

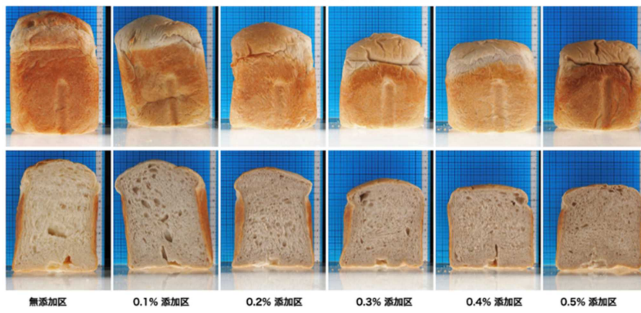
秋田県総合食品研究センター報告

第 24 号

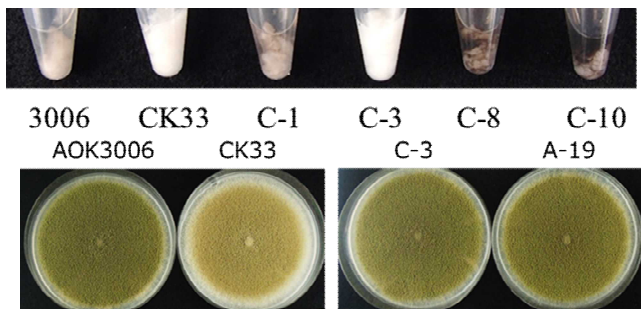
令和 5 年 (2023 年)

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

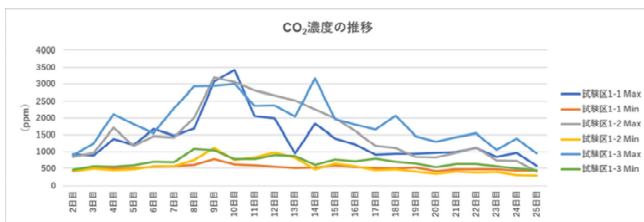
No. 24, 2023



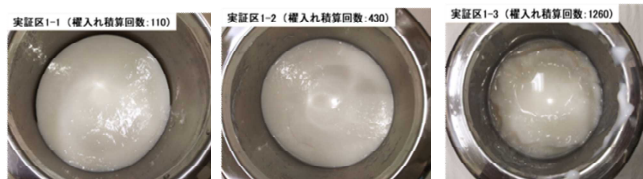
脱渋しない渋柿の食品利用
木村貴一 No.24, 1-13
(2023)



種麴生産性を向上させたため
めこうじ向け新規麴菌の開発
上原健二 他 No.24,14-24
(2023)



ICTを活用した酒蔵への
支援可能性調査
上原(佐藤)智美 他
No.24,25-39 (2023)



【再録】
秋田県における保険機能
食品開発:「あきた機能性
食品素材研究会」設立に
より商品化を加速
戸松さやか 他

目 次

1. 原著論文（報文）（3件）	1
1) 脱渋しない渋柿の食品利用	
○木村 貴一	
2) 種麴生産性を向上させたあめこうじ向け新規麴菌の開発	
○上原健二1、佐藤勉2、中村勇之介1、小笠原博信1,2、渡辺隆幸1	
(1秋田県総合食品研究センター、2株式会社秋田今野商店)	
3) ICTを活用した酒蔵への支援可能性調査	
○上原（佐藤）智美、黒崎 文華	
2. 学会発表概要（1）	40
3. 外部発表論文概要（6）	41
4. 外部発表論文再掲載（1）	46

脱渋しない渋柿の食品利用

木村 貴一

(秋田県総合食品研究センター 食品加工研究所)

Kiichi KIMURA

【要約】

秋田県内全域で庭木として広く栽培されているカキノキは、そのほとんどが寒冷地に適した渋柿であり、多くが収穫されることなく廃棄されている。これまでに、脱渋しない渋柿による加工食品製造はほとんど検討されていない。また、柿には特徴的な香りがないため柿の風味や特徴を生かした加工食品の開発は難しいと言える。この渋柿を未利用資源と捉えて食品加工技術の開発を試みたところ、脱渋していない渋柿を加工食品原料に用いることで、調理中に脱渋し、かつ、加熱調理後も渋戻りしないことを確認した。さらに、食感や風味に新しい特徴を付与する効果を見出した。この効果は、肉や魚、小麦粉などのタンパク質を比較的多く含む食品素材に対して、渋柿ペーストであれば素材重量の1~10%を、カキタンニン製剤(粉末)であれば素材重量の0.05~0.5%を添加することで効果を得られることがわかった。これは、素材に含まれるタンパク質1gに対して、カキタンニンおよそ1.875~18.75mgの添加に相当する。

本研究により、カキタンニンの特性を利用した脱渋しない渋柿ゆえに実現できる、特徴的な加工食品の可能性が示された。

【緒言】

秋田県では、地域の産業振興および人口減少の課題克服が急務であり、産業振興に効果的な食品素材を模索してきた。秋田県においてカキノキは、そのほとんどが寒冷地に適した渋柿であり、庭木として県内全域で広く栽培されている。そのため流通量は少なく、果実の多くは収穫されず廃棄されていた。そこで、渋柿果実を未利用資源とみなし、食品加工に利用することで前述の課題解決に貢献できないか検討した。ウェブサイト 政府統計の総合窓口¹⁾および、それらを集計したウェブサイト ジャパンクロップス²⁾によると、秋田県の2020年におけるカキノキの作付け面積は約46haであり、柿の収穫量は約83tであった。この収穫量は秋田県産果物の第9位に相当し、栗に次ぐ生産量である。栽培されている品種は主に渋柿に分類されるものであり、特定の品種が栽培されているものではない。秋田県内に大規模な脱渋処理施設は無く、多くの場合、各家庭で脱渋処理をしている。秋田県内産渋柿は、そのほとんどが脱渋していない状態で地域の農産物直売所に流通している。その他は、各家庭で消費されるか収穫されずに木についたままになっている。

カキノキ科のカキノキ (*Diospyros kaki*) 果実には強烈な渋みを呈するカキタンニンが多く含まれている。カキタンニンは縮合型タンニンの一種であり、可溶性の状

態では渋みを呈すが、タンニン物質が縮合すると不溶化して渋みを示さなくなる³⁾。これを脱渋と呼ぶ。

渋柿果実をアルコールや炭酸ガスで処理する人工脱渋法が開発されている。しかしながら、温湯脱渋果を煮沸することによって容易にタンニンが可溶化してくることが北川⁴⁾によって観察され、アルコール、炭酸ガス脱渋果でも同様の現象が起こることを板村ら⁵⁾によって確認されている。このような不溶性タンニンが再び可溶化する現象を「渋戻り」と呼び、脱渋果の食品加工を困難にしている。渋戻りを防ぐ方法として、食品加工時にゼラチンやコラーゲンなどのタンパク質系物質を添加する方法⁶⁾やキトサンを添加する方法⁷⁾が開発されている。

