその効果の裏付けが確認された。以上の実験で分化抑制は $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の低濃度でも明確に認められ、フキノトウエタノールエキスの強力な抑制効果が明らかになった。

作用機作解析のために実施したリアルタイム PCR の結果によりフキノトウの抗肥満効果は 3 つの主要な転写因子 PPAR γ , C/EBP α , SREBP-1c の RNA レベルでの発現減衰に起因していることが明らかになった。茶カテキンの脂肪細胞の分化抑制が PPAR γ , C/EBP α の発現減衰によることが報告されていることから、フキノトウの分化抑制作用は茶カテキンと共通する点があるといえる。

活性成分について 2 つの候補が推測できる。一つは数多くの抗肥満効果の報告が認められるフェノール化合物である。自然界に多種多様な形で、大量に存在するフェノール化合物の肥満防止効果¹³⁾については数多くの研究報告がなされており、その報告数は増加しつづけている。代表的な例としては野菜などに普遍的に存在しているケルセチン¹⁴⁾や大豆に含まれるイソフラボン：ゲネステインがある。これらの成分は高い抗肥満効果を有していることから、健康増進効果が期待されている。フェノール化合物の抗酸化性（ラジカル捕捉活性）は 3T3-L1 脂肪細胞のアポトーシス誘導¹⁵⁾、細胞延命抑制¹⁶⁾、分化遺伝子発現抑制¹⁷⁾に高い関連があるとの報告がある。フキノトウに存在が報告¹⁸⁾されるケルセチンアセチルグルコシドなどのフラボノール配糖体 4 種とカフェ酸メチルエステルは少なくとも部分的に有望な抗肥満因子として関与していると考察する。もう一つの候補として細胞毒性を有するフキノトウ特有のセスキテルペン「バクケノリド」（フキノリド）^{19,20)}が推測される。このセスキテルペンは複雑かつ多様な構造を持っているが、その薬理効果、生理機能性に関する研究例は皆無であることから今後の研究が期待されている。

さらに高脂肪食摂食マウスを用いた実験におけるフキノトウ抗肥満効果を検証した。体

重および脂肪組織の重量および血液中パラメーターの比較によりその効果を調べた。高脂肪食摂食マウスのグループと比較して、フキノトウエタノールエキス添加高脂肪食摂食グループの体重は初期段階から抑制されることが認められた。試験終了時には体重のみならず、腸管膜脂肪組織重量、精巣周囲脂肪重量の増加抑制を顕著に認めた。さらに血中パラメーターではフキノトウエタノールエキス添加による血中総コレステロール、血糖値の上昇抑制効果が明らかになった。試験期間が比較的短く、内蔵臓器への影響に解明されていない部分が残されたものの、非常に強い抗肥満効果をフキノトウエタノールエキスが有していることが検証できた。フキノトウの生体における体脂肪蓄積抑制効果のメカニズム解明は今後の課題となる。

以上、フキノトウエタノールエキスが細胞レベルでは前駆脂肪細胞の分化抑制効果を強力に示すこと、その抗肥満効果が動物実験でも明確に検証された。本研究がフキノトウの抗肥満効果に関する研究の嚆矢としてその産業利用に応用される日が訪れることを祈念する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご懇篤なご指導とご高配を賜りました秋田大学工学資源学部伊藤英晃教授に厚くお礼申し上げます。また、本論文に対し有益なご指導とご助言を賜りました秋田大学工学資源学部 小川信明教授、同 中田真一教授、同 菅原勝康教授、同 寺境光俊教授、に深く感謝いたします。本研究の指針に多大なご指導とご鞭撻を頂きました秋田大学工学資源学部 久保田広志准教授に厚く感謝いたします。

一連の研究、及び本論文の作成は、秋田県学術国際部 研究職員大学院博士後期課程研修支援事業により、秋田大学大学院博士後期課程に社会人入学させて頂き行いました。

秋田県および関係各位に深く感謝いたします。

本研究の遂行に格別のご理解とご高配をいただきました秋田県総合食品研究所 高野靖所長、田口隆信醸造試験場長ならびに多大なご支援とご配慮を賜りました総合食品研究所の皆様へ深く感謝いたします。特に秋田県総合食品研究所、堀 一之主任研究員、畠 恵司主任研究員、樋渡一之研究員、鈴木奈緒氏には本研究の遂行にあたり重要かつ不可欠なご協力を頂いたこと心より厚くお礼申し上げます。

この研究を励みとして秋田県の食品産業発展にこれまで以上に貢献できるように日々努力したいと思っております。

参考文献

- 1) 牧野富太郎, 原色牧野植物図鑑, (1986), 北隆館
- 2) 三橋 博, 原色牧野和漢藥草大図鑑, (1988), 北隆館
- 4) Wise LS, and Green H, *J. Biol. Chem.*, **25**, 273-275(1979).
- 5) Gregoire FM, Smas CM, and Sul HS, *Physiol. Rev.*, **78**, 783-809(1998).
- 6) Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, and Spiegelman BM, *Genes. Dev.*, **14**, 1293-1307(2000).
- 7) Farmer SR, *Cell. Metab.*, **4**, 263-273(2006).
- 8) Kim JB, Wright HM, Wright M, and Spiegelman BM, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **95**, 4333-4337(1998).
- 9) Furuyashiki T, Nagayasu H, Aoki Y, Bessho H, Hashimoto T, Kanazawa K, and Ashida H, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 2353-2359(2004).
- 10) Stewart LK, Soileau JL, Ribnicky D, Wang ZQ, Raskin I, Poulev A, Majewski M, Cefalu WT, and Getty TW, *Metabolism.*, **57**, S39-46(2008).
- 11) Murase T, Haramizu S, Shimotoyodome A, Tokimitsu I, and Hase T, *Arm. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **290**, R1550-1556(2006)
- 12) Han LK, Zheng YN, Xu BJ, Okuda H, and Kimura Y, *J. Nutr.*, **132**, 2241-2245(2002).
- 13) Hsu CL, and Yen GC, *Mol. Nutr. Food. Res.*, **52**, 53-61(2008).
- 14) Bischoff SC, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, **11**, 733-740(2008).
- 15) Hsu CL, and Yen GC, *Mol. Nutr. Food. Res.* **50**, 1072-1079 (2006).
- 16) Hsu CL, Huang SL, and Yen GC, *J. Agric. Food. Chem.*, **54**, 4191-4197(2006).
- 17) Chin LH, and Gow CY, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8404-8410 (2007).
- 18) Matuura H, Amano M, Kawabata J, and Mizutani J, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 1571-1575(2002)
- 19) Jamieson GR, Reid EH, Turner BP, and Jamieson AT, *Phytochemistry*, **15**, 1713-1715(1976).
- 20) Shibata H, and Shimizu S, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1427-1428(1978).

清酒醸造における蒸米タンパク質の酵素分解に関する研究

高橋仁、伊藤俊彦*、佐藤勉**、岩野君夫*

(秋田県総合食品研究センター、*秋田県立大学、** (株) 秋田今野商店)

Hitoshi TAKAHASHI, Toshihiko ITO, Tsutomu SATO, Kimio IWANO

【要約】

清酒醸造におけるアミノ酸の生成制御を目的に、蒸米タンパク質の酵素分解によるアミノ酸生成の解析を行った。その結果、清酒のアミノ酸生成には酒米のタンパク質組成、特にグルテリン含有量が麴米および蒸米としての特性に影響を持つことが明らかとなった。また、この知見を活かして蒸米タンパク質からの麴酵素によるアミノ酸生成活性として、米グルテリンを基質とする清酒麴の総合ペプチダーゼ (TPase) 活性測定法を構築した。さらに、本法を用いて酒米品種「秋田酒こまち」のタンパク質の性質に適したアミノ酸生成の少ない麴菌株の選抜を行った。

【緒言】

清酒の消費数量は 1973 年 177 万 k1 (全国) をピークに漸減状態が続き 2008 年では 65 万 k1 まで減少している (国税庁酒税統計)。消費数量の減少が大きいのは普通酒、比較的低価格な清酒であるが、より価格が高い特定名称酒の純米酒・吟醸酒では 1990 年頃から消費数量がわずかながら増加している。吟醸酒は香りが高く上品な味わいがあり、純米酒は米の旨味を特長とする清酒であるが、これらのタイプの清酒の美味しさを考えた場合、味の要素は極めて重要である。

清酒の味とアミノ酸の関係では、清酒の官能評価における「雑味」と清酒のアミノ酸度に相関があることから、アミノ酸度を低減して雑味の少ない清酒を製造するために、タンパク質含有量の低い酒米が良いと考えられてきた。最近では、清酒中のアラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、アルギニンの 4 種類のアミノ酸含有量が清酒の呈味に影響し、アラニンとグルタミン酸はその含有量が「味の濃さ」に、アルギニンとアスパラギン酸の含有量が「味のきれいさ」に関係することが秋田県立大学醸造学研究室により報告されている^{1,2)}。また、清酒もろみ中において酵母が芳香族アミノ酸 (フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン) を代謝して生成する芳香族アルコール (β -フェニルエタノール、チロソール、トリプトホール) が清酒中の苦味成分として重要であることを明らかにした³⁾。さらに、酵母は分岐アミノ酸 (スレオニン、バリン⁴⁾、ロイシン) を代謝してフーゼルアルコール (n-プロピルアルコール、イソブチルアルコール⁴⁾、イソアミルアルコール) を生成するが、これらの成分は官能的に清酒の苦味・雑味成分になると考えられる。

これらの知見から、清酒の味の評価にはアミノ酸濃度とアミノ酸の種類（アミノ酸組成）が重要と考えられる。本研究は清酒の味に深く関係するアミノ酸の生成制御を目的として行ったものである。清酒醸造では蒸米タンパク質が麴酵素により分解されてアミノ酸を生成し⁵⁾、このうち一部のアミノ酸が酵母に資化されて減少し、さらにアミノ酸代謝により他のアミノ酸に変換されて清酒もろみに放出され⁶⁾、清酒のアミノ酸濃度と組成が決まる。清酒醸造におけるアミノ酸生成を酵素反応という視点から見ると、基質は酒米（蒸米）タンパク質であり、酵素活性は麴由来のタンパク質分解酵素活性である。また、タンパク質組成が異なる酒米品種では麴のタンパク質分解酵素の生産に影響があり⁷⁾、清酒醸造においてはアミノ酸およびペプチドの生成に影響があることから⁸⁾、タンパク質組成の異なる酒米品種（基質）と酵素生産量の異なる麴菌（酵素）の組み合わせではアミノ酸の生成に違いが生じると予想される。そこで、酒米品種のタンパク質組成の違いが製麴における麴菌の酵素生産に及ぼす影響および清酒醸造における蒸米タンパク質の分解に及ぼす影響を検討した。

【麴酵素による蒸米タンパク質からのアミノ酸生成に及ぼす要因の解析】

清酒麴による蒸米タンパク質からのアミノ酸生成に及ぼす原料米タンパク質組成の影響を調べるために麴の酵素抽出液を用いた蒸米の消化試験を行った。蒸米は5品種（山田錦、美山錦、秋田酒こまち、吟の精、春陽）、麴の酵素抽出液は麴15点（蒸米と同じ5品種について3回製麴した麴）の75組の蒸米消化液を調製した。蒸米消化液のアミノ酸はアルギニン（構成比18.5%）が最も多く、次いでロイシン（8.4%）、グルタミン（8.2%）、グルタミン酸（7.8%）、リジン（7.0%）、チロシン（5.9%）の順であった。

表1 原料米のタンパク質組成（精米歩合60%白米、n = 4）

	山田錦			美山錦			秋田酒こまち			吟の精			春陽		
	AVE	SD	CV	AVE	SD	CV	AVE	SD	CV	AVE	SD	CV	AVE	SD	CV
Glu	2.80	0.29	10.4	2.11	0.18	8.7	2.56	0.12	4.9	2.68	0.17	6.4	0.99	0.05	5.2
GluA	1.74	0.17	9.8	1.33	0.11	8.5	1.58	0.08	5.3	1.68	0.12	7.2	0.65	0.04	6.0
GluB	1.06	0.12	11.4	0.78	0.07	9.0	0.98	0.05	4.7	1.00	0.05	5.3	0.34	0.01	3.8
Glo	0.59	0.07	11.7	0.53	0.05	9.9	0.65	0.02	3.7	0.73	0.03	4.7	0.89	0.05	5.2
Pro	1.38	0.22	16.0	1.30	0.17	12.9	1.56	0.05	3.4	1.65	0.10	5.8	1.92	0.10	5.2
16kdaPro	0.46	0.05	10.9	0.43	0.04	9.5	0.48	0.03	6.6	0.54	0.05	10.1	0.59	0.02	4.2
13kdaPro	0.79	0.07	9.1	0.68	0.06	8.4	0.84	0.02	2.6	0.87	0.03	3.1	1.20	0.06	4.7
10kdaPro	0.13	0.10	82.1	0.18	0.08	41.5	0.24	0.03	10.9	0.24	0.02	10.2	0.13	0.06	41.9
全タンパク質	4.77	0.58	12.1	3.94	0.40	10.2	4.77	0.18	3.9	5.06	0.26	5.1	3.80	0.19	5.1

Glu:グルテリン(GluA+GluB)

GluA:グルテリン酸性サブユニット

GluB:グルテリン塩基性サブユニット

Glo:グロブリン

Pro:プロラミン(16kdaPro+13kdaPro+10kdaPro)

単位 ; g/100g-rice(BSAとして)

表2 タンパク質組成と麴の酵素活性の相関分析結果 (n = 15)

	APase	ACPase	TPase
グルテリン	-0.936 ***	-0.539 *	-0.807 ***
グロブリン	0.767 ***	0.440	0.611 **
プロラミン	0.819 ***	0.433	0.656 **
合計	-0.633 **	-0.375	-0.591 *

***; r(15,0.001) = 0.730, **; r(15,0.01) = 0.592, *; r(15,0.05) = 0.441

APase; 酸性プロテアーゼ, ACPase; 酸性カルボキシンペプチダーゼ,

TPase; 総合ペプチダーゼ

表3 蒸米消化液のアミノ酸と原料米タンパク質組成との相関分析 (n = 75)

		グルテリン 酸性サブユニット	グルテリン 塩基性サブユニット	グロブリン	16kDaプロラミン	13kDaプロラミン
呈味 アミノ酸	Ala	0.791 ***	0.786 ***	-0.614 ***	-0.537 ***	-0.670 ***
	Glu	0.722 ***	0.716 ***	-0.467 ***	-0.384 ***	-0.528 ***
	Asp	0.054 -	0.045 -	0.140 -	0.181 -	0.089 -
	Arg	0.787 ***	0.776 ***	-0.651 ***	-0.563 ***	-0.719 ***
芳香族 アミノ酸	Tyr	0.850 ***	0.844 ***	-0.652 ***	-0.567 ***	-0.713 ***
	Phe	0.794 ***	0.791 ***	-0.652 ***	-0.583 ***	-0.692 ***
分岐 アミノ酸	Val	0.791 ***	0.785 ***	-0.587 ***	-0.504 ***	-0.649 ***
	Leu	0.751 ***	0.744 ***	-0.605 ***	-0.527 ***	-0.652 ***
	Ile	0.722 ***	0.716 ***	-0.632 ***	-0.563 ***	-0.682 ***
含硫 アミノ酸	Cys	-0.391 ***	-0.394 ***	0.276 *	0.246 *	0.321 **
	Met	-0.047 -	-0.060 -	0.246 *	0.291 **	0.215 *
その他	Thr	0.706 ***	0.705 ***	-0.475 ***	-0.405 ***	-0.525 ***
	Ser	0.890 ***	0.887 ***	-0.710 ***	-0.629 ***	-0.771 ***
	Asn	0.923 ***	0.920 ***	-0.739 ***	-0.654 ***	-0.796 ***
	Gln	0.935 ***	0.930 ***	-0.755 ***	-0.667 ***	-0.819 ***
	Gly	0.808 ***	0.802 ***	-0.627 ***	-0.546 ***	-0.688 ***
	His	0.434 ***	0.437 ***	-0.329 **	-0.299 **	-0.337 **
	Lys	0.543 ***	0.542 ***	-0.451 ***	-0.408 ***	-0.464 ***
	Pro	0.520 ***	0.510 ***	-0.381 ***	-0.314 **	-0.422 ***
	合計	0.843 ***	0.836 ***	-0.654 ***	-0.567 ***	-0.715 ***

***: r(75,0.001) = 0.363, **: r(75,0.01) = 0.278, *: r(75,0.05) = 0.198

麴米としての品種特性をみた場合、グルテリン含有量 (表1) が多い品種はタンパク質分解酵素活性が少なくなりグルテリン含有量の少ない品種はタンパク質分解酵素活性が高くなる傾向であった (表2)。また、蒸米としての特性をみた場合、グルテリン含有量の多い品種はアミノ酸生成が多くなり、グルテリン含有量が少ない品種はアミノ酸生成が少ない傾向であった (表3)。

麴米品種と蒸米品種の組合せによる呈味に関わるアミノ酸の生成量をみると、麴米に「春陽」、蒸米に「山田錦」・「吟の精」の場合、アミノ酸生成量が最大値を示し、反対に麴米に「山田錦」・「吟の精」、蒸米に「春陽」の組み合わせの場合、アミノ酸生成量が最小値となった (表4)。この理由は、グルテリンが麴菌にとって分解しやすいタンパク質であるため、グルテリンの多い「山田錦」や「吟の精」を麴米に用い

ると麹菌のタンパク質分解酵素生産が低下し、逆にグルテリンの少ない「春陽」を用いると麹菌のタンパク質分解酵素生産が増加するためであり、グルテリンが多い「山田錦」や「吟の精」を掛米として用いるとアミノ酸の生成が多く、反対にグルテリンが少ない「春陽」を掛米に用いるとアミノ酸の生成が低下するためと考えられる。麴米品種と掛米品種の組み合わせによるアミノ酸の生成量の違いは清酒の味に重要な意味を持つものと考えられる。

表4 呈味に関係するアミノ酸の最大値、最小値の品種組合せ

		最大値			最小値		
		数値(ppm)	麴米	掛米	数値(ppm)	麴米	掛米
呈味性	Ala	103	春陽	吟の精	67	吟の精	春陽
	Glu	149	春陽	吟の精	105	吟の精	春陽
	Asp	87	春陽	吟の精	62	吟の精	美山錦
	Arg	342	美山錦	吟の精	238	吟の精	春陽
分岐	Val	92	春陽	山田錦	61	山田錦	春陽
	Leu	158	春陽	山田錦	111	吟の精	春陽
	Ile	62	春陽	山田錦	29	美山錦	春陽
芳香族	Tyr	110	秋田酒こまち	山田錦	72	山田錦	春陽
	Phe	96	春陽	山田錦	60	山田錦	春陽

【米グルテリンを基質とした清酒麴の総合ペプチダーゼ活性測定法の構築】

清酒醸造においては、麹菌が製麹工程で生産したタンパク質分解酵素によって米タンパク質が分解されてアミノ酸、ペプチドとなり⁹⁻¹¹⁾、その一部が酵母の窒素代謝を経て様々なアミノ酸や関連化合物に変換されて清酒の風味の一部を形成する¹⁾。清酒製造工程における酒母およびもろみの pH は 3.0~4.5 であることから、清酒麴のタンパク質分解酵素は最適 pH が酸性にある酸性プロテアーゼ¹²⁾ (APase) と酸性カルボキシペプチダーゼ¹³⁾ (ACPase) が米タンパク質の分解に関わっており、味噌や醤油醸造ではもろみの pH が中性付近であることから中性プロテアーゼとアミノペプチダーゼが米や大豆のタンパク質の分解に関わっていると考えられてきた^{14,15)}。

ACPase はタンパク質のカルボキシル基末端から逐次アミノ酸を生成する酵素であり、アミノペプチダーゼはタンパク質のアミノ基末端から逐次アミノ酸を生成する酵素である。これまで清酒もろみの pH 範囲はアミノペプチダーゼの最適 pH 範囲からは外れていることからアミノ酸生成に対する寄与は小さいと考えられてきた。しかし、清酒に存在するペプチド¹⁾のアミノ基末端を考慮するとアミノペプチダーゼによるアミノ酸生成も存在するのではないかと考えている。また国税庁所定分析法による ACPase 活性測定のための基質はカルボベンゾキシ-グルタミル-チロシン

(Cbz-Glu-Tyr) であり¹⁶⁾、カルボベンゾキシ-チロシル-アラニン(Cbz-Tyr-Ala)を基質としたペプチダーゼ活性測定キットが販売され¹⁷⁾、酒造の現場で使われている。既に、清酒麴の酸性カルボキシペプチダーゼには4種類の酵素が存在し¹³⁾、多くの種類のペプチドを基質としてその分解速度に大きな違いがあることが報告されている。最近、EST解析により麴菌(Asp. oryzae)には多くのタンパク質分解酵素をコードする遺伝子が存在することが報告された¹⁸⁾。これらの知見から単にCbz-Glu-Tyrのような1種類の合成ペプチドを基質としたペプチダーゼ活性が米タンパク質の酵素分解を正確に表すかどうか疑問が生じる。先に示した5品種の麴米と蒸米について、麴酵素消化液のアミノ酸組成とACPase活性の関係をみると全アミノ酸や苦味呈味成分として重要なアルギニンなどのアミノ酸濃度と相関が低くなった(表5)。これは酵素活性の測定に先ほど示した合成基質を用いているためペプチダーゼの一部を測定しているためと考え、そこで生成するアミノ酸量を麴の総合的なペプチダーゼの活性として測定するためには米から調製したグルテリンを基質として測定する総合ペプチダーゼ(TPase)活性測定法を検討した¹⁹⁾(図1)。先に示した5品種の麴米と蒸米で検証した結果、TPase活性は従来法の全アミノ酸生成量や苦味アミノ酸のアルギニン含有量と正の有意な相関を示した(表5)。清酒醸造において麴酵素による蒸米タンパクからのアミノ酸生成を従来法のACPase活性より正確に反映できる測定法として有望な方法である。

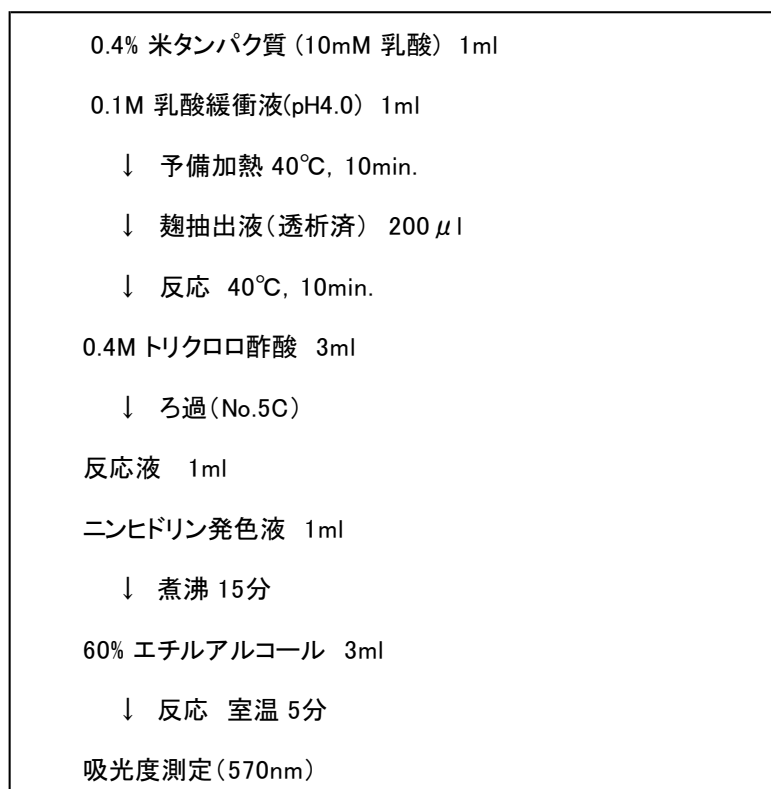


図1 麴の総合ペプチダーゼ活性測定法のスキーム

表5 蒸米消化液のアミノ酸濃度とタンパク質分解酵素活性との相関

		APase	ACPase	TPase
呈味 アミノ酸	Ala	0.673 **	0.306	0.653 **
	Glu	0.854 ***	0.473 *	0.766 ***
	Asp	0.973 ***	0.523 *	0.795 ***
	Arg	0.567 *	0.142	0.711 **
芳香族 アミノ酸	Tyr	0.729 **	0.405	0.737 ***
	Phe	0.718 **	0.160	0.784 ***
	Trp	0.703 **	0.433	0.500 *
分岐 アミノ酸	Val	0.630 **	0.521 *	0.657 **
	Leu	0.721 **	0.193	0.764 ***
	Ile	0.832 ***	0.398	0.801 ***
含硫 アミノ酸	Cys	0.391	-0.016	0.239
	Met	-0.118	-0.404	0.068
Total		0.663 **	0.343	0.534 *
*** ; 危険率0.1%で有意		$r(15, 0.001) = 0.730$		
** ; 危険率1%で有意		$r(15, 0.01) = 0.592$		
* ; 危険率5%で有意		$r(15, 0.05) = 0.441$		

表6 麴の酵素活性と麴のアミノ酸資化量との相関係数 (n=30)

	相関係数	判定
α -アミラーゼ	0.562	**
グルコアミラーゼ	-0.047	-
酸性プロテアーゼ	0.560	**
酸性カルボキシペプチダーゼ	0.576	***
総合ペプチダーゼ活性	0.644	***

***: $r(30, 0.001) = 0.570$, **: $r(30, 0.01) = 0.462$, *: $r(30, 0.05) = 0.360$

【製麴における麴菌のタンパク質分解酵素生産に対する麴米品種と麴菌株の影響】

麴米5品種（山田錦、美山錦、五百万石、秋田酒こまち、春陽）に麴菌25株（秋田今野商店保有）を使用したシャーレ法による製麴試験を行い、麴菌のアミノ酸資化量とタンパク質分解酵素生産との関係を検討した²⁰⁾。

製麴における麴菌のタンパク質分解酵素生産は増殖のために必要な栄養源を得るためであるが、麴菌株ごとに増殖に必要なアミノ酸量に違いがあると考え、麴菌株ご

とに増殖におけるアミノ酸資化量の違いを調べた。その結果、菌体量当たりの全アミノ酸資化量は $1.39\text{--}5.37\ \mu\text{g}/\mu\text{g}$ で最大値/最小値は 3.9 と菌株により大きな違いが認められ、表 6 から麴のタンパク質分解酵素活性と麴菌の増殖における全アミノ酸資化量との正の相関が認められた。これは麴菌の増殖においてアミノ酸の要求量が多い麴菌はタンパク質分解酵素を多く生産することを意味すると考えられる。

吟醸酒のような高級酒ではアミノ酸が少ない。このような清酒を目指す場合、蒸米からのアミノ酸生成量が少ない方が望ましく、麴菌株の特性を考えた場合、アミノ酸資化量の少ない麴菌がタンパク質分解酵素の生産が少なく望ましいといえる。

【麴菌が生産するグルコアミラーゼ活性と総合ペプチダーゼ活性の関係と「秋田酒こまち」のタンパク質の特性を活かした清酒麴菌の選抜】

清酒醸造では並行複発酵を順調に進めるためにデンプン分解酵素である α -アミラーゼ (AAase)、グルコアミラーゼ (GAase) が必要量存在することが必要である。一方、清酒の呈味を考慮するとアミノ酸の生成に関わる TPase 活性は少ない方が良くと考えられる。この視点に立つと酒米品種ごとに必要量の GAase を生産し TPase の生産量の少ない麴菌が優れた菌株と判断される。麴米 5 品種 (山田錦、美山錦、五百万石、秋田酒こまち、春陽) に麴菌 25 株 (秋田今野商店保有) で製麴した 125 点の麴について GAase 活性と TPase 活性には正の相関が認められた²⁰⁾ (図 2)。GAase 活性は 14~316 単位 (units/g·dry-koji) と大きな差異が認められたが、清酒醸造において必要な GAase 活性範囲を 150~220 単位にすると図 2 に点線で示したように TPase 活性が低い麴菌株がみられることから、品種に適した麴菌株の選抜が可能と考えられた。

そこで、秋田県が開発した酒米品種「秋田酒こまち」(平成 6 年品種登録)²¹⁾ のタンパク質組成の特徴に適した清酒麴菌の選抜を実施した。「秋田酒こまち」はグルテリン含量が「山田錦」と比較して少ないため、麴の TPase などのタンパク質分解酵素活性が「山田錦」よりも高くなることを示したが、「秋田酒こまち」を使用しても TPase 活性が低い麴菌を探索した。(株)秋田今野商店が保有する麴菌 25 株から、第 1 次の選択として TPase 活性の低い麴菌 4 株を選択し、第 2 次の選択として総米 5kg の小仕込試験を実施し製成酒 (純米酒) のアミノ酸生成が少なく清酒の味が優れた 1 菌株 (AOK-12) を選択した。麴菌株 AOK-12 の麴で製造した純米酒のアルギニン含量 (苦味アミノ酸) は対照 (No. 5 : 吟醸酒用種麴市販品) の 10 分の 1 と非常に低いレベルに抑えられた (表 7)。本麴菌株は清酒用種麴「吟味」として秋田今野商店より商品化され酒造メーカーへの普及が進んでいる。

