

# 秋田県総合食品研究センター報告

第 13 号

平成23年(2011年)

---

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

No. 13, 2011



### 脳血流データ計測の様子

☆熊谷昌則「NIRSによる脳血流変化量に基づく嗜好性判断」



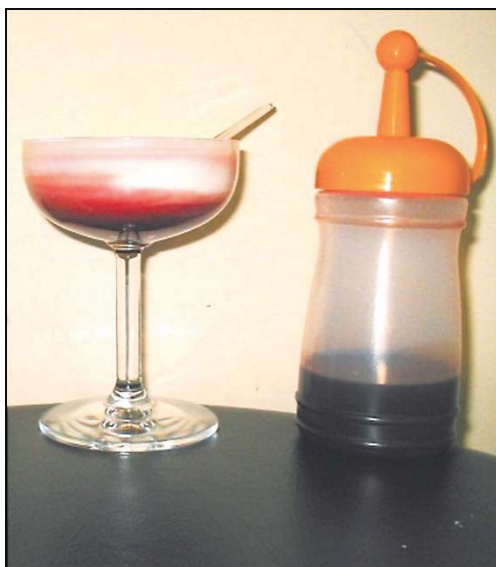
### 粘弾性測定装置

☆大能俊久「加熱初期に米粒から脱離する成分とデンプンを添加して炊飯した米飯の特徴」



### 蓄養雌ハタハタ

☆塚本研一他「蓄養による雌ハタハタの品質保持技術の開発」



### 有色米甘味素材

☆金子隆宏「有色米を原料とした新規甘味素材の試作」



### ヤマブシタケ錠剤

☆樋渡一之「食品成分によるメタボリックシンドローム予防・改善効果に関する研究」



# 目 次

|                      |    |
|----------------------|----|
| 1. 著論文（報文）           | 1  |
| 2. 原著論文（研究ノート）       | 31 |
| 3. 総説                | 39 |
| 4. 特許の概要             | 55 |
| 5. 学会発表要旨            | 59 |
| 6. 外部発表論文概要          | 79 |
| 7. 第1号～第13号人名索引      | 87 |
| 8. 秋田県総合食品研究センター報告規定 | 90 |



## 1. 原著論文（報文）

- ① 「NIRS による脳血流変化量に基づく嗜好性判断」 ..... 1  
熊谷昌則
- ② 「蓄養による雌ハタハタの品質保持技術の開発」 ..... 7  
塚本研一、船木勉\*  
(\*秋田県農林水産技術センター・水産振興センター)
- ③ 「清酒もろみへの糖添加を利用した新規酒造技術の検討」 ..... 17  
大野剛、高橋仁、杉本勇人、田口隆信
- ④ 「有色米を原料とした新規甘味素材の試作」 ..... 24  
金子隆宏

# NIRSによる脳血流変化量に基づく食品の嗜好性判断

熊谷昌則

(秋田県総合食品研究センター)

Masanori KUMAGAI

## 【要 約】

NIRS (Near Infra- Red Spectroscopy) は、波長 700~1000nm の近赤外光が生体組織への透過性があり、しかもヘモグロビンの酸素化状態によって、光の吸収・散乱の度合いが変化することを利用して、頭皮上から非侵襲的に脳機能をマッピングする方法論である<sup>1)</sup>。本研究の目的は、ある食品を見て、その外観からおいしそうかどうか、食べたいかどうか、などといった嗜好性や感性情報を、口頭などで意思表示させることなく、NIRS で測定した脳血流変化を指標として脳から直接、読み取れないかどうかを検証することである。その結果、食品の外観評価時における被験者の嗜好選択の違いが前頭前野両側部表層の脳血流量に何らかの影響を及ぼしていることが示唆されたが、その応答には個人差があり、異なる被験者間でも普遍的な性質を見いだすにはいたらなかった。しかしながら、同一の被験者内で構築された判別モデルを使えば、その被験者個人がどう感じているかどうかを予測できる可能性がある。

## 【緒 言】

食品の開発において重要となる、おいしさや満足感などといった心理的因子の評価法としては一般に、アンケート調査法や官能検査法などによる質問紙法が用いられる。この方法では、嗜好性や感性に係わるヒトの応答が、口頭または記述により抽出される。このとき、嗜好や感性情報といったものは、形容詞や形容動詞によって明示的に表現される。このような明示的評価は、客観性、再現性、信頼性などに欠ける場合があり、その代替法として、生理学的指標、例えば心拍数、血圧、体温、発汗量、あるいはまた表情やしぐさなどといった動作指標を用いた非明示的手法なども検討されている<sup>2)</sup>。

筆者らはこれまで、食品の受容性や嗜好性、さらには食品を摂取した際の満足度や癒し感などを客観的に判断しうる新しい食品評価法の開発を目指して、NIRS (近赤外分光法: Near Infra- Red Spectroscopy) に着目し、これを適用すべく、種々の取り組みで実用化のための検証を重ねてきた<sup>3, 4)</sup>。NIRS では、脳内の神経活動が起こっている領域のヘモグロビンの濃度変化を頭皮上から非侵襲的に計測することができる。NIRS は f-MRI (functional: 機能的-Magnetic Resonance Imaging: 磁気共鳴画像) などといった他の脳機能計測法に比較して、低拘束計測であるため、造影

剤の投与なども不要で、また座位などでも計測可能なことから被験者の負担が極端に少ないという利点がある。脳表層の血流変化しか測定できない、空間分解能が悪いなどの欠点はあるものの、医療分野のみならず、非医療分野での応用も急激に広がっている。

本研究では、NIRS を食品評価法の新規代替手法としてのみならず、近年、注目を集めているニューロ・マーケティング（神経マーケティングまたは心脳マーケティング）<sup>5, 6)</sup> への展開も見据えて、その基礎的知見を蓄積したいと考えている。ニューロ・マーケティングでは、マーケティングに脳機能計測の手法を取り入れることによって、消費者心理や行動スタイルの解明につながり、消費者の本音や無意識下の反応が引き出せるのではないかと期待されている。

今回は、前報<sup>4)</sup> に引き続き、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量から、被験者の嗜好や感性情報を非明示的に、脳から直接、読み取れないかどうか検討したところ、若干の知見が得られたので以下に報告する。

## 【方 法】

被験者は、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 20～40 代の女性であり、そのうち本研究では 8 名（平均年齢 33.6 歳）のデータについて解析を行った。被験者には、図 1 に示すように、17 インチの CRT 上に種々の食品画像 2 種類を 1 組として呈示し、初めに、どちらか一方を頭の中で嗜好選択させた後に、今度は 1 種類ずつ画像を呈示し（図 2）、それぞれをタスクとして 15 秒間、注視させた。その後、直ちに、どちらの画像を選択したのか（どちらともいえないを含む）、アンケート調査により報告を求めた。この試行を異なる画像の種類 10 組に対して繰り返し実施して、10 分間の安静休憩を挿入した後、さらに別の画像 10 組に対して同様の試行を実施した。脳血流変化量は光トポ



図1 脳血流データ計測の様子

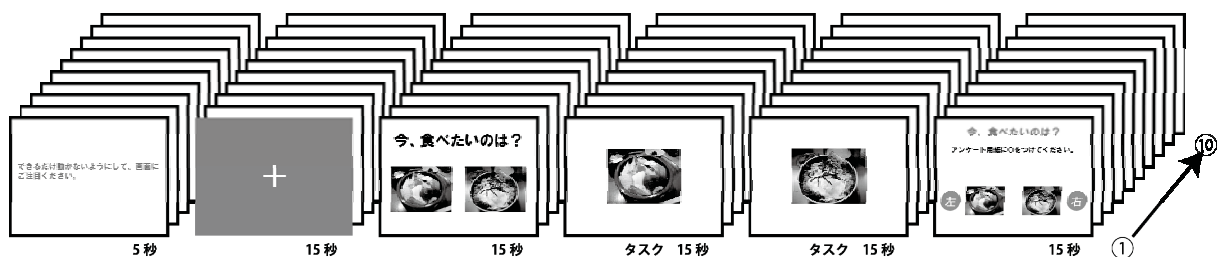


図2 画像の提示方法とタスク



グラフィーETG-4000(日立メ  
ディコ)を用いたNIRSにより、  
左右前頭部における 3×3  
(12ch)×2モードで測定した。  
図3に、計測部位と ch 番号を  
示す。また、図4には取得デー  
タの一例として、被験者Aの画  
像①に対する ch8の Oxy-Hb 変  
化量の推移を示した。データ解  
析は、どちらか一方の嗜好選択  
された画像を見ているときのタ  
スク中と、そうではない画像を  
見ているときのタスク中の  
Oxy-Hb 変化量を、正規化処理

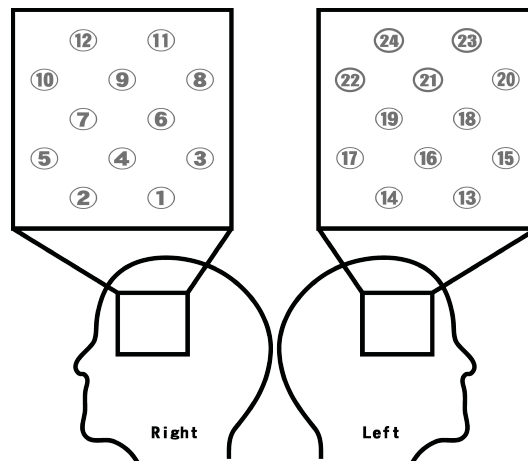


図3 計測部位と ch 番号

[ Z-score = ((画像提示後 5 秒～15 秒までの変化量の平均) - (0 秒～5 秒までの平均変化量)) / (0 秒～5 秒の変化量の標準偏差)] 後に平均値の差の検定や判別解析に供した。

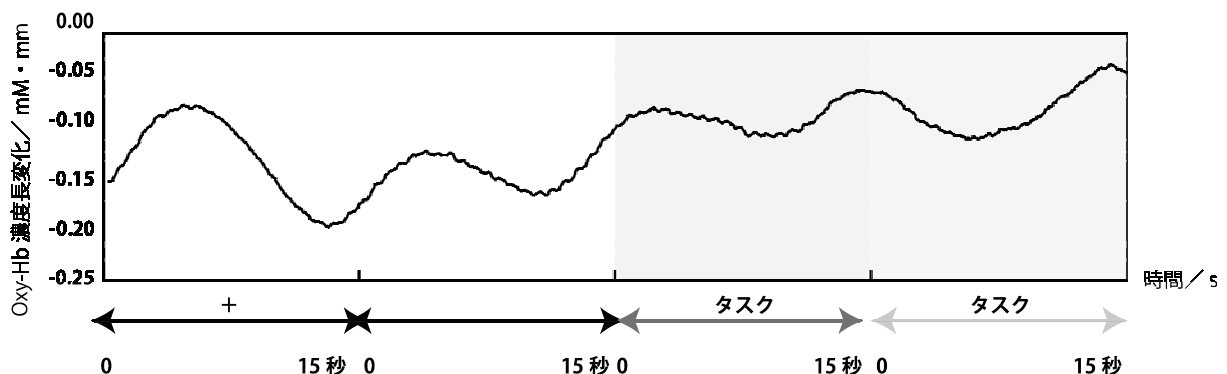


図4 Oxy-Hb 変化量の推移例(被験者A、画像①、Ch8)

#### 【結果と考察】

はじめに、それぞれの被験者の前頭部に配置した左右 12ch の計 24ch の Z-score を用いて、どちらか一方の嗜好選択された画像を見ているときのタスク中と、そうではない画像を見ているときのタスク中の Oxy-Hb 変化量に違いがあるかどうかをそれぞれの ch 毎に t 検定で評価したところ、被験者 8 名のうち 6 名については、危険率 5%で有意差の認められる ch が存在した。しかしながら、24ch のうち 7ch で有意差の認められた被験者がいる一方で、有意差が認められたのは 1ch のみという被験者も 3 名いた(被験者 A、F、G)(図5)。被験者間で一致して、特定の ch (または領域) による違いは認められず、個人差が大きかった。

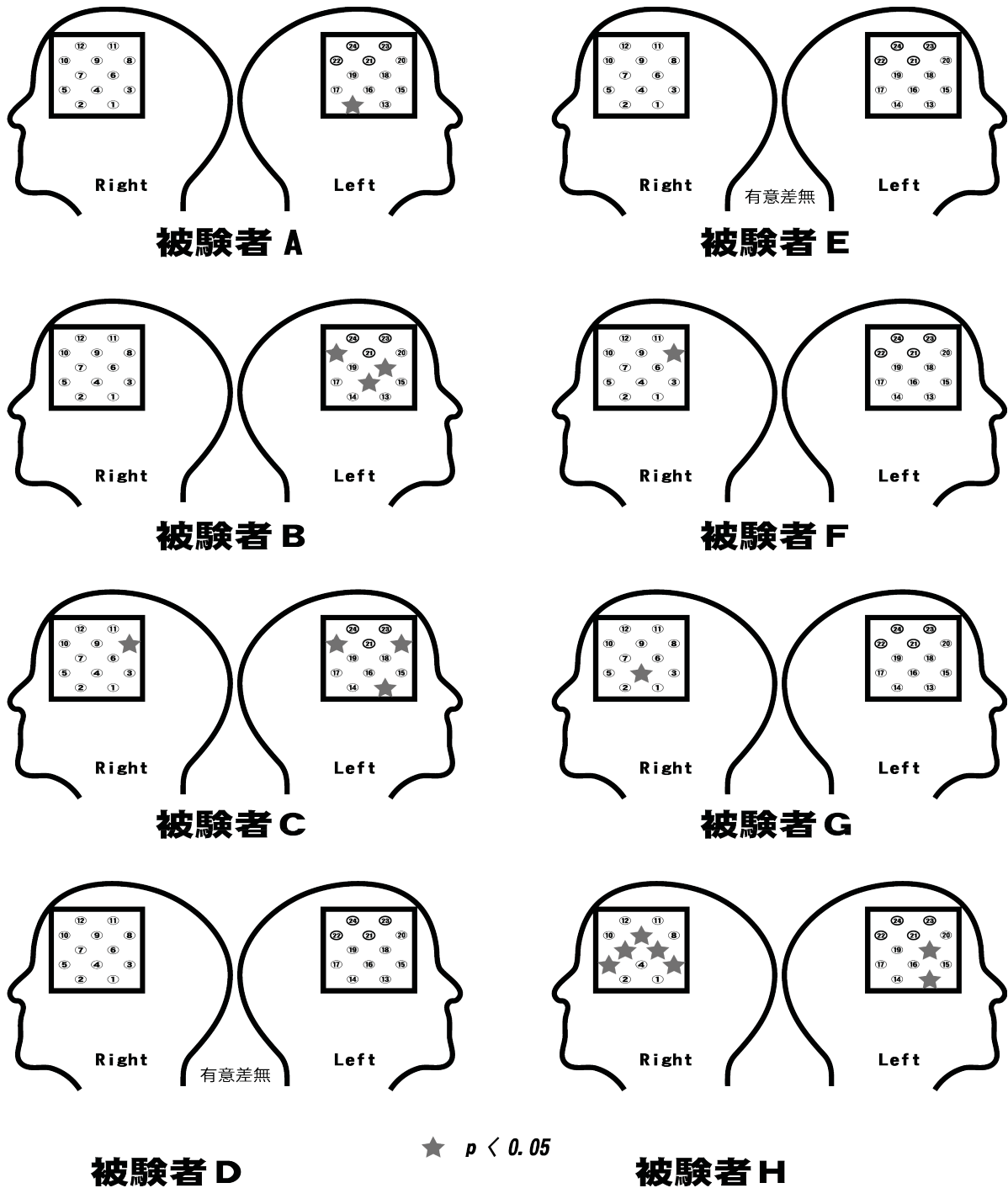


図5 タスク中の被験者別 ch 毎の Oxy-Hb 変化量の差異(t検定)

次に、24ch 全ての Z-score を用いて判別分析を適用したところ、判別モデル構築時には全被験者平均で 98.1% の正答率（図 5 に示されている判別モデル正答率の被験者間平均）で嗜好選択を正しく判別できることがわかった。すなわち、脳血流変化のデータを使えば、被験者がどちらの画像を選択したのか、被験者自らが口頭などで示さなくてもデータ上から判別できることが示されたわけである。

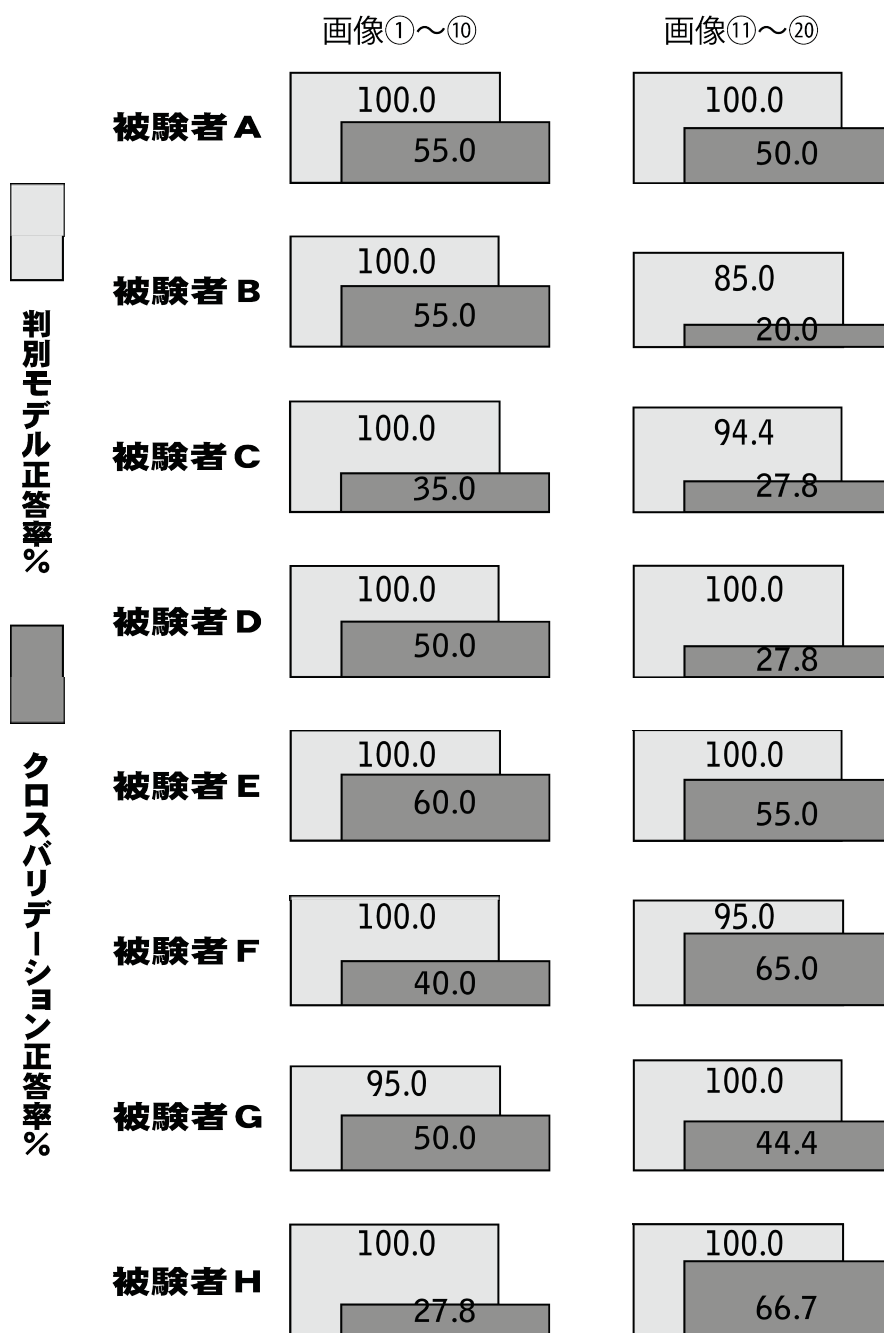


図6 被験者毎の嗜好選択予測判別モデルの評価

そこで、次のステップとして、未知試料、すなわち過去に見たことがない、新しい画像に対しても同様に判別できるかどうかをクロスバリデーション (cross-validation) により検証した。ここでは、交差検定 (leave-one-out) により 20 組の画像の組み合わせのうち、19 組のデータを既知試料として判別モデルを構築し、残りの 1 組のデータを未知試料とみなし、先の判別モデルで未知試料が判別できるかどうかを検証した。全体ではこの操作を 1 組ずつ順に、20 組のデータに適用して、それぞれ判別できるかどうかを検証したところ、図 6 に示したクロスバ

リレーション正答率の全被験者平均は、45.6%となった。最も正答率が高い被験者 H であっても 66.7%にとどまった。

以上の結果から、食品画像刺激に対する外観評価時に嗜好選択の違いが前頭前野両側部表層の脳血流量に何らかの影響を及ぼしていることが示唆されたが、それは異なる被験者間で普遍的な応答とはいえなかった。しかしながら、同一の被験者内で構築された判別モデルを使えば、その被験者個人の嗜好や感性情報を非明示的に抽出できる可能性がある。ただし、さらなる精度向上が必要であり、実験方法やデータ解析法の改善が求められる。

#### 【謝 辞】

実験にご尽力いただいた秋田県総合食品研究センターの井上まき子さん、北林伊都子さん、深井睦子さんに、そして被験者としてご参加いただいた皆様方に深謝する。また、本研究の一部は科研費（22500751）の助成を受けて実施された。

#### 【文 献】

- 1) Jobsis FF : Noninvasive infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters, *Science*, 198: 1264-1267 (1977).
- 2) 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).
- 3) 熊谷ら：脳機能計測による新しい食品の評価法の開発，秋田県総合食品研究所報告 10 号，29-36 (2008).
- 4) 熊谷ら：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，秋田県総合食品研究センター報告 12 号，1-6 (2010).
- 5) 「脳を活かす」研究会：ブレイン・デコーディングー脳情報を読むー，オーム社，(2007).
- 6) A・K・プラディープ：マーケターの知らない「95%」消費者の「買いたい！」を作り出す実践脳科学，阪急コミュニケーションズ，(2011).

# 蓄養による雌ハタハタの品質保持技術の開発

塚本研一 他

(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水産振興センター)

Ken-ichi TSUKAMOTO, Tsutomu FUNAKI

## 【要 約】

雌ハタハタの長期品質保持を目的として蓄養による方法を検討した。雌ハタハタの品質上重要である卵塊成分を品質保持の指標として試験を行った結果、ハタハタ卵塊は形態的には蓄養2週間、卵塊の加熱時の粘りでは蓄養4週間でも品質が維持できることが明らかとなった。

## 【緒 言】

ハタハタの漁獲が短期集中型であり漁獲集中時に魚価の低下が著しいという問題点がある。通常、ハタハタ鮮魚での品質保持は冷蔵保管や流通状態が最良であっても1週間程度が限界であること、また、冷凍魚とした場合は、ハタハタ卵本来の食感が失われ、雌ハタハタとしての商品価値が極度に低下することが知られている。本研究では、これらの問題点を解決することを目的として、ハタハタを生きた状態で2~3週間無給餌蓄養することにより品質を保持したまま出荷時期調整が可能であるかを検討することとした。蓄養とは魚介類を生きた状態で漁獲した後、出荷前の一定の期間生きた状態で保持し市場に供給する技術であり、鮮度保持の1つの方法である。魚類の絶食や飢餓中の魚体成分変動は脂質成分等<sup>1),2)</sup>について調べられ、生命維持のエネルギー源となっていると報告されているが、成熟した卵巣の成分変動に関しては調べられていない。本研究では無給餌蓄養における卵巣成分の変動を中心に分析し、雌ハタハタの品質上重要な卵巣成分が蓄養で品質保持が可能であるか検討した。

## 【方 法】

### 1. 試料

#### 1)蓄養ハタハタ試料

秋田県男鹿市の北浦地先のハタハタ定置網で漁獲された3~4歳の完熟ハタハタ雌、雄を活魚の状態、同市の秋田県水産振興センターの水槽に搬入し蓄養試験に供した。

#### 2)分析試料

魚肉は採卵後凍結保存したハタハタ各10尾を解凍し包丁で3枚におろし、皮付きの状態を魚肉部分を解剖用ハサミで細かく刻んだものを乳鉢で均一に磨砕混合し分析試料とした。また卵巣、精巣は各5尾分を魚肉同様に処理したものの分析試料とした。

### 2. 蓄養試験

水槽は水産振興センター実験棟に設置した1トン円形パンライト水槽を使用し、

各試験区 150 尾を蓄養した。飼育水はろ過海水を 1 時間当たり 0.25 m<sup>3</sup>~0.3 m<sup>3</sup>を巡流が生じないように水槽上 1 ヶ所から注水し、通気はエアーストン 1 個を用い微通気とした。雌と雄の比率の違いによる蓄養の生残率を比較するため雌 100%の蓄養（以下 A 区とする）、雌 70%と雄 30%の蓄養（以下 B 区とする）、雌 50%と雄 50%の蓄養（以下 C 区とする）および雌 30%と雄 70%の蓄養（以下 D 区とする）を 12 月中旬から翌年 1 月上旬までの 4 週間無給餌で行った。また、各成分の分析用試料については A 区で各 10 尾を 1 週間毎に 4 週間までを水槽から採取し自然死させて試料とした。また、成分比較のため雄 100%の 50 尾で無給餌蓄養を行い、各 5 尾を 2 週間毎に 4 週間まで採取し同様に試料とした。

### 3. 分析評価方法

#### 1)水分

水分は分析試料 5 g を常圧加熱乾燥法<sup>3)</sup>で 105°C、3 時間加熱乾燥した乾燥減量より算出した。

#### 2)粗脂質含量

粗脂肪含量は試料 20 g をクロロホルム-メタノール混液改良抽出法<sup>4)</sup>により分析した。

#### 3)脂肪酸組成

粗脂肪含量測定のため抽出した脂質を 1N 水酸化カリウムでケン化し遊離脂肪酸を調製し、これをトリメチルシリルジアゾメタンによりメチルエステル化してガスクロマトグラフィー分析に供した。すなわち、脂肪酸組成分析はガスクロマトグラフ (HEWLETT PACKARD 社製, GC5890 II Plus) を使用し、検出は FID、カラムは WCOT FUSED SILICA coating CP-SIL88 Tailor made FAME (0.25mm I.D.×50m L., 0.2 μm thin, ;Varian 社製) を使用した。カラム温度では 150-200°Cは 2°C/min の昇温、200-225°Cは 5°C/min の昇温で 225°Cを 8 分保持とした。また検出器温度は 250°C、キャリアーガスは He (1ml/min)、スプリット比は 10:1 の条件で分析した。脂肪酸組成は標準脂肪酸メチルエステル (PUFA No.3, from Menhaden Oil ;SUPELCO 社製) から各脂肪酸を同定して算出した。

#### 4)遊離アミノ酸

試料 5 g を 10%過塩素酸で抽出し、等量の 0.02N 塩酸溶液を加え希釈した後、0.45μm のフィルターでろ過して遊離アミノ酸量を分析した。遊離アミノ酸分析はアミノ酸分析計 (日本電子 JLC500) に供した。分析はカラムに陽イオン交換樹脂 LCR-7 (4mm I.D.×70mm L.) を使用した生体アミノ酸分析モードで、アミノ酸の検出はニンヒドリン法、試料注入量は 50μl の条件で行った。

#### 5)粘質物量

ハタハタ卵塊からの粘質物の分離は著者らの方法<sup>5)</sup>により行った。すなわち蓄養試験の水槽から採取した雌ハタハタ 5 尾から 2 時間以内に採卵した卵塊を 1 個ずつ 70°Cの純水 200ml に攪拌しながら浸漬した。浸漬後 2~3 分に分離した粘質物と卵粒を回収し、真空凍結乾燥して重量を測定した。粘質物量の経時変化は卵塊 10 個合計の乾燥重量当たりの乾燥粘質物の比 (粘質物乾燥重量/卵+粘質物乾燥重量) を算出し比較した。



## 6)粘質物 SDS-PAGE

粘質物量を測定した蓄養各週の乾燥粘質物試料について電気泳動分析を行った。すなわち乾燥試料 5mg/ml の濃度で試料希釈液<sup>6)</sup>に溶解し 100℃で 3 分加熱し SDS 化を行った。12.5%ゲル濃度の電気泳動用ゲル（アトー製 NPU-12.5L パジェル）を用い、200V、20mA、1.5 時間の条件で電気泳動を行った。検出はクマシーブリリアントブルーR250（Biorad 製）により染色して行った。なお対照は蓄養前の雌ハタハタ卵塊から調製した乾燥粘質物を使用した。

## 7)蓄養ハタハタ卵塊の官能的評価

蓄養 0、2 および 4 週の雌ハタハタ各 2 尾を 10%の食塩水に 30 分間浸漬し、200℃のグリルで焼き魚として試食した。官能的評価はプロファイル法により卵塊の粘りと魚肉の食感、味を比較した。パネルは当研究所水産加工担当者を含む 5 名とした。

なお、ハタハタ試料分析結果の数値は n=3 の平均値で示した。

## 【結 果】

### 1. 蓄養試験生残率

各試験区の雌ハタハタの生残率を図 1 に示した。A 区では、蓄養 4 週での生残率 96.1%となり試験区中最も高い生残率であった。B 区は 65.8%で蓄養 3 週以降に雌ハタハタの生残率が低下する傾向にあった。C 区は 18.0%で蓄養 2 週以降に雌ハタハタの生残率が低下する傾向にあった。D 区は 6.6%で C 区同様に蓄養 2 週以降に生残率が低下する傾向にあり、試験区中では最も低い生残率であった。なお、雄ハタハタの生残率は 100%であった。

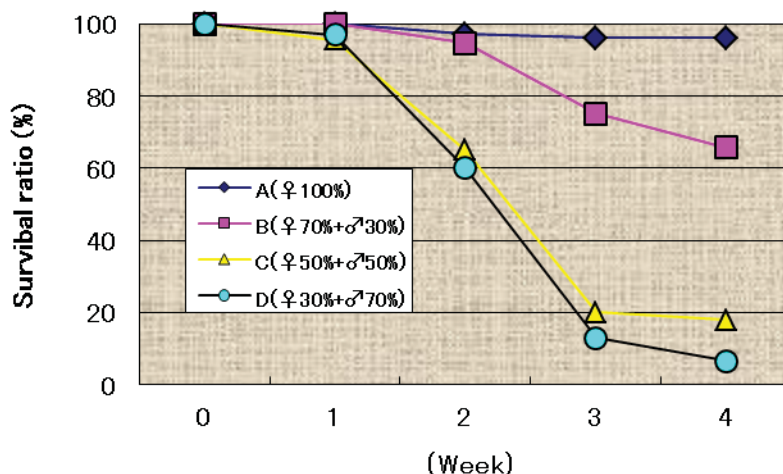


図 1 蓄養試験のハタハタ生残率

### 2. ハタハタ魚肉および生殖巣の水分と脂質含量の変動

蓄養雌ハタハタの魚肉および生殖巣の水分、脂質含量の変動を表 1 に示した。また、比較対照として雄ハタハタの結果を表 2 に示した。雌ハタハタの魚肉水分は蓄養期間が長くなると増加し 0 週 79.1%から 4 週で 85.6%、粗脂肪量は減少し 0 週

3.2%から4週で1.0%となった。雄ハタハタも同様の傾向を示し、魚肉水分は0週80.0%から4週で84.1%、粗脂肪量は0週3.2%から4週で0.5%となった。粗脂肪量に関しては雄ハタハタ魚肉の減少が著しかった。一方、生殖巣は卵巣で魚肉と同様の傾向を示し、0週78.4%から4週で81.3%、粗脂肪量は減少し0週3.3%から4週で1.5%となった。しかし、精巣はまったく傾向が異なり2週で最も水分が高い値で粗脂肪が低い値を示したが、これは精巣の重量変動と関連すると考えられる。

表1 蓄養試験の雌ハタハタの水分、粗脂肪含量

| Week | Moisture (%) |       | Clude lipid (%) |       | Weight (g) |
|------|--------------|-------|-----------------|-------|------------|
|      | Meet         | Ovary | Meet            | Ovary | Ovary      |
| 0    | 79.1         | 78.4  | 3.2             | 3.3   | 16.7       |
| 1    | 79.8         | 83.7  | 1.6             | 1.6   | 23.6       |
| 2    | 83.8         | 83.2  | 1.8             | 2.0   | 21.0       |
| 3    | 81.9         | 81.9  | 1.6             | 1.7   | 17.9       |
| 4    | 85.6         | 81.3  | 1.0             | 1.5   | 20.8       |

Values are mean of ten samples.

表2 蓄養試験の雄ハタハタの水分、粗脂肪含量

| Week | Moisture (%) |        | Clude lipid (%) |        | Weight (g) |
|------|--------------|--------|-----------------|--------|------------|
|      | Meet         | Testis | Meet            | Testis | Testis     |
| 0    | 80.0         | 80.4   | 3.2             | 3.1    | 11.2       |
| 2    | 82.7         | 88.3   | 1.1             | 1.0    | 10.0       |
| 4    | 84.1         | 85.1   | 0.5             | 3.4    | 2.8        |

Values are mean of five samples.