渋柿は脱渋しないと生食が難しい。そのため、柿の生産地では大規模な人工脱渋処理施設が建設され、まとめて脱渋処理される。しかしながら、脱渋果を食品加工に用いると渋戻りが発生することが問題となっていた。秋田県には大規模な脱渋処理施設はなく、脱渋されていない渋柿が流通している。そこで、著者は脱渋されていない渋柿を食品加工に利用することで、脱渋と渋戻り防止が同時に実現できるのではないかと考えた。また、脱渋していない渋柿を利用した食品加工技術開発は既存設備を利用でき、新たな設備投資を必要としない。さらに、秋田県内全域で広く栽培されていることから全県に波及効果を得られ、新しい特産品開発や地域活性化に直結できると考えた。

本研究では、脱渋していない渋柿を用いた加工食品の製造法を検討し、脱渋と渋戻り防止について評価した。

【実験方法】

1) 試料・試薬

渋柿生鮮試料は、県内各地の農産物直売所で購入した。脱渋された渋柿の生鮮試料として生食用庄内柿(平核無)果実を県内スーパーにて購入した。カキタンニン製剤として、食品添加物であるアストリン P(カキタンニン含有量 45%以上、株式会社三桝嘉七商店製)を用意した。

2) 試料の調製

生鮮試料である渋柿および庄内柿は、次の方法によりジュース化およびペースト化した。果実を4~8分割し、ヘタとタネを取り除いた。ジュースは、皮付きの果実をスロージューサー(ヘルシオ グリーンプレッソ EJ-GP1、シャープ株式会社製)にて搾汁して得た。ペーストは、皮を剥いた果実をミキサー(ヘルシオ 真空ブレンダー EM-SB1A、シャープ株式会社製)にて真空環境下で摩砕して得た。以下、渋柿のペーストおよびジュースは渋柿ペーストまたは渋柿ジュース、庄内柿のペーストおよびジュースは脱渋渋柿ペーストまたは脱渋渋柿ジュースとする。

3) 試食による評価方法

渋戻りや脱渋の効果、渋味の確認は、いずれも試食による評価で実施した。試食による評価試験は訓練されたパネラー4~7名で実施した。

4) パンの比容積の測定

焼成後のパンは、室内環境で 1 時間風乾したのち、電子上皿天秤 PM2500 DeltaRange (メトラー・トレド株式会社製)にて計量した。表面積および体積は、構造化光 3D スキャナー SCAN in a BOX (イタリア Open Technologies 社製)および専用制御簡易データ処理ソフト IDEA を用いて測定を行い 3D データを得た。3D データから、解析ソフト Rhinoceros 5 (株式会社アプリアフト社製)を用いて体積($\text{cm}^3, \pm 1 \times 10^{-3} \text{mm}^3$)及び表面積($\text{cm}^2, \pm 1 \times 10^{-5} \text{mm}^2$)を計測した。得られた体積(cm^3)とパン重量(g)から比容積(cm^3/g)を求めた。

【結果と考察】

1. 脱渋および従来技術による渋戻り防止法の確認

加工食品の殺菌処理には、中心温度 80°C で 15 分間の加熱殺菌が一般的であり、その際に渋戻りが発生するとされる。従来の渋戻り防止技術を調べたところ、いずれもゼラチンやコラーゲンなどのタンパク質^{8),9)}やキトサン⁷⁾などを添加し共存させた環境で加熱殺菌を行うことで渋戻りを防いでいた。

そこで、市販の脱渋された渋柿「庄内柿」をミキサーで磨砕しペーストを作成した。また、添加タンパク質として市販のゼラチンパウダー(クックゼラチン、森永製菓株式会社製)をお湯で溶解した 2.5%ゼラチン溶液を用意した。

a. 脱渋渋柿ペーストを真空包装した無処理区、b. 真空包装した脱渋渋柿ペーストを 80°C で 15 分間の加熱殺菌した加熱処理区、c. 脱渋渋柿ペースト重量の 10%重量の 2.5%ゼラチン溶液を添加混合し、 80°C で 15 分間の加熱殺菌したゼラチン添加区を用意した。

各処理区は、室温まで冷却後試食を行い、官能的に渋みの確認をおこなった。対照区として、加熱殺菌を行わない、生の脱渋渋柿を用意した。以降実施される試食による官能的な評価は、官能検査になれた研究員 4~7 名で実施した。

その結果、無処理区では渋みを感じなかったが、加熱処理区には明確な渋みを感じることができ、渋戻りを確認できた。さらに、ゼラチン添加区では渋みを感じることはなく、渋戻り防止効果が確認できた。

2. 脱渋しない渋柿の食品加工利用を検討

渋抜きとは、渋みを感じる可溶性タンニンを重ねさせ、渋みを呈しない不溶性タンニンを生成する技術である。不溶性タンニンは加熱や希釈などの加工により可溶性タンニンに乖離し、可溶性タンニンが舌の味蕾(タンパク質)に結合することで渋みを感じるようになる³⁾とされている。従来の渋戻り防止技術は、乖離して生成した可溶性タンニンとタンパク質を結合させることで味蕾と結合する可溶性タンニンを減少させて渋みを感じなくする技術といえる。

そこで、不溶性タンニンが存在しない、または、微量のみ存在する条件でタンパク質と結合させて食品加工を行うと渋戻りしないのではないかと考えた。つまり、脱

渋をあえて行わず、渋みを感じる可溶性タンニンを含んだ渋柿をそのまま加工食品に使用することで、渋戻りしない加工食品を製造できるのではないかと考えた。一般的な渋柿は、タンニンを3~10%含んでいる¹⁰⁾とされる。

3. 刺身への渋柿ペースト塗布による香味への影響

秋田県内で流通している渋抜きしていない渋柿をミキサーですりつぶし、渋柿ペーストを調整した。

スーパーで生食用生魚切り身を複数種類(サーモン、マグロ、イカ、タイ、ブリ)購入した。a. そのまま冷蔵庫で14時間保存した無処理区、b. 渋柿ペーストを素材重量の10%重量添加してよく混和したのち、冷蔵庫で14時間保存した渋柿処理区を用意し、渋柿の果肉はペーパータオルで軽く拭き取り果肉が付着した状態で試食を行い、風味を評価した。

無処理区は外観は透明感やみずみずしさを有していたが、いずれもドリップが出ており生臭さやドロ臭みが増した風味であった。渋柿処理区は脱渋していないにも関わらず、渋みを感じることは全くなかった。さらに、ドリップはあまり出しておらず、「生臭み、ドロ臭みが軽減している」「イカなどは顕著に軟らかくなっている」「魚の味を強く感じる」「柿の風味はほとんどわからない」「渋柿処理区は白く変色しているため、外観がおいしそうなのは透明感やみずみずしさの残る無処理区」との評価を得た。渋柿を和えた非加熱の魚類は、渋味を感じず、また、臭みが減り、肉質が軟らかく改善されることがわかった。

