

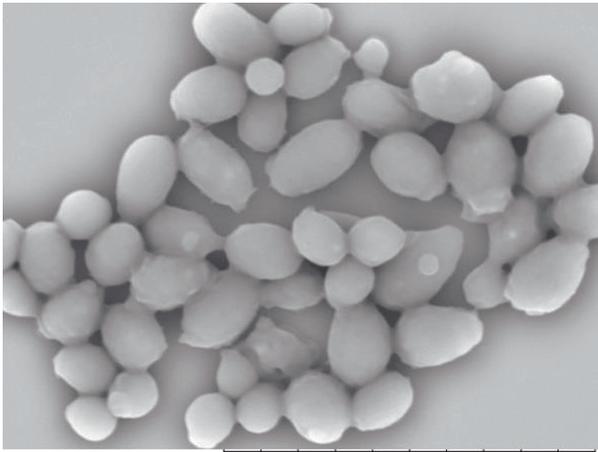
秋田県総合食品研究センター報告

第 21 号

令和元年（2019 年）

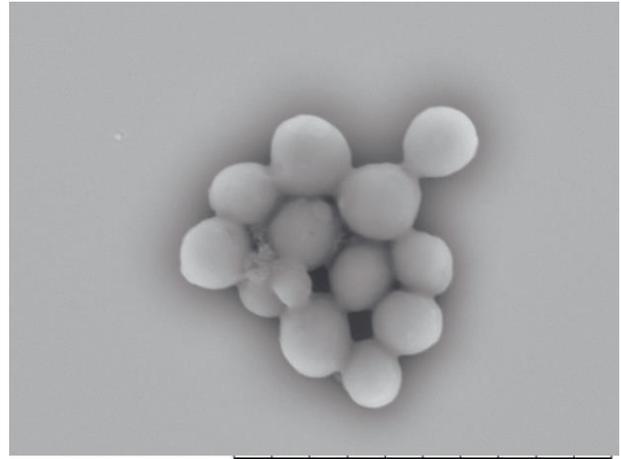
Bulletin of the Akita Research
Institute of Food and Brewing
(*ARIF*)

No. 21, 2019



ARIF0415 2017/09/22 16:30 H D5.2 x5.0k 20 um

秋田県内の味噌蔵・醤油蔵から分離した酵母の特徴（マルイチ酵母）
渡辺隆幸 他 No. 21 1-7 (2019)

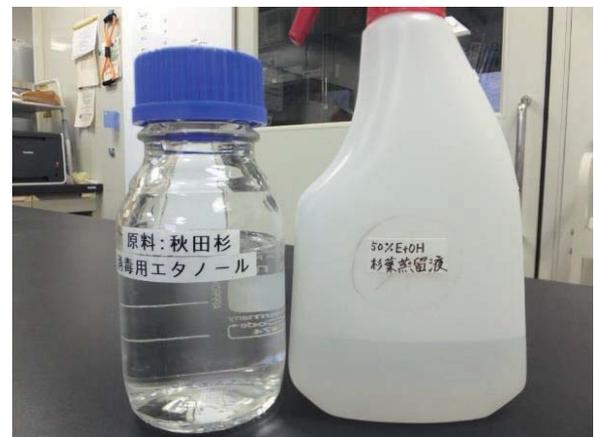


ARIF0423 2017/10/06 14:28 H D5.3 x5.0k 20 um

秋田県内の味噌蔵・醤油蔵から分離した酵母の特徴（高茂酵母）
渡辺隆幸 他 No. 21 1-7 (2019)



秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果（原料の杉葉）
進藤昌 No. 21 8-14 (2019)



秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果（消毒用アルコール）
進藤昌 No. 21 8-14 (2019)



| | 単位 (g/100g) | | | | | |
|--------|-------------|-------|-----|------|-----|------|
| | 水分 | たんぱく質 | 脂質 | 炭水化物 | 灰分 | GABA |
| 潤漫ギャバ液 | 92.5 | 1.7 | 0.1 | 4.4 | 1.3 | 1.0 |

米糠を用いた機能性発酵素材の開発
大友理宣 No. 21 15-18 (2019)



秋田県のご当地サプリ「潤彩小町」の商品開発と上市について
高嶋亜希子 No. 21 19-23 (2019)

目次

1. 原著論文（報文）

- 1) 秋田県内の味噌蔵・醤油蔵から分離した酵母の特徴・・・・・・・・・・1
○渡辺隆幸、上原健二、佐々木康子、尾張かおる
- 2) 秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果・・8
○進藤昌

2. 総説

- 1) 米糠を用いた機能性発酵素材の開発・・・・・・・・・・ 15
○大友理宣（秋田銘醸株式会社）
- 2) 秋田県のご当地サプリ「潤彩小町」の商品化と上市について・・・・・・・・ 19
○高嶋亜希子（株式会社サノ）

3. 特許の概要（4件）・・・・・・・・・・ 25

4. 学会発表概要（26件）・・・・・・・・・・ 27

5. 外部発表論文概要（7件）・・・・・・・・・・ 45

6. 秋田県総合食品研究センター報告規程・・・・・・・・・・ 49

1. 原著論文（報文）（2件）

- 1) 秋田県内の味噌蔵・醤油蔵から分離した酵母の特徴・・・・・・・・・・1
○渡辺隆幸、上原健二、佐々木康子、尾張かおる

- 2) 秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果・・8
○進藤昌

2. 総説 (2件)

- 1) 米糠を用いた機能性発酵素材の開発・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
○大友理宣 (秋田銘醸株式会社)

- 2) 秋田県のご当地サプリ「潤彩小町」の商品化と上市について・・・・・・・・ 19
○高嶋亜希子 (株式会社サノ)

秋田県内の味噌蔵・醤油蔵から分離した酵母の特徴

渡辺隆幸、上原健二、佐々木康子、尾張かおる
(秋田県総合食品研究センター)

Takayuki WATANABE, Kenji UEHARA, Koko SASAKI, and
Kaoru OWARI

【要約】

秋田県内 29 社の味噌醤油醸造蔵（企業）より、酵母の分離を行い、蔵毎にタイプの異なる耐塩性酵母を分離した。自社製品の香りの特徴を有していると判断された選択された優良酵母は味噌醤油の主発酵酵母 *Zygosacchomyces rouxii* または後熟酵母 *Candida sp.* と同定された。県内技術者による官能検査の結果から、選択された酵母はそれぞれ香りに特徴を有しており、今後自社製品での活用が期待される。

【緒言】

酵母は味噌醤油の風味形成に重要な微生物の一つである。秋田県内の味噌用酵母として一般的には「ゆらら酵母」¹⁾が用いられているが、他に自社酵母として選抜した酵母を用いている企業も 3 社ある。味噌を製造している 29 社のうち、継続的に酵母添加している会社は 7 社であり、不定期的に使用している 6 社を加えても、酵母添加している会社は半数以下である。一方、特殊な製品を含め醤油の一貫生産を行っている 6 社ではそれぞれ醤油用酵母の添加を行っている。味噌製造時に酵母添加していない蔵（会社）では住みつき酵母の発酵により各社の製品の風味形成がなされていると考える。味噌醤油の醸造において酵母添加の有無にかかわらず住みつき酵母の影響は大きいと思われるが、これらの住みつき酵母の特徴は未解明であり、微生物資源としての確保もなされていない。そこで今回、県内の味噌、醤油もろみと醸造に用いる容器より酵母の分離を実施し、形状や生理的性質について調べた。各蔵から自社酵母としての選択された酵母の特徴を官能検査により評価した。

【分析方法】

1) 酵母の分離、形状および生理的性質

各蔵の味噌、醤油もろみ、木桶等の容器より分離を行った。分離用のプレートは食塩 10% の YPD 培地（酵母エキス 1%、ポリペプトン 1%、グルコース 5%）により行った。分離用のふき取りは市販のふき取り用スワブの容器に食塩濃度 10% になるように食塩を加えて実施した。

光学顕微鏡を用い 400 倍の倍率で分離した酵母の形状の観察を行った。

*Zygosaccharomyces rouxii*であるゆらら酵母 (AM1、AM2、AM3) を対照に行い、同程度のサイズの株を「大」と判定して、明らかにサイズが小さい株を「小」と判定した。また一部の酵母については乾燥、固定、金蒸着の処理を行い、走査型電子顕微鏡にて観察を行った。生育 pH 幅による分別を松本と今井の方法²⁾に準じて行った。すなわち食塩濃度 18(w/v)%、pH を 5.0、5.5、6.0、6.5 にそれぞれ設定した YPD 培地における生育を調べ、すべての pH で生育可能な酵母を A タイプ、pH5.0~6.0 で生育可能な酵母を B タイプ、pH5.0~5.5 で生育可能な酵母を C タイプとした。分離したすべての酵母は味噌培地 (味噌 10%、食塩 8%、グルコース 5%) に接種して 30°C、7 日間、静置培養した。培養液の一部を採取して、ガスクロマトグラフにより、エタノールを測定した。それぞれの蔵から分離された各酵母の味噌培地培養液を分離蔵の担当者に提示して、自社の特徴を有していると判断される酵母の選択を実施した。ゆらら酵母の添加を継続している工場では、添加酵母とタイプや香気異なる酵母の選択を促した。

2) 選択株の同定

18S rRNA シーケンス解析により菌株の同定を行った。選択株のコロニーを 50 μ l 滅菌水に適量懸濁した。酵母懸濁液 1 μ l をテンプレートとして用い、マニュアルに従って KOD FX NEO (東洋紡) にて酵母 18S rRNA 領域を増幅した (PCR 条件 : [94°C 4 min] \times 1, [98°C 10 sec, 55°C 30 sec, 68°C 2 min] \times 35, [68°C 4 min] \times 1)。PCR のプライマーには yeast 18S primer-F1 (5'-AAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAG-3') および yeast 18S primer-R1 (5'-TTCCTCTAAATGACCAAGTTTG-3') を用いた。増幅した PCR 産物をアガロースゲル電気泳動に供し、目的バンドのゲルを切り出し後、Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (プロメガ) にて PCR 産物を精製した。精製した PCR 産物のシーケンス解析を秋田県立大学バイオテクノロジーセンターの受託解析にて実施した。シーケンス解析のプライマーには、yeast 18S primer-F1 (5'-AAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAG-3')、yeast 18S primer-R1 (5'-TTCCTCTAAATGACCAAGTTTG-3')、yeast 18S primer-R2 (5'-CCCTAACTTTCGTTCTTGATTAATG-3')、yeast 18S primer-R3 (5'-TCAGTGTAGCGCGCGTGCGG-3')、yeast 18S primer-F2 (5'-CCGCACGCGCGCTACACTGAC-3')、Y-18S-F-NS3 (5'-GCAAGTCTGGTGCCAGCAGC-3')、Y-18S-F-NS5 (5'-CTTAAAGGAATTGACGGAAG-3')、および Y-18S-RNS2 (5'-GGCTGCTGGCACCAGACTTG-3') を用いた。得られたシーケンスデータを BLAST 解析に供し、菌株同定を行った。

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?LINK_LOC=blasthome&PAGE_TYPE=BlastSearch&PROGRAM=blastn)

3) 選択酵母の味噌培地での評価 (官能検査)

各蔵の選択酵母を味噌培地に培養し、県内の味噌醤油製造企業技術者により構成されたパネル13名によるクローズドパネルテストにより香りの官能検査を実施した。評価項目は香りの強さ (強い:5、弱い:1)、嗜好性 (好ましい:5、嫌い:1)、香りの特徴 (特徴がある:5、特徴に乏しい:1) と設定し、主発酵酵母の区分20点と後熟酵母の区分6点に分けて、それぞれで5段階の評価を行った。なお主発酵酵母の対照としてAM1、AM2、AM3を、後熟酵母の対照として *Candida etchellisii* NBRC10037、*C. versatilis* NBRC10038 を用いた。

【結果と考察】

1) 酵母の分離、形状および生理的性質

酵母分離を実施した29蔵から分離した177株について、分離元、蔵ごとの分離株数、光学顕微鏡観察の結果、松本と今井の方法によるABC分別の結果を表1に示した。29蔵のうち15の蔵でサイズの小的酵母が分離された。サイズ小的酵母のみ分離された1蔵 (記号E4) 以外の14の蔵でサイズが大小に異なる酵母が分離された。またABC分別の結果からタイプの異なる酵母が混在している蔵が13認められた。なお今回の分離では添加酵母と同じタイプの酵母の分離も行っており、選択の際、酵母のタイプを企業へ説明している。

表1 酵母の分離結果

| 企業記号 | 分離元 | 分離株数 | 顕微鏡観察 | | ABCタイプの数 | | | 添加酵母のタイプ | 選択酵母記号 | 選択酵母のサイズ・タイプ |
|------|---------------|------|-------|---|----------|----|---|----------|----------------|--------------|
| | | | 大 | 小 | A | B | C | | | |
| E1 | 味噌、もろみ、醤油粕、木桶 | 14 | 11 | 3 | 12 | 2 | 0 | B | E1-1 | 大・B |
| E2 | 木桶、FRPタンク、梁 | 14 | 10 | 4 | 1 | 12 | 1 | B | E2-1 | 大・B |
| E3 | 味噌、もろみ、木桶、重石 | 12 | 11 | 3 | 8 | 4 | 0 | A | E3-1 | 大・A |
| E4 | 木桶、FRPタンク、梁 | 5 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | B | E4-1 | 小・A |
| E5 | 味噌 | 8 | 8 | 0 | 8 | 0 | 0 | 添加無し | E5-1 | 大・A |
| E6 | 味噌、もろみ、醤油粕、木桶 | 11 | 10 | 1 | 8 | 4 | 0 | A | E6-1 | 大・A |
| E7 | 味噌 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 添加無し | E7-1 | 大・A |
| E8 | 味噌 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 添加無し | E8-1 | 大・B |
| E9 | 味噌、もろみ、木桶、重石 | 6 | 6 | 0 | 6 | 0 | 0 | 添加無し | E9-1、E9-2 | 大・A、大・A |
| E10 | 味噌、木桶 | 8 | 7 | 1 | 7 | 1 | 0 | 添加無し | E10-1 | 大・A |
| E11 | 味噌、たまり | 10 | 10 | 0 | 4 | 6 | 0 | 添加無し | E11-1 | 大・A |
| E12 | 味噌 | 6 | 6 | 0 | 0 | 6 | 0 | 添加無し | E12-1 | 大・B |
| E13 | 味噌 | 6 | 5 | 1 | 2 | 4 | 0 | 添加無し | E13-1 | 大・A |
| F1 | 味噌、味噌桶 | 5 | 5 | 0 | 2 | 3 | 0 | 添加無し | F1-1 | 大・A |
| F2 | 味噌、味噌桶 | 6 | 5 | 1 | 5 | 1 | 0 | 添加無し | F2-1 | 大・A |
| F3 | 味噌、諸味、醤油粕 | 22 | 13 | 9 | 12 | 10 | 0 | A | F3-1、F3-2、F3-3 | 3株とも小・A |
| F4 | 味噌 | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 | 0 | 添加無し | F4-1 | 大・B |
| F5 | 味噌、麹室 | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 添加無し | F5-1 | 大・A |
| F6 | 味噌、味噌桶 | 3 | 3 | 0 | 3 | 0 | 0 | 添加無し | F6-1 | 大・A |
| F7 | 味噌 | 3 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 添加無し | F7-1 | 大・C |
| F8 | 味噌 | 6 | 4 | 2 | 6 | 0 | 0 | 添加無し | F8-1 | 大・A |
| F9 | 味噌 | 3 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 添加無し | F9-1 | 大・B |
| G1 | 味噌 | 6 | 5 | 1 | 3 | 3 | 0 | 添加無し | G1-1 | 大・B |
| G2 | 味噌 | 4 | 4 | 0 | 0 | 3 | 1 | 添加無し | | 選択中 |
| G3 | 味噌 | 3 | 3 | 0 | 1 | 2 | 0 | 添加無し | | 選択中 |
| G4 | 味噌 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 添加無し | | 選択中 |
| G5 | 味噌 | 3 | 3 | 0 | 2 | 1 | 0 | B | | 選択中 |
| G6 | 味噌 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 添加無し | G6-1 | 大・B |
| G7 | 味噌 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 添加無し | G7-1 | 大・C |

各蔵において選択された酵母の同定結果を表2に示した。主発酵酵母ばかりでなく後熟酵母も選択されている。未同定の株についても今後、同定を進める予

定である。

選択された酵母の味噌培地培養液のエタノール濃度を図 1 に示した。後熟酵母の中には発酵力が弱い株の存在も知られているが、後熟酵母と同定した E4-1 以外のすべての酵母培養液のエタノール濃度は 1%以上であった。電子顕微鏡による観察画像の一部を図 2 に示したが、酵母により形状、サイズの違いが認められている。

表 2 選択株の同定結果

| 選択酵母 | Subject | Identities |
|-------|---|------------|
| E1-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 100.0% |
| E2-1 | <i>Z.rouxii</i> CBS732 | 100.0% |
| E3-1 | <i>Z.rouxii</i> CBS732 | 100.0% |
| E4-1 | <i>C.sp.</i> LMSA2 | 99.0% |
| E5-1 | <i>Z.rouxii</i> CBS732 | 99.0% |
| E6-1 | <i>Z.rouxii</i> CBS732 | 99.0% |
| E7-1 | <i>Z.rouxii</i> CBS732 | 100.0% |
| E8-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 99.7% |
| E9-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 99.0% |
| E9-2 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 99.0% |
| E10-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 100.0% |
| E11-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 100.0% |
| E12-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 99.7% |
| E13-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO0510 | 99.9% |
| F1-1 | <i>Z.rouxii</i> | 99.0% |
| F3-1 | <i>Meyerozyma(Candida) guilliermondii</i> | 100.0% |
| F3-2 | <i>C. versatilis</i> JCM8065 | 98.1% |
| F3-3 | <i>C. versatilis</i> JCM8065 | 98.1% |
| F5-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO 0510 | 99.0% |
| F6-1 | <i>Z.rouxii</i> IFO 0510 | 99.0% |