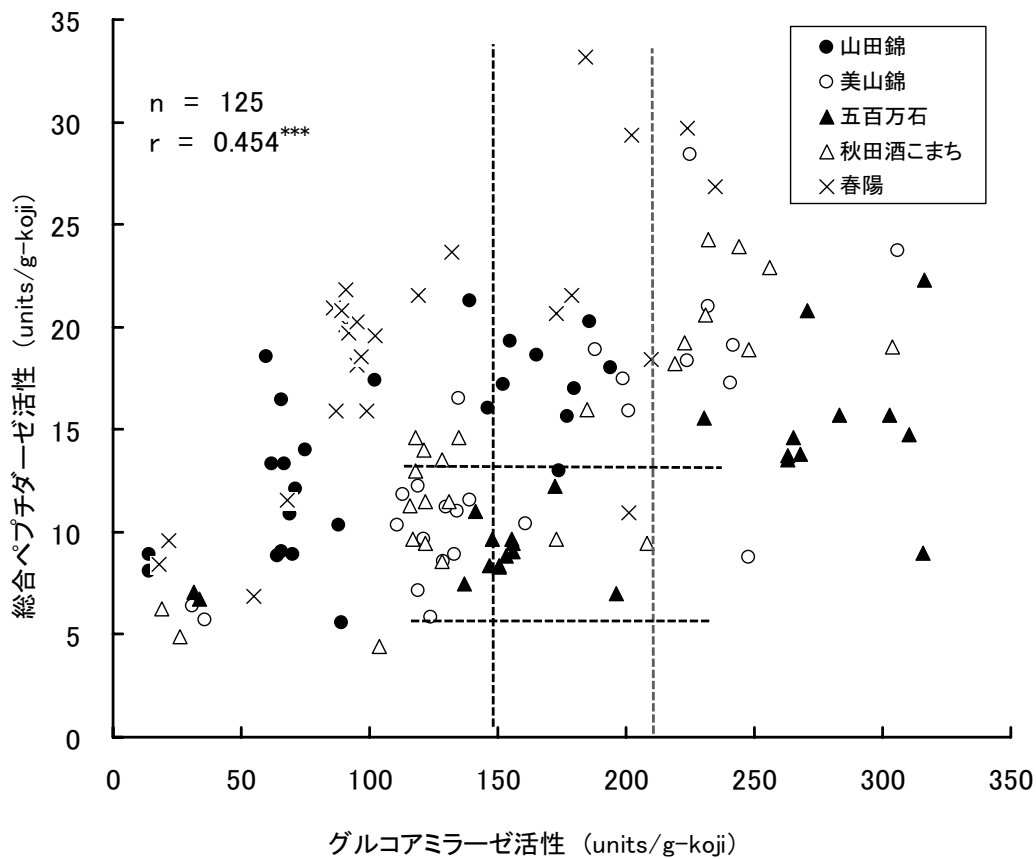


図9 麴のグルコアミラーゼ活性と総合ペプチダーゼ活性の関係

表7 製成酒のアミノ酸組成

		AOK-12	No. 5(対照)
呈味性 アミノ酸	Aia	158	150
	Glu	110	107
	Arg	31	339
分岐 アミノ酸etc	Asp	36	37
	Val	65	62
	Leu	93	97
	Ile	43	42
芳香族 アミノ酸	Thr	21	23
	Tyr	93	94
	Phe	54	55
含硫 アミノ酸	Trp	5	6
	Met	3	3
その他	Cys	12	14
	Gln	118	134
	Pro	126	124
	Gly	120	115
	Asn	69	71
	Ser	38	41
	Lys	33	35
His	30	25	
合計		991	1,316

(ppm)

【おわりに】

酒米として最も評価の高い山田錦は粗タンパク質含量が低い特徴があり、これまでの酒米の開発は低タンパク質の稲系統の選抜が目標とされてきた。本研究は SDS-PAGE によりタンパク質組成を定量し、酒米タンパク質の消化反応との関連を解析した結果、酒米のグルテリン含有量が製麴における麴菌のタンパク質分解酵素生産や清酒もろみにおけるアミノ酸生成に大きく影響することが明らかになった。この視点からグルテリン含量とタンパク質分解酵素生産に注目した蒸米品種と麴米品種の組み合わせおよび麴米品種と麴菌株の組み合わせには清酒のアミノ酸生成の制御に有効と考えられる。また、新規に構築した麴の総合ペプチダーゼ活性 (TPase) 測定法は、清酒醸造におけるアミノ酸生成に関わる麴の酵素活性を正確に測定できることから、新しい麴菌の選抜方法の改善、製麴方法の改善に貢献できると考えている。

【謝辞】

本研究は、秋田県総合食品研究センター、秋田県農林水産技術センター農業試験場、秋田県立大学、秋田県酒造組合、あきた企業活性化センターによる農林水産省委託事業『新規酒造好適米「秋田酒こまち」の栽培技術確立と産地ブランド化』（平成 18～20 年）の中で行われた。本研究をご指導頂きました秋田県立大学教授岩野君夫博士、麴菌株を御提供頂きました(株)秋田今野商店に感謝いたします。

【文献】

- 1) 岩野君夫, 高橋和弘, 伊藤俊彦, 中沢伸重; 日本醸造協会誌, **99**(9), 659-664 (2004)
- 2) 岩野君夫, 伊藤俊彦, 中沢伸重; 日本醸造協会誌, **99**(7), 526-533 (2004)
- 3) 54) 伊藤俊彦, 小松幸恵, 高堂 斐, 高橋 仁, 田母神繁, 小泉武夫, 中沢信重, 岩野君夫; 日本醸造協会誌 **103**(7), 562-569 (2008)
- 4) HARRISON S. J. , DICKINSON J. R. , HEWLINS M. J. E.; J Biol Chem. , **Vol. 273**, No. 40, 25751-25756 (1998)
- 5) 財団法人日本醸造協会; 増補改訂清酒製造技術, p. 131 (1998)
- 6) 岩野君夫, 幡宮顕仁, 中村拓郎, 伊藤俊彦, 中沢伸重, 渡辺誠衛; 日本醸造協会誌, **99**(10), 735-742 (2004)
- 7) 岩野君夫, 中沢伸重, 伊藤俊彦, 高橋仁, 上原泰樹, 松永隆司: 日本醸造協会誌 **96**(12), 857-862 (2001)
- 8) 岩野君夫, 中沢伸重, 伊藤俊彦, 松永隆司, 高橋仁, 上原泰樹: 日本醸造協会誌 **97**(7), 522-528 (2002)
- 9) 橋爪克己, 奥田将生, 沼田美千代, 田尻美加, 小関卓也: 日本醸造協会誌 **101**(9), 723-726 (2006)
- 10) K. Hashizume, M. Okuda, S. Sakurao, M. Numata, T. Koseki, I. Aramaki, T. Kumamaru,

- H. Sato: *J. Biosci. Bioeng.*, **102**(4), 340-345 (2006)
- 11) K. Hashizume, M. Okuda, M. Numata, Y. Zhou, T. Koseki: *J. Biosci. Bioeng.*, **104**(4), 251-256 (2007)
- 12) 布川弥太郎, 難波康之祐, 衣山陽三: 農化 **37**(11), 879-883 (1962)
- 13) 三上重明, 三浦治, 渡辺高年, 渡辺健一, 岩野君夫, 椎木敏, 島田豊明: 醱酵工学 **65**(1), 37-43 (1987)
- 14) 好井久雄, 石原昭好: 醱工 **37**, 110-113 (1959)
- 15) 好井久雄: 日本醸造協会誌 **68**(10), 741-746 (1973)
- 16) 注解編集委員会: 第4回改正国税庁所定分析法注解, (財)日本醸造協会 (1993)
- 17) 鈴木英之, 今井泰彦, 鈴木勝: 日本醸造協会誌 **94**(7), 588-592 (1999)
- 18) 秋田修: 日本醸造協会誌 **101**(8), 536-548 (2006)
- 19) 高橋 仁, 伊藤俊彦, 中沢伸重, 岩野君夫: 日本醸造協会誌 **103**(8), 638-645 (2008)
- 20) 高橋 仁, 伊藤俊彦, 佐藤勉, 志賀拓也, 中沢伸重, 岩野君夫; 日本醸造協会誌 **103**(11), 894-900 (2008)
- 21) 高橋仁, 田口隆信: 日本醸造協会誌, **98**(9), 598-609 (2003)

4. 特許の概要

- ① 発明の名称：光触媒をコーティングした多孔質担体による
バイオリアクター・・・・・・・・・・57
- 発明者：進藤 昌
毛塚昌道、吉井哲朗、関口幸成（日本板硝子株式会社）
公開番号：特開 2008-199924
公開日：2008 年 12 月 28 日
- ② 発明の名称：エタノール製造法・・・・・・・・・・57
- 発明者：進藤 昌
日置 進、伊藤 新（秋田県立大学）
公開番号：特開 2009-22165
公開日：2009 年 2 月 5 日
- ③ 発明の名称：ルペオール含有医薬組成物、食品及び飼料・・・・・・・・・・58
- 発明者：畠恵司
佐々木裕樹、河原崎哲、菅原美貴子（株）スカイライト・バイオテック）
駒井 三千夫、白川 仁、アルディアンシャー
（東北大学大学院農学研究科）
公開番号：特開 2009-29778
公開日：2009 年 2 月 12 日
- ④ 発明の名称：抗癌剤として有用なトリテルペン化合物及び該トリテルペン・ 58
化合物を用いた抗癌用組成物
- 発明者：畠恵司、堀 一之
藤本康雄、飯田隆（日本大学文理学部）
坂本賢二、向山俊之（(株)坂本バイオ）
公開番号：特開 2009-191018
公開日：2009 年 8 月 27 日
- ⑤ 発明の名称：架橋ネットワーク構造が形成された食品とその製造方法・・・・59
- 発明者：木村 貴一、高橋慶太郎
工藤 道男（株式会社道光産業）
公開番号：特開 2009-201479
公開日：2009 年 9 月 10 日

- ⑥ 発明の名称：エタノール製造法・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 59
発明者：進藤 昌
公開番号：特開 2009-296983
公開日：2009 年 12 月 24 日
- ⑦ 発明の名称：米糠発酵素材の脂質代謝改善作用・・・・・・・・・・ 60
発明者：畠 恵司、戸枝 一喜、樋渡 一之
佐々木 浩一（秋田県農林水産技術センター畜産試験場）
菊池 継夫、大友 理宣（秋田銘醸(株)）
永田 新、松橋 亨（(財)あきた企業活性化センター）
公開番号：特開 2010-18588
公開日：2010 年 1 月 28 日
- ⑧ 発明の名称：ソヤサポニン I を含有するレニン阻害物質・・・・・・・・ 60
発明者：高橋砂織、堀 一之、樋渡一之
山田清繁、新保守（株式会社ヤマダフーズ）
公開番号：特開 2010-18552
公開日：2010 年 1 月 28 日
- ⑨ 発明の名称：新規酵母およびそれを用いたエタノール製造法・・・・・・・・ 61
発明者：進藤 昌
公開番号：特開 2010-29099
公開日：2010 年 2 月 12 日

① 発明の名称：光触媒をコーティングした多孔質担体によるバイオリクター

発明者：進藤 昌

毛塚昌道、吉井哲朗、関口幸成（日本板硝子株式会社）

公開番号：特開 2008-19924

公開日：2008 年 12 月 28 日

【要約】

[課題]

雑菌の混入を防止できるバイオリクターを提供すること。

[解決手段]

光触媒と多孔質材料を組合わせた担体に光を照射しながら反応させることにより、担体表面には光触媒による抗菌効果を発現させながら、担体内部には酵母や細胞などの育成できる環境が確保できる方法である。

② 発明の名称：エタノール製造法

発明者：進藤 昌

日置 進、伊藤 新（秋田県立大学）

公開番号：特開 2009-22165

公開日：2009 年 2 月 5 日

【要約】

[課題]

本発明では、木質系バイオマスを微粉碎し、酵素と酵母や細菌を同時に反応させる並行複発酵を行う技術を用いたエタノール生産方法を開発することを目的とするものである。

[解決手段]

上記木質系バイオマスを物理的方法で粒径 100 ミクロン以下の微粉体とし、セルラーゼやヘミセルラーゼを用いてグルコースなどの糖を生産させる。並行して生産された糖を酵母や細菌などによりすみやかに高効率でエタノールに変換する方法を提供する。

③ 発明の名称：ルペオール含有医薬組成物、食品及び飼料

発明者：畠恵司

佐々木裕樹、河原崎哲、菅原美貴子（株）スカイライト・バイオテック）

駒井 三千夫、白川 仁、アルディアンシャー

（東北大学大学院農学研究科）

公開番号：特開 2009-29778

公開日：2009年2月12日

【要約】

[課題]

ルペオールの生理機能に関しては、抗炎症作用や抗腫瘍作用など幾つか報告されているが、ヒトを始めとする哺乳類の脂質代謝改善作用に関する報告はない。

[解決手段]

ルペオール又はその誘導体が、内臓脂肪増加抑制用、抗肥満用、超低比重リポタンパク質中性脂肪増加抑制用、若しくは血圧降下用を有することを検証した。本発明は、上記脂質代謝改善作用を有するルペオール又はその誘導体を含有する食品、及びルペオールを含有する飼料特に家畜用飼料又は愛玩動物用飼料の発明に寄与するものである。

④ 発明の名称：抗癌剤として有用なトリテルペン化合物及び該トリテルペン化合物を用いた抗癌用組成物

発明者：畠恵司、堀 一之

藤本康雄、飯田隆（日本大学文理学部）

坂本賢二、向山俊之（(株)坂本バイオ）

公開番号：特開 2009-191018

公開日：2009年8月27日

【要約】

[課題]

新規ルパン型トリテルペンの構造と活性相関については不明な点が多く、薬剤開発において、前述課題を解決することが急務であった。

[解決手段]

新規ルパン型トリテルペンを合成し、幾つかの化合物に、白血病ならびに肺がんを始めとする腫瘍に対して有効であることを確認した。

⑤ 発明の名称：架橋ネットワーク構造が形成された食品とその製造方法

発明者：木村 貴一、高橋慶太郎

工藤 道男（株式会社道光産業）

公開番号：特開 2009-201479

公開日：2009年9月10日

【要約】小麦の持つ最も特徴的な成分であるグルテンを代替する食品素材の開発を課題とし、従来技術では不可能であった米粉をはじめとする実質的にグルテンを含まない澱粉または穀粉を用いた煮込み麺やパンおよび再生粒の開発を課題とした。澱粉と水とを、重量比の割合が1:1.5~1:30になるように混合し、均一になるように攪拌しながら加熱処理することで得られた澱粉膨潤化物からなるネットワーク構造体骨格中に、単独で加水加熱処理しただけでは実質的にネットワーク構造を形成し得ない異種の食品素材を均一に混合することを特徴とする、前記ネットワーク構造体骨格中に前記異種の食品素材が包み込まれた構造を有する食品生地の製造方法を提供すると共に、前記のようにして得られた食品生地を、所定の形状に成形した後、加熱処理して膨潤化させることを特徴とする、架橋ネットワーク構造が形成された食品の製造方法を提供する。

本特許により、従来法ではグルテンを添加しないと製造不可能であった煮込み米粉麺をグルテンフリーで製造できる。また、本特許により、グルテンフリー米粉パンやグルテンフリー再生米粒の製造が可能である。米粉の他、きな粉、そば粉、アピオス粉、おからといった、単独では成形困難な食材を、自由に成形できる。

⑥ 発明の名称：エタノール製造法

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2009-296983

公開日：2009年12月24日

【要約】

[課題]

リグノセルロース系バイオマスの加水分解された糖化液に含まれる6炭糖、5炭糖を効率よくエタノールに変換するエタノール製造方法の提供

[解決手段]

リグノセルロース系バイオマスから発酵によってエタノールを製造する方法において、糖化液を酵母または細菌を使用して6炭糖からの発酵を行わせながら、同時に不活性ガスを供給しながらエタノールを除去し、1次発酵後の発酵液に、発酵液からの菌体分離を行うことなく5炭糖発酵微生物を使用して、5炭糖からの発酵を行わせることを特徴とするエタノール製造方法

⑦ 発明の名称：米糠発酵素材の脂質代謝改善作用

発明者：畠 恵司、戸枝 一喜、樋渡 一之

佐々木 浩一（秋田県農林水産技術センター畜産試験場）

菊池 継夫、大友 理宣（秋田銘醸(株)）

永田 新、松橋 亨（(財)あきた企業活性化センター）

公開番号：特開 2010-18588

公開日：2010 年 1 月 28 日

【要約】

[課題]

発明者らはこれまで米糠発酵素材の製造法については確立したが、本素材の生理機能及び利用法については不明な点が多い。また、新規生理機能性解明は本素材の利活用上有利である。

[解決手段]

米糠発酵素材の哺乳類に対する脂質異常症に対する影響を検討した結果、血中中性脂肪値の正常化ならびに善玉コレステロールの増加等を解明した。

⑧ 発明の名称：ソヤサポニン I を含有するレニン阻害物質

発明者：高橋砂織、堀 一之、樋渡一之

山田清繁、新保守（株式会社ヤマダフーズ）

公開番号：特開 2010-18552

公開日：2010 年 1 月 28 日

【要約】

[課題]

血圧上昇因子の一つであるレニンを阻害することによって血圧降下作用をもたらす、副作用の恐れが少ない食物由来のレニン阻害物質を精製し、構造を決定するとともに、長期にわたって継続できるレニン阻害剤を提供する。

[解決手段]

ダイズ胚軸を加熱処理し、胚軸由来の抽出液をクロマトグラフィー処理したソヤサポニン I または医薬として許容されるその塩よりなるレニン阻害剤およびソヤサポニン I を有効成分として含有する血圧降下剤。

⑨ 発明の名称：新規酵母およびそれを用いたエタノール製造法

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2010-29099

公開日：2010年2月12日

【要約】

[課題]

リグノセルロース系バイオマスの加水分解された糖化液に含まれる6炭糖、5炭糖を効率よくエタノールに変換する新規酵母およびそれを用いたエタノール製造方法の提供

[解決手段]

ピキア スティピティス(*Pichia stipitis*)NBRC1687に由来し、8%エタノール存在下で生育可能であり、かつ親株よりエタノール生産能が高いピキア スティピティスを用いることを特徴とするエタノールの製造方法。

5. 学会発表要旨(57件)

1) 発表学会：2009年度日本生化学会東北支部大会・・・・・・・・・・63

発表日と場所：2009年5月9日、東北大学（仙台市）

演題名：Sf-9昆虫細胞におけるプロレニンの発現とプロレニンプロセッシング
酵素の動態

発表者：安和広乃¹、後藤猛¹、菊地賢一¹、葦澤悟²、樋渡一之³、堀一之³、
○高橋砂織³

(¹秋田大・工学資、²(独)食品総合研究所、³秋田県総合食品研究所)

2) 発表学会：4th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediator・・・・・・・・・・64

発表日と場所：2009年5月28日、東京大学（東京都）

演題名：Evaluation of essential oils by activation of PPARs and suppression of COX-2
expression

発表者：Michiko Katsukawa¹, Rieko Nakata¹, Kazuyuki Hori², Saori Takahashi²,
Hiroyasu Inoue¹

(¹Nara Women's University, ²Akita Research Institute of Food and Brewing)

3) 発表学会：日本ビタミン学会第61回大会・・・・・・・・・・64

発表日と場所：2009年5月30日、京都学園大学（京都市）

演題名：PPAR および COX-2 への作用を指標としたバラ油成分の
機能性評価

発表者：勝川路子¹、中田理恵子¹、堀一之²、高橋砂織²、井上裕康¹

(¹奈良女子大学・食物栄養、²秋田県総合食品研究所)

4) 発表学会：1st International Conference of D-Amino Acid Research・・・・・・・・65

発表日と場所：2009年7月4日、淡路夢舞台国際会議場（淡路市）

演題名：Primary structure and functional expression in *Escherichia coli* of novel D-aspartyl
endopeptidase, paenidase from prokaryote

発表者：Satoru Nirasawa (JIRCAS) and Saori Takahashi (ARIF)

5) 発表学会：計測自動制御学会東北支部第251回研究集会・・・・・・・・66

発表日と場所：2009年7月15日、秋田大学

演題名：事象関連電位を指標とした食品評価に関する実験的検討
—米飯の外観評価—

発表者：○中島恵子¹、田中元志¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、
秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

6) 発表学会：日本動物細胞工学会 2009 年度大会 66

発表日と場所：2009 年 7 月 25 日、つくば国際会議場（つくば市）

演題名：肝臓細胞より分泌されるリポタンパク質定量による新規高脂血症改善薬
探索法の開発

発表者：畠恵司（秋田県総食研）、木村文子、戸嶋彦、高橋純一郎、松本幸江、佐々
木裕樹（(株)スカイライト・バイオテック）、大友理宣、高嶋亜希子、菊池
継夫（秋田銘醸(株)）

7) 発表学会：日本食品工学会第 10 回年次大会 67

発表日と場所：2009 年 8 月 1 日、石川県立大学

演題名：事象関連電位を利用した食品の品質評価に向けた基礎的試行

発表者：高橋徹¹⁾、熊谷昌則¹⁾、佐藤文華¹⁾、菅原千秋¹⁾、加藤明津子¹⁾、樋渡一之
¹⁾、堀一之¹⁾、秋山美展²⁾（¹⁾秋田県総合食品研究所、²⁾秋田県立大学）

8) 発表学会：電気関係学会東北支部連合大会 68

発表日と場所：2009 年 8 月 20 日、東北文化学園大学

演題名：画像提示による食品の好み評価時の事象関連電位計測

発表者：○田中元志¹⁾、中島恵子¹⁾、井上 浩¹⁾、新山喜嗣¹⁾、高橋徹²⁾、
熊谷昌則²⁾、秋山美展³⁾（¹⁾秋田大学、²⁾秋田県総食研、³⁾秋田県立大学）

9) 発表学会：日本調理科学会平成 21 年度大会 68

発表日と場所：2009 年 8 月 28 日、同志社女子大学（京都市）

演題名：秋田県の伝統食品「こざきねり」の製造技術の確立とその品質評価発表者：

発表者：菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，○高橋徹，熊谷昌則

10) 発表学会：第 9 回食品酵素化学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会 69

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：食品の嗜好性評価時における脳血流動態の分析

発表者：熊谷昌則¹⁾、○高橋徹¹⁾、佐藤文華¹⁾、菅原千秋¹⁾、加藤明津子¹⁾、樋渡一
之¹⁾、堀一之¹⁾、高橋砂織¹⁾、秋山美展²⁾（¹⁾秋田県総合食品研究所，²⁾秋田
県立大学）

11) 発表学会：第 9 回食品酵素科学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会 69

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：ストレス処理による麹菌(*Aspergillus oryzae*)の mRNA スプライシング変動と
DNA transposon *Crawler* の転移活性化

発表者：小笠原博信¹⁾、秦洋二²⁾、高橋砂織¹⁾、五味勝也³⁾

(¹秋田県総食研、²月桂冠・総研、³東北大院農・生物産業創成)

12) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・70

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：事象関連電位を利用した新規食品評価システムの開発

発表者：高橋徹¹、熊谷昌則¹、佐藤文華¹、菅原千秋¹、加藤明津子¹、
樋渡一之¹、堀一之¹、高橋砂織¹、秋山美展²

(¹秋田県総合食品研究所、²秋田県立大学)

13) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・71

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：ルペオールの脂質代謝改善作用

発表者：畠恵司（秋田県総食研）

14) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・72

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：肝臓細胞より分泌されるリポタンパク質定量による新規高脂血症改善薬
評価法の開発

発表者：○木村文子、戸嶋彦、松本幸江、高橋純一郎（(株)スカイライト・バイオテック）、畠恵司（秋田県総食研）

15) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・73

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：米糠乳酸発酵素材（爛漫ギャバ液）の新規機能性解明

発表者：○大友理宣、高嶋亜希子、菊池継夫（秋田銘醸(株)）、
畠恵司、戸枝一喜（秋田県総食研）

16) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・74

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：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
部位特異的変異による活性部位の同定

発表者：○葺澤悟（国際農林水産業研究センター）、高橋砂織（秋田県総合食品研究所）

17) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・75

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養におけるプロレニンプロセッシング

酵素の特性とレニン過剰分解の抑制

発表者：後藤 猛¹、安和広乃¹、日景翔輝¹、菊地賢一¹、葦澤 悟²、高橋砂織³
(¹秋田大・工学資源、²国際農林業研究セ、³秋田県総食研)

18) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・76

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス遺伝子由来キチナーゼの性質

発表者：高橋砂織、樋渡一之、菊地賢一*、後藤 猛*
(秋田県総食研、*秋田大・工学資源)

19) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・77

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：豆類由来レニン阻害物質：大豆サポニンがレニン活性を阻害する

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、樋渡一之¹、小笠原博信¹、渡辺隆幸¹、
熊谷昌則¹、鈴木奈緒¹、菅原真理¹、新保 守²、山田清繁²、菊地賢一³、
後藤 猛³ (¹秋田県総食研、²(株)ヤマダフーズ、³秋田大・工学資源)

20) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会・・・78

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養系におけるキチナーゼの発現

発表者：高橋砂織、樋渡一之、菊地賢一*、後藤 猛*、
(秋田県総合食品研究所、*秋田大・工学資源学部)

21) 発表学会：第56回日本栄養改善学会学術総会・・・79

発表日と場所：2009年9月4日、札幌市コンベンションセンター

演題名：味覚センサを用いた「とろみ調整食品」による味質変化の定量的評価

発表者：○熊谷昌則¹、佐藤文華¹、中村愛美²、吉田智²、鈴木靖志²
¹秋田県総合食品研究所、²サラヤ株式会社商品開発本部

22) 発表学会：2009 日本感性工学会年次大会・・・79

発表日と場所：2009年9月8日 芝浦工業大学（東京都）

演題名：経験価値設計による地域ブランド戦略

発表者：○高畠 聡

23) 発表学会：日本食品科学工学会 第56回大会・・・80

発表日と場所：2009年9月10日、名城大学

演題名：嗜好性に優れた低ナトリウム調味塩の開発

—梅を利用した塩の呈味特性評価—

発表者：○石川匡子¹、小笠原美穂¹、菅原弘人¹、熊谷昌則²、秋山美展¹、
松永隆司¹（秋田県立大学生物資源科学部、²秋田県総合食品研究所）

24) 発表学会：日本食品科学工学会第 56 回大会 **81**

発表日と場所：2009 年 9 月 11 日、名城大学（愛知県名古屋市）

演題名：玄米貯蔵した古米に関する研究

発表者：○大能俊久、戸松誠、高島聡、塚本研一

25) 発表学会：日本食品科学工学会第 56 回大会 **82**

発表日と場所：2009 年 9 月 11 日、名城大学（名古屋市）

演題名：食物由来レニン阻害物質

—大豆由来レニン阻害物質の精製と構造解析—

発表者：高橋砂織、堀一之、新保守*、渡一之、後藤猛、山田清繁*

(*株式会社ヤマダフーズ)

26) 学会発表：European Congress of Biotechnology **82**

発表日と場所：2009 年 9 月 15 日、スペイン バルセロナ

演題名：Production of bioethanol with novel two-step fermentation system using
Saccharomyces cerevisiae and *Pichia stipitis* from *Salix pet-susu*.