### 3. 蓄養ハタハタ魚肉および生殖巣脂肪酸組成の変動

蓄養雌ハタハタの魚肉および生殖巣の脂肪酸組成の変動を表3に示した。魚肉の脂肪酸組成は比率が多い脂肪酸のパルミチン酸(C 16:0, 16.0-17.1%)、パルミトレイン酸(C 16:1n7, 9.5-12.2%)、オレイン酸(C 18:1n9, 27.4-30.0%)、イコサペンタエン酸(C 20:5n3, 6.7-10.2%) およびドコサヘキサエン酸(C 22:6n3, 6.2-7.6%)では変動が小さかった。イコサペンタエン酸は蓄養期間が長くなるとやや減少する傾向であった。脂肪酸種類別では全飽和脂肪酸、全1価不飽和脂肪酸および全多価不飽和脂肪酸組成は雌ハタハタ魚肉で変動がほとんど見られなかった。表3に示したドコサヘキサエン酸とイコサペンタエン酸の比率(DHA/IPA)は雌ハタハタ魚肉で変動がほとんど見られなかった。雌ハタハタ卵巣の脂肪酸組成は比率が多い脂肪酸のパルミチン酸(C 16:0, 18.7-22.9%)、パルミトレイン酸(C 16:1n7, 5.2-6.8%)、オレイン酸(C 18:1n9, 13.4-24.6%)、イコサペンタエン酸(C 20:5n3, 14.3-22.4%) およびドコサヘキサエン酸(C 22:6n3, 18.3-24.7%)では魚肉とは異なる変動を示し



表3 蓄養試験の雌魚肉および卵巣脂肪酸組成<sup>a</sup>の変動

| Fatty acid           | Week |       |      |       |      |       |      |       |      |       |
|----------------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|
|                      | 0    |       | 1    |       | 2    |       | 3    |       | 4    |       |
|                      | Meat | Ovary | Meat | Ovary | Meat | Ovary | Meat | Ovary | Meat | Ovary |
| Total saturates      | 21.3 | 22.0  | 21.9 | 24.8  | 22.1 | 25.7  | 21.6 | 23.3  | 22.5 | 26.0  |
| C 14:0               | 2.9  | 1.4   | 3.1  | 1.2   | 4.0  | 1.6   | 3.2  | 1.2   | 2.7  | 0.9   |
| C 16:0               | 16.6 | 18.7  | 16.8 | 20.8  | 16.0 | 21.2  | 16.1 | 19.2  | 17.1 | 22.9  |
| C 18:0               | 1.8  | 1.9   | 2.0  | 2.8   | 2.1  | 2.9   | 2.3  | 2.9   | 2.7  | 2.2   |
| Total monoenes       | 48.6 | 25.2  | 52.8 | 33.8  | 49.4 | 32.5  | 49.9 | 32.6  | 49.2 | 37.9  |
| C 16:1n7             | 10.3 | 5.5   | 11.8 | 6.8   | 12.2 | 5.7   | 10.1 | 5.6   | 9.5  | 5.2   |
| C 18:1n9             | 28.0 | 13.4  | 30.0 | 18.8  | 27.4 | 19.9  | 29.0 | 19.4  | 29.3 | 24.6  |
| C 18:1n7             | 7.9  | 6.3   | 9.2  | 7.8   | 7.6  | 6.8   | 8.9  | 7.5   | 8.8  | 8.1   |
| C 20:1n9             | 0.9  | 0.0   | 0.9  | 0.3   | 0.9  | 0.0   | 0.9  | 0.0   | 0.8  | 0.0   |
| C 22:1n9             | 1.5  | 0.0   | 0.9  | 0.1   | 1.3  | 0.1   | 1.0  | 0.1   | 0.8  | 0.0   |
| Total polyenes       | 29.3 | 52.8  | 24.2 | 40.5  | 26.6 | 40.9  | 26.8 | 43.1  | 26.3 | 35.6  |
| C 18:3n3             | 3.3  | 0.0   | 3.4  | 0.9   | 4.9  | 1.1   | 3.7  | 1.2   | 4.1  | 0.0   |
| C 18:4n3             | 3.8  | 1.1   | 3.1  | 0.5   | 2.6  | 0.6   | 4.1  | 0.4   | 4.4  | 0.0   |
| C 20:4n3             | 0.0  | 0.0   | 0.6  | 0.4   | 0.7  | 0.5   | 0.7  | 0.5   | 0.7  | 0.0   |
| C 20:5n3             | 10.2 | 22.4  | 8.0  | 16.3  | 7.1  | 15.3  | 6.8  | 16.1  | 6.7  | 14.3  |
| C 22:5n3             | 0.0  | 0.7   | 0.5  | 0.7   | 0.6  | 0.8   | 0.6  | 0.7   | 0.6  | 0.0   |
| C 22:6n3             | 7.6  | 24.7  | 6.3  | 18.6  | 7.2  | 18.8  | 6.8  | 20.2  | 6.2  | 18.3  |
| C 18:2n6             | 1.7  | 1.2   | 0.5  | 1.0   | 0.7  | 1.0   | 1.1  | 1.0   | 1.0  | 0.6   |
| C 20:4n6             | 2.7  | 2.7   | 1.8  | 2.1   | 2.8  | 2.8   | 3.0  | 3.0   | 2.6  | 2.4   |
| Total others         | 0.8  | 0.0   | 1.0  | 0.7   | 2.0  | 1.0   | 1.9  | 0.8   | 2.0  | 0.6   |
| DHA/IPA <sup>b</sup> | 0.7  | 1.1   | 0.8  | 1.1   | 1.0  | 1.2   | 1.0  | 1.3   | 0.9  | 1.3   |

<sup>a</sup> Results are expressed as weight percentage of total fatty acid.

<sup>b</sup> Results are expressed as DHA per IPA composition. DHA, Docosahexaenoic acid(C22:6n3); IPA, Icosapentaenoic acid(C20:5n3)

表4 蓄養試験の雄魚肉および精巣脂肪酸組成<sup>a</sup>の変動

| Fatty acid           | Week |        |      |        |      |        |
|----------------------|------|--------|------|--------|------|--------|
|                      | 0    |        | 2    |        | 4    |        |
|                      | Meat | Testis | Meat | Testis | Meat | Testis |
| Total saturates      | 19.7 | 16.9   | 19.1 | 22.3   | 22.0 | 25.2   |
| C 14:0               | 2.2  | 1.1    | 2.4  | 2.8    | 2.8  | 1.8    |
| C 16:0               | 15.9 | 12.8   | 14.3 | 15.6   | 15.7 | 18.8   |
| C 18:0               | 1.6  | 3.0    | 2.4  | 3.9    | 3.5  | 4.6    |
| Total monoenes       | 48.3 | 28.3   | 53.0 | 30.4   | 50.1 | 28.4   |
| C 16:1n7             | 10.1 | 7.3    | 9.5  | 5.3    | 9.5  | 3.8    |
| C 18:1n9             | 29.3 | 12.0   | 32.5 | 16.2   | 30.6 | 14.4   |
| C 18:1n7             | 7.2  | 8.7    | 8.5  | 7.9    | 8.9  | 9.2    |
| C 20:1n9             | 0.9  | 0.0    | 0.7  | 0.5    | 0.5  | 0.2    |
| C 22:1n9             | 0.8  | 0.3    | 1.8  | 0.5    | 0.6  | 0.8    |
| Total polyenes       | 32.1 | 54.0   | 25.8 | 46.1   | 26.1 | 45.4   |
| C 18:3n3             | 2.3  | 0.0    | 5.2  | 1.5    | 4.2  | 1.4    |
| C 18:4n3             | 3.5  | 0.0    | 5.1  | 0.8    | 3.9  | 0.4    |
| C 20:4n3             | 0.0  | 0.0    | 0.5  | 0.5    | 0.4  | 0.3    |
| C 20:5n3             | 10.8 | 14.7   | 5.4  | 16.3   | 6.0  | 16.6   |
| C 22:5n3             | 0.0  | 0.5    | 0.4  | 0.9    | 0.4  | 0.8    |
| C 22:6n3             | 12.9 | 34.7   | 4.7  | 20.3   | 5.5  | 17.8   |
| C 18:2n6             | 1.3  | 0.0    | 2.2  | 1.6    | 2.3  | 1.3    |
| C 20:4n6             | 1.3  | 4.1    | 2.3  | 4.2    | 3.4  | 6.8    |
| Total others         | 0.0  | 0.8    | 1.9  | 1.2    | 1.8  | 1.0    |
| DHA/IPA <sup>b</sup> | 1.2  | 2.4    | 0.9  | 1.2    | 0.9  | 1.1    |

<sup>a</sup> Results are expressed as weight percentage of total fatty acid.

<sup>b</sup> Results are expressed as DHA per IPA composition. DHA, Docosahexaenoic acid(C22:6n3); IPA, Icosapentaenoic acid(C20:5n3)

た。蓄養期間が長くなることによりオレイン酸は増加傾向、イコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸は減少傾向であった。脂肪酸種類別では魚肉と異なり全1価不飽和脂肪酸が増加し全多価不飽和脂肪酸が減少したが、全飽和脂肪酸は変動がほとんど見られなかった。また、比較対照として雄ハタハタの脂肪酸組成の変動を表4に示した。雄ハタハタ魚肉は雌魚肉と同様に変動が小さかったが、イコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸は蓄養期間が長くなると減少した。精巣では卵巣と類似した変動を示し、蓄養期間が長くなることによりオレイン酸は増加傾向、イコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸は減少傾向であった。特にドコサヘキサエン酸の減少は卵巣と比較して顕著に認められた。

#### 4. 蓄養ハタハタ魚肉および生殖巣の遊離アミノ酸の変動

蓄養雌ハタハタの魚肉および生殖巣の遊離アミノ酸の変動を表5に示した。魚肉の遊離アミノ酸総量は82.6-183.2mg/100gであり、2週目が最大で3~4週目でやや減少するが蓄養開始時よりは多くなった。またタウリン(31.5-60.9mg/100g)が遊離アミノ酸の中では最も多くで、次にアンセリン(0-36.9mg/100g)やエタノールアミン(1.8-16.7mg/100g)が多かった。また、グルタミン酸(12.7-6.9mg/100g)も多く、蓄養期間が長くなると減少した。アラニン(6.1-18.1mg/100g)はグルタミン酸と逆の傾向を示し、蓄養期間が長くなると増加した。総遊離アミノ酸の中でタウリンとアンセリンの割合が大きく、これが遊離アミノ酸総量の変動に影響を及ぼしていた。次に卵巣の遊離アミノ酸総量は55.5-133.5mg/100gであり、3週目が最大で蓄養により多くなった。タウリンは卵巣で7.8-21.8mg/100g、グルタミン酸は卵巣で3.9-6.0mg/100g、アラニンは1.7-5.0mg/100g、アンセリンは魚肉と異なり検出されなかったが、エタノールアミン(26.3-53.4mg/100g)が多かった。卵巣ではエタノールアミンとタウリンの割合が大きくこれが卵巣の遊離アミノ酸総量の変動に影響を及ぼしていた。雄ハタハタ魚肉は遊離アミノ酸総量、タウリンおよびエタノールアミンで雌魚肉と同様な変動傾向を示したが、アンセリン量は小さい値であった。精巣では遊離アミノ酸総量の変動(77.8-529.8mg/100g)が著しく、蓄養期間が長くなることにより遊離アミノ酸総量が増加した。特にエタノールアミンの増加は卵巣と比較して顕著に認められた。

#### 5. 蓄養卵塊の形態的变化

蓄養ハタハタ卵塊の形態的变化を図2に示した。卵塊は蓄養2週目までは弾力性がありボール状の形態を保っていたが、3週目からは卵塊が崩れている割合が増加し、4週目ではゼリー状物質のコアや糸が消失した卵塊が多く認められた。以上から形態的には蓄養2週目まで蓄養開始から変化がないことがわかった。

#### 6. 蓄養ハタハタ卵塊粘質物量の変動

ハタハタ卵塊の重量は個体差があるため、粘質物量の変化を分離した卵との乾燥重量比(粘質物/粘質物+卵)として算出した。図3に経時変化を示したが、2週目まで僅かに減少し3~4週で大きく減少した。

#### 7. SDS-PAGE

蓄養ハタハタ卵塊の粘質物をSDS-PAGEで分析した結果、すべての週において単一バンドで分子量は約43kDaであり、蓄養による変化は見られなかった。

表5 蓄養試験の雌魚肉および卵巣遊離アミノ酸組成<sup>a</sup>の変動

| Amino acid     | Week |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                | 0    |       | 1     |       | 2     |       | 3     |       | 4     |       |
|                | Meat | Ovary | Meat  | Ovary | Meat  | Ovary | Meat  | Ovary | Meat  | Ovary |
| Taurine        | 31.5 | 12.5  | 54.9  | 16.5  | 60.9  | 7.8   | 54.6  | 21.8  | 43.7  | 18.2  |
| Asparatic acid | 0.7  | 0.5   | 1.7   | 1.4   | 1.3   | 1.0   | 1.7   | 2.1   | 2.0   | 2.2   |
| Threonine      | 0.5  | 0.0   | 2.3   | 1.0   | 2.9   | 0.8   | 2.5   | 2.1   | 2.5   | 1.7   |
| Serine         | 1.2  | 0.8   | 4.7   | 1.2   | 4.5   | 0.7   | 4.8   | 2.7   | 5.1   | 2.7   |
| Glutamic acid  | 12.7 | 4.3   | 11.9  | 4.0   | 8.8   | 3.9   | 7.8   | 6.0   | 6.9   | 4.7   |
| Glycine        | 1.3  | 0.5   | 3.2   | 3.5   | 3.1   | 4.2   | 3.6   | 5.4   | 3.8   | 5.3   |
| Alanine        | 6.1  | 3.4   | 13.6  | 1.7   | 18.1  | 1.7   | 15.6  | 4.3   | 16.8  | 5.0   |
| Proline        | 0.0  | 0.0   | 0.1   | 0.0   | 0.4   | 0.0   | 1.1   | 0.0   | 0.0   | 0.0   |
| Valine         | 0.0  | 0.5   | 1.5   | 2.5   | 2.0   | 2.1   | 2.1   | 3.3   | 3.0   | 1.3   |
| Methionine     | 0.6  | 0.8   | 0.0   | 5.7   | 0.5   | 6.9   | 0.0   | 6.4   | 3.2   | 6.8   |
| Cystathionine  | 0.0  | 0.0   | 0.4   | 0.6   | 2.5   | 0.3   | 1.0   | 0.5   | 2.3   | 0.5   |
| Isoleucine     | 0.8  | 0.4   | 1.1   | 1.3   | 3.5   | 0.8   | 1.6   | 2.1   | 3.9   | 1.6   |
| Leucine        | 1.2  | 0.8   | 2.1   | 2.0   | 3.7   | 1.6   | 2.6   | 3.4   | 4.8   | 2.5   |
| Tyrosine       | 0.0  | 0.0   | 0.6   | 0.8   | 1.5   | 0.0   | 1.5   | 1.6   | 2.1   | 1.9   |
| Phenylalanine  | 0.7  | 0.0   | 1.0   | 0.0   | 1.6   | 0.0   | 0.0   | 1.3   | 2.1   | 1.0   |
| Ethanolamine   | 1.8  | 26.3  | 15.4  | 53.4  | 14.2  | 49.9  | 16.7  | 50.9  | 11.1  | 44.2  |
| Ornithine      | 0.0  | 0.0   | 0.0   | 0.0   | 0.2   | 0.0   | 0.0   | 0.0   | 0.0   | 0.0   |
| Lysine         | 0.0  | 0.0   | 2.1   | 2.1   | 2.9   | 2.1   | 2.9   | 0.0   | 2.9   | 1.9   |
| Histidine      | 1.9  | 1.9   | 4.7   | 5.0   | 6.7   | 1.4   | 7.9   | 4.1   | 12.6  | 6.4   |
| Anserine       | 20.9 | 0.0   | 0.0   | 0.0   | 36.9  | 0.0   | 28.4  | 0.0   | 17.5  | 0.0   |
| Arginine       | 0.0  | 0.5   | 1.3   | 1.2   | 1.6   | 2.0   | 0.0   | 2.1   | 0.0   | 2.0   |
| others         | 0.8  | 2.3   | 5.4   | 11.8  | 5.3   | 11.6  | 4.9   | 13.5  | 5.3   | 12.3  |
| P-Ser          | 0.3  | 1.8   | 2.9   | 9.3   | 2.8   | 9.4   | 2.7   | 11.2  | 2.7   | 10.8  |
| $\alpha$ -ABA  | 0.5  | 0.5   | 2.5   | 2.5   | 2.5   | 2.2   | 2.3   | 2.3   | 2.5   | 1.4   |
| Total          | 82.6 | 55.5  | 127.8 | 115.6 | 183.2 | 98.8  | 161.0 | 133.5 | 151.5 | 122.1 |

<sup>a</sup> Results are expressed as mg per 100g of sample

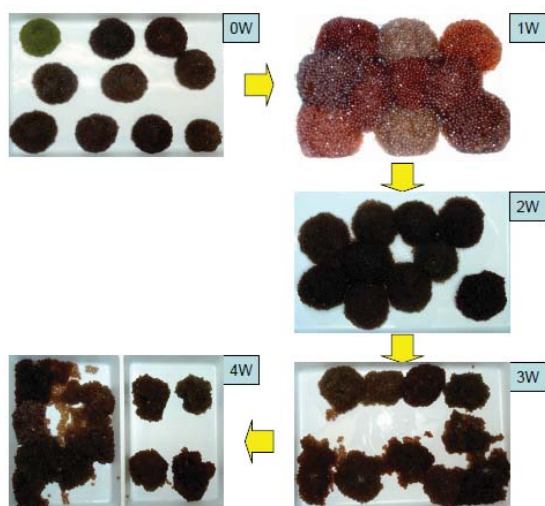


図2 ハタハタ卵塊の形態的变化

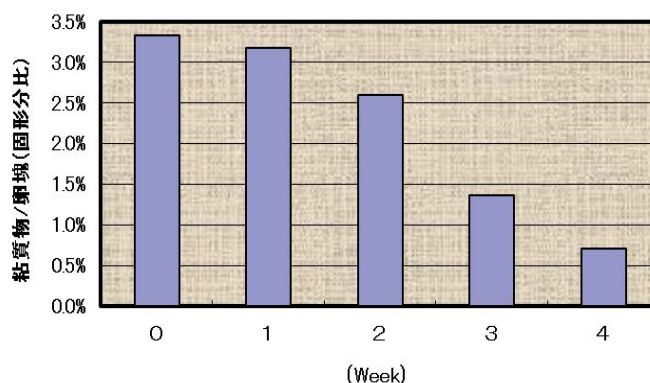


図3 ハタハタ卵塊粘質物量の変化

## 8. 蓄養卵塊の官能的評価

卵塊の官能評価は0、2および4週に行った。蓄養雌ハタハタを10%の食塩水に30分間浸漬し、200℃のグリルで焼き魚とした。ハタハタ卵塊は0週と比較して2週では同様な粘りが多くあり、卵の食感も良好であった。4週では粘りは0週と比較してやや劣るが、食感的にも十分な粘りがあり、卵の食感も良好であった(図4)。また、魚肉部は通常の子節雌ハタハタと比較してやや水分が多く柔らかく感じられたが、美味しく食べることができた。

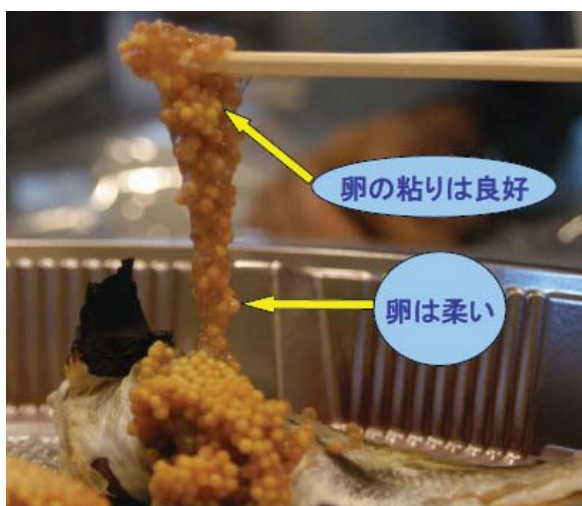


図4 蓄養4週卵塊の官能評価

### 【考察】

#### 1. 蓄養試験

雌ハタハタが100%試験区では蓄養4週でも生残率96.1%であったが、雄ハタハタ混入率が高くなると雌ハタハタの生残率が低下した。このことは、雄混入によるストレスの増加などが考えられる。したがって、実際に蓄養を行う場合はできるだけ、雄ハタハタの混入を防ぐ対策が必要である。また、本来ハタハタは水深250m付近の低水温域で生息する魚種であり、冬季であっても沿岸域の水温は生息域より高くストレスとなることが推察される。ハタハタ蓄養による品質保持実用化を図る場合は、予想されるストレスを可能な限り除くことが重要と考えられる。

#### 2. 蓄養ハタハタ魚肉および生殖巣の成分変動

ハタハタ鮮魚の粗脂肪量の季節的変動は、摂餌の多い9月に魚肉粗脂肪量が最大となるが、性成熟が進み産卵期の12月までは摂餌がなくなり粗脂肪量減少し、生殖巣の発達が優先的に維持されることが報告されている<sup>7)</sup>。本蓄養試験はこの産卵期のハタハタをさらに無給餌で蓄養したことにより、さらに魚肉粗脂肪が生命維持にため消費されたと考えられる。魚肉粗脂肪の減少と同時に産卵期の季節的変動では見られなかった卵巣粗脂肪の減少も蓄養では見られた。このことは産卵より生命維持が優先されたためと推察される。雄ハタハタにおいても精巣重量減少により生命維持が優先されたと考えられる。



### 3. 蓄養ハタハタ魚肉および生殖巣脂肪酸組成の変動

蓄養による魚肉脂肪酸組成の変動は 10-12 月のハタハタ魚肉脂肪酸組成<sup>7)</sup>と比較すると小さい傾向であった。しかし生殖巣の脂肪酸組成変動はそれと逆の変動を示し、IPA や DHA のような多価不飽和脂肪酸の減少が顕著であった。粗脂肪量の変動において生命維持が優先の変動を示したが、脂肪酸組成でも生命維持優先の変動があると考えられる。

### 4. 蓄養ハタハタ魚肉および生殖巣の遊離アミノ酸の変動

蓄養雌ハタハタの魚肉の遊離アミノ酸ではタウリン、アンセリン、エタノールアミンが多く検出された。アンセリンは魚類においてマグロ、カツオ、カジキ類等の赤身魚類の筋肉に多く白身魚類では少ないがサケ類では多く含まれる<sup>8)</sup>。シロサケにおいては遊離アミノ酸の 60%以上を占め、性成熟によりブナ化が進むとさらにアンセリン含量が増加する<sup>9)</sup>。アンセリンはラットやマウス等の動物では活性酸素除去等による抗酸化作用や運動負荷が多く筋肉中に乳酸が蓄積した際の緩衝効果作用を持つとされている<sup>10)</sup>。これらのことから、アンセリンは過度の運動、絶食、タンパク質分解等のストレス環境にある場合に筋肉中に合成され、蓄養ハタハタにおいても絶食などによりアンセリンが多くなったと推定される。また、蓄養雌ハタハタ卵巣および精巣ではエタノールアミンが検出されたが、これはリン脂質の一つであるホスファチジルエタノールアミンの構成成分であることから生殖巣中のリン脂質分解との何らかの関連が推察される。

以上蓄養におけるハタハタ魚肉と生殖巣の粗脂肪含量、脂肪酸組成および遊離アミノ酸組成の変動を総合的に考えると、すべて生命維持のための供給源としてするため魚肉や生殖巣の成分は分解、消費されることが考えられる。

### 5. 蓄養卵塊の形態的变化

雌ハタハタから採取した卵塊は蓄養開始から 2 週までは形態的に変化がないが、3 週目から粘質物の分解が起こることが形態と粘質物量の変化から推察される。一方、SDS-PAGE による分析では蓄養 4 週でも変化はなく、官能的なブリコの粘りや卵の食感、魚肉の食感は 4 週においても良好であったことから、この段階の粘質物分解は粘りの官能的評価には影響しないと考えられる。

### 6. 蓄養による品質保持の実用化

ハタハタ卵塊は秋田県ではブリコと称され非常に好まれている。ハタハタ卵塊の粘り等の食感は雌ハタハタの品質を評価する上で重要である。ブリコの粘りのみを指標として評価した場合は、4 週まで蓄養による品質保持が鮮魚として可能であると考えられる。しかし、4 週では魚肉脂質や魚肉タンパク質は分解傾向にあり、産卵より生命維持が優先され生殖巣成分が分解すること、ブリコの形態的变化があることを総合的に考えると、その品質変化が僅かであることから 2 週までは蓄養による品質保持が鮮魚として可能であると考えられる。また、この方法を実用化するためには今後、ストレスを軽減した蓄養方法を検討し、さらに品質変化が少なく長期間の品質保持ができるよう検討が必要と考えられる。

## 【引用文献】

- 1) 竹内俊郎、渡辺 武. コイおよびニジマスの体組成および脂肪酸組成に及ぼす絶食および水温の影響. 日水誌. **48**: 1307-1316(1982)
- 2) 三坂尚行、水野伸也、宮腰靖之、竹内勝巳、鷹見達也、笠原 昇. 飢餓中のサクラマス当歳魚の肝臓におけるトリグリセリドおよびグリコーゲン含量の変動. 日水誌. **70**: 168-174(2004)
- 3) 堤 忠一. 水分. 「食品分析法」(日本食品工業学会食品分析編集委員会編)(株)光琳、東京. **61-62**(1982)
- 4) 菅原龍幸、前川昭男. 脂質. 「新食品分析ハンドブック」(株)建帛社、東京. **59-60**(2000)
- 5) 戸枝一喜、塚本研一、高橋徹、杉山秀樹、船木勉. 「ハタハタ卵巣由来の粘質物、その取得方法および用途」. 特願 2 0 0 3 - 3 1 5 1 4 2 . 2003.9.8 出願
- 6) 奥村宣明. 電気泳動法. 「タンパク質実験ノート上抽出と分離精製」(岡田雅人、宮崎香編)(株)羊土社、東京. **14-52**(1996)
- 7) 塚本研一、戸枝一喜、船木 勉、和田芙美子、松本祥子、松永隆司. 秋田県沿岸海域で漁獲されたハタハタ *Arctoscopus japonicus* の肉および生殖巣中の脂質成分の季節的変動. 日水誌. **73**: 897-904(2007)
- 8) 藤田真夫. 脊椎動物の含窒素化合物. 「水産学シリーズ 72 魚介類のエキス成分」(坂口守彦編)(株)恒星社厚生閣、東京. **25-43**(1988)
- 9) 羽田野六男. ブナ化と成分変化. 「水産学シリーズ 55 秋サケの資源と利用」(座間宏一、高橋裕哉編)(株)恒星社厚生閣、東京. **68-83**(1985)
- 10) 常石栄作. アンセリン、カルノシン. 技術用語解説. 日食工誌. **53**: 362-363(2006)

# 清酒もろみへの糖添加を利用した新規酒造技術の検討

大野剛 他

(秋田県総合食品研究センター)

Tsuyoshi OHNO、Hitoshi TAKAHASHI、Hayato SUGIMOTO、Takanobu TAGUCHI

## 【要約】

平成 15 年の酒税法改正により清酒もろみへ添加した糖類の発酵が可能になったので、これを利用した新規酒造技術を検討した。清酒もろみへの糖添加の清酒成分への影響について検討を行った結果、以下の特徴が認められた。

清酒もろみへの糖添加発酵により、酢酸イソアミルの生成は増加、カプロン酸エチルは減少する傾向であった。酸度は増加したが、アミノ酸度は低下した。粉末水飴による一部代替使用により、酸度の増加は抑えられた。吟醸酒のような特徴をもった酒類の製造のためには、香りの生成と酸味のバランスから、エステル高生成酵母を使用することが有効であった。以上の知見から、清酒もろみへの糖添加によって、フルーティで酸味がありアミノ酸度の低い清酒の製造が可能と考えられた。

## 【緒言】

平成 15 年 4 月 1 日から施行された酒税法の改正により、それまで清酒製造に関する承認基準によって調味液としてもろみ末期に添加する方法のみに制限されていた「政令で定める物品のうち、ブドウ糖、財務省令で定める糖類」を原料として、任意の時期に添加し、発酵させることが認められた（根拠法令 法 37 条イ）。ブドウ糖など糖類は、不純物を含有しないこと、もろみに完全に溶解することなど、白米由来の糖質にない性質を有する。そのため、この改正を利用した糖類添加発酵による清酒製造法の多様化と、従来にないコストパフォーマンスに優れた清酒が製造できる可能性が考えられた。

糖化と発酵を分離した醸造法（糖化後発酵法）の検討は秋田ら<sup>1-3)</sup>により行われており、アルコールアセチルトランスフェラーゼ、麹使用量と酢酸エステル、高級アルコール生成についての報告がされている。また桑原ら<sup>4)</sup>はもろみへの糖発酵試験を行っているが、現在の吟醸香の主成分であるカプロン酸エステルの生成については言及されていない。

本研究では平成 17 年の国税局の報告<sup>5)</sup>をはじめとするアルコール飲料の各種市場調査により得られたマーケットイン型のキーワードである「フルーティ」、「軽快さ」、「後口の良さ」、「比較的安価」の 4 点の条件をみたし、吟醸酒のような香りの特徴をもった酒類の製造を目的とした。糖添加発酵によるもろみへの影響について検討を行い、新たな清酒醸造技術として糖類添加酒の製造法について知見を得ることができた。

## 【実験方法】

### 1. 糖添加法の検討

#### 1) 実験材料

麴米には精米歩合 60%秋田酒こまち、掛米には精米歩合 70%秋田酒こまちを使用した。酵母は秋田流花酵母 AK-1 を使用した。

#### 2) 発酵試験

麴エキスにて 30℃、3 日間培養した酵母培養液を酒母とし、常法どおり三段仕込とした。総米は白米使用量を 200 グラムとした。添加する糖は全量ブドウ糖とし、糖添加時期は、①均等添加:最高ボーメ到達後より 10 日間均等に添加、②一括添加:留仕込時に一括全量添加の 2 系統とした。糖をでんぷん相当量換算 (ブドウ糖 1=白米 1.5) で補正計算を行い、白米換算を行った上で、麴歩合は 19%から 20%になるよう調整した。

酒類の承認基準では、政令で定める物品の重量が白米に対し 50%以下の添加であれば清酒、それを越えた場合リキュールと区分されることを勘案し、糖添加量は白米使用量に対し、①100%、②50%、③30%、④20%とし、無添加区を対象とした。糖添加はもろみの原エキスに相当する 36% (W/V) 水溶液を添加する方法で実施した。温度経過は吟醸経過とし、上槽時期は日本酒度±0 を目標とした。上槽は遠心分離にて実施した。

一般分析は所定法に従い、香気成分はガスクロマトグラフィーを用いてヘッドスペース法にて測定した。<sup>6)</sup>

### 2. 麴利用法の検討

#### 1) 実験材料

麴には乾燥麴 T-70 (徳島製麴)、掛米には精米歩合 70%山田錦を使用した。酵母は秋田流花酵母 AK-1 を使用した。

#### 2) 発酵試験

試験区分を表 1 に示す。糖添加方法は、上記実験方法と同様に 36% (W/V) 水溶液を添加する方法で、①均等添加、②一括添加を実施した。ブドウ糖添加量は白米重量比 40%とした。

表 1 麴利用法を検討する仕込配合と糖添加法一覧

| 区分  | 略称  | 仕込配合 |     |     |     | 麴歩合対糖質 (%) | 麴歩合対白米 (%) | 糖添加方法 | 添加日     |
|-----|-----|------|-----|-----|-----|------------|------------|-------|---------|
|     |     | 蒸米   | 麴米  | 糖   | 汲水  |            |            |       |         |
| 1   | 23K | 255  | 145 | 160 | 860 | 23         | 36         | 均等    | 4-13day |
| 2   | 20K | 270  | 130 | 160 | 860 | 20         | 32         | 均等    | 4-13day |
| 3   | 17K | 290  | 110 | 160 | 860 | 17         | 27         | 均等    | 4-13day |
| 4   | 14K | 310  | 90  | 160 | 860 | 14         | 22         | 均等    | 4-13day |
| 5   | 23T | 255  | 145 | 160 | 860 | 23         | 36         | 一括    | 留時      |
| 6   | 20T | 270  | 130 | 160 | 860 | 20         | 32         | 一括    | 留時      |
| 7   | 17T | 290  | 110 | 160 | 860 | 17         | 27         | 一括    | 留時      |
| 8   | 14T | 310  | 90  | 160 | 860 | 14         | 22         | 一括    | 留時      |
| 無添加 | 20N | 390  | 100 | 0   | 660 | 20         | 20         | なし    | なし      |

糖化液を用いた単発酵試験<sup>1)、3)</sup>で麴歩合 10%から 20%が高評価であったため、麴歩合は糖をでんぷん相当量換算で補正計算を行った上で、換算後白米量に対し、①23%、②20%、③17%、④14%の 4 区分とした。実際の白米に対する麴歩合はそ



れぞれ①36%、②32%、③27%、④22%となった。清酒の生成はアルコール度 18%を目標とした。

### 3. 高香気生産酵母の使用

#### 1) 実験材料

原料米には麴米、掛米ともに精米歩合 60%秋田酒こまちを使用した。添加糖類は全量ブドウ糖とした。

#### 2) 発酵試験

試験区分を表 2 に示す。酵母には、①秋田酵母 No. 12 (極めて高い酢酸イソアミル生成能、バナナ様特徴香)、②秋田酵母 No. 15 (高いカプロン酸エチル生成能、メロン様特徴香) を使用した。<sup>7)</sup> 糖添加量と添加方法は、①対白米重量比 40%留仕込時一括添加、②同 30%留仕込時一括添加、③同 20%均等添加の 3 区分を設定し、それぞれ無添加区を対象とした。麴歩合は対白米重量比で 20%とした。

表 2 高香気生産酵母の使用による発酵試験区分

| 区分 | 略称    | 使用酵母      | 糖添加量<br>白米重量比 | 糖添加方法 | 添加日     | 麴歩合対糖質<br>(%) | 麴歩合対白米<br>(%) |
|----|-------|-----------|---------------|-------|---------|---------------|---------------|
| 1  | 40-12 | 秋田酵母No.12 | 40%           | 一括    | 留時      | 14.3          | 20            |
| 2  | 30-12 | 秋田酵母No.12 | 30%           | 一括    | 留時      | 15.4          | 20            |
| 3  | 20-12 | 秋田酵母No.12 | 20%           | 均等    | 3-12day | 16.7          | 20            |
| 4  | N-12  | 秋田酵母No.12 | 無添加           | —     | —       | 20            | 20            |
| 5  | 40-15 | 秋田酵母No.15 | 40%           | 一括    | 留時      | 14.3          | 20            |
| 6  | 30-15 | 秋田酵母No.15 | 30%           | 一括    | 留時      | 15.4          | 20            |
| 7  | 20-15 | 秋田酵母No.15 | 20%           | 均等    | 3-12day | 16.7          | 20            |
| 8  | N-15  | 秋田酵母No.15 | 無添加           | —     | —       | 20            | 20            |

### 【実験結果と考察】

#### 1. 糖添加法の検討

一括添加区では均等添加区と異なり、留仕込後数日においても希薄もとのように固形部が液面から露出しなかった。ふくれも顕著ではなく、流動性を持っていた。均等添加区では留後 3 日目に最高ポーメとなり、即日糖添加を開始した。糖添加は 36%水溶液として実施したため、糖添加に従いすべての添加区で液部が増加した。いずれの添加区も米粒自体の溶け具合は通常程度であった。100%添加区分においては酵母の自己消化臭が感じられたため、日本酒度-15 付近での上槽となった。

製成酒の成分は表 3 にみられるように糖添加において、酸度の上昇とアミノ酸の低下がみられた。いずれも均等添加の方が変化量が大きい傾向であった。吟醸香の主成分である酢酸イソアミル、カプロン酸エチル生成量は、もろみの単純希釈による計算値以上得られた添加区が多く、一部の添加区で増加も認められた。均等添加では 20%添加区で、一括添加では 50%から 30%添加区で吟醸香の生成量が比較的高く、それぞれの添加法において有効な添加量と思われた。桑原ら<sup>4)</sup>は、白米重量比 50%のブドウ糖の隔日添加で問題なく発酵が進んだとしており、上記添加量はもろみ管理上、および香気成分生成に対しても有効と推察された。酸度の増加については解糖系の増強、糖添加の際の酸素供給による酵母の TCA 回路の増進など複数の要因が考えられた。