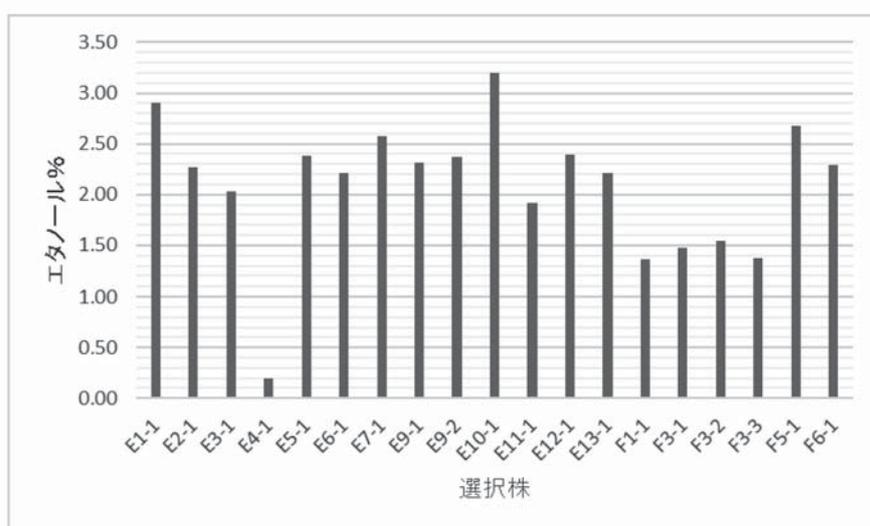
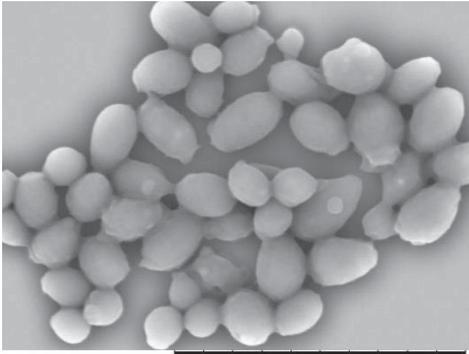
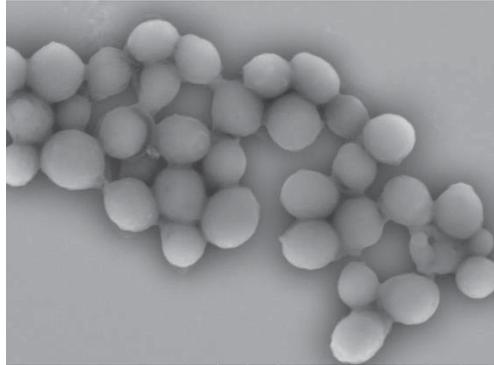


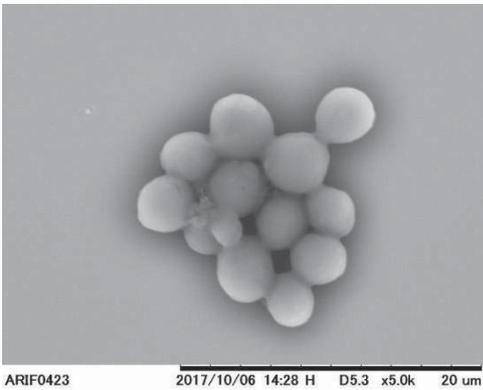
図 1 選択酵母味噌培地培養液のエタノール濃度



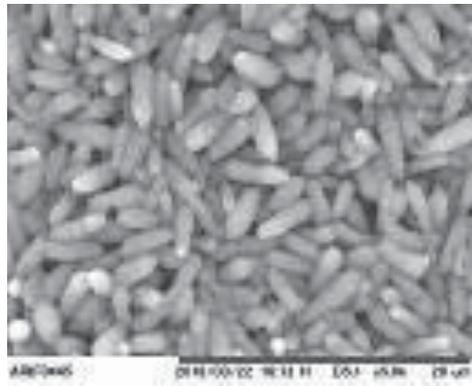
E1-1



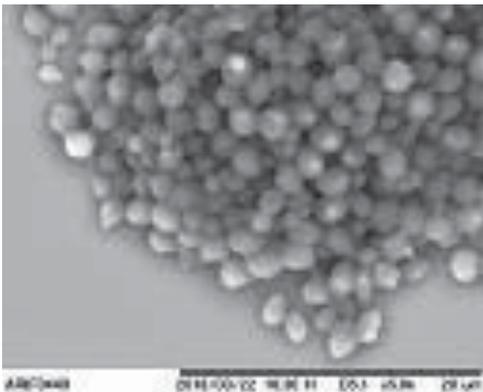
E6-1



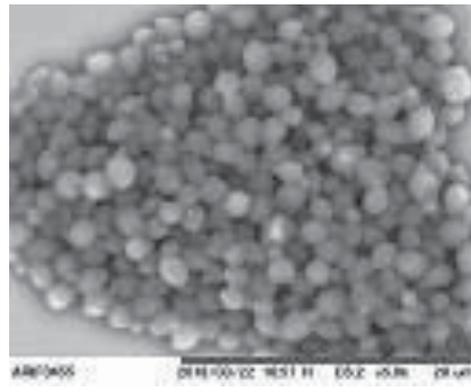
E12-1



F3-1



F3-2



F3-3

図2 酵母の電子顕微鏡観察画像 (5000倍)

表3 選択酵母の味噌培地での評価

主発酵酵母

| | 香の強さ | 嗜好性 | 個性の強さ |
|-------|------|------|-------|
| E1-1 | 3.38 | 3.07 | 3.58 |
| E2-1 | 3.31 | 3.29 | 3.17 |
| E3-1 | 3.15 | 2.71 | 2.67 |
| E5-1 | 2.92 | 3.14 | 2.75 |
| E6-1 | 2.85 | 3.00 | 2.92 |
| E7-1 | 3.00 | 3.07 | 3.08 |
| E8-1 | 3.62 | 2.86 | 3.50 |
| E9-1 | 3.08 | 3.21 | 2.83 |
| E9-2 | 3.00 | 3.21 | 3.00 |
| E10-1 | 3.00 | 3.14 | 2.83 |
| E11-1 | 3.23 | 2.71 | 3.50 |
| E12-1 | 3.46 | 3.43 | 3.25 |
| E13-1 | 3.23 | 3.36 | 3.08 |
| F1-1 | 3.00 | 3.07 | 3.25 |
| F6-1 | 3.08 | 3.50 | 3.33 |
| F7-1 | 3.38 | 3.29 | 3.33 |
| F8-1 | 3.46 | 3.43 | 3.33 |
| AM1 | 3.50 | 3.58 | 3.91 |
| AM2 | 3.42 | 3.50 | 3.09 |
| AM3 | 3.00 | 2.92 | 3.73 |

後熟酵母

| | 香の強さ | 嗜好性 | 個性の強さ |
|-----------|------|------|-------|
| E4-1 | 3.91 | 1.92 | 4.20 |
| F3-1 | 3.27 | 3.46 | 3.40 |
| F3-2 | 3.55 | 3.54 | 3.40 |
| F3-3 | 3.73 | 3.54 | 3.30 |
| NBRC10037 | 4.33 | 1.62 | 4.55 |
| NBRC10038 | 3.50 | 3.29 | 3.36 |

(パネル13名の官能検査の平均値)

主発酵酵母の区分では香りの強さ、嗜好性、個性の強さの各項目とも酵母による大きな差は認められず、対照のゆらら酵母（AM1、AM2、AM3）と同程度の評価が得られた。選択された17株の主発酵酵母のすべてが、ゆらら酵母と同様に味噌醤油へ利用できることが示唆された。各蔵の味噌の香りを代表する香りと評された酵母も認められたことから、今回選択された主発酵酵母は既存商品の自社らしさ（風味個性）維持のみならず商品改良、新商品開発へ役立つ資源といえる。一方、後熟酵母の区分では嗜好性に大きな違いが認められ、F3-1、F3-2、F3-3、*Candida versatilis* NBRC10038を好むパネルが多かった。以上の酵母は単独、または主発酵酵母との併用により、味噌醤油の差別化、特徴香りの付与への貢献が期待できる。E4-1と*Candida etchellsii* NBRC10037の2株は

香りの強さと、個性の強さが明確に認められたが、嗜好性の評価が著しく低く、活用には課題が残った。課題解決のため、再分離、再選択について検討中である。

【まとめと今後の展望】

今回の結果を微生物資源の確保の観点からみると多くの企業で ABC タイプの異なる酵母の混在と後熟酵母の存在が認められた。醸造環境中の発酵食品に存在する添加酵母以外の多様な酵母が確保できたことは意義があると考えられる。今回得られた微生物資源は秋田県総合食品研究センターで -80°C 凍結保存して、必要に応じて県内の蔵（企業）へ提供する予定である。17 株の各蔵の風味個性を有する主発酵酵母や F3-2、F3-3 に代表される後熟酵母は秋田県内における味噌醤油用の新しい酵母として今後の活用が期待される。今回の報告では平成 28 年から 30 年にわたる 3 年間の研究成果の一部をまとめたが、味噌用酵母の分離選択、香気成分の分析については研究を継続しており、次回報告する予定である。

【文献】

- 1) 渡辺隆幸 (1998) 味噌用酵母「秋田香り酵母ゆらら」の開発と利用、日本醸造協会誌、**93**, 22-27.
- 2) 松本伊左尾、今井誠一 (1973) みそ酵母の生育 pH 域と実用性、日本食品工業会誌、**20**, 513-518.

秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と 香りによる癒し効果

進藤昌

(秋田県総合食品研究センター)

Sho SHINDO

【要約】

我々は、これまでに秋田スギを原料としたガソリン代替燃料であるバイオエタノールの製造技術の開発を行い、微粉碎した秋田スギを原料としてセルラーゼと高温発酵性酵母を用いた同時糖化発酵によるバイオエタノール生産システムを開発した。このバイオエタノールの新たな利用法として消毒用エタノールの利用開発を進めている。消毒用エタノールは、食品工場やレストランでの殺菌目的としての使用に加え、さらに香りによるマスキングや癒し効果が期待されるため、高齢者施設などの利用が考えられる。

そこで、低濃度エタノールと杉葉抽出成分の相乗効果による殺菌能と香りによる脳波への影響を検討した。その結果、秋田スギ葉の抽出物を含むエタノール溶液に細菌や真菌類に対して強い殺菌効果があることが判明した。さらに、抽出成分に含まれるテルペン類由来の香気成分が、人の脳波に影響を及ぼしリラックス効果を示すことが明らかとなった。

【緒言】

バイオマス（生物系資源）を利用したエネルギーは、再生可能かつクリーンであるため、地球温暖化対策として積極的に開発を推進することが求められている。また、有機性廃棄物のリサイクル推進の観点からも重視されている。特に、バイオマスを微生物・酵素を利用してエタノールへ変換し、エネルギー源として利用する利用法はきわめて魅力的であり、その実用化が強く期待されている¹⁾

日本では、バイオエタノールの原料として食糧と競合しない、雑草や稲ワラなどのような草本系バイオマスと間伐材や廃木材などのような木質系バイオマスを利用するのが望ましいと考えられている。しかし、これらバイオマスからバイオエタノールを生産することは、トウモロコシなどの澱粉系穀物に比較して技術的に難しい点が多い。間伐材や林地残材の場合、国内での発生量は年間760万トンを超えており、稲わらでは年間900万トンを超える。これらをバイオエタノールに変換することは資源の乏しい日本にとって有用なことである¹⁾。

セルロース系バイオマスの多くは、ヘキソースとペントースで構成されているセルロース、ヘミセルロースなどの植物繊維が大部分を占めている。ところが現状では、ヘキソースからの酵母によるエタノール生産技術は開発されているが、ペントースからのエタノール生産は困難であり、遺伝子組換え菌などによる研究報告が有るが生産能が低く、制御も困難であり未だ実用化の例はない^{2,3)}。

一方、エタノールは、殺菌効果を持つ為、殺菌剤として利用されている。エタノール殺菌剤は、その高い殺菌効果により食品工場やレストランなどの食品分野だけでなく医療現場など殺菌が必須なエリアでも広く使用されている^{4,5)}。エタノール殺菌効果は、濃度に依存し、70%の濃度が最も殺菌効果が高い。しかし、単独で使用する場合、高濃度のエタノールでは、引火性が高いため危険である。そこで、中低濃度で高い殺菌効果を得るために、低 pH や低水分活性、加熱、紫外線照射などが考えられる。さらに殺菌効果のある添加材として、塩化ベンザルコニウム、グリシン、ロジチーム、脂肪酸エステル、炭酸ガス、脱酸素剤、キトサン、フィチン酸、モノカプリン、チアミンラウリル硫酸塩、有機酸、抗生物質などを併用した殺菌剤もある。

我々は、バイオマスを原料として製造されたバイオエタノールを消毒用エタノールとして使用するために、秋田スギを原料とした消毒用エタノールの殺菌効果について検討を行った。さらに、秋田スギ葉から抽出された香り成分の癒し効果について検証を行った。

【実験方法】

1. 試料調製方法

バイオマス原料は、秋田スギの葉を用いた。試料は湿潤状態で0.5mmの長さに裁断したものを水蒸気処理に用いた。水蒸気処理で得られた精油は50%濃度のエタノールに溶解した。また、減圧蒸留によるエタノール抽出は、0.5mmの長さに裁断したスギ葉20gを20%エタノール溶液200mlに加えて、ロータリーエバポレーターで60℃、減圧(170hpa)条件で50%エタノールの蒸留液を作成した。

2. 殺菌能試験

供試菌株として、*Escherichia coli* NBRC3972、*Staphylococcus aureus* NBRC12732、*Salmonella enteritidis* NBRC3313、*Saccharomyces cerevisiae* NBRC216を用いた。殺菌試験は、各種バイオマス抽出液を含むエタノール溶液4.5mlに0.5mlの菌培養液を加え、30秒間vortexで攪拌した。次に懸濁液を無菌水で希釈して寒天培地に塗布して培養を行い、生菌数をCFUカウント法で測定した。

3. 脳波測定方法

試験は、秋田県総合食品研究センター倫理審査委員会(登録番号;2017-002)に基づく研究活動により被検者を募集して行った。測定は、被験者に対して平常時の場合、および秋田スギ葉から抽出された成分を含む50%エタノール溶液について、ボトルを手を持ち、鼻に近づけて匂いを嗅ぎながら、3分間、静座状態で脳波を測定した。脳波測定器は、フューテックエレクトロニクス株式会社のブレインプロFM929を用い

て、7～13Hzの α 波と17～26Hzの β 波を測定して平均電位を算出し、 α 波電位/ β 波電位をリラクセス度とした。

4. テルペノイドの分析方法

ガスクロマトグラフィー質量分析計の分析条件は以下の通りである。各サンプル1 μ Lをそのままガスクロマトグラフィーに注入し、下記の条件で分析を行って溶存するテルペノイドの検出をした。(ガスクロマトグラフィー分析条件) 装置:GC-14B (島津製作所)、カラム:TC-5 (GLサイエンス)、試料導入口温度:200 $^{\circ}$ C、カラム初期温度:60 $^{\circ}$ C、カラム初期時間:5min、昇温速度:3 $^{\circ}$ C/min、カラム最終温度:220 $^{\circ}$ C、カラム最終時間:41min、検出器温度:230 $^{\circ}$ C、キャリアーガス: N_2 、検出器:FID、成分の同定には装置付属のライブラリデータを用いた。

【結果と考察】

1. 秋田スギ葉エタノールの殺菌能

秋田スギ葉をエタノール溶液中で減圧蒸留して作成した蒸留液の殺菌能を検証した。はじめに、3種類の細菌を用いて検討を行った。その結果、*E. coli*では、初期菌数 2.4×10^8 cfu/mlの場合、25%エタノール溶液のみに30秒間接触させた際の菌の減少率が89.5%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む25%エタノール溶液に同時間接触させた場合には、減少率が99.999%と 5Log_{10} 以上であった(表1)。また、*S. aureus* NBRC12732では、初期菌数 5.1×10^8 cfu/mlの場合、40%エタノール溶液では、菌の減少率が93.73%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む40%エタノール溶液の場合には、減少率が99.999%と 5Log_{10} 以上であった(表2)。さらに、*S. enteritidis* NBRC3313では、初期菌数 8.7×10^8 cfu/mlの場合、30%エタノール溶液では、菌の減少率が15.75%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む30%エタノール溶液の場合には、減少率が99.963%と減少率が上昇した。なお、*S. enteritidis* NBRC3313は、40%エタノール溶液のみに30秒間接触させた場合に、減少率が 5Log_{10} 以上であった(表3)。一方、真菌類を用いて検討を行った。その結果、*S. cerevisiae*では、初期菌数 2.0×10^8 cfu/mlの場合、30%エタノール溶液のみに30秒間接触させた際の菌の減少率が16.1%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む30%エタノール溶液に同時間接触させた場合には、減少率が98.1%であった(表4)。以上の結果より、細菌、真菌類に対して、何れも秋田スギ葉の抽出成分がエタノールとの相乗効果により殺菌能を上昇させることが判明した。

表 1. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Escherichia.coli*に対する殺菌効果

| | | |
|-------------------------------|-----|----------|
| 25%エタノール溶液 | 減少率 | 89.50% |
| 25%エタノール杉葉溶液 | 減少率 | >99.999% |
| 初期菌数 2.4×10^8 cfu/ml | | |

表 2. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Staphylococcus aureus*に対する殺菌効果

| | | |
|-------------------------------|-----|----------|
| 40%エタノール溶液 | 減少率 | 93.73% |
| 40%エタノール杉葉溶液 | 減少率 | >99.999% |
| 初期菌数 5.1×10^8 cfu/ml | | |

表 3. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Salmonella enteritidis*に対する殺菌効果

| | | |
|-------------------------------|-----|----------|
| 30%エタノール溶液 | 減少率 | 15.75% |
| 40%エタノール溶液 | 減少率 | >99.999% |
| 30%エタノール杉葉溶液 | 減少率 | 99.963% |
| 初期菌数 8.7×10^8 cfu/ml | | |

表 4. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Saccharomyces cerevisiae*に対する殺菌効果

| | | |
|-------------------------------|-----|-------|
| 30%エタノール溶液 | 減少率 | 16.1% |
| 30%エタノール杉葉溶液 | 減少率 | 98.1% |
| 初期菌数 2.0×10^8 cfu/ml | | |

2. 秋田スギ葉エタノールのテルペン組成と殺菌能の検討

秋田スギ葉エタノールに含まれる、テルペン類の分析を行った。その結果、モノテルペンである α ピネン、サビネン、カンファー、ボルネオールが含まれていた。また、モノテルペンアルコールのテルピネン-4-オールが含まれており、この成分が最も多く含まれていた(表5)。そこで、テルピネン-4-オールの殺菌能について検討を行った。テルピネン4オールを25%エタノール溶液に0ppmから1.0ppmの濃度で*E. coli*に対する殺菌能を検討した。その結果、殺菌能は、テルピネン4オールの濃度に依存し、濃度が高いほど*E. coli*の減少率が高くなった。初期菌数 4.7×10^8 cfu/mlの場合、1.0ppmのテルピネン4オールを含む25%エタノール溶液に30秒間接触させ

た際の菌の減少率が 99.999%と 5Log_{10} 以上であった。比較として α ピネンを用いて同様の検討を行った。その結果、1.0ppm の α ピネンを含む 25%エタノール溶液に 30 秒間接触させた際の菌の減少率は、81.3%と同濃度のテルピネン 4 オールよりも低く、さらに、3.0ppm の α ピネンを含む 25%エタノール溶液でも 98.9%の減少率となった。本試験で調製した秋田スギ消毒用エタノールの高い殺菌効果は、テルピネン 4 オールの含有率が高いことに起因することが推察された。

表 5. 秋田スギ葉抽出物に含まれるテルペン

| テルペン | 濃度 (mg/ml) |
|------------------------|---------------|
| α -Pinene | 0.0031 |
| Camphene | 0.0000 |
| Sabinene | 0.0070 |
| Limonene | 0.0000 |
| cis-Sabinene hydrate | 0.0160 |
| trans-Sabinene hydrate | 0.0119 |
| Camphor | 0.0037 |
| Borneol | 0.0024 |
| Terpinen-4-ol | 0.3345 |
| Bornyl acetate | ND |
| Elemol | 0.0150 |
| γ -Eudesmol | 0.0075 |
| Muurolol | 0.0056 |
| β -Eudesmol | 0.0128 |
| α -Eudesmol | 0.0168 |
| Kaurene | ND |