発表者：進藤 昌、西田孝伸

27) 発表学会：日本応用糖質科学会平成 21 年度大会 **83**

発表日と場所：2009 年 9 月 16 日、弘前大学（弘前市）

演題名：モチ加工特性の異なる糯米品種のデンプン構造と物性の関係および
生化学的分析

発表者：○円谷アンナ¹、高橋 徹²、結城和博³、片山寿人⁴、中村保典¹、藤田直子¹

¹⁾ 秋田県立大学、²⁾ 秋田県総食研、³⁾ 山形県農総研、⁴⁾ 滋賀農技振セ

28) 発表学会：平成 21 年度 日本醸造学会大会 **84**

発表日と場所：2009 年 9 月 17 日、北とぴあ（東京都）

演題名：フロキシシン B 含有平板培地を用いた各種清酒酵母の識別と
現場醸造試験

発表者：渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛

29) 発表学会：生体医工学シンポジウム 2009 **85**

発表日と場所：2009 年 9 月 18 日、千葉大学

演題名：**ERP** を指標とした食品評価に関する実験的検討

— 寿司画像を用いた好み評価—

発表者：○田中元志¹、中島恵子¹、井上 浩¹、新山喜嗣¹、高橋 徹²、
熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

30) 発表学会：化学系学協会東北大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 85

発表日と場所：2009年9月20日、日本大学工学部（郡山市）

演題名：味覚センサを用いた食品のゾル化に伴う味質変化の評価（第2報）

発表者：○熊谷昌則¹、佐藤文華¹、高橋 徹¹、高橋砂織¹、中村愛美²、吉田智²、
鈴木靖志²（¹秋田総合食品研究所、²サラヤ株式会社商品開発本部）

31) 発表学会：第61回日本生物工学会大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 86

発表日と場所：2009年9月24日、名古屋大学（愛知県）

演題名：麹菌(*Aspergillus oryzae*)DNA トランスポゾン *Crawler* の転移活性を
利用した新規育種法の検討

発表者：小笠原博信¹、佐藤勉²、今野宏²、秦洋二³、五味勝也⁴

（¹秋田県総食研・応用発酵、²㈱秋田今野商店、²月桂冠・総研、
³東北大院農・生物産業創成）

32) 発表学会：日本分析化学会第58年会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 87

発表日と場所：2009年9月26日、北海道大学

演題名：近赤外分光分析法を用いた煎餅の水分センサーの開発に関する基礎検討

発表者：○竹山 舞子¹・高橋 朋也¹・李 華¹・熊谷 昌則²・菊地 良栄¹・
藤原 一彦¹・小川 信明¹（¹秋田大学、²秋田県総食研）

33) 発表学会：第148回日本獣医学会学術集会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 87

発表日と場所：2009年9月27日、とりぎん文化会館（鳥取市）

演題名：キク科植物由来ルペオールのメラノーマ細胞分化誘導活性

発表者：畠 恵司、高橋砂織（秋田県総食研）、荻原喜久美、柄 武志、南 三郎、
岡本芳晴（鳥取大学）

34) 発表学会：第22回動物細胞工学シンポジウム・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 88

発表日と場所：2009年10月14日、東京工業大学（東京都）

演題名：肝臓細胞を用いた新規脂質改善薬探索法

発表者：畠 恵司

35) 発表学会：第82回日本生化学会大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 89

発表日と場所：2009年10月23日、神戸国際会議場（神戸市）

演題名：PPAR 活性化および COX-2 発現抑制を指標としたバラ油の機能性評価
発表者：勝川路子¹、長澤聡子¹、高井綾子¹、中田理恵子¹、堀一之²、高橋砂織²、
井上裕康¹（¹奈良女子大・食物栄養、²秋田県総食研）

36) 発表学会：第 82 回日本生化学会大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 89

発表日と場所：2009 年 10 月 23 日、神戸国際会議場（神戸市）

演題名：レニンの昆虫細胞発現系の構築とレニン阻害物質

発表者：高橋砂織、安和広乃¹、堀 一之、樋渡一之、菊地賢一¹、
後藤 猛¹（秋田県総食研、¹秋田大学・工学資源）

37) 発表学会：第 13 回商品開発管理学会大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 90

発表日と場所：2009 年 11 月 8 日、宮城大学（宮城県仙台市）

演題名：地方公設試と企業が共同で開発した新商品事例 -まるごと秋田みそ-

発表者：尾張かおる、渡辺隆幸*、齋藤文信**

（秋田県産業経済労働部食彩あきた推進室、*秋田県総食研、**秋田県農林水産技術センター企画経営室）

38) 発表学会：ニューロコンピューティング(NC)研究会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 90

発表日と場所：2009 年 11 月 12 日、東北大学

演題名：食品画像提示による好み評価時の事象関連電位計測

発表者：○田中元志¹、本間智大¹、中島恵子¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、
熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

39) 発表学会：第 43 回日本生体医工学会東北支部大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 91

発表日と場所：2009 年 11 月 21 日、福島大学

演題名：食品の好み評価時の ERP 成分 P300 に関する検討

発表者：○本間智大¹、田中元志¹、中島恵子¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、
熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

40) 発表学会：第 43 回日本生体医工学会東北支部大会・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 91

発表日と場所：2009 年 11 月 21 日、福島大学

演題名：食品画像を用いた画質評価時の ERP 波形に関する一検討

発表者：○中島恵子¹、田中元志¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、
秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

41) 発表学会：Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009・・・・・・・・・・ 92

発表日と場所：2009 年 11 月 24 日、神戸国際会議場（神戸市）

演題名 : Characterization of prorenin processing enzyme responsible for *in situ* active human renin production by baculovirus-infected Sf-9 cells and inhibition by excessive processing.

発表者 : Takeshi Gotoh¹, Hirono Awa¹, Shouki Hikage¹, Ken-Ichi Kikuchi¹, and Saori Takahashi² (¹Akita University, ²Akita Research Institute of Food and Brewing)

42) 学会発表 : 2009MRS Fall meeting (Materials and Research Society) 93

発表日と場所 : 2009年11月30日、アメリカ ボストン

演題名 : Bioethanol production from various cellulosic biomasses using novel two step fermentation system.

発表者 : 進藤 昌、西田孝伸、戸松さやか、杉本勇人

43) 発表学会 : 第 32 回日本分子生物学会 94

発表日と場所 : 2009年12月9日、パシフィコ横浜 (横浜市)

演題名 : Site-directed mutagenesis of bacterial D-aspartyl endopeptidase (paenidase)

発表者 : Satoru Nirasawa¹, Saori Takahashi² (¹ Japan International Research Center for Agricultural Sciences, ² Akita Research Institute of Food and Brewing)

**44) 発表学会 : 平成 21 年度 第 9 回 産総研・産技連 LS-BT 合同発表会
オーガナイズドセッション A 94**

発表日と場所 : 2010年2月4日、産業総合研究所 (つくば市)

演題名 : 中・高齢者の心身両面の健康を支える食品の開発と評価ネットワークの構築

発表者 : 高橋徹

45) 発表学会 : 平成 21 年度 第 9 回 産総研・産技連 LS-BT 合同発表会 95

発表日と場所 : 2010年2月4日、産業総合研究所 (つくば市)

演題名 : 生体計測によるテクスチャー評価ならびに中高齢者の嗜好に合致した食品の開発

発表者 : 高橋徹¹⁾、早川文代²⁾、熊谷昌則¹⁾、秋山美展³⁾、神山かおる²⁾

¹⁾ 秋田県総食研、²⁾ 農研機構食総研、³⁾ 秋田県立大学

46) 発表学会 : 第 44 回秋田化学技術協会技術発表会 96

発表日と場所 : 2010年3月5日、秋田大学

演題名 : Sf-9 昆虫細胞-バキュロウイルス発現系由来アスパルティック
プロテアーゼ (SAP) の特性解

発表者：(秋田大・工資) 小野洋輝, 後藤猛, 菊池賢一,
(国際農研セ) 葦澤悟、(秋田県総食研) 高橋砂織

47) 学会発表：東京大学・新日本石油 組織連携公開シンポジウム 96

発表日と場所：2010年3月9日、東京大学（東京都）

演題名：セルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産技術の開発

発表者：進藤 昌

48) 発表学会：電子情報通信学会 2010年総合大会 97

発表日と場所：2010年3月16日、東北大学

演題名：瓶を例とした食品の外観評価時のERP計測

発表者：○田中元志¹、本間智大¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、
秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

49) 発表学会：The 7th International Aspergillus Meeting (Asperfest7)

10th European Conference on Fungal Genetics (ECFG10) 98

発表日と場所：2010年3月28日、4月1日、NH Conference Centre

（Leeuwenhorst、オランダ）

演題名：Transposon mutagenesis using a resident DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*

発表者：Hironobu Ogasawara¹, Tsutomu Satoh², Hiroshi Konno², Yoji Hata³,
Saori Takahashi¹, and Katsuya Gomi⁴

¹ Akita Res. Inst. Food and Brewing, ² Akita Konno Co. Ltd., ³ Research
Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd. ⁴ Graduate School of Agricultural Science,
Tohoku University.

50) 発表学会：2010年度日本農芸化学会大会 99

発表日と場所：2010年3月28日、東京大学駒場キャンパス

演題名：サポニン類によるレニン阻害作用 —構造と阻害活性相関解析—

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、保莉美佳¹、後藤 猛²

（¹秋田県総食研、²秋田大学・工学資源）

51) 発表学会：2010年度日本農芸化学会大会 99

発表日と場所：2010年3月28日、東京大学駒場キャンパス

演題名：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）の部位特異的変異法
による特性解明

発表者：葦澤 悟、高橋 砂織¹（国際農研セ、¹秋田県総食研）

52) 発表学会 : 2010 年度 日本農芸化学学会大会 100

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学駒場キャンパス (東京都目黒区)

演 題 : ダイズサポニンがレニン阻害して SHR の血圧上昇を抑制する

発表者 : 樋渡一之^{1,2}、堀一之²、白川仁¹、鈴木奈緒²、駒井三千夫¹、

○高橋砂織²

¹東北大・院農・栄養、²秋田県総食研

53) 学会発表 : 2010 年度日本農芸化学学会大会 100

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学 (東京都)

演題名 : セルロース系バイオマスからの新規発酵システムによるバイオエタノール生産

発表者 : 進藤 昌、西田孝伸、牟田口梢栄¹、上村 毅¹ (秋田総食研、新日本石油 (株)¹)

54) 発表学会 : 2010 年度日本農芸化学学会大会 101

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学 (東京都)

演題名 : セルロース系バイオエタノール製造残渣の有効利用

発表者 : ○戸松さやか、進藤昌

55) 学会発表 : 2010 年度日本農芸化学学会大会 101

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学 (東京都)

演題名 : 突然変異誘導処理による *Pichia stipitis* 高アルコール産生株の育種および導入された変異の検証

発表者 : 西田孝伸、進藤昌

56) 学会発表 : 2010 年度日本農芸化学学会大会 102

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学 (東京都)

演題名 : β -グルコシダーゼ発現 *Pichia pastoris* によるセロビオースからのエタノール生産

発表者 : 竹本 浩、岡本道子¹、増田祥子、五十嵐圭日子¹、鮫島正浩¹、進藤 昌 (秋田総食研、¹東大院農生科)

57) 発表学会 : 2010 年度日本農芸化学学会大会 102

発表日と場所 : 2010 年 3 月 29 日、東京大学駒場キャンパス

演題名 : 納豆中のアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害物質の精製と高 ACE 阻害活性を有する納豆の開発

発表者 : 嶋影 逸^{1)*}、高橋砂織²⁾、樋渡一之²⁾、新保 守¹⁾、山田清繁¹⁾

1)株式会社ヤマダフーズ、2)秋田県総合食品研究所

1) 発表学会：2009年度日本生化学会東北支部大会

発表日と場所：2009年5月9日、東北大学（仙台市）

演題名：Sf-9 昆虫細胞におけるプロレニンの発現とプロレニンプロセッシング
酵素の動態

発表者：安和広乃¹、後藤猛¹、菊地賢一¹、葦澤悟²、樋渡一之³、堀一之³、○高橋
砂織³（¹秋田大・工学資、²（独）食品総合研究所、³秋田県総合食品研究所）

目的：レニン¹はレニン・アンギオテンシン系における血圧調節機構において律速酵素として重要な役割を担っている。本酵素は非常に特異性の高いアスパルテックプロテアーゼで、主に腎臓の傍糸球体細胞で生合成されている。これまで、組換え型ヒトレニンは、CHO 細胞、大腸菌や酵母などでその発現が試みられている。しかしながら、発現量や巻き戻しなどの問題が指摘されている。最近、我々は、組換え型ヒトプレプロレニンを導入したバキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養系において培養最終期に活性型レニンが発現することを見出した。本研究においては、バキュロウイルス感染 Sf-9 細胞培養系に見出されたプロレニンプロセッシング酵素(PPE)の動態とレニンの生産性について検討した。

方法：昆虫細胞は *Spodoptera frugiperda* (Sf-9)を、また、無血清培地は Sf-900II(Gibco)を用いた。指数増殖期にある Sf-9 細胞懸濁液にヒトプレプロレニン遺伝子導入組換えバキュロウイルス(vhpR)を種々の感染多重度(MOI)で接種した。レニン及びプロレニンの発現は、抗ヒトレニン抗体を用いた Western Blotting により検出した。レニン活性は、アンギオテンシンノーゲンのレニン認識部位を基に設計した蛍光消光基質 [Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-His-Lys (2, 4 dinitro- phenyl (Dnp))-D-Arg-D-Arg-NH₂]を用いて測定した。PPE の活性は、Sf-9 細胞培養系で発現した活性型レニンの N 末端配列を基に PPE の基質認識配列を予想して設計した蛍光消光基質 [Nma-Leu-Thr*Leu-Gly-Asn-Lys(Dnp)- D-Arg-D-Arg-NH₂]を用いて測定した。

結果と考察：種々の MOI 比で Sf-9 細胞にウイルスを感染させた後、経時的にプロレニン、レニン及び PPE の発現を観察した。その結果、MOI = 1.0 pfu/cell において培養 5 日目にレニンの発現が最大となった。また、各 MOI 比においてプロレニンからレニンへの変換は PPE の発現と対応することが判明した。次に、感染培養 5 日目の培地よりペプスタチンアフィニティークロマトグラフィー、ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィーなどを用いて PPE の精製を試みた。精製した PPE の分子量は、SDS-PAGE で 32 kDa と求められた。また、各種阻害剤による検討から、PPE はシステインプロテアーゼであることが示された。一方、Sf-9 細胞で発現したプロレニン標品を用いて、精製した PPE によるプロレニンの活性化を検討した結果、PPE の濃度依存的にプロレニンからレニンへの変換とプロレニンの活性化が認められた。さらに、PPE の N 末端配列解析から PPE はバキュロウイルス遺伝子由来のシステインプロテアーゼであることが分かった。

2) 発表学会：4th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediator

発表日と場所：2009年5月28日、東京大学（東京都）

演題名：Evaluation of essential oils by activation of PPARs and suppression of COX-2 expression

発表者： Michiko Katsukawa¹, Rieko Nakata¹, Kazuyuki Hori², Saori Takahashi²,
Hiroyasu Inoue¹ (¹Nara Women's University, ²Akita Research Institute of Food and Brewing)

Cyclooxygenase-2 (COX-2), the rate-limiting enzyme in prostaglandin biosynthesis, plays a key role in inflammation, tumorigenesis, and circulatory homeostasis. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are members of a nuclear receptor family of ligand-dependent transcription factors. The PPAR subfamily comprises three isotypes, PPAR α , β/δ and γ which play various roles in lipid and carbohydrate metabolism, cell proliferation and differentiation, and inflammation; they are considered molecular targets against lifestyle-related diseases. PPARs are involved in the control of COX-2 expression and vice versa. Several natural chemicals such as resveratrol (1, 2) have been identified as suppressors of COX-2 expression and activators of PPARs. These two properties targeted to COX-2 and PPARs will be useful in evaluating functional food components against lifestyle-related diseases. In this context, we evaluated commercially available lipids from various plants by activation of PPARs and suppression of COX-2 expression in cell-based transfection assays, and found that six essential oils from thyme, rose, clove, fennel, eucalyptus, and bergamot, have these properties. Moreover, from thyme oil, we identified carvacrol as a major component of the activator of PPAR α and γ and suppressor of COX-2 expression (manuscript in revision). Similarly, from rose oil, we identified two distinct components with different properties against PPARs and COX-2. These results will be important in understanding the anti-lifestyle-related disease properties of essential oils.

1) Subbaramaiah, WJ et al. *J. Biol. Chem.* **273**, 21875-21882 (1998)

2) Inoue, H et al. *Neurosci. Lett.* **352**, 203-206 (2003)

3) 発表学会：日本ビタミン学会第61回大会

発表日と場所：2009年5月30日、京都学園大学（京都市）

演題名：PPAR および COX-2 への作用を指標としたバラ油成分の
機能性評価

発表者：勝川路子¹、中田理恵子¹、堀一之²、高橋砂織²、井上裕康¹

(¹奈良女子大学・食物栄養、²秋田県総合食品研究所)

【目的】 PPAR は 3 種類のサブタイプ α 、 β/δ 、 γ を持つ核内受容体であり、生活習慣病予防の標的として注目されている。我々は、 PPAR γ が COX-2 の細胞特異的発現調節に関与すること、赤ワインに含まれるポリフェノール・レスベラトロールが COX-2 発現を細胞選択的に抑制すると共に、 PPAR のトリプルアゴニストとなることを見出し、 PPAR アゴニスト活性および COX-2 発現抑制効果を指標とした、種々

の食品成分の機能性評価を行っている。この評価法を用いていくつかの精油成分の機能性したところ、タイム油から両効果をもつ成分が同定できた。本発表では、バラ油成分の PPAR 活性化能および COX-2 発現抑制効果について報告する。【方法】 PPAR の選択的アゴニスト活性はウシ血管内皮細胞に PPRE レポーターベクターと各 PPAR 発現ベクターを共導入し、バラ油成分添加による PPAR 活性化を測定した。COX-2 発現抑制は同細胞に COX-2 レポーターベクターと PPAR γ 発現ベクターを共導入後、バラ油成分を添加し、リポポリサッカライド刺激による COX-2 発現誘導に対する抑制効果を測定した。さらに、COX-2 の mRNA レベルおよびタンパク質レベルでの抑制効果を測定した。【結果】 バラ油の主要成分であるシトロネロール、ゲラニオールは、PPAR の選択的アゴニスト活性を持つと共に、COX-2 発現抑制効果をもつことがわかった。さらに、これらバラ油成分の COX-2 発現抑制効果は、mRNA レベル、及びタンパク質レベルでも確認した。

4) 発表学会：1st International Conference of D-Amino Acid Research

発表日と場所：2009年7月4日、淡路夢舞台国際会議場（淡路市）

演題名：Primary structure and functional expression in *Escherichia coli* of novel D-aspartyl endopeptidase, paenidase from prokaryote

発表者：Satoru Nirasawa and Saori Takahashi

Paenidase is the first microorganism-derived D-aspartyl endopeptidase that specifically recognizes an internal D-Asp residue to cleave [D-Asp]-X peptide bonds (S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**,197-202, 2006). This enzyme specifically hydrolyze succinyl-D-aspartic acid α -(*p*-nitroanilide) and succinyl-D-aspartic acid α -(4-methylcoumaryl-7-amide) to generate *p*-nitroaniline and 7-amino-4-methylcoumarin, and internally cleave the synthetic peptide [D-Asp]⁷ amyloid β (A β) (D-A-E-F-R-H- [D-Asp]-G-S-Y) at [D-Asp]⁷-G⁸. In this study, the whole gene of paenidase precursor was cloned by PCR and expressed in *E. coli* to investigate the structure and function of the enzyme. Nucleotide sequencing of the amplified fragments by thermal asymmetric interlaced PCR (TAIL-PCR) revealed that the paenidase precursor was consisted of 322 amino acid residues of the mature region and 197 amino acid residues of the N-terminal extension peptide. The amino acid sequence deduced from the nucleotide sequence of the paenidase gene was identical to that of the native enzyme. The molecular mass calculated from amino acid residues of the mature region (34,980) was very similar to that of native paenidase I (34,748) measured by MALDI-TOF/MS, as reported previously (Takahashi *et al.* 2006). Amino acid sequence similarity was confirmed between paenidase and several β -lactamases, with matches of 35-39% seen on a BLAST database search. In addition, paenidase was classified into peptidase family S12 based on a MEROPS database search. Family S12 contains serine-type D-Ala-D-Ala carboxypeptidases that have three active site residues (Ser, Lys and Tyr) in the motifs Ser-Xaa-Thr-Lys and Tyr-Xaa-Asn. These motifs were conserved in the primary structure of paenidase. *E. coli* transformed by

plasmid coding the paenidase precursor or mature paenidase produced the proteins as soluble form and the suc-[D-Asp]-MCA-hydrolysis activity was detected. In addition, obtained enzymes also hydrolyzed suc-[D-Asp]-pNA but not suc-[D-Ala]-pNA, suc-[D-Leu]-pNA and suc-[D-Glu]-pNA. Moreover, several mutants for the putative active site residues (Ser, Lys and Tyr) of the paenidase were constructed and expressed in *E. coli* cells, whereas they showed no peptidase activity. CD and fluorescence spectra of the mutants were identical with those of the wild type. These results indicate that these residues of the paenidase are essential for the enzyme activity.

5) 発表学会：計測自動制御学会東北支部第 251 回研究集会

発表日と場所：2009 年 7 月 15 日、秋田大学

演題名：事象関連電位を指標とした食品評価に関する実験的検討
—米飯の外観評価—

発表者：○中島恵子¹、田中元志¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、
秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

ERP を指標とした食品の評価法の確立を目的とし、米飯の画像 5 枚を用いて、3 段階の評価語を定義し、「見た目のおいしさ」と「好み」の主観評価時の ERP を測定し、評価との関連を検討した。「見た目のおいしさ」の評価では、「とてもおいしそう」と評価したときに P300 の振幅と面積が大きい。しかし、「おいしそう」の評価には多くの要因が関係することから、単純な評価語を用いた、また弁別にならない、または弁別になってもよい課題の利用が示唆された。また、好み評価においては、「とても好き」のときに最も P300 の振幅および面積が大きく、好み評価の可能性が示された。今後、多くの食品について、画像の提示方法、評価語の段階数、など評価方法（課題の与え方）について検討していく予定である。

6) 発表学会：日本動物細胞工学会 2009 年度大会

発表日と場所：2009 年 7 月 25 日、つくば国際会議場（つくば市）

演題名：肝臓細胞より分泌されるリポタンパク質定量による新規高脂血症改善薬
探索法の開発

発表者：畠恵司（秋田県総食研）、木村文子、戸嶋彦、高橋純一郎、松本幸江、佐々木裕樹（(株)スカイライト・バイオテック）、大友理宣、高嶋亜希子、菊池継夫（秋田銘醸(株)）

【目的】高脂血症改善薬用の研究開発には、主に動物試験が用いられているが、個体差が少なく、開発に要する費用や時間の短縮・効率化が期待できる *in vitro* での評価系が注目を集めている。しかしながら、これまでの *in vitro* での脂質の詳細分析に関しては、感度や *in vivo* 試験との相関性など課題も多い。今回我々は、独自のゲル濾過 HPLC 法を用い、肝臓由来細胞の培養上清に分泌されるコレステロール・中性脂肪に対する影響を詳細に分析することで、高脂血症改善作用評価系の開発を行った。

【方法】ヒト肝臓癌細胞 (HepG2) の培養上清 (80 μ l) に含まれる主要リポタンパク

質（VLDL、LDL、HDL）をゲル濾過カラムにより、各々のリポタンパク質粒子サイズに従い分画後、オンラインで酵素反応をさせることにより、リポタンパク質内中の脂質（コレステロール及び中性脂肪）濃度を定量した。

【結果】培養上清に分泌される脂質を定量することで、脂質合成・分泌能の高い細胞（HepG2-Lipo 細胞）を選抜し、以下の実験に供した。HepG2-Lipo 細胞は、親株（HepG2 細胞）に比べて、9.4 倍の中性脂肪、6 倍のコレステロールを産生・分泌能を有する。Real time RT-PCR 分析の結果、HepG2-Lipo 細胞においては、脂質合成に関わる転写因子群、酵素、リポタンパク質の構成タンパク質であるアポリポタンパク質遺伝子の発現が亢進しており、先の高い脂質産生・分泌能に繋がると推察された。

次に、一般的な脂質改善薬について HepG2-Lipo 細胞における脂質産生・分泌に対する影響の確認を行った。コレステロール合成阻害剤（スタチン系薬剤）は、HepG2-Lipo 細胞のコレステロール合成・分泌のみを、フィブラート系薬剤は、同細胞からのコレステロール、中性脂肪両者の分泌量を抑制し、これらの結果は *in vivo* における両薬剤の作用と一致するものであった。

さらに、我々が高脂肪食負荷マウス/ラットに経口投与させた系において、血中中性脂肪値を正常化させることを見いだした *lupeol*（キク科植物に多量に含まれるトリテルペン）や米糠乳酸発酵素材について、本システムを用いて機能解析を行った。両者とも、HepG2-Lipo 細胞からの中性脂肪分泌量を抑制した。この結果より、*lupeol* ならびに米糠乳酸発酵素材は、肝臓における脂質合成を抑制することで、高脂肪食負荷動物の血中中性脂肪値を正常化したものと推察された。特に、*lupeol* 処理した HepG2-Lipo 細胞における発現遺伝子解析の結果、SREBP-1c や脂肪酸合成酵素といった中性脂肪合成に関わる遺伝子、apoB-100 およびミクロソーム中性脂肪転移タンパク質などリポタンパク質の構成・成熟に関わる遺伝子の発現抑制が確認された。

7) 発表学会：日本食品工学会第 10 回年次大会

発表日と場所：2009 年 8 月 1 日、石川県立大学

演題名：事象関連電位を利用した食品の品質評価に向けた基礎的試行

発表者：高橋徹¹⁾、熊谷昌則¹⁾、佐藤文華¹⁾、菅原千秋¹⁾、加藤明津子¹⁾、樋渡一之¹⁾、堀一之¹⁾、秋山美展²⁾

¹⁾ 秋田県総合食品研究所、²⁾ 秋田県立大学

【研究の背景】ヒトの嗜好は主に官能試験で評価されるが、脳波による評価系の開発も進みつつある。また、香りや咀嚼による脳に対する影響を脳波や事象関連電位から明らかにすることは、官能評価の裏付けとして重要であると考えられている。本研究では脳波計測で得られた特性値が食品の品質評価指標としてなり得るかどうか、事象関連電位（ERP）計測による評価系確立の可能性を探索している。

【実験結果】いずれの被験者でも各電極装着部位において明瞭な P300 のピークが観察された。単純足し算作業後の Pz における P300 の頂点潜時は短縮される傾向にあったが、作業前後における有意差は確認できなかった。また、各頂点潜時での振幅にも有意差は見られなかった。

8) 発表学会：電気関係学会東北支部連合大会

発表日と場所：2009年8月20日、東北文化学園大学

演題名：画像提示による食品の好み評価時の事象関連電位計測

発表者：○田中元志¹、中島恵子¹、井上 浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、

熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

1. まえがき 食品の評価では主観評価（官能評価）が主に行われているが、主観量を定量的に評価できることが望ましい。これまで、画像を提示して主観評価させたときの事象関連電位（ERP）を計測してきた。食品画像を「おいしそう」か否かで評価させた結果、認知・判断に関するERPの成分P300を検出できた。本研究では、ERPを指標とした食品の評価法を検討するために、寿司を例として、「とても好き」と「好き」の評価語を用いて、好み評価させたときのERPを計測し、好みの差の検出を試みた。

2. 実験方法 試験用画像には、寿司を撮影した画像の中から、被験者がとても好きなものと普通に好きなもの各1枚の計2枚の画像を用いた。試験用画像をランダムな順に、提示時間を2秒、休止時間（黒画像）を平均8秒（7～9秒のランダム）としてLCD（20型）上に提示した。視距離は画面高の約4倍とした。被験者には、画像が提示されたらすぐに、表1の評価語に対応するボタンを押すように指示した。脳波計測では、国際10-20法に従い、探查電極を正中線上Fz、Cz、Pzとした。脳波波形は、帯域幅0.5～300Hz、標本化周波数1kHz、16bitでコンピュータに取り込み、処理した。被験者は健康な成人14名（19～24歳）とし、同意を得たうえで実験を行った。

3. 結果と検討 どちらの評価語の場合においても画像提示後約250～400msにピークが出現しており、P300が誘発されていた。ここでは、baselineto-peak法に従って、画像提示前100ms間の平均振幅値をbaseline（基準値）として、P300のピークとbaseline間の振幅を「P300の振幅」、刺激からP300のピークまでの時間を「P300の潜時」と定義している。「とても好き」と評価したときにP300の振幅が大きく、P300の振幅に違いが見られる。電極位置PzとCzにおいて、「とても好き」と「好き」の評価時のP300振幅に有意な差が得られた。

9) 発表学会：日本調理科学会平成21年度大会

発表日と場所：2009年8月28日、同志社女子大学（京都市）

演題名：秋田県の伝統食品「こぎきねり」の製造技術の確立とその品質評価発表者：

発表者：菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，○高橋徹，熊谷昌則

（秋田県総食研）

【目的】「こぎきねり」は米を水に浸漬し、すり鉢でつぶして、水で煮ながら砂糖と塩を加えて練りあげ、食酢で調味した秋田県の特徴的な米加工品で、いわば「米の酢の物」といえ、全国的にも珍しい食品である。本研究では、伝統食品としてのこぎきねりの復権を願い、嗜好性を高める風味の改良と、賞味期限の延長を可能とする簡便な製造方法を確立し、新規の商品提案としてその技術を普及させることを目的とした。