表3 糖添加量と添加時期の違いが酒質に与える影響

| 糖添加量<br>白米重量比 | 添加方法<br>の別 | アルコール<br>(%) | グルコース<br>(%) | 酸度  | アミノ酸度 | カロ酸エチル<br>(ppm) | 酢酸イソamil<br>(ppm) | 酢酸エチル<br>(ppm) | イソamilアルコール<br>(ppm) |
|---------------|------------|--------------|--------------|-----|-------|-----------------|-------------------|----------------|----------------------|
| 100%          | 均等         | 15.3         | 5.5          | 2.6 | 0.9   | 1.3             | 5.1               | 124            | 126                  |
| 50%           | 均等         | 18.2         | 1.3          | 2.6 | 1.2   | 1.6             | 5.4               | 123            | 159                  |
| 30%           | 均等         | 18.2         | 0.8          | 2.5 | 1.4   | 1.7             | 5.5               | 130            | 183                  |
| 20%           | 均等         | 18.0         | 0.8          | 2.3 | 1.4   | 2.2             | 5.9               | 138            | 195                  |
| 100%          | 一括         | 15.1         | 5.4          | 2.3 | 1.2   | 1.9             | 5.0               | 111            | 114                  |
| 50%           | 一括         | 17.9         | 1            | 2.3 | 1.3   | 2.2             | 6.2               | 157            | 152                  |
| 30%           | 一括         | 17.8         | 0.9          | 2.2 | 1.4   | 2.3             | 7.7               | 165            | 155                  |
| 20%           | 一括         | 17.2         | 0.7          | 1.9 | 1.8   | 1.9             | 6.7               | 159            | 189                  |
| 無添加           |            | 17.3         | 1.1          | 1.8 | 1.7   | 2.0             | 8.2               | 173            | 229                  |

| 糖添加量<br>白米重量比 | 添加方法<br>の別 | アルコール | グルコース | 無添加区を100%とした場合の各試験区の成分値の比 |       |        |          |       |             |     | 単純希釈<br>(計算値) |
|---------------|------------|-------|-------|---------------------------|-------|--------|----------|-------|-------------|-----|---------------|
|               |            |       |       | 酸度                        | アミノ酸度 | カロ酸エチル | 酢酸イソamil | 酢酸エチル | イソamilアルコール |     |               |
| 100%          | 均等         | 88%   | 500%  | 144%                      | 53%   | 64%    | 62%      | 72%   | 55%         | 50% |               |
| 50%           | 均等         | 105%  | 118%  | 144%                      | 71%   | 79%    | 65%      | 71%   | 70%         | 67% |               |
| 30%           | 均等         | 105%  | 73%   | 139%                      | 82%   | 85%    | 67%      | 75%   | 80%         | 77% |               |
| 20%           | 均等         | 104%  | 73%   | 128%                      | 82%   | 108%   | 72%      | 80%   | 85%         | 83% |               |
| 100%          | 一括         | 87%   | 491%  | 128%                      | 71%   | 96%    | 60%      | 64%   | 50%         | 50% |               |
| 50%           | 一括         | 103%  | 91%   | 128%                      | 76%   | 108%   | 75%      | 91%   | 66%         | 67% |               |
| 30%           | 一括         | 103%  | 82%   | 122%                      | 82%   | 115%   | 93%      | 96%   | 68%         | 77% |               |
| 20%           | 一括         | 99%   | 64%   | 106%                      | 106%  | 94%    | 81%      | 92%   | 83%         | 83% |               |

## 2. 麴利用法の検討

一括添加区では最高ボーメが10を越えたものの、順調に発酵した。均等添加区ではボーメ、グルコース濃度の大きな変化はみられなかったが、キレは緩やかで、10日目付近で一括添加区と逆転し、その後も上槽までボーメ、グルコースとも残り気味で経過した(図1)。

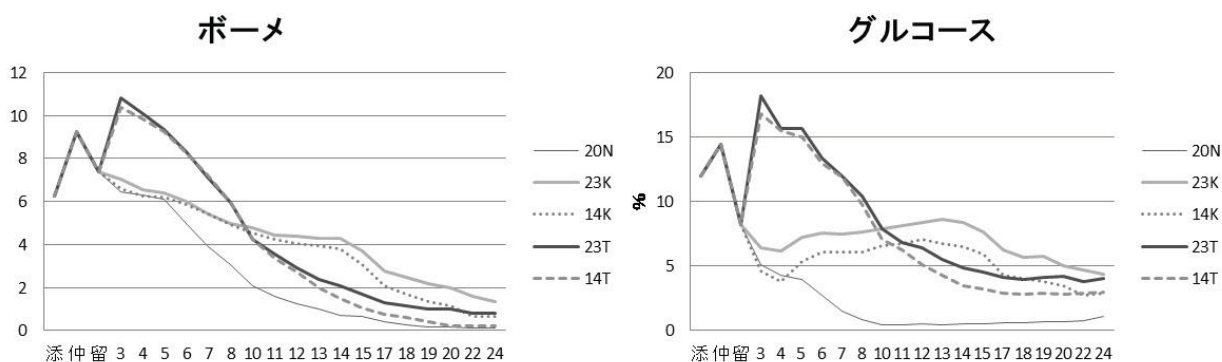


図1 糖添加もろみにおけるボーメとグルコース濃度の推移

追い水による成分調整は全区分について実施せず、アルコール度18%を目標として遠心分離により製成した。製成酒の成分を表4に示す。

製成酒の原エキスは、麴歩合の高い区分から、均等添加区で36.2から35.8、一括添加区で36.0から34.0、粕歩合は同じく均等添加区で22.2%から28.0%、一括添加区で25.5%から36.3%となった。同じ麴歩合では均等添加区で粕歩合が低く、原料利用率が高かった。酸度は、麴歩合が高い区が高く、一括添加区に比べ均等添加区でやや高い傾向が見られた。アミノ酸度は、麴歩合が高い区が高く、対照と比較して麴歩合対糖質(%)換算で、麴歩合が多いと増加、少ないと減少する傾向が見られた。一括添加と均等添加での差は明らかではなかった。

表4 麴歩合と糖添加量が糖添加発酵もろみに与える影響

| 区分  | 略称  | アルコール (%) | 日本酒度  | グルコース (%) | 酸度  | 新甘辛度 | アミノ酸度 | 原エキス | カス歩合  | 官能評価 |
|-----|-----|-----------|-------|-----------|-----|------|-------|------|-------|------|
| 1   | 23K | 17.6      | -13.6 | 4.4       | 2.7 | 1.7  | 1.7   | 36.2 | 22.2% | 3.2  |
| 2   | 20K | 17.7      | -14.3 | 4.5       | 2.6 | 1.9  | 1.6   | 36.4 | 23.9% | 3.8  |
| 3   | 17K | 17.7      | -10.5 | 3.8       | 2.6 | 1.2  | 1.2   | 35.8 | 25.1% | 3.3  |
| 4   | 14K | 18.1      | -6.5  | 2.9       | 2.4 | 0.5  | 1.1   | 35.8 | 28.0% | 2.8  |
| 5   | 23T | 18.1      | -8.0  | 4.1       | 2.5 | 1.6  | 1.6   | 36.0 | 25.5% | 3.5  |
| 6   | 20T | 18.0      | -6.0  | 3.8       | 2.5 | 1.3  | 1.4   | 35.5 | 26.7% | 3.7  |
| 7   | 17T | 17.9      | -5.2  | 3.5       | 2.5 | 1.0  | 1.4   | 35.1 | 26.9% | 2.8  |
| 8   | 14T | 17.6      | -2.3  | 3.0       | 2.3 | 0.7  | 1.2   | 34.0 | 36.3% | 3.3  |
| 無添加 | 20N | 17.6      | -1.0  | 1.1       | 2.3 | -1.2 | 1.4   | 33.8 | 26.5% | 3.0  |

有機酸については、リンゴ酸は経時的に増加し、とくに均等添加区で増加が顕著であった。乳酸は当初一括添加区で低いものの、均等添加区の添加が終了する13日目付近で同程度となった。一括添加区ではもろみ初期に酢酸の生成がみられた(図2)。そのため、追加試験を行い、添加糖質の一部を粉末水飴(TPD)に代替すると、酸度増加と酢酸生成の程度は抑えられることを確認している。

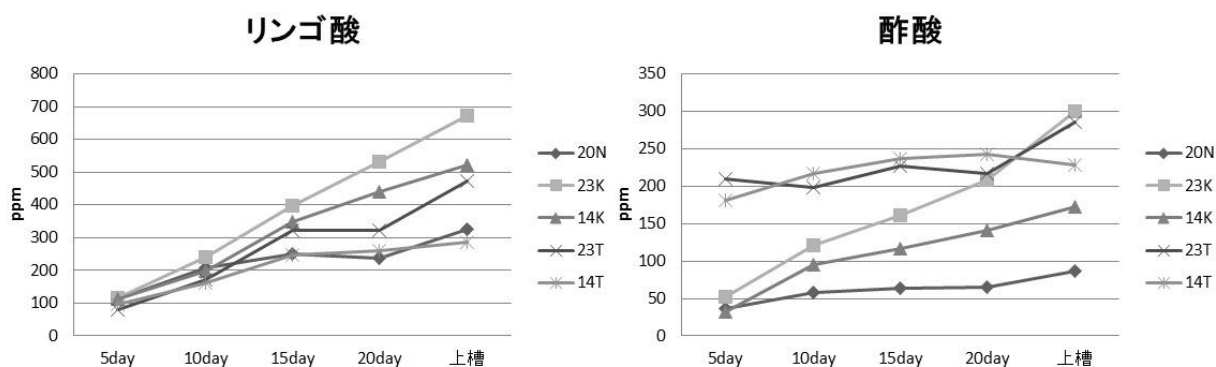


図2 糖添加もろみにおけるリンゴ酸濃度と酢酸濃度の推移

いずれの添加区においてもパントテン酸の不足時にでやすいもろみの異臭、いわゆる硫化臭は発生しなかった。追加試験において、精米歩合60%山田錦の突きハゼ型麴を使用した場合でも異臭は発生せず、ビタミン類の供給源としては十分であると考えられた。製成酒はグルコースがやや残り気味となったが、酸度が増加したこともあり、新甘辛度<sup>8)</sup>の指標ではほとんどがやや甘口からやや辛口の範囲となり、甘味と酸味のバランスはとれていた。官能試験では麴歩合少なめの区分、均等添加区で麴歩合対糖質14%、一括添加区で17%で製成した清酒の総合評価が高かった。また麴歩合が高い区分で旨味・雑味の指摘が増加したことから、麴歩合は対糖質比率で10%台、対白米比率で10%台後半から20%台前半が適当と判断された。ただし糖添加発酵においては、もろみ単位量あたりの酵素力価は下がるので、若干もろみのとけが悪くなる傾向が認められた。

### 3. 高香気生産酵母の使用

アルコール飲料の各種市場調査により得られたキーワードの一つであるフレーティの条件をみたす吟醸香の高い酒類の製造のためには、高いエステル生成能を持つ酵母を使用することが有効と考えられた。そこで高香気成分生成酵母である秋田酵

母 N0. 12、秋田酵母 No. 15 を用いた製造法の検討を実施した。

製成酒の成分を表 6 に、無添加区を 100%とした場合の成分比較を図 3 に示した。

表 6 糖添加発酵が高香気生成酵母もろみに与える影響

| 区分 | 略称    | アルコール (%) | グルコース (%) | 酸度  | アミノ酸度 | カプロン酸エチル (ppm) | 酢酸イソアミル (ppm) | イソアミルアルコール (ppm) |
|----|-------|-----------|-----------|-----|-------|----------------|---------------|------------------|
| 1  | 40-12 | 16.7      | 3.9       | 2.1 | 0.7   | 3.3            | 9.8           | 162              |
| 2  | 30-12 | 18.2      | 2.4       | 2.0 | 0.8   | 2.9            | 10.9          | 184              |
| 3  | 20-12 | 18.0      | 2.2       | 1.8 | 0.7   | 2.4            | 7.0           | 181              |
| 4  | N-12  | 17.1      | 1.3       | 1.7 | 1.0   | 4.3            | 7.5           | 172              |
| 5  | 40-15 | 17.7      | 2.7       | 1.8 | 0.6   | 4.9            | 5.7           | 132              |
| 6  | 30-15 | 18.0      | 2.3       | 1.8 | 0.6   | 6.0            | 6.0           | 135              |
| 7  | 20-15 | 19.0      | 1.5       | 1.8 | 0.7   | 5.3            | 3.2           | 144              |
| 8  | N-15  | 17.8      | 1.0       | 1.7 | 1.0   | 7.1            | 3.1           | 129              |

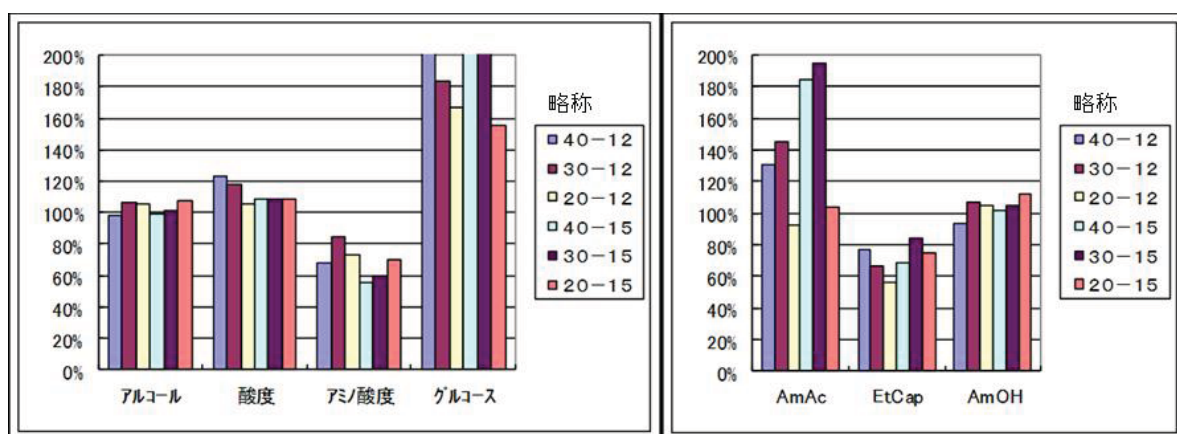


図 3 無添加区を 100%とした場合の各試験区の成分値の比

試験区分と略称の詳細については 表 2 に記載

AmAc : 酢酸イソアミル、EtCap:カプロン酸エチル、AmOH : イソアミルアルコール

その結果、酸度は N0. 12 酵母で対照 N-12 が 1.7 であるのに対し、40%添加区 40-12 で 2.1、30%添加区 30-12 で 2.0 に増加した。アミノ酸度は対照 N-12、N-15 の 1.0 に対し、N0. 12 酵母使用区で 0.7 から 0.8、N0. 15 酵母使用区で 0.6 から 0.7 となり、減少した。香気成分については酢酸イソアミルが N0. 12 酵母で対照 N-12 の 7.5ppm に対し、40%添加区 40-12 で 9.8ppm、30%添加区 30-12 で 10.9ppm に、No. 15 酵母で N-15 の 3.1ppm に対し、40-15 で 5.7ppm、30-15 で 6.0ppm となり、増加する傾向を示した。カプロン酸エチルの増加は見られなかった。40%添加区ではグルコースが残り、N0. 12 酵母ではアルコール生成も遅れたことから、添加量はやや過剰であった可能性がある。新甘辛度では、やや甘口から辛口の評価となった。結果として、N0. 12 酵母はその特徴香である酢酸イソアミルがさらに増加し、いっそう華やかな香りとなった。No. 15 酵母はカプロン酸エステルは減少するものの、酢酸イソアミルは増加したため、通常仕込と香気のバランスが異なり、特徴的な酒質となった。秋田ら<sup>1)</sup>は単発酵系において、麴歩合 10%で酢酸イソアミルが増加、20%でカプロン酸エチルが微増するとしている。本試験においても酢酸イソアミルの増加した区は、対白米麴歩合は 20%だが、対糖質では 40%添加区で 14.3%、30%添加区で 15.4%



であり、類似した結果となった。

### 【まとめ】

清酒もろみへの糖添加発酵が酒質に与える影響を検討した結果、糖の添加と発酵条件についての新しい知見が得られ、この技術を用いた新商品開発が期待される。

当初設定した市場調査により得られた4点のキーワードについて、①「フルーティさ」に対しては、吟醸香である酢酸イソアミルの増強、②「軽快さ」に対しては低アミノ酸度による味の軽さの実現、③「後口の良さ」に対しては、酸味・甘味のバランスの調整、④「比較的安価」に対しては、糖添加数量の設定による原料コスト低減化をそれぞれ実現できる提案が可能となった。

ひとつめの提案は①酢酸イソアミルに特徴がありフルーティでアミノ酸度が低い軽快なタイプの酒質を目指すもので、高香气成分生成酵母を使用し、留時に白米重量比30%の糖を相当量の汲水とともに一括添加する。これはさらに①-1：酸味を有するタイプ（全量ブドウ糖使用）①-2：酸味が高くないタイプ（ブドウ糖・粉末水飴併用）に分けられる。2つめの提案は②香りはひかえめでアミノ酸度が低く、リンゴ酸などの酸味があり味が軽快なタイプで、糖溶液を少量ずつ最高ボーマ時から適宜添加する。添加量は白米重量比20%が適量で、30%が上限であろう。3つめの提案となる③低コストに特徴のあるタイプは、白米重量比50%以上の糖添加を行う方法であるが、従来の増醸と比べ、酸度が高めとなる以外の特徴がなく、低コスト化以外に糖添加発酵のメリットは感じられなかった。

本技術は特に、①-1に提示した、フルーティで酸味がありアミノ酸度の低い清酒の製造に有効な技術であり、従来の調味液による微調整と割水の併用により、いっそうコストパフォーマンスに優れた、吟醸香を有する軽快なタイプの清酒製造の可能性が考えられる。

### 【謝辞】

清酒における糖類添加発酵醸造技術開発について、研修員として受け入れ、指導に当たってくださいました独立行政法人酒類総合研究所小林健先生、日下一尊先生ならびに同研究室の方々に感謝申し上げます。

### 【引用文献】

- 1) 秋田修、蓮尾徹夫、大場俊輝、醸協、**81** (9)、626-632 (1985)
- 2) 秋田修、蓮尾徹夫、大場俊輝、宮野伸之、発酵工学、**65** (1)、9-26 (1987)
- 3) 秋田修、蓮尾徹夫、宮野伸之、吉沢叔、醸協、**82** (5)、369-374 (1987)
- 4) 桑原健治、山本奈美、宇津宏、斉藤富男、醸協、**83** (5)、563-564 (1988)
- 5) 国税庁課税部酒税課、平成17年11月 「清酒製造業の健全な発展に向けた調査研究」 に関する報告書
- 6) 吉沢叔、醸協、**68** (1)、59-61 (1973)
- 7) 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報告12号、14-22 (2010)
- 8) 宇都宮仁、醸協、**99**、882-889 (2004)

# 有色米を原料とした新規甘味素材の試作

金子隆宏

(総合食品研究センター企画管理室)

Takahiro KANEKO

## 【要約】

有色米を原料とした新規甘味素材を試作製造した。製造は $\alpha$ 化、糖化、濾過、濃縮の4工程による簡素なものであった。 $\alpha$ 化は蒸し、あるいは酵素製剤による液化反応、などいずれの方法も可能であった。糖化反応には麴のほか様々な酵素剤などが使用でき、それぞれ味質の異なる甘味料となった。実験室レベルでの小規模試作、及びパイロット工場での試作のほか、製法の概要についても記載した。

## 【緒言】

国による食塩の専売制度が廃止され、食塩の製造が自由化されて以来、各地で特徴ある塩が生産され、地域特産品として定着しつつある。しかしながら、砂糖については、和三盆など一部の製品を除くと地域の特徴を打ち出した商品は僅かである。

一方、秋田県では古代米のうち赤米や黒米と呼ばれる有色米などが栽培されてきた。この有色米はアントシアン色素を多く含むため炊飯等によって美しいブドウ色を呈する。秋田県総合食品研究センターではこれら有色米の一つである紫黒米を原料として、色調や香りに優れた自然甘味素材の開発を行っている。

本稿ではこの自然甘味素材のうち、麴あるいは酵素製剤で糖化し濃縮した糖化シロップの製法の概要を述べ、ついで実験室レベルでの小規模試作、およびパイロット工場での試作を行った結果について記載した。

## 【製法の概要】

製造の工程はおもに、1) $\alpha$ 化、2)糖化、3)濾過、4)濃縮の4段階からなる。

### 1) $\alpha$ 化

原料米を蒸す、あるいは原料米粉を酵素で液化するなどして、のちの糖化反応をスムーズにさせる。

蒸す場合、有色米は外皮が堅く、玄米のままでは糖化が進行しないため、精米歩合80%まで精米するなどして外皮を除き、白米部のみを蒸し上げる。精米で生じた外皮をふくむ糠部分は仕込み水で懸濁し加熱殺菌後、上記蒸し米と併せて糖化反応へ供する。仕込み水は水道水などの飲用水を、原料米に対し約2倍重量を目安として使用する。

液化反応により $\alpha$ 化する場合は、原料米を外皮ごと150~200ミクロン程度に粉碎し、約2倍量の仕込み水を加え十分に懸濁する。懸濁と同時に液化酵素を加え、一定時間加温して液化を完了する。液化酵素の添加量および加温の温度、時間などはそれぞれの液化酵素に応じて行われるが、後述のパイロット工場での試作におい

ては重量比で原料米粉の 1/2000 程度の酵素製剤(コクゲン SD-A、天野エンザイム株式会社<sup>1)</sup>)を加え、70°C で 1 時間加温し液化した。

液化完了後、90~95°C で 15~30 分程度の加熱処理を行い、液化酵素を失活させるが、液化酵素がのちの糖化反応に影響を及ぼさない場合は、省略も可能である。

## 2) 糖化

$\alpha$  化後、糖化酵素を加え一定時間加温して糖化反応を行う。後述の実験室での小規模試作、あるいはパイロット工場での試作においては、清酒用米麴の他、天野エンザイムの清酒用酵素であるグルク吟、コクゲン SD-A、四段用 TG-B などを糖化酵素として使用した。(SD-A は液化用酵素であるが、糖化用としても使用した。) 天野エンザイムによると、グルク吟は  $\alpha$ -アミラーゼとグルコアミラーゼの混合製剤、SD-A は  $\alpha$ -アミラーゼ製剤、TG-B は  $\alpha$ -グルコシダーゼ (トランスグルコシダーゼ) に  $\alpha$ -アミラーゼと  $\beta$ -アミラーゼ (もしくはグルコアミラーゼ) を少量加えた酵素製剤とのことである。グルク吟、SD-A、TG-B は原料米の 1/1000 重量、米麴は原料米の 1/5 重量を添加し、TG-B は 52°C で、他は 55°C で一夜 (16h) 加温した。

なお、上記の液化や糖化は酵素作用であり、反応は pH に影響される。後述の試作では、すべての工程において pH は未調整のまま行ったが、pH が 5.5~6.5 を大きく外れることは無く、順調に進行した。他方、とりわけ糖化の初期などは、短時間であっても 50°C を下回ると、乳酸菌が増殖し反応液が酸性側に傾く場合があり、注意を要する。

## 3) 濾過

糖化終了後直ちに濾過を行う。数リットル以下の糖化液であれば、遠心処理後 2~3 枚重ねのサラシで吸引濾過など行う。数十リットル以上の場合には糖化液をフィルタープレスなどで処理する。使用する濾布は一般果汁用、一般清酒用などで充分である。(必要ならば珪藻土など濾過助剤をボディーフィードする。) 原料が紫黒米ならば赤ワイン様のクリアな糖化濾液が得られる。

濾過後、濾液の加熱処理(90~95°C で 15~30 分程度、もしくは 105°C で 5 分程度)を行う。濾過前に加熱すると残渣由来の雑味を生じるため、必ず濾過し、残渣を除いてから加熱処理を行うのが望ましい。

## 4) 濃縮

得られた濾液の微生物汚染を避け保存性を上げるため、減圧濃縮して Bx75 以上のシロップ状にする。後述の小規模試作においてはロータリーエバポレーターで 65°C まで加温したが、異臭は感じられなかった。他方、釜で炊き上げるなどの常圧加熱濃縮は試みていないが、場合によっては焦げ臭など異臭を生じるものと思われる。数十リットル以上の糖化濾液の濃縮ではいわゆる二重効用缶や遠心薄膜濃縮器などの水飴用の濃縮装置が望まれる。

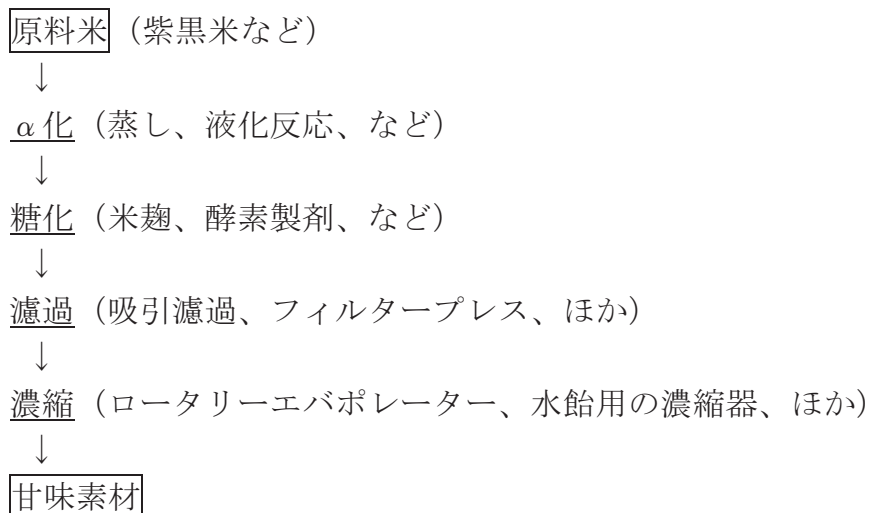


図1 製造工程の概要

【小規模試作】

—1 リットル容ビーカー仕込み—

原料の有色米は秋田県横手市平鹿町産の紫黒米「紫こまち」(JA 秋田ふるさと平鹿営農センター<sup>2)</sup>)を使用した。購入は秋田県職員消費生活協同組合<sup>3)</sup>を経由した。この紫こまち 300g を精米し白米 238.8g および糠 60.6g を得た(精米歩合 80%)。

得られた白米 238.8g を一夜水道水に浸漬したのち、蒸籠で 50 分蒸すことで、蒸し米 330g となった。一方、糠 60.6g に水道水 600g 加え、オートクレーブを用いて 105°C で 5 分間加熱することで殺菌処理した。

この加熱処理された糠懸濁液に上記蒸し米 330g を加え、十分に放冷し、品温が約 55°C ないし 60°C になった時点で、当センターで製造した清酒用米麴 60g を加え、55°C で約 16 時間加温し糖化した。

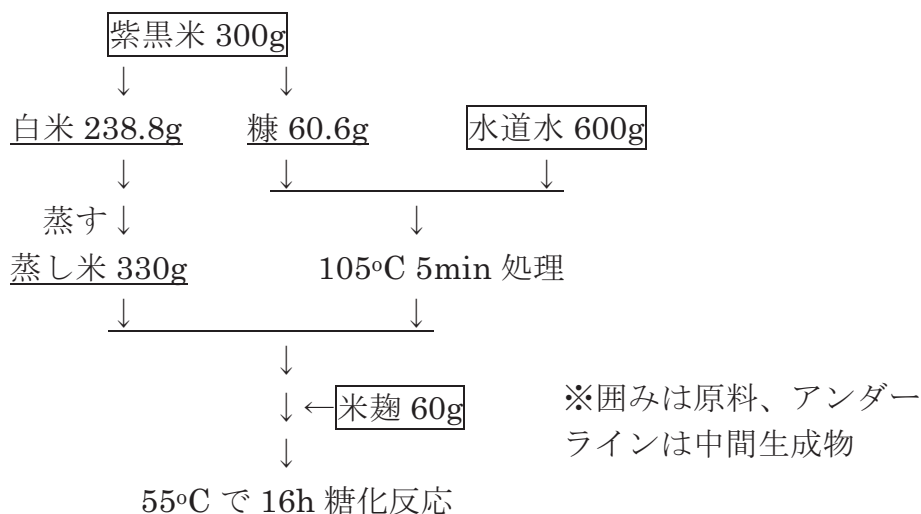


図2 小規模試作での仕込み



糖化反応後、遠心処理(10,000rpm、15min、25°C)した本糖化液を、ブフナーロートを用いて二枚重ねのサラシで吸引濾過して不溶性画分を除き、赤ワイン様の赤色糖化濾液(Bx27)を約 730ml 回収した。得られた濾液約 730ml をロータリーエバポレーターで Bx75 まで濃縮し、有色米濃縮糖液 236.5g を得た。

なお、以上の工程で、米麴に代わり、グルク吟、TG-B、SD-A などを用いての糖化も行った。何れの糖化酵素も紫こまち 300g に対し 0.3g 添加した。また糖化温度はグルク吟、SD-A は 55°C で、TG-B は 52°C で行った。米麴で糖化したものは強い甘みと麴香がありフルーティであったが、グルク吟で糖化したものも米麴のものと遜色ない甘みを感じた。これらに比べ SD-A によるものは穏やかな甘みであり、TG-B によるものは甘みを抑えたコクのあるものであった。それぞれの糖組成を日本ダイオネクス株式会社の HPAEC システムにより分析した。(カラム CarboPac PA-1(4 x 25mm)、検出器 ED-40、溶離液は 0.5M 酢酸ナトリウムと 0.1M 苛性ソーダのグラジェント、流速 1.0ml/min。) 米麴あるいはグルク吟によるものはいずれもグルコース (G<sub>1</sub>) のみ検出され、マルトース (G<sub>2</sub>) 以上のオリゴ糖類 (G<sub>n</sub>) は検出されなかった。SD-A を糖化酵素として用いた場合は G<sub>1</sub>:G<sub>2</sub>:G<sub>n</sub> の比は 5:3:2 であった。TG-B の場合はマルトオリゴ糖の他にイソマルトース (IG<sub>2</sub>) や三糖以上のイソマルトオリゴ糖 (IG<sub>n</sub>) などの生成もみられ、G<sub>1</sub>:G<sub>2</sub>:G<sub>n</sub>:IG<sub>2</sub>:IG<sub>n</sub> の比率はおおよそ 4:1:1:2:2 であった。それぞれの糖化剤による濃縮糖液の糖組成と味質を表 1 に示す。

表 1 各種糖化剤による紫黒米の糖化

| 糖化剤  | 添加量 <sup>1)</sup> | 糖化温度 | 生成糖組成 <sup>2)</sup><br>G <sub>1</sub> :G <sub>2</sub> :G <sub>n</sub> :IG <sub>2</sub> :IG <sub>n</sub> | 味の印象    |
|------|-------------------|------|---|---------|
| 米麴   | 1/5               | 55°C | G <sub>1</sub> のみ生成   | 強い甘みと麴香 |
| グルク吟 | 1/1000            | 〃    | 〃   | 強い甘み    |
| SD-A | 〃                 | 〃    | 5:3:2:0:0   | 穏やかな甘み  |
| TG-B | 〃                 | 52°C | 4:1:1:2:2   | コクのある甘み |

1) 原料米に対する重量比

2) 分析方法及び省略記号(G<sub>1</sub>,G<sub>2</sub> など)は本文参照

また、紫こまちに代わって秋田県農林水産技術センター農業試験場より提供された紫黒米「小紫」を原料米として使用しても同様に濃縮糖液が製造可能であった。

#### 【パイロット工場での試作】

—ジャケット付 200 リットル容タンク仕込み—

糖化原料は秋田県産紫黒米「朝紫」を平均粒径 150 ミクロン程度に粉砕したものを使用した。朝紫の手配及び製粉は(株)淡路製粉<sup>4)</sup>に依頼した。

この粉碎された朝紫約 59kg に水道水 106kg 及び液化酵素 SD-A30g を加え、攪拌しながら室温で 15 分、ついで 70°C で 1 時間加温し、原料米の澱粉質を  $\alpha$  化した。この後、品温を 90°C としたまま 15 分間保つことで液化酵素を失活させ液化反応を完了した。

この液化液を 52°C まで冷却し、TG-B を 60g 加え、52°C で約 16 時間加温し、糖化反応を行った(表 2)。

表 2 糖化液配合 (TG-B)

|           |           |
|-----------|-----------|
| 原料米粉      | 59.00kg   |
| 水道水       | 106.00    |
| 液化酵素 SD-A | 0.03      |
| 糖化酵素 TG-B | 0.06      |
| (合計       | 165.09kg) |

反応後、糖化液を 157.35kg 回収した。仕込み終了時の合計重量は 165.09kg であったので、糖化後の回収操作による損失は 7.74kg であった。

この糖化反応液をフィルタープレスで圧搾処理し不溶性画分を除いた。得られた圧搾濾過液は 97.1kg、Bx32.0 で赤ワイン様の赤色糖化液であった。他方、圧搾粕の重量は 52.0kg であり、圧搾濾過による損失は 8.25kg であった。(ちなみに、圧搾粕は漉し餡状の黒紫色で十分な甘みがあったが後味にエグ味が感じられた。)この圧搾濾過液を Bx65 にまで濃縮し、有色米濃縮糖液 40.8kg を回収した。この濃縮による損失は Bx65 の糖液に換算して 7.0kg に相当した(表 3)。

表 3 圧搾濾過および濃縮操作での生成物回収(TG-B)

|       | 重量       | 損失   | Brix |
|-------|----------|------|------|
| 糖化終了時 | 165.09kg | —    | 0.5  |
| 回収糖化液 | 157.35   | 7.74 | 32.5 |
| 圧搾後液量 | 97.10    | 8.25 | 32.0 |
| 圧搾粕重量 | 52.00    | —    | —    |
| 回収濃縮液 | 40.80kg  | 7.00 | 65.0 |

また、以上の工程で、TG-B に代わり、清酒用米麴 12kg を用いての糖化も行った。糖化温度は 55°C であった。(表 4 および 5)

表 4 糖化液配合(米麴)

|           |           |
|-----------|-----------|
| 原料米粉      | 59.00kg   |
| 水道水       | 106.00    |
| 液化酵素 SD-A | 0.03      |
| 糖化用米麴     | 12.00     |
| (合計)      | 177.03kg) |