3. 脳波計による癒し効果の検証

秋田スギ葉のエタノール減圧蒸留液の脳波への影響を検討した。表 6 に示したように脳波によって脳の状態を推測することが出来る。 α 波電位/ β 波電位をリラックス度として、20代から60代までの男女86名の被検者で測定を行った結果、リラックス度が1.47倍上昇し、明らかに効果があることが実証された (図1)。被検者の多くで α 波 (ゆったりしている度合い) が上昇し、 β 波 (イライラしている度合い) が減少していた。これまでに精油には、多くの効果あり精油の種類によってその効果が異なることが報告されている^{6,7)}。しかし、それぞれの効果について学術的な報告が極めて少ない。田口らは、ストレス解消に及ぼす精油の効果を検証するために、脳波計を用いて測定を行った⁸⁾。128種類の精油を用いて6人の被験者で測定したところ、匂いを嗅いだ時の α 波、 β 波の分布率が精油の種類により大きく異なり、さらに、 β 波が減少して α 波が増加するのは個人によって異なり、被検者によっては、逆の効果があつたことを報告している。今回本試験で調整した秋田スギ葉消毒用エタノールは、被験者

によっては、リラックス度が2倍以上になる場合や、一部リラックス度の上昇率が低い被験者もいたが、リラックス度が低下する被験者はいなかった。以上のことより、秋田スギ葉消毒用エタノールの香り成分は、リラックス度を向上させる効果が強いと推察される。

表6. 脳波の種類とその内容

| 脳波 | 周波数 | 脳の状態 |
|----------|--------|-------------|
| β | 13<~30 | イライラしている度合い |
| α | 8~13 | ゆったりしている度合い |
| θ | 4~<8 | 眠い度合い |
| δ | 0.5~<4 | とても眠い度合い |

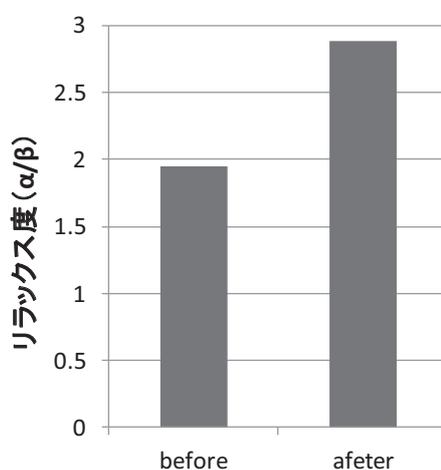


図1. スギ葉エタノール蒸留液のリラックス度に及ぼす効果

【引用文献】

- 1) 進藤昌 (2010) エタノール発酵技術各論：次世代バイオエタノール生産の技術革新と事業展開－持続可能社会実現に向けたセルロース系バイオマスの利用技術－ (鮫島正浩監修) フロンティア出版 153-163.
- 2) Nishida T., Shindo S., Masuda S., Sakaki I., Takahashi T., and Mori H. (2016) Production of bioethanol from pulverized Japanese cedar powder by simultaneous saccharification and fermentation with high-temperature fermentability yeast *Schizosaccharomyces japonicus* SS4-5. *J. Jpn. Inst. Energy*, **95**(4), 283-288.
- 3) Shindo S. (2015), Effect of amphiphilic phospholipid polymer treatment on enzymatic saccharification of pulverized Japanese cedar powder. *J. Jpn. Inst. Energy*, **94**(10), 1098-1104.

- 4) 古田太郎 (1994) 食品衛生分野におけるアルコール製剤の利用、*ジャパンフードサイエンス*、**33**(4), 58-64.
- 5) 山下勝 (1996) アルコール類の微生物に対する作用、防菌防黴、**24**(3), 195-219.
- 6) Shinya Y., Funabashi N., Lee, K., Toyoda T., Sekine T., Honjo S., Hasegawa R., Kawata T., Wakatsuki Y., Hayashi S., Murakami S., Koike K., Daimon M., and Komuro I. (2007) Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int. J. Cardiol.*, **129**(2), 193-197.
- 7) Martin, G. N. (1998) Human electroencephalographic (EEG) response to olfactory stimulation: Two experiments using the aroma of food. *Int. J. Psychophysiol.*, **30**(3), 287-302.
- 8) 田口寛、伊藤貴恵、耳野弘晃 (2009) ストレス解消に関する研究 エッセンシャルオイルが脳波に及ぼす影響、*三重大学大学院生物資源学研究科紀要*、**36**, 31-38.

2. 総説 (2件)

- 1) 米糠を用いた機能性発酵素材の開発・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
○大友理宣 (秋田銘醸株式会社)

- 2) 秋田県のご当地サプリ「潤彩小町」の商品化と上市について・・・・・・・・ 19
○高嶋亜希子 (株式会社サノ)

米糠を用いた機能性発酵素材の開発

大友理宣

(秋田銘醸株式会社)

Masanobu OHTOMO

【要約】

数種の酵素処理によって調製した米糠培地中で、*Lactobacillus brevis* IFO12005 による乳酸発酵を利用して、グルタミン酸からの γ -アミノ酪酸 (GABA) 高生産方法を確立し、「爛漫ギャバ液 (米糠発酵液)」および「爛漫ギャバ粉末 (米糠発酵粉末)」として上市した。

同素材の生理機能性を、培養細胞およびラットを用いた試験において検討した結果、小腸上皮における中性脂肪の取り込み抑制、肝臓における脂質合成の阻害による脂質異常症改善作用を見出した。さらに、米糠発酵素材のペットフード産業への展開を考慮し、飼育犬を対象とした米糠発酵素材配合サプリメントによるモニター調査、解析した結果、腹囲改善などメタボ効果が明らかとなった。

【緒言】

近年、食生活の欧米化による消費者の食に対する変化や、高齢化社会による健康に関する意識の高まりのため、清酒生産量が最盛期の 20%程度にまで落ち込み、さらに、消費者の飲酒スタイルの量から質への変化も個人消費低迷に繋がっている。このような消費者の清酒離れは、我々清酒業界にとって深刻な問題である一方、既存の醸造設備や発酵技術をいかした新たな発酵製品開発に繋がるチャンスでもある。

国内米生産量は約 750 万トン (平成 28 年度) で、精米時に生じる米糠や無洗米粕などの精米副産物は、豊富な栄養素などを含んでいるが産業的に有効利用されていない。こうした背景のもと、著者らは精米副産物の米糠または無洗米粕の有効利用を目的に、酒蔵の発酵技術を活用した乳酸菌による効率的な γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid ; 以下 GABA、図 1) の製造方法の確立を目指した。さらに、機能性評価の解明による GABA 高含有発酵素材の開発および既存醸造設備における実用化について概説する。

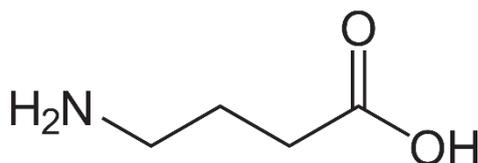


図 1 GABA (γ -aminobutyric acid)

モル質量 : 103.12 g/mol

【米糠を用いた乳酸菌による米糠発酵素材の生産法】^{1,2)}

我々は先ず、*Lactobacillus brevis* IFO12005 による γ -アミノ酪酸(GABA)の効率的な生産法を検討した。米糠(あきたこまち、めんこいな、秋田酒こまち)を唯一の栄養源とし、米糠重量に対して GABA の基質となるグルタミン酸ナトリウム (MSG) を 8%(w/w)の添加した場合、*L. brevis* IFO12005 での乳酸発酵により、90%以上の変換率で (添加した MSG 換算) GABA を生産することを見出した。さらに、米糠を複合酵素剤で処理することで、培地中の栄養源であるアミノ酸や糖分が 2 倍以上に増加し、本乳酸菌発酵に適した米糠培地 (Rice Bran; RB 培地) となることが判明したので、本培地をベースに以下の試験を行った。既存醸造設備を活用した実用化のため、最終的には、30 L のジャー培養装置で RB 培地を 20 kg 処理する培養試験において、当初の目的であった GABA 濃度 1.0% (w/w) 以上の発酵液 (実際は 1.4%) の製造が可能であることを確認した。また、更なる GABA 濃度向上のため、培地の加水割合、MSG 添加量の限界などを検討し、弊社 4,000 L 醸造発酵タンクでの現場スケールで生産し、液体は「爛漫ギャバ液 (米糠発酵液)」として商品化した (図 2)。また、現場スケールで培養した醪に賦形剤(米糠)を配合し、醪ごと乾燥粉末化する製法をも確立した。なお、粉末の GABA 含有米糠発酵素材については「爛漫ギャバ粉末 (米糠発酵粉末)」として商品化した。

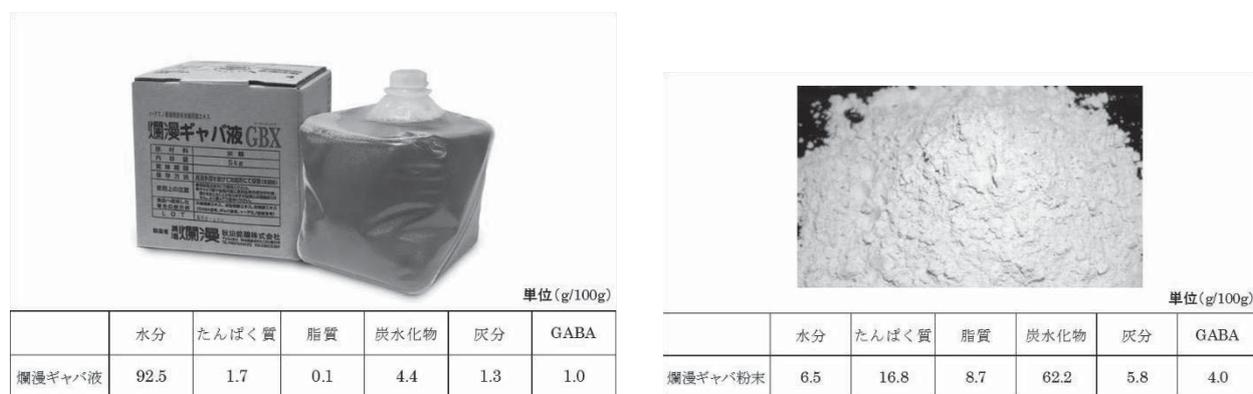


図 2 爛漫ギャバ液製品 (米糠発酵液、左図) と爛漫ギャバ粉末(米糠発酵素材粉末、右図)

商品化した GABA 含有米糠発酵素材の色々な加工食品への加工適正を検討した結果、炊飯およびパン焼成工程等の加工中の高温工程においても GABA の減少は少なく、官能評価による風味にも影響が少ないことが判明した。

【米糠発酵素材に含まれる脂質異常症改善作用】³⁾

開発した GABA 含有米糠発酵素材の生活習慣病予防などを目的に、米糠発酵素材を用いて、細胞や小動物による脂質異常症改善作用などについて検討した。

米糠発酵素材を高脂肪食に配合した試料を、ラットに 3 週間給与した結果、高脂肪食単独区と比較して、血中中性脂肪値およびコレステロール値を正常化した。同時にラットを解剖し、臓器重量を測定したところ、肝臓重量、腸管膜周囲脂肪重量ならびに精巣周囲脂肪重量の増加を顕著に抑制した。以上から米糠発酵素材(培養液)には、高脂肪食負荷ラットにおける肝臓や脂肪組織に対する脂肪蓄積低減作用および、血中脂質値(中性脂肪およびコレステロール値)の正常化作用があることが判明した。

【ヒト培養細胞を用いた脂質異常症改善作用機構および成分の解明】

小腸上皮細胞は、食事からの脂質を吸収する細胞である。また、肝臓は体内に吸収された脂質再合成器官であり、高脂血症治療薬であるエゼチミブは小腸上皮細胞を、スタチン系薬剤は肝臓を標的にしている。株式会社スカイライト・バイオテックは、小腸上皮様細胞(分化した Caco2 ヒト大腸がん細胞) および肝細胞 (HepG2 ヒト肝ガン細胞) から分泌される脂質を定量することで新たな脂質異常症活性の探索評価系を開発した。これら評価系を活用して、著者らは米糠発酵素材の脂質異常症改善作用機構および活性物質の単離を行った。

米糠発酵素材を終濃度 1.0 mg/ml で処理した小腸上皮細胞では、中性脂肪およびコレステロール吸収が顕著に抑制された。また、肝細胞に対して 1.0 mg/ml 以上の米糠発酵素材処理により、中性脂肪およびコレステロールの生合成を濃度依存的に阻害した。さらに、肝細胞に対する脂質異常症改善作用を指標に活性物質を単離し、フィチン酸およびフェルラ酸であることを確認した。

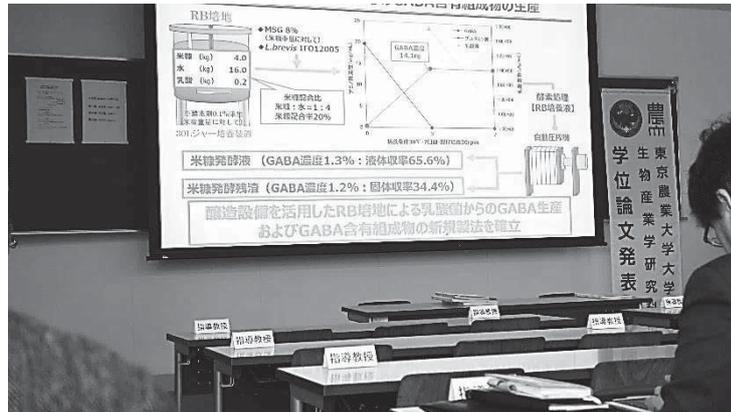
【米糠発酵素材配合サプリメントを用いた家庭犬モニター調査】⁴⁾

米糠発酵素材の多用途利用を目的に、愛玩動物の抗メタボ作用を検討した。一般家庭で飼育されている年齢、性別、体重の異なる犬種を対象に、それぞれの体重に従った量の米糠発酵素材(粉末)配合サプリメントを 8 週間継続摂取させ、その変化に関してアンケート形式で調査し、解析した。「サプリメントの嗜好性」において、「他のおやつやフードと同等以上」と回答した個体は、86.0%、と高評価であることを確認した。8 週間のサプリメント摂取による腹囲の変化について調べた結果、給与試験開始前に比べて、4 週目、6 週目および 8 週目で腹囲に有意な減少が認められた。

また、行動学的変化では、アンケート「元気、活発になった」と回答した個体(活性化群)、「変化しない」と回答した個体(無変化群)の腹囲変化率を比較した結果、活性化群が無変化群に比べ 4 週目、6 週目および 8 週目に有意な減少が認められた。これは、元気・活発になった個体が、より摂取カロリーを多く消費し、蓄積された体内脂肪をより多く代謝したため、腹囲が減少したと考えられた。アンケート「主食に対する食欲」設問(8 週目回答)で、食欲が増進したと回答した個体を増加群、変化しないと回答した個体を無変化群とし、腹囲の変化率を検証した結果、増加群は、無変化群に比べ、4 週間後、6 週間後および 8 週間後に有意な減少が認められた。

【おわりに】

本研究によって、中小企業の酒蔵から醸造設備や発酵技術を活用した新規発酵素材の開発が、低迷した業界の一助となれば幸いである。本素材は、豊富な栄養素を含んだ精米副産物を原料とした発酵素材のため、未解明な機能性効果や有効成分が含有している可能性が高いことから、今後も研究継続をするつもりである。さらに、醸造設備を活用した発酵に関する研究を行っていききたい。



本研究成果に対して、平成30年3月東京農業大学大学院生物産業学研究科から博士の学位が授与されました。常に御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました元東京農業大学生物産業学部食香粧化学科 戸枝 一喜教授（前秋田県総合食品センター）、秋田県総合食品研究センター 畠 恵司博士に深く感謝をいたします。さらに、共同研究等で御協力を戴きました秋田県総合食品研究センターの職員の皆様に感謝を申し上げます。

【引用文献】

1. 大友理宣、木村貴一、渡辺誠衛、戸枝一喜 (2006) 米糠を用いた *Lactobacillus brevis* IFO12005 による γ -アミノ酪酸含有組成物の生産、生物工学会誌、**84**(12), 479-483.
2. Ohtomo M., Nojima S., Ito A., Hokari M., Hata K., Toeda K. (2018) Enhancement of GABA Production Utilizing Enzyme-treated Rice Bran by Lactic Fermentation with pH Control. *Food Preservation Science*, **44**, 309-313.
3. 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 (2011) 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、生薬学雑誌、**65**(1), 33-38.
4. 橋爪千恵、大友理宣、高倉はるか、高嶋亜希子、畠恵司 (2012) 米糠発酵粉末を含む犬用補助栄養食の有用性と満足度に関するアンケート調査、ペット栄養学会誌、**15**(2), 72-79.