【結果と考察】こぎきねりは地域によっては「あさづけ」や「こなます」などと称され、その原材料の配合割合も異なることがわかった。試作による検討から、微生物的品質の向上のために原材料を容器充填後に加熱・調理（殺菌）する方法を確立した。官能評価から、滑らかさや口溶けの良さの一方で、酸味の強さや匂いなどの食酢の影響が大きいことも明らかとなった。こぎきねりは pH3 前後であるため、保存中での微生物制御が比較的容易であると判断された。

10) 発表学会：第 9 回食品酵素化学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：食品の嗜好性評価時における脳血流動態の分析

発表者：熊谷昌則¹、高橋徹¹、佐藤文華¹、菅原千秋¹、加藤明津子¹、

樋渡一之¹、堀一之¹、高橋砂織¹、秋山美展²

（¹秋田県総合食品研究所，²秋田県立大学）

【目的】食品の開発において、嗜好や感性をどのように反映させるかが課題となっている。一般に、嗜好や感性に係わるヒトの応答は、アンケート調査法や官能検査法などによる質問紙法によって、口頭または記述により抽出されることが多いが、我々の研究グループでは脳から直接、情報を読み取ることができないか検討している。本研究では、近赤外分光方式にもとづく脳血流測定装置の光トポグラフィーを用いて、食品の嗜好性評価時における脳血流動態を分析し、評価したところ、以下の基礎知見が得られたので報告する。

【方法】嗜好性の評価に用いた試料は、みそ汁等のスープ系食品を想定した塩味／うま味系の単純モデル溶液である。NaCl（塩味）ならびに MSG（うま味）の溶液濃度は、応答曲面法による最適計画を用いた中心複合回転可能二次計画に従って要因の水準を割り付け、計 9 種類の溶液を調製して用いた。これらを主として中高齢者の健常な女性 8 名（平均 47.5 歳）、男性 2 名（平均 67.5 歳）に試飲させ、光トポグラフィー ETG-4000（日立メディコ）を用いて、その両側前頭前野（12 チャンネル×2；3×3 モード）における脳血流動態を測定するとともに、塩味・うま味のバランスの良さについての主観的評価値を官能検査によって求め、両者を比較した。

【結果】被験者の脳血流動態における酸素化ヘモグロビン（Oxy-Hb）の変化量に着目したところ、試料溶液の味をバランスが良いと判断している時から悪いと判断している時の差分変動により、主として両側の背側外前頭前野付近における賦活が観察された。これは官能評価で求められた応答曲面嗜好推定値と対応することから、被験者の主観的評価を脳血流動態によって客観的に評価できる可能性があり、新たな食品の評価法として期待される。

11) 発表学会：第 9 回食品酵素科学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：ストレス処理による麹菌(*Aspergillus oryzae*)の mRNA スプライシング変動と DNA transposon *Crawler* の転移活性化

発表者：小笠原博信¹、秦洋二²、高橋砂織¹、五味勝也³

(¹秋田県総食研、²月桂冠・総研、³東北大院農・生物産業創成)

【目的】 実用麹菌 (*A. oryzae*) OSI1013 株より見いだされた活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* は、高温処理や Cu^{2+} ストレスにより麹菌で初めて転移活性が認められた¹⁾。一方、転移が認められない通常培養条件下では transposase ORF 内部での splicing や poly(A)付加が起きており、*Crawler* 遺伝子からは複数の mRNA 分子種が生成していることが明かとなった²⁾。転移活性を誘発するストレス処理によって、インタクトな全長 mRNA 比率の増加が認められ、*Crawler* の転移促進に繋がるものと推定された。そこで、麹菌におけるトランスポゾン制御機構の解明を目的に、いくつかの遺伝子群における mRNA スプライシングに及ぼす転移活性化ストレス処理の影響について検討した。

【方法】 麹菌を PDA プレートで 30℃・7～10 日培養後、分生胞子を収穫し懸濁液を調整した。*Crawler* の転移促進を引き起こす Cu^{2+} や高温ストレス処理後の分生胞子より total RNA を抽出し、RT-PCR によりいくつかの遺伝子群についてスプライシングの有無を観察した。

【結果】 *gpdA* など代謝に関わる遺伝子ではストレスにより発現量の低下はあるものの正常なスプライシングを受けていることが認められた。一方、*actin* などの細胞構造に関わる遺伝子ではスプライシングが阻害された mRNA が検出された。さらに、スプライシング・ファクターに関連する遺伝子においても、 Cu^{2+} および高温ストレスによって多くの遺伝子でスプライシング阻害が起きていることが明らかとなった。さらに、保存株 RIB128 株や実用株 AOK139 株においても同様の mRNA スプライシング阻害が観察された。

以上のことから、スプライシング・ファクターの機能阻害により *Crawler* の転移活性化が促進されるものと推定された。

【謝辞】

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金 (20658023 挑戦的萌芽研究) の助成を受けて行われた。

【参考論文】

1. Ogasawara, H., *et al. Fungal Genet. Biol.*, 46, 441-449(2009)
2. 小笠原・他, 糸状菌分子生物学コンファレンス要旨,p52(2007)

12) 発表学会：第 9 回食品酵素化学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究所 (秋田市)

演題名：事象関連電位を利用した新規食品評価システムの開発

発表者：高橋徹¹⁾、熊谷昌則¹⁾、佐藤文華¹⁾、菅原千秋¹⁾、加藤明津子¹⁾、樋渡一之¹⁾、堀一之¹⁾、高橋砂織¹⁾、秋山美展²⁾ (¹⁾ 秋田県総合食品研究所、²⁾ 秋田県立大学)

【目的】 ヒトの嗜好や感性は主に官能評価法にて解析・評価されているが、最終的には大脳で判断される。その意志決定までの機構は非常に複雑であるが、大脳活動によ

て派生した信号情報が鍵になると考えられる。種々の課題を提示した時の脳活動の変化を脳波計測から明らかにする試みもあり、これらの客観的生理情報は官能評価の裏付けとして重要であると考えられている。本研究では、誘発電位の一種で心理的な活動に依存する事象関連電位（ERP: event-related potential）に着目し、食品の新規な品質評価指標として、ERP 特性値の利用の可能性を探索している。

【結果と考察】いずれの被験者でも各電極装着部位において明瞭な P300 のピークが観察された。単純足し算作業後の Pz における P300 の頂点潜時は短縮される傾向にあったが、作業前後における有意差は確認できなかった。また、各頂点潜時での振幅にも有意差は見られなかった。現在は、食品の摂食前後における脳波や ERP 計測から脳機能活動の評価を行っている。

13) 発表学会：第 9 回食品酵素化学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：ルペオールの脂質代謝改善作用

発表者：畠恵司（秋田県総食研）

【目的】

ルペオールはキク科・シソ科に多量に含まれるトリテルペン化合物のひとつである。我々はこれまでの研究の課程で、ルペオールがメラノーマ細胞の分化誘導活性を有することを見いだした。本研究では、ルペオールの新規生理機能解明を目的に、高脂肪食負荷マウスの脂質代謝改善作用や、動物細胞を用いた脂質代謝改善機構について検討した結果を報告する。

【高脂肪食負荷マウスに対する脂質代謝改善作用】

高脂肪食負荷マウスに対してルペオール（30 mg/kg/day）経口投与し、2 週間後の体重や内臓脂肪重量、血中脂質濃度について分析を行った結果、高脂肪食負荷マウスと比較して、ルペオール経口投与区は、体重には変化を与えなかったが、腸間膜周囲脂肪（内臓脂肪の一種）の蓄積を有意に減少させた。さらに、血中脂質分析の結果、ルペオールは肝臓において産生・分泌される VLDL-中性脂肪の濃度を著しく減少させた。

【肝臓細胞における脂質合成・分泌に対する影響】

高脂肪食負荷マウスの血中中性脂肪値正常化作用のメカニズム解明のため、ルペオールによるヒト肝臓癌細胞（HepG2-Lipo）における脂質合成・分泌に対する影響を検討した。結果、ルペオールは、HepG2-Lipo 細胞における中性脂肪並びにコレステロールの分泌量を濃度依存的に抑制した。このときの発現遺伝子解析を real-time RT-PCR で行った結果、SREBP-1c や脂肪酸合成酵素といった中性脂肪合成に関与する遺伝子群、SREBP-2、HMG 合成酵素などコレステロール合成に関与する遺伝子群、apoB-100 ならびにミクロソーム中性脂肪転移タンパク質といったリポタンパク質の構成タンパク質あるいは成熟に関与する遺伝子群の発現が顕著に抑制された。

【脂肪細胞分化・成熟に対する影響】

ルペオールの内臓脂肪蓄積抑制作用のメカニズム解明を行うため、マウス前駆脂肪細胞（3T3-L1）細胞の成熟・分化に対する影響を検討した。3T3-L1 細胞はデキサメサゾンやインスリン添加により、細胞成熟・分化が誘導され、細胞内の中性脂肪合成が

亢進し、細胞内部に脂肪滴を蓄積する。ルペオールはこの脂肪滴の蓄積を有意に抑制した。発現遺伝子解析の結果、ルペオールは脂肪細胞分化に必要な SREBP-1c や PPAR- α などの転写因子や脂肪酸合成酵素、レプチンやアディポネクチンなどのアディポサイトカインの発現を抑制した。

以上の結果より、ルペオールは肝臓における脂質合成・分泌や、脂肪組織における脂肪滴蓄積を抑制することで、高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を改善すると推定される。

14) 発表学会：第 9 回食品酵素化学研究会・第 15 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009 年 9 月 4 日、秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：肝臓細胞より分泌されるリポタンパク質定量による新規高脂血症改善薬
評価法の開発

発表者：○木村文子、戸嶋彦、松本幸江、高橋純一郎（(株)スカイライト・バイオテック）、畠恵司（秋田県総食研）

【目的】2008 年 4 月の特定健診制度開始とともに、メタボリック症候群の予防・改善に対する気運が高まり、それに伴う高脂血症改善薬用素材の研究・開発がますます盛んに行われるようになった。高脂血症改善薬用の研究開発には、主に動物試験が用いられているが、個体差が少なく、開発に要する費用や時間の短縮・効率化が期待できる *in vitro* での評価系が注目を集めている。しかしながら、これまでの *in vitro* での脂質の詳細分析に関しては、感度や *in vivo* 試験との相関性など課題も多い。今回我々は、独自のゲル濾過 HPLC 法 (LipoSEARCH®) を用い、肝臓由来細胞の培養上清に分泌されるコレステロール・中性脂肪に対する影響を詳細に分析することで、高脂血症改善作用評価系の開発を行った¹⁾。

【方法】ヒト肝臓癌細胞 (HepG2) の培養上清 (80 μ l) に含まれる主要リポタンパク質 (VLDL、LDL、HDL) をゲル濾過カラムにより、各々のリポタンパク質粒子サイズに従い分画後、オンラインで酵素反応をさせることにより、リポタンパク質内中の脂質 (コレステロール及び中性脂肪) 濃度を定量した²⁾。

【結果】培養上清に分泌される脂質を定量することで、脂質合成・分泌能の高い細胞 (HepG2-Lipo 細胞) を選抜し、以下の実験に供した。HepG2-Lipo 細胞は、親株 (HepG2 細胞) に比べて、9.4 倍の中性脂肪、6 倍のコレステロールを産生・分泌能を有する。Real time RT-PCR 分析の結果、HepG2-Lipo 細胞においては、脂質合成に関わる転写因子群、酵素、リポタンパク質の構成タンパク質であるアポリポタンパク質遺伝子の発現が亢進しており、先の高い脂質産生・分泌能に繋がると推察された。

次に、一般的な脂質改善薬について HepG2-Lipo 細胞における脂質産生・分泌に対する影響の確認を行った。コレステロール合成阻害剤 (スタチン系薬剤) は、HepG2-Lipo 細胞のコレステロール合成・分泌のみを、フィブラート系薬剤は、同細胞からのコレステロール、中性脂肪両者の分泌量を抑制し、これらの結果は *in vivo* における両薬剤の作用と一致するものであった。

15) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：米糠乳酸発酵素材（爛漫ギャバ液）の新規機能性解明

発表者：○大友理宣、高嶋亜希子、菊池継夫（秋田銘醸(株)）、
畠恵司、戸枝一喜（秋田県総食研）

【目的】清酒製造に伴い発生する米糠は、一部が米油または堆肥等に利用されるのみで、そのほとんどが県外へ出荷される。我々は、この製造副産物である米糠の有効利用を目的に、植物性乳酸菌発酵過程を経た γ -アミノ酪酸（以下 GABA）高含有素材の技術開発に成功した¹⁾。それらを活用した GABA 含有商品が製品化されているが、現状では 2t 程度の米糠を利用しているにすぎず、更なる用途開発が急務であった。そこで、ヒトやイヌ・ネコなどの愛玩動物などで広く問題となっているメタボリック症候群の予防を目的とし、上記米糠乳酸発酵素材における脂質代謝改善作用を検討した。

【方法】2週間高脂肪食を給与し予備飼育したラットに、配合比の異なる米糠乳酸発酵素材（爛漫ギャバ液 GBX）を混合した高脂肪食を3週間給与し、ラットの体重や臓器の重量ならびに血液生化学成分の測定を行った。

爛漫ギャバ液 GBX の脂質代謝改善作用機構解明は、ヒト肝臓癌細胞 HepG2 の培養上清に分泌されるリポタンパク質を、LipoSEARCH®で定量すること、ならびに発現遺伝子を real-time RT-PCR により解析することで行った。

【結果】爛漫ギャバ液 GBX を 2% (W/V) 混合した高脂肪食給与ラットは、高脂肪食負荷区と比較して、餌摂取量ならびに体重増減に影響を与えなかったが、腸間膜周囲脂肪（内臓脂肪の一種）の蓄積ならびに血中中性脂肪上昇の抑制が認められた。

爛漫ギャバ液 GBX を添加した HepG2 細胞は、オレイン酸負荷による培養上清への中性脂肪やコレステロールなどの脂質合成・分泌促進を軽減した。また、この際の発現遺伝子解析結果から、中性脂肪合成系における転写因子である SREBP-1c ならびに脂肪酸合成酵素の発現量を顕著に抑制した。超低密度リポタンパク質（VLDL）/低密度リポタンパク質（LDL）の構造タンパク質であるアポリポタンパク質 apoB-100 の発現についても、爛漫ギャバ液 GBX は抑制した。さらに、ミクロソーム中性脂肪転移タンパク質（MTTP）の mRNA レベルはオレイン酸負荷により増加するが、同時に爛漫ギャバ液 GBX を添加した HepG2 細胞における発現量は未処理の区と同等であった。一方、高密度リポタンパク質（HDL）の構成タンパク質である apoA-1 の発現には、爛漫ギャバ液 GBX 添加の影響は認められなかった。

以上の結果を総括すると、爛漫ギャバ液 GBX は肝臓細胞における中性脂肪合成関連遺伝子ならびに VLDL/LDL の産生・成熟に関与する遺伝子の発現を制御することで、肝臓からの中性脂肪の分泌量を抑制し、高脂肪食負荷ラットにおける血中中性脂肪値を正常化するものと考えられる。

1. 大友 他, 米糠を用いた *Lactobacillus brevis* IFO12005 による γ -アミノ酪酸含有組成物の生産. *生物工学会誌*, **84** (12), 479 - 483 (2006)

16) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：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
部位特異的変異による活性部位の同定

発表者：○蕪澤悟（国際農林水産業研究センター）、高橋砂織（秋田県総合食品研究所）

【目的】

これまで、一部の細菌の細胞膜に D 型アミノ酸の存在することが知られていたが、近年、哺乳類の生体内にも遊離の D 型アミノ酸や D 型アミノ酸を含有するタンパク質の存在することが見出されている。高橋らは D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ生産菌（*Paenibacillus* sp. B38 株）を分離するとともに、生産する酵素を paenidase と命名し、その性質を明らかにした¹⁾。今回我々は、paenidase の活性部位を同定するために、paenidase のホモロジーモデリングを行うとともに、各種部位特異的変異体を作成し、その性質を調べた。

【方法】

アミノ酸配列の相同性解析には BLAST 及び MEROPS データベースを用いた。Paenidase のホモロジーモデリングは MOE2008.1002 (Molecular Operating Environment, CCG 社、カナダ) を用いて行った。Paenidase 遺伝子の変異は各種 PCR 法により行った。また、大腸菌における各種変異体の発現には、pET-28a 及び *Escherichia coli* BL21(DE3)株を用いた。

【結果及び考察】

Paenidase のアミノ酸配列を解析したところ、種々の β -lactamase、penicillin-binding protein、D-Ala-D-Ala carboxypeptidase と 35～39%の相同性があること、ペプチダーゼファミリーS12 に分類されることが明らかになった。ペプチダーゼファミリーS12 は、活性部位に Ser、Lys、Tyr 残基をもつセリンプロテアーゼの一群であり、Ser-Xaa-Thr-Lys および Tyr-Xaa-Asn のモチーフを持つ。これらのモチーフは paenidase においても保存されていた。また、S12 には *Streptomyces* R61 D-Ala-D-Ala carboxypeptidase、D-Stereospecific aminopeptidase DmpB、alkaline D-peptidase などの D 型アミノ酸を認識するペプチダーゼが属しており、paenidase の構造機能相関を解明する上で大変興味深い。つぎに、アミノ酸配列の相同性より推定される活性部位 Ser、Lys、Tyr 残基を種々のアミノ酸に置換した変異体 (S65A、S65C、K69A、K69I、Y149F) を作製した。得られた変異体はいずれも不活性型となったが、これらの CD 及び蛍光スペクトルは野生型のスペクトルと一致し立体構造の変化は見られなかった。このことから、paenidase においてもこれらのアミノ酸残基が paenidase の活性発現に重要な役割を果たしていることが示唆された。

【参考文献】

1. S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**, 197-202 (2006).

17) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養におけるプロレニンプロセッシング
酵素の特性とレニン過剰分解の抑制

発表者：後藤 猛¹，安和広乃¹，日景翔輝¹，菊地賢一¹，葦澤 悟²，高橋砂織³

（¹秋田大・工学資源，²国際農林業研究セ，³秋田県総食研）

【目的】 レニンは、血圧や体液、電解質の恒常性維持を司るレニン-アンジオテンシン系における中心的な酵素であり、高血圧抑制剤の探索と開発には多量のレニンが必要である。著者らは、ヒトプロレニン cDNA 導入バキュロウイルス (vhpR) を用いて不活性型ヒトプロレニン (rh-prorenin) を *Spodoptera flugiperda* (Sf-9) 昆虫細胞で発現させると、内在性プロテアーゼ (PPE) によってそのまま活性型組換えヒトレニン (rh-renin) に変換される現象を見出した[1,2]。本研究では、この PPE の精製を行って特性を解析するとともに、生成したレニンが感染培養後期に減少する問題に対する方策を検討する。

【方法】 指数増殖期の Sf-9 細胞に vhpR を MOI 1 pfu/cell で感染させ、28°C で培養を行った。感染 5 日目の培養液を用い、Pepstatin-aminohexyl Sepharose, Sephacryl S-100HR, DEAE Sepharose および Mono Q HR5/5 による PPE の精製を行った。レニン活性は、蛍光自己消光基質と共に 37°C でインキュベートした後、励起波長 340 nm, 測定波長 440 nm の蛍光強度から求めた。rh-prorenin 生成量はトリプシン処理後のレニン活性から求めた。PPE の測定には、本発現系で生成した rh-renin の N 末端配列を有する人工基質 Nma-Leu-Thr*Leu-Gly-Asn-Lys(Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH₂ (*, ペプチド結合切断部位) を用いて同様に測定した。

【結果】 PPE の蓄積が最大となる感染 5 日目の培養液を用い、カラムクロマトグラフィーによる PPE の精製を行った。Mono Q HR5/5 のカラム溶出液には複数の PPE 活性ピークが認められ、活性フラクションの SDS-PAGE における 32 kDa のバンドの濃淡は PPE 活性の挙動とよく一致した。活性が最も高いフラクションと別途精製したプロレニンを混合してインキュベートしたところ濃度依存的に活性型レニンが生成し、その N 末アミノ酸配列は培養中に生成する rh-renin のものと完全に一致した。また、この PPE 活性はロイペプチン、E-64、アンチパイン、モノヨード酢酸の存在下で大きく低下した。さらに、精製した PPE の N 末アミノ酸配列の BLAST 解析結果から、PPE はバキュロウイルス由来の v-cath 様システインプロテアーゼであると推定された。

本発現系で生成した活性型レニンは培養後期に減少したが、これは過度のプロセッシングによるものと考えられる。そこで rh-renin が増加し始める感染 4 日目に BSA を 1mg/ml で添加したところ、多量の BSA の共存によってレニンの分解が抑制された。

【参考文献】

1. Takahashi, S. et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613 (2007).
2. Gotoh, T. et al. *Biochem. Eng. J.*, **43**, 216-220 (2009).

18) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス遺伝子由来キチナーゼの性質

発表者：高橋砂織、樋渡一之、菊地賢一*、後藤 猛*

（秋田県総食研、*秋田大・工学資源）

【目的】我々は、これまで組換え型ヒトレニンの発現について大腸菌、酵母やバキュロウイルス・昆虫細胞系を用いて解析を行ってきた[1, 2]。これら発現系の中では、バキュロウイルス・昆虫細胞系が優れており、組換え型ヒトレニンの効率的な発現に成功している[2]。今回、ヒトプロレニン遺伝子導入組換えバキュロウイルス (vhpR) 感染 Sf-9 昆虫細胞培養系において、キチナーゼ活性の発現することを見出した。さらに、アフィニティークラムを用いた迅速精製法を開発し、その諸性質を検討したので報告する。

【方法】プロレニン及びレニンの発現は、抗ヒトレニン抗体を用いた Western Blotting により確認した[3]。レニン活性は、新たに開発した蛍光消光基質 Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-His-Lys-2, 4 dinitrophenyl-D-Agr-D- Arg-HN₂ を用いて測定した[2]。また、キチナーゼ活性は、4-methylumbelliferyl β-D-N, N'-diacetyl-chitobioside を基質として測定した[4]。

【結果と考察】Western blot 解析の結果、vhpR 感染 Sf-9 細胞培養液中のプロレニン量は、培養時間とともに増加し、プロレニンは培養最後期に活性型レニンに変換した。この時、キチナーゼ活性を検討したところ、培養中期から活性が出現し、培養後期に急激に増加する現象を見出した。そこで、培養最後期の培地を用いてペプスタチン・アミノヘキシルセファロースカラム及び DEAE セファロースカラムによりキチナーゼの精製を試みた。得られたキチナーゼ標品は、SDS-電気泳動で単一のバンドを示し、その分子量は 65 kDa と求められた。N 末端アミノ酸配列解析の結果、本キチナーゼは、バキュロウイルス遺伝子由来であることが示された。本酵素とペプスタチンとの相互作用を探る目的で、精製キチナーゼ標品を用いて活性に及ぼすペプスタチンの影響を検討した。しかしながら、0-50μ/ml の濃度範囲においては、ペプスタチンによる阻害は認められなかった。今後、バキュロウイルス遺伝子由来キチナーゼのペプスタチンカラムへの吸着機構を検討する必要がある。また、(GlcNAc)₂₋₆ を用いた基質特異性についても報告する予定である。

【参考文献】

[1] S. Takahashi *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 2610-2613, (2006)

[2] S. Takahashi *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613, (2007)

[3] S. Takahashi *et al. J. Biochem.*, **99**, 307-310 (1986)

[4] M. O'Brien and R. R. Cowell *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 1718-1720 (1987)

19) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：豆類由来レニン阻害物質：大豆サポニンがレニン活性を阻害する

発表者：高橋砂織¹、堀 一之¹、樋渡一之¹、小笠原博信¹、渡辺隆幸¹、
熊谷昌則¹、鈴木奈緒¹、菅原真理¹、新保 守²、山田清繁²、菊地賢一³、
後藤 猛³（¹秋田県総食研、²（株）ヤマダフーズ、³秋田大・工学資源）

【目的】 レニンは、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系 (RAS) における血圧調節機構において律速酵素として重要な役割を担っている。これまで、RASの調節を目指して活性測定が簡便なアンギオテンシン変換酵素を標的とした食物由来阻害物質の探索が行われてきた。しかしながら、酵素入手の問題や活性測定が煩雑であることなどを理由として食物由来レニン阻害物質の探索は殆ど行われて来なかった。本研究では、各種食材よりレニン阻害物質を探索した。その結果、豆類全般にレニン阻害活性の存在することを見出した [1, 2]。さらに検討した結果、大豆胚軸に強いレニン阻害活性を見出し、その阻害物質 (SRI) を単離するとともに、化学構造を決定した。一方、SRI や市販大豆サポニンによる高血圧抑制効果についても検討した。

【方法】 組換え型ヒトレニンは Sf-9 昆虫細胞発現系を用いて高発現した [3]。レニン活性は新たに設計した蛍光消光基質を用いて測定した。大豆胚軸より各種クロマトグラフィーにてレニン阻害物質を単離した。標準物質との物理化学的諸性質の比較から精製した SRI をソヤサポニン I と同定した。

【結果】 1) SRI は、ヒトレニン活性を強く阻害し、IC₅₀ は 30μg/ml と求められた。また、反応動学的解析から、SRI はレニンを部分的非競争阻害し、その K_i 値は 37.5μM と求められた。2) 各種プロテアーゼに対する SRI の影響を検討した結果、SRI はレニンを特異的に阻害することが示された。3) 本態性高血圧モデルラットに、部分精製した SRI もしくは市販の大豆サポニンを 40mg/kg/day の用量で、7週間経口投与した結果、コントロール群に比べ有意な血圧上昇抑制効果が確認された。本研究は、SRI が高血圧抑制作用を持つことを示した最初の報告である。

【謝 辞】

ソヤサポニン I をご恵与頂きました京都薬科大学の吉川雅之先生に深謝いたします。本研究は、科研費 (no. 18580134, no. 20380081) 及び文部科学省都市エリア事業等の補助により行われました。

【参考論文】

1. Takahashi, S., et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(12), 2913-2918 (2006)
2. Takahashi, S., et al. *J. Biol. Macromol.*, **7**(3), 49-54 (2007)
3. Takahashi, S., et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**(10), 2610-2613 (2007)

20) 発表学会：第9回食品酵素化学研究会・第15回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2009年9月4日、秋田県総合食品研究所（秋田市）

演題名：バキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養系におけるキチナーゼの発現

発表者：高橋砂織，樋渡一之，菊地賢一*，後藤 猛*，

（秋田県総合食品研究所，*秋田大・工学資源学部）

Occurrence of chitinase in baculovirus-infected Sf-9 cells

Saori TAKAHASHI, Kazuyuki HIWATASHI, Ken-Ichi KIKUCHI*, and Takeshi GOTOH*(Akita Research Institute of Food and Brewing, 4-26 Sanuki, Arayamachi, Akita 010-1623 Japan, *Department of Engineering in Applied Chemistry, Akita University, 1-1 Tegata Gakuen-cho, Akita 010-8502 Japan)

Human preporenin recombinant baculovirus-infected Sf-9 cells produced chitinase in the very late stage of cultivation. The chitinase was purified by pepstatin-aminohexyl-Sepharose and DEAE-Sepharose FF column chromatographies. The purified preparation showed single protein band on SDS-PAGE with the apparent molecular weight of 65,000. The N-terminal amino acid sequence of PPE indicates the proteinase originated in the cysteine proteinase gene of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcMNPV).