4. 焼き魚への渋柿ペースト塗布による香味への影響

実験3の刺身は非加熱であったが、加工食品製造には加熱が必須となる。そこで、加熱後に渋みが発生するか否かを確認した。スーパーで生魚切り身を複数種類(シャケ、ブリ、ハタハタ)購入した。a. そのまま冷蔵庫で14時間保存したのち焼成した無処理区、b. 渋柿ペーストを素材重量の10%重量添加してよく混和したのち、冷蔵庫で14時間保存後焼成した渋柿処理区を用意し、試食による評価を実施した。

焼成前の外観は、無処理区はツヤツヤと透明感があり、フレッシュな印象であるが、渋柿処理区は酢漬けのようにツヤがなくなり白く変質していた。

焼成して得られた焼き魚は、渋柿処理区では渋みは発生しなかった。また、無処理区と比較して、渋柿処理区は魚くささが減少しており肉質がしっとりし柔らかくなった。さらに、渋柿処理区は、焼き色にツヤ照りが出て表面が乾燥したような外観となり、焼き色が焦げつきやすい傾向にあった。ブリやシャケの渋柿処理区は、西京焼きのような甘味を感じた。渋柿処理区にみられるツヤや照り、焦げつきやすさ、甘味は、いずれも渋柿に含まれる糖質の効果によると考えられた。

このように、生魚に渋柿を処理したのち焼成した焼き魚には渋みが発生しないうえに、照りが良くなり甘味が付与され、魚臭が低減し、肉質が柔らかく改善されることがわかった。また、焦げやすくなることがわかった。

5. 焼肉への渋柿ペースト塗布による香味への影響

スーパーで牛モモブロック肉、トンカツ用豚もも肉スライス、鶏胸肉、豚肉ミンチを購入した。ミンチ肉に関しては、ハンバーグ状に整形して使用した。a. そのまま冷蔵庫で14時間保存したのち焼成した無処理区、b. 渋柿ペーストを素材重量の10%重量添加してよく混和したのち、冷蔵庫で14時間保存後焼成した渋柿処理区を用意し、試食による評価を実施した。

焼成前の外観は魚類と同様に無処理区はツヤツヤと透明感があり、フレッシュな印象であるが、渋柿処理区は酢漬けのようにツヤがなくなり白く変質しているように見えた。

焼成して得られた焼肉は、渋柿処理区では素材を問わず渋みは発生しなかった。無処理区の豚肉、鶏肉は肉が固く締まり、顎が疲れるものであったが、渋柿処理区は肉がしっとりとして軟らかく歯でさっくりとかみ切れ、獣臭さ、鶏臭さも大幅に軽減された風味の良いものであった。牛ブロック肉では渋柿効果の内部浸透の有無を確認するために実施したが、無処理区と渋柿処理区で明確な差異は見出せなかった。渋柿処理区の豚ミンチ肉で作ったハンバーグは、豚肉特有の獣臭さが大幅に軽減されふっくら柔らかくジューシーに仕上がった。ただし、獣臭さは肉感につながるため、渋柿処理区では肉々しさが減少しているとの指摘もあった。

このように、渋柿を和えた肉は、渋戻りすることなく獣臭、鶏臭を低減することがわかり、接触面積の大きいミンチ肉では特に効果がわかりやすいことがわかった。また、カキタンニンが肉の内部へは浸透せず、接触した表面のみに効果を示すことがわかった。渋柿ペーストを混和したハンバーグのジューシーさには、カキタンニンのゲル化が影響しているのではないかと推測している。

6. 内臓肉への渋柿ペースト塗布による香味への影響

実験5で畜肉類に対して強い消臭効果、香り改善効果を示したことから、風味にクセの強い内臓肉に対する効果を検討した。スーパーで牛生レバーおよびボイル済みブタホルモンを購入した。牛レバーの一般的な下処理は、牛乳などで血抜きをした後、水洗したものを調理する。今回は、a. 牛乳に1時間浸漬処理したのち水洗したレバーを無処理区、b. 牛乳で処理せず、柿ペーストを素材重量の10%重量添加してよく混和したのち1時間処理後、水洗した渋柿処理区を用意した。

ボイル済みブタホルモンの一般的な下処理は、購入後、沸騰水で5分程度茹でたものを調理に利用する。今回は、c. 沸騰水で5分茹でたボイル済みブタホルモンを無処理区、d. 柿ペーストを素材重量の10%重量添加してよく混和したのち5分間処理したボイル済みブタホルモンを渋柿処理区として用意した。このようにして下処理した牛レバー、ブタホルモンは、220°Cのホットプレートで炒めて、塩胡椒で味付けして試食による評価を実施した。

渋柿処理区の牛レバーは、血抜きをしていないにもかかわらず、レバー臭が大幅に低減されたうえにほのかな甘味が加わった。また、食感がプリッ、さくっとしており、従来の牛レバーとは異なる食感で美味しいものであった。ブタホルモンも同様で、渋柿処理区では獣臭さ内臓臭さが大幅に低減し、食感も従来の下ごしらえでは実現されないコリコリとした食感であった。

このように、内臓肉に渋柿を和えると下処理ができること、下処理時間を短縮できること、渋戻りすることなく獣臭、内臓臭さを大幅に低減できること、食感が大きく変化することがわかった。

7. カキタンニン製剤を用いた添加量の検討

秋田県内で栽培されている渋柿には様々な品種がある。そのため、渋柿中に含まれるタンニン量を特定するのは困難である。しかしながら、渋柿ペーストを食品に使用する際は効果を確認できる最低使用量と渋みを感じ始める使用上限をある程度決定しておく必要がある。そこで、市販のカキタンニン製剤としてアストリン P(カキタンニン含有量 45%以上、株式会社三柵嘉七商店製)を用意した。

最低使用量を決定するため、0.01%アストリン P 水溶液および 0.1%アストリン水溶液を作成した。ブタミンチ肉 100g にそれぞれ 1ml を添加し、1 分間混捏後、均一な厚さに引き伸ばして電子レンジで加熱してハンバーグをえた。対照として、アストリン P 水溶液の代わりに水を使用した無添加区を用意した。

試食による評価の結果、0.01%アストリン P 水溶液 1ml 添加区(豚肉 100g に対して 0.1mg 添加)では、無添加区とほとんど差異を感じられなかった。しかしながら、0.1%アストリン P 水溶液 1ml 添加区(豚肉 100g に対して 1mg 添加)では、無添加区に比べてわずかに不快な畜肉臭の低減を感じられるが、風味に畜肉臭に起因する肉感を感じることができた。また、肉のパサつきが減少し、ジューシー感を明確に感じることもできた。いずれのアストリン P 添加区からも、渋みを感じられなかった。

この結果から、ブタミンチ肉など肉類へは、1mg/100g 肉のアストリン P 添加が最低使用量と決定した。これは、アストリン P 中のカキタンニン量を 45%とすると、カキタンニンの最低使用量として 0.45mg/100g 肉となる。また、このような微量を添加し均一に混捏するには、水溶液の利用が有効とわかった。