表 5 圧搾濾過および濃縮操作での生成物回収(米麴)

|       | 重量       | 損失    | Brix |
|-------|----------|-------|------|
| 糖化終了時 | 177.03kg | —     | 0.5  |
| 回収糖化液 | 161.00   | 16.03 | 35.0 |
| 圧搾後液量 | 109.95   | 5.45  | 33.0 |
| 圧搾粕重量 | 45.60    | —     | —    |
| 回収濃縮液 | 47.80kg  | 8.00  | 65.0 |

パイロット工場での試作においても Bx75 以上の濃縮を目指したが、今回使用した濃縮器では Bx65 以上の濃縮は出来なかった。また、今回使用したパイロット工場では糖化タンクからフィルタープレス、次いで濃縮器へとパイプラインがつながっておらず、工程ごとに反応液を大型ポリタンクで移送したため、各工程での損失が大きくなってしまった。

#### 【謝 辞】

本研究は文部科学省の「都市エリア産学官連携促進事業(平成 19~21 年度)」の一環として行われた。本研究を遂行するにあたり、小笠原博信上席研究員、高橋仁上席研究員、渡辺誠衛主任研究員はじめ、多くの方々に貴重なご助言を頂いたこと厚くお礼申し上げます。

#### 【参考資料】

—原料米および酵素製剤の入手先—

- 1) 天野エンザイム株式会社 〒460-8630 愛知県名古屋市中区錦 1-2-7  
TEL:052-211-3032 <http://www.amano-enzyme.co.jp/jp/index.html>

- 2) JA 秋田ふるさと平鹿営農センター 〒013-0105 秋田県横手市平鹿町  
浅舞字福田 158-1 TEL:0182-24-3110 <http://www.jafurusato.net/>
- 3) 秋田県職員消費生活協同組合 010-0951 秋田県秋田市山王 4-1-1  
TEL:018-860-3579 <http://akita.kenren-coop.jp/>
- 4) 株式会社淡路製粉 〒018-1402 秋田県潟上市昭和乱橋字開上関田 122  
TEL:018-877-3270 <http://www.awajiseifun.co.jp/>

## 2. 原著論文（研究ノート）

- ① 「加熱初期に米粒から離脱する成分とデンプンを添加して炊飯した米飯の特徴」 ..... 31  
大能俊久
- ② 「秋田県温泉水を用いた味噌小仕込み試験」 ..... 35  
渡辺隆幸、佐藤恵里

# 加熱初期に米粒から脱離する成分と デンプンを添加して炊飯した米飯の特徴

大能俊久  
(秋田県総合食品研究センター)  
Toshihisa OHNO

## 【緒言】

米飯のおいしさには、米飯の硬さや粘りなどのテクスチャーが大きく関与しているとされ<sup>1)</sup>、米飯テクスチャーの原因を解明することは米飯の改良や改質に大いに役立つ。古米の米飯テクスチャーをSS結合還元剤で改良する場合、加熱初期に米粒から脱離する固形分が増加し、最終的に米飯の軟化が起こることが分かっている<sup>2)</sup>。このことから、加熱初期に脱離する固形分が米飯の軟化などのテクスチャー変化に関与している可能性がある。そこで、加熱初期に脱離する固形分についてその成分を調べた。また、加熱初期に脱離する固形分の増加が米飯テクスチャー等へ与える影響についても検討した。

## 【実験方法】

### 1. 加熱初期に脱離する固形分の成分の測定

あきたこまちの白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。ステンレスカップに白米5gと蒸留水8mLを加え、1時間浸漬した。次にステンレスカップごと80℃の湯槽に移し、時々かき混ぜながら5分間加熱した。その後、ステンレスカップを湯槽から取り出して、蒸留水を10mL加えて緩やかに攪拌し米粒を除き、乾燥したものを加熱初期に米粒から脱離する固形分とした。

加熱初期に脱離する固形分の粗タンパク質量はケルダール法、粗脂肪は酸分解法、灰分は550℃直接灰化法で測定した。

グルコース、フルクトース、ショ糖、マルトース量の測定は以下の方法で行った。まず、加熱初期の脱離分に終濃度が80%エタノールとなるようにエタノールを添加し、遠心して上清を採取した。その上清を減圧下で乾燥し蒸留水に溶かした。この溶液を0.45μmのフィルターに通し、糖分析システムDX-500(ダイオネクス社製)を用いて高性能陰イオン交換クロマトグラフィー(HPAEC)で分析した。検出器はPulsed amperometric detector ED40(ダイオネクス社製)を用いた。グルコース、フルクトース、ショ糖、マルトース、それぞれの市販試薬を用いて検量線を作成して試料の遊離糖量を求めた。

### 2. デンプンを添加した米飯の観察と米飯テクスチャーの測定

SS 結合還元剤で加熱した場合、加熱初期に脱離する固形分が対照に比べて米 100g 当たり 0.8~1.2g 増加する<sup>2)</sup>。そこで、米デンプンを米粒に対して 1% 添加する区を設定した。また、デンプン添加の効果を明確に把握するため、無添加区と米デンプン 3% 添加区も設定した。

デンプンを添加した米飯のテクスチャー測定方法を米デンプン 1% 添加区を例にして以下に示す。ステンレス製のプリンカップに上記白米 9.9g と米デンプン(島田化学、ベターフレンド) 0.1g を採り、16g の蒸留水を加えてアルミホイルで蓋をした。1 時間浸漬し、電気炊飯器(松下電器製 SR-W100) の釜内に蒸留水 75mL を入れてプリンカップごと約 12 分炊飯した。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。ロードセルは 10kgf、プランジャーとステージはアルミ製、プランジャーは直径 25mm のものを使用し、測定は 25℃ で行った。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。

米飯の観察も上記の方法で調製した米飯で行った。

### 3. 有意差の検定

各測定値間の有意差の検定は、一元配置分散分析 ( $p < 0.05$ ) により行った。

## 【結果と考察】

### 1. 加熱初期に脱離する固形分の成分

加熱初期に脱離する固形分の乾物重量は米 100g 当たり 2.9g であった。加熱初期に脱離する固形分の各成分の比率を表 1 に示す。グルコース、フルクトース、ショ糖、マルトースなど遊離糖量が 0.5~2.3% と少なめであったのに対し、粗タンパク質、粗脂肪、灰分は 3.6~6.0% と遊離糖より多かった。上記成分以外で米から脱離するものは主としてデンプンと考えられること、乾燥した脱離固形分が膜状となりオブラートと同じ性状を示すことから、上記成分の残り 80.5% をデンプンと判断した。花城らは 85℃ で加熱処理した際にコシヒカリの米粒から脱離する固形分の 90% 以上がデンプ

表 1 加熱時脱離固形分の成分(乾物換算値)

|        | 含量 (%) |
|--------|--------|
| 粗タンパク質 | 6.0    |
| 粗脂肪    | 3.6    |
| 灰分     | 4.5    |
| グルコース  | 2.3    |
| フルクトース | 0.5    |
| ショ糖    | 1.7    |
| マルトース  | 0.9    |
| デンプン   | 80.5   |

測定値は 2 回測定の平均値で示した。



ンであることを報告している<sup>3)</sup>。今回の結果は、この報告とほぼ一致するものであった。

SS 結合還元剤で加熱した場合、米粒から加熱初期に脱離する固形分が増えて米飯が軟化する<sup>2)</sup>。脱離する固形分は主としてデンプンなので、SS 結合還元剤で加熱した場合に増える脱離分もデンプンが主であろうと考えた。この脱離したデンプンが炊飯液中に増加し、そのため米飯テクスチャーが変化している可能性がある。そこで、脱離する固形分に代えて米デンプンを添加して米飯を調製して炊飯液中にデンプンが増える影響を次項で調べた。

## 2. デンプンを添加した米飯の観察と米飯テクスチャー

米デンプンを3%添加した米飯の様子を図1に示す。米デンプン3%添加米飯は対照米飯に比べて光沢が増加していた。このことから、米デンプンの添加は米飯の光沢を増加させる効果があると判断した。

炊飯中に米粒から脱離したデンプンなどが米飯表面のおねば層形成に関与することが報告されている<sup>4,5)</sup>。添加した米デンプンも、米飯表面におねば層を形成して光沢が増加したと考えられる。その機序は、添加した米デンプンが多量の炊飯水の中で糊化し、炊飯中に濃縮されてペースト状になり、最終的に米飯表面に付着することが主であろう。

米デンプンを添加して炊飯した米飯のテクスチャーを表2に示す。硬さ、粘り、バランス度のいずれも、米に対してデンプンを0、1、3%添加した試験区間に有意な差は認められなかった。米デンプンを3%添加しても米飯テクスチャーは変化しないことが分かった。このことから、SS 結合還元剤で米飯が軟化するのは、加熱初期に炊飯液中のデンプンがただ単に増えるためではないと判断した。SS 結合還元剤で加熱する場合は、単に炊飯液中にデンプンが増えるだけでなく、米粒からデンプンが脱離してその結果炊飯液中にデンプンが増えるはずである。デンプンが米粒から脱離すること自体が米飯の軟化に関与している可能性がある。

また、Okadomeらはもち米米飯の粘りをテンシプレッサーとテクスチュロメーターで測定して比較し、テクスチュロメーターではもち米米飯の粘りが大きく、テンシプ

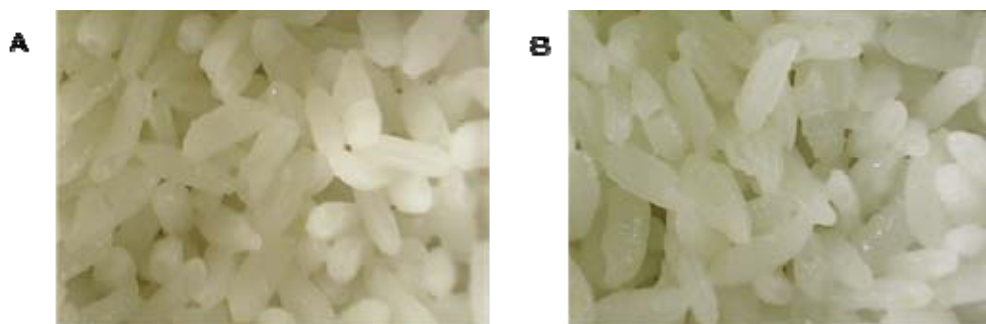


図1 米デンプンを添加した米飯の様子

A. 対照米飯(米デンプン無添加). B. 米デンプン3%添加米飯



表2 デンプンを添加した場合の米飯テクスチャー

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

米飯30粒を測定した。

分散分析を行ったが、いずれも有意差(p < 0.05)は認められなかった。

レッサーでは大きくないことを報告している<sup>6)</sup>。テクスチュロメーターなどのテクスチャー測定機を用いれば、米デンプンを添加して炊飯した場合の米飯テクスチャーの変化を測定できる可能性もある。

#### 【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) Ohno, T., Tomatsu, M., Toeda, K. and Ohisa, N. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2912-2920 (2007).
- 3) 花城勲, 太田健介, 竹田千重乃, 水上浩之, 竹田靖史, *J. Appl. Glycosci.*, **51**, 349-354 (2004).
- 4) 池田ひろ, 家政誌, **52**, 401-409 (2001).
- 5) 奥田玲子, 石村哲代, 金谷昭子, 日調科誌 **42**, 394-403 (2009).
- 6) Okadome, H., Toyoshima, H. and Ohtsubo, K., *Cereal Chem.*, **76**, 855-860 (1999).

## 秋田県大滝温泉水を用いた味噌小仕込み試験

渡辺隆幸 他

(秋田県総合食品研究センター)

Takayuki WATANABE, Eri SATO

### 【要約】

秋田県内の大滝温泉の温泉水を種水として用いた味噌小仕込み試験を実施した。大滝温泉水使用味噌は水道水を使用した対照味噌と比較してグルコース、各種アミノ酸量等の成分値に大きな差異は認められなかった。また、官能検査の結果、色、香り、味、組成の各項目においても遜色はなく、総合的な評価も対照と同等の良好な結果が得られた。

### 【緒言】

味噌は水分を40～50%程度含有する発酵食品である。清酒、醤油等の他の醸造食品と同様に味噌に用いられる水のミネラル分などは発酵と品質に大きな影響を与える因子であると考えられる。一方、温泉水は産出地により成分が大きく異なり、飲用の可否は厚生労働省の定める食品衛生法の規格基準に基づき、都道府県の保健所により判定されている。近年、温泉水飲料の販売が全国各地の温泉地から行われているが、食品へ温泉水を添加、使用した研究事例は少なく、味噌製造に関しては見あたらない。我々は今回、温泉水の味噌の品質への影響を調べることを目的に、飲用可能な温泉水を種水として仕込み時に使用した小仕込み試験を実施したので報告する。

### 【実験方法】

味噌製造小仕込み試験に秋田県大館地区の大滝温泉の温泉水を種水として用いた。平成21年6月に実施した分析機関の分析によるとこの温泉水1kgあたりのミネラル分は陽イオンではナトリウム508mg、カルシウム209mg、カリウム9.5mg、ストロンチウム1.1mg、アンモニウムイオン0.4mg、マグネシウム0.2mg、リチウム0.2mgであり、バリウム、アルミニウム、マンガン、鉄(Ⅱ)、鉄(Ⅲ)、銅、亜鉛は検出されていない。また1kgあたりの陰イオンとしては硫酸808mg、塩酸540mg、炭酸水素20mg、フッ素2.0mg、臭素0.8mg、硫化水素0.3mg、チオ硫酸0.2mgが含まれているとの結果が得られている。平成22年2月の水質調査では大腸菌群陰性であり一般細菌は3cfu/ml、全有機炭素は0.5mg/lと基準値を下回っている。今回の試験ではこの温泉水または水道水、酵母添加の有無により以下の4区分を設定した。なお酵母は当センター保存株のAM1を用い仕込み時の菌数が $10^5$ になるように添加を行った。

|     |         |        |
|-----|---------|--------|
| 区分1 | 種水：水道水、 | 酵母添加なし |
| 区分2 | 種水：温泉水、 | 酵母添加なし |
| 区分3 | 種水：水道水、 | 酵母添加あり |
| 区分4 | 種水：温泉水、 | 酵母添加あり |

仕込み配合は麴歩合10歩、食塩分11.7%、総仕込み重量3.85kgで実施した。区分毎の使用原料重量は処理大豆2kg、麴1.25kg、食塩0.45kg、種水0.15kgである。すなわち今回の温泉水添加味噌の温泉水使用割合は全重量の3.9%である。大滝温泉水のpHは7.06であった。仕込み後の温度経過は30℃、1ヶ月温醸の後、切り返しを行い、室温（10℃～20℃）でさらに4ヶ月間熟成した。熟成終了時に一般成分とパネル5名による官能検査を実施した。

## 【結果と考察】

### 1. 熟成終了時の色およびpH

表1に示したように熟成終了時の色の区分間に大きな差異は認められなかった。データは示さないが、熟成中の着色の進み方にも差は認められなかった。

これらの結果は温泉水使用が味噌熟成の進み方に影響を及ぼしていないことを示している。前述したように用いた大滝温泉水のpHは水道水（pH6.99）と同様に中性であることから仕込み味噌のpHにほとんど差が発生しなかったことも、同様の着色経過をとった一因であると推測される。

表1 熟成終了時の一般成分

| No. | Y%    | x      | y      | pH   | glucose% | NaCl% |
|-----|-------|--------|--------|------|----------|-------|
| 1   | 18.57 | 0.4539 | 0.408  | 5.35 | 13.19    | 11.27 |
| 2   | 17.79 | 0.4535 | 0.4067 | 5.37 | 13.04    | 11.25 |
| 3   | 17.67 | 0.4569 | 0.4065 | 5.34 | 13.08    | 11.25 |
| 4   | 18.74 | 0.4524 | 0.4062 | 5.38 | 13.77    | 11.28 |

### 2. 酵母数およびエタノールの変化

酵母を添加した区分3（温泉水なし）と区分4（温泉水あり）の酵母数の変化を比較すると、わずかであるが区分3の菌数が早めに増加し（表2）、またエタノールの生成が多いことが認められる（表3）。この結果から温泉水の添加が酵母の発酵をわずかに抑制した可能性が示唆される。そこで一部温泉水を含む（10%、20%、50%）液体培地（酵母エキス1%、ポリペプトン1%、グルコース5%、食塩10%）を用い、当センター保存の耐塩性酵母を30℃、3日間、液体培養したところ、対照の蒸留水使用培地の生育と濁度に差はなく（データ省略）、温泉水が直接的に酵母の生育を抑制させるとは認められなかった。温泉水の醸造微生物に与える影響については今後さらに検討が必要と考えられる。

表2 酵母数の変化

| No. | aging days        |                   |                   |                   |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|     | 0                 | 36                | 61                | 151               |
| 1   | $<10^2$           | $1.0 \times 10^2$ | $3.0 \times 10^2$ | $1.6 \times 10^3$ |
| 2   | $<10^2$           | $1.0 \times 10^2$ | $1.0 \times 10^2$ | $3.2 \times 10^3$ |
| 3   | $1.0 \times 10^5$ | $2.0 \times 10^6$ | $3.0 \times 10^6$ | $9.2 \times 10^4$ |
| 4   | $1.1 \times 10^5$ | $2.3 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^6$ | $3.0 \times 10^6$ |

表3 エタノールの変化

| No. | aging days |      |      |      |
|-----|------------|------|------|------|
|     | 0          | 36   | 61   | 151  |
| 1   | 0.03       | 0.02 | 0.02 | 0.03 |
| 2   | 0.02       | 0.04 | 0.04 | 0.04 |
| 3   | 0.07       | 1.40 | 1.56 | 1.51 |
| 4   | 0.06       | 0.58 | 0.90 | 1.11 |

### 3. アミノ酸組成

表4に熟成終了時の味噌のアミノ酸組成を示した。量的に多いアミノ酸として、グルタミン酸、アルギニン、ロイシン、フェルアラニン、アスパラギン酸、リジン、アラニン、イソロイシン、セリンが認められたが、これらのアミノ酸を含む各種アミノ酸についても区分による差は認められなかった。

### 4. 官能試験の結果

表5にパネル5名による官能検査の平均評点を示した。温泉水を用いた味噌に対する評価はパネルによって異なっていたが、平均的には温泉水の有無による大きな差は認められず、色、味、香り、組成の各項目について有意差も認められなかった。総合的な評価も温泉水を用いた味噌は対照と遜色なかった。

今回、仕込み水として大滝温泉水を用いた小仕込み試験の結果から、良好な品質の味噌が製造できることを確認した。温泉水が熟成中に酵母等の醸造微生物の発酵に与える影響については、複数回の仕込み試験を実施することによる詳細な検討が必要であると考察される。なお今回の温泉水使用は種水のみであり、総仕込み重量の数%にすぎない。原料処理装置に負担になるが、大豆浸漬時にも使用することでさらに温泉水の影響が、より明確になると予想される。また今回の試験は1カ所のみ温泉水について調べた結果であり、今後、他の飲用可能な温泉水についての検討も必要である。日本全国には多くの温泉が存在しており、飲料としての温泉水が現在、多く販売されていることから、今後、味噌等の発酵食品に温泉水が利用され、商品の多様化につながる可能性があると考えられる。

表4 熟成終了時のアミノ酸組成(mg/100g)

| No.   | 1    | 2    | 3    | 4    |
|-------|------|------|------|------|
| Asp   | 160  | 173  | 182  | 180  |
| Thr   | 77   | 78   | 80   | 78   |
| Ser   | 129  | 129  | 127  | 129  |
| Asn   | 0    | 0    | 0    | 0    |
| Glu   | 297  | 292  | 293  | 296  |
| Gln   | 114  | 93   | 92   | 98   |
| Gly   | 71   | 73   | 70   | 72   |
| Ala   | 156  | 162  | 162  | 154  |
| Val   | 128  | 126  | 137  | 132  |
| Cys   | 0    | 0    | 0    | 0    |
| Met   | 33   | 35   | 38   | 35   |
| Cysta | 0    | 0    | 3    | 4    |
| Ile   | 124  | 125  | 131  | 127  |
| Leu   | 218  | 221  | 236  | 226  |
| Tyr   | 128  | 133  | 136  | 133  |
| Phe   | 201  | 202  | 208  | 205  |
| GABA  | 9    | 7    | 8    | 9    |
| Orn   | 0    | 3    | 0    | 0    |
| His   | 27   | 28   | 26   | 26   |
| Lys   | 183  | 183  | 187  | 186  |
| Trp   | 0    | 0    | 0    | 0    |
| Arg   | 234  | 237  | 250  | 241  |
| Total | 2290 | 2300 | 2366 | 2332 |

表5 官能検査の結果

| 区分 | 色   | 味   | 香り  | 組成  | 総合  |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1  | 1.8 | 2.2 | 2   | 2   | 2.2 |
| 2  | 1.8 | 2   | 2   | 2.4 | 2.2 |
| 3  | 1.6 | 1.8 | 1.8 | 2   | 1.8 |
| 4  | 1.6 | 2.2 | 2.2 | 2.6 | 2   |

\*5点法、数字の小さい方が良好。  
各項目とも有意差なし。パネル5名

【謝辞】

温泉水などの原材料を提供していただいた大館市大滝温泉地域活性化協議会、工藤淳氏、トリトンハウス、鳥潟功氏に感謝いたします。

### 3. 総説

- ① 「食品成分によるメタボリックシンドローム予防・改善効果に関する研究」 ..... 39  
樋渡一之



# 食品成分によるメタボリックシンドローム 予防・改善効果に関する研究

樋渡 一之

(秋田県総合食品研究センター)

Kazuyuki HIWATASHI

## 【要約】

本研究は、食品に由来するメタボリックシンドローム予防因子を探索、その作用機構を明らかにすることを目的として行われた。

高脂肪食負荷マウスを用いてヤマブシタケの脂質代謝改善作用を検討したところ、体重増加の抑制、血清中性脂肪濃度の低下、脂肪肝改善作用が認められ、そのメカニズムの少なくとも一部はヤマブシタケに含まれるペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) アゴニストが肝臓中の脂質代謝関連遺伝子の発現を上昇させることによるものであることが示唆された。ヤマブシタケのヒトにおける作用を検証したところ、その血中中性脂肪低下作用は明確にならなかった。

ダイズに含まれるレニン阻害物質を単離し構造を解析したところ、ソヤサポニン I と同定された。ソヤサポニン I を含むダイズサポニンによる血圧上昇抑制作用を検討したところ、経口投与により高血圧自然発症ラットの血圧上昇を抑制することが示されたことから、ダイズサポニンは *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。

以上の結果により、本論文ではヤマブシタケの脂質代謝改善作用と、レニン阻害成分による血圧上昇抑制作用のメカニズムの一部を解明することができた。これらは抗メタボリックシンドローム活性を持つ食品成分であり、メタボリックシンドロームの予防・改善に資する可能性がある。今後、本成分を用いた新たな機能性食品の開発が期待できる。

## 【緒言】

メタボリックシンドローム (MS) とは、肥満、糖尿病、インスリン抵抗性、高血圧、脂質代謝異常を基本的な構成要素とし、これらの病態が合併することにより動脈硬化等の様々な病気のリスクを相乗的に高めるといふ疾患概念である。その定義、すなわちどのような基準を用いて診断するかには国際的な違いがある。日本においては腹部肥満 (内臓脂肪面積の指標) に加えて、高血糖、高血圧、脂質代謝異常のうち2つ以上を合併した状態と定義されている。厚生労働省の平成 20 年国民健康・栄養調査によると、MS の該当者とその予備軍 (腹部肥満に加えて 1 項目以上該当) の割合は 40-74 歳男性で 51.5% に達しており、もはや社会問題化しているといつてよい。この問題を解決する手段の 1 つとして、日本では 1990 年代から食品成分によって生体機能の調節を行う機能性食品の開発が活発化した。筆者の勤務する秋田県総合食品研究センターでも、MS の予防・改善に寄与する食品の開発に取り組ん

であり、これまでタンポポ根由来物質ルペオール<sup>1-3)</sup>や「秋田県の花」フキノトウの脂質代謝改善作用<sup>4)</sup>、米糠発酵エキス配合飲料の血圧上昇抑制作用<sup>5)</sup>などを明らかにしてきた。MSの予防や改善を目的とした抗MS食品の研究開発は極めて重要かつ社会的要請の強い課題である。

これまで、多くの研究機関で抗MS活性を有する食品成分の研究が行われてきた。しかしながら、これまでに調査研究された食品成分は無数にある食品資源の一部に過ぎず、今後も継続して研究を多様化させていかなければならない。本論文ではMSの予防・改善に資することを旨とし、秋田県内で生産・販売される食品資源からスクリーニングされた食用担子菌の一種であるヤマブシタケ(*Hericium erinaceum*、HE、Fig. 1)の脂質代謝改善作用と、ダイズ(*Glycine max*)由来成分であるダイズサポニンの新たな作用機序による血圧上昇抑制作用の詳細を解明することを目的として研究を行った。

## 【ヤマブシタケが持つ脂質代謝改善作用の発見とその作用機序の解明】<sup>6)</sup>

### 1. 高脂肪食負荷マウスにおける検討

HEは東アジアにおいて比較的ポピュラーな食用キノコであり、培養細胞における神経成長因子の生合成促進<sup>7,8)</sup>や、子実体粉末の経口投与による軽度認知症患者の症状改善等の生理作用<sup>9)</sup>が報告されている。しかしながら、これまでのところ脂質代謝に関連する作用は知られていない。そこでHEの抽出物を調製し、高脂肪食負荷マウスに混餌投与してHEの脂質代謝改善作用について検討した。

HEの熱風乾燥粉末の熱水抽出液を吸引濾過後、真空凍結乾燥して熱水抽出物(HW-E)とした。同様にエタノール抽出液を吸引濾過後、ロータリーエバポレーターでエタノールを留去したものをエタノール抽出物(EtOH-E)とした。8週齢のC57BL/6Jマウスに、高脂肪飼料(C群)、HW-Eを2%含む高脂肪飼料(HW群)、EtOH-Eを2%含む高脂肪飼料(EtOH群)を自由摂食させた(Table 1)。4週間の飼育後、16時間絶食させて解剖・採血に供し、組織重量、各種血液生化学値を測定した。

3群間のマウスの摂食量にはほとんど差がなかったにもかかわらず(Table 1)、C群に比べてHW群、EtOH群で有意に体重増加が抑制された(Fig. 2)。HW群、EtOH群では、肝臓と腸間膜脂肪組織の重量が有意に減少し、血清中性脂肪濃度も有意に低下した。さらにHW群、EtOH群で肝臓中の中性脂肪含量が減少しており、HE抽出物の脂肪肝改善作用が認められた(Table 2)。以上の結果より、HEは高脂肪食負荷マウスの脂質代謝を改善することが示された。

### 2. 脂質代謝改善メカニズムの解析

前述の通り示された脂質代謝改善作用について、その作用機序を検討した。血中や肝臓中の中性脂肪濃度が低下するという現象は、肝臓でβ酸化系を司るリガンド結合型転写因子であるペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体α(PPARα、Fig. 3)<sup>10)</sup>のアゴニストであるフィブラート系薬剤の作用と類似している。そこでレセプター・コファクターアッセイシステムを用いて、HE抽出物のPPARαアゴニスト活性を測定したところ、EtOH-Eに用量依存的なアゴ

ニスト活性が認められた (Fig. 4)。

さらに高脂肪食負荷マウスの肝臓における、C 群と EtOH 群の PPAR $\alpha$  遺伝子および PPAR $\alpha$  によって制御される脂質代謝関連遺伝子の発現量の変化を定量 RT-PCR 法で解析した。その結果、PPAR $\alpha$  自身の mRNA 量には変化が認められなかったが、PPAR $\alpha$  によって制御されるいくつかの遺伝子の mRNA 発現量が有意に増加していた (Fig. 5)。以上の結果により、EtOH-E による作用の少なくとも一部は HE に含まれる PPAR $\alpha$  アゴニストが肝臓中の脂質代謝関連遺伝子の発現を上昇させることによるものであることが示唆された。

#### 【ヤマブシタケが持つ血中中性脂肪低下作用のヒトにおける検証】

HE の示す脂質代謝改善作用がヒトにおいても有効か否かを検証するため、血中中性脂肪値を指標とした小規模なプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験を行った。1錠 300 mg に HE 乾燥粉末 100 mg を含むサプリメントを調製し、HE 乾燥粉末をジャガイモデンプンに置き換えたものをプラセボとした。30~65 歳で血中中性脂肪値が 150~400 mg/dL の日本人男性 21 名を被験者とし、プラセボ群 11 名、HE 群 10 名となるよう無作為に割り付けた。被験者には 8 週間、毎食前に 3 錠ずつサプリメントを摂取 (9 tablets/day) させ、試験開始前、4、8 週間経過時点において身長・体重等の体構造測定、血圧・脈拍測定、栄養摂取量推定、血液検査を行った。

体構造、血圧・脈拍、栄養摂取量は群間および試験開始前後の比較で有意な差が認められなかった。血液検査値では何点かの有意な差が認められたが、中性脂肪を除いて全て基準値内での変動であり臨床的に意味のある差は認められなかった (Table 3)。サプリメント摂取による有害事象は認められず、今回の投与量においては HE 粉末の経口投与は安全性が高いことが示された。一方、HE 群における血中中性脂肪は、摂取前と比較して 4 週後有意に低下していたが ( $P = 0.013$ )、プラセボ群との比較では有意差は認められなかった ( $P = 0.127$ ) (Fig. 6)。以上の結果から、HE のヒトにおける血中中性脂肪低減作用は明確にはなかったが、有効である可能性も一部示唆された。

#### 【食品由来レニン阻害物質による血圧上昇抑制作用】

##### 1. レニン阻害物質の同定と *in vitro* における活性阻害評価<sup>11)</sup>

レニン (EC 3.4.23.15) は、アンジオテンシノーゲンからアンジオテンシン I を切断するアスパルテックプロテアーゼである。この反応が重要な血圧調節機構の一つであるレニン-アンジオテンシン系の律速段階となっている (Fig. 7)<sup>12)</sup>。近年、経口投与で有効なレニン阻害剤として開発されたアリスキレンが日米欧で高血圧治療剤としての認可を受けている<sup>13)</sup>。そこでバキュロウィルス-昆虫細胞系で得たヒト型組換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法 (Fig. 8)<sup>14,15)</sup> を用い、食品素材からレニン阻害成分をスクリーニングしたところ、ダイズにレニン阻害活性を認めた。

レニン阻害物質を同定するため、ダイズの熱水抽出物を調製して各種クロマトグラフィーにより阻害物質を単離、構造解析したところ、ダイズに比較的多く含まれるサポニンであるソヤサポニン I であることが明らかとなった (Fig. 9)。用量依存性について検討したところ 50%阻

害濃度は 30 µg/mL であった。

## 2. 高血圧自然発症ラットにおける検討<sup>16)</sup>

ダイズ中のレニン阻害物質がソヤサポニン I と同定されたことから、ソヤサポニン I を含むと考えられる市販総ダイズサポニン (TSS、和光純薬工業社製ダイズ由来サポニン) の *in vitro* でのレニン阻害活性を評価した。その結果、TSS は用量依存的にレニンを阻害することが示され (Fig. 10)、その 50% 阻害濃度は 59.9 µg/mL であった。

そこで TSS 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。TSS を 40 mg/mL となるように蒸留水で溶解し、これを TSS 溶液とした。10 週齢の雄性 SHR/Izm に市販固形飼料を自由摂食させ、8 週間飼育した。飼育期間中毎日、2 mL/kg BW の TSS 溶液 (TSS 群) または蒸留水 (C 群) を強制経口投与し、1 週間に 1 回体重、摂食量と血圧を測定した。飼育終了後、16 時間絶食させて解剖・採血に供し、組織重量、各種血液生化学値を測定した。試験期間を通して、体重および摂食量に差は認められなかった。また飼育終了時の組織重量も全ての組織で差は認められなかった。収縮期血圧は、C 群に対して TSS 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 (Fig. 11)。血液生化学値では、C 群と比較して LDL コレステロール、AST、ALT で TSS 群が有意な低値を示したのに加え、腎機能マーカーである血液尿素窒素でも有意な低下が認められた (Table 4)。以上の結果により、TSS の経口投与は SHR の血圧上昇を抑制することが示され、TSS 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。

### 【謝辞】

本総説は、筆者の東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻における博士論文の内容をまとめたものです。博士課程への在籍にあたり、秋田県研究職員大学院博士後期課程研修支援事業補助金の支援を受けました。秋田県および関係各位に深く感謝いたします。

研究の遂行と論文の執筆にあたり、主査をお願いいたしました東北大学大学院農学研究科教授 駒井三千夫博士、副査をご担当いただいた同大学院生体分子機能学分野教授 池田郁男博士、動物資源化学分野教授 齋藤忠夫博士、栄養学分野准教授 白川仁博士には多くの有益な助言とご指導を頂きました。ここに厚く御礼申し上げます。

本研究の大部分は秋田県総合食品研究センターで行われました。食品加工研究所長 高橋砂織博士、上席研究員 堀一之博士、主任研究員 熊谷昌則博士、主任研究員 畠恵司博士をはじめとする職員の皆様に御指導、御協力、激励を賜りました。厚く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、株式会社坂本バイオ代表取締役 坂本賢二博士、秋田県立大学教授 秋山美展博士、石川県立大学准教授 吉城由美子博士ほか、多くの方々のご指導、ご助言をいただきました。全ての方のお名前を記すことはできませんが、ご協力いただいた全ての方に深く感謝いたします。

本研究の研究資金の一部は、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)の助成によるものです。感謝いたします。  
最後に、故伊藤義文博士に本論文を捧げます。



Yamabushitake mushroom (*Hericium erinaceus*)



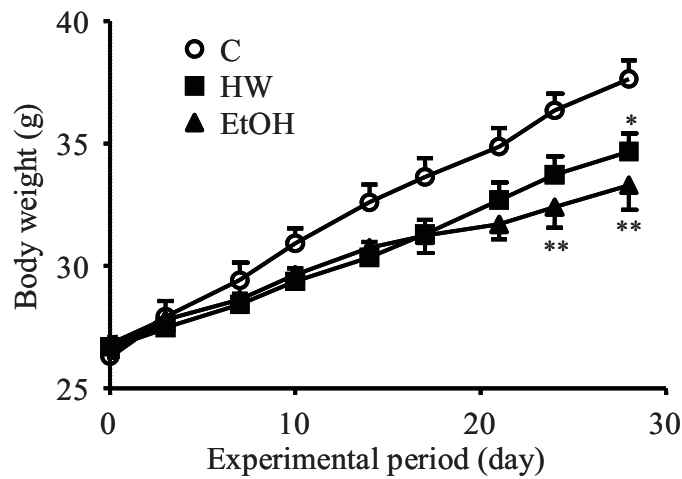
Soybean (*Glycine max*)

Fig. 1 Yamabushitake Mushroom and soybean.