バキュロウイルス・昆虫細胞発現系は外来遺伝子発現系として優れており、我々も、本発現系を用いて、組換え型ヒトプロレニンが効率的に発現すること、また、培養最後期に培地中に成熟型レニンが蓄積することを見出した [1]。今回、ヒトプレプロレニン遺伝子導入組換えバキュロウイルス (vhpR) 感染 Sf-9 昆虫細胞培養系においてキチナーゼ活性の発現することを見出すとともに、ペプスタチンカラムアフィニティークラムを用いた迅速精製法を開発したので報告する。

Western blotting 解析の結果、vhpR 感染 Sf-9 細胞培養液中のプロレニン量は、培養時間とともに増加し、培養最後期にレニンに変換することが明らかとなった。一方、キチナーゼ活性も培養とともに増加する傾向を示した。培養最後期の培地を用いてキチナーゼのペプスタチン・アミノヘキシルセファロースカラムと Mono Q カラムを用いて精製を行った。得られたキチナーゼ標品は、SDS-PAGE で単一のバンドを示し、その分子量は 65 kDa と求められた。N 末端配列解析の結果、本キチナーゼは、バキュロウイルス遺伝子由来であることが示された。得られたキチナーゼ標品を用いて活性に及ぼすペプスタチンカラムの効果を検討したが、0-50 μ /ml の濃度範囲において阻害は認められなかった。

[1] S. Takahashi *et al.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613, 2007

21) 発表学会：第56回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2009年9月4日、札幌市コンベンションセンター

演題名：味覚センサを用いた「とろみ調整食品」による味質変化の定量的評価

発表者：○熊谷昌則¹、佐藤文華¹、中村愛美²、吉田智²、鈴木靖志²

¹秋田県総合食品研究所、²サラヤ株式会社商品開発本部

【背景・目的】急速な高齢化社会への移行を背景に、介護食品、なかでも誤嚥性肺炎や窒息、脱水などの危険性があるえん下困難者に対するとろみ調整食品のニーズが高まっている。とろみ調整食品に求められる品質特性としては、凝集性や食塊形成能、溶解性、安定性などのレオロジー学的因子が最も重要であるとされてきた。しかしながら、嚥下困難者にとっては「味」への影響も決して看過できない因子である。我々は、昨年度の第55回栄養改善学会において、液状食品のゾル化に伴う味質の変化を味覚センサで評価できる可能性について報告したが、今回は市販のとろみ調整食品12種類を用いて、味覚センサ応答値にもとづく、当該添加食品の味質変化の度合いを定量的に評価する方法について検討したので報告する。

【方法】味覚センサは、インテリジェントセンサーテクノロジー社の味認識装置SA-402Bを用いた。出力は、脂質膜センサと参照電極間の測定電位である。とろみ調整食品は、澱粉をとろみ成分とする第1世代商品群3種、澱粉とグアガムをとろみ成分とする第2世代商品群3種、キサンタンガムをとろみ成分とする第3世代商品群6種を用いた。とろみ調整食品の添加食品は、緑茶飲料（お〜いお茶 緑茶：伊藤園）とオレンジジュース（good-i オレンジ 100%：イズミヤ）を用いた。

【結果と考察】とろみ調整食品が添加された食品の味覚センサ応答値に対して多変量解析によるパターン認識分類を適用し、とろみ調整食品によって惹起される味質の変化を二次元の呈味マップとして表した。その結果、市販のとろみ調整食品には、それを添加したことにより元の食品の味を変えにくいものと変えやすいものがあることが示された。また添加する食品によって味質変化の度合いが異なることも示された。このように、それぞれのとろみ調整食品による味質変化を客観的に、かつ定量的に表現する上で味覚センサは有効な手法として用いることができる。

22) 発表学会：2009 日本感性工学会年次大会

発表日と場所：2009年9月8日 芝浦工業大学（東京都）

演題名：経験価値設計による地域ブランド戦略

発表者：○高島 聡（秋田県総合食品研究所）

1. はじめに

秋田県農産物の付加価値化の試みとして、秋田県の最大の農産物である米において、他の米生産地にはない、新規の秋田県産米ブランドの創出をするべく、そのブランド化の検討を行った。

2. 経験価値モジュールを基本とした「経験価値設計」～経験価値創造によるブランド化～

コロンビア大学のバーンド・H・シュミットは、その著書「経験価値マーケティング」のなかで、経験価値を「SENCE」、「FEEL」、「THINK」、「ACT」、「RELATE」の5つのモジュールに分類している。本研究では、これらの経験価値モジュールを基本フレームワークとし、「SENCE」、「FEEL」、「THINK」、「ACT」、「RELATE」のモジュールごとにその経験価値について検討し、経験価値の改良、強化、調整等を行う。その結果を実際のものづくりにフィードバックし、ブランドづくりを行う手法を「経験価値設計」として試みた。

3. 地域特産米ブランドの再構築～「淡雪こまち」米ブランドの再構築～

米穀としての「淡雪こまち」の強化、ブランドの再構築を図ることを試みた。

表1 「淡雪こまち」米・米飯の経験価値

分類	「淡雪こまち」米・米飯の経験価値
SENCE	やわらかく、粘りがあり、モチモチした食感 冷めての硬くならない 米が白濁せず、真珠用の光沢をもつ
FEEL	鹿角地域限定生産の米品種 直蒔栽培等他の品種とは異なることの優越感 「自然豊かな米どころ・あきた」への郷愁
THINK	低アミロース米、寒冷地適作、直播き栽培等の他の米品種にはない うんちく 中山間地で栽培できる地域特産品種であることの社会的存在意義
ACT	農業問題解決の一助となる米品種を選択するライフスタイルの差別化の自意識
RELATE	伝統的食文化である米食文化を再評価し、あらたなる食文化の創造 することの喜び、満足感

4. まとめ

経験価値設計により地域特産米ブランドの再構築の手法の開発構を試みた。経験価値モジュールをフレームワークとし、5つのモジュールに対し、製品にモジュール項目を付加することによりブランド価値の高い地域特産米ブランドの再構築が可能になると考えられた。

23) 発表学会：日本食品科学工学会 第56回大会

発表日と場所：2009年9月10日、名城大学

演題名：嗜好性に優れた低ナトリウム調味塩の開発－梅を利用した塩の呈味特性評価－

発表者：○石川匡子¹、小笠原美穂¹、菅原弘人¹、熊谷昌則²、秋山美展¹、松永隆司¹

¹秋田県立大学生物資源科学部、²秋田県総合食品研究所

【目的】生活習慣病予防のため、減塩が薦められている。しかし、塩は料理において重要であり、使用量の制限はおいしさの低下につながる。そこで我々は、低ナトリウムかつ嗜好性に優れた調味塩の開発が必要と考え、研究を行った。始めに市販調味塩を副原料毎に分類し官能検査した結果、梅を添加した調味塩の塩味が強い傾向にあることが分かった。そこで本研究では、梅が持つ塩味増強効果に着目し検討を行い、低ナトリウム調味塩としての可能性を探った。

【方法】塩味増強効果が最大限に現れる条件を明らかにするため独自に梅塩を試作した。試作方法は、梅干しを凍結乾燥して得られた梅パウダーを食塩に添加する方法（梅パウダー添加塩）と梅漬けを作製し得られた梅酢を乾燥させる方法（梅酢乾燥塩）の2つである。各塩について官能検査ならびに有機酸分析を実施した。

【結果】梅パウダー添加塩と梅酢乾燥塩、それぞれの塩味の強さを確認するため、食塩を対照として官能検査を実施した。その結果、梅パウダー添加塩はパウダーの割合が多いと酸味が強すぎるが、少量の添加では酸味がなく、塩味は食塩よりも強く感じられることが分かった。我々は、これまでに少量のクエン酸添加により塩味が増強される傾向にあることを明らかにしている。本研究でも、有機酸分析の結果、塩味増強効果は梅パウダー中の有機酸量に基づくことが確認され、同時に最適添加量や塩味と酸味の境界添加量も明らかになった。一方、梅酢乾燥塩では梅パウダー塩とクエン酸量が同程度でも、塩味は食塩よりも弱いことが分かった。これは梅パウダー添加塩では有機酸と食塩との共存により塩味増強へとつながるのに対し、梅酢乾燥塩では塩が結晶化する際に有機酸が結晶内部に取り込まれるため、先に塩味のみを感じ、有機酸との共存効果が低減するためと考えられる。以上の結果から、梅塩は塩味増強効果を示す有効な食材であり、減塩効果が期待できる。

24) 発表学会：日本食品科学工学会第56回大会

発表日と場所：2009年9月11日、名城大学（愛知県名古屋市中区）

演題名：玄米貯蔵した古米に関する研究

発表者：○大能俊久、戸松誠、高島聡、塚本研一（秋田県総合食品研）

【目的】古米米飯は一般的に硬くて粘りが少ないため日本では評価が低い。これまで演者らは、精米貯蔵した古米について研究を行い、古米は米飯のバランス度（粘り／硬さ）が低く、加熱時に米粒表層から脱離するタンパク質量、固形物量も少ないことを報告してきた。今年度は、玄米貯蔵した古米について同様の挙動が認められるか、検討を行った。

【方法】あきたこまち玄米をアルミパウチ中に密閉し、30℃で0,3,6,11ヶ月貯蔵した後、精米したものを試料として実験に供した。米飯テクスチャーは、米に対して1.6倍量加水して室温で1時間浸漬した後炊飯し、テンシプレッサーで測定した。同様に加水・浸漬し、80℃で5～10分間加熱してから米粒を除去して得た糊液について、タンパク質はSDSと2-メルカプトエタノールを含む溶液で可溶化して

SDS-PAGE により分析し、また固形物量は乾燥重量で求めた。

【結果】米飯のバランス度は、貯蔵 3 ヶ月目からすでに低下が始まっており、6 または 11 ヶ月貯蔵品は、さらにバランス度が低下した。同様に、加熱時の脱離タンパク質も、貯蔵 3 ヶ月目から経時的に減少することが分かった。一方、加熱時脱離固形分量は貯蔵期間が 3、6 ヶ月までは大きな減少は認められず、精米貯蔵とは異なる挙動を示した。

25) 発表学会：日本食品科学工学会第 56 回大会

発表日と場所：2009 年 9 月 11 日、名城大学（名古屋市）

演題名：食物由来レニン阻害物質

—大豆由来レニン阻害物質の精製と構造解析—

発表者：高橋砂織、堀一之、新保守、樋渡一之、後藤猛、山田清繁

【目的】レニンは特異性の高いアスパルテックプロテアーゼで、レニン・アンギオテンシン系における血圧調節上律速酵素として重要な役割を担っている。活性測定の簡便さから、これまで本血圧調節系の制御を目指して、アンギオテンシン変換酵素をターゲットとした食物由来阻害物質の探索が多く行われている。しかしながら、レニンに関してはその重要性が認識されてはいたものの、酵素入手や活性測定の煩雑さなどから、食物由来阻害物質の探索は殆ど行われて来なかった。本研究では、バキュロウイルス感染 Sf-9 昆虫細胞培養系を用いて、レニンを効率的に発現させた。また、それを用いて食物由来阻害物質を探索し、豆類に阻害物質が存在することを明らかとするとともに、ダイズ胚軸から阻害物質を単離しその化学構造を明らかにした。

【方法】ヒトプレプロレニン遺伝子を導入した組換え型バキュロウイルスを種々の感染多重度で指数増殖期にある *Spodoptera flugiperda* (Sf-9) 昆虫細胞に接種し、旋回振盪培養した。培養最後期の培地よりペプスタチンアフィニティーカラム及び Mono Q FPLC を用いてレニンを精製した。レニン活性は、蛍光消光基質 (Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-Lys(Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH₂) を用いて測定した。

【結果】種々の食材の抽出液についてレニン阻害活性を測定した結果、味噌に阻害を見出すとともにその阻害がダイズ由来であることを明らかとした。さらに、ダイズ以外に各種雑豆類の抽出液にも、レニン阻害活性が存在することを明らかにした。雑豆類では、アズキやササゲ類に比較的強い阻害活性が認められた。また、ダイズにおいて子葉部分に比べ胚軸部分に約 3 倍強い阻害活性が認められたことから、胚軸部分を用いて種々のクロマトグラフィーにより阻害物質を単離した。得られた阻害物質の化学構造は、種々のスペクトルデータおよび標準物質との直接比較により、ソヤサポニン I と決定した。なおソヤサポニン I はダイズ由来レニン阻害物質としては初めて確認された成分である。

26) 学会発表：European Congress of Biotechnology

発表日と場所：2009 年 9 月 15 日、スペイン バルセロナ

演題名：Production of bioethanol with novel two-step fermentation system using *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from *Salix pet-susu*.

発表者：進藤 昌、西田孝伸（秋田総食研）

Bioethanol is an ideal fuel for transportation use since it is easily transported, charged to vehicles, and carried on board. Lignocellulosic biomass sources, such as agricultural and

forestry residues, the major portion of municipal solid waste, and ultimately energy crops, have the potential to act feedstock for the sustainable production of organic liquid fuels. 7.6 million ton of forest residues were generated every year in Japan. It is thus environmentally and economically significant to consider the production of ethanol using forest residues. If forest residues could be efficiently used as raw materials for the production of bioethanol, a considerable reduction in costs would be possible. Although the discovery of xylose-fermenting yeasts has enhanced interest in the microbial conversion of renewable lignocellulosic resources to ethanol, various problems occurred in the development of an efficient fermentation: the main problem is that these yeast strains exhibit low ethanol-tolerance and low ethanol productivities from xylose, compared to those obtained from D-glucose with other microorganism. We reported that the novel bioethanol production system using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from spent grain. However, it was difficult to produce the high concentration of ethanol because of low ethanol-tolerance of *Pichia stipitis*. To improve the efficiency of xylose fermentation, it is necessary to remove the ethanol from fermentation broth. We developed the novel ethanol production system using *S. cerevisiae* and *P. stipitis* from a mixture of glucose and xylose. Firstly, mixture of glucose and xylose was fermented by *S. cerevisiae*. When glucose was converted ethanol completely, the fermented broth was treated by gas-stripping method using CO₂ gas in order to remove the ethanol. Secondly, the treated broth was fermented by *P. Stipitis*. When two-step fermentation system was tried out using a mixture of 13 g/ L of glucose and 6 g/L of xylose, 6.1 g/L of ethanol was produced from glucose by *S. cerevisiae*. In this case, theoretical yield was 92%. Furthermore, 2.4g/L of ethanol was produced from xylose by *P. Stipitis*. In this case, theoretical yield was 72%. Finally, 8.5 g/ L of bioethanol was obtained from a mixture of 13 g/ L of glucose and 6 g/L of xylose. Furthermore, *Salix pet-susu* was investigated using this novel ethanol production system. Saccharified-liquid was obtained by ammonia-pretreatment and cellulase treatment method and this Saccharified-liquid contained 5.4% of glucose and 1.7% of xylose. When ethanol production was done using novel production system, ethanol yield was 87%.

27) 発表学会：日本応用糖質科学会平成 21 年度大会

発表日と場所：2009 年 9 月 16 日、弘前大学（弘前市）

演題名：モチ加工特性の異なる糯米品種のデンプン構造と物性の関係および
生化学的分析

発表者：○円谷アンナ¹,高橋徹²,結城和博³,片山寿人⁴,中村保典¹,藤田直子¹

¹⁾ 秋田県立大学、²⁾ 秋田県総食研、³⁾ 山形県農総研、⁴⁾ 滋賀農技振セ

【目的】山形県で開発された庄内地域の主要糯品種である「でわのもち」と、同県の和菓子に適した奨励品種である「こゆきもち」では、「こゆきもち」、また、滋賀県

で開発された高級和菓子用の「滋賀羽二重糯」と、その培養変異株である「滋賀糯 68号」では、「滋賀糯 68号」のモチ加工特性の差の原因を調べるために、澱粉構造、物性及び澱粉生合成関連酵素量について調べた。

【結果】山形県糯品種の「こゆきもち」が「でわのもち」よりも、滋賀県糯品種の「滋賀糯 68号」が「滋賀羽二重糯」よりもそれぞれ糊化開始温度が低かった。これは、「こゆきもち」と「滋賀糯 68号」が対応する同県の糯品種よりも DP12 以下の短鎖が多かったことが原因と考えられた。澱粉生合成関連酵素 6 種類のうち、「こゆきもち」と「滋賀糯 68号」のアミロペクチン短鎖形成には BEII b レベルの変動が考えられたが、他の澱粉生合成関連酵素のレベルの変動と比べても有意な差はなく、原因酵素は特定できなかった。両県糯品種で、物性と構造の差を生む原因は異なるものと考えられた。

28) 発表学会：平成 21 年度 日本醸造学会大会

発表日と場所：2009 年 9 月 17 日、北とぴあ（東京都）

演題名：フロキシシン B 含有平板培地を用いた各種清酒酵母の識別と
現場醸造試験

発表者：渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛
（秋田県総合食品研究所）

【目的】

清酒酵母の判別方法については多くの報告があるが、簡易で迅速で再現性の高い判別方法がなく、現場では酵母混合発酵を経験に頼っている部分が多い。前回我々は、フロキシシン B 含有の Y.P.D 平板培地を用いることにより、数種の酵母の識別が可能であることを報告した。

今回、より多くの清酒酵母の識別の可能性を検討し、画像解析ソフトにより色度の数値化を検討した。また、種々の酵母の組み合わせによる現場醸造試験を行い、酵母の種類と混合割合が、製成酒の一般成分や香り成分に与える影響を検討した。

【方法】

①供試菌株は、きょうかい酵母 7 株と秋田県で開発した 3 株の計 10 株を用いた。

②酵母の識別は、各酵母の培養液を混合後、フロキシシン B 含有の Y.P.D 平板培地（最終濃度 4mg/100ml）を用いて 30℃、2 日間培養し、コロニー染色による識別の可能性について検討した。さらに、画像解析用ソフト「Image—J」を用いてコロニー色度の数値化を検討した。

③数社の清酒製造場で、酵母の種類と混合割合を変えた現場醸造試験を行い、色素含有平板培地で酵母の判別を検討した。また、酵母の種類と混合割合が、製成酒の一般成分や香り成分に与える影響を統計的に解析した。

【結果】

①フロキシシン B 含有の Y.P.D 平板培地を用いることにより、10 種類の酵母の染色の濃淡が異なることが分かり、画像解析用ソフトによる色度の数値化でも明らかとなった。

②10 種類の酵母をそれぞれ混合した場合、識別の難易度が異なり、色度の数値化によっても明らかとなった。③現場醸造試験では、酵母混合と酒母混合の 2 通りがあり、フロキシシン B 含有の Y.P.D 平板培地を用いることにより酒母または醪中の両酵母の挙動が明らかになった。また、酵母の種類と混合割合と、製成酒の一般成分や香り成分の関係が統計解析により明らかになった。④本法を用いることにより、製成酒の成分や酒質は、酵母の種類と混合割合を変えることにより、両酵母の有している能力範囲内で調整可能であることが明らかになった。

29) 発表学会：生体医工学シンポジウム 2009

発表日と場所：2009年9月18日、千葉大学

演題名：ERPを指標とした食品評価に関する実験的検討

— 寿司画像を用いた好み評価 —

発表者：○田中元志¹、中島恵子¹、井上 浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、
熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

1. はじめに 従来、食品のうまみ判断や外観的な「おいしそうである」などの判断について、ヒトの主観による評価（官能評価）が行われている。主観量を客観的数値等で評価できる食品評価法が期待される。これまで、食品画像を提示して「おいしそう」か否かを主観評価させたときの事象関連電位（ERP）を測定した結果、認知・判断に関係するERPの成分P300を検出できた。本研究では、ERPを指標とした食品の評価法を検討するために、寿司を例として、「好き」の程度を3段階とした評価語を定義し、提示食品画像を評価、分類させたときのERPを測定した。

2. 測定方法 試験用画像には、寿司を撮影した画像の中から、被験者がとても好きなものと普通に好きなもの各2枚を含む計6枚の画像を用いた。試験用画像をランダムな順に、提示時間を2秒、休止時間（黒画像）を平均3秒（2～4秒のランダム）としてLCD上に提示した。被験者には、画像が提示されたらすぐに、表1の評価語に対応するボタンを押すように指示した。脳波計測では、国際10-20法[3]に従い、探査電極を正中線上Fz、Cz、Pzに、基準電極を左右の耳朶A1とA2とし（連結）、接地電極を鼻根部近傍Gとした。脳波波形は、帯域幅0.5～300 Hz、標本化周波数1 kHz、16 bitでコンピュータに取り込み、処理した。被験者は健康な成人15名（19～24歳）、同意を得たうえで実験を行った。

3. 結果と検討 どの評価語の場合においても画像提示後約300 msと約500 msにピークが出現している。後者のピークにおいて、評価によって振幅が異なり、「とても好き」と評価したときにP300の振幅が大きい。評価による差を検出するため、全ての被験者の加算平均波形から潜時が250～500 msの範囲の面積を抽出し、2元配置分散分析（下位検定Tukey法）を行った。その結果、「とても好き」と「好き」の評価時のP300面積に有意な差が得られた（ $p < 0.05$ ）。

30) 発表学会：化学系学協会東北大会

発表日と場所：2009年9月20日、日本大学工学部（郡山市）

演題名：味覚センサを用いた食品のゾル化に伴う味質変化の評価（第2報）

発表者：○熊谷昌則¹、佐藤文華¹、高橋徹¹、高橋砂織¹、中村愛美²、吉田智²、
鈴木靖志²（¹秋田総合食品研究所、²サラヤ株式会社商品開発本部）

【目的】 とろみ調整食品は、加齢や疾病などによりえん下機能が低下した摂食・えん下障害者に液状食品を提供する際に、経管から経口移行訓練目的や誤えんや窒息のリスクを低減させる目的で用いられている。とろみ調整食品には、適度な粘性のみならず、添加前後でもとの食品の味を変化させないことも重要な特性のひとつとして

求められている。我々は、昨年度の本会において、特性の異なる複数の脂質高分子膜を味のトランスデューサとして用いるマルチチャンネル型味覚センサが、とろみ調整食品の味質への影響を客観的に評価する上で有効な手法として適用可能であることを報告した。今回は、市販のとろみ調整食品 12 種類を用いて、当該添加食品の味質変化の度合いを定量的に評価する方法について検討した。

【方 法】 味覚センサはインテリジェントセンサーテクノロジー社の味認識装置 SA-402B を用いた。出力は、脂質膜センサと参照電極間の測定電位である。とろみ調整食品は、澱粉をとろみ成分とする第 1 世代商品群 3 種、澱粉とグアガムをとろみ成分とする第 2 世代商品群 3 種、キサンタンガムをとろみ成分とする第 3 世代商品群 6 種を用いた。とろみ調整食品の添加食品は、塩味、酸味、うま味、渋味のそれぞれ単一味溶液と、緑茶飲料とオレンジジュースを用いた。

【結果と考察】 味覚センサ応答パターンにより、とろみ調整食品が添加された食品の味質変化の度合いを主成分分析ならびにクラスター分析によって定量的に評価することが可能となった。これにより市販のとろみ調整食品には、それを添加したことにより元の食品の味を変えにくいものと変えやすいものがあることが示された。さらに、添加する食品によって味質変化の度合いが異なり、塩味、酸味、うま味、渋味といった単一味溶液に対する影響もそれぞれ異なることが示されたので、とろみ調整食品の使用にあたっては適用食品ごとに評価する必要がある。

31) 発表学会：第 61 回日本生物工学会大会

発表日と場所：2009 年 9 月 24 日、名古屋大学（愛知県）

演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)DNA トランスポゾン *Crawler* の転移活性を利用した新規育種法の検討

発表者：小笠原博信¹，佐藤勉²，今野宏²，秦洋二³，五味勝也⁴

(¹秋田県総食研・応用発酵，²㈱秋田今野商店，²月桂冠・総研，

³東北大院農・生物産業創成)

【目的】 *A. oryzae* OSI1013 株より見いだされた活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* は、通常培養条件下での転移は認められていないが、高濃度 Cu や高温ストレス処理により顕著な転移活性を示す¹⁾。さらに、インタクトな *Crawler* 配列を多コピーで有する他の実用株においても同様の転移特性が示され²⁾、「組換え」によらない遺伝子改変育種法の開発が期待される。そこで、「まるごと秋田味噌」用麴菌 *A. oryzae* AOK139 株の白色変異株取得を目的に、最適転移条件の検討と *Crawler* 挿入変異株のスクリーニングを試みた。

【方法と結果】 AOK139 株の分生子を懸濁し、転移活性化を引き起こす Cu や高温ストレス条件下で 6hr 振とう処理後、PDA 培地に塗布した。生育したコロニーおよび分生子の外観によりスクリーニングを行ったところ、両処理区から分生子色、気中菌糸長、分生子形成数等の異なる表現型変異株が多数得られた。白色分生子変異株の PCR および DNA 配列解析により、1 株において *wA* 遺伝子のコード領域内の TA 部位に *Crawler* が新に逆方向で挿入していることが示された。

1)Ogasawara,H.,et al., Fungal Genet. Biol., 46, 441-449 (2009)

2)小笠原・他, 第7回糸状菌分子生物学コンファレンス講演要旨, p88(2007)

32) 発表学会：日本分析化学会第58年会

発表日と場所：2009年9月26日、北海道大学

演題名：近赤外分光分析法を用いた煎餅の水分センサーの開発に関する基礎検討

発表者：○竹山 舞子¹・高橋 朋也¹・李 華¹・熊谷 昌則²・菊地 良栄¹・
藤原 一彦¹・小川 信明¹ (¹秋田大学、²秋田県総食研)

【緒言】 米菓において、水分の量や含みやすさに違いがあるが、定量的評価はできていない。煎餅の水分は一般に4-6%程度で、通常、水分量は粉末状で135℃、3hにおける加熱減量から定量する重量法で求められており、手間と時間がかかっている。一方、近赤外(NIR)分光法は水分、たんぱく質、澱粉などを迅速に非破壊で測定することが可能である。さらに、袋に入れたままでも試料を測定できる可能性があり、煎餅の工程、品質管理に役立つことが期待される。そこで本研究では、携帯可搬型のNIR分析装置を用いて、煎餅の水分を科学的根拠に基づいて定量的に解析する方法の検討を行った。

【実験】 サンプルは、秋田いなふく米菓製しょうゆせんべい、亀田製菓製ぼたぼた焼き、白い風船を用いた。サンプルを20-135℃/10℃stepで乾燥させ、その都度スペクトルと重量を測定した。スペクトルは携帯可搬型近赤外分光光度計PlaScan-W(IFSジャパン(株))を用いて、拡散反射モードで測定した。

【結果と考察】 煎餅の水分の検量は、水に帰属される1917nm付近のピーク強度を用いて行った。ここで、加熱の影響を受けない1529nmのCONHに帰属される疑似ピークの強度を各スペクトルで合わせ、近赤外光が照射される部分の官能基の数を均一化することで、含水量分析における相関性を向上させた。さらに袋に入れたまま、煎餅のスペクトルを測定した結果、解析に用いた1917nm、1529nmのどちらにも影響はなく、袋のままでも水分定量が可能だということがわかった。また、測定した水分の蒸発のしやすさ(しけりにくさ)を蒸発エンタルピー ΔH として解析したところ、一般的に知られている定性的事実とよく一致することが分かった。

33) 発表学会：第148回日本獣医学会学術集会

発表日と場所：2009年9月27日、とりぎん文化会館(鳥取市)

演題名：キク科植物由来ルペオールのみメラノーマ細胞分化誘導活性

発表者：畠 恵司、高橋砂織(秋田県総食研)、荻原喜久美、柄 武志、南 三郎、
岡本芳晴(鳥取大学)

メラノーマ(悪性黒色腫)は転移率が高く、進行が速い腫瘍である。そのため早期発見を除き、完全治癒が困難な腫瘍である。我々はこれまで、メラノーマ細胞分化誘導物質として、キク科植物よりルパン型トリテルペンを単離し、その分化誘導作用機構等を解明してきた。本研究では、ルパン型トリテルペンのひとつであるルペオールについて *in vitro* でのメラノーマ細胞分化誘導活性ならびに自然発症メラノーマ対する

治療効果を検証した。

蛍光染色等により、ルペオール処理した B16 2F2 マウスメラノーマ細胞では、アクチン束の脱重合が誘導され、メラノーマ細胞分化の指標である樹状突起伸長が観察された。アクチン束の重合・脱重合は、腫瘍細胞の運動性ならびに浸潤に深く関わっていることが知られている。そこで、ルペオール処理が B16 2F2 細胞の運動性に影響するかどうかを検討した結果、ルペオール添加濃度に依存してメラノーマ細胞の運動性が抑制された。つぎに、種々のヒト由来腫瘍細胞の運動性に対する影響を調べたところ、ルペオールはヒトメラノーマならびに神経芽腫細胞といった神経冠に由来する細胞の運動性を抑制したが、その他の細胞の運動性には影響を与えなかった。自然発症メラノーマ患犬に対する治療効果を検証した結果、メラノーマ患部へのルペオールの複数回局所投与により、7 症例のうち 6 症例で腫瘍消失ならびに縮小等の効果が認められた。

34) 発表学会：第 22 回動物細胞工学シンポジウム

発表日と場所：2009 年 10 月 14 日、東京工業大学（東京都）

演題名：肝臓細胞を用いた新規脂質改善薬探索法

発表者：畠 恵司（秋田県総食研）

【目的】2008 年 4 月の特定健診制度開始とともに、メタボリック症候群の予防・改善に対する気運が高まり、それに伴う高脂血症改善薬用素材の研究・開発がますます盛んに行われるようになった。高脂血症改善薬用の研究開発には、主に動物試験が用いられているが、個体差が少なく、開発に要する費用や時間の短縮・効率化が期待できる *in vitro* での評価系が注目を集めている。しかしながら、これまでの *in vitro* での脂質の詳細分析に関しては、感度や *in vivo* 試験との相関性など課題も多い。今回我々は、独自のゲル濾過 HPLC 法 (LipoSEARCH®) を用い、肝臓由来細胞の培養上清に分泌されるコレステロール・中性脂肪に対する影響を詳細に分析することで、高脂血症改善作用評価系の開発を行った。