秋田県のご当地サプリ「潤彩小町」の商品開発と上市について

高嶋亜希子（株式会社サノ）

Akiko TAKASHIMA

【要約】

株式会社サノと秋田県総合食品研究センターは共同研究により、「ジュンサイエキス+酒粕乾燥粉末」からなるゼリー状サプリメント「潤彩小町」を開発した。開発段階と上市後に2度行ったヒト臨床試験および定期購入者を対象としたアンケート調査より、「潤彩小町」の“便通改善作用”、“毛穴引き締め効果”、“肌の乾燥防止”など幾つかの生理機能が明らかとなった。

【緒言】

株式会社サノは江戸時代初期に、屋号を「越後屋」と称し秋田の地で商いを始めたと伝えられている。本業は卸売業だが、秋田県内の各医療機関や検査機関に臨床検査機器や検査試薬の販売や医療用廃棄物の回収、最近では介護福祉施設などに衛生マットレスや介護用品の販売を行い、人々の健康づくりを支援している。弊社はこれまでの事業に加えて、4年前に食品開発事業を新規事業として“健康は食から”という理念のもと開始した。しかしながら、卸売業を主たる業務としてきたため、自社ブランドの食品については商品開発を行った経験がなく、秋田県総合食品研究センター（以降、秋田県総食研）との共同研究として、2017年12月「ジュンサイエキス+酒粕乾燥粉末」からなるゼリー状サプリメント「潤彩小町」を上市するに至った。この期間、新規事業の商品開発に関わる県の補助金「がんばる中小企業応援事業」を活用したことも含め、商品の高付加価値化のための試験研究や食品表示法に関する情報提供など総合的な支援を受けた内容を紹介する。

【商品開発段階におけるプラセボ対照二重盲検】^{1,2)}

当社で食品開発事業を開始するきっかけは、便秘に悩む女性（妊婦）が多いという市場調査に基づいて、独自の便通改善サプリメントの開発をすすめることになった。しかしながら、高齢者や子供などと同じく妊婦はハイリスクグループに属し、健康食品やサプリメント摂取には注意を要するため、30～40代の女性をターゲットにした商品設計を行った。また、秋田県産素材を使いたいという当社の強い思いもあり、使用する原材料は秋田の地域資源から選定した。酒粕には便通改善効果があると言われるレジスタントプロテインが含まれることからまずは酒粕を選んだ³⁾。秋田県産じゅんさいを原料としたジュンサイエキスに含まれる腸内フローラ改善効果⁴⁾も活用することで、「酒粕とジュンサイエキス」を配合したサプリ

メントを商品開発することになった。

しっかりと「信頼」「信用」ある商品づくりを行いたいという理念から、ターゲットの年代を対象としたヒト臨床試験を行い、実際の生理機能に関するエビデンスデータを取得した。ヒト臨床試験は外部試験機関に委託すると数百万円の単位で費用がかかり、中小企業にとってハードルが高いが、秋田県総食研との共同研究で、経費を抑えることが可能となった。

健常成人女性を対象に、「ジュンサイエキス+酒粕乾燥粉末」ハードカプセル試験食もしくは、外見からは全く区別できない同量のトウモロコシデンプンからなるプラセボ食を、1日4粒を4週間摂取する試験を計画した。本試験は、成人女性の“便通改善”を調べる目的で行ったため、試験終了後に、参加者から摂取と排便日数および排便回数を記入した日誌と便の状態に関するアンケート調査結果を回収した。図1にプラセボ食および試験食の2週間摂取後の排便日数および便の回数に対する影響を示した。排便日数および排便回数とも、プラセボ食摂取区と比較して、試験食摂取区の方が多かった。また、便の状態のアンケート調査について「硬さ」「形状」「便臭」「爽快感」すべての項目で試験食区はプラセボ食区よりもさらに良好な回答結果が得られた。これらのことから、「ジュンサイエキスおよび酒粕乾燥粉末」を配合する試験食は緩やかな便通改善効果を有するものと考えられた。

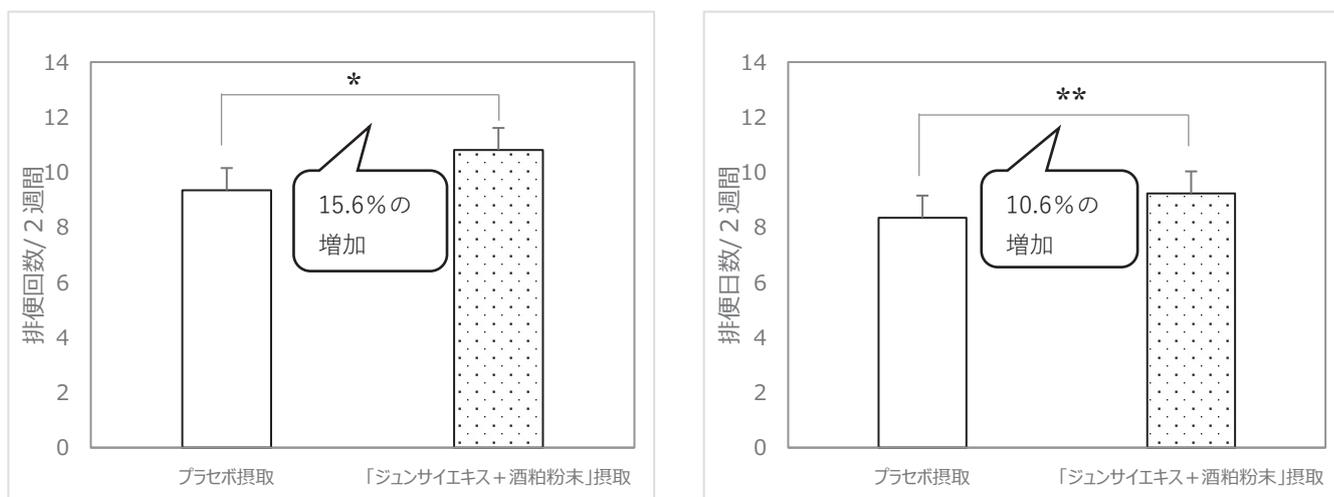


図1 ジュンサイエキスおよび酒粕粉末からなるサプリメント摂取による排便日数および排便回数に対する影響

データは2週間プラセボ食ならびに試験食摂取期間中の排便日数および排便回数を表す平均値±標準誤差 n=26. (*:p<0.05,**:p<0.01)

また、便通が改善されると肌質への影響も大きいのではないかということから、肌質改善に関するアンケート調査も同時に実施したところ「肌のキメ」「毛穴」に改善傾向がみられ

た。

【潤彩小町の上市と肌状態改善作用】⁵⁾

開発段階の二重盲検で使用したハードカプセルについて、試験参加者から「粒のサイズが大きい」、「4粒では量が多い」といった意見が寄せられたため、最終商品の形状を秋田県総食研と共同で試作を繰り返し、リンゴ味のスティックゼリー状とした。ゼリー状としたため、水無しでも容易に摂取でき、気軽に摂取できる商品に仕上がった。

いよいよ便通改善に効果のある「ジュンサイエキスおよび酒粕粉末」配合のご当地サプリメントとして社内承認を得られ、商品名を決める段階に来た。商品名は女性社員からの提案で、秋田をイメージさせる「潤彩小町」（じゅんさいこまち）と決定した。なお、「潤彩小町」（じゅんさいこまち）は、商標登録済みである。

「潤彩小町」は、ヒト臨床試験における便通改善作用の基礎データがあるが、一般食品のカテゴリーとなるため、パッケージやPRには便通改善効果が謳えない。そこで、更なる付加価値を付与するため、最終商品における肌質改善に関するヒト介入試験を行った。今回は「潤彩小町」を試験食として摂取するため、プラセボの設定が不可能である（パッケージに「潤彩小町」と表記してあるため）。そこで、オープン試験として、また前回の肌質改善効果を定量化し、統計処理を行えるようにVAS法（visual analog scale、主観評価を客観数値で表す手法）を取り入れた。その結果、前回のプラセボ対照二重盲検同様に“毛穴”、“肌の乾燥”に加えて、“化粧のノリ”、“化粧崩れ”が改善するなど、興味深い知見が得られた。さらに本試験で、「潤彩小町」摂取前後で効果が確認された項目間の相関性を調べた結果、“肌のキメ”と“化粧のノリ”の間に極めて高い相関があることがわかった。従って、「潤彩小町」摂取により、“肌のキメ”が細かくなり、“化粧のノリ”が良くなり、“肌の乾燥”を防止するのではないかと推察している。

【定期購入者を対象としたアンケート調査】

「潤彩小町」定期購入者（4か月以上の継続購入者）を対象に、購入前と現在の健康と肌状態をVAS法で評価する試験を行っている。本試験は「潤彩小町」の効果を実感している定期購入者に対して行うため、“効果の有る・無し”や“良い・悪い”の評価というより、これまでの試験で明らかとなった機能性の検証や、新たな機能性発掘に有効であると考えている。個人情報保護や参加の意思確認については、当社から試験目的や試験内容に関する説明書類、アンケート記入用紙を購入者に送付し、無記名かつアンケート結果の返送は自由という方式で担保した本アンケート調査においても、“便通”、“肌の乾燥”および“毛穴”の項目に改善が認められ、本結果は、開発段階で行ったプラセボ対照二重盲検、肌状態に対する影響を調べたオープン試験結果と概ね一致した。

【展示会における商談や Business to Business】

上市後、秋田県産業労働部の平成 29 年「がんばる中小企業応援事業」などの補助金を利用し幾つかの展示会に参加し、商談の機会を設けた。

展示会の来場者は食品分野の研究・開発者が多く、「じゅんさい」を知らない方も多かった。食品に関する専門的な展示会に参加することで、県外の「じゅんさい」に対する認知度が低いことが分かり、「じゅんさい = (イコール) 体にいい」イメージを周知することが必要だと感じた。



なお、これら肌質改善効果の結果をもとに、東京の化粧品通販会社と業務提携し、ジュンサイエキスと酒粕粉末を原料に配合した「潤彩健美」(じゅんさいけんび) を販売することになった。自社オリジナル商品だけでなく、Business to Business としての実績をあげることができたのも、総食研と共同で検証した *in vitro* および *in vivo* のデータや、学术论文を提示したことが要因となったと考えている。

【終わりに】

「潤彩小町」は便通改善サプリメントであるが、一般食品のカテゴリーとして様々な法律の規制がある。食品表示法は、近年、法の改正や新たな制度が制定され、すべての法令に適合しなければならず、秋田県総食研への相談により、表示の基準はもちろん、栄養成分を含む旨の表示などパッケージへの表記に影響する重要な情報を得ることができた。

秋田県総食研との共同研究ならびに研修員制度を活用し、食品の商品開発に関する実務知識の向上および技術力を修得できたため、他社との差別化が可能となった。ご指導いただいた秋田県総食研の皆様へ感謝申し上げますとともに、修得した技術等を生かして、今後の事業拡大に向け尽力していきたい。

引用文献

1. 高嶋亜希子、佐野公彦、村上正代、上原健二、佐々木玲、樋渡一之、熊谷昌則、畠恵司 (2017) ジュンサイエキスと酒粕粉末から調製したサプリメント摂取による成人健康女性に対する便通改善作用、生薬学雑誌、71(2)、94-99.
2. 畠恵司、村上正代、高嶋亜希子、佐野公彦 (2017) 「ジュンサイ+酒粕」サプリメント撰

取による肌の毛穴引き締め効果、食品と開発、**52**(9)、72-74.

3. 渡辺敏郎 (2012) 健康と美容に貢献する「酒粕」の成分、日本醸造協会誌、**107**(5)、282-291.
4. ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD WATER SHIELD EXTRACT
<https://www.oryza.co.jp/html/english/pdf/Watershield%20extract%201.0HS.pdf>
(参照 2019-11-25) .
5. Takashima A., Sano K., Murakami M., Matsui F., Sasaki A., Takahashi S., Kumagai M., Hata K. (2018) Open-label study of effects of dietary supplement with water shield extract and sake cake powder on the skin condition of healthy adult females.
J. Biol. Macromol.,**18**(3), 59-61.

3. 特許の概要（4件）

1) 発明の名称：カプロン酸低生成酵母

発明者：上原智美、渡邊誠衛、大野剛、高橋仁

2) 発明の名称：ムチン産生抑制剤

発明者：畠恵司（秋田県総食研）

高嶋亜希子、佐野公彦（株式会社サノ）

3) 発明の名称：エタノールを含む消毒用組成物およびその製造法

発明者：進藤昌

4) 発明の名称：バイオマス原料の糖化方法

発明者：進藤 昌（秋田県総食研）

中島光康、山田智氏（日油株式会社）

1) 発明の名称：カプロン酸低生成酵母

発明者：上原智美、渡邊誠衛、大野剛、高橋仁

特許番号：第65822275号

登録日：2019年9月13日

【要約】

【課題】

カプロン酸エチルの生成能は高いが、カプロン酸生成能は低い酵母を提供すること。さらにこの酵母を使用して、香気成分豊かで不快臭の少ない清酒を提供すること。

【解決手段】

受託番号がN I T E P - 0 2 1 3 9である酵母B 2 - 1 - 2株。この酵母で発酵する工程を含む加工食品の製造方法。本発明の酵母は、カプロン酸エチルを多く生成する株を親株とし、突然変異を起こさせ、この突然変異株のなかから、カプロン酸2-フルオロエチルに耐性を示し、カプロン酸生成量が少ない酵母を選抜・分離することで取得できる。分離された酵母を使用して製造された清酒は、香気成分豊かで官能試験の結果も親株より優れていた。

2) 発明の名称：ムチン産生抑制剤

発明者：畠恵司（秋田県総食研）

高嶋亜希子、佐野公彦（株式会社サノ）

公開番号：特開 2017-203003

公開日：2017年11月16日

【要約】

【特許の概要】

気道上皮組織において、去痰の促進、喘息症状緩和ならびに誤嚥性肺炎予防に優れた効果を有するネギ（*Allium fistulosum* L.）由来のムチン産生抑制剤を提供することにある。

【課題の解決】ネギ（*Allium fistulosum* L.）を水、含水有機溶媒もしくは有機溶媒で抽出することにより得られる気道上皮組織におけるムチン産生抑制剤。ムチン産生抑制剤を有効成分として含有する機能性食品及び食品添加物。

3) 発明の名称：エタノールを含む消毒用組成物およびその製造法

発明者：進藤 昌

公開番号：特開 2018-20965

公開日：2018年2月8日

【要約】

【課題】 安全性及び製造コストの点で好適であって、優れた消毒力を備えたエタノールを含む消毒用組成物を提供することを目的とする。

【解決手段】 スギ葉に由来する揮発性化合物を含む蒸留物の製造方法であって、（工程1）スギ葉又はその加工物を含有するエタノール溶液又はエタノールを含む水溶液を蒸留して、スギ葉エタノール蒸留物を回収する工程、を含むことを特徴とする、スギ葉エタノール蒸留物の製造方法、前記製造方法によって得られたスギ葉エタノール蒸留物及びエタノールを含有してなることを特徴とするエタノールを含む消毒用組成物、並びに、前記消毒用組成物の製造方法。

4) 発明の名称：バイオマス原料の糖化方法

発明者：進藤 昌（秋田県総食研）

中島光康、山田智氏（日油株式会社）

登録番号：特許第 6474150 号

登録日：2019年2月8日

【要約】

【課題】 本発明の課題は、バイオマス原料中のホロセルロース類をセルロース加水分解酵素により効率良く糖化すると同時に、セルロース加水分解酵素を効率的に利用し得る、簡便なバイオマス原料の糖化法を提供すること、さらにバイオマス原料の糖化法を用いたバイオエタノールの製造方法を提供することである。

【解決手段】 本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討を行った結果、2-（メタ）アクリロイルオキシエチルホスホリルコリンと（メタ）アクリル酸（塩）を特定の割合で含む共重合体が、リグニン類とセルロース加水分解酵素の吸着を阻害し得る物質として作用することに着目し、リグニン類が共存するバイオマス原料およびセルロース加水分解酵素の少なくとも一方に、予め当該共重合体を添加して、その後バイオマス原料とセルロース加水分解酵素を混合してバイオマス原料を糖化する糖化法を見出し、本発明を完成した。

4. 学会発表概要 (26 件)

1) 発表学会：日本生化学会東北支部 第 84 回例会・シンポジウム

発表日と場所：2018 年 5 月 19 日 岩手医科大学矢巾キャンパス 大堀記念講堂
(紫波郡矢巾町)

演題名：ザゼンソウ発熱組織をターゲットとしたメタボローム解析

発表者：○梅川結¹、高橋秀行²、伊藤菊一^{3, 4}

(¹秋田県総食研、²岩手生工研、³岩手大・農・応生、⁴岩手大・次世代アグリ研)

2) 発表学会：日本生化学会東北支部 第 84 回例会・シンポジウム

発表日と場所：2018 年 5 月 19 日 岩手医科大学矢巾キャンパス 大堀記念講堂
(紫波郡矢巾町)

演題名：発熱植物ザゼンソウの肉穂花序におけるトランスクリプトーム解析

発表者：○谷本悠¹、梅川結²、伊藤菊一^{1, 3}

(¹岩手大・農・応生、²秋田県総食研、³岩手大・次世代アグリ研)

3) 発表学会：平成 30 年度第 1 回秋田産学官ネットワーク

あきた産学官連携未来創造研究事業成果報告

発表日と場所：2018 年 5 月 31 日 カレッジプラザ (秋田市)

演題名：発酵の国あきたを担う未来産業型秋田オリジナル麴の開発に係る基盤研究

発表者：佐藤勉²、瓜生摂²、伊藤俊彦²、上原健二³、○小笠原博信³

(¹(株)秋田今野商店、²秋田県大、³秋田県総食研)

4) 発表学会：日本調理科学会東北・北海道支部会

発表日と場所：2018 年 6 月 16 日 函館市地域交流まちづくりセンター (函館市)

演題名：食感がパンの嗜好性に与える影響の解明

発表者：○石川匡子¹、田村あかり¹、武田舞永¹、高橋徹²

(¹秋田県大、²秋田県総食研)

5) 発表学会：第 66 回日本海水産物利用担当者会議

発表日と場所：2018 年 7 月 5 日 富山市民生共生センター (富山市)

演題名：発酵スターターの添加がしょつづの品質に与える影響

発表者：○高橋徹¹、佐々木康子¹、渡辺隆幸¹、上原健二¹、塚本研一¹、里見正隆²

(¹秋田県総食研、²国立研究開発法人水産研究・教育機構)

6) 発表学会：日本食品科学工学会第 65 回大会

発表日と場所：2018 年 8 月 22 日 東北大学 (仙台市)

演題名：「エゴノリ」のゲル化能力の簡易判別評価法

発表者：○高橋徹¹、大能俊久²、塚本研一¹ (¹秋田県総食研、²福井工大)

7) 発表学会：温熱生理研究会 2018

発表日と場所：2018 年 8 月 23 日 自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター
(岡崎市)

演題名：恒温植物の呼吸調節機構に関する研究

発表者：○梅川結^{1, 2}、伊藤菊一^{2, 3}

(¹秋田県総食研、²岩手大・農、³岩手大・次世代アグリ研)

8) 発表学会：日本調理科学会平成 30 年度大会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 武庫川女子大学（武庫川市）

演題名：秋田県の家庭料理：主菜の特徴 ～多様な魚料理を中心にした主菜の特徴

発表者：○高山裕子¹、熊谷昌則²、大野智子³、山田節子¹、三森一司¹、

高橋 徹²、逸見 洋子⁴、駒場 千佳子⁵、長沼 誠子⁶（¹聖霊短大、²秋田県
総食研、³青森県立保健大、⁴秋田大、⁵女子栄養大、⁶元秋田大）

9) 発表学会：日本調理科学会平成 30 年度大会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 武庫川女子大学（武庫川市）

演題名：うま味・甘味との相互作用による味増強効果と味の持続時間との関係性

発表者：○山崎桃子¹、石川匡子²、高橋徹³、塚本研一³

（¹秋田県大・院、²秋田県大、³秋田県総食研）

10) 発表学会：第 31 回におい・かおり環境学会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 千葉工業大学（習志野市）

演題名：秋田杉から製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果の
検証

発表者：進藤昌（秋田県総食研）

11) 発表学会：第 65 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2018 年 9 月 4 日 朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター
（新潟市）

演題名：ジュンサイと酒粕を使用したサプリメントの成人女性の便通および肌状態
改善作用

発表者：松井ふゆみ（秋田県総食研）

12) 発表学会：第 65 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2018 年 9 月 5 日 朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター（新潟市）

演題名：秋田県のスマイルケア食への取り組み

発表者：○松井ふゆみ、熊谷昌則（秋田県総食研）

13) 日本応用糖質科学会平成 30 年度大会（第 67 回）

発表日と場所：2018 年 9 月 10 日 秋田県立大学（秋田市）

演題名：変異体米から調製した膨化物の物理特性

発表者：○高橋徹¹、船木博幸²、藤田直子³（¹秋田県総食研、²秋田いなふく米菓（株）、
³秋田県大）

14) 発表学会：2018 年度日本生物高分子学会大会

発表日と場所：2018 年 9 月 16 日 京都大学吉田キャンパス（京都市）

演題名：ジュンサイ抽出液中のヒト免疫不全ウイルス 1 型逆転写酵素阻害活性成分の
同定

発表者：○石塚啓子¹、角江亮太¹、馬場美聡¹、西村耕作²、畠恵司³、高橋砂織³、

作田庄平⁴、兒島憲二¹、滝田禎亮¹、保川清¹（¹京大院・農、²公財・東洋
食品研究所、³秋田県総食研、⁴帝京大・理工）

15) 発表学会：第2回日本循環器学会基礎研究フォーラム

発表日と場所：2018年9月22日 奈良春日野国際フォーラム（奈良市）

演題名：B38-CAP, a bacteria-derived Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)-like carboxypeptidase, suppresses pathological hypertrophy, myocardial fibrosis, and cardiac dysfunction.