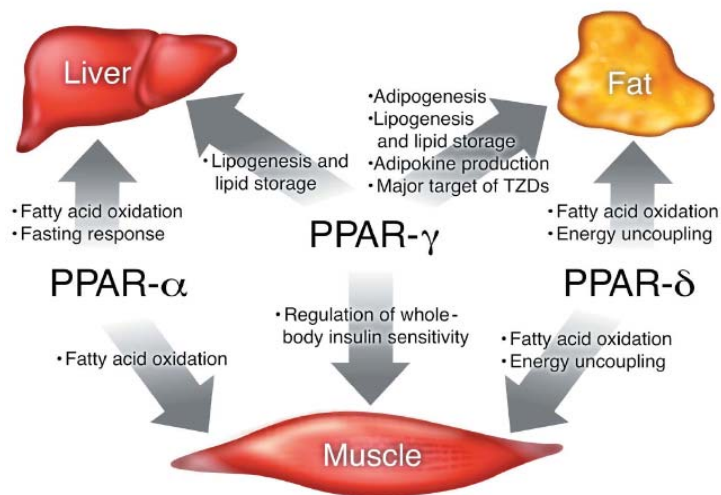
**Table 1** Compositions and food intake of experimental diets based on the high-fat diet.

| Ingredients (g/ 100g)              | C     | HW    | EtOH  |
|------------------------------------|-------|-------|-------|
| Casein                             | 24.50 | 24.01 | 24.01 |
| Egg white                          | 5.00  | 4.90  | 4.90  |
| L-Cystine                          | 0.43  | 0.42  | 0.42  |
| Beef tallow                        | 15.88 | 15.56 | 15.56 |
| Safflower oil                      | 20.00 | 19.60 | 19.60 |
| Cellulose                          | 5.50  | 5.39  | 5.39  |
| Maltodextrin                       | 8.25  | 8.09  | 8.09  |
| Lactose                            | 6.93  | 6.79  | 6.79  |
| Sucrose                            | 6.75  | 6.62  | 6.62  |
| Vitamin mix (AIN-93)               | 1.40  | 1.37  | 1.37  |
| Mineral mix (AIN-93G)              | 5.00  | 4.90  | 4.90  |
| Choline bitartrate                 | 0.36  | 0.35  | 0.35  |
| <i>tert</i> -Butylhydroquinone     | 0.002 | 0.002 | 0.002 |
| Hot water extract of Yamabushitake |       | 2.00  |       |
| EtOH extract of Yamabushitake      |       |       | 2.00  |
| Actual compositions (g/100g)       |       |       |       |
| Moisture                           | 6.1   | 5.0   | 7.6   |
| Protein                            | 25.4  | 26.3  | 26.6  |
| Lipid                              | 32.7  | 31.2  | 29.3  |
| Ash                                | 3.6   | 3.9   | 3.7   |
| Carbohydrate                       | 32.2  | 33.6  | 32.8  |
| Dietary fiber                      | 5.5   | 5.8   | 5.5   |
| Food intake (g/d)                  | 2.56  | 2.37  | 2.52  |

C, control diet; HW, hot water extract diet; EtOH, ethanol extract diet



**Fig. 2** Effect of experimental diets on body weight gain in mice fed a high-fat diet. Symbols indicate control diet group (C, open circle), hot water extract diet group (HW, closed square), and ethanol extract diet group (EtOH, closed triangle). Values are means with standard errors, depicted by vertical bars (six mice per group). Mean values were significantly different from those of the control group: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .



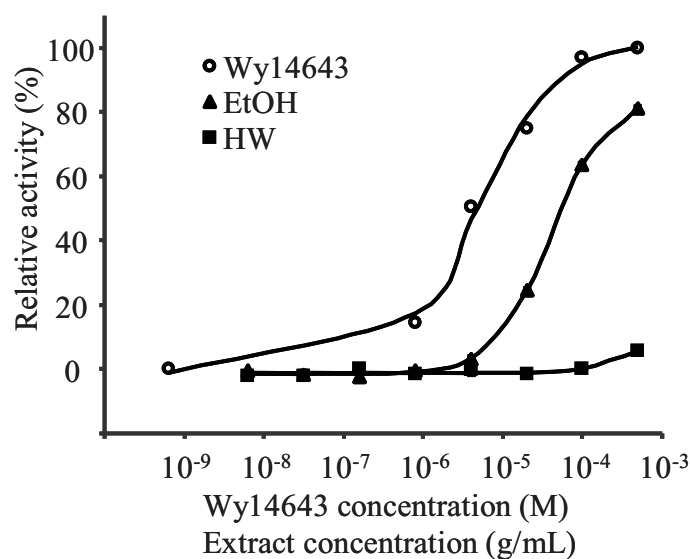
**Fig. 3** Metabolic integration by PPARs. The three PPAR isoforms regulate lipid and glucose homeostasis through their coordinated activities in liver, muscle and adipose tissue.



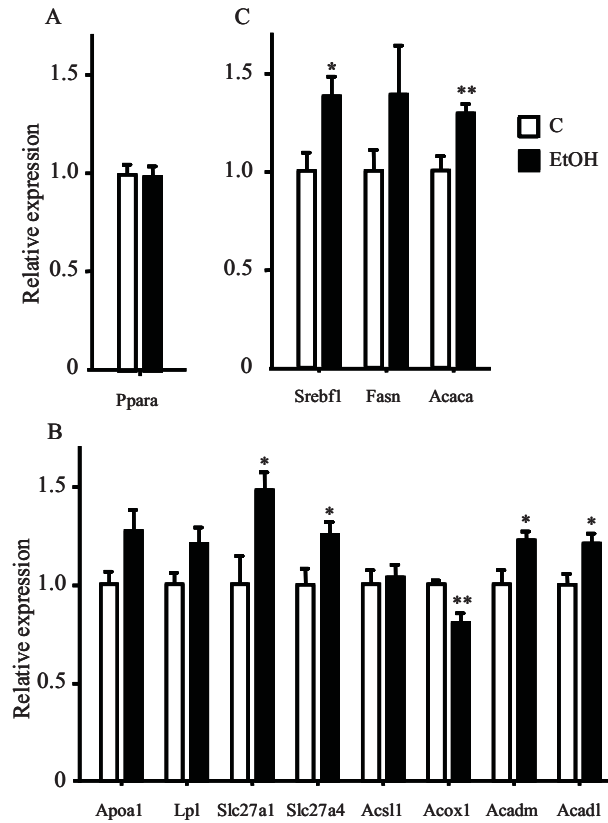
**Table 2** Effect of experimental diets on the tissue weight and the biochemical parameters in mice fed a high-fat diet.

|                           |                | C     |      | HW     |      | EtOH   |      |
|---------------------------|----------------|-------|------|--------|------|--------|------|
|                           |                | Mean  | SEM  | Mean   | SEM  | Mean   | SEM  |
| <b>Tissue weight</b>      |                |       |      |        |      |        |      |
| Liver                     | (mg)           | 1485  | 87   | 1170*  | 62   | 1183*  | 89   |
|                           | (mg/ 100g BW)  | 4180  | 182  | 3582   | 109  | 3793   | 189  |
| Mesenteric adipose tissue | (mg)           | 1056  | 76   | 714*   | 73   | 649*   | 79   |
|                           | (mg/ 100g BW)  | 2968  | 165  | 2173*  | 158  | 2067*  | 202  |
| Epididymal adipose tissue | (mg)           | 846   | 39   | 721    | 33   | 698    | 37   |
|                           | (mg/ 100g BW)  | 2387  | 89   | 2215   | 83   | 2243   | 72   |
| <b>Serum</b>              |                |       |      |        |      |        |      |
| Triglyceride              | (mg/ dL)       | 122.5 | 7.7  | 112.7* | 3.2  | 89.3** | 7.6  |
| Total cholesterol         | (mg/ dL)       | 176.2 | 5.5  | 156.3  | 6.6  | 162.2  | 8.3  |
| HDL cholesterol           | (mg/ dL)       | 107.0 | 1.6  | 104.8  | 2.0  | 107.7  | 1.6  |
| LDL cholesterol           | (mg/ dL)       | 44.7  | 4.0  | 29.2   | 4.5  | 36.8   | 6.2  |
| NEFA                      | (mEq/ L)       | 1.4   | 0.1  | 1.5    | 0.1  | 1.2    | 0.1  |
| Glucose                   | (mg/ dL)       | 269.5 | 8.1  | 210.7* | 8.1  | 225.2  | 14.8 |
| AST                       | (U/ L)         | 141.8 | 10.5 | 129.7  | 12.2 | 167.0  | 22.4 |
| ALT                       | (U/ L)         | 50.2  | 5.2  | 36.8   | 1.9  | 36.4   | 5.1  |
| Adiponectin               | ( $\mu$ g/ ml) | 20.9  | 1.0  | 22.9   | 1.8  | 23.5   | 2.7  |
| Leptin                    | (ng/ ml)       | 74.8  | 4.4  | 60.7   | 13.0 | 43.0   | 10.0 |
| <b>Liver</b>              |                |       |      |        |      |        |      |
| Triglyceride              | (mg/ g liver)  | 160.2 | 12.2 | 112.5* | 11.8 | 98.1** | 15.4 |
| Total cholesterol         | (mg/ g liver)  | 3.6   | 0.2  | 3.9    | 0.3  | 3.4    | 0.2  |
| Phospholipid              | (mg/ g liver)  | 14.3  | 0.4  | 15.3   | 0.3  | 16.3** | 0.2  |

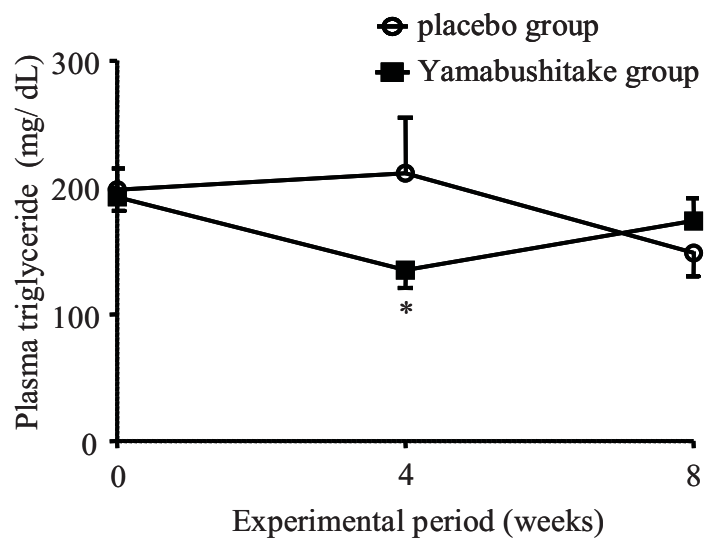
C, control diet; HW, hot water extract diet; EtOH, ethanol extract diet; NEFA, nonesterified fatty acid; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase. Mean values with standard errors for six mice per group. Mean values were significantly different from those of C: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$



**Fig. 4** Dose-response curve of Yamabushitake extracts for PPAR  $\alpha$  agonist. PPAR  $\alpha$  agonist activity was measured by the PPAR  $\alpha$ /Coactivator Ligand Assay System. Wy14643, a selective PPAR  $\alpha$  agonist, was used as positive control. Relative activity is shown, with the maximum activity of Wy14643 as 100%. Symbols indicate Wy14643 (open circle), EtOH extract (EtOH, closed triangle), and hot water extract (HW, closed square). Values are the means of duplicate analysis.



**Fig. 5** Effects of experimental diets on mRNA expression of PPAR  $\alpha$  (A), its regulating genes (B), and other lipid metabolic genes (C) in the liver. mRNA levels were analyzed by quantitative RT-PCR, the amount of mRNA normalized with  $\beta$ -actin mRNA as endogenous control. Columns indicate the control diet group (C, open column), and the ethanol extract diet group (EtOH, closed column). Values are means, and standard errors are depicted by vertical bars (six mice per group). Mean values were significantly different from those of the control group: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ . Ppara, peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR  $\alpha$ ); Apoa1, apo A-I; Lpl, lipoprotein lipase; Slc27a1, fatty acid transport protein 1; Slc27a4, fatty acid transport protein 4; Acs11, acyl-CoA synthetase long-chain family member 1; Acox1, palmitoyl acyl-CoA oxidase 1; Acadm, acyl-CoA dehydrogenase, medium chain; Acadl, acyl-CoA dehydrogenase, long-chain; Srebf1, sterol regulatory element binding factor 1; Fasn, fatty acid synthase; Acaca, acetyl-CoA carboxylase  $\alpha$ .



**Fig. 6** Effect of oral Yamabushitake administration on plasma triglyceride in mild hypertriglyceridemic men. Symbols indicate placebo group (open circle) and Yamabushitake group (closed square). Values are means, and standard errors are depicted by vertical bars (10 or 11 men per group). Mean values were significantly different from those of the zero week: \* $P < 0.05$ .

**Table 3** Effect of oral Yamabushitake administration on physical parameters, blood pressure, and blood parameters in mild hypertriglyceridemic men.

|                        |                      |    | Week 0 |      | Week 4 |      | Week 8  |      |
|------------------------|----------------------|----|--------|------|--------|------|---------|------|
|                        |                      |    | Mean   | SEM  | Mean   | SEM  | Mean    | SEM  |
| Muscle mass            | kg                   | P  | 55.1   | 2.2  | 55.6   | 2.1  | 55.3    | 2.1  |
|                        |                      | HE | 52.8   | 2.2  | 53.1   | 2.1  | 52.8    | 2.3  |
| Fat mass               | kg                   | P  | 21.2   | 2.4  | 20.8   | 2.5  | 20.5    | 2.4  |
|                        |                      | HE | 15.9   | 2.6  | 15.5   | 2.6  | 15.7    | 2.7  |
| Body weight            | kg                   | P  | 79.5   | 4.0  | 79.5   | 3.9  | 78.9    | 3.9  |
|                        |                      | HE | 71.6   | 4.3  | 71.6   | 4.3  | 71.4    | 4.5  |
| Percentage of body fat | %                    | P  | 26.2   | 1.8  | 25.6   | 1.8  | 25.4    | 1.8  |
|                        |                      | HE | 21.1   | 2.3  | 20.5   | 2.4  | 20.8    | 2.6  |
| Body mass index        | —                    | P  | 27.2   | 1.2  | 27.3   | 1.2  | 27.1    | 1.2  |
|                        |                      | HE | 24.0   | 1.3  | 24.1   | 1.3  | 24.0    | 1.4  |
| SBP                    | mmHg                 | P  | 114    | 4.2  |        |      | 118     | 5.4  |
|                        |                      | HE | 117    | 5.1  |        |      | 119     | 6.0  |
| DBP                    | mmHg                 | P  | 69     | 2.4  |        |      | 72      | 3.6  |
|                        |                      | HE | 73     | 4.7  |        |      | 77      | 5.1  |
| pulse                  | /min                 | P  | 65.7   | 1.9  |        |      | 69.6    | 3.1  |
|                        |                      | HE | 70.5   | 1.8  |        |      | 71.2    | 2.8  |
| White blood cell       | /μL                  | P  | 6766   | 517  | 6685   | 569  | 6775    | 557  |
|                        |                      | HE | 6907   | 384  | 7429   | 1100 | 7121    | 416  |
| Red blood cell         | ×10 <sup>4</sup> /μL | P  | 520    | 9.3  | 517    | 9.6  | 520     | 8.1  |
|                        |                      | HE | 505    | 5.1  | 503    | 8.5  | 506     | 6.6  |
| Hemoglobin             | g/dL                 | P  | 15.7   | 0.2  | 15.7   | 0.2  | 15.8    | 0.2  |
|                        |                      | HE | 15.2   | 0.3  | 15.1   | 0.3  | 15.3    | 0.3  |
| Hematocrit             | %                    | P  | 46.7   | 0.7  | 46.4   | 0.7  | 46.9    | 0.7  |
|                        |                      | HE | 45.6   | 0.6  | 45.3   | 0.6  | 45.4    | 0.5  |
| MCV                    | fL                   | P  | 89.8   | 1.1  | 89.8   | 1.3  | 90.4    | 1.4  |
|                        |                      | HE | 90.3   | 0.9  | 90.1   | 0.9  | 89.8    | 0.9  |
| MCH                    | pg                   | P  | 30.3   | 0.4  | 30.4   | 0.4  | 30.5    | 0.4  |
|                        |                      | HE | 30.1   | 0.3  | 30.1   | 0.4  | 30.3    | 0.5  |
| MCHC                   | %                    | P  | 33.7   | 0.3  | 33.8   | 0.3  | 33.8    | 0.3  |
|                        |                      | HE | 33.4   | 0.2  | 33.4   | 0.3  | 33.7    | 0.4  |
| Platelet               | ×10 <sup>4</sup> /μL | P  | 23.3   | 1.4  | 23.9   | 1.3  | 24.7 *  | 1.4  |
|                        |                      | HE | 26.3   | 1.3  | 26.5   | 1.6  | 26.5    | 1.4  |
| Total cholesterol      | mg/dL                | P  | 222    | 8    | 210    | 9    | 210     | 9    |
|                        |                      | HE | 218    | 7    | 219    | 11   | 218     | 11   |
| Triglyceride           | mg/dL                | P  | 198    | 17   | 211    | 44   | 148     | 18   |
|                        |                      | HE | 193    | 11   | 135 *  | 14   | 174     | 18   |
| LDL cholesterol        | mg/dL                | P  | 139    | 11   | 130    | 10   | 140     | 10   |
|                        |                      | HE | 143    | 8    | 150    | 9    | 147     | 9    |
| HDL cholesterol        | mg/dL                | P  | 46.7   | 2.6  | 47.0   | 3.0  | 47.9    | 2.7  |
|                        |                      | HE | 49.6   | 2.0  | 51.0   | 2.5  | 48.1    | 2.8  |
| Blood urea nitrogen    | mg/dL                | P  | 12.4   | 0.8  | 11.2   | 0.6  | 13.0    | 0.7  |
|                        |                      | HE | 14.1   | 1.2  | 13.5 # | 0.9  | 13.0    | 0.8  |
| Creatinine             | mg/dL                | P  | 0.81   | 0.02 | 0.82   | 0.02 | 0.83    | 0.03 |
|                        |                      | HE | 0.75   | 0.04 | 0.75   | 0.04 | 0.76    | 0.04 |
| Uric acid              | mg/dL                | P  | 7.05   | 0.31 | 6.75   | 0.32 | 6.61    | 0.29 |
|                        |                      | HE | 6.17   | 0.52 | 5.80   | 0.37 | 6.00    | 0.43 |
| AST                    | U/L                  | P  | 25.5   | 2.5  | 22.9   | 1.7  | 23.7    | 2.0  |
|                        |                      | HE | 24.4   | 2.9  | 24.2   | 3.2  | 21.0    | 1.7  |
| ALT                    | U/L                  | P  | 36.2   | 4.5  | 31.0 * | 3.4  | 30.0 ** | 3.8  |
|                        |                      | HE | 31.3   | 6.5  | 31.9   | 7.3  | 25.8    | 4.6  |
| γ-GT                   | U/L                  | P  | 53.8   | 6.4  | 48.3 * | 6.0  | 49.5    | 6.8  |
|                        |                      | HE | 39.7   | 7.4  | 40.3   | 9.3  | 32.8    | 5.2  |
| Glucose                | mg/dL                | P  | 96.5   | 2.7  | 98.5   | 2.5  | 94.5    | 2.4  |
|                        |                      | HE | 101    | 2    | 97.6   | 2.8  | 96.0    | 2.7  |
| NEFA                   | mEq/L                | P  | 0.60   | 0.07 | 0.57   | 0.07 | 0.59    | 0.05 |
|                        |                      | HE | 0.43   | 0.05 | 0.45   | 0.06 | 0.58    | 0.06 |

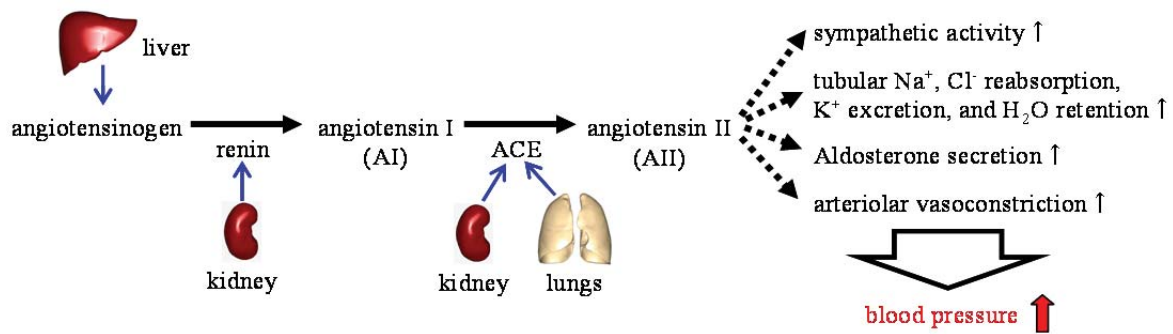


Fig. 7 Renin-angiotensin system. Renin is the rate-limiting enzyme in the renin angiotensin system.

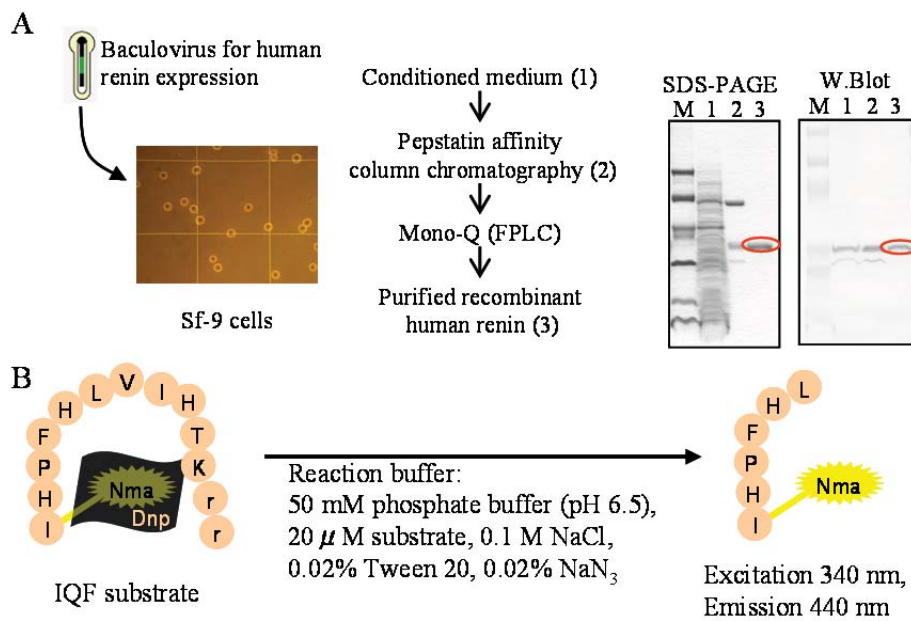
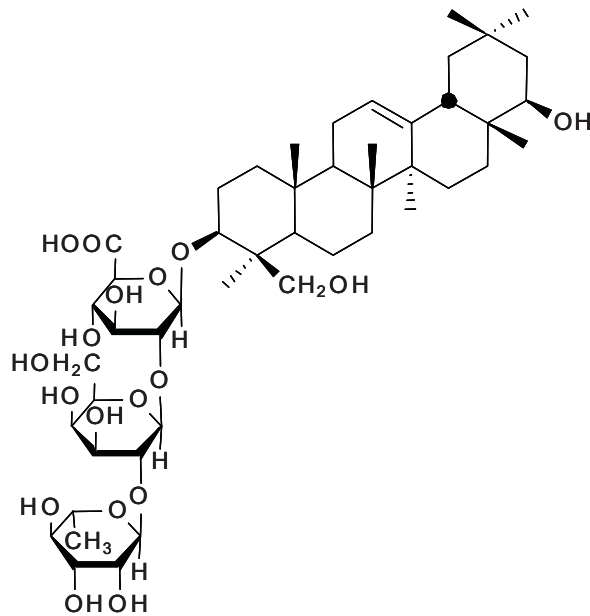
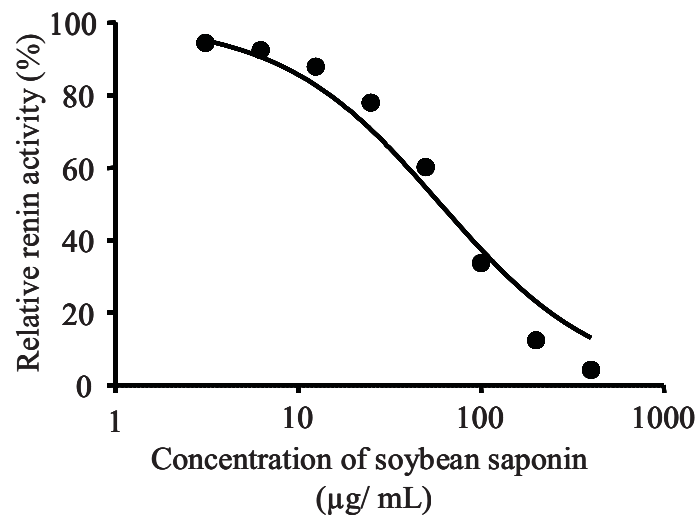


Fig. 8 Screening system for human renin inhibitor. Recombinant human renin was expressed and isolated from Sf-9 cells (A). Human renin activities were measured using the internally quenched fluorogenic (IQF) substrate for human renin, *N*-methylantranyl-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His-Thr-Lys-2,4 dinitrophenyl-D-Arg-D-Arg-NH<sub>2</sub>. Hydrolysis of the IQF substrate at the Leu-Val bond was spectrophotometrically determined (B).

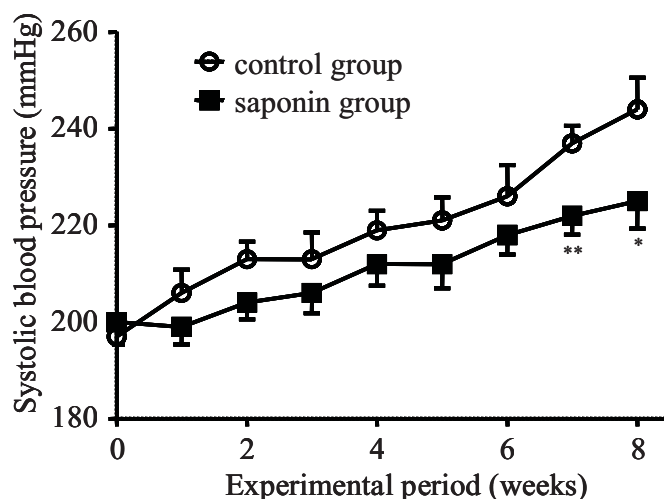


**Fig. 9** Chemical structure of soyasaponin I.



**Fig. 10** Inhibition of renin activity by soybean saponin. Relative activity is shown as a percentage of renin activity without soybean saponin. Values are the mean of triplicate analysis.





**Fig. 11** Effect of oral soybean saponin administration on change in systolic blood pressure in SHR. Symbols indicate control group (open circle) and saponin group (closed square). Values are means, and standard errors are depicted by vertical bars (9 rats per group). Mean values were significantly different from those of the control group: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

**Table 4** Effect of oral soybean saponin administration on the tissue weight and the plasma parameters in SHR.

|                               |              | Control |      | Soybean saponin |      |
|-------------------------------|--------------|---------|------|-----------------|------|
|                               |              | Mean    | SEM  | Mean            | SEM  |
| Tissue weight                 |              |         |      |                 |      |
| Heart                         | (g)          | 1.43    | 0.03 | 1.47            | 0.04 |
|                               | (g/ 100g BW) | 0.42    | 0.01 | 0.43            | 0.01 |
| Liver                         | (g)          | 10.83   | 0.17 | 10.92           | 0.12 |
|                               | (g/ 100g BW) | 3.18    | 0.03 | 3.22            | 0.02 |
| Kidney (left)                 | (g)          | 1.46    | 0.03 | 1.40            | 0.03 |
|                               | (g/ 100g BW) | 0.43    | 0.01 | 0.41            | 0.01 |
| Kidney (right)                | (g)          | 1.34    | 0.02 | 1.35            | 0.02 |
|                               | (g/ 100g BW) | 0.40    | 0.00 | 0.40            | 0.01 |
| Plasma biochemical parameters |              |         |      |                 |      |
| TG                            | (mg/ dL)     | 54.0    | 6.6  | 52.7            | 3.6  |
| TC                            | (mg/ dL)     | 67.6    | 3.0  | 62.1            | 3.2  |
| HDL-C                         | (mg/ dL)     | 38.8    | 2.5  | 38.9            | 2.2  |
| LDL-C                         | (mg/ dL)     | 18.0    | 1.5  | 12.7**          | 1.5  |
| Glucose                       | (mg/ dL)     | 151.1   | 4.7  | 158.4           | 11.5 |
| AST                           | (U/ L)       | 79.9    | 7.5  | 54.6**          | 2.0  |
| ALT                           | (U/ L)       | 47.1    | 2.7  | 38.6*           | 1.7  |
| BUN                           | (mg/ dL)     | 24.1    | 0.6  | 20.6**          | 0.8  |

BW, body weight; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; BUN, blood urea nitrogen. Mean values with their standard errors for 9 rats per group. Mean values were significantly different from those of the control: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

## 【文献】

- 1) Sasaki, H., Kawarasaki, S., Sugawara, M., and Hata, K., Effects of Lupeol on Visceral Fat Weight and Serum Lipoprotein Profile in High-Fat Diet Fed Mice, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **43/Suppl. 1**, 422-424 (2008)
- 2) Hata, K., Hiwatashi, K., Itoh, M., Suzuki, N., Watanabe, T., Takahashi, J., and Sasaki, H., Inhibitory effects of lupeol on 3T3-L1 preadipocyte differentiation., *Phytochem. Lett.*, **1**, 191-194 (2008)
- 3) Itoh, M., Hiwatashi, K., Abe, Y., Kimura, F., Toshima, G., Takahashi, J., Sasaki, H., and Hata, K., Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells., *Phytochem. Lett.*, **2**, 176-178 (2009)
- 4) Watanabe, T., Hata, K., Hiwatashi, K., Hori, K., Suzuki, N., and Itoh, H., Suppression of murine preadipocyte differentiation and reduction of visceral fat accumulation by a *Petasites japonicus* ethanol extract in mice fed a high-fat diet., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 499-503 (2010)
- 5) 樋渡一之、成澤昭芳、保莉美佳、戸枝一喜、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、日本食品科学工学会誌、**57**、40-43 (2010)
- 6) Hiwatashi, K., Kosaka, Y., Suzuki, N., Hata, K., Mukaiyama, T., Sakamoto, K., Shirakawa, H., and Komai, M., Yamabushitake mushroom (*Hericium erinaceus*) improved lipid metabolism in mice fed a high-fat diet., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 1447-1451 (2010)
- 7) Kawagishi, H., Ando, M., Mizuno, T., and Takashi, M., Hericenone A and B as cytotoxic principles from the mushroom *Hericium erinaceum*., *Tetrahedron. Lett.*, **31**, 373-376 (1990)
- 8) Kawagishi, H., Shimada, A., Shirai, R., Okamoto, K., Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Furukawa, S., Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceum*., *Tetrahedron. Lett.*, **35**, 1569-1572 (1994)
- 9) Mori, K., Inatomi, S., Ouchi, K., Azumi, Y., and Tsuchida, T., Improving effects of the mushroom Yamabushitake (*Hericium erinaceus*) on mild cognitive impairment: a double-blind placebo-controlled clinical trial., *Phytother. Res.*, **23**, 367-372 (2009)
- 10) Evans, R. M., Barish, G. D., and Wang, Y.-X., PPARs and the complex journey to obesity., *Nat. Med.*, **10**, 355-361 (2004)
- 11) Takahashi, S., Hori, K., Shinbo, M., Hiwatashi, K., Gotoh, T., Yamada, S., Isolation of human renin inhibitor from soybean: soyasaponin I is the novel human renin inhibitor in soybean., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3232-3236 (2008)
- 12) Persson, P. B., Renin: origin, secretion and synthesis., *J. Physiol.*, **552**, 667-671 (2003)
- 13) Gradman, A. H., Schmieder, R. E., Lins, R. L., Nussberger, J., Chiang, Y., and Bedigian, M. P., Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose-dependent antihypertensive efficacy and placebo-like tolerability in hypertensive patients.,

- Circulation.*, **111**, 1012-1018 (2005)
- 14) Takahashi, S., Ogasawara, H., Watanabe, T., Kumagai, M., Inoue, H., and Hori, K., Refolding and activation of human prorenin expressed in *Escherichia coli*: application of recombinant human renin for inhibitor screening., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 2913-2918 (2006)
  - 15) Takahashi, S., Hata, K., Kikuchi, K., and Gotoh, T., High-level expression of recombinant active human renin in Sf-9 cells: rapid purification and characterization., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613 (2007)
  - 16) Hiwatashi, K., Shirakawa, H., Hori, K., Yoshiki, Y., Suzuki, N., Hokari, M., Komai, M., and Takahashi, S., Reduction of blood pressure by soybean saponins, renin inhibitors from soybean, in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 2310-2312 (2010)



#### 4. 特許の概要

**1 発明の名称：コラゲナーゼ阻害作用を有する創傷改善剤および潰瘍形成改善剤**

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2010-195812

公開日：2010年9月9日

**2 発明の名称：新規酵母およびそれを用いた飲料・食品・家畜飼料**

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2010-284081

公開日：2010年12月24日

**3 発明の名称：脂質代謝促進剤、脂質代謝関連遺伝子発現増強剤およびその製造方法**

発明者：樋渡一之、畠恵司

小坂靖幸、向山俊之、坂本賢二（株式会社坂本バイオ）

公開番号：特開 2010-111586

公開日：2010年5月20日

**4 発明の名称：古代米濃縮糖液ならびにその製法**

発明者：金子 隆宏

公開番号：特開 2010-124716

公開日：2010年6月10日

**5 発明の名称：ハタハタ卵巣由来の粘質物、その取得方法および用途**

発明者：戸枝一喜、塚本研一、高橋徹、杉山秀樹、船木勉

特許番号：特許第4524467

登録日：平成22年6月11日

**6 発明の名称：新規酵母及びそれを用いた清酒の製造方法**

発明者：渡辺誠衛、新野葉子、中田健美

特許番号：特許第4491563

登録日：平成22年4月16日

**1 発明の名称：コラゲナーゼ阻害作用を有する創傷改善剤および潰瘍形成改善剤**

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2010-195812

公開日：2010年9月9日

**【要約】**

**[課題]**

従来より食品もしくは食品素材として利用されており、安全性に問題がない農水産物に由来する成分を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤を提供する