【方法】ヒト肝臓癌細胞 (HepG2) の培養上清 (80 μ l) に含まれる主要リポタンパク質 (VLDL、LDL、HDL) をゲル濾過カラムにより、各々のリポタンパク質粒子サイズに従い分画後、オンラインで酵素反応をさせることにより、リポタンパク質内中の脂質 (コレステロール及び中性脂肪) 濃度を定量した。

【結果】培養上清に分泌される脂質を定量することで、脂質合成・分泌能の高い細胞 (HepG2-Lipo 細胞) を選抜し、以下の実験に供した。HepG2-Lipo 細胞は、親株 (HepG2 細胞) に比べて、9.4 倍の中性脂肪、6 倍のコレステロールを産生・分泌能を有する。Real time RT-PCR 分析の結果、HepG2-Lipo 細胞においては、脂質合成に関わる転写因子群、酵素、リポタンパク質の構成タンパク質であるアポリポタンパク質遺伝子の発現が亢進しており、先の高い脂質産生・分泌能に繋がると推察された。

次に、一般的な脂質改善薬について HepG2-Lipo 細胞における脂質産生・分泌に対する影響の確認を行った。コレステロール合成阻害剤 (スタチン系薬剤) は、HepG2-Lipo 細胞のコレステロール合成・分泌のみを、フィブラート系薬剤は、同細胞

からのコレステロール、中性脂肪両者の分泌量を抑制し、これらの結果は *in vivo* における両薬剤の作用と一致するものであった。

さらに、我々が高脂肪食負荷マウス/ラットに経口投与させた系において、血中中性脂肪値を正常化させることを見いだした **lupeol** (キク科植物に多量に含まれるトリテルペン) や米糠乳酸発酵素材について、本システムを用いて機能解析を行った。両者とも、HepG2-Lipo 細胞からの中性脂肪分泌量を抑制した。この結果より、**lupeol** ならびに米糠乳酸発酵素材は、肝臓における脂質合成を抑制することで、高脂肪食負荷動物の血中中性脂肪値を正常化したものと推察された。特に、**lupeol** 処理した HepG2-Lipo 細胞における発現遺伝子解析の結果、SREBP-1c や脂肪酸合成酵素といった中性脂肪合成に関わる遺伝子、apoB-100 およびミクロソーム中性脂肪転移タンパク質などリポタンパク質の構成・成熟に関わる遺伝子の発現抑制が確認された。

35) 発表学会：第 82 回日本生化学会大会

発表日と場所：2009 年 10 月 23 日、神戸国際会議場 (神戸市)

演題名：PPAR 活性化および COX-2 発現抑制を指標としたバラ油の機能性評価

発表者：勝川路子¹、長澤聡子¹、高井綾子¹、中田理恵子¹、堀一之²、高橋砂織²、井上裕康¹ (¹奈良女子大・食物栄養、²秋田県総食研)

(要旨)

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) は 3 種類のサブタイプを持つ核内受容体であり、生活習慣病予防の標的として注目されている。一方、誘導型シクロオキシゲナーゼ (COX-2) はプロスタグタンジン産生の律速酵素であり、非ステロイド性抗炎症薬の標的として知られている。我々は、PPAR アゴニスト活性および COX-2 発現抑制効果を指標とした種々の食品成分の機能評価を行っている。本発表では、バラ油成分の PPAR 活性化能および COX-2 発現抑制効果について報告する。PPAR の選択的アゴニスト活性はウシ血管内皮細胞に PPARE レポーターベクターと各 PPAR 発現ベクターを共導入し、バラ油成分添加による PPAR 活性化を測定した。COX-2 発現抑制効果は同細胞の COX-2 レポーターベクターと PPAR γ 発現ベクターを共導入後、バラ油成分を添加し、リポポリサッカライド刺激による COX-2 発現誘導に対する抑制効果を測定した。さらに、COX-2 の mRNA レベルおよびタンパク質レベルでの抑制効果を測定した。バラ油の主要成分であるシトロネロール、ゲラニオールは、PPAR α および γ の選択的アゴニスト活性を持つとともに、COX-2 発現抑制効果を持つことが分かった。また、両成分の COX-2 mRNA レベルでの作用は異なることが分かった。

36) 発表学会：第 82 回日本生化学会大会

発表日と場所：2009 年 10 月 23 日、神戸国際会議場 (神戸市)

演題名：レニンの昆虫細胞発現系の構築とレニン阻害物質

発表者：高橋砂織、安和広乃¹、堀 一之、樋渡一之、菊地賢一¹、後藤 猛¹ (秋田県総食研、¹秋田大学・工学資源)

【目的】本研究では、組換え型ヒトレニンバキュロウイルス感染 *Spodoptera frugiperda*

(Sf-9) 昆虫細胞培養系におけるプロレニンの発現解析を行うとともにプロレニンプロセッシング酵素 (PPE) の諸性質を検討した。さらに、組換え型レニンを用いたレニン阻害物質探索系の構築についても検討したので報告する。

【方法】 Sf-9 細胞は、無血清培地にて培養した。指数増殖期にある Sf-9 細胞にヒトプロレニン遺伝子組換えバキュロウイルスを種々の感染多重度(MOI)で接種した。レニン及びプロレニンの発現は、Western Blotting により確認した。レニン活性は、レニンの基質認識部位を基に設計した蛍光消光基質を用いて測定した。PPE 活性は、SF-9 細胞由来精製レニンの N 末端配列を基に PPE 認識部位を想定して設計した蛍光消光基質を用いて測定した。【結果と考察】 種々の MOI によるウイルス感染細胞におけるレニン及びプロレニン生産の経時変化を検討した。その結果、MOI が 1.0 の場合に培養中期にプロレニンの良好な発現が観察され、さらに培養を継続することでプロレニンからレニンへの変換が認められた。PPE 活性はプロレニンがレニンへ変換する時期に対応してその発現が確認された。一方、組換え型レニンと蛍光消光基質によるレニン阻害活性測定系を用いた大豆由来レニン阻害物質の構造機能相関解析結果についても報告する。

37) 発表学会：第 13 回商品開発管理学会大会

発表日と場所：2009 年 11 月 8 日、宮城大学(宮城県仙台市)

演題名：地方公設試と企業が共同で開発した新商品事例 -まるごと秋田みそ-

発表者：尾張かおる、渡辺隆幸*、齋藤文信**

(秋田県産業経済労働部食彩あきた推進室、*秋田県総食研、**秋田県農林水産技術センター企画経営室)

【要旨】

秋田県農林水産技術センター総合食品研究所(現：秋田県総合食品研究所)では、味噌製造に必要な微生物の研究・開発を行っており、県内味噌製造業者と連携し「秋田味噌」の商品力向上を図っている。

さらなる商品力向上を目指し、味噌製造に必要な微生物や大豆・米など味噌原料(塩を除く)を秋田県内産とする差別化商品の開発を行うこととなり、県内味噌製造業者 11 社が中心となって「まるごと秋田みそ研究会」が設立された。「まるごと秋田みそ研究会」によって開発する味噌統一ブランド商品は県外への販売を想定したので、食味評価と、統一ラベル導入に向けたラベルデザイン決定の過程に消費者調査を導入した。

38) 発表学会：ニューロコンピューティング(NC)研究会

発表日と場所：2009 年 11 月 12 日、東北大学

演題名：食品画像提示による好み評価時の事象関連電位計測

発表者：○田中元志¹、本間智大¹、中島恵子¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、秋山美展³(¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学)

事象関連電位(ERP)を指標とした食品の評価法を検討するために、提示された食

品画像を被験者の好みの程度で評価させたときの ERP を計測した。食品に寿司を取り上げ、被験者がとても好きなもの 1 枚、次に好きなもの 1 枚、普通に好きなもの 3 枚の計 5 枚の画像を用いた。「とても好き」、「次に好き」、「普通に好き」の 3 段階で評価させた結果、P300 面積（加算平均波形の潜時 250～500ms の面積）は「とても好き」と評価したときに最も大きく、「普通に好き」のときに最も小さくなった。評価（好み）によって P300 面積が異なり、段階的な評価の可能性が得られた。

39) 発表学会：第 43 回日本生体医工学会東北支部大会

発表日と場所：2009 年 11 月 21 日、福島大学

演題名：食品の好み評価時の ERP 成分 P300 に関する検討

発表者：○本間智大¹、田中元志¹、中島恵子¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

1. はじめに これまで、画像で食品を提示して、好みを主観評価するときの事象関連電位（ERP）、特に P300 成分を主観評価の定量的指標とすることを検討してきた。潜時 250～500 ms の面積（P300 面積）の利用を提案した。P300 成分内の潜時約 300 ms および約 400～550 ms に複数のピークが観測される場合があったため、ピークの判別を検討する必要があるがあった。P300 には注意に関連する P3a、課題に関連する P3b などあると考えられている。画像提示と関連した成分を確認するために、食品画像を見ているだけのときと、3 段階で好み評価させたときの ERP を測定したので、報告する。

2. 測定方法 被験者に画像を見ている（評価しない）課題と、3 段階好み尺度で評価するボタン押し課題を与えたときの ERP をそれぞれ測定した。評価用画像には、被験者が好きな順に選んだ 6 枚の寿司画像を用いた。評価用画像（提示順はランダム）の提示時間を 2 秒、休止画像（中央に固視点をつけた黒画像）を平均 3 秒（2～4 秒）とし、LCD（21 型）上に交互に提示した。探查電極を Fz, Cz, Pz（国際 10-20 法[3]電極配置）とし、脳波波形を帯域幅 0.5～300 Hz、標本化周波数 1 kHz、16 bit でコンピュータに取り込んだ。被験者は健康な成人 12 名（19～24 歳）とし、同意を得たうえで実験を行っている。

3. 結果と検討 評価をしない場合（Ctrl）と評価をした場合（評価値 1～3）のどちらにおいても、潜時が約 300 ms にピークが見られる。潜時に有意な差は見られず、評価によっても振幅に違いが見られないことから、画像提示によって誘発された P3a 成分と考えられる。また、これまでの結果と同様に 350～550 ms にピークが見られる。この成分は評価課題においてその振幅が大きく、評価によって振幅が異なることから、好み評価と関連した成分（P3b）と考えられる。

40) 発表学会：第 43 回日本生体医工学会東北支部大会

発表日と場所：2009 年 11 月 21 日、福島大学

演題名：食品画像を用いた画質評価時の ERP 波形に関する一検討

発表者：○中島恵子¹、田中元志¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

1. はじめに 画質や好みなどは主観評価が行われているが、その曖昧さから主観量の定量化が望ましい。これまで、画像を提示して主観評価させたときの事象関連電位 (ERP) を測定してきた。風景画を用いた画質評価時の ERP (総加算平均波形) には P300 のピークが 1 つ観測されたが、食品画像を用いた好み評価においては、P300 が観測される潜時 250~500 ms に複数のピークがみられる場合があった。この要因として、使用した画像の違い、課題の違い、などが考えられる。好み評価実験に用いた食品画像 1 枚の品質を変えて画質評価させたときの ERP 測定を行い、ERP 波形の違いが食品画像を用いたことによるものか検討したので報告する。

2. ERP 測定方法 鮮明な食品画像 (原画像 P0) と、それをぼかした画像 3 枚 (P1~P3, P3 が最も品質劣化) の計 4 枚を用いた。評価用画像 (P0~P3) の提示時間を 2 s, 標準画像 (P0: 中央に固視点) を平均 3 s (2~4 s) とし、LCD (20 型) 上に交互に提示し、表 1 の品質尺度で比較評価させた。評価用画像の順はランダムとした。電極配置は国際 10-20 法に従い、探査電極を Fz, Cz, Pz とし、脳波波形は帯域幅 0.5~300 Hz, 標準化周波数 1 kHz, 16 bit でコンピュータに取り込み、処理した。被験者は健康な成人 16 名 (18~24 歳) とし、同意を得たうえで実験を行った。

3. 結果と検討 刺激提示後約 300~400 ms に P300 と思われるピークが 1 つ出現しており、各被験者の加算平均波形においても同様の傾向が見られることから、好み評価においてピークが複数出現する要因は、使用画像の違いによるものではないと考えられる。「非常に悪い」のときに P300 振幅がもっとも大きく、評価によって異なった。画質評価については文献と同様な結果が得られ、再現性が確認できた。

41) 発表学会 : Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009

発表日と場所 : 2009 年 11 月 24 日、神戸国際会議場 (神戸市)

演題名 : Characterization of prorenin processing enzyme responsible for *in situ* active human renin production by baculovirus-infected Sf-9 cells and inhibition by excessive processing.

発表者 : Takeshi Gotoh¹, Hirono Awa¹, Shouki Hikage¹, Ken-Ichi Kikuchi¹, and Saori Takahashi² (¹Akita University, ²Akita Research Institute of Food and Brewing)

Expression of recombinant human (rh)-renin in Sf-9 insect cells using baculovirus vector system has advantageously led to the *in situ* production of active rh-renin by the action of intrinsic protease. However, the production active rh-renin has been gradually degraded in the same time by excessive proteolysis and decreased in a very late phase of the infection culture. The present study was addressed to characterize the protease (prorenin processing enzyme: PPE) responsible for the active rh-renin production and to inhibit the excessive degradation of the produced rh-renin, exploring a new possible application of the baculovirus vector system, which can synthesize mature proteins from expressed precursor proteins. The PPE was partially purified by three steps of column chromatography and revealed to have a molecular weight of 32 kDa and belong to the cysteine proteases. The

culture media of baculovirus-infected Sf-9 were supplemented with either protease inhibitors or BSA. The degradation of active rh-renin after the maximum accumulation was depressed in some extent by the supplementation of cysteine protease inhibitors. However, the processing from inactive rh-prorenin to active rh-renin was also depressed. On the contrary, the supplementation of BSA successfully inhibited the degradation of active rh-renin without affecting the processing from inactive rh-prorenin to active rh-renin.

42) 学会発表：2009MRS Fall meeting (Materials and Research Society)

発表日と場所：2009年11月30日、アメリカ ボストン

演題名：Bioethanol production from various cellulosic biomasses using novel two step fermentation system.

発表者：進藤 昌、西田孝伸、戸松さやか、杉本勇人（秋田総食研）

Bioethanol is an ideal fuel for transportation use since it is easily transported, charged to vehicles, and carried on board. Lignocellulosic biomass sources, such as agricultural and forestry residues, the major portion of municipal solid waste, and ultimately energy crops, have the potential to act feedstock for the sustainable production of organic liquid fuels. 7.6 million ton of forest residues were generated every year in Japan. It is thus environmentally and economically significant to consider the production of ethanol using forest residues. If forest residues could be efficiently used as raw materials for the production of bioethanol, a considerable reduction in costs would be possible. Although the discovery of xylose-fermenting yeasts has enhanced interest in the microbial conversion of renewable lignocellulosic resources to ethanol, various problems occurred in the development of an efficient fermentation: the main problem is that these yeast strains exhibit low ethanol-tolerance and low ethanol productivities from xylose, compared to those obtained from D-glucose with other microorganism. We reported that the novel bioethanol production system using immobilized *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* from spent grain. However, it was difficult to produce the high concentration of ethanol because of low ethanol-tolerance of *Pichia stipitis*. To improve the efficiency of xylose fermentation, it is necessary to remove the ethanol from fermentation broth. Recently, we isolated the novel yeast cell (SS 2-1) from decayed wood in Japanese mountain. This strain can produce the bioethanol from xylose and glucose. This strain was identified as *Pichia stipitis* by morphological, physiological and biochemical characterisation. We developed the novel bioethanol production system using *S. cerevisiae* and SS2-1 from a mixture of glucose and xylose. Firstly, mixture of glucose and xylose was fermented by *S. cerevisiae*. When glucose was converted ethanol completely, the fermented broth was treated by gas-stripping method using CO₂ gas in order to remove the bioethanol. Secondly, the treated broth was fermented by SS2-1. When two-step fermentation system was tried out using a mixture of 140g/L of glucose and 70 g/L of xylose, 58 g/L of ethanol was produced from glucose by *S. cerevisiae*. In this case, theoretical yield was 82%. Furthermore, 25

g/L of ethanol was produced from xylose by SS2-1. In this case, theoretical yield was 72%. Finally, 83.5 g/L of bioethanol was obtained from a mixture of 140 g/L of glucose and 70 g/L of xylose. Furthermore, *Salix pet-susu* was investigated using this novel ethanol production system. Saccharified-liquid was obtained by ammonia-pretreatment and cellulase treatment method and this Saccharified-liquid contained 54 g/L of glucose and 17 g/L of xylose. When ethanol production was done using novel production system, 32 g/L of ethanol was produced and theoretical yield was 87%.

43) 発表学会：第 32 回日本分子生物学会

発表日と場所：2009 年 12 月 9 日、パシフィコ横浜（横浜市）

演題名：Site-directed mutagenesis of bacterial D-aspartyl endopeptidase (paenidase)

発表者：Satoru Nirasawa¹, Saori Takahashi² (¹ Japan International Research Center for Agricultural Sciences, ² Akita Research Institute of Food and Brewing)

Paenidase is the first microorganism-derived D-aspartyl endopeptidase that specifically recognizes an internal D-Asp residue to cleave [D-Asp]-X peptide bonds (S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**,197-202, 2006). In this study, the active site residues of paenidase were estimated by database searches and a molecular modeling, and mutated by PCR to investigate the structure and function of the enzyme. Amino acid sequence similarity was confirmed between paenidase and several penicillin binding proteins (PBP), with matches of 35-39% seen on a BLAST database search. In addition, paenidase was classified into peptidase family S12 based on a MEROPS database search. Family S12 contains serine-type D-Ala-D-Ala carboxypeptidases that have three active site residues (Ser, Lys and Tyr) in the motifs Ser-Xaa-Thr-Lys and Tyr-Xaa-Asn. These motifs were conserved in the primary structure of paenidase. Next, five mutants (S65A, S65C, K69A, K69I and Y149F) for the putative active site residues of the paenidase were constructed and expressed in *E. coli* cells, whereas they showed no peptidase activity. CD and fluorescence spectra of the mutants were identical with those of the wild type. These results indicate that these residues of the paenidase are essential for the enzyme activity. Moreover, two mutants (H111A and H276A) for the conserved residues of PBPs were constructed and showed the suc-[D-Asp]-MCA-hydrolysis activity. These results indicate that these residues are not essential for the enzyme activity.

44) 発表学会：平成 21 年度 第 9 回 産総研・産技連 LS-BT 合同発表会 オーガナイズドセッション A

発表日と場所：2010 年 2 月 4 日、産業総合研究所（つくば市）

演題名：中・高齢者の心身両面の健康を支える食品の開発と評価ネットワークの構築

発表者：高橋徹（秋田県総食研）

秋田県の高齢化は非常に速く、ここ数年内に全国一の高齢者県になると予測されている。更に、がんや高血圧など生活習慣による疾病での死亡率が全国一高く、県民が安心して活躍できる健康長寿社会の実現は県政の喫緊の課題となっている。そこで、

中・高齢者の嗜好に合わせた受容性の高い新たな食品や飲料を開発し、中・高齢者の心身両面の健康維持に貢献できる食品として全国に発信すると共に、特定保健用食品の開発に向けた評価ネットワークの構築を目指して、文部科学省都市エリア産学官連携促進事業（平成 19～21 年度）を 3 公設研究機関、5 大学、29 企業の連携にて実施中である。本事業は共同研究事業と研究交流事業とから成り、研究面では下記の 3 つの大きな柱がある。

研究テーマ 1：脳波等のリアルタイム計測による新規食品評価法の開発と咀嚼行動による脳機能活性化に関する研究

研究テーマ 2：中・高齢者の心身両面の健康を支える食品・酒類の開発

研究テーマ 3：穀類等をベースとした特定保健用食品の開発

研究テーマ 1 では、食品画像の外観評価時における脳波の一種である事象関連電位（ERP: Event-Related Potential）計測からヒトの嗜好の客観評価を試みている。また、研究テーマ 2 では、「米」をキーワードにした中・高齢者をターゲットとした食品開発を進めている。さらに、研究テーマ 3 では、特定保健用食品開発に向けて地域内の産官学の連携による評価系が構築されつつある。本講演では研究事業の一端を紹介したい。

45) 発表学会：平成 21 年度 第 9 回 産総研・産技連 LS-BT 合同発表会

発表日と場所：2010 年 2 月 4 日、産業総合研究所（つくば市）

演題名：生体計測によるテクスチャー評価ならびに中高齢者の嗜好に合致した食品の開発

発表者：高橋徹¹⁾、早川文代²⁾、熊谷昌則¹⁾、秋山美展³⁾、神山かおる²⁾

¹⁾ 秋田県総食研、²⁾ 農研機構食総研、³⁾ 秋田県立大学

【目的】高齢者食品の開発の上で、食べやすさ等のテクスチャーの評価や嗜好に適した商品設計は重要である。11 種類の異なるテクスチャーを示す固形状食品を試料として、ヒト臼歯での一噛み時の咀嚼特性値を多点感圧薄膜型センサの計測から得た。また、機器測定での力学特性値、官能評価による噛みやすさと咀嚼特性値との関連について調べた。

【結果と考察】咀嚼力-時間曲線の形状と大きさから、供試食品群のテクスチャーは 4 分類に可能であった。咀嚼特性値と力学特性値は、ベキ乗モデルで説明が可能であった。咀嚼時最大力と最も高い相関を示したのは、貫入試験時最大力であった（ $R=0.916$ ）。官能評価で得た噛みやすさと高い相関を示したのは、一噛み時の力積であった（ $R=-0.872$ ）。一方、機器測定による噛みやすさの予測は、圧縮試験時の仕事とのみ有意な相関があった（ $R=-0.689$ ）。秋田県の伝統食品でとろみがあり、中高齢者に好まれる「ごぎねり」を加工食品として改良した。「ごぎねり」は粗く粉碎した米粒を炊き、食酢と糖で調味したいわば、甘酸っぱい米の菓子である。食酢による低 pH のために加熱殺菌が容易で、長期間の保存も可能である。地元の食材との組み合わせによる新商品も開発した。

46) 発表学会：第 44 回秋田化学技術協会技術発表会

発表日と場所：2010 年 3 月 5 日、秋田大学

演題名： Sf-9 昆虫細胞-バキュロウイルス発現系由来アスパルティック
プロテアーゼ (SAP) の特性解

発表者：(秋田大・工資) 小野洋輝, 後藤猛, 菊池賢一,
(国際農研セ) 蕪澤悟、(秋田県総食研) 高橋砂織

【目的】 昆虫細胞-バキュロウイルス発現系は、外来遺伝子を導入したバキュロウイルスを昆虫細胞に感染させることにより目的タンパク質の高効率な生産を可能にする。しかし、昆虫細胞またはバキュロウイルス本来の遺伝子にコードされる複数の内在性プロテアーゼが存在するため、目的タンパク質の収量を低下させることがある。このため、効率的なタンパク質生産のためにはこの内在性プロテアーゼの種類や特性を把握しておくことが重要となる。本研究では内在性プロテアーゼの一つであるアスパルティックプロテアーゼ (Sf-9 cell derived aspartic protease, SAP) の特性解析を行った。

【方法】 指数増殖期の Sf-9 昆虫細胞懸濁液にヒトプレプロレニン cDNA 導入バキュロウイルス (vhpR) を感染多重度(MOI) 1 pfu/cell で感染させ、28℃で 6 日間攪拌培養した。SAP は Pepstatin-aminohexyl Sepharose カラム, DEAE-Sepharose Fast Flow カラム及び Superdex-200 カラムを用いて精製した。SAP の活性値測定には蛍光自己消光基質 MOCAc-Gly-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe*Phe-Arg-Leu-Lys (Dnp)-D-Arg-NH₂ (*想定されるペプチド結合切断部位)を用いた。37℃でインキュベートした後、励起波長 328 nm, 測定波長 393 nm における蛍光強度から活性値を求めた。

【結果と考察】 SAP の生成挙動：感染培養液中における細胞密度、生存率と SAP 活性の経時変化を調べた。その結果、SAP 活性は培養の開始から徐々に上昇してプラトーに達した後、培養最後期に再度上昇する傾向が見られた。このとき、細胞密度と生存率の急激な低下が観察されることから、細胞溶解により細胞内に存在する SAP が培養液中に溶出されたものと考えられる。

SAP の精製：感染 6 日目の培養液を用いてペプスタチンアフィニティークロマトグラフィーや Superdex-200 クロマトグラフィーで SAP の精製を行った。精製 SAP の分子量は SDS-PAGE で約 42 kDa と求められた。

SAP の特性解析： SAP の N 末端 25 残基のアミノ酸配列は、NH₂-Phe-Leu-Arg-Val-Pro-Leu-Tyr-Arg-Met-Lys-Thr-Val-Arg-Lys-His-Phe-Gln-Glu-Val-Gly-Thr-Asp-Leu-Gln-Val と同定された。BLAST 解析の結果から SAP の N 末端配列はカイコ由来のカテプシン D に対し高い相同性 (72%) が認められた。このことから、SAP は Sf-9 昆虫細胞由来である可能性が示唆された。蛍光自己消光基質を用いた場合の SAP 活性の至適 pH は 3.0 であった。pH 3.0 における SAP の蛍光自己消光基質に対する *K_m* 値は Lineweaver-Burk プロットから約 1μM と求められた。また、SAP はペプスタチンにより特異的に阻害されることからアスパルティックプロテアーゼファミリーに属することが示された。

47) 学会発表：東京大学・新日本石油 組織連携公開シンポジウム

発表日と場所：2010 年 3 月 9 日、東京大学 (東京都)

演題名：セルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産技術の開発

発表者：進藤 昌（秋田総食研）

バイオエタノールは、植物由来であるため過剰な炭酸ガスの排出が無く、地球温暖化防止の切り札として注目されている。日本では、バイオエタノールの原料として食糧と競合しない、雑草や稲ワラなどのような草本系バイオマスと間伐材や廃木材などのような木質系バイオマスを利用するのが望ましい。セルロース系バイオマスの多くは、6炭糖（ヘキソース）と5炭糖（ペントース）で構成されており、効率的にバイオエタノールに変換するためには、構成糖を全てバイオエタノールに変換することが不可欠である。今回、セルロース系バイオマスからの微生物による発酵を中心として、単行複発酵、並行複発酵およびコンソリデーテッドバイオプロセス（CBP）によるバイオエタノール生産技術について紹介する。さらに、演者らが取り組んでいる発酵システムについても紹介する。

演者らは、非遺伝子組換え菌によるセルロース系バイオマスからのバイオエタノール生産を目指して、自然界よりキシロースからエタノールを生産できる菌の検索を行った。腐朽した倒木や枯れ葉の堆積している個所、またキノコや花などを集め、それらサンプルからキシロースからのバイオエタノール生産能を有する菌のスクリーニングを行い、2株の酵母を得た。本酵母は、グルコースおよびキシロースから高い収率でバイオエタノールを生産することができる。しかし *S.cerevisiae* に比較してエタノール耐性が低く、グルコースからのバイオエタノール変換速度も遅い。従って、本酵母を単独で使用してもヘキソースとペントースが混在するセルロース系バイオマス糖化液からバイオエタノール生産を行っても 5%(w/v)が限界である。そこで、演者らは本酵母のエタノール阻害を除くために *S.cerevisiae* と本酵母を2段階に用いてバイオエタノール生産を行うシステムを開発した。

現在、さらなる低コスト化を目指して本酵母へのエタノール耐性や高温耐性などのストレス耐性の付与を行い、これまでに数株のストレス耐性株を取得した。さらに、育種された酵母及び2段階発酵法を用いたエリアンサスやバガスなどのバイオマスからのバイオエタノール生産を検討し、高い収率でバイオエタノールを得ることに成功している。

48) 発表学会：電子情報通信学会 2010 年総合大会

発表日と場所：2010年3月16日、東北大学

演題名：瓶を例とした食品の外観評価時の ERP 計測

発表者：○田中元志¹、本間智大¹、井上浩¹、新山喜嗣¹、高橋徹²、熊谷昌則²、
秋山美展³（¹秋田大学、²秋田県総食研、³秋田県立大学）

1. まえがき これまで、事象関連電位（ERP）を指標とした食品評価を目的とし、米飯や寿司の画像を提示して、好みで主観評価させたときの ERP，特に P300 成分について検討してきた。また，P300 成分に複数のピークが現れたことから，評価指標として P300 の面積の利用を提案した[3]。食品評価においては，食物だけではなく，パッケージなどを含めた外観も重要と考えられる。そこで，外観の色の好みを評価対象

とし、形がほぼ同じで色が異なる酒瓶を用いることとした。本稿では、瓶画像を提示し、「好き」の程度を3段階の評価語で評価、分類させたときのERPを測定したので報告する。

2. 測定方法 色が異なる酒瓶を撮影した画像の中から、被験者にとっても好きなもの1枚、次に好きなもの1枚、普通に好きなもの3枚を選ばせ、試験用画像に用いた。銘柄など他の要因による影響を避けるため、ラベルは取り除いた。試験用画像は、ランダムな順に、提示時間を2秒、休止時間（黒画像）を平均3秒（2～4秒のランダム）としてLCD上に提示した。被験者には、画像が提示されたらすぐに、評価語「とても好き（評価値3）」、「次に好き（2）」、「普通に好き（1）」で評価し、対応するボタンを押すように指示した。探査電極を国際10-20法によるFz, Cz, Pzとし、脳波波形を帯域幅0.5～300 Hz、標本化周波数1 kHz、16 bitでコンピュータに取り込み、処理した。被験者は健康な成人13名（19～24歳）であり、同意を得たうえで実験を行った。

3. 結果と検討 画像によって、潜時350～550 msの振幅が異なることから、この範囲（P3b）の面積（P300面積）を抽出した。被験者毎に最大面積で正規化した。Ctrlは全ての瓶画像に対して有意に小さかった（ $p < 0.01$ ）。P300面積は、好みの違いにより異なり、とても好きな瓶のときに最も大きい。評価毎にP300面積を抽出した結果、P300面積は「とても好き」のときに最も大きく、「次に好き」、「普通」の順となった。

49) 発表学会：The 7th International Aspergillus Meeting (Asperfest7)

10th European Conference on Fungal Genetics (ECFG10)

発表日と場所：2010年3月28日、4月1日、NH Conference Centre
(Leeuwenhorst、オランダ)

演題名：Transposon mutagenesis using a resident DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*

発表者：Hironobu Ogasawara¹, Tsutomu Satoh², Hiroshi Konno², Yoji Hata³,
Saori Takahashi¹, and Katsuya Gomi⁴

¹ Akita Res. Inst. Food and Brewing, ² Akita Konno Co. Ltd., ³ Research Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd. ⁴ Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University.