8. カキタンニン製剤を用いた無糖パンの製パン試験

無糖パンの試作試験を行った。11.6%グルテンを含む小麦粉重量 250g に対して 0.1、0.5%、1%となるようにアストリン P を添加し、他に食塩 4g、水 190ml、スーパーカメリヤ ドライイースト 1.4g(株式会社日清製粉ウェルナ製)を使用して、ホームベーカリー SD-BMT1000(パナソニック社製)にて無糖パンを製パンし、比容積の測定と試食による評価を行った。結果を図 1 及び表 1 に示す。

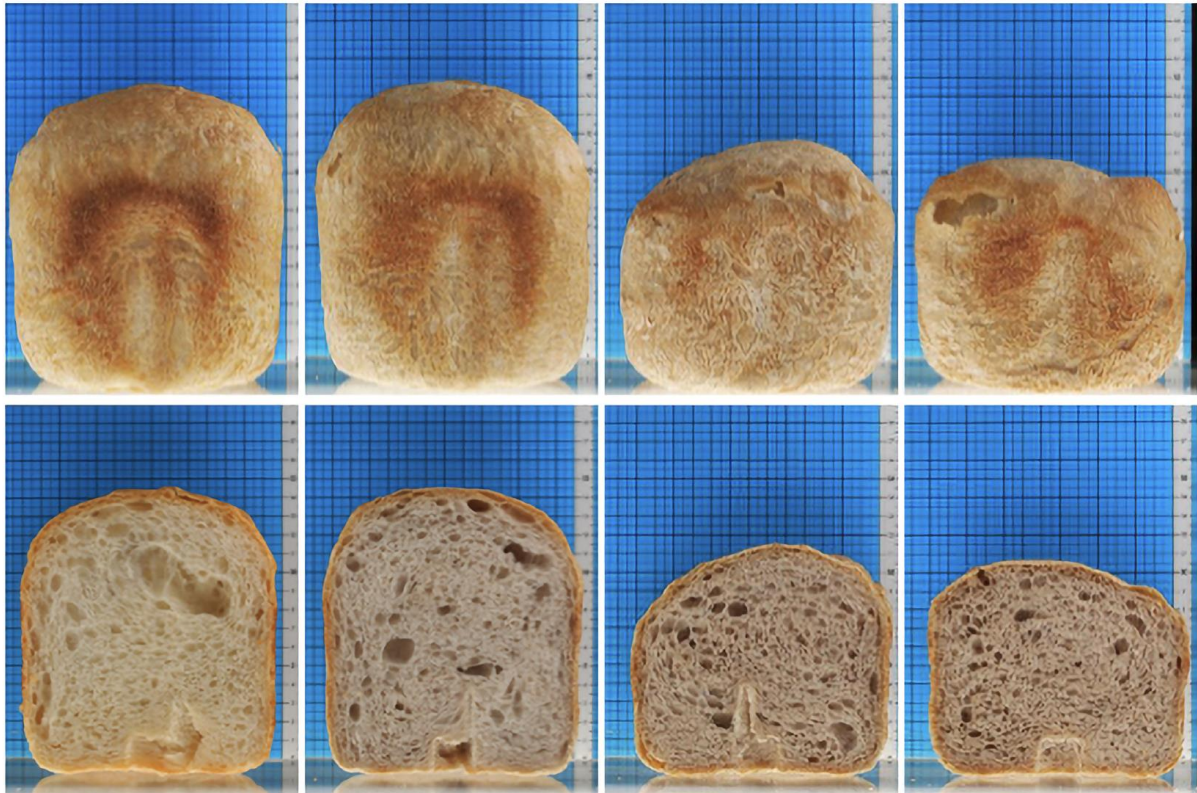
比容積とは、パン 1g あたりの容積(立法センチメートル)であり、パンの出来栄を示す標準的な指標である。

試食による評価の結果、アストリン P 無添加区では比容積 4.53 で、口溶けが良く美味しい、と評価された。0.1%アストリン P 添加区では比容積 4.47 であり、クラムの食感にコシを感じると評価された。0.5%アストリン P 添加区では比容積 3.31 となり、クラムは硬く、口溶けが良くなく、膜を食べているようなパンにはない食感、と評された。1%アストリン P 添加区では比容積 3.12 となり、クラムはかなり硬く、ぼそぼそ感がある、膜を食べているようなパンにはない食感と評された。1%アストリン P 添加区においても、渋みの指摘はなかった。比容積の低下からパンに対するアストリン P の添加上限は 0.5%と推定した。

アストリン P 添加量の増加に伴い、クラムが柿色に着色するとともに歯応えや弾力が増加するなど食感に変化が認められた。また、高さが出なくなり、比容積が小さくなっていった。

着色に関しては、アストリン P 由来の色素が原因と考えられた。カキタンニンが高濃度で加熱すると渋くなく弾力のある強固なゲルを容易に作る事が知られている。また、カキタンニンには微生物の殺菌作用があることが知られている。アストリン P 添加による食感の変化はカキタンニンのゲル化によるもの、また、添加量の増加に伴いボリュームが出なくなった原因は、カキタンニンのゲル化と発酵阻害の相互作用が原因と推定した。

カキタンニンはタンパク質と結合し渋みを感じなくすることから、渋柿ペーストを使用する食材中のタンパク質含量によって、使用できる渋柿ペースト量の上限が決定する。日本食品標準成分表 2015 年版(七訂)によると、ブタミンチ肉では約 19%、とりささみ肉では約 23%、牛肩赤身肉であれば約 20%のタンパク質を含み、強力粉であればタンパク質は約 12%含まれるとされる¹¹⁾。また、渋柿品種によって 3~10%と水溶性タンニン含有量と幅があることから、実際に使用する渋柿と食材で繰り返し試験を行う必要がある。



無添加区

0.1% 添加区

0.5% 添加区

1% 添加区

図 1. 無糖パンにおけるカキタンニン添加量とパンの形状

表 1. 無糖パンにおけるカキタンニン添加量と比容積

試験区	体積(cm ³)	重量(g)	比容積(cm ³ /g)	表面積(cm ²)
無添加区	1623.5	358.5	4.53	764.12
0.1% 添加区	1613.8	361.0	4.47	740.67
0.5% 添加区	1228.65	371.5	3.31	628.90
1% 添加区	1160.90	371.5	3.12	614.82

9. カキタンニン製剤を用いた低糖パンの製パン試験

低糖パンの試作を行った。12%グルテンを含む小麦粉重量 230g に対して 0.1~0.5% となるようにアストリン P を 0.1% 刻みで添加し、他に砂糖 35g、粗塩 5g、バター 15g、35%生クリーム 6g、水 140ml、スーパーカメリヤ ドライイースト 1.4g(株式会社日清製粉ウェルナ製)を使用して、ホームベーカリー SD-BMT1000(パナソニック社製)にて低糖パンを製パンし、試食による評価を行った。

その結果を図2及び表2に示す。

試食による評価の結果、アストリンP無添加区では、クラストはサクサクし、クラムは軽く口溶け良いがねっとりしている、と評価された。0.1%アストリンP添加区では、クラムにコシを感じる。2日目の生はしっとりとした良好な食感で、トーストは軽くふわふわ、皮がサクサクで、無添加区よりも食べている実感が強い。わずかに渋いかもしれないがわからない、と評された。0.2%アストリンP添加区では、クラストのサクサク感が減少した、クラムは軽く口溶け良い。やや渋味があるかもしれない、と評された。0.3%アストリンP添加区では、舌に重く残る感じ、渋みを感じる、と0.3%アストリンP添加区から、複数のパネラーが渋みを訴え始めた。