発表者：Takafumi Minato^{1#}, Satoru Nirasawa^{2#*}, Teruki Sato^{1,3#}, Ryo Ozawa¹, Souichi Koyota⁴, Tomokazu Yamaguchi¹, Midori Hoshizaki⁵, Taku Yoshiya⁶, Kumiko Yoshizawa-Kumagaye⁶, Kazuhiko Nakahara², Yumiko Imai⁵, Hiroyuki Watanabe³, Saori Takahashi⁷, ○Keiji Kuba^{1*}

(¹Department of Biochemistry and Metabolic Science, Akita University Graduate School of Medicine, ²Biological Resources and Post-Harvest Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences, ³Department of Cardiovascular Medicine, Akita University Graduate School of Medicine, ⁴Bioscience Education and Research Support Center, Akita University Graduate School of Medicine, ⁵Laboratory of Regulation of Intractable Infectious Diseases, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, ⁶PEPTIDE INSTITUTE, INC., ⁷Akita Research Institute of Food and Brewing. #: equal first author)

16) 発表学会：第91回日本生化学会大会

発表日と場所：2018年9月24日 国立京都国際会館（京都市）

演題名：発熱植物 *Arum maculatum* における Alternative oxidase の分解に関する研究

発表者：○伊藤菊一^{1,2}、清藤駿成¹、尾形孝文¹、梅川結^{1,3}、柿崎裕介¹、長田洋⁴、Anthony Moore⁵（¹岩手大・農、²岩手大・次世代アグリ研、³秋田県総食研、⁴岩手大・理工、⁵サセックス大・生命科学）

17) 発表学会：ISSAAS Congress 2018

発表日と場所：2018年10月12～14日, Kuching, Malaysia

演題名：Study on the functionality of yams (*Dioscorea spp.*)

発表者：○Shusui Seki¹, Hidehiko Kikuno², Makoto Tomatsu³, Yoji Hori¹, Takao Myoda¹, Kazuki Toeda¹（¹Department of Food and Cosmetic science, Tokyo University of Agriculture, ²Miyako Subtropical Experimental Farm, Tokyo University of Agriculture, ³Akita Research Institute of Food and Brewing）

18) 発表学会：第32回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018年11月9日 秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：海藻由来 DPP4 阻害活性について

発表者：○高橋砂織¹、中林信康²、畠恵司¹（¹秋田県総食研、²秋田県水産振興セ）

19) 発表学会：第32回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018年11月9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（パエニダーゼ）の His276 変異体の性質

発表者：○葦澤悟¹、中原和彦¹、高橋砂織²（¹国際農研、²秋田県総食研）

20) 発表学会：第 32 回秋田応用生命科学研究会講演会

発表日と場所：2018 年 11 月 9 日 秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：恒温植物の呼吸調節メカニズムに関する研究

発表者：○梅川結（秋田県総食研）

21) 発表学会：第 32 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018 年 11 月 9 日 秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：微生物由来のアンジオテンシン変換酵素 2（ACE2）様酵素の高血圧・心不全治療への応用開発

発表者：湊隆文¹、葦澤悟²、佐藤輝紀^{1,3}、小澤諒¹、山口智和¹、中原和彦²、渡邊博之³、今井由美子⁴、高橋砂織⁵、○久場敬司¹（¹秋田大・院医・分子機能学・代謝機能学、²国際農研・生物資源・利用領域、³秋田大・院医・循環器内科、⁴医薬基盤・健康・栄養研究所、⁵秋田県総食研）

22) 発表学会：第 41 回日本分子生物学会年会

発表日と場所：2018 年 11 月 27 日 パシフィコ横浜（横浜市）

演題名：ザゼンソウの熱産生組織における遺伝子発現プロファイリング

発表者：○谷本悠¹、梅川結²、伊藤菊一^{1,3}

（¹岩手大・農・応生、²秋田総食研、³岩手大・次世代アグリ研）

23) 発表学会：第 41 回日本分子生物学会年会

発表日と場所：2018 年 11 月 27 日 パシフィコ横浜（横浜市）

演題名：ザゼンソウの熱産生組織で発現する複数のチオレドキシニンレダクターゼ遺伝子

発表者：○樋口リサ¹、梅川結²、伊藤菊一^{1,3}

（¹岩手大・農、²秋田総食研、³岩手大・次世代アグリ研）

24) 発表学会：日本農芸化学会関西支部例会（第 506 回講演会）

発表日と場所：2018 年 12 月 1 日 神戸大学農学部（神戸市）

演題名：ジュンサイ抽出液からのヒト免疫不全ウイルス 1 型逆転写酵素阻害物質の精製

発表者：○石塚啓子¹、角江亮太¹、馬場美聡¹、西村耕作^{1,2}、畠恵司³、高橋砂織³、作田庄平⁴、兒島憲二¹、滝田禎亮¹、保川清¹

（¹京大院・農、²公財・東洋食品研、³秋田県総食研、⁴帝京大・理工）

25) 発表学会：あきた産学官連携フォーラム 2018

発表日と場所：2018 年 12 月 4 日 秋田市民交流プラザ アルヴェ（秋田市）

演題名：下水処理水を活用した酒造好適米の栽培

発表者：増田周平¹、竹田壮太¹、児玉雅²、PHAM Duy Dong³、岡野邦宏⁴、宮田直幸⁴、渡部徹⁵

(¹秋田高専、²秋田県総食研、³元岩手大、⁴秋田県立大、⁵山形大)

26) 発表学会：日本水産学会春季大会

発表日と場所：2019年3月26日 東京海洋大学（東京都港区）

演題名：発酵スターターと酵素剤を添加した減塩しょっつるの品質特性

発表者：高橋徹¹、塚本研一¹、小林侑太郎²、船津保浩²

(¹秋田県総食研、²酪農大食と健康)

1) 発表学会：日本生化学会東北支部 第84回例会・シンポジウム

発表日と場所：2018年5月19日 岩手医科大学矢巾キャンパス 大堀記念講堂
(紫波郡矢巾町)

演題名：ザゼンソウ発熱組織をターゲットとしたメタボローム解析

発表者：○梅川結¹、高橋秀行²、伊藤菊一^{3,4}

(¹秋田県総食研、²岩手生工研、³岩手大・農・応生、⁴岩手大・次世代アグリ研)

要旨：一般に植物の体温は外気温とともに変動すると考えられているが、ある種の植物は積極的に発熱し、その体温を維持できることが知られている (Umekawa *et al.*, 2016)。例えば、サトイモ科に属するザゼンソウ (*Symplocarpus renifolius*) は、早春まだ雪の残る時期に開花し、氷点下を含む外気温の変動にも関わらず、肉穂花序と呼ばれる器官の温度を 23°C程度に保つことができる恒温性を有している。ザゼンソウの肉穂花序は雌雄異熟の特徴を示し、その恒温性は雌性期において観察される (Onda *et al.*, 2008)。発熱植物を対象とした代謝産物の網羅的解析は、ザゼンソウと同様のサトイモ科に属するドラゴンリリー (*Dracunculus vulgaris*) において報告されているが (Ito *et al.*, 2013)、これまでザゼンソウ肉穂花序を対象としたメタボローム解析は行われていなかった。本研究においては、恒温性を示すザゼンソウ肉穂花序に着目し、異なる発熱ステージ (未発熱期、発熱期 (雌性期)、および、発熱終了期 (雄性期)) における代謝産物量の変動を網羅的に解析した。一連の解析において、糖、有機酸、および、アミノ酸を含む 93 種の代謝産物について主成分解析およびクラスター解析を行った結果、それぞれの発熱ステージにおいて特異的な増減が観察される代謝産物群が存在することが明らかとなった。特に、発熱期の肉穂花序の熱産生組織である小花においては NADPH を含む複数の代謝産物のユニークな変動が観察された。これらの結果は、ザゼンソウ肉穂花序の熱制御に関わる特異的な代謝系の存在を示唆している。

Umekawa Y., *et al.*, *Sci. Rep.*, **6**, 24830 (2016).

Onda Y., *et al.*, *Plant Physiol.*, **146**, 636-645 (2008).

Ito K., *et al.*, *Metabolomics*, **9**, 919-930 (2013).

2) 発表学会：日本生化学会東北支部 第84回例会・シンポジウム

発表日と場所：2018年5月19日 岩手医科大学矢巾キャンパス 大堀記念講堂
(紫波郡矢巾町)

演題名：発熱植物ザゼンソウの肉穂花序におけるトランスクリプトーム解析

発表者：○谷本悠¹、梅川結²、伊藤菊一^{1,3}

(¹岩手大・農・応生、²秋田県総食研、³岩手大・次世代アグリ研)

要旨：ザゼンソウ (*Symplocarpus renifolius*) は早春に花を咲かせるサトイモ科の植物であり、開花時に肉穂花序と呼ばれる器官が特異的に発熱することが知られている (Ito *et al.*, 2003)。植物の発熱は、訪花昆虫の誘引が目的であると考えられているが、恒温性を示すザゼンソウ肉穂花序の温度は、花粉の発芽・伸長に最適であることが報告されており (Seymour *et al.*, 2009)、本植物の発熱は寒冷環境に対する植物の適応戦

略の一つであると考えられる。本研究においては、ザゼンソウの肉穂花序における発熱現象に着目し、当該器官における転写産物の発現プロファイルの解析を試みた。まず、群生地が発熱しているザゼンソウ肉穂花序から発熱組織を収集し、全 RNA を抽出した。その後、均一化 cDNA を作成し、次世代シーケンサーによる RNA-seq を行った。さらに、異なる発熱ステージ（未発熱期、発熱期、および、発熱終了期）の肉穂花序における発現プロファイルを解析した。本発表においては、発熱中の肉穂花序において高い発現が観察された遺伝子群について、その予想される機能等について報告したい。

Ito K., *et al.*, *Plant Cell & Environ.*, **26**, 783-788 (2003).

Seymour R. S., *et al.*, *Biol., Lett.*, **5**, 568-570 (2009).

3) 発表学会：平成 30 年度第 1 回秋田産学官ネットワーク

あきた産学官連携未来創造研究事業成果報告

発表日と場所：2018 年 5 月 31 日 カレッジプラザ（秋田市）

演題名：発酵の国あきたを担う未来産業型秋田オリジナル麴の開発に係る基盤研究

発表者：佐藤勉²、瓜生摂²、伊藤俊彦²、上原健二³、○小笠原博信³

(¹ (株) 秋田今野商店、² 秋田県大、³ 秋田県総食研)

【目的・方法】秋田オリジナル麴「あめこうじ」は、「色が白く、味がすっきり、甘い」という従来の麴菌では得られなかった特徴を持ち、甘酒や発酵食品以外にもお菓子や化粧品など様々な用途に使用され、今後更なる利用拡大が期待されている。しかし、この「あめこうじ」をつくるための麴菌 CK33 株は生育がやや遅いため、麴製造時の難易度が高く、また、種麴の基となる孢子着生が少ないことから、種麴製造時のコスト高になっている。そこで、「あめこうじ」の特性を継承しながら、作業時間短縮と種麴収率アップを実現する新しい麴菌株の育種を行った。

【結果】1) 「あめこうじ」の親株 CK33 株のトランスポゾン変異条件の最適化を確立し、生育の早い候補株 8 株を選抜した。2) CK33 株を親株とした自然突然変異株のスクリーニングを行い、孢子形成能の高い候補株 24 株を選抜した。3) 上記選抜株のシャーレ培養による形態観察から、幾つかの株で孢子形成濃度が高いことや、多くの選抜株で生育が早いことが認められた。これらの結果から総合食品研究センターでの育種選抜方法の妥当性が示された。4) 種麴製造モデル試験により、麴菌生育の温度経過と孢子着生（形成）の良い候補株 13 株を選抜した。5) 難消化性米を用いた最小培地等による孢子形成能が向上した候補株の実用性評価方法を確立し、4 株が親株 CK33 株より優れているという評価を得た。6) ラボスケールでの製麴試験での温度経過をデータロガーで取得、解析する方法を用いて、1 株が親株 CK33 株より優れているという結果となった。7) スケールアップした種麴製造モデル試験と秋田県立大での評価試験結果を基に、現場製造を見据えた外観や作業を考慮し、孢子着生が多く、製麴時の温度経過が早い 3 株を原菌作成用として選抜した。8) 種麴製造モデル試験での孢子着生量の向上率は 1.2~1.5 倍であるが、実製造レベルでの培養条件（施設や環境も含む）

を更に検討することで、更に孢子着生量（種麴生産量）を向上させることが可能と期待される。

4) 発表学会：日本調理科学会東北・北海道支部会

発表日と場所：2018年6月16日 函館市地域交流まちづくりセンター（函館市）

演題名：食感がパンの嗜好性に与える影響の解明

発表者：○石川匡子¹、田村あかり¹、武田舞永¹、高橋徹²

（¹秋田県大、²秋田県総食研）

ヒトは、咀嚼の際に唾液中に溶出する味物質を、味として認識しているため、食品の食感も咀嚼に伴う味の溶出度合に影響を与えられていると言われており、パンの食感が異なると、咀嚼した際に感じられる味強度も変わってくるのではないかと推察される。本研究では食感が異なるパンを製造し、咀嚼時の圧力変化や唾液分泌量ならびに味強度を調べ、食感がパンの嗜好性に与える影響について検討した。加水量の異なるパンをホームベーカリーにて焼成後、食パン中心部を2 cm（官能評価・咀嚼モデル試験）および1 cm角（ヒト咀嚼時の圧縮速度測定用）に裁断し、測定に供した。ヒト咀嚼時の圧縮強度測定は面圧力分布システム（I-SCAN ニッタ株式会社）でパン咀嚼時の最大荷重を調べた。官能評価はパンを咀嚼した際の塩味持続時間をTDS法により測定した。加水量に反比例し、パンは硬くなった。この硬さの違いは、ヒトが咀嚼した際に感覚的に認識できるが、面圧力分布システムを用いることで、硬さに応じた咀嚼圧力の変化を数値化することができ、評価パネルにより咀嚼力は異なっているものの、パンの硬さに応じて咀嚼圧力を変えていることが確認できた。咀嚼時に分泌される唾液量は、パンの加水量が少ないほど多くなることが分かった（ $p < 0.01$ ）。咀嚼時に感じられる塩味の持続時間は、加水量が少ないパンほど長く感じられていた。味強度は、唾液中に溶解した味物質濃度と関係があることから、咀嚼モデル試験により塩分濃度の測定を行ったところ、パンの硬さと塩分溶出量には相関があることが分かった。以上の結果から、パンの食感は唾液の分泌量と味の持続時間に影響を与えることが示唆された。

5) 発表学会：第66回日本海水産物利用担当者会議

発表日と場所：2018年7月5日 富山市民生共生センター（富山市）

演題名：発酵スターターの添加がしょっつるの品質に与える影響

発表者：○高橋徹¹、佐々木康子¹、渡辺隆幸¹、上原健二¹、塚本研一¹、里見正隆²

（¹秋田県総食研、²国立研究開発法人水産研究・教育機構）

しょっつるは日本三大魚醤油の一つとして知名度は高いものの、食塩濃度が高いために減塩傾向の中、販路の大きな拡大には至っていない。しかしながら、安易な減塩はヒスタミンの生成を招くため、しょっつるの低塩製造時における乳酸菌発酵スターターを用いた製造技術開発により、ヒスタミン蓄積リスクを取り除き、更には風味の改良と安全性の向上を図るのが目的である。酵素法を用いて、ハタハタを原料魚として食塩濃度の異なる（15%～28%）しょっつるを仕込んだ。乳酸菌発酵スターター候補株として、*T. halophilus* 14-1株（以後、14-1株）を 10^5 CFU/gおよびヒスタミン生成菌としては*T. halophilus* FS-4株（以後、Hm株）を 10^2 CFU/gそれぞれ添加し、30℃で6ヶ月間発酵させ、経時的に乳酸菌の増殖、ヒスタミン含量、アミノ酸含量等を測定した。食塩濃度が20%で14-1株とHm株の共存時は、Hm株単独添加時よりもヒスタミ

ン含量は大きく減少しており、スターターとしての効果は見られたが、その値は約 500ppm であり、CODEX 基準値である 400ppm を下回ることにはできなかった。したがって、食塩濃度が 20%以下で Hm 生成菌の初発菌数が 10^2 CFU/g 程度であった場合、スターター菌の添加量を増やすことや工場内の洗浄等の対策が必要と考えられる。遊離アミノ酸含量は、食塩濃度の低下にしたがい増加した。有機酸含量についても、アミノ酸含量と同様に食塩濃度の低下にしたがい増加した。食塩濃度が 25%で 14-1 株を添加した場合は、他の試験区よりも乳酸を多く産生した。

本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の支援を受けて実施した。

6) 発表学会：日本食品科学工学会第 65 回大会

発表日と場所：2018 年 8 月 22 日 東北大学（仙台市）

演題名：「エゴノリ」のゲル化能力の簡易判別評価法

発表者：○高橋徹¹、大能俊久²、塚本研一¹（¹秋田県総食研、²福井工大）

エゴノリは、海中でホンダワラ類に絡みついて生育する、イギス目イギス科に属する紅藻類である。えごは、エゴノリを煮溶かした後に冷却して凝固させたもので、酢味噌や辛子醤油で食され、主に日本海沿岸地域の伝統食品とされている。えごのテクスチャーの特徴は、硬さと粘り（粘弾性）であるが、収穫年や産地間における差異が経験的に知られている。また、ゲル化が不十分なエゴノリは、えごの品質や製品歩留まりを低下させるため大きな問題となっているが、原藻の外見からは判別できず、実際にえごを製造してみないとゲル化能力を判別することが難しい。本研究では、定量かつ比較的短時間にエゴノリのゲル化能力を判別する方法の確立を目指している。秋田県男鹿市内の異なる地区で採取されたエゴノリを入手した。エゴノリは水洗後、乾燥した後に粉碎した。迅速粘度測定装置（以後、RVA）を用いて、エゴノリ懸濁液の加熱・冷却時の粘度特性を測定した。測定終了後の懸濁液を冷却してゲルを作成し、えごのモデルとした。この力学特性は、圧縮・引っ張り型レオメーターにて評価した。RVA 測定から得られたエゴノリ懸濁液の粘度特性曲線は、昇温時に急激に上昇し、冷却によってその値はさらに増大するような形状を示した。また、地区や収穫年ごとに粘度特性値も異なっていることが明らかとなった。エゴノリゲルの力学特性を単軸圧縮試験にて評価したところ、破断点を持つ曲線を示した。RVA 測定で得られた粘度特性値である最終粘度とエゴノリゲルの力学特性値間に正の相関関係が確認された。

7) 発表学会：温熱生理研究会 2018

発表日と場所：2018 年 8 月 23 日 自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター（岡崎市）

演題名：恒温植物の呼吸調節機構に関する研究

発表者：○梅川結^{1, 2}、伊藤菊一^{2, 3}

（¹秋田県総食研、²岩手大・農、³岩手大・次世代アグリ研）

要旨：一般に植物の体温は外気温と共に変動するが、ある種の植物は開花期特異的な恒温性を示すことが知られている。例えば、早春の寒冷環境下で開花するザゼンソウは、氷点下を含む外気温の変動においても、肉穂花序と呼称される花器の温度を 23°C 内外に維持できる（Seymour *et al.*, 2009）。このような植物の恒温性は、発熱器官温度

と逆相関を示す呼吸調節により達成されることが報告されていたが (Seymour *et al.*, 2010)、その分子基盤は長い間不明のままであった。本研究においては、ザゼンソウ肉穂花序の呼吸調節機構を明らかにすることを目的に、肉穂花序の呼吸反応に関する活性化エネルギー (E_0) の温度応答性を解析した。その結果、 E_0 が温度に対して動的に変動し、本植物の恒温性が観察される呼吸調節範囲において負の値を示すことが明らかになった (Umekawa *et al.*, 2016)。今回の発表においては、負の活性化エネルギーという概念をもたらした、細胞レベルで行われるザゼンソウの体温制御メカニズムについて紹介するとともに、ザゼンソウ以外の恒温植物に関する一連の解析の結果についても報告したい。

Seymour R. S., Ito Y., Onda Y., & Ito K., *Biology Letters*, **5**, 568-570 (2009).