**[解決手段]**

ホップの抽出物を有効成分として含有してなる、コラゲナーゼ阻害剤、コラゲナーゼ阻害剤を含有することを特徴とする食品もしくは食品素材、並びにビールまたは発泡酒を製造するにあたり、ホップ使用料の50～90%を麦汁に「てんかしして煮沸して得た高温の該麦汁に残りのホップを加えて静置し、濾過した後、発酵、熟成することを特徴とする、コラゲナーゼ阻害活性を有するビールまたは発泡酒の製造方法

**2 発明の名称：新規酵母およびそれを用いた飲料・食品・家畜飼料**

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2010-284081

公開日：2010年12月24日

**【要約】**

**[課題]**

20%エタノール存在下で生育可能でありかつエタノール生成能および高級アルコールを多く生成する新規酵母およびそれを用いた飲料・食品。家畜飼料の提供

**[解決手段]**

「さくら酵母1449」に由来し、20%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く高級アルコールを多く生成する Sakura-2 NITE P-756 株を用いることを特徴とする飲料・食品・家畜飼料の製造法



### 3 発明の名称：脂質代謝促進剤、脂質代謝関連遺伝子発現増強剤、およびその製造方法

発明者：樋渡一之、畠恵司

小坂靖幸、向山俊之、坂本賢二（株式会社坂本バイオ）

公開番号：特開 2010-111586

公開日：2010年5月20日

#### 【要約】

〔課題〕生活習慣病につながる体脂肪の過度な蓄積を抑制し、優れた脂質代謝促進作用、脂質代謝関連遺伝子増強作用を有する物質及びこれを含む組成物を提供すること。

〔解決手段〕ヤマブシタケ及びヤマブシタケの有機溶媒等による抽出物、並びにこれを含む食品、飲料、医薬用製剤及び動物用飼料である組成物。

### 4 発明の名称：古代米濃縮糖液ならびにその製法

発明者：金子 隆宏

公開番号：特開 2010-124716

公開日：2010年6月10日

#### 【要約】

〔課題〕

新規な原料澱粉を使用して、色素アントシアニンあるいはタンニンなどのポリフェノールを含み、色調に優れ、健康によい甘味料を提供すること。

〔解決手段〕

古来に日本で栽培されていたとされる「古代米」に着目し、これを原料として糖化させた古代米濃縮糖液を開発した。これにより、抗酸化作用が期待される色素アントシアニンあるいはタンニンなどのポリフェノールを含み、また色調も良好で、成分上非常に健康的で見た目の色合いにも優れている水飴状の新規甘味素材を提供できる。

## 5 発明の名称 ハタハタ卵巣由来の粘質物、その取得方法および用途

発明者：戸枝一喜、塚本研一、高橋徹、杉山秀樹、船木勉

特許番号：特許第4524467

登録日：平成22年6月11日

### 【要約】

〔課題〕ハタハタ卵巣からの粘質物と卵の分離方法の開発と粘質物や卵の有効利用法の確立を目的としたものである。

〔解決手段〕この発明は、雌ハタハタから取り出した卵巣を水、好ましくは温水中に浸漬して処理する方法により、粘質物と卵とを分離する方法を見出した。取り出した卵巣を30～90℃の水に1～60分間浸漬しハタハタ卵巣由来の粘質物と卵を分離する方法を確立した。分離された粘質物が付着していない柔らかなハタハタの卵は魚卵加工品としての利用が可能である。また、分離された粘質物は熱安定性に優れたタンパク質を含有し飲食物用増粘剤としての利用が可能である。

## 6 発明の名称：新規酵母及びそれを用いた清酒の製造方法

発明者：渡辺誠衛、新野葉子、中田健美

特許番号：特許第4491563

登録日：平成22年4月16日

### 【要約】

〔課題〕

清酒の製造に用いる酵母であって、3K8-157A株に由来し、20%エタノール存在下で生育可能であり、かつ親株由来のアルコール発酵能と香気生成能を有し、有機酸組成が親株より高い清酒酵母（KMA L-35株）を提供すると共に、当該酵母を用いて香りと味が良好な清酒を効率よく製造する方法を提供することを目的としている。

〔解決手段〕

清酒醸造において、親株由来の香味をバランスよく生成し、かつ、有機酸組成が親株より高い清酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* KMA L-35株（NITE AP-4）、並びに、当該酵母を使用する清酒の製造法。



## 5. 学会発表要旨(31件)

### 1) 発表学会：第76回日本生化学会東北支部大会

発表日と場所：2010年5月8日、コラッセ福島（福島市）

演題名：昆虫細胞-バキュロウイルス発現系におけるアスパルティックプロテアーゼについて

発表者：小野洋輝, 後藤猛, 菊地賢一 (秋田大学・工学資源),  
葺澤悟 (国際農研セ), 高橋砂織 (秋田県総食研セ)

### 2) 発表学会：第16回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2010年5月28日、秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：Sf-9 昆虫細胞-バキュロウイルス発現系におけるアスパルティックプロテアーゼの生成挙動と特性解析

発表者：小野洋輝, 後藤猛, 菊地賢一 (秋田大学・工学資源),  
葺澤悟 (国際農研セ), 高橋砂織 (秋田県総食研セ)

### 3) 発表学会：第16回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2010年5月28日、秋田県総合食品研究センター（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) 遺伝子のゲノムライブラリーからの単離

発表者：葺澤 悟 (独法国際農林水産業研究セ)、高橋砂織 (秋田県総食研セ)

### 4) 発表学会：第49回日本生体医工学会大会

発表日と場所：2010年6月25日、大阪国際交流センター(大阪市)

演題名：Study on evaluation of food by ERP —P300 in the case while changing the number of displayed pictures corresponding to each opinion—

発表者：○Tomohiro Honma\*、Motoshi Tanaka\*、Hiroshi Inoue\*、Yoshitsugu Niiyama\*、  
Takahashi Toru\*\*、Masanori Kumagai\*\*、Yoshinobu Akiyama\*\*\*

(\*Akita University、\*\*Akita Research Institute for Food and Brewing、\*\*\*Akita Prefectural University)

### 5) 発表学会：第24回キッチン・キットサン・シンポジウム

発表日と場所：2010年7月13日、東京大学（東京都文京区）

演題名：バキュロウイルス感染昆虫細胞(Sf-9)由来キチナーゼの反応特性

発表者：水原麻美子, 後藤 猛\*, 高橋砂織\*\*, 深溝 慶 (近畿大院・農・バイオ,  
\*秋田大院・工学資源, \*\*秋田県・総食研セ)

**6) 発表学会:第13回日本光脳機能イメージング研究会**

発表日と場所:2010年7月24日、星陵会館(東京都)

演題名: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

発表者:○熊谷昌則\*、高橋徹\*、秋山美展\*\*

(\*秋田県総合食品研究センター、\*\*秋田県立大学)

**7) 発表学会:平成22年度電気関係学会東北支部連合大会**

発表日と場所:2010年8月26日、八戸大学(青森県八戸市)

演題名:ケーキを例とした食品の好み評価時のERP計測

発表者:○田中元志、本間智大、井上 浩、新山喜嗣、高橋 徹\*、熊谷昌則\*、  
秋山美展\*\*

(秋田大学、\*秋田県総合食品研究センター、\*\*秋田県立大学)

**8) 発表学会:The 23rd Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2010)**

発表日と場所:2010年9月2日、北海道大学(札幌市)

演題名:Lupeol reduces lipid synthesis in adipocyte and hepatocyte

発表者:Keishi Hata<sup>1</sup>, Junichiro Takahashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food & Brewing (ARIF), Akita, 010-1623, Japan,

<sup>2</sup>Skylight Biotech. Inc., Akita, 010-0911, Japan

**9) 学会発表:日本食品科学工学会第57回大会**

発表日と場所:2010年9月2日、東京農業大学(東京都)

演題名:麴菌株ライブラリー活用による米味噌のイソマルトース増加効果

発表者:渡辺隆幸、佐藤恵里、佐々木康子(秋田県総食研セ)、  
佐藤勉、瓜生摂、今野宏((株)秋田今野商店)

**10) 発表学会:第57回日本食品科学工学会大会**

発表日と場所:2010年9月2日、東京農業大学(東京都)

演題名:レニン活性に及ぼすサポニン類の影響について:構造機能相関解析

発表者:高橋砂織、堀 一之、保莉美佳、後藤 猛<sup>1</sup>

(秋田県総食研セ、<sup>1</sup>秋田大学工学資源)

**11) 発表学会：日本食品科学工学会第 57 回大会**

発表日と場所：2010 年 9 月 2 日、東京農業大学（東京都）

演題名：低グルテリン米の特徴について

発表者：○大能俊久、戸松誠、高畠聡、塚本研一（秋田県総食研セ）

**12) 発表学会：第 10 回食品酵素化学研究会学術講演会**

発表日と場所：2010 年 9 月 4 日、大阪府立大学（大阪府堺市）

演題名：バキュロウイルス・昆虫細胞におけるヒトレニンの効率的生産と  
それを用いた阻害物質探索について

発表者：高橋砂織<sup>1</sup>、堀 一之<sup>1</sup>、安和広乃<sup>2</sup>、菊地賢一<sup>2</sup>、後藤 猛<sup>2</sup>

（<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>秋田大・工学資源）

**13) 発表学会：生体医工学シンポジウム 2010**

発表日と場所：2010 年 9 月 10 日、北海道大学

演題名：ERP を指標とした食品評価に関する実験的検討 ― 瓶を例とした外観評価―

発表者：○田中元志†、本間智大†、井上 浩†、新山喜嗣‡、高橋 徹\*、

熊谷昌則\*、秋山美展\*\*

（†秋田大学大学院工学資源学研究科、‡秋田大大学院医学系研究科、\*秋田県総合食  
品研究センター\*\*秋田県立大学生物資源科学部）

**14) 発表学会：2010 日本感性工学会年次大会**

発表日と場所：2010 年 9 月 13 日 東京工業大学（東京都）

演題名：地域特産品開発における感性マーケティング手法の利用の検討

発表者：○高畠 聡（秋田県総食研セ）

**15) 発表学会：第 57 回日本栄養改善学会学術総会**

発表日と場所：2010 年 9 月 11 日、女子栄養大学（埼玉県坂戸市）

演題名：タンパク質加工食品が様々な溶媒の味質に及ぼす影響に関する客観的評価

発表者：○田端 宏充<sup>1</sup>、熊谷 昌則<sup>2</sup>、吉田 智<sup>3</sup>、鈴木 靖志<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>サラヤ株式会社 バイオケミカル研究所、<sup>2</sup>秋田県総食研セ<sup>3</sup>、東京サラヤ株式会社  
栄養ケア推進室）

**16) 発表学会：日本応用糖質科学会平成 22 年度大会（第 59 回）**

発表日と場所：2010 年 9 月 15 日、グランシップ（静岡市）

演題名：二重変異体米胚乳澱粉の物理化学特性

発表者：高橋徹<sup>1</sup>、安東竜一<sup>2</sup>、花城勲<sup>3</sup>、熊谷昌則<sup>1</sup>、中村保典<sup>4</sup>、藤田直子<sup>4</sup>（秋田総  
食研セ<sup>1</sup>、日本食品化工<sup>2</sup>、鹿児島大・農<sup>3</sup>、秋田県立大<sup>4</sup>）



**17) 発表学会：第6回 D-アミノ酸研究会**

発表日と場所：2010年9月17日、富山国際会議場（富山市）

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）遺伝子のゲノムライブラリーからの単離、及び生産菌の全ゲノムシーケンス

発表者：葦澤悟<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>2</sup>（<sup>1</sup>国際農水研究セ、<sup>2</sup>秋田県総食研セ）

**18) 発表学会：第6回 D-アミノ酸研究会**

発表日と場所：2010年9月17日、富山国際会議場（富山市）

演題名：肺胞上皮細胞における Protein L-isoaspartyl/D-aspartyl methyltransferase 遺伝子ノックダウンは epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)を誘導する

発表者：小笠原正人<sup>1</sup>、戸田年総<sup>2</sup>、重本和宏<sup>2</sup>、葦澤悟<sup>3</sup>、高橋砂織<sup>4</sup>、山内広平<sup>5</sup>  
（<sup>1</sup>愛媛大学・医、<sup>2</sup>東京都健康長寿医療センター、<sup>3</sup>国際農林水産業研究セ、

<sup>4</sup>秋田県総食研セ、<sup>5</sup>岩手医大・医）

**19) 学会発表：2011年度日本機会学会東北支部第46期秋季講演会**

発表日と場所：2010年9月24日、秋田大学（秋田市）

演題名：乾式微粉碎した杉材の酵素糖変換・エタノール変換の研究

発表者：梅澤 俊策、小林 淳一、高橋 武彦、伊藤 一志、伊藤 新（秋田県立大学）進藤 昌（秋田県総食研セ）

**20) 発表学会：第62回日本生物工学会大会**

発表日と場所：2010年10月29日、ワールドコンベンションセンターサミット（宮崎県宮崎市）

演題名：清酒の呈味に関係するアミノ酸代謝産物に及ぼすフィチン酸の影響

発表者：○高橋 仁（秋田総食研セ）、  
佐々木公太、伊藤俊彦、岩野君夫（秋田県大）

**21) 発表学会：第8回糸状菌分子生物学コンファレンス**

発表日と場所：2010年11月18日、広島大学（東広島市）

演題名：ストレス応答 mRNA 変動解析による麴菌（*Aspergillus oryzae*）の機能的な外来性遺伝子探索

発表者：小笠原博信<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>1</sup>、五味勝也<sup>2</sup>  
（<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>東北大院農・生物産業創成）

**22) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会**

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

演題名：レニン阻害サポニン：構造・機能相関解析

発表者：高橋砂織、堀 一之、後藤 猛\*、杉山俊博\*\*

(秋田県総食研セ、\*秋田大学・工学資源、\*\*秋田大学・医学部)

**23) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会**

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

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)

遺伝子のゲノムライブラリーからの単離

発表者：葦澤 悟（独法国際農林水産業研究セ）、高橋砂織（秋田県総食研セ）

**24) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会**

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

演題名：Protein isoasparatyl methyltransferase gene knock down induced human alveolar epithelial to mesenchymal cell transition through endoplasmic reticulum stress

発表者：小笠原 正人<sup>1</sup>、戸田 年総<sup>2</sup>、葦澤 悟<sup>3</sup>、前山 一隆<sup>1</sup>、高橋 砂織<sup>4</sup>、  
山内 広平<sup>5</sup>

<sup>1</sup>愛媛大・院医学系研究科・薬理学、<sup>2</sup>東京都老人総合研究所、

<sup>3</sup>国際農林水産研究セ、<sup>4</sup>秋田県総食研セ、<sup>5</sup>岩手医科大学・内科

**25) 学会発表：日本エネルギー学会 第 6 回バイオマス科学会**

発表日と場所：2011 年 1 月 13 日、大阪大学（吹田市）

演題名：セルロース系バイオマスからの 2 段階発酵法によるバイオエタノール生産

発表者：進藤 昌、西田孝伸（秋田県総食研セ）

**26) 発表学会：The 8th International Aspergillus Meeting (Asperfest8)**

**The 26th Fungal Genetics Conference (FGC26)**

発表日と場所：2011 年 3 月 14 日、16 日、Asilomar Conference Center

(Asilomar, Pacific Grove, CA, USA)

演題名：Exploratory survey for potential transposable elements in

*Aspergillus oryzae* by a stress-fluctuation cDNA browser.

発表者：Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Saori Takahashi<sup>1</sup>, and Katsuya Gomi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Akita Res. Inst. Food and Brewing,

<sup>2</sup> Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

**27) 発表学会：日本農芸化学会 2011 年度大会**

発表日と場所：2011 年 3 月 26 日、京都女子大学（京都市）

演題名：mRNA 変動解析による麹菌 (*Aspergillus oryzae*) のストレス応答遺伝子の探索

発表者：○小笠原博信<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>1</sup>、五味勝也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>東北大院農・生物産業創成)

**28) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会**

発表日と場所：2011 年 3 月 26 日、京都女子大学（京都市）

演題名：セルラーゼ高発現 *Pichia pastoris* を用いた C B P によるセルロースからの直接バイオエタノール生産

発表者：進藤 昌、竹本 浩、増田祥子、高橋優斗、丸山道子<sup>1</sup>、五十嵐圭日子<sup>1</sup>、  
鮫島正浩<sup>1</sup>（秋田県総食研セ、<sup>1</sup>東大院農生科）

**29) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会**

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：メイラード反応生成物によるアルコール発酵阻害機構の検証

発表者：西田 孝伸<sup>1</sup>、○戸松 さやか<sup>1</sup>、佐々木 美希子<sup>1</sup>、三橋 秀一<sup>2</sup>、林 礼子<sup>2</sup>、  
進藤 昌<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋田総食研セ、<sup>2</sup>バイオエタノール研究組合）

**30) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会**

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：バイオマス糖化液におけるアルコール発酵阻害機構の解明

発表者：西田 孝伸<sup>1</sup>、戸松 さやか<sup>1</sup>、佐々木 美希子<sup>1</sup>、上村 毅<sup>2</sup>、進藤 昌<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋  
田総食研セ、<sup>2</sup>JXエネルギー中研）

**31) 発表学会：2011 年度日本農芸化学会大会**

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：米由来レニン阻害物質の同定と構造機能相関解析

発表者：高橋砂織<sup>1</sup>、常盤野哲生<sup>2</sup>、畠 恵司<sup>1</sup>、小玉郁子<sup>3</sup>、保莉美佳<sup>1</sup>、  
鈴木奈緒<sup>1</sup>、吉澤結子<sup>2</sup>、後藤 猛<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>秋田県立大学・生物資源、

<sup>3</sup>秋田県農林水産技セ・農業試験場、<sup>4</sup>秋田大学大学院・工学資源)

## 1) 発表学会：第76回日本生化学会東北支部大会

発表日と場所：2010年5月8日、コラッセ福島（福島市）

演題名：昆虫細胞-バキュロウイルス発現系におけるアスパルティックプロテアーゼについて

発表者：小野洋輝，後藤猛，菊地賢一（秋田大学・工学資源），

菫澤悟（国際農研セ），高橋砂織（秋田県総食研セ）

【緒言】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，昆虫細胞やバキュロウイルスの遺伝子にコードされている内在性プロテアーゼにより，目的タンパク質の収量の低下が懸念される。このため，効率的なタンパク質生産のために，これら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り，ペプスタチンにより強く活性阻害を受けるプロテアーゼ（SAP）の特性解析を行ったので報告する。

【実験方法】指数期の 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を感染多重度(MOI) 1 pfu/cells で感染させ，28°Cで攪拌培養を開始した。感染6日目の培養液を回収し，Pepstatin-aminohexyl Sepharose, DEAE-Sepharose FF,および Superdex-200 カラムクロマトグラフィーにより SAP の精製を行った。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-NH<sub>2</sub> (\*想定されるペプチド結合切断部位)を用い，37°Cで反応後，蛍光強度（励起波長 328 nm，測定波長 393 nm）を測定した。

【結果と考察】SAP の細胞外活性は，感染培養の経過に伴ってゆるやかに上昇し，細胞が死滅する培養6日目に大きく増加した。そこで，感染6日目の培養液 200 ml から SAP の精製を試み，3段階のクロマトグラフィーで約 29 μg の精製 SAP を得た。精製 SAP の分子量はゲル濾過法により 37 kDa, また SDS-PAGE で 42 kDa と求められた。これより SAP は単量体で存在することが示された。SAP の N 末端 25 残基のアミノ酸配列を解析した結果，SAP はカイコやショウジョウバエ由来のカテプシン D と同源性が認められた。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。また，pH 3.0 における同基質に対する *K<sub>m</sub>* 値は約 1 μM と求められた。一方，SAP に対する各種プロテアーゼ阻害剤の影響を検討した結果，SAP はペプスタチンによってのみ著しく活性が阻害されたことから，アスパルテックプロテアーゼファミリーに属することが示された。また，ペプスタチンの SAP に対する *K<sub>i</sub>* 値は 25 fM と求められた。

## 2) 発表学会：第16回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2010年5月28日、秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：Sf-9 昆虫細胞-バキュロウイルス発現系におけるアスパルティックプロテアーゼの生成挙動と特性解析

発表者：小野洋輝，後藤猛，菊地賢一（秋田大学・工学資源），

菫澤悟（国際農研セ），高橋砂織（秋田県総食研セ）

【緒言】組換えタンパク質の異種発現系としては，大腸菌，酵母や動物細胞での発現系が知られている。我々はこれらの発現系を用いて組換え型ヒトレニンの発現を試みた[1]。その結果，大腸菌では発現タンパク質が封入体を形成することから活性型酵素を得るには可溶化と巻き戻しが必要であった。また，酵母や動物細胞発現系においてはその発現量に問題があった。一方，昆虫細胞-

バキュウウイルス発現系における組換え型ヒトレニン生産系では、内在性活性化酵素の存在により培養後期に活性型レニンが培地中に蓄積することを見出した [2-5]。しかし、培養最後期には目的タンパク質の収量が低下する傾向が見られた。そこで本研究では、内在性プロテアーゼの一つでペプスタチンにより強く活性阻害を受けるアスパルティックプロテアーゼ (SAP) の特性解析を行った。

【実験方法】指数期の 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を感染多重度(MOI) 1 pfu/cells で感染させ、28°Cで攪拌培養を開始した。感染 6 日目の培養液を回収し、Pepstatin-aminohexyl Sepharose, DEAE-Sepharose FF,および Superdex-200 カラムクロマトグラフィーにより SAP の精製を行った。SAP の活性値測定には蛍光自己消光基質を用い、37°Cで反応後、蛍光強度 (励起波長 328 nm, 測定波長 393 nm) を測定した。

【結果と考察】培養液中の SAP 活性は、感染培養に伴ってゆるやかに上昇し、細胞が死滅する培養 6 日目に急激に増加した。そこで、感染 6 日目の培養液から SAP の精製を試みた。200 ml の培養液から約 29  $\mu$ g の精製 SAP を得た。精製 SAP の分子量はゲル濾過法により 37 kDa, また SDS-PAGE で 42 kDa と求められた。よって、SAP は単量体で存在することが示唆された。N 末端アミノ酸配列の BLAST 解析の結果、SAP はカイコやショウジョウバエ由来のカテプシン D と高い相同性が認められた。SAP の至適 pH は 3.0 で、同 pH における  $K_m$  値は約 1  $\mu$ M と求められた。各種プロテアーゼ阻害剤の影響を検討した結果、SAP はペプスタチンによってのみ阻害が確認された。このことから SAP は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。また、SAP 活性におよぼすペプスタチンの濃度依存性について分析を行った結果、SAP の 50%阻害値は 38 pM と求められ、ペプスタチンの SAP に対する  $K_i$  値は 25 fM と求められた。

【参考文献】 1) Takahashi S. *et al. Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **70**, 2918-2918 (2006), 2) Takahashi S. *et al. ibid*, **72**, 3232-3236 (2008), 3) Gotoh T., *et al. ibid*, **74**, 370-374 (2010), 4) Gotoh T. *et al. Biochemical Engineering Journal*, **43**, 216-220 (2009), 5) Gotoh T. *et al. Journal of Chemical Engineering of Japan*, in press

### 3) 発表学会：第 16 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2010 年 5 月 28 日、秋田県総合食品研究センター (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) 遺伝子のゲノムライブラリーからの単離

発表者：菘澤 悟 (独法国際農林水産業研究セ)、高橋砂織 (秋田県総合食品研究セ)

【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<sup>1)</sup>。今回我々は、PCR 法により取得した paenidase 遺伝子の塩基配列を再確認するために、ゲノムライブラリーより遺伝子を単離し、その配列を調べた。

【方法】*Paenibacillus* sp. B38 株よりゲノム DNA を単離し、超音波破碎装置を用いて約 4 kb のサイズになるように断片化したのち、プラスミド DNA pUC118 に結合してゲノムライブラリーを作成した。つぎに、得られたプラスミドを大腸菌 DH10B 株に導入し、コロニー-PCR 法により目的



配列を含むクローンをスクリーニングした。

【結果及び考察】ライブラリーの評価のために、大腸菌コロニーから 16 個のクローンを選択し、これらに含まれるインサートのサイズをアガロースゲル電気泳動により確認したところ、3-5 kb のインサートが 70% 以上を占めることがわかった。ゲノムライブラリーから Paenidase 遺伝子を含むクローンをスクリーニングしたところ、3,804bp のインサートを持つプラスミド (pUC118/K19) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、PCR 法により得られた塩基配列と比較したところ、翻訳領域では塩基の違いはなかったが、5'側の非翻訳領域で配列が組み換わっていた。そこで、再度 5'側の非翻訳領域を含むクローンをスクリーニングしたところ、4,071bp のインサートを持つプラスミド (pUC118/64) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、pUC118/K19 の塩基配列と矛盾がないことを確認した。今回解析した領域には paenidase 遺伝子を含めて構造遺伝子が 4 種類存在すると推定された。Paenidase 以外の遺伝子は、それぞれ *Clostridium cellulolyticum* 由来 Cellulosome anchoring protein (30%)、*Brevibacillus brevis* 由来 ATPase 様タンパク質 (73%)、同由来 4-aminobutyrate aminotransferase 様タンパク質 (48%) と相同性があった。

#### 【参考文献】

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

#### 4) 発表学会:第 49 回日本生体医工学会大会

発表日と場所:2010 年 6 月 25 日、大阪国際交流センター(大阪市)

演題名:Study on evaluation of food by ERP —P300 in the case while changing the number of displayed pictures corresponding to each opinion—

発表者:○Tomohiro Honma\*, Motoshi Tanaka\*, Hiroshi Inoue\*, Yoshitsugu Niiyama\*,  
Takahashi Toru\*\*, Masanori Kumagai\*\*, Yoshinobu Akiyama\*\*\*

(\*Akita University, \*\*Akita Research Institute for Food and Brewing, \*\*\*Akita Prefectural University)

1. はじめに 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。これまでの結果では、評価語に対応する画像の枚数の組み合わせによって評価語の順(とても好き、次に好き、普通に好き)と P300 の大きさの順が一致しない場合があった。また、課題が難しいと P300 振幅が小さくなるとの報告がある。そこで本研究では、食品評価時に与える課題検討のために、各評価語に対応する画像の枚数を変えた課題の難しさによる効果について検討した。

2. 実験方法 評価用画像には、ケーキの写真画像 10 枚とし、その中から各実験前に、とても好きなもの、次に好きなもの、普通に好きなものを、被験者にそれぞれ選ばせた。Exp. A は文献[1]で用いた組み合わせと同じとした。Exp. B は、画像総数を Exp. A と同じ 5 枚とし、「次に好き」の評価が難しくなるように 2 枚とした。Exp. C は文献[2]で用いた組み合わせであり、3 課題中もっとも難しいと考えられる。被験者には、3 段階好み尺度で評価するボタン押し課題を与えた。被験者数は 30 名(18~25 歳)で、同意を得たうえで実験を行った。

3. 結果と検討 Exp. A では、P300 が画像提示後 250~500ms に現れており、この範囲の加算平均波形の面積(積分値)を P300 面積と定義した。電極位置 Pz の Exp. A~C の P300 面積(被験者毎に最大値で正規化)の結果(平均値と標準偏差)、Exp. A では、「とても好き」と評価したときの面積が最も大きく、



文献[1]の傾向と一致した。Exp. B では、各評価語間の面積の差が小さくなっており、Exp. A と比べて難しく感じたものと考えられる。Exp. C では、「次に好き」のときに最も小さく、文献[2]と同様な結果である。これらの結果から、好み評価時は「とても好き」1 枚、「次に好き」1 枚を被験者に評価させる課題がよいと考えられる。

#### 5) 発表学会：第 24 回キチン・キトサン・シンポジウム

発表日と場所：2010 年 7 月 13 日、東京大学（東京都文京区）

演題名：バキュロウイルス感染昆虫細胞(Sf-9)由来キチナーゼの反応特性

発表者：水原麻美子，後藤 猛\*，高橋砂織\*\*，深溝 慶（近畿大院・農・バイオ，

\*秋田大院・工学資源，\*\*秋田県・総食研セ）

#### **Expression and characterization of chitinase produced by Baculovirus(AcMNPV)-infected Sf-9 insect cell expression system.**

Mamiko Mizuhara, Takeshi Gotoh\*, Saori Takahashi\*\*, Tamo Fukamizo

Department of Advanced Bioscience, Kinki University, 3327-204 Nakamachi, Nara 631-8505, Japan

E-mail:fukamizo@nara.kindai.ac.jp

Baculovirus(AcMNPV)-infected Sf-9 cells produced chitinase in the late stage of cultivation. The chitinase was purified nearly homogeneity by single step pepstatin-aminohexyl-Sepharose column chromatography. The purified chitinase showed single protein band on SDS-PAGE with the weight of 65,000. The N-terminal sequence of the enzyme was identical to chitinase from AcMNPV gene. The enzyme was found to hydrolyze the second glycosidic linkage of (GlcNAc)<sub>6</sub> producing (GlcNAc)<sub>2</sub> and (GlcNAc)<sub>4</sub>. The transglycosylation products were also detected in the reaction mixture of the oligosaccharide substrates. The mode of action of the AcMNPV chitinase was similar to that of bacterial and fungal family GH-18 chitinases.

これまでに、バキュロウイルス・昆虫細胞発現系において組換え型ヒトプレプロレニンが大量に発現されること、また培養後期において AcMNPV 由来のキチナーゼが付随して発現されることをみだしている。本研究では、ここで得られた AcMNPV 由来キチナーゼ (AcMNPV-Chi) の加水分解様式を調べることを目的とした。AcMNPV-Chi によるヘキサオリゴ糖加水分解の経時変化を HPLC で調べた結果、(GlcNAc)<sub>6</sub> の非還元末端から二番目のグリコシド結合が優先的に加水分解され、(GlcNAc)<sub>2</sub> と (GlcNAc)<sub>4</sub> を生成することがわかった。また反応生成物の MALDI-TOF-MASS 分析を行ったところ、有意な量の糖転移反応生成物を検出した。これらの結果は、これまでに調べられている微生物由来 Family GH-18 キチナーゼの加水分解様式と非常に類似しており、アミノ酸配列の相同性と矛盾のない結果が得られた。

#### 6) 発表学会：第13回日本光脳機能イメージング研究会

発表日と場所：2010 年 7 月 24 日、星陵会館（東京都）

演題名：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

発表者：○熊谷昌則\*、高橋徹\*、秋山美展\*\*

(\*秋田県総合食品研究センター、\*\*秋田県立大学)

食品のおいしさなどといった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って抽出するのが一般的である。しかしながら、客観性などに欠ける場合があり、代替法の開発が求められている。そこで我々は、食品評価時における被験者の嗜好を、脳血流変化を指標として、大脳表層から直接、読み取れないかどうか検討している。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。

#### 7) 発表学会:平成 22 年度電気関係学会東北支部連合大会

発表日と場所:2010 年 8 月 26 日、八戸大学(青森県八戸市)

演題名:ケーキを例とした食品の好み評価時の ERP 計測

発表者:○田中元志、本間智大、井上 浩、新山喜嗣、高橋 徹\*、熊谷昌則\*、秋山美展\*\*

(秋田大学、\*秋田県総合食品研究センター、\*\*秋田県立大学)

1. まえがき 事象関連電位(ERP)を指標とした食品評価法の開発を目的とし、寿司や酒瓶などの写真画像を提示して、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。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。また、「とても好き」と評価したときに P300 面積は最も大きくなった。本稿では、他の食品の例としてケーキを取り上げ、その画像を提示して、好み(好き)の程度を 3 段階の評価語で評価させたときの ERP を、女性と男性について測定したので報告する。
2. 実験方法 ケーキ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 枚の計 5 枚を選ばせ、実験に用いた。被験者には、画像が提示されたらすぐに、「とても好き(評価値 3)」、「次に好き(2)」、「普通に好き(1)」の 3 段階尺度で評価し、各評価語に対応するボタンを押すように指示した。
3. 結果と検討 P300 の振幅は女性の方が全体的に大きい傾向がみられた。潜時約 300 ms のピークは画像提示に関連する P3a と考えられるが、評価によって振幅に違いがみられる場合があった。そこで、各被験者について、加算平均波形の潜時 250~500 ms の面積(P300 面積)を抽出した。被験者によって最大面積は異なるので、被験者毎に最大値で正規化を行った。男性の結果では、評価による違いが小さかった。この点についての検討は今後の課題である。男女どちらの場合においても好みの違いによって P300 面積は異なり、とても好きと評価したときに最も大きい被験者が多く、これまでの実験結果と同様の結果となった。

#### 8) 発表学会:The 23rd Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2010)

発表日と場所:2010 年 9 月 2 日、北海道大学(札幌市)

演題名:Lupeol reduces lipid synthesis in adipocyte and hepatocyte

発表者:Keishi Hata<sup>1</sup>, Junichiro Takahashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food & Brewing (ARIF), Akita, 010-1623, Japan,

<sup>2</sup>Skylight Biotech. Inc., Akita, 010-0911, Japan

Lupeol, a lupane triterpenes is widely distributed in plant kingdom. In our previous study, lupeol was found to suppress the accumulation of visceral adipose tissue by normalizing the serum lipoprotein profiles in high fat-diet fed mice. In the present study, we studied the effects of lupeol on lipid synthesis in adipocyte and hepatocyte.

Lupeol inhibited the TG accumulation in mature adipocytes. 3T3-L1 cell differentiation is regulated by some transcription factors such as C/EBP- $\alpha$ , and adipogenic enzymes were up-regulated as downstream effectors of these transcription factors in cell differentiation. Lupeol significantly attenuated adipogenic transcription factors and enzymes such as C/EBP- $\alpha$  and FAS, at mRNA level in mature 3T3-L1 cells. Lupeol inhibited both TG and cholesterol secretion from HepG2 cells without affecting cell viability. We examined whether lupeol affects the expression of various genes required for TG and cholesterol synthesis in HepG2 cells. As the results, lupeol markedly reduced the lipogenic and cholesterologenic transcription factors and enzymes in HepG2. Furthermore, lupeol attenuated the gene expression of apoB-100; however, the suppression of apoA-1 in HepG2 cells by lupeol was weak.