11.6%のグルテンを含む小麦粉を用い、食塩と水とスーパーカメリヤドライイーストのみで製パンした無糖パンでは、BP0.5%となるようにアストリンPを添加した無糖パンでも渋みの指摘はなかった。この理由として、生クリームには約2%のタンパク質が含まれていることが考えられた。未確認であるが、生クリーム由来タンパク質と結合したカキタンニンが加熱によって遊離し、渋戻りを起こしたと想像している。このため、0.3%未満のアストリンP添加区でも官能的に渋みを指摘された可能性がある。

このように、カキタンニンはパンの食感に良い効果を示すことがわかった。また、わずかな渋みはチーズやハム、ワインなどと相性が良いと指摘された。渋柿などカキタンニンを製パンに利用する際は、添加する副原料により添加量を検討する必要があるとわかった。

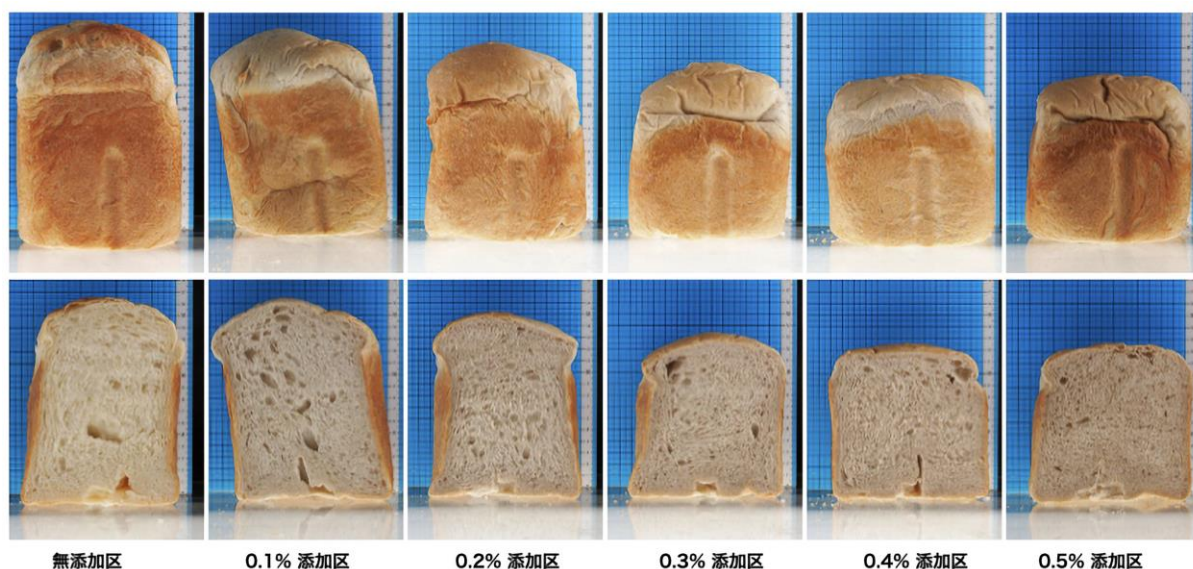


図2. 低糖パンにおけるカキタンニン添加量とパンの形状

表2. 低糖パンにおけるカキタンニン添加量と比容積

処理区	体積(cm ³)	重量(g)	比容積(cm ³ /g)	表面積(cm ²)
無添加区	1827.22	422.5	4.32	943.94
0.1% 添加区	1784.37	443.5	4.02	904.68
0.2% 添加区	1675.40	423.5	3.96	845.98
0.3% 添加区	1505.90	429.5	3.51	765.15
0.4% 添加区	1528.75	428.0	3.57	744.44
0.5% 添加区	1412.03	430.0	3.28	713.12

10. カキタンニン製剤を用いた鶏がらスープ製造試験

従来からカキタンニンは清澄剤として使用されてきた。そこで、鶏がらスープへの利用を検討した。

市販の冷凍鶏ガラ(520~540g/個)に対し、ネギ 12g、生姜 4g、水 1L を加えたものを無処理区、無処理区にアストリン P 3g を添加したものをアストリン P 添加区とした。無処理区、アストリン P 添加区ともにレトルト容器に入れ、オートクレーブで 121℃ 15 分加熱をおこなった。ザルで濾過してスープを回収し、スープ液量に対して 0.5% 重量の食塩を添加して、試食による評価に供した。

無処理区は、鶏ガラの風味を強く感じる、一般的な鶏ガラスープで、色は黄色くやや濁っていた。黄色い油が膜として広がるほど浮遊していた。アストリン P 添加区では、透明度が向上し、黄色い油は油滴として上面に存在しているが、膜にまで至っていない状態であった。味があっさりとし軽くなりネギショウガの味と甘味を感じるようになった。カキタンニンの作用により、鶏肉臭さが減少した。この臭みを味と感ずる場合、味が薄いと評価される場合があった。

11. 加工用食品素材に対するカキタンニン使用量の決定

これまでに、0.05~0.5 w/w%のカキタンニン製剤 アストリン P(粉末、カキタンニン含量 45%以上)を素材(主に強力粉、タンパク質含量約 12%)に添加することで効果を得られることがわかった。これは、カキタンニン純品としておよそ 0.0225~0.225 w/w%となる。強力粉に含まれるタンパク質含量約 12%と肉のタンパク質含量約 19~23%では、タンパク質含量に 2 倍近い差があり、強力粉は肉の約 1/2 量のタンパク質

含量である。アストリンPを肉や魚に用いるときは、およそ2倍量の使用が必要となり、換算すると、カキタンニン純品としておよそ0.045~0.45 w/w%である。これは、タンパク質含量1gあたりカキタンニン純品としておよそ1.875~18.75mgに該当する。

また、渋柿ペーストを用いた試験から、素材重量(主に肉や魚、タンパク質含量約19~23%)に対し1~10 w/w%の渋柿ペーストで効果が得られることがわかっている。渋柿果実中のタンニン含量を5 w/w%とすると、素材重量に対し1~10 w/w%の渋柿ペーストには0.05~0.5 w/w%に相当するカキタンニンが含まれている。これは、アストリンPのカキタンニン相当量とほぼ同等であった。このように、食品に効果を示し、かつ、渋みを感じることがないカキタンニン量として、タンパク質1gあたりカキタンニンおよそ1.875~18.75mgの添加が適切であると考えられた。これを基準とし、素材のタンパク質含量と使用量から原材料となる渋柿の使用量を決定していく必要がある。

1 2. 渋柿およびカキタンニン製剤の利用調査

柿渋、カキタンニン製剤は、伝統的製法として青い渋柿を水に浸して数ヶ月間発酵させて得られるタンニン含有水溶液、またはその乾燥粉末として販売される。その利用法を調査した。