An active DNA transposon *Crawler* isolated from the genome of industrially important fungus *Aspergillus oryzae* transposes under extreme stress conditions. The DNA sequencing surveys revealed that the *Crawler* element is widely distributed among *A. oryzae* and *A. sojae* strains, which are commonly used in Japanese traditional fermentation manufacturing. In the present study, we analyzed the relationship between various stress stimuli and inhibition of cryptic splicing of the *Crawler* mRNA by qRT-PCR to enhance the frequency of *Crawler*-mutagenesis in *A. oryzae* AOK139 strain. Under the optimized stress conditions, in which conidiospores were treated in 20mM CuSO₄ or 52°C for 6hr, various phenotypic mutants different from parent AOK139 were isolated. Those exhibited white color in conidiospore, less number in spore formation, shortened aerial hyphae, thin colony

mat and so on. DNA sequencing analyses of a white conidia mutant revealed that *Crawler* newly inserted within a coding region of *wA* gene (polyketide synthetase) in reverse direction, which would cause *wA* deficiency. The insertion occurred also at TA site with duplication according to the manner of *Crawler* transposition. These results suggested that transposon mutagenesis using active *Crawler* is potentially valid to improve characteristics of *A. oryzae* industrial strains.

50) 発表学会：2010年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2010年3月28日、東京大学駒場キャンパス

演題名：サポニン類によるレニン阻害作用 —構造と阻害活性相関解析—

発表者：高橋砂織¹⁾、堀 一之¹⁾、保莉美佳¹⁾、後藤 猛²⁾

(¹秋田県総食研、²秋田大学・工学資源)

【目的】レニンは、レニン・アンギオテンシン昇圧系の最も重要な酵素であるにもかかわらず、酵素入手や活性測定などの問題があり、食物由来阻害物質の探索は殆ど行われて来なかった。我々は、組換え型ヒトレニンを用いて探索した結果、大豆にレニン阻害活性を見出し、ソヤサポニン I が大豆由来レニン阻害物質であることを明らかとした。今回、入手可能な各種サポニンおよびサポゲノールについて、レニン阻害に及ぼす影響を検討したので報告する。【方法】精製組換え型ヒトレニンを用いて阻害活性検定に使用した。レニン活性は、新たに開発した蛍光消光基質を用いて測定した。評価に供したサポニンは、ダイズ、ニンジン、チクセツニンジン、カンゾウ、サイコおよびホウキギ由来であり、一部対応するサポゲノールを含め十数種の化合物についてレニン阻害活性を測定した。【結果と考察】用いたサポニンの中では、ソヤサポニン II とホウキギ由来のサポニン類が、ソヤサポニン I とほぼ同程度の阻害を示した。また、チクセツサポニンやグリチルリチンにも阻害が認められた。しかし、これ以外のサポニンおよびサポゲノールには阻害は認められなかった。活性を示したサポニンは、3位にグルグロン酸が結合しているグルグロニドサポニンであり、レニン阻害活性と化学構造の相関についてさらに検討を進めている。

51) 発表学会：2010年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2010年3月28日、東京大学駒場キャンパス

演題名：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) の部位特異的変異法による特性解明

発表者：葺澤 悟、高橋 砂織¹ (国際農研セ、¹秋田県総食研)

【目的】近年、哺乳類の生体内に遊離のD型アミノ酸やD型アミノ酸を含有するタンパク質の存在することが見出されている。高橋らは、D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ生産菌 (*Paenibacillus* sp. B38株) を分離し、その性質を明らかにした (Takahashi *et al.*, J. Biochem. 139, 197, 2006)。今回我々は、paenidaseの活性部位を同定するために、paenidaseのホモロジーモデリングを行うとともに、各種部位特異的変異体を作成し、その性質を調べた。【方法及び結果】MEROPSデータベースにより paenidaseのアミノ酸

配列を解析したところ、活性部位にSer、Lys、Tyr残基をもつセリンプロテアーゼファミリーS12に分類された。次に、これらのアミノ酸残基を置換した変異体(S65A、S65C、K69A、K69I、Y149F)を作製したところ、いずれも不活性型となった。このことから、これらのアミノ酸残基がpaenidaseの活性発現に重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、活性部位近傍のHis残基を置換した変異体(H111A、H276A)を作製したところ、活性型が得られた。これにより、paenidaseの反応機構が一般的なセリンプロテアーゼのそれとは異なることが示唆された。

52) 発表学会 : 2010年度 日本農芸化学会大会

発表日と場所 : 2010年3月29日、東京大学駒場キャンパス(東京都目黒区)

演 題 : ダイズサポニンがレニンを阻害してSHRの血圧上昇を抑制する

発表者 : 樋渡一之^{1,2}、堀一之²、白川仁¹、鈴木奈緒²、駒井三千夫¹、
○高橋砂織²

¹東北大学・院農・栄養、²秋田県総食研

[目的]我々はヒト型組替えレニンと消光性蛍光基質を組み合わせたレニン阻害活性の測定方法を確立し、ダイズ由来のサポニンであるソヤサポニンIをレニン阻害物質と同定した。本研究ではソヤサポニンIを主成分とするダイズサポニンを高血圧自然発症ラット(SHR)に経口投与し、その*in vivo*における作用を検証した。[方法]大豆由来サポニンを40mg/mlとなるように蒸留水で溶解し、サポニン溶液とした。10週齢の雄性SHRを8週間飼育し、飼育期間中毎日2ml/kg BWのサポニン溶液(サポニン群、n=9)または蒸留水(対照群、n=9)を強制経口投与し、週に1回血圧を測定した。飼育終了後、組織重量、各種血液生化学値を測定した。[結果]収縮期血圧は、対照群に対してサポニン群で試験開始1週目から低値を示し、7、8週目で有意な上昇抑制が認められた。さらに腎機能マーカーである血液尿素窒素のサポニン群における有意な低下が認められた。以上の結果により、ダイズサポニンの経口投与はSHRの血圧上昇を抑制することが示され、ソヤサポニンIは*in vivo*においてもレニン活性を阻害することが示唆された。

53) 学会発表 : 2010年度日本農芸化学会大会

発表日と場所 : 2010年3月29日、東京大学(東京都)

演題名 : セルロース系バイオマスからの新規発酵システムによるバイオエタノール生産

発表者 : 進藤 昌、西田孝伸、牟田口梢栄¹、上村 毅¹(秋田総食研、新日本石油¹)

【目的】セルロース系バイオマスから低コストでバイオエタノール生産を行うために、効率的な前処理技術の開発とペントース・ヘキソースからの高収率エタノール生産技術の開発が求められている。今回、アンモニア処理バイオマス酵素糖化液を用いて新規な2段階発酵システムによるバイオエタノール生産について検討を行ったので報告する。

【方法および結果】 バイオマスは、エリアンサス、スイッチグラス、ネピアグラス及びエゾノキヌヤナギを用いた。前処理・糖化は、上村ら¹⁾の方法を用いた。エタノール生産は、ヘキソースからのエタノール生産を *Saccharomyces cerevisiae*、ペントースからのエタノール生産を自然界より分離した *Pichia stipitis* SS1-2 を用いた 2 段階発酵法により行った²⁾。その結果、各種バイオマス糖化液を 2 段階発酵法でバイオエタノール生産を行わせることにより *P.stipitis* SS1-2 を単独で用いた場合よりもエタノール収率が向上し、何れのバイオマスも 90%以上となった。1)上村ら 第 39 回石油・石油化学討論会 (2009) 2)Shindo *et al.* The Pacific Rim Summit on Industrial Biotechnology and Bioenergy (2008)

54) 発表学会：2010 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2010 年 3 月 29 日、東京大学（東京都）

演題名：セルロース系バイオエタノール製造残渣の有効利用

発表者：○戸松さやか、進藤昌（秋田総食研）

【目的】地球温暖化問題や限られた化石資源への対策としてバイオエタノールが注目されており、食糧と競合しない稲わら等の草本系や、間伐材などの木質系バイオマスを中心としたバイオエタノール製造の開発が行われている。しかし、製造コストが高いため、普及の為に低コスト化技術の開発が急がれている。我々はバイオエタノール製造残渣に付加価値をつけることでコスト削減を期待し、残渣の有効利用について検討を行った。【方法】秋田スギ及びブナ・ナラ・ニセアカシアの広葉樹、稲わらそれぞれのバイオエタノール製造残渣、或いは糖化残渣から抽出を行い、それらの抗酸化性、抗菌性、さらに酵素系の評価方法を用いてアルドースレダクターゼ(AR)阻害活性、コラゲナーゼ阻害活性、チロシナーゼ阻害活性、ヒアルロニダーゼ阻害活性を調べた。

【結果】秋田スギの発酵残渣には高いチロシナーゼ阻害活性、抗酸化性及び抗菌性が認められ、広葉樹の糖化残渣には AR 阻害活性、チロシナーゼ阻害活性及び抗菌性が認められ、稲わらの糖化残渣には高い抗酸化性とチロシナーゼ阻害活性が認められた。

55) 学会発表：2010 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2010 年 3 月 29 日、東京大学（東京都）

演題名：突然変異誘導処理による *Pichia stipitis* 高アルコール産生株の育種および導入された変異の検証

発表者：西田孝伸、進藤昌（秋田総食研）

草本系バイオマスからエタノール生産を行う場合、*Saccharomyces cerevisiae* により資化できないキシロースの発酵が重要になってくる。キシロース資化性酵母である *Pichia stipitis* はアルコール耐性の低さによりアルコール発酵能が低い。本研究では *P. stipitis* の突然変異誘導処理と馴化処理によりキシロースからより高効率にアルコールを産生する酵母変異株の育種を試みた。*P. stipitis* 由来のアルコール耐性株は合成培地中では元株に比べて高いアルコール産生能を示すが、エリアンサス由来のバイオマス糖化液（エリアンサス糖化液）では生育と発酵が大きく阻害される。我々は、エリア

ンサス糖化液中のメラノイジンがアルコール耐性株の生育および発酵の両方が大きく阻害することを見出した。そこで、メラノイジンを選択圧として用い変異株の育種を試みた。その結果、メラノイジン含有培地中でアルコール耐性株の3-4倍のアルコール生成速度を持つ高エタノール産生株の取得に成功した。さらに耐性株の二次元電気泳動によりタンパク質組成の比較を行った結果、ショックタンパク質の高い発現が見られた。

56) 学会発表：2010年度日本農芸化学大会

発表日と場所：2010年3月29日、東京大学（東京都）

演題名： β -グルコシダーゼ発現 *Pichia pastoris* によるセロビオースからのエタノール生産

発表者：竹本 浩、岡本道子¹、増田祥子、五十嵐圭日子¹、鮫島正浩¹、進藤 昌（秋田総食研、¹東大院農生科）

これまでに、私たちの研究グループでは、メタノール資化酵母 *Pichia pastoris* を用いた遺伝子発現系で *Phanerochaete chrysosporium* 由来のセロビオヒドラーゼ、エンドグルカナーゼ、ならびに β -グルコシダーゼの生産に成功している。さらに、同酵母においてグルコースならびに糖化液からのエタノール生産能についても確認している。本研究では、*P. pastoris* を用いた糖化関連酵素の生産からエタノール生産までの一貫プロセス化を目指して、まずは、 β -グルコシダーゼ遺伝子組換え酵母 *P. pastoris* について、酵素生産・グルコース生成・アルコール発酵の至適・許容条件を調べて、セロビオースを基質としたエタノール生産を試みた。その結果、YPGC₁₀液体培地 [1% (w/v) yeast extract, 2% (w/v) polypepton, 1% (w/v) glycerol, 10% (w/v) cellobiose] で発酵試験を行ったところ、発現酵素により、セロビオースから発酵に十分なグルコースが速やかに生成され、発酵47時間で42g/Lのエタノール（理論収率の約77%）を得ることができた。

57) 発表学会：2010年度日本農芸化学学会大会

発表日と場所：2010年3月29日、東京大学駒場キャンパス

演題名：納豆中のアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害物質の精製と高ACE阻害活性を有する納豆の開発

発表者：嶋影 逸^{1)*}、高橋砂織²⁾、樋渡一之²⁾、新保 守¹⁾、山田清繁¹⁾

1)株式会社ヤマダフーズ、2)秋田県総合食品研究所

【研究の背景】納豆の有する機能性の一つとして、血圧上昇抑制作用が挙げられる。これまで大豆など豆類由来の血圧上昇抑制、特にアンジオテンシン変換酵素（ACE）を阻害する物質としてニコチアミンが報告されている。しかし現在まで、納豆中のACE阻害物質の精製・同定の報告はほとんどなされていない。そこで本研究では、納豆由来のACE阻害物質の精製及び高ACE阻害活性を有する納豆の開発を行うことにした。

【実験結果】極小粒納豆を熱水抽出して得た試料液よりACE阻害活性物質の精製を進

めた結果、Trp-Gly、Ile-Gly 及び Val-Ala-Trp の 3 種類のオリゴペプチドを同定できた。一方各種納豆の ACE 阻害活性を比較した結果、挽き割り納豆では極小粒納豆よりも ACE 阻害活性が 60%以上高くなることが判った。更に挽き割り納豆の作成に酵素製剤を使用することで、通常よりも 50%以上 ACE 阻害活性の高い挽き割り納豆を作成できることが判った。

6. 外部発表論文概要 (10 件)

- ① 論文題名 : **Melanoma cell differentiation induced by lupeol separates into two stages: morphological and functional changes** 105
著者名 : **Kikumi Ogiwara and Keishi Hata**
雑誌名 : ***Journal of Natural Medicines*, 63 (3) 323-326, 2009**
発行日 : Online publication, 2009 年 2 月 13 日
- ② 論文題名 : **HPLC analysis of lipoproteins in culture medium of hepatoma cells: an in vitro system for screening antihyperlipidemic drugs** 105
著者名 : **Mizuho Itoh , Yukie Abe, Yuka Iwama, Fumiko Kimura, Mayumi Satoh, Mayumi Shoji, Junichiro Takahashi, Gen Toshima, Hiroki Sasaki, Kazuyuki Hiwatashi, and Keishi Hata**
雑誌名 : ***Biotechnology Letter*, 31 (3) 953-957, 2009**
- ③ 論文題名 : **Relations between bite parameters and rheological properties of solid foods with various textures** 106
著者名 : **Toru Takahashi, Fumiyo Hayakawa, Masanori Kumagai, Yoshinobu Akiyama, and Kaoru Kohyama**
雑誌名 : ***Journal of Food Engineering*, 95, 400-409 (2009)**
発行日 : 2009 年 5 月 31 日
- ④論文題名 : **Crawler, a novel *Tc1/mariner*-type transposable element in *Aspergillus oryzae* transposes under stress conditions** 106
著者名 : **Hironobu Ogasawara, Hiroshi Obata, Yoji Hata, Saori Takahashi, and Katsuya Gomi**
雑誌名 : ***Fungal Genetics and Biology*, (6-7), 46, 441-449 (2009)**
発行日 : 2009 年 6 月 1 日
- ⑤ 論文題名 : **Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells** 107
著者名 : **Mizuho Itoh, Kazuyuki Hiwatashi, Yukie Abe, Fumiko Kimura, Gen Toshima, Junichiro Takahashi, Hiroki Sasaki, and Keishi Hata**
雑誌名 : ***Phytochemistry Letters*, 2 (4) 953-957, 2009**
発行日 : Online publication, 2009 年 6 月 26 日

- ⑥ 論文題名 : **Differentiation-inducing activities by lupane triterpenes from *Lactuca indica* on a mouse melanoma cell line** 107
著者名 : **Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Yusuke Sato, Yasuyuki Kosaka, Kenji Sakamoto, and Kazuyuki Hori**
雑誌名 : ***Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, 15, 279-285, 2008**
発行日 : Online publication, 2009年 8月 1日
- ⑦ 論文題名 : **Anti-melanogenic activity of ergosterol peroxide from *Ganoderma lucidum* on a mouse melanoma cell line** 108
著者名 : **Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Shoko Otaka, Yasuyuki Kosaka, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, and Kenji Sakamoto**
雑誌名 : ***Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, 15, 273-277, 2008**
発行日 : Online publication, 2009年 8月 1日
- ⑧ 論文題名 : **自然発症高血圧ラットにおける米糠発酵エキス配合飲料の
血圧上昇抑制作用** 108
著者名 : **樋渡一之、成澤昭芳、保苺美佳、戸枝一喜**
雑誌名 : ***日本食品科学工学会誌*, 57(1)、40-43、2010**
発行日 : 2010年 1月 15日
- ⑨ 論文題名 : **Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR α and γ and suppress COX-2 expression** 109
著者名 : **Mariko Hotta, Rieko Nakata, Michiko Katsukawa, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi, and Hiroyasu Inoue**
雑誌名 : ***Journal of Lipid Research*, 51, 132-139 (2010)**
発行日 : 2010年 1月 15日
- ⑩ 論文題名 : **Prorenin processing enzyme (PPE) produced by baculovirus-infected Sf-9 insect cells** 109
著者名 : **Takeshi Gotoh, Hirono Awa, Ken-Ichi Kikuchi, Satoru Nirasawa, and Saori Takahashi**
雑誌名 : ***Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 74, 370-374 (2010)**
発行日 : 2010年 2月 23日

① 論文題名 : **Melanoma cell differentiation induced by lupeol separates into two stages: morphological and functional changes**

著者名 : **Kikumi Ogiwara and Keishi Hata**

雑誌名 : ***Journal of Natural Medicines*, 63 (3) 323-326, 2009**

発行日 : Online publication, 2009年 2月 13日

要約 : Electron microscopic observation revealed that lupeol induced melanosome maturation in B16 2F2 mouse melanoma cells and we therefore studied the effects of lupeol on the intracellular events responsible for melanosomes transport. Incubation with lupeol for 8 h attenuated the actin stress fiber assembly in B16 2F2 mouse melanoma cells, resulting in dendritic formation in the cells. Longer exposure to lupeol (48 h) increased the expression of tyrosinase, MITF (a specific transcription factor for tyrosinase), Rab27a, and myosin-Va, which are required for melanosome transport.

② 論文題名 : **HPLC analysis of lipoproteins in culture medium of hepatoma cells: an in vitro system for screening antihyperlipidemic drugs**

著者名 : **Mizuho Itoh , Yukie Abe, Yuka Iwama, Fumiko Kimura, Mayumi Satoh, Mayumi Shoji, Junichiro Takahashi, Ken Toshima, Hiroki Sasaki, Kazuyuki Hiwatashi, and Keishi Hata**

雑誌名 : ***Biotechnology Letter*, 31 (3) 953-957, 2009**

発行日 : Online publication, 2009年 3月 29日

要約 : We isolated a HepG2-derived sub-clone (HepG2-Lipo), which possessed an increased lipoprotein synthesizing ability. HepG2-Lipo cells could secrete triglycerides (TG) and cholesterol at rates 9.4- and 6-fold higher, respectively, when compared to HepG2 cells. Real-time RT-PCR analysis revealed that the expression levels of sterol regulatory element binding protein-1c and -2 were 2.9- and 1.5-fold higher than in HepG2 cells. Furthermore, two apolipoprotein (apo) genes (apoA-1 and apoB-100) in HepG2-Lipo cells were expressed at 2.8- and 1.9-fold higher levels when compared to those in parental cells. We examined the effects of two antihyperlipidemic agents on the lipoprotein profiles of HepG2-Lipo cells. Simvastatin at 5 μ M selectively suppressed cholesterol secretion from HepG2-Lipo cells, and 500 μ M fenofibrate inhibited both TG and cholesterol secretion from the cells.

③ 論文題名 : **Relations between bite parameters and rheological properties of solid foods with various textures**

著者名 : **Toru Takahashi, Fumiyo Hayakawa, Masanori Kumagai, Yoshinobu Akiyama, and Kaoru Kohyama**

雑誌名 : *Journal of Food Engineering*, **95**, 400-409 (2009)

発行日 : 2009年5月31日

要約 : This study clarified relations between human bite parameters, mechanical properties, and sensory-determined ease of chewing for foods. As samples, 11 foods were used. A multiple-point sheet sensor measured human bite pressure between the molars during the first chew. Results were compared with those obtained using a universal testing machine. Four categories were determined based on bite curve shapes and the bite force magnitude measured from humans. Maximum bite force, contact area at maximum peak, and maximum bite pressure and impulse varied for each sample among subject, but no significance of time at the maximum peak was found. The first chew impulse and work in compression tests showed a linear relation. Sensory evaluation revealed optimum correlation between the impulse during the first bite and ease of chewing. Ease of chewing was assessed during the first chew because the bite impulse showed higher correlation than the maximum bite force and pressure.

④ 論文題名 : *Crawler*, a novel *Tc1/mariner*-type transposable element in *Aspergillus oryzae* transposes under stress conditions.

著者名 : **Hironobu Ogasawara, Hiroshi Obata, Yoji Hata, Saori Takahashi, and Katsuya Gomi**

雑誌名 : *Fungal Genetics and Biology*, (6-7), **46**, 441-449 (2009)

発行日 : 2009年6月1日

要約 : A novel active transposable element, designated *Crawler*, has been isolated from an industrial strain (OSI1013) of *Aspergillus oryzae* as an insertion sequence within the *niaD* gene encoding nitrate reductase. It is 1290 bp in length with imperfect terminal inverted repeats of 28 bp and is flanked by 2 bp (TA) target site duplications. It contains an open reading frame with no introns that encodes a putative transposase (AotA) of 357 amino acid residues, which is highly homologous to the transposase existing in *impala*, a member of *Tc1/mariner* superfamily class II DNA transposon from *Fusarium oxysporum*. Southern blot analysis revealed that the OSI1013 strain has multiple copies (at least 16) of the element in the genome. Transcription of *Crawler* occurred under standard growth conditions, and was up-regulated in the presence of CuSO₄ or by heat shock at 42 °C. Moreover, transposition events of *Crawler* induced by various stress treatments were observed by transposon trapping, in which *crnA* and *niaD* genes

were used as targets for insertion of the element. The excision analysis of *Crawler* inserted within promoter regions of the *crnA* gene revealed that CuSO₄ stress and heat shock treatment for conidia were most effective on its excision/transposition, and that acidic environment, oxidative stress, and UV irradiation also slightly induced transposition. To our knowledge, this is the first study reporting the observation of active transpositions of a resident class II transposon under various stress conditions in filamentous fungi.

⑤ 論文題名 : **Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells**

著者名 : Mizuho Itoh, Kazuyuki Hiwatashi, Yukie Abe, Fumiko Kimura, Gen Toshima, Junichiro Takahashi, Hiroki Sasaki, and Keishi Hata

雑誌名 : *Phytochemistry Letters*, 2 (4) 953-957, 2009

発行日 : Online publication, 2009年6月26日

要約 : Lupeol suppressed triglyceride and cholesterol secretion from HepG2-Lipo human hepatoma cells in a dose-dependent manner. Quantitative real-time RT-PCR analysis demonstrated that lupeol inhibited the expressions of sterol regulatory element-binding protein-1c and -2, fatty acid synthase, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthetase-1, and farnesyl-diphosphate farnesyl transferase-1, which are required for lipid synthesis in HepG2-Lipo cells. Furthermore, lupeol markedly inhibited apolipoproteinB-100 and microsomal triglyceride transfer protein in cells at the mRNA level. These results suggest that lupeol lowers lipid secretion from HepG2-Lipo cells by attenuating synthesis within the cells.

⑥ 論文題名 : **Differentiation-inducing activities by lupane triterpenes from *Lactuca indica* on a mouse melanoma cell line**

著者名 : Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsunamura, Yusuke Sato, Yasuyuki Kosaka, Kenji Sakamoto, and Kazuyuki Hori

雑誌名 : *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, 15, 279-285, 2008

発行日 : Online publication, 2009年8月1日

要約 : We isolated 4 lupane triterpenes as differentiation-inducing agents on B16 2F2 melanoma cells from *Lactuca indica*. In the study of structure-activity relationships, the differences of the lupane skeleton at C-3 played a key role in their melanogenic activities. SB203580, a selective inhibitor of p38 MAPK, completely blocked the melanogenesis of B16 2F2 cells induced by lupeol (1), a

lupane triterpene. Western blot analysis revealed that **1** transiently activated p38 MAPK. Furthermore, **1** was found to induce dendritic formation, a morphological indicator of B16 2F2 cell differentiation. **1** attenuated actin fiber assembly in B16 2F2 cells, and this attenuation caused dendrite outgrowths of the cells. SB203580 blocked the induction of tyrosinase by **1**, but did not block the rearrangement of actin cytoskeleton in B16 2F2 cells stimulated with **1**.

⑦ 論文題名 : *Anti-melanogenic activity of ergosterol peroxide from Ganoderma lucidum on a mouse melanoma cell line*

著者名 : Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Shoko Otaka, Yasuyuki Kosaka, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, and Kenji Sakamoto

雑誌名 : *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, 15, 273-277, 2008

発行日 : Online publication, 2009年8月1日

要約 : MeOH extracts of *Ganoderma lucidum* showed an inhibitory effect on melanin biosynthesis of a mouse melanoma cell line, B16 10F7. We isolated an active compound from the extract. Physical and chemical data of the active compound were identical to those of ergosterol peroxide. Ergosterol peroxide decreased melanin pigment accumulation over 1 µg/ml by the suppression of melanogenic enzyme in B16 10F7 cells. However, ergosterol, a typical steroid in mushrooms, did not show a marked inhibitory effect on B16 10F7 cell melanogenesis at the same concentrations.

⑧ 論文題名 : 自然発症高血圧ラットにおける米糠発酵エキス配合飲料の
血圧上昇抑制作用

著者名 : 樋渡一之、成澤昭芳、保苅美佳、戸枝一喜

雑誌名 : *日本食品科学工学会誌*, 57(1), 40-43, 2010

発行日 : 2010年1月15日

要約 : γ -アミノ酪酸(GABA)含有米糠発酵エキスを配合した飲料の血圧上昇抑制作用を検証することを目的として、高血圧自然発症ラットを用いた実験を行った。ラットの体重1kg当たり10.1mgのGABAを含む飲料を1日1回強制経口投与し、8週間飼育した。GABAを含む飲料を摂取した群は対照飲料を摂取した群に対して3週目から低値を示した。試験7週目の血圧は、対照群の234mmHgに対してGABA摂取群は218mmHgであり、有意な低値であった。以上の結果より、GABA含有米糠発酵エキスを配合した飲料は、血圧上昇抑制作用を示すことが明らかとなった。

⑨ 論文題名 : **Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR α and γ and suppress COX-2 expression**

著者名 : **Mariko Hotta, Rieko Nakata, Michiko Katsukawa, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi, and Hiroyasu Inoue**

雑誌名 : ***Journal of Lipid Research*, 51, 132-139 (2010)**

発行日 : 2010年1月15日

要約 : Cyclooxygenase-2 (COX-2), the rate-limiting enzyme in prostaglandin biosynthesis, plays a key role in inflammation and circulatory homeostasis. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are ligand-dependent superfamily and are involved in the control of COX-2 expression, and vice versa. Here, we show that COX-2 promoter activity was suppressed by essential oil derived from thyme, clove, rose, eucalyptus, fennel, and bergamot in cell based transfection assays using bovine arterial endothelial cells. Moreover, from thyme oil, we identified carvacrol as a major component of the suppressor of COX-2 expression and an activator of PPAR α and γ .