Seymour R. S., Lindshau G., & Ito K., *Planta*, **231**, 1291-1300 (2010).

Umekawa Y., Seymour R. S., & Ito K., *Scientific Reports*, **6**, 24830 (2016).

8) 発表学会：日本調理科学会平成 30 年度大会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 武庫川女子大学 (武庫川市)

演題名：秋田県の家料理：主菜の特徴 ～多様な魚料理を中心にした主菜の特徴

発表者：○高山裕子¹、熊谷昌則²、大野智子³、山田節子¹、三森一司¹、高橋徹²、

逸見洋子⁴、駒場千佳子⁵、長沼誠子⁶ (¹聖霊短大、²秋田県総食研、

³青森県立保健大、⁴秋田大、⁵女子栄養大、⁶元秋田大)

日本調理科学会特別研究平成 24～25 年度『次世代に伝え継ぐ 日本の家庭料理』の聞き書き調査を通して、秋田県における次世代に伝えるべき家庭料理を抽出し、「主菜」に着目してその特徴と調理特性について明らかにすることを目的とした。秋田県内 8 調査地域 (鹿角・北秋田・山本・秋田・由利・仙北・平鹿・雄勝) において、昭和 35～45 年頃に調理を担当していた対象者 19 名 (女性、74.2±7.8 歳) に聞き書き調査を実施した。調査から得られた 110 の料理のうち、主菜に該当した料理の特徴および調理特性について検討した。主菜に該当した 28 の料理は、魚介類を主材料とするものが 17 と最も多く多様な魚が日常の食卓に上っていた。調理法は、魚をしょうゆなどの調味料とともに煮る料理が多く見受けられた。また、保存食として、「干物」、「佃煮」、「飯ずし」、「粉糠漬け」などが挙げられていた。代表的なものでは、秋田県の県魚であるハタハタは、「塩焼き」、「塩魚汁貝焼き (しょつつるかやき)」として食べられていた。「かやき」は、大きな帆立の殻を鍋の代わりに使って煮るため「かやき (貝焼き)」と呼ばれ、塩魚汁 (しょつつる、魚醤) とハタハタなどの白身魚に野菜を入れて作られていた。地域性のある料理では、アブラツノザメの頭から煮出したコラーゲンにほぐした身を入れ固めた「サメのべっこう」、「アンコウのとも和え」、「鯉の甘煮」、干したエイを水で戻して煮つけた「かすべ」などが、正月 (年越し) や行事の料理として継承されていた。その他の主材料では、肉類はくじら、いるか、うさぎ、馬などを「煮つけ」として、卵は「茶碗蒸し」として県内全域で供されていた。

9) 発表学会：日本調理科学会平成 30 年度大会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 武庫川女子大学（武庫川市）

演題名：うま味・甘味との相互作用による味増強効果と味の持続時間との関係性

発表者：○山崎桃子¹、石川匡子²、高橋徹³、塚本研一³

（¹秋田県大・院、²秋田県大、³秋田県総食研）

我々は、減塩で損なわれる美味しさや味のバランスを、味の相互作用で補う研究を進めている。味増強効果が認められたアミノ酸濃度において、甘味アミノ酸が減塩率に及ぼす影響を検討した。食塩水（0.584%）に Glu（0.08%）と Ala（0.3%）または Gly（0.4%）をそれぞれ添加し、この割合を保ちながら食塩濃度を低下させた水溶液を調製した。これらの溶液と Glu 添加食塩水とを二点比較法にて比較し、味強度を評価した。さらに、TDS 測定により味の持続時間、味覚センサ測定にて味質を評価した。Glu 添加食塩水との比較により減塩率を算出したところ、Ala・Glu 添加食塩水、Gly・Glu 添加食塩水のどちらも 10%以上の減塩が可能であることが分かった。しかし、減塩率を高くすると、うま味が強く感じられるようになり味のバランスが崩れたことから、うま味と甘味の相互作用を最大にする添加濃度が存在すると推察される。また、Ala と Gly とでは、味覚センサ測定の結果、うま味・苦味等が異なっており、味質の違いも影響を与えていると考えられた。さらに TDS 測定にて味の持続時間を評価した結果、Gly 添加溶液は味の持続時間が長く、その効果が減塩率の程度に影響していることが分かった。以上の結果から、うま味と甘味の相互作用による味増強に、甘味アミノ酸の味質、味の持続時間が影響を与えることが示唆された。

10) 発表学会：第 31 回 におい・かおり環境学会

発表日と場所：2018 年 8 月 30 日 千葉工業大学（習志野市）

演題名：秋田杉から製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果の
検証

発表者：進藤昌（秋田県総食研）

要約：これまでに、秋田杉を原料としたガソリン代替燃料であるバイオエタノールの製造技術の開発を行い、微粉碎した秋田杉を原料としてセルラーゼと高温発酵性酵母を用いた同時糖化発酵によるバイオエタノール生産システムを開発した。このバイオエタノールの新たな利用法として消毒用エタノールの利用開発を進めている。消毒用エタノールは、食品工場やレストランでの殺菌目的の使用に加え、さらに香りによるマスキングや癒し効果が期待されるため、高齢者施設などの利用が考えられる。今回、低濃度エタノールと杉葉抽出成分の相乗効果による殺菌能と香りによる脳波への影響を検討した。その結果、杉葉をエタノールと共に蒸留して得られたエタノール溶液が、低濃度のエタノール濃度で高い殺菌能を示すことが判明した。さらに香り成分によりリラクセス度が向上することが明らかとなった。以上のことより、高齢者施設や学校などで使用することにより殺菌効果と同時に香りによる癒し効果が期待できる。

11) 発表学会：第 65 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2018 年 9 月 4 日 朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター
(新潟市)

演題名：ジュンサイと酒粕を使用したサプリメントの成人女性の便通および肌状態
改善作用

発表者：松井ふゆみ (秋田県総食研)

【目的】秋田県北西部に位置する三種町は日本一のジュンサイの産地として知られる。また、秋田県は清酒出荷額全国 4 位の酒どころでもある。我々は、これら秋田県特産の食材の機能性解明を目的に、ジュンサイエキスと酒粕を使用したサプリメント摂取による健常女性の便通および肌状態改善効果を検証した。

【方法】ヒト介入試験は、秋田県総合食品研究センター倫理委員会の承諾を得て実施した (H29-01)。同意書を提出した試験参加者 (健常女性 26 名) は、ジュンサイエキス (オリザ油化株) と酒粕粉末 (秋田銘醸株) を含む試験食、あるいはコーンスターチからなるプラセボ食を交互に 2 週間ずつ摂取し、試験期間内の排便日数、排便回数および便状態の記録を提出した。肌の状態 12 項目に対する改善効果は、プラセボ食摂取後を対照に、試験摂取後の回答を解析した。

【結果】プラセボ食摂取と比較して、試験食摂取により試験参加者の排便日数および排便回数は有意に増加した。また、試験食摂取期間中の便状態ならびに排便時の感覚は、事前アンケートおよびプラセボ食摂取期間のデータと比較して、便の固さ、形状、臭気、排便時の感覚いずれの項目においても改善が認められた。さらに、肌状態に対する試験食摂取の影響は、「毛穴が気になる」という項目が最も顕著で、26 名中 11 名の参加者が改善を実感していた。

【考察】ジュンサイエキスと酒粕粉末からなる試験食は、健常女性の便通を有意に改善するという結果が得られた。事前アンケートにおける排便頻度を参考にすると、便回数が少ない参加者に、より効果が高いという傾向が認められた。また、肌状態の改善を調べたアンケート結果から、試験食摂取による毛穴引き締め効果や、皮膚のハリの改善効果を実感した参加者が多く、コラーゲンネットワークへの影響が考えられた。

12) 発表学会：第 65 回日本栄養改善学会学術総会

発表日と場所：2018 年 9 月 5 日 朱鷺メッセ・新潟コンベンションセンター (新潟市)
演題名：秋田県のスマイルケア食への取り組み

発表者：○松井ふゆみ、熊谷昌則 (秋田県総食研)

【目的】秋田県は高齢化率全国一の高齢化先進県である。当センターでは、10 年ほど前から企業と協働で介護食・高齢者食の研究開発に取り組んできた。2016 年からは農林水産省が新たな介護食として普及を進めるスマイルケア食の制度にもとづいて、秋田県の食品産業と農林水産業の活性化を図るとともに、県民の健康寿命の延伸を目的としてスマイルケア食の研究開発と啓蒙普及活動に力を入れている。

【方法】スマイルケア食を供給し、提供する業界側へのスマイルケア食の周知啓発の

ため「あきたスマイルケア食研究会」を設立し、情報共有の体制を構築した。その設立総会では、公開セミナーを開催してスマイルケア食を広報する機会とした。研究会の活動として、食品事業者に対しては既存商品や新商品でのスマイルケア食の利用許諾マークの取得を呼びかけ、積極的な申請支援と、取得後のプロモーションを行った。一方、スマイルケア食の利用者たる一般県民に対しては、スマイルケア食の認知度向上を図るため、県の広報番組や出前講座、イベント等を活用するなどして多方面からの情報発信を行った。

【結果】研究会には、食品事業者や介護・福祉関連業者だけでなく、流通・販売業や金融機関などの幅広い業種から約 90 名の申込みがあった。また、公開セミナーには 100 名を超える参加があり、関心の高さがうかがえた。食品事業者に対してスマイルケア食への参入を促した結果、秋田県内業者の青マーク取得数は 7 団体 24 商品に上り、団体数、商品数とも全国最多となった。取得団体には高等学校も含まれ、教育的立場からの若い世代へのスマイルケア食の理解も進むのではないかと期待している。これらの取り組みを、FOODEX JAPAN 2018 (3 月 6~9 日) でブース展示したところ、来場者の大きな注目を集めた。これら成果は新聞等でも取り上げられ、スマイルケア食の認知度向上に寄与している。

13) 日本応用糖質科学会平成 30 年度大会 (第 67 回)

発表日と場所：2018 年 9 月 10 日 秋田県立大学 (秋田市)

演題名：変異体米から調製した膨化物の物理特性

発表者：○高橋徹¹、船木博幸²、藤田直子³ (¹秋田県総食研、²秋田いなふく米菓(株)、³秋田県大、)

スターチシンターゼ(SS) IIIa と枝作り酵素(BE) IIb が欠損した超高アミロース米と SSIIIa と SSIVb が欠損した球状澱粉米をそれぞれ秋田 63 号と 2 回戻し交配した系統の精米 (A6BC2 および A8BC2) を用いたエクストルージョンクッキングで試作した膨化物の物理特性について調べた。各精米約 10kg を水分約 17%に調整し、一軸エクストルーダーで膨化物を調製した。膨化物の比容積、色特性、力学特性をそれぞれ測定した。また、官能評価も実施した。共試米によって膨化物形状が大きく異なった。秋田 63 号は円筒状であったが、A6BC2 および A8BC2 は円筒の先が割れた様な非対称形状であった。比容積は A6BC2 が最も大きく、A8BC2、秋田 63 号の順であった。膨化率 (比容積) はエクストルージョンクッキング中の生地粘度に影響を受けるが、A6BC2 や A8BC2 はダイ通過時の生地粘度が小さかったために流動しやすく、保形性が低くなったことで異なる形状を呈したと考えた。力学特性曲線は鋸刃状を示したが、変異体米の最大力は小さくなる傾向にあった。

14) 発表学会：2018 年度日本生物高分子学会大会

発表日と場所：2018 年 9 月 16 日 京都大学吉田キャンパス (京都市)

演題名：ジュンサイ抽出液中のヒト免疫不全ウイルス 1 型逆転写酵素阻害活性成分の同定

発表者：○石塚啓子¹、角江亮太¹、馬場美聡¹、西村耕作²、畠恵司³、高橋砂織³、

作田庄平⁴、兒島憲二¹、滝田禎亮¹、保川清¹ (¹京大院・農、²公財・東洋

食品研究所、³秋田県総食研、⁴帝京大・理工)

【目的】ヒト免疫不全ウイルス1型逆転写酵素(HIV-1 RT)はAIDS薬剤治療の標的の一つである。薬剤耐性を有する変異型HIV-1株の出現が治療を困難にしており、新たな阻害剤の発見が求められている。我々はジュンサイ抽出液がHIV-1 RTに対する高い阻害活性を有することを報告した¹⁾。本研究の目的は、ジュンサイ抽出液中の阻害活性成分の同定である。

【方法】①HIV-1 RTの調製：大腸菌BL21(DE3)にHIV-1 RT p51発現プラスミドとp66発現プラスミドを導入し、HIV-1 RTを発現させ、菌体から精製した。②阻害成分の精製：ジュンサイ熱水抽出物400 mgから逆相クロマトグラフィー(Sep-PakおよびSep-Pak C18)より阻害活性を有する画分を得た。③阻害活性の測定：HIV-1 RTのpoly(rA)-p(dT)₁₅への^[3H]標識dTTPの取り込みに対する阻害活性を測定した。④質量分析：LC-Q-ToF/MS分析を行った。

【結果】質量分析の結果、阻害活性の高い画分に2種類のガロタンニンが含まれていることが示唆された。そのうちのひとつである1,3,6-Tri-O-galloyl-β-D-glucoseは阻害活性を有さなかった。

1) Hisayoshi T., *et al.*, *J. Biol. Macromol.*, **14**, 59-65 (2014).

15) 発表学会：第2回日本循環器学会基礎研究フォーラム

発表日と場所：2018年9月22日 奈良春日野国際フォーラム(奈良市)

演題名：B38-CAP, a bacteria-derived Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)-like carboxypeptidase, suppresses pathological hypertrophy, myocardial fibrosis, and cardiac dysfunction.

発表者：Takafumi Minato^{1#}, Satoru Nirasawa^{2#*}, Teruki Sato^{1,3#}, Ryo Ozawa¹, Souichi Koyota⁴, Tomokazu Yamaguchi¹, Midori Hoshizaki⁵, Taku Yoshiya⁶, Kumiko Yoshizawa-Kumagaye⁶, Kazuhiko Nakahara², Yumiko Imai⁵, Hiroyuki Watanabe³, Saori Takahashi⁷, ○Keiji Kuba^{1*}

(¹Department of Biochemistry and Metabolic Science, Akita University Graduate School of Medicine, ²Biological Resources and Post-Harvest Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences, ³Department of Cardiovascular Medicine, Akita University Graduate School of Medicine, ⁴Bioscience Education and Research Support Center, Akita University Graduate School of Medicine, ⁵Laboratory of Regulation of Intractable Infectious Diseases, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, ⁶PEPTIDE INSTITUTE, INC., ⁷Akita Research Institute of Food and Brewing.)

(#: equal first author)

Abstract

Rationale: Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) is a negative regulator of renin-angiotensin system. Beneficial effects of ACE2 in cardiovascular and respiratory diseases have led to development of recombinant human ACE2 protein (rhACE2) as therapeutics, which is now tested in the clinic. Convergent evolution is known for structural

and functional similarities between proteins in diverse species without sequence similarity, such as serine-proteases, whereas it remains unknown for the carboxypeptidase like ACE2.

Objective: Here we elucidate that the B38-CAP, a carboxypeptidase derived from *Paenibacillus sp.*B38, has ACE2-like enzymatic activity.

Methods and Results: *In silico* analysis revealed the structural similarity between B38-CAP and rhACE2 despite the lack of obvious sequence homology. B38-CAP has a consensus HEXXH amino acid sequence of ACE and belongs to M32 peptidase family. Recombinant B38-CAP protein was easily prepared in the bacterial protein expression system much less time and labor than rhACE2. *In vitro* recombinant B38-CAP protein catalyzed the conversion of angiotensin II to angiotensin 1-7 with the same potency as rhACE2, while it did not affect the C-terminus of angiotensin I. Treatment with B38-CAP reduced plasma angiotensin II levels and suppressed angiotensin II-induced hypertension, cardiac hypertrophy and fibrosis in mice. Moreover, continuous infusion of B38-CAP inhibited pressure overload-induced pathological hypertrophy, myocardial fibrosis, and cardiac dysfunction in mice. Importantly, B38-CAP treatment did not induce overt toxicity of liver and kidney.

Conclusion: B38-CAP is an ACE2-like carboxypeptidase, which is functional *in vitro* and *in vivo*. B38-CAP may alternate rhACE2 and could be a novel therapeutics in cardiovascular diseases. These results suggest that the strategy to find molecules of convergent evolution might be effective for drug development, such as ‘generic’ protein preparation of functional enzymes.

16) 発表学会：第91回日本生化学会大会

発表日と場所：2018年9月24日 国立京都国際会館（京都市）

演題名：発熱植物 *Arum maculatum* における Alternative oxidase の分解に関する研究

発表者：○伊藤菊一^{1,2}、清藤駿成¹、尾形孝文¹、梅川結^{1,3}、柿崎裕介¹、長田洋⁴、Anthony Moore⁵（¹岩手大・農、²岩手大・次世代アグリ研、³秋田県総食研、⁴岩手大・理工、⁵サセックス大・生命科学）

要旨：シアン耐性呼吸酵素（Alternative oxidase: AOX）は植物のみならず菌類から原生動物に広く分布するユビキノール酸化酵素である（Moore *et al.*, 2013）。ミトコンドリア電子伝達系において AOX はプロトン濃度勾配の形成に関わらず、ユビキノールと酸素分子間の自由エネルギー変化は熱として放逸される。発熱性植物の熱産生組織から抽出されたミトコンドリアは高い AOX 発現量を示すことから（Onda *et al.*, 2007; Grant *et al.*, 2009; Ito *et al.*, 2011）、AOX 呼吸は植物の熱産生に重要であると考えられている。本研究においては、サトイモ科に属する発熱植物である *Arum maculatum* の熱産生器官で発現している AOX の分解に着目した一連の実験を行った。はじめに、*A. maculatum* の付属体からパーコール密度勾配法により精製したミトコンドリアを用いた AOX の分解活性を解析した。その結果、AOX は E-64 に感受性を有するプロテ

アーゼにより分解を受けることが明らかとなった。さらに、E-64 のアナログである DCG-04 を用いた activity profiling を行ったところ、AOX の分解に関わるプロテアーゼはおよそ 30kDa の分子として検出されることが判明した。これらの結果は、発熱植物 *A. maculatum* においては、AOX の分解に関わるシステインプロテアーゼが発現していることを示唆している。得られた知見に基づき、*A. maculatum* における AOX 分解の生理的意義について議論したい。

Moore A., et al., *Annu. Rev. Plant Biol.*, **64**, 637-663 (2013).