その結果、近年の製品では、口臭予防ペレット、麺や小麦粉、米粉製品のコシを強くし茹で汁の濁りを防ぐ技術^{12),13)}、日本酒のおり下げ剤、抗菌/抗ウイルス製品¹⁴⁾、消臭効果:ボディソープ、消臭スプレー、化粧品などがあり、伝統的には防虫防腐/防水効果を活用した塗料や染料、家具、傘、和紙、のれん、柿渋染めなどに利用されていた^{3),15)}。

このように、本研究テーマで実施した一般的な食材に対して使用した例は多くないことがわかった。

1 3. 食品添加物としてのカキタンニンの安全性や毒性の調査

厚生労働省のホームページ¹⁶⁾によると、カキタンニンは既存添加物の450品目に記載されているので、それに従って使用すれば良い。既存添加物(450品目)については、「平成7年の法改正の際に、我が国において既に使用され、長い食経験があるものについて、例外的に指定を受けることなく使用・販売等が認められたもの。既存添加物名簿に収載(クチナシ色素、柿タンニンなど)(厚生労働省HPより抜粋)」との記載されており、長い食経験から安全と考えられている。

【成果のまとめ】

以上の結果を総合すると、渋柿は渋を抜かずにタンパク質を含む素材とともに食品加工することで、脱渋が行え、かつ、渋戻りしない加工食品製造を実現できることがわかった。さらに、すでに商品化されているカキタンニンを用いた消臭ボディソープ

プや化粧品の特徴と同様に、カキタンニンによって、素材の消臭や物性変化、食味の変化を実現できることがわかった。これらの効果は、素材に含まれるタンパク質 1g あたりカキタンニンおよそ 1.875~18.75mg の添加が適切であった。これは、肉や魚、小麦粉などのタンパク質を比較的多く含む食品素材に対して、渋柿ペーストであれば素材重量の 1~10 w/w% を、カキタンニン製剤(粉末)であれば素材重量の 0.05~0.5 w/w% を添加することで効果を得られることがわかった。これらの効果について表 3 にまとめた。脱渋しない渋柿を加工食品製造に利用することはほとんど検討されておらず、古くより続く柿渋製造業者の食品添加物「カキタンニン製剤」でも利用されていない点が意外であった。

柿には特徴的な香りがないため柿の風味の特徴を生かした加工食品の開発は難しいと言えるが、本研究の知見から、脱渋処理の手間を省き、さらに、カキタンニンの特性を用いることで特徴的な加工食品の開発を行えることがわかった。例えば、比内地鶏の親鳥のように特徴的な香りが強く硬い肉質の地域食材へ渋柿を使用することで、新たな特性を付与した商品開発の可能性が見出された。

また、熟した渋柿を用いる場合、糖質による甘さの付与と焦げやすさがあった。これらを望まない食品には、甘さの発現が不十分である緑色の未熟な渋柿を利用することで解決できる可能性がある。

今後は、これらの知見をもとに成果普及講習会などを活用して技術普及を行い、新たな特産品開発によって地域の産業振興および人口減少の課題克服の実現を目指す。

表 3. カキタンニン含有物が加工食品に与える効果

効果・効能・特徴	具体例
食味・食感の改良	肉汁を閉じ込める効果 やわらかくかつ弾力に富む肉質に変化 歯切れが良くなり、プリッとした食感の付与 官能的にアミノ酸などの旨味が強く感じる効果 パンにおけるクラムの乾燥防止や弾力の改質、及びクラストの食感向上
不快臭の除去	畜肉・内臓肉や魚類など素材由来の不快臭を除去
スープ類の清澄	オリ下げ効果とともに、臭みが低減した清澄なスープが得られる
テリやツヤの付与	焼き魚などにテリやツヤを与える 果汁中の糖分による効果と推定している
その他特徴	柿そのものの風味は弱く、素材への影響は少ない 生渋柿果汁やペーストを使用した場合、甘みの付与と焦げやすくなる場合がある 製剤の色が着色する場合がある 生肉や生魚のテリやツヤが減り、白く濁る場合がある

【備考】

本研究は秋田県の政策課題「微細気泡を利用した新食感食品の開発と応用(R2~4)」において、カキペクチンの気泡保持能力を検討している過程で派生した研究である。

【謝辞】

本研究は、令和3年度 伊徳地域振興財団の研究助成金(未利用資源「渋柿」)の食品加工技術開発を主軸とした、六次産業・地域産業振興による雇用創出と地域活性化により実施した。本研究を推進するにあたり、多大なご支援を賜りました「公益財団法人 伊徳地域振興財団」の皆様から感謝いたします。

【参考文献】

- 1) Web サイト 政府統計の総合窓口 <https://www.e-stat.go.jp/>
- 2) Web サイト ジャパンクロップス
<https://japancrops.com/prefectures/akita/fruit/persimmon>
- 3) 島本整 (2016) 日本文化に根付いた渋柿の化学 化学と教育 64(7), 348-349
- 4) 北川博敏 (1969) カキの脱渋および貯蔵に関する研究(第6報)温湯脱渋果における渋みの再現について 園芸学会雑誌 38, 92-96.
- 5) 板村裕之、福嶋忠昭 (1989) 数種の処理がカキタンニンの挙動に及ぼす影響 山形大学紀要(農学) 第10巻第4号, 917-922.
- 6) 菅原哲也、五十嵐喜治 (2014) 庄内柿の機能性を活かした食品加工技術開発と商品開発 日本食品科学工学会誌 61(8), 339-345.
- 7) 特許文献. 加熱用復渋抑制柿ピューレ. 地方独立行政法人 鳥取県産業技術センター. 特開 2014-195437
- 8) 特許文献. 柿の脱渋方法. 福島県. 特開 2010-227068
- 9) 後藤裕子、渡部修 (2010) カキ果実の加熱渋もどり抑制技術の開発 日本食品科学工学会誌 57(5), 220-223.
- 10) Web サイト At Persimmon <https://persimmon.biz/persimmon-tannin/>
- 11) 文部科学省 資源調査分科会報告 (2015) 日本食品標準成分表 2015年版(七訂)
- 12) 特許文献. 柿渋利用食品の製造方法及び米加工品の製造方法. 新潟県. 特開 2000-175639
- 13) 特許文献. 麺又は餃子若しくはシューマイの皮等の食品の生地製造方法. 麺製造方法及び餃子・シューマイ等の皮の製造方法. 新潟県なまめん工業協同組合. 特開 2004-166509
- 14) 特許文献. 抗ノロウイルス剤およびこれを含有する組成物. 国立大学法人広島大学・アルタン株式会社. 特許登録 5092145
- 15) 西岡五夫 (1986) タンニンの化学 - 最近の研究 化学と生物 24(7), 428-439.
- 16) 厚生労働省 食品添加物の安全確保
<https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/kakuho/01-11.html>

種麴生産性を向上させたあめこうじ向け新規麴菌の開発

上原健二¹、佐藤勉²、中村勇之介¹、小笠原博信^{1,2}、渡辺隆幸¹

(¹秋田県総合食品研究センター、²株式会社秋田今野商店)