⑩ 論文題名 : **Prorenin processing enzyme (PPE) produced by baculovirus-infected Sf-9 insect cells**

著者名 : **Takeshi Gotoh, Hirono Awa, Ken-Ichi Kikuchi, Satoru Nirasawa, and Saori Takahashi**

雑誌名 : ***Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 74, 370-374 (2010)**

発行日 : 2010年2月23日

要約 : Infection cultures of *Spodoptera frugiperda* (Sf-9) insect cells with a recombinant baculovirus, vhpR, carrying human preprorenin cDNA in the polyhedrin locus of *Autographa californica* multiple nuclear polyhedrosis virus (AcMNPV), the expressed inactive recombinant human (rh)-prorenin is reported to be proteolytically processed to yield active rh-renin in the very late phase of culture (Takahashi et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71, 2610-2613 (2007)). To identify the enzyme that catalyzes the processing of rh-prorenin, referred to as prorenin processing enzyme (PPE), we purified PPE from virus-infected Sf-9 culture supernatant by the use of an internally quenched fluorescent substrate for PPE. The 32-kDa protein band agreed well with PPE activity on the final Mono Q FPLC. By N-terminal amino acid sequence analysis, the protein was revealed to be a cysteine protease encoded by the AcMNPV gene.

「秋田県総合食品研究センター報告」第1号～第12号総目次
(報文、研究ノート、総説)

第1号(1999年)

【原著論文】

- 「酒造好適米『吟の精』の選抜と酒造適性について」・・・1-1
○高橋 仁、田口隆信、渡辺誠衛、石川京子、田中健美、斎藤久一、佐無田隆、
岩野君夫、石川雄章
- 「紫黒米を用いた赤色を有する清酒の製造について」・・・1-8
○高橋 仁、渡辺誠衛、佐渡高智
- 「秋田県産ブドウによる醸造適性試験」・・・1-14
○立花忠則
- 「DNA分析による秋田県奨励米1粒からの品種判別技術の開発」・・・1-28
○小笠原博信
- 「青大豆の豆腐加工適性について」・・・1-35
○秋山美展、高橋 徹、熊谷昌則、薛 文通
- 「中国における大豆関連商品に市場と加工技術の動向」・・・1-48
○秋山美展
- 「コアミ塩辛に関する研究 —塩・アルコール併用による品質の向上—」・・・1-62
○戸松 誠、石川匡子、塚本研一、高橋光一、柴本憲夫
- 「しよっつる風味調味料の開発 —市販・自家醸品の品質について—」・・・1-69
○高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則

【研究ノート】

- 「糖質関連酵素等を利用した大豆加工廃棄物からのオリゴ等類の
生産について」・・・1-79
○高橋砂織、戸枝一喜
- 「ジュール加熱による液体連続加熱装置の開発」・・・1-82
○秋山美展
- 「玄米の発芽に伴うγ-アミノ酪酸の生成」・・・1-85
○大久長範、阿部雪子

第2号(2000年)

【原著論文】

- 「市販きりたんぼ鍋セットの品質特性
—食品産業の視点からみたきりたんぼの伝承性と現代化の様相—」・・・2-1
○熊谷昌則、高橋 徹、畠 康子、大久長範
- 「しよっつる風味調味料の開発(第2報) —コウナゴによる試験醸造—」・・・2-9

- 高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「しょつつる風味調味料の開発（第3報） —コアミによる試験醸造—」・・・2-17
- 高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「ホッケの高付加価値加工技術の開発 I —成分と鮮度—」・・・・・・・・・・2-25
- 塚本研一、戸松 誠、石川匡子、柴本憲夫、山田潤一
- 「ホッケの高付加価値加工技術の開発 I I —塩干品とスナック風食品—」・・・2-29
- 塚本研一、戸松 誠、折戸めぐみ、柴本憲夫、山田潤一
- 「ソフト清酒用酵母とそれを用いたソフト清酒の開発」・・・・・・・・・・2-36
- 渡辺誠衛、高橋 仁、田口隆信、中田健美、立花忠則、斎藤久一
- 「秋田味噌用乳酸菌AL-1の開発」・・・・・・・・・・2-45
- 渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、伊藤信義

【研究ノート】

- 「ワラビ保存性の改善に及ぼす温度処理の効果」・・・・・・・・・・2-57
- 菅原久春、大久長範、小林昭一
- 「新しいタイプの市販清酒の調査」・・・・・・・・・・2-61
- 田中健美

第3号（2001年）

【原著論文】

- 「水稻新品種めんこいなの食味に関わる理化学的性質」・・・・・・・・・・3-1
- 大能俊久、高橋 徹、熊谷昌則、大久長範
- 「比内地鶏ガラの加工適性」・・・・・・・・・・3-6
- 熊谷昌則、高橋光一
- 「しょつつる風味調味料の開発（第4報）
—小アジを用いたしょつつるの試験醸造—」・・・・・・・・・・3-12
- 高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「しょつつる風味調味料の開発（第5報）
—グルコン酸を用いたしょつつるの試験醸造—」・・・・・・・・・・3-19
- 高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則
- 「秋田県産ハタハタずし製品の品質」・・・・・・・・・・3-25
- 塚本研一、戸松 誠、菅原真理、戸枝一喜、柴本憲夫、山田潤一
- 「籾殻の爆砕・蒸煮処理残渣及びその灰化物の諸性質」・・・・・・・・・・3-32
- 戸枝一喜、吉田 徹
- 「長期保存が可能な酒粕及び白色乾燥粕の開発
—醸造副産物の有効利用に関する研究—」・・・・・・・・・・3-35
- 木村貴一

「膜電位計測型味覚センサによる清酒の評価」	3-44
○熊谷昌則、進藤 昌、渡辺誠衛	
「秋田県産ブドウからのMLF乳酸菌の分離」	3-49
○大野 剛、立花忠則	
「白神こだま酵母の学校給食用パンへの利用」	3-57
○熊谷昌則、高橋慶太郎、高橋砂織	

【研究ノート】

「デジタルピペットの定量性と操作因子」	3-65
○秋山美展	
「起泡特性を利用した簡便な大豆加工品サポニンの検知法について」	3-68
○堀 一之、辰巳英三、殷 麗君、張 曉峰、李 里特	

第4号 (2002年)

【原著論文】

「きりたんぼ製造における製品の冷却特性」	4-1
○高橋 徹、熊谷昌則、佐々木康子、大久長範	
「秋田県の伝統的食品『赤ずし』に関する微生物的考察」	4-6
○佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫	
「しよつつる風味調味料の開発 (第6報) —ハタハタ・イワシを用いたしよつつるの試験醸造—」	4-11
○高橋光一、戸松 誠、柴本憲夫、熊谷昌則	
「味噌のHEMF生成における仕込条件の影響」	4-19
○尾張かおる、高橋光一、渡辺隆幸	
「γ-アミノ酪酸高含有米糠の製造法」	4-25
○戸枝一喜、青木淳子、熊谷 亮、伊藤 汎	
「酒粕及び麹菌からの糖質関連有用物質の生産について」	4-30
○木村貴一、高橋慶太郎、立花忠則、高橋砂織	
「遠心分離方式によする清酒の上槽工程自動化技術の開発」	4-42
○田口隆信、中田健美、立花忠則、斎藤久一	
「栽培地区別醸造用ブドウの特徴およびワインの品質」	4-50
○戸松さやか、大野 剛、立花忠則	

【研究ノート】

「焼成カルシウム存在下でボイル処理したエダマメ」	4-59
○大久長範、大能俊久、龐 中存	
「学校給食用白神パンの品質に関する研究」	4-62

○熊谷昌則、高橋慶太郎、高橋砂織

第5号(2003年)

【原著論文】

「米麴および市販米味噌の抗変異原性」・・・・・・・・・・・・・・・・・・5-1

○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫

「安全、高品質な食品の製造に関する研究 ー米麴の製造法についての検討ー」・5-7

○柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理

「安全、高品質な食品の製造に関する研究 ーいぶり大根漬についてー」・・・・5-14

○佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫

「攪拌式造粒 ー真空乾燥法によるぬか床用乳酸菌スターターの粉末化ー」・・・・5-21

○佐々木康子、菅原久春、鈴木聡美、柴本憲夫

「食品包装容器等のプラスチック素材のポータブル近赤外分光装置による判別」・・・・・・・・・・・・・・・・・・5-27

○熊谷昌則、天野敏男、小川信明

「秋田県産ハタハタずし製品の成分と官能評価」・・・・・・・・・・・・5-33

○塚本研一、戸松 誠、熊谷昌則、保刈美佳、戸枝一喜、船木 勉

「大豆および米遺伝資源試料の活性酸素消去活性とその相乗効果」・・・・5-40

○秋山美展、大久長範、高田吉丈、島田信二、山口誠之

「DNA鑑定による新奨励米『めんこいな』の品種判別技術の開発」・・・・5-48

○小笠原博信、高橋砂織

【研究ノート】

「無洗米の米飯テクスチャーと貯蔵による変化」・・・・・・・・・・・・5-55

○大能俊久、堀 一之、大久長範

「乾めんの電子顕微鏡による断面観察」・・・・・・・・・・・・5-58

○大久長範、大能俊久

【総説】

「秋田県産農水産物の生理機能性の解明とその応用・・・・・・・・5-61
ー食材から化粧品素材へー」

○堀 一之、畠 恵司、高橋砂織

第6号 (2004年)

【原著論文】

- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究
—比内地鶏製品についての検討—」・・・・・・・・・・・・・・・・・・6-1
○菅原真理、柴本憲夫
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究 —広域流通を目的とした賞味期限の
長いきりたんぼの製造について—」・・・・・・・・・・・・・・・・・・6-8
○佐々木康子、菅原真理、高橋 徹、熊谷昌則、柴本憲夫
- 「大豆種皮からの酵素処理によるマンノース、マンノオリゴ糖の製造法」・・・・・・・・6-13
○戸枝一喜、保刈美佳
- 「稲庭うどん製造工程への携帯方近赤外分光装置の適用」・・・・・・・・・・6-18
○熊谷昌則、大久長範、小川信明
- 「温度感受性味噌酵母とその利用」・・・・・・・・・・・・・・・・・・6-25
○高橋慶太郎、渡辺隆幸、秋山美展
- 「新しい吟醸酒用自動製麹機の開発と吟醸酒の醸造試験」・・・・・・・・・・6-32
○田口隆信、高橋 仁、渡辺誠衛、新野葉子、中田健美、立花忠則、斎藤久一

【研究ノート】

- 「加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響」・・・・・・・・・・・・・・・・6-41
○高橋 徹、三浦 靖、小林昭一

【総説】

- 「新しい活性酸素種およびその消去成分の検出・定量」・・・・・・・・・・6-45
○秋山美展、大久保一良
- 「秋田味噌醤油品評会出品物分析結果のまとめ」・・・・・・・・・・6-50
○尾張かおる、渡辺隆幸、高橋光一

第7号 (2005年)

【原著論文】

- 「近赤外スペクトルによるビールのパターン認識分類」・・・・・・・・・・7-1
○熊谷昌則、高橋 豊、進藤 昌、小川信明
- 「味覚センサによる市販食用塩の味質評価」・・・・・・・・・・・・・・・・7-6
○熊谷昌則、三浦幸子、杉本真帆、石川匡子、松永隆司
- 「マンナナーゼ生産菌の分離と培養条件の検討」・・・・・・・・・・7-12
○戸枝一喜、保刈美佳
- 「食品の加熱工程における加熱履歴表現モデルの構築」・・・・・・・・・・7-17
○秋山美展、高橋 徹、大久長範、長縄明大
- 「高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討」・・・・・・・・・・7-23

○尾張かおる、渡辺隆幸

「秋田県産酒造原料米における酒造適性の経年変動」・・・・・・・・・・7-31

○高橋 仁、渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信、中田健美、立花忠則、田口トモ子

「色素培地を用いた優良酵母の育種とその酒造適性」・・・・・・・・・・7-38

○渡辺誠衛、新野葉子、田口隆信、高橋 仁、大野 剛、中田健美、立花忠則

【研究ノート】

「秋田酒こまちと蕎麦におけるγ-アミノ酪酸の分布」・・・・・・・・・・7-47

○大久長範、大能俊久、高橋 仁

「食品工場におけるカビの発生事例」・・・・・・・・・・7-49

○佐々木康子、菅原真理

「県産味噌のイソフラボン量と配糖体、アグリコンの比率」・・・・・・・・・・7-53

○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎

「食用担子菌類が持つ各種酵素活性」・・・・・・・・・・7-57

○樋渡一之、小笠原博信、堀 一之、高橋砂織

【総説】

「安全、高品質な食品製造に関する研究 ―秋田県内中小企業食品製造工場におけるHACCP簡易構築の取り組み―」・・・・・・・・・・7-61

○菅原真理、佐々木康子

第8号 (2006年)

【原著論文】

「加熱処理による米粉の改質ならびにその調理・加工適性の解明」・・・・・・・・8-1

○高橋 徹、三浦 靖、小林昭一

「米味噌の脂肪酸エチルエステル生成に与える種麴、酵母と酵素剤の影響」・・・・8-7

○渡辺隆幸、尾張かおる、堀 一之

「ジュンサイの品質向上技術の開発 ―黒変解明と黒変除去―」・・・・・・・・8-15

○杉本勇人、塚本研一、山田幸樹

【研究ノート】

「カバノアナタケ抽出液の保存方法」・・・・・・・・・・8-23

○大久長範、今野祐子

【総説】

「秋田県産農水産物に含まれる生理活性物質
―癌転移抑制物質の探索研究―」・・・・・・・・・・8-27

○畠 恵司、堀 一之、高橋砂織

第9号 (2007年)

【原著論文】

- 「大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討
—多麹および新規麹菌の利用—」・・・・・・・・・・・・・・・・・・9-1
○尾張かおる、渡辺隆幸
- 「秋田の水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン」・・・・・・・・・・9-5
○熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美
- 「北東北産雑穀類の利用 (第1報) —雑穀麴パンの製造試験—」・・・・・・・・・・9-10
○畑山 誠、秋山美展、高橋慶太郎
- 「北東北産雑穀類の利用 (第2報) —雑穀麴みその製造試験と抗変異原性—」・9-15
○畑山 誠、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- 「アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発」・・・・・・・・・・9-20
○渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信

【総説】

- 「清酒業界における密度測定について
—浮ひょうと振動式密度計との測定値の比較—」・・・・・・・・・・・・・・・・9-27
○若林三郎

【解説】

- 「特許制度と各種支援制度について」・・・・・・・・・・・・・・・・・・9-35
○佐々木康子

第10号 (2008年)

【原著論文】

- 「色素培地を用いた交雑法による吟醸酒用酵母の育種」・・・・・・・・・・10-1
渡辺誠衛、田口隆信、高橋 仁、大野 剛
- 「フキノトウ由来生理機能性成分の評価と発酵食品への応用」・・・・・・・・10-9
渡辺隆幸、堀 一之
- 「秋田の地下水・湧水の水質特性の解析」・・・・・・・・・・・・・・・・・・10-14
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、吉田知司
- 「放線菌由来の耐熱性生澱粉分解酵素のクローニング」・・・・・・・・・・10-19
“Molecular cloning of a thermostable raw starch digesting amylase gene from a
Streptomyces sp.”
金子隆宏

【総説】

- 「脳機能計測による新しい食品の評価法の開発」・・・・・・・・・・10-29
熊谷昌則、高橋徹、佐藤文華、渡部雅美、堀一之、樋渡一之、戸枝一喜、
秋山美展

第 11 号 (2009 年)

- 「高齢者の嗜好に合致した加工食品の開発と品質評価技術」・・・・・・・・11-1
高橋 徹、塚本研一、戸枝一喜、秋山美展、熊谷昌則
- 「生澱粉分解酵素の酵母による高発現」・・・・・・・・・・11-9
金子隆宏、戸松 誠
- 「秋田県の伝統食品「こざきねり」の商品化への取り組み」・・・・・・・・11-13
菅原真理，加藤明津子，佐藤文華，菅原千秋，高橋徹，熊谷昌則

第 12 号 (2010 年)

【原著論文】

- 「食品の外観嗜好評価時における前頭前野局所脳血流動態の解析」・・・・12-1
熊谷昌則、渡部素子、菅原千秋、高橋徹、秋山美展*
(*秋田県立大学生物資源科学部)
- 「ハタハタ白子の素材化とその利用例について」・・・・・・・・・・12-7
菅原千秋、保莉美佳、加藤明津子、高橋徹、塚本研一、熊谷昌則*
(*連絡者)
- 「秋田酵母 No. 12 と秋田酵母 No. 15 の開発・・・・・・・・・・12-14
渡辺誠衛、田口隆信、高橋仁、大野剛
- 「マイタケ (*Grifola frondosa*) による米飯テクスチャーの改良」・・・・12-24
大能俊久

【研究ノート】

- 「乳酸菌の神経成長因子様活性」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12-29
戸松 誠、木村貴一、戸枝一喜*
(*東京農業大学生物産業学部)

【総説】

- 「フキノトウの抗肥満効果に関する研究」・・・・・・・・・・・・ 12-33
渡辺隆幸
- 「清酒醸造における蒸米タンパク質の酵素分解に関する研究」・・・・・・・・ 12-47
高橋仁、伊藤俊彦*、佐藤勉**、岩野君夫*
(*秋田県立大学生物資源科学部、** (株) 秋田今野商店)

「秋田県総合食品研究センター報告」第1号～第12号人名索引
(報文、研究ノート、総説)

[号 - ページ、太字下線は筆頭著者を示す。]

【あ】

- 青木淳子 [4-25]
秋山美展 [1-35, 1-48, 1-82, 3-65, 5-40, 6-25, 6-45, 7-17, 9-10, 11-1, 12-1]
阿部雪子 [1-85]
天野敏雄 [5-27]
石川京子 [1-1]
石川匡子 [1-62, 2-25, 7-6]
石川雄章 [1-1]
伊藤俊彦 [12-47]
伊藤信義 [2-45]
伊藤 汎 [4-25]
岩野君夫 [1-1]
大久保良一 [6-45]
大能俊久 [3-1, 4-59, 5-55, 5-58, 7-47, 12-24]
大野 剛 [3-49, 4-50, 7-31, 7-38, 9-5, 9-15, 10-1, 10-14, 12-14]
大久長範 [1-85, 2-1, 2-57, 3-1, 4-1, 4-59, 5-40, 5-55, 5-58, 6-18, 7-17, 7-47,
8-23]
小笠原博信 [1-28, 5-48, 7-57]
小川信明 [5-27, 6-18, 7-1]
折戸めぐみ [2-29]
尾張かおる [2-45, 4-19, 5-1, 6-50, 7-23, 7-53, 8-7, 9-1, 9-15]

【か】

- 加藤明津子 [11-13, 12-7]
金子隆宏 [10-19, 11-9]
木村貴一 [3-35, 4-30, 12-29]
熊谷昌則 [1-35, 1-69, 2-1, 2-9, 2-17, 3-1, 3-6, 3-12, 3-19, 3-44, 3-57, 4-1,
4-11, 4-62, 5-29, 5-33, 6-8, 6-18, 7-1, 7-6, 9-5, 10-14, 10-29, 11-1,
11-13, 12-1, 12-7]
熊谷 亮 [4-25]
小林昭一 [2-57, 6-41, 8-1]
今野祐子 [8-23]

【さ】

- 斎藤久一 [1-1, 2-36, 4-42, 6-32]

- 佐々木(畠)康子 [2-1, 4-1, 4-6, 5-7, 5-14, 5-21, 6-8, 7-49, 7-61, 9-35]
- 佐渡高智 [1-8]
- 佐藤 勉 [12-47]
- 佐藤文華 [10-29, 11-13]
- 佐無田隆 [1-1]
- 柴本憲夫 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-25, 2-29, 3-12, 3-19, 3-25, 4-6, 4-11, 5-1, 5-7, 5-21, 6-1, 6-8]
- 島田信二 [5-40]
- 進藤 昌 [3-44, 7-1]
- 菅原千秋 [11-13, 12-1, 12-7]
- 菅原真理 [3-25, 4-6, 5-7, 5-14, 6-1, 6-8, 7-49, 7-61, 11-13]
- 菅原久春 [2-57, 5-21]
- 杉本真帆 [7-6]
- 杉本勇人 [8-15, 10-1]
- 鈴木聡美 [5-21]
- 【た】
- 高田吉丈 [5-40]
- 高橋慶太郎 [3-57, 4-30, 4-62, 6-25, 7-53, 9-10, 9-20]
- 高橋光一 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-45, 3-6, 3-12, 3-19, 4-11, 4-19, 5-1, 5-14, 6-50]
- 高橋砂織 [1-79, 3-57, 4-30, 4-62, 5-48, 5-61, 7-57, 8-27]
- 高橋 徹 [1-35, 2-1, 3-1, 4-1, 6-8, 6-41, 7-17, 8-1, 10-29, 11-1, 12-1, 12-7]
- 高橋 仁 [1-1, 1-8, 2-36, 6-32, 7-31, 7-38, 7-47, 9-5, 10-1, 10-14, 12-14, 12-47]
- 高橋 豊 [7-1]
- 田口隆信 [1-1, 2-36, 4-42, 6-32, 7-31, 7-38, 9-20, 10-1, 12-14]
- 田口トモ子 [7-31]
- 立花忠則 [1-14, 2-36, 3-49, 4-30, 4-42, 4-50, 6-32, 7-31, 7-38]
- 辰巳英三 [3-68]
- 塚本研一 [1-62, 2-25, 2-29, 3-25, 5-33, 8-15, 11-1, 12-7]
- 戸枝一喜 [1-79, 3-25, 3-32, 4-25, 5-33, 6-13, 7-12, 10-29, 11-1, 12-29]
- 戸松さやか [4-50]
- 戸松 誠 [1-62, 1-69, 2-9, 2-17, 2-25, 2-29, 3-12, 3-19, 3-25, 4-11, 5-33, 11-9, 12-29]
- 【な】
- 中田健美 [1-1, 2-36, 2-61, 4-42, 6-32, 7-31, 7-38, 9-5]
- 長縄明夫 [7-17]

新野葉子	[6-32, 7-38]
【は】	
畠 恵司	[5-61, <u>8-27</u>]
畑山 誠	[<u>9-10</u> , <u>9-15</u>]
樋渡一之	[<u>7-57</u> , 10-29]
船木 勉	[5-33]
保刈美佳	[5-33, 6-13, 7-12, 12-7]
堀 一之	[<u>3-68</u> , 5-55, <u>5-61</u> , 7-57, 8-7, 8-27, 10-9, 10-29]
【ま】	
松永隆司	[7-6]
三浦幸子	[7-6]
三浦 靖	[6-41, 8-1]
【や】	
山口誠之	[5-40]
山田幸樹	[8-15]
山田潤一	[2-25, 2-29, 3-25]
吉田知司	[10-14]
吉田 徹	[3-32]
【わ】	
若林三郎	[<u>9-27</u>] (1)
渡辺誠衛	[1-1, 1-8, <u>2-36</u> , 3-44, 6-32, 7-31, <u>7-38</u> , <u>9-20</u> , <u>10-1</u> , <u>12-14</u>]
渡辺隆幸	[<u>2-45</u> , 4-19, <u>5-1</u> , 5-7, 6-25, 6-50, 7-23, <u>7-53</u> , <u>8-7</u> , 9-1, 9-15, 10-9, <u>12-33</u>]
渡辺雅美	[10-29]
渡部素子	[12-1]
【他】	
薛 文通	[1-35]
殷 麗君	[3-68]
張 曉峰	[3-68]
李 里特	[3-68]
龐 中存	[4-59]

秋田県総合食品研究センター報告規定

【総則】

1. 秋田県総合食品研究センター報告は、食品研究に関する幅広い分野の原著論文（報文及び研究ノート）、総説、特許の要約、学会発表要旨及び既報論文再録等を掲載する。原著論文（報文及び研究ノート）は独創的なものであり、価値ある新事実や結論を含むものでなければならない。
2. 投稿者は、原則として秋田県総合食品研究センターの職員とする。
3. 論文の用語は、原則として日本語とする。

【掲載論文の種類】

原著論文（報文及び研究ノート）と総説の2種類とする。原著論文は、論文として未発表のものに限る。ただし、講演要旨、会議議事録などに発表した内容を投稿することは妨げない。

【掲載論文等のページ数と注意事項】

（報文及び総説）論文自身が独立しており、完結した内容でなければならない。論文の長さは特に限定しないが、10ページ程度であることが望ましい。

（研究ノート）限られた部分の発見や、新しい実験方法など、報文としてはまとまらないものであっても、報告する価値のあるもの。論文は、4ページ以内にまとめること。

（特許の要約）1/2ページにまとめること。

（学会発表要旨）1ページ以内にまとめること。

（外部発表論文要約）外部発表論文や著書等について、論文題名、著者名、雑誌もしくは著書名、巻、最初と最後のページ及び発表年を記載するとともに、要約を1ページ以内に記載する。

【審査】

1. 原著（報文及び研究ノート）及び総説に関しては、複数の編集委員によりその論文の価値判断がなされ、掲載の可否が決定される。
2. 編集委員は、論文の内容、文章などについて著者に改正を助言し、あるいは疑義の解明を求めることが出来る。
3. 編集委員の質問や意見に対して明確な回答がなされた場合には、速やかに修正原稿を提出しなければならない。

【原稿の書き方】

1. 一般的注意事項：論文の記述は正確を期し、全編にわたり簡潔明瞭であること。
2. 原稿は、「Word」を用いて作成し、A4版縦長様式で提出すること。
3. 原稿の書体は、原則として明朝体を用い、表題は18ポイント、本文は12ポイントとし、読みやすいように明瞭に印字すること。
4. 原稿は、オフセット印刷となるので、上下、左右には2.5cmの余白を設ける。

【論文の形式】

1. 報文は、次の形式をとる。
 - (1) 要約、(2) 緒言、(3) 実験方法、(4) 結果、(5) 考察、(6) 引用文献の順とする。謝辞は、文献の前に入れる。
2. 研究ノートは、次の形式をとる。
 - (1) 緒言、(2) 実験方法、(3) 結果と考察、(4) 引用文献とする。
3. 総説は、特に形式にこだわらないが、最初に要約を付ける。
4. 図表は、本文中では図1あるいは表1などと表記する。
5. 引用文献は、本文中の該当人名や事項の後に上付き小文字で、秋田県¹⁾、や総食研²⁻⁴⁾などのように番号を付し、そのリストを一括して引用文献の項に記載する。
6. 投稿中の論文、私信、未発表結果は、引用文献に入れず本文中に括弧で示し引用する。
7. 本文中に他の論文の著者名を引用する場合には、混乱の起こらない限り姓のみとする。著者が2名の論文は、両者の姓を併記し、3名以上の場合は、筆頭著者以外を「他」と略記する。
8. 定義を必要とする略号や記号の使用は最小限にとどめる。使用するときには、初出の箇所に正式名を書き、続けて括弧内に略号をいれる。用いた略号は文末（引用文献のあと）に一括して表示する。また、表題には略号を用いない。

【引用文献】

1. 引用文献には、本文中での引用順に番号を付けて記載する。
2. 引用文献は、著者名、雑誌名もしくは著書名、巻、号、最初と最後のページ、発行年の順に記載する。
3. 著者名は、姓名とも記し、全著者名を記載する。
4. 欧文雑誌は、イタリック、巻はボールドとする。
5. 和文誌名は、科学技術文献速報、また、欧文誌名は、*Chemical Abstract* や *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 投稿規定等を参照のこと。

【単位と物質の名称】種々の物質単位及びその用語や記号は、国際単位系・SI(metric system)を基本とする。常用的に用いられている物質名のうち、極めて使用頻度が高く、使い方が国際的に統一されている物質名は、定義なしで使用できる。

【学名】学名にはイタリックを用いる。

本規定は平成11年4月1日より施行する。

平成21年4月1日、一部改正。

平成22年4月1日、一部改正。

秋田県総合食品研究センター報告
第 12 号

委員長 高野 靖
副委員長 高橋 砂織

委 員 塚本 研一
同 熊谷 昌則
同 進藤 昌
同 高橋 仁
同 金子 隆宏
同 高橋 徹

第 1 2 号から「秋田県総合食品研究センター報告」へ名称が変更となりました。

発 行 平成 22 年 10 月 30 日
発行者 秋田県総合食品研究センター
〒010-1623
秋田市新屋町字砂奴寄 4-26
電話：018-888-2000（代）
FAX：018-888-2008
<http://www.arif.pref.akita.jp/>

【無断複製を禁ず】