Onda Y., et al., *FEBS Lett.*, **581**, 5852-5858 (2007).

Grant N., et al., *Plant Physiol.*, **150**, 987-995 (2009).

Ito K., et al., *Plant Physiol.*, **157**, 1721-1732 (2011).

17) 発表学会：ISSAAS Congress 2018

発表日と場所：2018 年 10 月 12～14 日, Kuching, Malaysia

演題名：Study on the functionality of yams (*Dioscorea* spp.)

発表者：○Shusui Seki¹, Hidehiko Kikuno², Makoto Tomatsu³, Yoji Hori¹, Takao Myoda¹, Kazuki Toeda¹ (¹ Department of Food and Cosmetic science, Tokyo University of Agriculture, ² Miyako Subtropical Experimental Farm, Tokyo University of Agriculture, ³ Akita Research Institute of Food and Brewing)

Yams belong to the genus *Dioscoreaceae Dioscorea*, and one of the edible tubers species. They are cultivated widely in tropical and subtropical areas. On the other hand, the foliages of yams are agricultural waste products and there is a need for an effective way to utilize the foliages that remain after harvesting the tubers. In this report, the amino acid contents in the leaves were measured and functional properties were studied in order to determine the usefulness of yam leaves.

Twenty four varieties of yam leaves (*Dioscorea alata*, *Dioscorea esculenta*) were collected and air-dried, and the changes in amino acid content in the drying process were measured. Functional tests (antioxydant activity, polyphenol contents and more) were also carried out using 50% ethanol extract. As a result, the amino acid content in the leaves after drying increased compared to the raw leaves. Especially, the γ -aminobutanoic acid (GABA) content in the raw leaves was less than the detection limit in almost all varieties, but increased in the leaves after drying and showed high contents. As for the functional activity, there were varietal differences.

18) 発表学会：第 32 回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018 年 11 月 9 日 秋田県総合食品研究センター (秋田市)

演題名：海藻由来 DPP4 阻害活性について

発表者：○高橋砂織¹、中林信康²、畠 恵司¹ (¹秋田県総食研、²秋田県水産振興セ)

【目的】 最近、血糖値を調節するホルモンとして消化管ホルモンの一つであるイン

クレチンが注目されている。インクレチンは、食物摂取で消化管より分泌され膵臓のβ細胞に作用してインスリン分泌を促進するホルモンの総称であり、グルコース依存性分泌刺激ホルモン (GIP: Glucose-dependent insulintropic polypeptide)とグルカゴン様ペプチド1 (GLP-1: Glucagon like peptide-1)が知られている。DPP4は、GLP-1を速やかに分解する。したがって、DPP4を阻害することでインスリンの効果が持続することが期待される。そこで、DPP4の迅速測定方法の開発と県産食材からのDPP4阻害物質のスクリーニングを行った。

【方法】 試料の抽出：水産振興センターで採取したツルアラメ試料2袋分を試料A及び試料Bとしてそれぞれの部位(葉、茎及び仮根)ごとに分けて凍結乾燥した。乾燥後の重量を測定し、ミキサーで粉碎した。凍結乾燥粉末試料5gに300mlのエタノールを加えて、室温で2~3時間攪拌後、No.2フィルターで濾過した。濾液をロータリーエバポレーターで約20mlまで濃縮し、沈殿を遠心分離で除去後、再度ロータリーエバポレーターで濃縮・乾固し重量を測定した。

DPP4阻害活性測定方法：Gly-Pro-MCAを基質として用い、ヒト型組換えDPP4を標的酵素として阻害活性を測定した。阻害の目安となるIC₅₀は、用いた酵素活性を50%阻害する抽出液濃度とした。センター保有の海藻抽出液及び秋田県水産振興センターで採取した秋田県産ツルアラメ抽出液を用いてDPP4阻害活性を測定した。

レニン・アンギオテンシン系酵素類の阻害活性測定方法：レニン及びACE阻害活性は既報に従い測定した。^{1,2)}

【結果と考察】 標的酵素として、ヒト型組換えDPP4及び基質として、Gly-Pro-MCAを用いて反応条件を精査することで、DPP4の高感度・迅速測定条件を決定した。本測定方法を用いて、各種食材抽出液をスクリーニングした結果、秋田県産の海藻に初めてDPP4阻害活性を見いだした。海藻や山菜では機能性成分が季節変動したり、採取場所で異なったりすることから、水産振興センターで採取した試料をアッセイした結果、再現性が確認された。また、ツルアラメ抽出液にはRAS系酵素阻害活性も認められたことから、機能性食品素材として有望である。

【参考文献】

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

(2) Takahashi S., et al., *Biomed. Res.*, **32**, 407-411 (2011).

19) 発表学会：第32回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018年11月9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(パエニダーゼ)のHis276変異体の性質

発表者：○葦澤悟¹、中原和彦¹、高橋砂織²(¹国際農研、²秋田県総食研)

生体を構成する重要な物質であるアミノ酸には、2種類の光学異性体(L型およびD型)が存在する。地球上の生物は、これらのうちL型アミノ酸によって構成されており、D型アミノ酸は一部の細菌の細胞壁に存在するのみであると考えられてきた。

しかしながら、近年の分析手法の進歩により、哺乳類の生体内にも D 型アミノ酸の存在が見出されている。さらに、これらの D 型アミノ酸の中でも、特に D-アスパラギン酸が、タンパク質の異常な折り畳みが原因で生じるヒトの疾病（アルツハイマー病、白内障）の病変組織や、皮膚の老化した組織に存在することが報告されている。高橋らは、D-アスパラギン酸特異的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、産生する酵素を paenidase (PAE) と命名し、その性質を解析した¹⁾。これまでに我々は、PAE 遺伝子を同定し、PAE がペプチドグリカン合成酵素（ペニシリン結合タンパク質：PBP）と相同性があることを明らかにした²⁾。今回我々は、PBP ファミリーにおいて保存されている 276 番目のヒスチジン残基をアラニン残基に置換した変異体（以下 H276A）を作製し、その性質を解析した²⁾。

PAE の H276A 変異体について、熱安定性、至適 pH、基質特異性、及び各種阻害剤による影響を解析した。その結果、H276A の熱安定性及び至適 pH は、Wild-type と同様なプロファイルを示した。また、H276A は Wild-type と同様に、suc-[D- α -Asp]-pNA, suc-[D- α -Asp]-MCA, DAEFRH-[D- α -Asp]-SGY を加水分解したが、他のアミノ酸残基や [L- α -Asp], [L- β -Asp], [D- β -Asp] 残基を含む基質は加水分解しなかった。一方、H276A の suc-[D- α -Asp]-MCA に対する K_m (0.14 mM)、 k_{cat} (0.34 s^{-1}) は、Wild-type (K_m : 0.97 mM; k_{cat} : 2.88 s^{-1}) とは異なる値を示した。また、H276A は D-アスパラギン酸エンドペプチダーゼ特異的阻害剤である Bz-Arg-His-[D- α -Asp]-CH₂Cl (i-DAEP) により Wild-type より強く阻害された。以上の結果から、H276A は PAE の基質特異性、熱安定性、至適 pH には寄与していないが、酵素活性に影響を与えることが明らかとなった。

【参考文献】

- (1) Takahashi S. *et al.*, *J. Biochem.* **139**, 197-202 (2006).
- (2) Nirasawa S. *et al.*, *J. Biochem.* **164**, 103-112 (2018).

20) 発表学会：第 32 回秋田応用生命科学研究会講演会

発表日と場所：2018 年 11 月 9 日 秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：恒温植物の呼吸調節メカニズムに関する研究

発表者：梅川結（秋田県総食研）

【背景】 哺乳類および鳥類を含む動物は、恒温性と呼ばれる自律性体温調節システムを介し、外気温と独立した体温を有している。動物においては脳と交感神経系が当該システムの中樞を担っているが、一方、このような器官を持たないある種の植物においても、恒温性が観察されることが知られている。例えば、早春の寒冷環境下で開花するサトイモ科植物の一種であるザゼンソウは、氷点下を含む外気温の変動においても、肉穂花序と呼称される花器の温度を 23°C 内外に維持できる (Seymour *et al.*, 2009)。このような植物の恒温性は、発熱器官温度と逆相関を示す呼吸調節により達成されることが報告されていたが (Seymour *et al.*, 2010)、植物の恒温性を統御する分子基盤は長い間不明のままであった。

【目的と方法】 ザゼンソウの恒温性に関わる呼吸調節メカニズムを明らかにするこ

とを目的に、本植物における呼吸の温度応答⁺について熱力学的解析を行った。具体的には、肉穂花序、あるいは肉穂花序由来単離ミトコンドリアから得られた種々の呼吸データに対して修正アレニウスモデルを適用し、呼吸の反応速度に密接に関与する活性化エネルギー (E_0) の温度応答を算出した。

【結果と考察】 解析の結果、ザゼンソウ肉穂花序における呼吸反応に関わる E_0 を算出することに成功するとともに、得られた E_0 値が温度に対して動的に変動し、本植物の恒温性が観察される呼吸調節範囲において、負の値を生じることを明らかにした (Umekawa *et al.*, 2016)。負の活性化エネルギーは温度上昇が化学反応速度の低下を引き起こす反応において観察され、この現象には前駆平衡と呼ばれる特異な化学平衡が関与することが報告されている (Maharaj & Winnik, 1981)。従って、恒温性を有するザゼンソウの発熱性肉穂花序においても、呼吸に関する前駆平衡反応が形成されており、温度に応じた平衡点の移動により呼吸調節が行われていることが示唆された。今回の発表では、ザゼンソウ以外の恒温植物に関する一連の解析結果を含め、我々が提示した植物の呼吸調節メカニズムの理論を報告したい。

Seymour R. S., *et al.*, *Planta*, **231**, 1291-1300 (2010).

Seymour R. S., *et al.*, *Ann. Bot.*, **104**, 823-832 (2009).

Umekawa K., *et al.*, *Sci. Rep.*, **6**, 24830 (2016).

Maharaj U. & Winnik M. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2328-2333 (1981).

21) 発表学会：第32回秋田応用生命科学研究会学術講演会

発表日と場所：2018年11月9日 秋田県総合食品研究センター（秋田市）

演題名：微生物由来のアンジオテンシン変換酵素2（ACE2）様酵素の高血圧・心不全治療への応用開発

発表者：湊隆文¹、菝澤悟²、佐藤輝紀^{1,3}、小澤諒¹、山口智和¹、中原和彦²、渡邊博之³、今井由美子⁴、高橋砂織⁵、○久場敬司¹（¹秋田大・院医・分子機能学・代謝機能学、²国際農研・生物資源・利用領域、³秋田大・院医・循環器内科、⁴医薬基盤・健康・栄養研究所、⁵秋田県総食研）

要旨：アンジオテンシン変換酵素2（ACE2）はレニン-アンジオテンシン系における負の調節因子として、アンジオテンシン II をアンジオテンシン 1-7 に変換することにより心不全など循環器疾患の病態改善に寄与する。私達はこれまでに ACE2 が急性呼吸窮迫症候群（ARDS）に対する肺保護作用を発揮することを明らかにし、現在ヒト組み換え ACE2 蛋白の ARDS に対する臨床試験が行われている。今回私達は *in silico* スクリーニングから微生物由来カルボキシペプチダーゼ（BD-X）が ACE2 とよく似た立体構造をもつことを見出したので、BD-X のマウス心不全モデルのリモデリングと機能不全に対する作用を検討した。大腸菌のタンパク質発現システムを用いて、組み換え BD-X タンパク質（rBD-X）を調製した。rBD-X は *in vitro* において rhACE2 と同様の比活性でアンジオテンシン II をアンジオテンシン 1-7 に変換した。マウスに rBD-X を投与したところ、血漿中のアンジオテンシン II 濃度が低下し、アンジオテン

シン II 持続投与によって誘導される血圧上昇、心肥大、線維化が抑制された。さらに rBD-X は、TAC 圧負荷によって引き起こされる心肥大、線維化、心機能低下を有意に改善した。以上の結果から、BD-X は *in vitro* ならびに *in vivo* において ACE2 と同様のカルボキシペプチダーゼとして機能することが分かり、循環器疾患の新規治療薬となる可能性が考えられた。また、BD-X と ACE2 は収斂進化の産物であることから、収斂進化の分子探索を活用した機能的酵素の‘ジェネリック’蛋白製剤の開発が有効である可能性が示唆された。

22) 発表学会：第 41 回日本分子生物学会年会

発表日と場所：2018 年 11 月 27 日 パシフィコ横浜（横浜市）

演題名：ザゼンソウの熱産生組織における遺伝子発現プロファイリング

発表者：○谷本悠¹、梅川結²、伊藤菊一^{1, 3}

(¹岩手大・農・応生、²秋田総食研、³岩手大・次世代アグリ研)

要旨：ザゼンソウ (*Symplocarpus renifolius*) は早春に花を咲かせるサトイモ科の植物であり、雌性期の肉穂花序が特異的に発熱し、外気温の変動にも関わらず、その温度をほぼ一定に保つ能力を有している (Umekawa *et al.*, 2016)。一般に植物の発熱は、訪花昆虫の誘引が目的であると考えられているが、恒温性を示すザゼンソウ肉穂花序の温度は、花粉管の発芽・伸長に最適であることが明らかになっており (Seymour *et al.*, 2009)、本植物の熱産生は寒冷環境に対する植物の適応戦略の一つであると考えられる。本研究においては、ザゼンソウの肉穂花序における熱産生に着目し、当該器官における転写産物の発現プロファイルの解析を試みた。すなわち、群生地で発熱しているザゼンソウ肉穂花序から抽出した RNA を用いて均一化 cDNA を作成し、次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析を行った。本発表においては、肉穂花序の熱産生組織で特異的に発現している遺伝子群の中で、特に高い発現が観察された遺伝子について報告したい。

Umekawa Y., *et al.*, *Sci. Rep.*, **6**, 24830 (2016).

Seymour R. S., *et al.*, *Biol. Lett.*, **5**, 568-570 (2009).

23) 発表学会：第 41 回日本分子生物学会年会

発表日と場所：2018 年 11 月 27 日 パシフィコ横浜（横浜市）

演題名：ザゼンソウの熱産生組織で発現する複数のチオレドキシシンレダクターゼ
遺伝子

発表者：○樋口リサ¹、梅川結²、伊藤菊一^{1, 3}

(¹岩手大・農、²秋田総食研、³岩手大・次世代アグリ研)

要旨：ザゼンソウ (*Symplocarpus renifolius*) は寒冷環境において肉穂花序が特異的に発熱し、その温度を調節できるサトイモ科の植物である。このような発熱植物の熱産生においては、ミトコンドリアに局在するシアン耐性呼吸酵素 Alternative oxidase (AOX) の機能が重要であると考えられている (Moore *et al.*, 2013)。これまで、非発熱

植物において、AOX はチオレドキシシンレダクターゼ/チオレドキシシン (TrxR/Trx) システムにより翻訳後活性調節を受けることが報告されていたが (Geigenberger *et al.*, 2017)、最近、ザゼンソウ由来の SrTrxo 遺伝子が新たに同定され、SrAOX の還元に関与することが明らかとなった (Umekawa & Ito, *in press*)。本研究では、SrTrxo の活性調節に必要とされる TrxR 遺伝子に着目した研究を行った。ザゼンソウ発熱組織で発現している転写産物をターゲットとした次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 解析により、複数の NADPH 型 TrxR (NTR) をコードする遺伝子が同定され、その中には、ミトコンドリア型 NTR が含まれていることが判明した。本発表では、ザゼンソウの発熱および非発熱組織における SrNTRs の発現プロファイル等に基づき、本植物の熱産生と TrxR/Trx システムについて議論したい。

Moore A., *et al.*, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **64**, 637-663 (2013).

Geigenberger P., *et al.*, *Trends Plant Sci.*, **22**, 249-262 (2017).

Umekawa Y. & Ito K., *J. Biochem.*, *in press*.

24) 発表学会：日本農芸化学会関西支部例会（第 506 回講演会）

発表日と場所：2018 年 12 月 1 日 神戸大学農学部（神戸市）

演題名：ジュンサイ抽出液からのヒト免疫不全ウイルス 1 型逆転写酵素阻害物質の精製

発表者：○石塚啓子¹、角江亮太¹、馬場美聡¹、西村耕作^{1,2}、畠恵司³、
高橋砂織³、作田庄平⁴、兒島憲二¹、滝田禎亮¹、保川清¹

(¹京大院・農、²公財・東洋食品研、³秋田県総食研、⁴帝京大・理工)

【目的】

ヒト免疫不全ウイルス 1 型逆転写酵素 (HIV-1 RT) は AIDS 薬剤治療の主要な標的である。薬剤耐性を有する変異型 HIV-1 株の出現が治療を困難にしており、新たな阻害剤が求められている。我々は 25 種類の野菜や果物の抽出液について、HIV-1 RT に対する阻害効果を調べ、ジュンサイ抽出液が高い阻害活性を有することを報告した^{1,2)}。本研究の目的は、本阻害活性成分を精製し、同定することである。

【方法・結果】

1. HIV-1 RT の調製：大腸菌 BL21(DE3) に HIV-1 RT p51 発現プラスミドと p66 発現プラスミドをそれぞれ導入し、発現後、菌体破砕物を混合し、p51/p66 を精製した。
2. 阻害成分の精製：ジュンサイ熱水抽出液を逆相クロマトグラフィー (Sep-Pak C-18 (Waters) および Capcell-Pak C18 (資生堂)) にかけた。各フラクションの HIV-1 RT による poly(rA)-p(dT)₁₅ への [³H] 標識 dTTP の取り込みに対する阻害活性を測定し、阻害成分を精製した。
3. LC-Q-ToF/MS 分析：LC-20A (島津製作所) と microTOFQ II (Burker Daltonics) を用いた。5 種類の化合物が阻害活性の高い画分にのみ検出された。この 5 種類の化合物の構造を Compass Data analysis (Bruker Daltonics) を用いて解析した結果、3 種類の化合物についての関係が示めされた。

- 【文献】 1. Hisayoshi T., *et al.*, *J. Biol. Macromol.*, **14**, 59-65 (2014).
2. Hisayoshi T., *et al.*, *J. Nat. Med.*, **69**, 432-440 (2015).