Kenji UEHARA, Tsutomu SATO, Yuunosuke NAKAMURA, Hironobu OGASAWARA, and Takayuki WATANABE

【要約】

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、甘酒や発酵食品のほか、お菓子・化粧品等様々な用途に使用され、今後更なる利用拡大が期待される¹⁾。一方で、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、品質の高い米麴を作るためには高い麴製造技術を必要とする。また、種麴の素となる孢子形成能が弱いため種麴生産性が低いという改善すべき課題もあり、あめこうじの更なる普及のためには、これら課題を克服した新たな麴菌株の開発が求められている。

本報告では、形質の変化を引き起こし得るトランスポゾン転移を糖化力の高い麴菌株において誘発し、得られた候補株から主に糖化力、チロシナーゼ活性、種麴生産性に着目して新規麴菌の選抜を行った。その結果、高糖化力や種麴生産性を維持しつつ、チロシナーゼ活性が低い育種候補株を 2 株得ることに成功した。候補株のうち 1 株を用いて 120kg 規模の種麴製造試験を実施した結果、CK33 株の 2 倍以上の種麴生産性を示すことが明らかとなった。さらに、試験製造した種麴を用いて米麴および甘酒を試作し、成分分析や官能評価を実施したところ、チロシナーゼ活性は低く糖化に必要な酵素力価を十分有しており、麴や甘酒の評価も高評価であった。

これらの結果から、育種した新規麴菌 (NGA3 株) はあめこうじの品質規格を十分満たす米麴および甘酒を製造可能な麴菌株であることが明らかとなった。

【緒言】

近年の発酵食品ブームを追い風に、全国で様々な甘酒が開発され、上市されている。甘酒の官能評価では、香りや味はもとより、見た目の白さも重視され、これらの官能特性は麴菌によるところが大きいと考えられる。麴菌では、糖化力が高いものが甘みの強い甘酒を製造できること、さらには、チロシナーゼ活性が低いものほど色調が白い甘酒が製造できることが知られている。したがって、高品質な甘酒製造を行うためには、糖化力が高く、かつチロシナーゼ活性が低い麴菌を利用するのが最適であるが、既に我々は独自のトランスポゾン技術²⁻⁴⁾を応用して高糖化力かつチロシナーゼ活性が低い麴菌 CK33 株を育種し、それを利用した秋田オリジナル麴あめこうじを開発している⁵⁾。あめこうじは秋田県総合食品研究センター (以下、センター) において策

定されたあめこうじ製造ガイドライン内の基準を満たす高品質な麴を製造できる県内企業にのみ製造が認められている。つまり、あめこうじの普及は麴製造企業（酒蔵、味噌・醤油蔵、糀屋など）の麴造りの技術力向上と、麴製品およびそれを利用した加工食品の高品質化に貢献しているといえる。特に、あめこうじは「甘くて、すっきりして、白い」という他の麴甘酒では実現しがたい特徴を併せ持つことから、近年成熟してきた甘酒市場においても今後増々需要は高まると期待される。

このように、あめこうじは麴製品およびそれを利用した加工食品の高品質化に寄与してきた。一方で、CK33 株の生育がやや遅いがために製造時間が長くかかってしまう、麴の素となる種麴生産性が CK33 株で低い、という甘い麴を製造できる種麴菌株の多くが併せ持つ性質を克服することが課題として残されていた。これまでに我々は、あめこうじ特徴を継承しつつ、麴製造時間短縮と種麴生産性向上を実現する CK33 株の改良に取り組み、製麴時の温度経過がわずかに早く、かつ孢子形成能が向上した CK33 株改良株を育種してきた。しかしながら、その種麴生産性は育種前に比べて 1.2 倍程度にとどまり、大きく改善するには至らなかった⁶⁾。

そこで我々は、CK33 株以外の高糖化力かつ孢子形成能が良好な麴菌株をもとに、目的の性質を併せ持つ新規麴菌の開発を目指すことにした。

【実験方法】

1. 育種に用いる新たな親株の選定

候補麴菌株として株式会社秋田今野商店より供与していただいた AOK2p 株、AOK17 株の 2 株に CK33 株を加えた 3 株を用い、常法に従って米麴を作成した。米麴の α -アミラーゼ、糖化力は醸造分析キット（キッコーマンバイオケミファ社製）を用いてそれぞれ測定し、係数をかけることで国税庁所定分析法に準じて表現した。各麴より甘酒を調製し（麴：水＝1：2 で混合し、59°C、4 時間糖化）、甘酒に精通した当センター職員 5 名による官能評価に供した。官能評価は CK33 株の甘酒を 3 とした 5 点法（評点が低い方が高評価）で行い、甘さ、すっきり感、香りおよび総合の 4 項目について評価した。

2. 米麴と 3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA) を用いた簡易検出法

1.5ml サンプルングチューブに米麴を 0.2g、10mM DOPA を 0.5ml、20% (V/V) エタノールを 0.5ml 加え、40°C で 1～3 日静置し、目視にて褐変度合を評価した。

3. チロシナーゼ活性測定方法

キャップ式の 2ml サンプルングチューブに 0.5g のジルコニア／シリカビーズ ($\phi 0.5$) を加え、米麴を 0.5g ずつ分注した。0.5%NaCl を含む 20mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を 1.5ml 加え、ミニビードビーター (BioSpec Products 社製) にて Max スピードで 3 分間破碎後、4°C、15000rpm の条件で 10 分間遠心分離を行った。上清を回収し、同条件で 5 分間遠心分離を行い、上清を粗酵素液として回収した。粗酵素液 100、もしくは 200 μ l に 0.2M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH3.0)

を 50 μ l 加え、よく攪拌し、氷中にて 30 分間活性化処理を行った。酵素反応液 (50mM コハク酸緩衝液, 0.2% CaCl₂, 5mM L-DOPA (または 2mM チロシン), 10mM H₂O₂, pH6.0) を 1.35ml 加え、40°C で 30 分間酵素反応を行った後、475nm の吸光度を測定した。粗酵素液の 280nm の吸光度を測定し、反応液の 475nm 吸光度で補正することで活性値とした (酵素反応液 A₄₇₅/粗酵素液 A₂₈₀)。

4. AOK3006、AOK2p 株を親株としたチロシナーゼ活性低減株のスクリーニング

4-1) 米麴と DOPA を用いた簡易検出法によるスクリーニング

麴菌 AOK3006 株を PDA 米培地で 30°C、5~7 日間培養後、0.1% Tween 溶液を用いて胞子を回収した。滅菌水で胞子を洗浄後、33.3mM 硫酸銅 (II) を含む滅菌水に懸濁し、30°C、100rpm の条件で 6 時間トランスポゾン転移処理を行った (生存率 0.1~3%)。処理後の胞子を回収し、滅菌水で洗浄後、20~30 個/プレートとなるよう滅菌水で適宜希釈し、Triton X-100 を 0.25% 添加した PDA 米培地に塗抹した。18°C で 8~10 日間培養後、コロニー径が大きくかつ胞子形成が見られる株を PDA 米粉培地に収集した。収集した株を再度 PDA 米粉培地に植菌し、形成させた胞子を用いて小スケールの米麴 (α 化米 3g 使用、目標水分 35%) を作成した。米麴のチロシナーゼ活性評価を 2) の方法を用いて実施し、目視にて選抜した候補株のチロシナーゼ活性を 3) の方法で測定した。