## 9) 学会発表：日本食品科学工学会第 57 回大会

発表日と場所：2010 年 9 月 2 日、東京農業大学（東京都）

演題名：麴菌株ライブラリー活用による米味噌のイソマルトース増加効果

発表者：渡辺隆幸、佐藤恵里、佐々木康子、佐藤勉<sup>1</sup>、瓜生摂<sup>1</sup>、今野宏<sup>1</sup>

（秋田県総食研センター、<sup>1</sup>（株）秋田今野商店）

【目的】イソマルトースは米味噌の糖類でグルコースに次いで 2 番目に多い糖であり、穏やかな甘みを有することから、特に甘口味噌では味に重要な影響を与えられとされる。

種麴メーカーと共同で構築中の麴菌ライブラリーを活用、糖転移活性が期待できる  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の高い麴菌株を選択、米味噌のイソマルトース含量増加を試みた。

【方法】シャーレを用いた米麴の製造試験を実施し  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の高い菌株の選択を行った。選択した活性の高い麴菌株を用い原料米 1kg 規模の製麴試験、および仕込み総重量 3kg 規模の味噌製造試験を実施した。糖分析システム（ダイオネックス社）による糖組成の経時的分析と熟成終了時の官能検査を実施した。

【結果】米麴 139 点の  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性は平均値 0.153u/g であり最大値を示した AOK139 の活性は 0.564u/g であった。 $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の高さと酵素バランスから選択した 7 株

（AOK51、AOK52、AOK139、AOK209、AOK214、AOK232、AOK233 についての味噌製造試験を実施した結果、最も  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の高い AOK139 を用いた味噌のイソマルトース含量は 2.61% であり、対照（市販種麴）の 1.76% よりも増加していることが認められた。AOK139 を用いた味噌は官能検査の結果、風味の向上効果が認められた。熟成途中の糖組成の変化についても報告する。

#### 10) 発表学会：第 57 回日本食品科学工学会大会

発表日と場所：2010 年 9 月 2 日、東京農業大学（東京都）

演題名：レニン活性に及ぼすサポニン類の影響について：構造機能相関解析

発表者：高橋砂織、堀 一之、保莉美佳、後藤 猛<sup>1</sup>

（秋田県総合食品研究センター、<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部）

【目的】レニン・アンギオテンシン系は、哺乳類で最も重要な血圧調節系である。その中でもレニンは律速酵素として要の位置を占めている。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行われて来た。しかしながら、レニンに関しては酵素入手や活性測定の高難雑さなどから、食物由来阻害物質の探索は殆ど行われていなかった。本研究では、バキュロウイルス・Sf-9 昆虫細胞培養系を用いて発現したヒト組換え型レニン及びその特異的基質を用いて食物由来レニン阻害物質探索系を構築した。また、ダイズより見出されたレニン阻害物質であるソヤサポニン I を基本とし、各種サポニン類によるレニン阻害活性を検討し、構造機能相関について検討を行った。

【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 Sf-9 昆虫細胞に多重感染させ、組換え型ヒトレニンを培地中に発現させた。活性型レニンの生産が確認された培養最後期の培地を用いて 2 段階のクロマトグラフィーによりレニンを精製した。レニン活性測定には新規合成基質(Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu\*Val-Ile-Thr-Lys(Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH<sub>2</sub>)を用いた。

【結果】味噌由来のレニン阻害物質の探索により、ダイズに阻害物質の存在を見出し、その構造をソヤサポニン I と同定した。そこで、各種サポニン類によるレニン阻害を検討した。阻害検定用サポニンおよび関連物質としては、ダイズ（ソヤサポニン I 及び II、ソヤサポゲノール B）、甘草（グリチルリチン酸、グリチルレチン酸）、柴胡（サイコサポニン B2 及び c）、竹節人參（チクセツサポニン類）、薬用人參（ギンセノサイド類）やホオキギ果実由来サポニン（モモルディン類）等を用いた。その結果、ソヤサポニン I・II、グリチルリチン酸及びモモルディン類にはレニン阻害活性が認められた。一方、サポゲノール類、柴胡や薬用人參由来のサポニン類にはレニン阻害が認められなかった。以上の結果及びサポニン類の構造を勘案すると、ゲニンの 3 位にグルクロン酸が結合したグルクロニドサポニンがレニン阻害サポニンであることが示された。

#### 11) 発表学会：日本食品科学工学会第 57 回大会

発表日と場所：2010 年 9 月 2 日、東京農業大学（東京都）

演題名：低グルテリン米の特徴について

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】低グルテリン米は、従来の品種とはタンパク質の構成が異なり、グルテリンが少なくプロラミンが多いとされる。タンパク質の構成比が特殊なことから、低グルテリン米は米飯テクス

チャー等が特殊な性状を示す可能性がある。そこで低グルテリン米の米飯テクスチャー等を明らかにするべく研究を行った。

【方法】 対照品種としてあきたこまち、ミルキークイーン、低グルテリン米として春陽、LGC ソフトを試料とした（いずれも秋田県産）。米粉に SDS、尿素、グリセリン、メルカプトエタノールを含む溶液を加えてタンパク質を抽出し、その遠心上清を SDS-PAGE に供した。アミロース量は比色による Juliano の簡易定量法で行った。糊化特性試験はラピッドビスコアアナライザーで行った。米飯テクスチャーの測定は、米を水洗いした後米に対して蒸留水を 1.6 倍量加えて炊飯し、テンシプレッサーで硬さと粘りを測定し、バランス度（粘り／硬さ）を算出することで行った。

【結果】 春陽、LGC ソフトは、対照品種に比べてグルテリンが少なく、プロラミンが多いことを SDS-PAGE により確認した。アミロース量は、あきたこまちが 19.8%、ミルキークイーンが 14.8%、春陽が 25.5%、LGC ソフトが 17.9%であった。米飯テクスチャーのバランス度は、あきたこまちが 0.315、ミルキークイーンが 0.380 と高かったのに対して、春陽は 0.263、LGC ソフトは 0.264 であり、低グルテリン米は低い傾向を示した。

## 12) 発表学会：第 10 回食品酵素化学研究会学術講演会

発表日と場所：2010 年 9 月 4 日、大阪府立大学（大阪府堺市）

演題名：バキュロウイルス・昆虫細胞におけるヒトレニンの効率的生産と

それを用いた阻害物質探索について

発表者：高橋砂織<sup>1</sup>、堀 一之<sup>1</sup>、安和広乃<sup>2</sup>、菊地賢一<sup>2</sup>、後藤 猛<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>秋田大・工学資源)

【目的】レニン・アンギオテンシン系(RAS)は、最も解析が進んでいる血圧調節機構の一つである。レニンは、特性の高いアスパルティックプロテアーゼで、主に腎臓の傍糸球体細胞で合成され、種々に刺激で血中に放出される。レニンは、アンギオテンシンノーゲンを唯一の基質とし、不活性デカペプチドであるアンギオテンシン I (AI)を遊離させる。生じた AI は、アンギオテンシン変換酵素(ACE)により C 末端 2 残基が切除され活性型のアンギオテンシン II(AII)となる。AII は、様々な系を介して血圧を上昇させることが知られている。これまで、活性測定が容易な ACE をターゲットとして各種食材より阻害物質の探索が行われてきた。しかしながら、RAS の律速酵素であるレニンに関しては、活性測定法の煩雑さなどにより、食物由来の阻害物質探索研究は殆ど行われて来なかった。そこで、本研究では、組換え型ヒトレニンの昆虫細胞における発現系の構築及びプロレニンの活性化酵素 (PPE) の解析を行った。さらに組換え型レニンを用いた阻害物質探索系を構築するとともに、大豆由来レニン阻害物質の構造を明らかにするとともに、構造機能相関についても検討を行った。

【方法】ヒトプレプロレニンを導入した組換えバキュロウイルスを Sf-9 昆虫細胞に感染させレニンの発現を行った。ヒトレニンおよび PPE の測定には、蛍光消光基質 (Nma-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu\*Val-Ile-Thr-Lys(Dnp)-D-Agr-D-Arg-NH<sub>2</sub>) および (Nma-Leu-Thr\*Leu-Gly-Asn-Lys(Dnp)-D-Agr-D-Arg-NH<sub>2</sub>) (\*, 基質切断部位、(株) ペプチド研究所にて依頼合成) を用いた。

【結果】ヒトプレプロレニンを導入した組換えバキュロウイルスを感染した昆虫細胞においては、



培養初期にプロレニンの発現が観察された。また、感染中期から PPE の発現が確認され、感染後期の培地中には PPE の作用により活性型レニンの蓄積することを見出した。一方、組換え型ヒトレニンをターゲットとして大豆よりレニン阻害物質精製し、その構造をソヤサポニン I と同定した。さらに、各種サポニン類を用いてレニン阻害活性を検討した結果、グルクロニドサポニンがレニン阻害サポニンであることを明らかとした。

#### 【参考論文】

1. Takahashi, S., *et al. Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2610-2613 (2007)
2. Takahashi, S., *et al. ibid.*, **72**, 3232-3236 (2008)
3. Gotoh, T., *et al. ibid.*, **74**, 370-374 (2010)

### 13) 発表学会:生体医工学シンポジウム 2010

発表日と場所:2010年9月10日、北海道大学

演題名:ERPを指標とした食品評価に関する実験的検討－瓶を例とした外観評価－

発表者:○田中元志†、本間智大†、井上 浩†、新山喜嗣‡、高橋 徹\*、熊谷昌則\*、  
秋山美展\*\*

(†秋田大学大学院工学資源学研究科、‡秋田大大学院医学系研究科、\*秋田県総合食品研究センター  
\*\*秋田県立大学生物資源科学部)

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、形状、色など外観が異なる飲み物の瓶を例として、6枚の写真を4段階の評価語で好み評価したときのERPを測定した。その結果、「とても好き」と評価したときにP300面積(潜時250~500ms)が最も大きくなった。他の評価語での違いは小さかったが、とても好きな物を検出できる可能性は得られた。

### 14) 発表学会:2010日本感性工学会年次大会

発表日と場所:2010年9月13日 東京工業大学(東京都)

演題名:地域特産品開発における感性マーケティング手法の利用の検討

発表者:○高畠 聡 (秋田県総合食品研究センター)

#### 1. はじめに

サービスを含めた広い意味での秋田県地域特産品の高付加価値化の試みとして、「経験価値マーケティング」等の感性マーケティング手の利用を検討した。

#### 2. 「感性価値づくり」によるマーケティング手法における地域特産品等の高付加価値化

「感性価値づくり」によるマーケティング手法とは、生活者の感性に働きかけ、共感・感動を得ることで顕在化する価値である「感性価値」に注目し、これを利用しコンセプト構築や商品設計等を行うマーケティング手法である。具体的には、「楽しさ」、「安心感」、「かっこよさ」、「作り手への共感」など、規格やスペック等では表現しにくい要素を付加価値として他商品との差別化等に利用するなどが考えられる。秋田の地域特産品の商品コンセプト構築に、この「感性価値づくり」によるマーケティング手法を感性マーケティング手法のひとつとして、その利用を検討した。

今回の研究では、特に広い意味での地域特産品である宿泊施設の飲食サービスの改善、向上による



地域特産品（サービス）の高付加価値化への利用についても検討した。

表1 秋田県宿泊施設における朝食の経験価値例

| 分類     | 秋田県宿泊施設における朝食の経験価値例  |
|--------|--|
| SENCE  | 炊きたてのご飯の香り<br>芳醇なみそ汁の香り<br>シャキシャキとした漬け物の食感 など  |
| FEEL   | 米産地ならではの限定品種の米飯<br>生産者がわかる原料米、野菜、魚等への安心感<br>「自然豊かな米どころ・あきた」への郷愁 など                   |
| THINK  | 低アミロース米、寒冷地適作、直播き栽培等の米産地ならではの会話から得られるうんちく<br>中山間地等で栽培できる地域特産品種を食することから得られる社会的活動意義 など |
| ACT    | 文化のひとつである地域での食を体験することによるライフスタイルの差別化の自意識 など   |
| RELATE | 伝統的食文化である秋田の朝食を体験し、他の人々に伝えることの出来る喜び、満足感 など   |

#### 4. まとめ

「経験価値設計」手法および「感性価値づくり」によるマーケティング手法により利用による地域特産品の高付加価値化について検討した。経験価値モジュールや感性価値をフレームワークとし、地域特産品やサービスの持っている既存価値の評価視点等を変えることにより、より魅力的な地域特産品やサービスにすることが出来る可能性があることがわかった。

#### 15) 発表学会:第 57 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所:2010年9月11日、女子栄養大学(埼玉県坂戸市)

演題名:タンパク質加工食品が様々な溶媒の味質に及ぼす影響に関する客観的評価

発表者:○田端 宏充<sup>1)</sup>、熊谷 昌則<sup>2)</sup>、吉田 智<sup>3)</sup>、鈴木 靖志<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>サラヤ株式会社 バイオケミカル研究所、<sup>2)</sup>秋田県総合食品研究センター<sup>3)</sup>、東京サラヤ株式会社 栄養ケア推進室)

【目的】高齢者では低栄養状態の予防や改善のために様々な栄養補助食品を用いた栄養介入が行われることが多い。なかでも、粉末状タンパク質加工食品(タンパク食品)は手軽にタンパクや微量栄養素の補給ができるニーズの高い栄養補助食品である。タンパク食品は味噌汁等の食品に添加して摂取することが多いため、食品の味や物性に影響しないものが望ましい。今回、われわれは味覚センサーを用いてタンパク食品を添加した食品の味を測定することにより、味質変化の客観的な評価を試みた。

【方法】市販のタンパク食品 3 種類(大豆・乳清タンパク混合型:A、大豆タンパク主体型:C、乳清タンパク主体型:D)と、混合型(A)からビタミン・ミネラルを除いた試供品のタンパク食品(B)の合計 4 種類をタンパク質として一定濃度になるように味噌汁、お粥、牛乳、乳酸菌飲料、コンソメスープ、お茶などの各食材

に添加した試験液を用いて、味覚センサーで測定を行った。得られたセンサー応答値に対してパターン認識分類を適用し、味質の変化を二次元の呈味マップとして表した。

【結果と考察】マッピングの結果、食材間の味質の差を比較するとタンパク食品を添加したことによる味質変化の度合いは少ないことが示唆された。特に牛乳、乳酸菌飲料、味噌汁ではタンパク食品添加前後の分布が食材毎に集まり、タンパク食品が味質へ及ぼす影響は小さかった。コンソメスープでは D が素材の味質を最も大きく変える傾向が見られ、ポタージュスープでは A、B の順で変化の度合いが少なく、食材によってタンパク食品の適・不適が異なることが示唆された。お粥とお茶は食材の味質パターンに対して、タンパク食品を添加した時の変化の度合いが大きく、それらへの適性は官能試験も含めて判断する必要があると考えられる。

## 16) 発表学会：日本応用糖質科学会平成 22 年度大会（第 59 回）

発表日と場所：2010 年 9 月 15 日、グランシップ（静岡市）

演題名：二重変異体米胚乳澱粉の物理化学特性

発表者：高橋徹<sup>1</sup>、安東竜一<sup>2</sup>、花城勲<sup>3</sup>、熊谷昌則<sup>1</sup>、中村保典<sup>4</sup>、藤田直子<sup>4</sup>（秋田総食研<sup>1</sup>、日本食品化工<sup>2</sup>、鹿児島大・農<sup>3</sup>、秋田県立大<sup>4</sup>）

【目的】我々の研究グループでは澱粉生合成関連酵素が欠損したイネの胚乳変異体米の交配による二重変異体を作成し、得られた米澱粉の構造や物性評価を基に酵素、澱粉構造、物性の関係を明らかにすることで、澱粉生合成メカニズムの全貌解明を目標としている。本研究では、二重変異体米澱粉の物理化学特性について調べた。【方法】すでに単離されているスターチシンターゼ *SSIIIa* 変異体 ( $\Delta SSIIIa$ ) を片親にしたイネ二重変異体およびそれらの親変異体系統の精製米澱粉を分析に用いた。各澱粉の鎖長構造解析、形態観察、粒度分布測定、RVA による糊化特性を測定した。RVA 測定後の糊液 (10wt%) の低温保持時のレオロジー特性を動的粘弾性測定装置によって測定した。【結果】 $\Delta SSIIIa$  を片親にした二重変異体の澱粉粒の形状は丸みを帯びていた。典型的な日本型米の糊化特性曲線を示す日本晴に対して二重変異体米澱粉は粘度上昇温度が高く、加熱時ピーク粘度が非常に低いかピークを持たず、ブレイクダウンも小さい特徴を示し、膨潤・糊化しにくい澱粉であると考えられた。RVA 測定直後の変異体米澱粉糊液は流動しやすかったが、低温保存時の時間経過にしたがい貯蔵弾性率が日本晴の約 10~100 倍まで増大した。この結果から、二重変異体米澱粉は野生型よりも老化が速いことを示唆され、これは特異的な鎖長構造に由来するためと考えられる。本研究はイノベーション創出基礎的研究推進事業（生研センター）にて実施された。

## 17) 発表学会：第 6 回 D-アミノ酸研究会

発表日と場所：2010 年 9 月 17 日、富山国際会議場（富山市）

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) 遺伝子のゲノムライブラリーからの単離、及び生産菌の全ゲノムシーケンス

発表者：菑澤悟<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>2</sup>（<sup>1</sup>国際農水研究センター、<sup>2</sup>秋田県総合食品研究センター）

【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。さらに、これらのD型アミノ酸が様々な病態と関連することが示唆されている。特に、D-アスパラギン酸が注目されており、アミロイドβタンパク質ではアスパラギン酸残基のD型変異がアミロイドタンパク質の凝集を引き起こすことが示唆されている。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 (S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.*, (2006) **139**, 197-202)。今回我々は、PCR法により取得した *paenidase* 遺伝子の塩基配列を再確認するために、ゲノムライブラリーより遺伝子を単離し、その配列を調べた。また、*Paenibacillus* sp. B38 株のもつD型アミノ酸関連酵素を解析するため、全ゲノムシーケンスを行った。【方法】*Paenibacillus* sp. B38 株より単離したゲノムDNAを用いてショットガンライブラリーを作成し、コロニーPCR法により目的配列を含むクローンをスクリーニングした。また、全ゲノムシーケンスにはRoche社製 Genome Sequencer FLX Systemを用いた。さらに、塩基配列及びアミノ酸配列の相同性解析はBLASTを、ペプチダーゼファミリーの分類はMEROPSデータベースを用いて行った。【結果及び考察】スクリーニングの結果、3,804bpのインサートを持つプラスミド (pUC118/K19) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、PCR法により得られた塩基配列と比較したところ、翻訳領域では塩基の違いはなかったが、5'側の非翻訳領域で配列が組み換わっていた。そこで、再度5'側の非翻訳領域を含むクローンをスクリーニングしたところ、4,071bpのインサートを持つプラスミド (pUC118/64) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、pUC118/K19の塩基配列と矛盾がないことを確認した。今回解析した領域には *paenidase* 遺伝子を含めて構造遺伝子が4種類存在すると推定された。*Paenidase* 以外の遺伝子は、それぞれ *Clostridium cellulolyticum* 由来 Cellulosome anchoring protein (30%)、*Brevibacillus brevis* 由来 ATPase 様タンパク質 (73%)、同由来 4-aminobutyrate aminotransferase 様タンパク質 (48%)と相同性があった。次に、次世代シーケンサーを用いて解析したゲノムDNA塩基配列をもとに、各種データベース解析を行ったところ、*Paenibacillus* sp. B38 株ゲノムにはペプチダーゼファミリーS11及びS12に相同性をもつ構造遺伝子がそれぞれ3種類及び7種類存在することが明らかとなった (S12の7種類には *Paenidase* を含む)。また、S13に相同性をもつものはなかった。S11~13の3種類のペプチダーゼファミリーは主にD型アミノ酸関連酵素、ペニシリン結合タンパク質により構成されている。*Paenibacillus* sp. B38 株のもつこれらD型アミノ酸関連酵素について比較解析することは、*Paenidase* の特徴を解明する上で有効であると考えられる。

## 18) 発表学会：第6回 D-アミノ酸研究会

発表日と場所：2010年9月17日、富山国際会議場 (富山市)

演題名：肺胞上皮細胞における Protein L-isoaspartyl/D-aspartyl methyltransferase 遺伝子

ノックダウンは epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) を誘導する

発表者：小笠原正人<sup>1</sup>、戸田年総<sup>2</sup>、重本和宏<sup>2</sup>、菝澤悟<sup>3</sup>、高橋砂織<sup>4</sup>、山内広平<sup>5</sup>

(<sup>1</sup>愛媛大学・医、<sup>2</sup>東京都健康長寿医療センター、<sup>3</sup>国際農林水産業研究センター、

<sup>4</sup>秋田県総合食品研究センター、<sup>5</sup>岩手医大・医)

【背景】 蛋白質中の L 型のアスパラギン残基 (L-Asn) およびアスパラギン酸残基 (L-Asp) は、老化、紫外線などさまざまなストレス刺激において異性化またはラセミ化されておくことが知られている。一方、生体内では、D-Asp または L-isoAsp を L-Asp へ戻す反応を触媒する酵素 protein L-isoasprtyl (D-aspartyl) methyltransferase (PIMT) が存在し、この酵素の欠損マウスは、てんかん発作など脳に障害が認められる。しかしながら、この酵素は脳に活性が高いものの、体内に広く分布している。したがってこの酵素活性の低下は脳以外の臓器においても異性体化あるいはラセミ化した蛋白質の集積あるいは生体への影響が考えられる。

【方法】 肺胞上皮由来の細胞株である A549 細胞に発現する PIMT 遺伝子を shRNA を用いてノックダウンし、上皮系のマーカーである E-cadherin および間葉系のマーカーである Vimentin にて Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) を検討した。また、構造異常を起こした蛋白質による小胞体ストレスの有無を検討した。PIMT 遺伝子をノックダウンすることで認められた蛋白質発現の違いを 2 次元電気泳動で検討した。また、Paenidase I を組み合わせることにより D-Asp の有無についても検討した。蛋白質の同定は飛行時間型質量分析にて行った。

【結果および考察】 A549 細胞に PIMT-shRNA を発現させると PIMT 遺伝子はダウンレギュレーションし、さらに細胞の形態が変化して、繊維芽細胞様の紡錘形の形を示した。上皮系マーカーの E-cadherin は低下し、一方間葉系のマーカーである Vimentin が発現してきた。小胞体ストレスマーカーの発現では GRP78 が有意に上昇し、小胞体ストレスが起こっていることが確認された。Cont-shRNA 発現細胞と PIMT-shRNA 発現細胞の抽出液を 2 次元電気泳動で分析し、変化を示す蛋白質を質量分析で同定すると、新たにレチノイン酸合成に関与する酵素および  $\beta$ catenin の低下を認めた。これらの分子は肺線維症の発症、病気の進行に関与する因子で、PIMT の発現低下が小胞体ストレスを介した EMT による線維化の原因になりうることが示唆された。肺線維症ではヘルペスウイルス群の感染が示唆されており、EBV による PIMT 発現を検討中である。

## 19) 学会発表：2011 年度日本機会学会東北支部第 46 期秋季講演会

発表日と場所：2010 年 9 月 24 日、秋田大学（秋田市）

演題名：乾式微粉碎した杉材の酵素糖変換・エタノール変換の研究

発表者：梅澤 俊策、小林 淳一、高橋 武彦、伊藤 一志、伊藤 新（秋田県立大学）進藤 昌（秋田県総合食品研究センター）

木質系バイオエタノールを製造する際、木材の構成要素であるセルロース、ヘミセルロース、リグニンの中で、セルロースやヘミセルロースを構成単糖にまで加水分解（糖化）し、得られた糖を発酵によりエタノールに変換する必要がある<sup>3)</sup>。しかしながら、木材を用いた並行複発酵の技術は、糖化の際の残渣が発酵を阻害するため確立に至っていない。本研究では、乾式微粉碎により結晶化度を低下させた木材微粉末からバイオエタノールを製造するため、酵素による高濃度糖化と酵母によるエタノール発酵を検討した。エタノール発酵試験は、酵素糖化し得られた木粉残渣を含む糖化液を、固液分離したものと木粉残渣を含んだままのもので実施した。また、糖化と発酵を同時に行う並行複発酵についても同じく試験を行った。その結果、並行複発酵を行った試験において、発酵時間の短縮が観察でき、なお且つエタノールを高収率で得ることができた。



**20) 発表学会：第 62 回日本生物工学会大会**

発表日と場所：2010 年 10 月 29 日、ワールドコンベンションセンターサミット（宮崎県宮崎市）

演題名：清酒の呈味に係るアミノ酸代謝産物に及ぼすフィチン酸の影響

発表者：○高橋 仁（秋田総食研）、佐々木公太、伊藤俊彦、岩野君夫（秋田県大）

【目的】これまで秋田県立大学では、清酒の呈味に係る化合物を探索し、i-ブタノール、i-アミルアルコール、チロソール、 $\beta$ -フェニルエタノール、トリプトホール、コハク酸が関係し、これらの化合物は清酒のもろみ初期の酵母増殖におけるアミノ酸代謝産物であること、もろみ初期のアミノ酸濃度が大きく影響することを明らかにした。もろみ初期におけるアミノ酸濃度は麴から持込まれる量と蒸米タンパク質が麴酵素により分解されて生成する量の合計であるが、麴に由来するアミノ酸量について麴の遊離アミノ酸量とフィターゼ活性が正の相関であることを示した<sup>1)</sup>。本試験では蒸米タンパク質の酵素分解に影響すると報告されているフィチン酸の影響について検討した。

【方法】総米 100 g の 3 段仕込みによる試験醸造を行った。仕込区分は、対照（No.1）、フィチン酸添加（No.2）、フィターゼ添加（No.3）の 3 区分とし、各区分ごとに醗日数 5 日、10 日、15 日、20 日、30 日の成分を分析した。フィターゼはフィターゼ「アマノ」を出発材料として SDS-PAGE 電気泳動で単一バンドを示すまで精製したものを使用した。フィチン酸は和光純薬のフィチン酸 12Na 塩を使用した。

【結果及び考察】フィチン酸添加仕込みはデンプン分解が促進されタンパク質分解が抑えられることが確認された。この理由はフィチン酸添加により  $\alpha$ -アミラーゼの無効吸着が解消され、グルテリンの不溶化が生じたためと推論される。さらに醗初期の発酵が急進しアミノ酸資化量が多く、その代謝産物である i-ブタノール、i-アミルアルコール、コハク酸が増加した。フィターゼ添加仕込みはデンプン分解は対照とほぼ同じであり、純アルコール生成量も対照と同じであることから並行複発酵には影響がないものと思われる。一方、i-ブタノール、i-アミルアルコール、コハク酸は対照と同程度でありながら製成酒のアミノ酸濃度が多いことからタンパク質の分解は促進されたものと判断された。

【参考文献】1) 佐々木公太,伊藤俊彦,中澤伸重,岩野君夫(秋田県大),高橋仁(秋田総食研),日本生物工学会大会講演要旨集,61,87 (2009)

**21) 発表学会：第 8 回糸状菌分子生物学コンファレンス**

発表日と場所：2010 年 11 月 18 日、広島大学（東広島市）

演題名：ストレス応答 mRNA 変動解析による麴菌 (*Aspergillus oryzae*) の  
機能的な外来性遺伝子探索

発表者：小笠原博信<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>1</sup>、五味勝也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>東北大院農・生物産業創成)

【目的】麴菌の活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* は、分生胞子における高濃度の  $\text{Cu}^{2+}$  や高温などのストレス処理によって転移活性を発現する。このとき、*Crawler*-mRNA はスプライシングや poly(A)付加を受けた不完全な分子種が減少しイントロンの全長 mRNA 比率が増加することが認

められ、*Crawler* の機能化（転移活性化）につながることを明らかにしてきた<sup>1)</sup>。そこで、本研究ではゲノムの多様化機構の解明を目的にトランスポゾン *Crawler* をストレス条件下で活性化する外来性遺伝子のモデルとし、全 mRNA のスプライシング変動を比較解析することにより、新たに機能化する外来性遺伝子の探索を行った。

【方法】Cu<sup>2+</sup>ストレス処理後および対照区の分生孢子より total RNA を抽出し、全 cDNA シーケンシングを基に DOGAN のアノテーションデータも加えたストレス応答 cDNA ブラウザーを構築した。アノテーションがなされていない領域を中心に、*Crawler*-mRNA と同様にストレス応答により、強いスプライシング阻害が認められる DNA 配列を抽出し、Blast 検索による解析を行った。

【結果】Chromosome1 の SC009 より *A. niger* の DNA トランスポゾン *Tan1* に相同性の高い配列やレトロトランスポゾンの gag 様配列などが見出された。*Tan1* 様配列は 558 アミノ酸からなる transposase をコードし、42bp の完全な TIR と 2bp (TA) の TSD 配列に囲まれた新規の DNA トランスポゾンであった。*A. oryzae* ゲノム内を検索したところ、7 コピーの完全型、4 コピーの変異型および約 90 コピーの degenerate 型が分布し、多コピーであることから *Crawler* 同様に転移活性化の可能性も示された。

1)農化大会講演要旨集、p284 (2009)

## 22) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

演題名：レニン阻害サポニン：構造・機能相関解析

発表者：高橋砂織、堀 一之、後藤 猛\*、杉山俊博\*\*

(秋田県総合食品研究センター、\*秋田大学・工学資源、\*\*秋田大学・医学部)

【目的】レニンは、主に腎臓中で生合成され様々な刺激で血中に放出され血圧調節を行っている。ヒト型レニンは約 20 年前にその組換え体の作成に成功し、X線結晶構造解析も進んでおり、それを基に抗レニン製剤の開発も行われている。一方、血圧抑制を標榜した特定保健用食品の開発も盛んに行われている。それらは、アンギオテンシン変換酵素を標的としたもので、レニンを標的とした食物由来成分研究は殆ど行われていない。最近、我々はダイズにレニン阻害活性を見出し、その構造をソヤサポニン I と同定した。本研究では、各種サポニン類によるレニン阻害能について検討し、レニン阻害に必須なサポニンの構造を明らかとしたので報告する。

【方法】阻害検定用の組換え型ヒトレニンは、バキュロウイルス・昆虫細胞系を用いて発現し、精製した標品を用いた。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(Dnp)-D-Arg-D-Agr-NH<sub>2</sub>) を用いて測定した。

【結果と考察】サポニン類及び対応するサポゲノール類十数種類を用いてレニン阻害活性を検討した。その結果、ソヤサポニン II およびホウキギ由来サポニン類がソヤサポニン I と同程度の阻害を示した。また、チクセツサポニン、グリチルリチンや MGGA にもレニン阻害活性が認められた。しかしながら、これら以外のサポニン類やサポゲノール類にはレニン阻害活性は認められなかった。阻害を有するサポニン類は、3 位にグルクロン酸が結合しているグルクロニドサポニンであることが示された。



## 23) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

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）遺伝子のゲノムライブラリーからの単離

発表者：葦澤 悟（独法国際農林水産業研究セ）、高橋砂織（秋田県総合食品研究セ）

Paenidase は原核微生物から初めて単離された D 型アスパラギン酸に特異的なエンドペプチダーゼである (S. Takahashi *et al.*, *J. Biochem.* **139**,197, 2006)。今回我々は、PCR 法により取得した paenidase 遺伝子の塩基配列を再確認するために、ゲノムライブラリーより遺伝子を単離し、その配列を調べた。*Paenibacillus* sp. B38 株より単離しゲノム DNA を用いてショットガンライブラリーを作成し、コロニーPCR 法により目的配列を含むクローンをスクリーニングした。その結果、3,804bp のインサートを持つプラスミド (pUC118/K19) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、PCR 法により得られた塩基配列と比較したところ、翻訳領域では塩基の違いはなかったが、5'側の非翻訳領域で配列が組み換わっていた。そこで、再度 5'側の非翻訳領域を含むクローンをスクリーニングしたところ、4,071bp のインサートを持つプラスミド (pUC118/64) を単離した。得られたプラスミドの塩基配列を分析し、pUC118/K19 の塩基配列と矛盾がないことを確認した。今回解析した領域には paenidase 遺伝子を含めて構造遺伝子が 4 種類存在すると推定された。Paenidase 以外の遺伝子は、それぞれ *Clostridium cellulolyticum* 由来 Cellulosome anchoring protein (30%)、*Brevibacillus brevis* 由来 ATPase 様タンパク質 (73%)、同由来 4-aminobutyrate aminotransferase 様タンパク質 (48%) と相同性があった。

## 24) 発表学会：第 83 回日本生化学会・第 33 回日本分子生物学会合同大会

発表日と場所：2010 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド（神戸市）

演題名：Protein isoasparatyl methyltransferase gene knock down induced human alveolar epithelial to mesenchymal cell transition through endoplasmic reticulum stress

発表者：小笠原 正人<sup>1</sup>、戸田 年総<sup>2</sup>、葦澤 悟<sup>3</sup>、前山 一隆<sup>1</sup>、高橋 砂織<sup>4</sup>、山内 広平<sup>5</sup>

<sup>1</sup>愛媛大・院医学系研究科・薬理学、<sup>2</sup>東京都老人総合研究所、

<sup>3</sup>国際農林水産研究セ、<sup>4</sup>秋田県総合食品研究セ、<sup>5</sup>岩手医科大学・内科

Background: A mechanism of epithelial-mesenchymal cell transition (EMT) is potently involved in lung fibrosis. However, pathological findings from lung fibrosis in animal model were not completely compatible with pathological findings from IPF patients. Proteins in the cells were modified with isomerization of L-asparatic acid under aging, UV stress, oxidative stress, chemical compounds. These proteins undergo strutral change resulting in accumulatin of nonfunctional proteins in endoplasmic reticulum(ER). Some of these proteins, however, are recoverd by protein isoasparatyl methyltransferase (PCMT1) to maintain protein structure and functions.Methods: For elucidation of the function of PCMT1 enzyme, A549 cells were transfected to inhibit PCMT1 gene expression utilizing PCMT1 shRNA vector. EMT was evaluated by morphological and biochemical analysis with investigating expression of Vimentin, E-cadherin, GRP78, GRP94, and HSC70. Differential proteomic analysis was performed by 2 dimentional

electrophoresis followed by analysis and identification with TOF-MS or MS/MS analysis. Results: A549 cells with PCMT1 knockdown indicates EMT evaluated by upregulation of vimentin and down regulation of E-cadherin. Cells that had undergone EMT showed enhanced expression of ER stress marker protein GRP78. Furthermore, proteomic analysis identified downregulated proteins including GRP94 and HSC70 and ALDH1A1 that is important enzyme for synthesizing retinoic acid. Conclusion: Our study showed that knockdown of PCMT1 expression induced A549 alveolar epithelial cells to undergo EMT through ER stress. Our data represent the novel mechanism of EMT in lung epithelial cells.