25) 発表学会：あきた産学官連携フォーラム 2018

発表日と場所：2018年12月4日 秋田市民交流プラザ アルヴェ (秋田市)

演題名：下水処理水を活用した酒造好適米の栽培

発表者：○増田周平¹、竹田壮太¹、児玉雅²、PHAM Duy Dong³、岡野邦宏⁴、
宮田直幸⁴、渡部徹⁵ (¹秋田高専、²秋田県総食研、³元岩手大、
⁴秋田県立大、⁵山形大)

要旨：下水処理水を利用して酒造好適米の栽培試験を行い、玄米品質と安全性を評価した。その結果、酒造好適米に要求される基本的な品質は、粗タンパク質が低かったことを除き、概ね達成することができた。その上で、得られた玄米はカリウム含有量が高く、優れた醸造特性や清酒品質に結びつく可能性が示唆された。また水質浄化能の観点からは、窒素およびリンについて、中干し以前の高負荷条件では10~20%程度、中干し以降の低負荷条件下では80~90%程度の除去率が得られた。さらに、土壌においては問題となるレベルの重金属の蓄積はなかった一方で、肥効成分であるカリウム含有量が増加した。

26) 発表学会：日本水産学会春季大会

発表日と場所：2019年3月26日 東京海洋大学 (東京都港区)

演題名：発酵スターターと酵素剤を添加した減塩しょっつるの品質特性

発表者：○高橋徹¹、塚本研一¹、小林侑太郎²、船津保浩² (¹秋田県総食研、
²酪農大食と健康)

日本三大魚醤の1つであるしょっつるは伝統的な製法で製造されているため熟成期間が常温で2年以上と長く、食塩分も約28%と高めである。一方、近年の消費者の健康性及び安全性志向から低塩でヒスタミン(Hm)レベルの低い製品の製造が望まれている。本研究では発酵スターターと酵素剤を用いて食塩分を段階的に減少させたしょっつるを製造し、最終製品の品質特性の違いを調査することを目的とした。ハタハタを容器に入れ、並塩(28%、25%及び20%)と0.5%酵素剤を添加し、水産発酵食品より分離された *Tetragenococcus halophilus* 14-1 株の添加有無で6種類のもろみを調製し、定期的に攪拌を行いながら30°Cで6ヶ月間熟成させた。熟成後、火入れ・ろ過したものを最終製品とした。最終製品の色調をみるといずれの試料も明度(L*)、赤味度(a*)及び黄味度(b*)はほぼ類似した値であった。pHと全窒素分は食塩分が低い試料で増加傾向がみられた。Hmレベルはいずれの試料も28-76 ppmの範囲であった。順位法による官能評価では食塩20%-14-1株添加区は味が有意に(p<0.05)好まれるという評価であった。味覚分析データの多変量解析をみると食塩分で味が異なり、S28%添加区では酸味(先味)が強いが、食塩分の減少に伴いうま味(先味)が強くなった。特にS20%添加区では14-1株の添加によりうま味(後味)と魚の風味が強くなる傾向がみられた。

5. 外部発表論文概要 (7 件)

1) 論文題名 : **Cloning and characterization of the novel D-aspartyl endopeptidase, paenidase, from *Paenibacillus* sp. B38.**

著者名 : Satoru Nirasawa, Kazuhiko Nakayama, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Journal of Biochemistry* **164**(2), 103-112 (2018)

発行日 : 2018 年 8 月 16 日

2) 論文題名 : **Enhancement of GABA production utilizing enzyme-treated rice bran by lactic fermentation with pH control**

著者名 : Yoshinobu Ohtomo, Satoshi Nojima, Aya Itoh, Mika Hokari, Keishi Hata, and Kazuki Toeda

雑誌名 : 日本食品保蔵科学会誌 **44**(6), 309-313 (2018)

発行日 : 2018 年 11 月 30 日

3) 論文題名 : **アイSprラント粉末, ジュンサイエキス及び米由来グルコシルセラミドからなる青汁の継続摂取による成人健常者に対する健康状態改善作用**

著者名 : 佐々木玲、公地淳、佐々木又英、桑山明久、梅川結、松井ふゆみ、熊谷昌則、畠恵司

雑誌名 : 食品・臨床栄養 e2018, 1-8 (2018)

発行日 : 2018 年 12 月 9 日

4) 論文題名 : **Open-label study of effects of dietary supplement with water shield extract and sake cake powder, on skin condition of adult healthy females.**

著者名 : Akiko Takashima, Kimihiko Sano, Masayo Murakami, Fuyumi Matsui, Akira Sasaki, Saori Takahashi, Masanori Kumagai, and Keishi Hata

雑誌名 : *Journal of Biological Macromolecules* **18** (3), 59 – 61 (2018)

発行日 : 2018 年 12 月 31 日

5) 論文題名 : **Thioredoxin *o*-mediated reduction of mitochondrial alternative thermogenic skunk cabbage, *Symplocarpus renifolius*.**

著者名 : Yui Umekawa and Kikukatsu Ito

雑誌名 : *Journal of Biochemistry* **165**(1), 57–65 (2019)

発行日 : On line publication (2018 年 10 月 5 日)

6) 論文題名 : **枝豆を丸ごと粉末化「爛漫枝豆粉末」の開発とその特性**

著者名 : 梅川結

雑誌名 : 月刊フードケミカル **35**(3), 43-45 (2019)

発行日 : 2019 年 3 月 1 日

7) 論文題名：秋田蔵付分離酵母シリーズ純米酒の開発と商品化

著者名：大野剛

雑誌名：日本醸造協会誌 **114**(3), 117-124 (2019)

発行日：2019年3月15日

1) 論文題名 : **Cloning and characterization of the novel D-aspartyl endopeptidase, paenidase, from *Paenibacillus* sp. B38.**

著者名 : Satoru Nirasawa, Kazuhiko Nakayama, and Saori Takahashi

雑誌名 : *Journal of Biochemistry* **164**(2), 103-112 (2018)

発行日 : 2018年8月16日

Paenidase is the first micro-organism-derived D-aspartyl endopeptidase that specifically recognizes an internal D-Asp residue to cleave [D-Asp]-X peptide bonds. Using peptide sequences obtained from the protein, we performed PCR with degenerated primer to amplify the paenidase I-encoding gene. Nucleotide sequencing revealed that mature paenidase I consist of 322 amino acid residues and that the protein is encoded as a pro-protein with a 197-amino acid N-terminal extension compared to the mature protein. Paenidase I exhibits amino acid sequence similarity to several penicillin-binding proteins. In addition, paenidase I was classified into peptidase family S12 based on a MEROPS databased search. Family S12 contains serine-type D-Ala-D-Ala carboxypeptidase that have three active site residues (Ser, Lys, and Tyr) in the conserved motif Ser-Xaa-Thr-Lys and Tyr-Xaa-Asn. These motifs were conserved in the primary structure of paenidase I, and the role of these residues was confirmed by site-directed mutagenesis.

2) 論文題名 : **Enhancement of GABA production utilizing enzyme-treated rice bran by lactic fermentation with pH control**

著者名 : Yoshinobu Ohtomo, Satoshi Nojima, Aya Itoh, Mika Hokari, Keishi Hata, and Kazuki Toeda

雑誌名 : 日本食品保蔵学会誌 **44**(6), 309-313 (2018)

発行日 : 2018年11月30日

要約 : Optimum conditions for GABA production utilizing enzyme-treated rice bran by lactic fermentation were investigated. A culture containing 11% enzyme-treated rice bran (nutrient source) and 11.7% monosodium glutamate (additive substrate of GABA) inoculated with *Lactobacillus brevis* IFO12005 yielded a GABA content of 7.1% (w/w) when the pH was maintained at 5.0 throughout the fermentation period. This resulting GABA content is 4-5-fold higher than without pH control. In addition, the fermented product did not have an unfavorable flavor according to sensory testing. Thus, it is possible to add culture broth to food or drink products to enrich GABA content without damaging their original flavor.

3) 論文題名 : アイスプラント粉末, ジュンサイエキス及び米由来グルコシルセラミドからなる青汁の継続摂取による成人健常者に対する健康状態改善作用

著者名 : 佐々木玲、公地淳、佐々木又英、桑山明久、梅川結、松井ふゆみ、熊谷昌則、畠恵司

雑誌名 : 食品・臨床栄養 e2018, 1-8 (2018)

発行日 : 2018年12月9日

要約 : アイスプラント粉末, ジュンサイエキス及び米由来グルコセラミドからなる青汁の効果を検証するため, 4週間継続摂取した27名成人健常者の健康状態に対する影響を quality of life (QOL) スコア変化として評価した。摂取前と比較して2週間の青汁摂取により, “足のむくみ”や“便の回数”などの6項目で改善効果が認められた。さらに摂取4週間目では, 2週間摂取による改善効果に加えて“排便感”や“手足の冷え”など, 新たに7項目で改善効果が認められた。13項目の改善効果のうち, “体臭”や“目の疲れ”, “味の感じ方”の3項目は男性に, “目の乾燥”や“目覚め”, “口の渇き”, “集中力の持続”の4項目は女性に特有であった。さらに, これら13項目について因子分析を行った結果, 「便通の改善」および「血流の改善」の2因子が共通因子として見出された。

4) 論文題名 : **Open-label study of effects of dietary supplement with water shield extract and sake cake powder, on skin condition of adult healthy females.**

著者名 : Akiko Takashima, Kimihiko Sano, Masayo Murakami, Fuyumi Matsui, Akira Sasaki, Saori Takahashi, Masanori Kumagai, and Keishi Hata

雑誌名 : *Journal of Biological Macromolecules* **18** (3), 59 – 61 (2018)

発行日 : 2018年12月31日

要約 : We studied the effects of a dietary supplement (JUNSAICOMACHI) containing water shield extract and sake cake dry powder on the skin condition of 28 healthy adult females. The analysis by visual analogue score revealed that continued intake of JUNSAIKOMACHI for 14 days markedly improved “dry skin” and “makeup finishing”, and after 28 days improved 9 symptoms including “dull skin” compared with the subjects’ skin conditions before the trial.

5) 論文題名 : **Thioredoxin *o*-mediated reduction of mitochondrial alternative thermogenic skunk cabbage, *Symplocarpus renifolius*.**

著者名 : Yui Umekawa and Kikukatsu Ito

雑誌名 : *Journal of Biochemistry* **165**(1), 57–65 (2019)

発行日 : On line publication (2018年10月5日)

要約 : Thermogenesis in plants involves significant increases in their cyanide-resistant mitochondrial alternative oxidase (AOX) capacity. Because AOX is a non-proton-motive ubiquinol oxidase, the dramatic drop in free energy between ubiquinol and oxygen is dissipated as heat. In the thermogenic skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*), *SrAOX* is specifically expressed in the florets. Although *SrAOX* harbours conserved cysteine residues, the details of the mechanisms underlying its redox regulation are poorly understood. In our present study, the two mitochondrial thioredoxin *o* cDNAs *SrTrxo1* and *SrTrxo2*, were isolated from the thermogenic florets of *S. renifolius*. The deduced amino acid sequences of the protein products revealed that *SrTrxo2* specifically lacks the region corresponding to the $\alpha 3$ -helix in *SrTrxo1*. Expression analysis of thermogenic and non-thermogenic *S. renifolius* tissues indicated that the *SrTrxo1* and *SrAOX* transcripts are predominantly expressed together in thermogenic florets, whereas *SrTrxo2* transcripts are almost undetectable in any tissue. Finally, functional *in vitro* analysis of recombinant *SrTrxo1* and mitochondrial membrane fractions of thermogenic florets indicated its reducing activity on *SrAOX* proteins. Taken together, these results indicate that *SrTrxo1* is likely to play a role in the redox regulation of *SrAOX* in *S. renifolius* thermogenic florets.

6) 論文題名 : 枝豆を丸ごと粉末化「爛漫枝豆粉末」の開発とその特性

著者名 : 梅川結

雑誌名 : 月刊フードケミカル 35(3), 43-45 (2019)

発行日 : 2019年3月1日

要約 : 高品質の米や雪解け水が豊富な秋田県は、「米の秋田は酒の国」という言葉がある程、酒造りが盛んな土地である。秋田の酒を全国に届けるため、県内蔵元や財政界が1922年に設立した秋田銘醸(株)は、県内を代表する酒造メーカーの一つであり、「爛漫」は創業当初から続く同社の酒銘である。日本酒の国内需要低下の折、同社は自社休眠設備を活用した新たな機能性食品素材の開発も手掛けている。

一方、秋田県では、近年の減反政策を受け、枝豆を米に次ぐ主力農産物にすべく力を入れている。県や農業協同組合、生産者らの努力により枝豆出荷量が全国トップクラス(国の農林水産統計による2017年度出荷量: 3,480 t)に到達した一方、一粒や鞘の一部が破損した規格外枝豆が2割程度を占め、これらの廃棄コストが新たな問題になった。本稿では、規格外枝豆の鞘ごと全てを乾燥・粉末化した「爛漫枝豆粉末」について、その開発経緯と特徴、そして著者らが新たに見出した「爛漫枝豆粉末」の可能性について紹介する。

7) 論文題名：秋田蔵付分離酵母シリーズ純米酒の開発と商品化

著者名：大野剛

雑誌名：日本醸造協会誌 114(3), 117-124 (2019)

発行日：2019年3月15日

要約：酒蔵内にすみついている微生物は蔵付き微生物と呼ばれ、その酒蔵ごとに特異な菌相をもっている。それら微生物はすべて優良なものではなく、腐造等の事故を引き起こし、時に生もとなどでは現在でも早沸きなど、野生酵母のコンタミと思われる事象が発生し、変敗を生じさせることがある。しかし、そういった微生物の関与が清酒の複雑さ、各酒蔵の特徴となっていることも経験的に知られている。

秋田では古来酒造業が栄え、日本で3番目に歴史のある株式会社飛良泉本舗（長享年間 西暦1487年創業）を始め、その7割が創業100年を越えた老舗である。それらの酒蔵には当然のように「蔵付き」微生物がすみつき、各酒蔵が醸造する清酒の特徴の一因となっている。その中で、現在頒布されている最古のきょうかい6号酵母は秋田市の新政酒造株式会社から醸造試験所の小穴富司雄先生と新政酒造5代当主佐藤卯兵衛氏により分離された。こうした優れたもろみから「蔵付き」の優良酵母を選抜した例は多く、本県でも秋田流花酵母AK-1が活用されている。

我々はこのような「蔵付き」微生物の中から未利用、かつその酒蔵に特徴的な酵母を分離選抜、純粋培養した上での活用を考えた。これらの株は蔵の歴史を想起させるため、蔵元の個性を味わうことのできる商品の核として、分離元の酒蔵でのみ使用する専用菌株とし、これにより商品の明確な差別化を図ることとした。これら商品それぞれが、製造されている地域性、環境、伝統も含めてのトータルイメージやストーリー性を持ち、地域ブランド化できることが求められていた。そのため、各酒蔵の歴史的価値を有すると思われる箇所を中心に、通常酵母が分離できそうにないところからも採取を試みた。こういった試みは酒蔵単位では実施され、その酒蔵の「蔵付き酵母」として用いられている例はあるが、県全体で実施した例はなく、興味深い試みと思われた。

選抜した株は従来の酵母開発ではオフフレーバーとして忌避されてきた生もとの特徴香の一つである4-VG やジアセチル、比較的高い酸味やアミノ酸などの味わいも適度であれば特徴・アクセントとしてあえて蔵元に提示し、蔵元の同意の元に商品化をすすめた。

これにより、酒蔵の個性と物語性を持ち、多様な味わいを有する酵母「秋田蔵付分離酵母」とそれを用いた商品群『「秋田蔵付分離酵母」純米酒シリーズ』が完成した。

6. 秋田県総合食品研究センター報告規程

【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、学会発表要旨及び外部発表論文要約等を掲載する。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：文章は平易且つ簡潔な「である」調とする。数字や英字は原則として半角とする。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 版縦長様式とする。
3. 原稿の書体は、原則として MS 明朝体を用い、表題は 18 ポイント、本文は 12 ポイントとする。文章中（全角）では句点「。」及び句読点「、」を用いる。半角の場合には、終止符「.」及びカンマ「,」を用いる。
4. 原稿の上下、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。
【要約】、【緒言】、【実験方法】、【結果】、【考察】、【引用文献】の順とする。
【謝辞】は、【引用文献】の前に入れる。
2. 研究ノートは、次の形式をとる。
【緒言】、【実験方法】、【結果と考察】、【引用文献】とする。
3. 総説は、特に形式にこだわらないが、最初に要約を付ける。
4. 図表は、本文中では図 1 あるいは表 1 などと表記する。
5. 引用文献は、本文中の該当人名や事項の後に上付き小文字で、秋田県¹⁾、や総食研^{2,4)}などのように番号を付し、そのリストを一括して引用文献の項に記載する。
6. 投稿中の論文、私信、未発表結果は、引用文献に入れず本文中に括弧で示し引用する。
7. 本文中に他の論文の著者名を引用する場合には、混乱の起こらない限り姓のみとする。著者が 2 名の論文は、両者の姓を併記し、3 名以上の場合には、筆頭著者以外を「他」もしくは「ら」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。

【引用文献記載方法】

1. 雑誌は、著者名、(年号)、論文表題、雑誌名、巻、ページ（最初と最後）、の順に記載する。
2. 単行本は、著者名、(年号)、論文表題、書名、(編者)、ページ（最初と最後）、出版社、出版都市とする。
3. 著者名は、姓名とも記し、全著者名を記載する。
4. 欧文雑誌の略記は、Index Medicus による。誌名はイタリックとし、巻はボールドとする。
5. 和文誌名は略記しない。
6. ウェブサイト中の記事に関しては、著者名、「ウェブサイトの題名」・ウェブサイト名称、更新日、入手日付を記載する。

(引用文献載例)

- 1) Tomatsu M, Shimakage A, Shinbo M, Yamada S, Takahashi S (2013) Novel angiotensin I-

- converting enzyme inhibitory peptides derived from soya milk. *Food Chem*, **135**, 612-616.
- 2) Inagami T (1998) Angiotensin receptors: molecular biology and signaling. In: Renin-Angiotensin. (Ulfendahl HR, Aurell M, eds), p25-35, Portland Press Ltd, London.
 - 3) 小笠原博信、高橋砂織 (2000) STS-PCR 法によるあきたこまち等の 1 粒品種判別 日本食品科学工学会誌 **47**, 632-637.
 - 4) 作田庄平 (2004) アロサミジンとキチナーゼ：キチン・キトサンの開発と応用 (平野茂博監修) p153-164, 株式会社シーエムシー出版、東京.
 - 5) 特許庁、特許情報プラットフォーム (J-PlatPat) の刷新について (平成 31 年 4 月) https://www.jpo.go.jp/support/j_platpat/sassin_190425html (参照 2019-11-19)

【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 23 年 4 月 1 日 一部改正。

平成 25 年 4 月 1 日 一部改正。

令和 元年 11 月 22 日 一部改正。

秋田県総合食品研究センター報告 第21号

発行日 令和元年12月1日

発行者 秋田県総合食品研究センター報告 編集委員会

〒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】