## 25) 学会発表：日本エネルギー学会 第6回バイオマス科学会

発表日と場所：2011年1月13日、大阪大学（吹田市）

演題名：セルロース系バイオマスからの2段階発酵法によるバイオエタノール生産

発表者：進藤 昌、西田孝伸（秋田県総合食品研究センター）

【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 stipits* 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.stipits* 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。

## 26) 発表学会：The 8th International Aspergillus Meeting (Asperfest8)

### The 26th Fungal Genetics Conference (FGC26)

発表日と場所：2011年3月14日、16日、Asilomar Conference Center

(Asilomar, Pacific Grove, CA, USA)

演題名：Exploratory survey for potential transposable elements in

*Aspergillus oryzae* by a stress-fluctuation cDNA browser.

発表者：Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Saori Takahashi<sup>1</sup>, and Katsuya Gomi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Akita Res. Inst. Food and Brewing,

<sup>2</sup> 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 [1]. The mRNA analysis of *Crawler* in the conidiospores revealed that cryptic splicing and premature polyadenylation of the mRNA occurred under the normal culture condition. The increasing in mature mRNA molecules was caused by stress treatment of CuSO<sub>4</sub> or heat shock, which could stimulate the transposition events allowing the full-length and active

transposase to be produced.

In this study, we carried out direct high-throughput paired-end RNA sequencing to construct a stress-fluctuation cDNA browser with DOGAN-DB to survey exogenous or transposon-like genes such as *Crawler* in *A. oryzae*. With comparison of expression pattern under extreme stress condition (CuSO<sub>4</sub>) to the normal condition, several novel transcripts with open reading frames were identified in intergenic regions, where none of genes have been annotated in DOGAN-DB. Full length of DNA sequences encoding transposable elements were frequently identified. Among them, a novel transposable element homologous to *Tan1* from *A. niger* was identified and tentatively designated *AoTan1* that shows multiple characteristics of class II transposon. The elements are present as multiple copies in the genome of the RIB40 strain, suggesting that *AoTan1* is also expected to show a transposition activity.

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

## 27) 発表学会：日本農芸化学会 2011 年度大会

発表日と場所：2011 年 3 月 26 日、京都女子大学（京都市）

演題名：mRNA 変動解析による麹菌 (*Aspergillus oryzae*) のストレス応答遺伝子の探索

発表者：○小笠原博信<sup>1</sup>、高橋砂織<sup>1</sup>、五味勝也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研セ、<sup>2</sup>東北大院農・生物産業創成)

【目的】高濃度の Cu<sup>2+</sup>や高温などのストレスを受けると麹菌の活性型 DNA トランスポゾン *Crawler* は mRNA の cryptic splicing や ORF 内 poly(A)付加が減少し、全長 mRNA 比率が増加することで転移活性（機能化）を示す。そこで、本研究では転移条件下における全 mRNA の splicing 変動を比較解析することにより、ストレスによって新たに機能化する遺伝子の探索を行った。

【方法】Cu<sup>2+</sup>処理を行った分生孢子中の全 cDNA 配列決定を行い、DOGAN の DB も加えたストレス応答 cDNA ブラウザーを構築した。*Crawler*-mRNA と同様にストレス応答により、強い splicing 阻害が認められる DNA 配列を抽出し、Blast 検索による解析を行った。

【結果】未アノテーション領域より *A. niger* の DNA トランスポゾン *Tan1* に相同性の高い配列やレトロトランスポゾンの gag 様配列などが見出された。*Tan1* 様配列は 558 アミノ酸からなる transposase をコードし、42bp の完全な TIR と 2bp (TA) の TSD 配列に囲まれた新規の DNA トランスポゾンであった。完全型や degenerate 型がゲノム内に多コピーで分布し、転移活性化の可能性も示された。

## 28) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会

発表日と場所：2011 年 3 月 26 日、京都女子大学（京都市）

演題名：セルラーゼ高発現 *Pichia pastoris* を用いた C B P によるセルロースからの直接バイオエタノール生産

発表者：進藤 昌、竹本 浩、増田祥子、高橋優斗、丸山道子<sup>1</sup>、五十嵐圭日子<sup>1</sup>、鮫島正浩<sup>1</sup>（秋田総食研、<sup>1</sup>東大院農生科）

これまでに、我々は、*Pichia pastoris* を用いた遺伝子発現系で *Phanerochaete chrysosporium* 由来

のエンドグルカナーゼ(Cel5A)及び  $\beta$ -グルコシダーゼ(BGL3Acet、BGL1Bcat)の発現に成功している。これまでに BGL3Acet 発現酵母で 10%セロビオースから 47 時間で 42g/L のエタノール生産に成功している。今回、Cel6A,Cel5A,BGL3Acet 及び BGL1Bcat 発現酵母による  $\beta$ -グルカンからの CBP によるエタノール生産について検討を行ったので報告する。BGL3Acet 発現酵母は、酵母の死細胞率が高くなるのが、BGL1Bcat 発現酵母では酵母の死細胞率を低く抑えることができた。そこで、BGL1Bcat 発現酵母を用いた CBP による 10%セロビオースからのエタノール生産を行ったところ、20 時間で 90%のエタノール収率を得た。さらに、5% $\beta$ -グルカンから BGL1Bcat 発現酵母と Cel5A 発現酵母を用いて CBP によるエタノール生産を行い、24 時間で 80%のエタノール収率を達成した。

### 29) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：メイラード反応生成物によるアルコール発酵阻害機構の検証

発表者：西田 孝伸<sup>1</sup>、戸松 さやか<sup>1</sup>、佐々木 美希子<sup>1</sup>、三橋 秀一<sup>2</sup>、林 礼子<sup>2</sup>、進藤 昌<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>バイオエタノール研究組合）

バイオマスを原材料としたエタノールの生成工程は、前処理、糖化および発酵の三段階に分類される。前処理工程の中には強く熱処理をするものがあり、熱処理工程において様々な物質が生成される。生成される物質としてメイラード反応生成物（メラノイジン）がある。これまでに我々は、メラノイジンが *Pichia stipitis* によるキシロースからのアルコール生成を阻害することを報告した。今回、アルコール発酵中の酵母細胞に由来する代謝物を網羅的に解析（メタボローム解析）し、メラノイジンによるアルコール発酵阻害機構の解明を試みた。メラノイジンを含む培地で発酵を 24 時間行った *P. stipitis* SS39-1 株の細胞から代謝物を調製し、メタボローム解析に供与した。対照として同様の解析を合成培地で発酵させた細胞についても行った。メタボローム解析の結果、メラノイジンを含む培地ではペントースリン酸経路の各代謝物が対照よりも多く蓄積していた。この結果から、メラノイジンによる発酵阻害の主な要因はペントースリン酸経路の攪乱であることが示唆された。

### 30) 学会発表：2011 年度日本農芸化学大会

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：バイオマス糖化液におけるアルコール発酵阻害機構の解明

発表者：西田 孝伸<sup>1</sup>、戸松 さやか<sup>1</sup>、佐々木 美希子<sup>1</sup>、上村 毅<sup>2</sup>、進藤 昌<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>JX エネルギー中研）

我々はイネ科の多年草であるエリアンサスを原材料として調製したバイオマス糖化液から効率的にバイオエタノールを生成する技術の開発を行っている。これまでに、我々はバイオマス糖化液において *Pichia stipitis* によるキシロースからのアルコール発酵が阻害されることを報告している<sup>1)</sup>。今回、アルコール発酵中の酵母細胞に由来する代謝物を網羅的に解析（メタボローム解析）し、バイオマス糖化液でのアルコール発酵に対する阻害因子の解明を試みた。

バイオマス糖化液での発酵開始から 24 時間後に *P. stipitis* SS39-1 株の細胞から代謝物を調製し、メタボローム解析に供与した。対照として同様の解析を合成培地で発酵させた細胞に関しても行った。メタボローム解析の結果、バイオマス糖化液ではペントースリン酸経路の各代謝物が対照よりも多く蓄積しており、またエタノールの前駆物質であるピルビン酸が約 3 倍量蓄積していた。この結果から、バイオマス糖化液における阻害要因はペントースリン酸経路の攪乱とピルビン酸以降の代謝が阻害されているためであると示唆された。

### 31) 発表学会：2011 年度日本農芸化学会大会

発表日と場所：2011 年 3 月 27 日、京都女子大学（京都市）

演題名：米由来レニン阻害物質の同定と構造機能相関解析

発表者：高橋砂織<sup>1</sup>、常盤野哲生<sup>2</sup>、畠 恵司<sup>1</sup>、小玉郁子<sup>3</sup>、保莉美佳<sup>1</sup>、  
鈴木奈緒<sup>1</sup>、吉澤結子<sup>2</sup>、後藤 猛<sup>4</sup>

（<sup>1</sup>秋田県総合食品研究センター・食品加工研究所、<sup>2</sup>秋田県立大学・生物資源科学部、<sup>3</sup>  
秋田県農林水産技術センター・農業試験場、<sup>4</sup>秋田大学大学院・工学資源学研究科）

レニンは、非常に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 (RAS) による血圧制御機構における律速酵素として要の役割を持っている。RAS 制御に関連して、これまで食物由来アンギオテンシン変換酵素の阻害ペプチドが各種食材より数多く見出されている。しかしながら、食物由来レニン阻害物質に関しては酵素入手や活性測定などの問題があり、殆ど研究が進んでいなかった。我々は最近大豆にレニン阻害活性を見出し、その構造をソヤサポニン I と同定したとともにサポニンの構造と機能について検討した[1, 2]。本研究では、大豆以外の食材よりレニン阻害物質を探索した結果、米に初めてレニン阻害物質を見出した。得られた阻害物質は、遊離の不飽和脂肪酸であるオレイン酸とリノール酸の混合物であった。そこで、これら不飽和脂肪酸が単独でもレニン阻害活性を持つか否かを、市販の高純度試薬を用いて検討した。その結果、市販オレイン酸やリノール酸でも強いレニン阻害活性を持つことが示された。また、リノール酸やオレイン酸以外の高度不飽和脂肪酸を用いてレニン阻害を検討したところ、用いた全ての不飽和脂肪酸にレニン阻害活性が認められた。しかしながら、飽和脂肪酸やトリグリセリドにレニン阻害活性は認められなかった。以上の結果から、遊離不飽和脂肪酸がレニン阻害活性を持つことが明らかとなった。

1. S. Takahashi *et al.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 3232-3236 (2008)

2. S. Takahashi *et al.* *Biomed. Res.*, 31, 155-159 (2010)



## 6. 外部発表論文概要 (16 件)

### 1) 論文題名 : **Inhibition of human renin activity by saponins.**

著者名 : Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Mika Hokari, Takeshi Gotoh, and Toshihiro Sugiyama

雑誌名 : *Biomedical Research*, **31**(2), 155-159, 2010

発行日 : 2010 年 4 月 1 日

### 2) 論文題名 : **Active human renin production using baculovirus expression vector system: An effective method for preventing excessive proteolytic degradation of recombinant proteins.**

著者名 : Takeshi Gotoh, Ken-Ichi Kikuchi, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **43**(7), 603-607, 2010

発行日 : 2010 年 7 月 20 日

### 3) 論文題名 : **Yamabushitake mushroom (*Hericium erinaceus*) improved lipid metabolism in mice fed a high-fat diet**

著者名 : Kazuyuki Hiwatashi, Yasuyuki Kosaka, Nao Suzuki, Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Kenji Sakamoto, Hitoshi Shirakawa, and Michio Komai

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(7), 1447-1451, 2010

発行日 : 2010 年 7 月 23 日

### 4) 論文題名 : **The occurrence of renin inhibitor in rice: Isolation, identification, and structure-function relationship.**

著者名 : Saori Takahashi, Tetsuo Tokiwano, Keishi Hata, Ikuko Kodama, Mika Hokari, Nao Suzuki, Yuko Yoshizawa, and Takeshi Gotoh

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(8), 1713-1715, (2010)

発行日 : 2010 年 8 月 23 日

### 5) 論文題名 : **Effects of lupeol on melanoma *in vitro* and *in vivo* –Fundamental and clinical trials–**

著者名 : Keishi Hata, Kikumi Ogihara, Saori Takahashi, Takeshi Tsuka, Saburo Minami, Yoshiharu Okamoto

雑誌名 : *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, **16**, 339-344, 2010

発行日 : 2010 年 8 月 30 日



6) 論文題名：とろみ調整食品添加に伴う味質変化の味覚センサによる評価

著者名：中村 愛美<sup>1)</sup>, 佐藤 文華<sup>2)</sup>, 吉田 智<sup>1)</sup>, 熊谷 昌則<sup>2)</sup>, 鈴木 靖志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> サラヤ株式会社 商品開発本部 <sup>2)</sup> 秋田県総合食品研究所

雑誌名：日本食品科学工学会誌、**57**(9)、380-388、2010

発行日：2010年9月15日

7) 論文題名：**Purification and characterization of aspartic proteinase derived from Sf9 insect cells.**

著者名：Takeshi Gotoh, Hiroki Ono, Ken-Ichi Kikuchi, Satoru Nirasawa, and Saori Takahashi

雑誌名：*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(10), 1713-1715, (2010)

発行日：2010年10月23日

8) 論文題名：**Citral, a component of lemongrass oil, activates PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses COX-2 expression.**

著者名：Michiko Katsukawa, Reiko Nakata, Yoshie Takizawa, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi, and Hiroyasu Inoue

雑誌名：*Biochimica et Biophysica Acta*, **1801**, 1214-1220, (2010)

発行日：2010年11月1日

9) 論文題名：**Selective tumor imaging by a novel tumor specific aralin-infrared-to-visible phosphor conjugate**

著者名：Y Kawasaki, Y Gotoh, K Tokuzen, M Kamimura, T Komeno, M Tomatsu, R Todoroki, Y Nagasaki, K Soga, and F Tashiro

雑誌名：*Journal of Physics: Conference Series*, **191**, 012001 (2009)

発行日：Online publication, 2009年11月5日

10) 論文題名：**Reduction of Blood Pressure by Soybean Saponins, Renin Inhibitors from Soybean, in Spontaneously Hypertensive Rats**

著者名：Kazuyuki Hiwatashi, Hitoshi Shirakawa, Kazuyuki Hori, Yumiko Yoshiki, Nao Suzuki, Mika Hokari, Michio Komai and Saori Takahashi

雑誌名：*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(11), 2310-2312, 2010

発行日：2010年11月23日

**11) 論文題名：米の成分(3)タンパク質**

著者名：大能俊久

雑誌名：食品と容器、51(12)、720-723、2010

発行日：2010年12月1日

**12) 論文題名：Renin inhibitory activity in rice and cereals.**

著者名：Saori Takahashi, Tetsuo Tokiwano, Nao Suzuki, Ikuko Kodama, Yuko Yoshizawa, and Takeshi Gotoh

雑誌名：Journal of Biological Macromolecules, 10(3), 83-91, 2010

発行日：2010年12月24日

**13) 論文題名：食品の好み評価時の事象関連電位に関する実験的検討**

著者名：田中元志<sup>1)</sup>、本間智大<sup>1)</sup>、井上浩<sup>1)</sup>、新山喜嗣<sup>2)</sup>、高橋徹<sup>3)</sup>、熊谷昌則<sup>3)</sup>、秋山美展<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>秋田大学 大学院工学資源学研究科, <sup>2)</sup>秋田大学 大学院医学系研究科

<sup>3)</sup>秋田県総合食品研究センター, <sup>4)</sup>秋田県立大学 生物資源科学部

雑誌名：電気学会論文誌C(電子・情報・システム部門誌), 131(1), 96-101 (2011)

発行日：2011年1月1日

**14) 論文題名：昇圧系の律速酵素を阻害する血圧制御  
ーレニン活性阻害による新しいアプローチー**

著者名：樋渡一之、高橋砂織

雑誌名：化学と生物, 49(2), 83-85 (2011)

発行日：2011年2月1日

**15) 論文題名：米糠乳酸発酵抽出物の高脂肪食負荷ラットにおける脂質異常改善作用。**

著者名：大友 理宣, 高嶋 亜希子, 菊池 継夫, 高橋 純一郎, 戸枝 一喜, 畠 恵司

雑誌名：生薬学雑誌, 65 (1), 33-38, 2011

発行日：2011年2月20日

**16) 論文題名：Renin inhibitor in soybean.**

著者名：Saori Takahashi, Takeshi Gotoh, and Kazuyuki Hori

雑誌名：Soybean –Biochemistry, Chemistry, and Physiology- pp389-400 InTech

発行日：2011年3月23日

**1) 論文題名 : Inhibition of human renin activity by saponins.**

著者名 : Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Mika Hokari, Takeshi Gotoh, and Toshihiro Sugiyama

雑誌名 : *Biomedical Research*, **31**(2), 155-159, 2010

発行日 : 2010年 4月 1日

要約 : Renin is the most important enzyme in the renin-angiotensin system. Our previous study led to the identification of soyasaponin I, the first renin inhibitor isolated from soybean. In the present study, the effects of saponins and sapogenols on human renin activities were investigated. Soyasaponins I and II, glycyrrhizin, monoglucuronyl glycyrrhetic acid (MGGA), chikusetsusaponin IV, and *Kochia scoparia* fruit saponins (momordins) were found to inhibit renin activity. On the other hand, sapogenols (soyasapogenol B and glycyrrhetic acid), saikosaponins b2 and c, and ginsenoside Rb1 had no effects on renin activity. These results clearly indicate that the 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosiduronic moiety in saponins (glucuronide saponin) is essential for renin inhibition.

**2) 論文題名 : Active human renin production using baculovirus expression vector system:  
An effective method for preventing excessive proteolytic degradation of  
recombinant proteins.**

著者名 : Takeshi Gotoh, Ken-Ichi Kikuchi, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **43**(7), 603-607, 2010

発行日 : 2010年 7月 20日

要約 : Recombinant human (rh)-prorenin using the baculovirus expression vector system (BEVS) is processed in situ to produce active rh-renin. However, rh-renin is significantly degraded during very late stage of the infection. This study aims at preventing excess degradation of recombinant proteins in the BEVS. Culture media of baculovirus-infected Sf-9 insect cells are supplement with either protease inhibitors or bovine serum albumin (BSA) at various time points post infection. Although the degradation of active rh-renin is suppressed by cysteine protease inhibitors, proteolytic activation of rh-prorenin into active rh-renin is also inhibited concurrently, and the yield of active rh-renin is decreased. On the contrary, BSA supplementation during late stage of the infection is useful for preventing the degradation of active rh-renin without affecting the proteolytic activation. This indicates that addition of proteins to culture media at specific time points post infection is a simple and effective method for suppressing the degradation of recombinant proteins expressed by the BEVS.

**3) 論文題名 : Yamabushitake mushroom (*Hericium erinaceus*) improved lipid metabolism in mice fed a high-fat diet**

著者名 : Kazuyuki Hiwatashi, Yasuyuki Kosaka, Nao Suzuki, Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Kenji Sakamoto, Hitoshi Shirakawa, and Michio Komai

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(7), 1447-1451, 2010

発行日 : 2010年7月23日

要約 : The effects of dietary Yamabushitake mushroom (*Hericium erinaceus*) on lipid metabolism were examined. C57BL/6J mice were fed a high-fat diet containing hot-water extract (HW-E) and an ethanol extract (EtOH-E) of Yamabushitake mushroom. Administration of HW-E or EtOH-E with a high-fat diet for 28 d resulted in a significant decrease in body weight gain, fat weight, and serum and hepatic triacylglycerol levels. Our in vitro experiments indicated that EtOH-E acts as an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ). Quantitative analyses of hepatic mRNA levels revealed that EtOH-E administration resulted in up-regulation of mRNA for a number of PPAR $\alpha$ -regulating genes in spite of the fact that the gene expression of PPAR $\alpha$  did not change. These results suggest that EtOH-E improves lipid metabolism in mice fed a high-fat diet, and that these effects were mediated by modulation of lipid metabolic gene expression, at least in part via activation of PPAR $\alpha$ .

**4) 論文題名 : The occurrence of renin inhibitor in rice: Isolation, identification, and structure-function relationship.**

著者名 : Saori Takahashi, Tetsuo Tokiwano, Keishi Hata, Ikuko Kodama, Mika Hokari, Nao Suzuki, Yuko Yoshizawa, and Takeshi Gotoh

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(8), 1713-1715, (2010)

発行日 : 2010年8月23日

要約 : We found renin inhibitory activity in rice. The physico-chemical data on the isolated inhibitor were identical to those of oleic acid and linoleic acid. Oleic acid and linoleic acid competitively inhibited renin activity, with  $K_i$  values of 15.8 and 19.8  $\mu$ M respectively. Other unsaturated free fatty acids also inhibited renin activity, but saturated fatty acids had no effects on it.

**5) 論文題名: Effects of lupeol on melanoma *in vitro* and *in vivo*  
–Fundamental and clinical trials–**

著者名: Keishi Hata, Kikumi Ogihara, Saori Takahashi, Takeshi Tsuka, Saburo Minami, Yoshiharu Okamoto

雑誌名: *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects*, **16**, 339-344, 2010

発行日: 2010年 8月 30日

要約: Lupeol induced the dendrite formations of mouse melanoma cells by disruption of stress fiber assembly. Western blotting revealed that inactivation of cofilin, an actin polymerization factor, caused the actin fiber disassembly in lupeol-treated melanoma cells. It has been reported that disruptions in actin fiber assembly are involved in cancer cell motility and invasion. Therefore, we investigated the effect of lupeol on melanoma cell motility in a cell migration assay. As the results, lupeol markedly inhibited the haptotaxis of B16 2F2 cells to fibronectin in a dose-dependent manner. Furthermore, we examined the clinical effects of lupeol on the dogs with spontaneous melanoma. The repeat treatments with lupeol took some actions on 6 cases of 7 dogs with malignant melanomas. Especially, lupeol seemed to be more effective against the melanomas metastasizing to mandibular lymph nodes than those at primary sites.

**6) 論文題名: とろみ調整食品添加に伴う味質変化の味覚センサによる評価**

著者名: 中村 愛美<sup>1)</sup>, 佐藤 文華<sup>2)</sup>, 吉田 智<sup>1)</sup>, 熊谷 昌則<sup>2)</sup>, 鈴木 靖志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> サラヤ株式会社 商品開発本部 <sup>2)</sup> 秋田県総合食品研究所

雑誌名: 日本食品科学工学会誌、**57(9)**、380-388、2010

発行日 : 2010年 9月 15日

要約: 今回の試験結果から, とろみ付与による呈味成分の強度変化については官能評価と味覚センサではほぼ一致することが確認され, 味覚センサを用いた評価系を利用できることが示された. 官能評価に要する多大な労力とパネルの能力による評価のばらつきを考えると味覚センサによる評価は, とろみ剤の性能を評価する一つの手法として十分に利用可能であり, 官能評価と互助的に利用することで味質評価の精度を高めることが期待できる. 今後の課題として, とろみが味強度に及ぼす影響について, 官能評価との整合性を高めることがあげられる. また, とろみ剤添加による物性値の変化と味覚センサの出力変化との関係を解析することにより, 味と物性を総合的に捕えた高性能とろみ剤の創出に寄与することなどがあげられる.

**7) 論文題名 : Purification and characterization of aspartic proteinase derived from Sf9 insect cells.**

著者名 : Takeshi Gotoh, Hiroki Ono, Ken-Ichi Kikuchi, Satoru Nirasawa, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(10), 1713-1715, (2010)

発行日 : 2010年 10月 23日

要約 : An aspartic protease that is significantly produced by baculovirus-infected *Spodoptera frugiperda* Sf9 insect cells was purified to homogeneity from a growth medium. To monitor aspartic protease activity, an internally quenched fluorogenic (IQF) substrate specific to cathepsin D was used. The purified aspartic protease showed a single protein band on SDS-PAGE with an apparent molecular mass of 40 kDa. The N-terminal amino acid sequence of the enzyme had a high homology to a *Bombyx mori* aspartic protease. The enzyme showed great affinity for the IQF substrate at pH 3.0 with a  $K_m$  value of 0.85  $\mu\text{M}$ . The  $k_{cat}$  and  $k_{cat}/K_m$  values were 13  $\text{s}^{-1}$  and 15  $\text{s}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$  respectively. Pepstatin A proved to be a potent inhibitor with inhibitor constant  $K_i$ , of 0.25  $\mu\text{M}$ .

**8) 論文題名 : Citral, a component of lemongrass oil, activates PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses COX-2 expression.**

著者名 : Michiko Katsukawa, Reiko Nakata, Yoshie Takizawa, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi,  
and Hiroyasu Inoue

雑誌名 : *Biochimica et Biophysica Acta*, **1801**, 1214-1220, (2010)

発行日 : 2010年 11月 1日

要約 : Previously, we identified carvacrol from the essential oil of thyme, as a suppressor of cyclooxygenase-2 (COX-2), a rate-limiting enzyme for prostaglandin synthesis, expression and also activator of nuclear receptor PPAR, a molecular target for lifestyle-related diseases. In this study, we evaluated the essential oil of lemongrass by our established assays on COX-2 and PPARs. As a result, COX-2 promoter activity was suppressed by lemongrass oil in cell based transfection assays, and that, from lemongrass oil, we identified citral as a major component of the suppressor of COX-2 expression and an activator of PPAR  $\alpha$  and  $\gamma$ . PPAR  $\gamma$ -dependent suppression of COX-2 promoter activity was observed in response to citral treatment. In human macrophage-like U937 cells, citral suppressed lipopolysaccharide-induced COX-2 mRNA and protein expression in a dose-dependent manner, respectively. Moreover, citral induced the mRNA expression of PPAR  $\alpha$ -responsive carnitine palmitoyltransferase 1 gene and PPAR  $\gamma$ -responsive FABP4 gene in the U937 cells, suggesting that citral activates PPAR  $\alpha$  and  $\gamma$ , and regulates COX-2 expression through its agonistic effect on PPAR  $\gamma$  in a part. These results will be important in understanding the anti-inflammatory and anti-lifestyle-related disease properties of the lemongrass.



**9) 論文題名 : Selective tumor imaging by a novel tumor specific aralin-infrared-to-visible phosphor conjugate**

著者名 : Y Kawasaki, Y Gotoh, K Tokuzen, M Kamimura, T Komeno, M Tomatsu, R Todoroki, Y Nagasaki, K Soga, and F Tashiro

雑誌名 : *Journal of Physics: Conference Series*, **191**, 012001 (2009)

発行日 : Online publication, 2009年 11月 5日

要約 : Aralin is a novel cytotoxic protein from *Aralia elata* and selectively induces apoptosis in transformed cells as compared to normal cells. Aralin is a lectin specific for sugar chain such as galactose and possesses RNA *N*-glycosidase activity. In this study, antitumor potency of aralin was analyzed using the poly (ethyleneglycol) (PEG)/streptavidin co-immobilized infrared-to-visible upconversion phosphors,  $Y_2O_3$  nanoparticles. Cy3- conjugated aralin could clearly detect the surface of SV40-transformed VA13 and human cervical carcinoma HeLa cells, but to a lesser extent on the normal human fibroblast WI-38 cells. Conjugation of aralin with PEGylated  $Y_2O_3$  nanophosphor was carried out via biotin- avidin binding. The  $Y_2O_3$ -conjugated aralin also clearly visualize by a fluorescence microscope measurements equipped with near-infrared excitation source scanning in HeLa cells. It is also important to note that no remarkable damage to the cells was observed during these observations. Thus, these data imply that the  $Y_2O_3$ -conjugated aralin would potentially be useful material for tumor detection *in vivo*.

**10) 論文題名 : Reduction of Blood Pressure by Soybean Saponins, Renin Inhibitors from Soybean, in Spontaneously Hypertensive Rats**

著者名 : Kazuyuki Hiwatashi, Hitoshi Shirakawa, Kazuyuki Hori, Yumiko Yoshiki, Nao Suzuki, Mika Hokari, Michio Komai and Saori Takahashi

雑誌名 : *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74**(11), 2310-2312, 2010

発行日 : 2010年 11月 23日

要約 : The effect of commercial purified soybean saponin on renin activity and blood pressure was investigated. Soybean saponin significantly inhibited human renin *in vitro* with  $IC_{50}=59.9 \mu\text{g/ml}$ . Orally administered soybean saponin at 80 mg/kg of body weight per day to spontaneously hypertensive rats for 8 weeks significantly decreased the blood pressure.

**11) 論文題名：米の成分(3)タンパク質**

著者名：大能俊久

雑誌名：食品と容器、51(12)、720-723、2010

発行日：2010年12月1日

要約：精米貯蔵した古米の米飯テクスチャー劣化や改良について検討した。タンパク質のSS結合を開裂する還元剤溶液で炊飯することにより、古米米飯のバランス度（粘り／硬さ）が上昇することが分かった。タンパク質のSS結合を開裂する還元力が米粒表層タンパク質のSS結合の開裂というタンパク質の“質”の変化を引き起こし、さらに米粒表層のデンプンの糊化が促進され、最終的に米飯テクスチャーが改良されるというメカニズムが推測された。

**12) 論文題名：Renin inhibitory activity in rice and cereals.**

著者名：Saori Takahashi, Tetsuo Tokiwano, Nao Suzuki, Ikuko Kodama, Yuko Yoshizawa, and Takeshi Gotoh

雑誌名：*Journal of Biological Macromolecules*, 10(3), 83-91, 2010

発行日：2010年12月24日

要約：Our recent study showed the occurrence of renin inhibitory activity in nonglutinous rice. In the present study we screened for renin inhibitory activity in glutinous, sake, and indica rice, as well as various cereals. Rice extracts tested in this study inhibited renin activity with IC<sub>50</sub> values of 88-270 µg/ml. Glutinous rice extracts showed higher renin inhibitory activity than other rice extracts. On the other hand, extracts of cereals such as buckwheat (soba), rye, and barnyard millet (hie) had renin inhibitory activity, but other cereals had no effects on renin activity. The buckwheat had the highest renin inhibitory activity in this study. LC/MS analysis of rice and cereal extracts indicated that the major renin inhibitory compounds are oleic acid and linoleic acid.

### 13) 論文題名：食品の好み評価時の事象関連電位に関する実験的検討

著者名： 田中元志<sup>1)</sup>、本間智大<sup>1)</sup>、井上浩<sup>1)</sup>、新山喜嗣<sup>2)</sup>、高橋徹<sup>3)</sup>、熊谷昌則<sup>3)</sup>、  
秋山美展<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>秋田大学 大学院工学資源学研究科, <sup>2)</sup>秋田大学 大学院医学系研究科

<sup>3)</sup>秋田県総合食品研究センター, <sup>4)</sup>秋田県立大学 生物資源科学部

雑誌名： 電気学会論文誌C(電子・情報・システム部門誌), **131**(1), 96-101 (2011)

発行日： 2011年1月1日

要約： 事象関連電位(ERP)を指標とした食品の評価法の構築を目的とし、好みの程度がわかっている食品(画像)を提示して、3段階の評価語で好み評価させたときのERPを測定した。その結果、P300成分の面積(加算平均波形の潜時250~500msの面積)は「とても好き」と評価した食品のときに最も大きく、評価によって異なった。好みの違いを検出でき、ERPを指標とする好み評価の可能性が得られた。また、加算平均波形の潜時約300msに現れるピークは画像提示と関連したP3a、350~500msのピークは評価と関連したP3bであることが明らかとなった。今後は、個人差に関する検討を含め、ERPと好みの関連に関するデータを蓄積し、好みの程度が不明な場合について対応できる評価法の検討を進める予定である。

### 14) 論文題名：昇圧系の律速酵素を阻害する血圧制御

—レニン活性阻害による新しいアプローチ—

著者名： 樋渡一之、高橋砂織

雑誌名：化学と生物, **49**(2), 83-85 (2011)

発行日： 2011年2月1日

要約： レニン-アンジオテンシン系の律速酵素であるレニンを阻害して血圧を調節する方法について解説した。臨床の場ではごく最近になって、レニンの特異的な阻害剤であるアリスキレンがごく最近になって使用されるようになった。アリスキレンは十数年ぶりの新たな作用機序を有する降圧薬であり、既存の降圧薬では血圧のコントロールが不十分な患者や副作用が現れる患者に対しての有効性が期待されている。またレニンを阻害する食品成分として、我々はダイズ抽出液中に高いレニン阻害活性を見出した。そこで、各種クロマトグラフィーにより阻害物質を単離し、その構造をソヤサポニンIと同定した。さらに *in vivo* における血圧上昇抑制作用を検証するため、ソヤサポニンIを含む市販ダイズサポニンを高血圧自然発症ラット(SHR)に経口投与する試験を行ったところ、収縮期血圧の有意な上昇抑制が認められた。

**15) 論文題名:米糠乳酸発酵抽出物の高脂肪食負荷ラットにおける脂質異常改善作用.**

著者名:大友 理宣, 高嶋 亜希子, 菊池 継夫, 高橋 純一郎, 戸枝 一喜, 畠 恵司

雑誌名: *生薬学雑誌*, **65** (1), 33-38, 2011

発行日:2011年 2月 20日

要約 : We previously developed the fermented extract of rice bran (RBF) with *Lactobacillus brevis* IFO12005. RBF is rich in  $\gamma$ -amino butyric acid (GABA) from L-glutamic acid produced by *L. brevis*. In the present study, we demonstrated that RBF reduces the accumulations of adipose tissues and normalizes the serum triglycerides and cholesterol level in high-fat diet fed rats. Furthermore, RBF reduced the lipid synthesis and secretion from HepG2 human hepatoma cells, by attenuation of the expressions of lipogenic and cholesterologenic enzymes in the cells.

**16) 論文題名 : Renin inhibitor in soybean.**

著者名 : Saori Takahashi, Takeshi Gotoh, and Kazuyuki Hori

雑誌名 : *Soybean –Biochemistry, Chemistry and Physiology-* pp389-400 (2011)

InTech (ISBN 978-953-307-219-7)

発行日 : 2011年 3月 23日

要約 : We developed efficient production of recombinant human renin in *E. coli* and *Spodoptera frugiperda* (Sf-9) insect cells. Using recombinant human renin and newly developed IQF substrate, we screened for renin inhibitor from several foodstuffs and found renin inhibitory activity in miso originated from soybean. The purified renin inhibitor from soybean was identified as soyasaponin I. Moreover, we investigated the effects of various saponins and sapogenols on human renin activity and showed that glucuronide saponins, glucuronic acid residues at the 3 $\beta$ -hydroxyl sugar chain's first inner position are essential for renin inhibition.

「秋田県総合食品研究所報告」第1号～第13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, 13-32]  
大野 剛 [3-49, 4-50, 7-31, 7-38, 9-5, 9-15, 10-1, 10-14, 12-14, 13-17]  
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, 13-24]  
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, 13-1]  
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(晶)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]  
 佐藤恵里 [13-36]  
 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, 13-17]  
 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, 13-17]  
 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, 13-17]  
 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, 13-7]  
 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, <u>13-42</u> ]   |
| 船木 勉 | [5-33, 13-7]  |
| 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> , <u>13-36</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2.5 cm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<sup>1)</sup>、や総食研<sup>2-4)</sup>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13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 小笠原 博信  
同 高橋 徹

発行 平成23年12月15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】