4-2) 硝酸還元酵素欠損株選抜培地を用いたスクリーニング

4-1) と同様に胞子にトランスポゾン転移処理を行い、硝酸還元酵素欠損株選抜培地 (500mM 塩素酸カリウム, 10mM L-グルタミン酸ナトリウム, 56mM グルコース, 5.7mM リン酸水素二カリウム, 2mM 硫酸マグネシウム, 7mM 塩化カリウム, 3.6nM 硫酸鉄(II), 31nM 硫酸亜鉛(II), 2.7nM 硫酸銅 (II), 672pM 硫酸マンガン(II), 262pM 四ホウ酸ナトリウム, 41pM モリブデン(VI)酸アンモニウム, 1.5% 寒天) に塗抹した。30°C で 10~14 日間培養後、生育が良くコロニーを形成した株、もしくは胞子形成が見られた菌糸を PDA 米粉培地に収集した。収集した候補株を最少培地 (硝酸還元酵素欠損株選抜培地から塩素酸カリウム、L-グルタミン酸ナトリウムを除き、35mM 硝酸ナトリウムを加えたもの) に植菌し、生育が確認されたものを収集した。4-1) と同様に小スケールの米麴作成を行い、チロシナーゼ活性を測定した。

5. CK33 株を親株とした胞子形成能向上株のスクリーニング

CK33 株を PDA 米培地で 30°C、5~7 日間培養後、0.1% Tween 溶液を用いて胞子を回収した。滅菌水で胞子を洗浄後、硫酸銅 (II) を含む滅菌水 (終濃度 0, 10, 20, 33.3mM) に懸濁し、30°C、100rpm の条件で 6 時間トランスポゾン転移処理を行った。処理後の胞子を回収し、滅菌水で洗浄後、硝酸還元酵素欠損株選抜培地 (方法 4-2) 記載) に塗抹した。30°C で 10~14 日間培養後、生育が良好なコロニーを PDA 米粉培地にコレクションした。コレクションした候補株が CK33 株由来

株であることを確認するため、以下のように CK33 株の遺伝子マーカーの存在の有無を確認した。候補株の胞子を滅菌した竹串を用いて適宜回収し、TE 緩衝液 50 μ L に懸濁した。ボルテックス攪拌後、電子レンジで 2 分間加熱し、PCR 反応のテンプレートとした。PCR には、ポリメラーゼに KOD One PCR Master Mix-Blue (TOYOBO) を、プライマーに C83-T-F (5'-CCACGATAGCAAGAAAGGTG-3') および C83-T-R (5'-AGCATCTTCACTGCTCCAAG-3') を用い、[94 $^{\circ}$ C, 4 分] \times 1 サイクル \rightarrow [98 $^{\circ}$ C, 10 秒 \rightarrow 58 $^{\circ}$ C, 5 秒 \rightarrow 68 $^{\circ}$ C, 10 秒] \times 35 サイクル、の条件で行った。PCR 反応液をアガロースゲル電気泳動に供し、増幅された DNA 断片のサイズを確認した。CK33 株遺伝子マーカーを保持している候補株を用いて、小スケールの米麴 (α 化米 3g 使用、目標水分 35%) を作成し、2-1)の方法を用いて褐変性の評価を行った。

6. 育種候補株を用いた種麴製造試験

6-1)小スケールでの種麴製造試験

定法にしたがって株式会社秋田今野商店にて実施し、試験製造した種麴の品質を目視にて評価した。

6-2)現場製造スケール (120kg 玄米) での種麴製造試験

定法にしたがって株式会社秋田今野商店にて実施した。すなわち、精米歩合 97 \sim 98%となるように玄米を精米し、洗米後、十分量の水で浸漬した。水切り後、高圧滅菌釜内で蒸し、放冷した。フラスコ培養した種麴原菌を放冷した蒸米に散布し、種麴が均一になるようよく攪拌した。30 \sim 35 $^{\circ}$ Cで一晩静置後、滅菌した木製麴蓋に入れ、製麴前半は麴菌の増殖を目的とした品温管理 (35 $^{\circ}$ C前後)、製麴後半は麴菌の分生子形成を促すことを目的とした品温・湿度管理 (品温 30 $^{\circ}$ C前後、飽和湿度) を行いながら 5 \sim 6 日間製麴した。製麴後の麴を水分 10%以下になるまで乾燥後、篩いにかけて菌糸や穀粒を除き、分生胞子のみ回収した。得られた分生胞子の重量を、使用した玄米の重量で割って、種麴の生産性とした (種麴の生産性=分生胞子の重量/使用した玄米の重量)。さらに、最終的に得られた分生胞子に、増量剤として α でんぷん (米でんぷん、もしくは馬鈴薯でんぷん) を加えることで種麴を作製した。

7. 育種候補株を用いた小スケールでの米麴製造試験

市販のあきたこまち (精米歩合約 90%) から調製した蒸米を試験スケールに合わせて 1.0 \sim 1.8kg 用い、6-1)で試験製造した粒状種麴を用いて定法にしたがってセンターにて米麴を製造した。米麴の α -アミラーゼ、糖化力は醸造分析キット (キッコーマンバイオケミファ社製) を用いる方法で、チロシナーゼ活性は 3)の方法でそれぞれ測定した。中性プロテアーゼは醤油試験法⁷⁾記載の方法を基に、pH6.0 の条件で測定した。また、米麴 100g に水 200ml を加え、59 $^{\circ}$ Cで 4 時間糖化することで甘酒を調製し、pH、Brix、色彩測定を行った。

8. 育種候補株 NGA3 を用いて製造した米麴および甘酒の官能評価

6-2)で試験製造した粉状種麴を用いてセンターにて米麴を製造した。米麴から甘酒を調製(59°Cで4時間糖化)し、市販あめこうじ8点(A~H)を対照として米麴そのものと甘酒の2つについて官能評価を実施した。官能評価パネルは、あめこうじの官能評価に精通した当センター職員8名で行った。米麴の評価項目は、色、ハゼ込み、香り、味および手ざわりの5つで、評価は5点法(1:非常によい 2:よい 3:普通 4:難あり 5:非常に難あり)で行った。甘酒の評価項目は、外観と香味の2つで評価は5点法(1:非常によい 2:よい 3:普通 4:難あり 5:非常に難あり)で行った。米麴と甘酒いずれにおいても評価点の平均値を計算した(評点が低いほど高評価)。

【結果と考察】

1. 育種に用いる新たな親株の選定

AOK3006株、AOK2p株、AOK17株、CK33株を用いて作成した米麴および甘酒の分析結果、官能評価結果をそれぞれ表1および図1に示した。 α -アミラーゼ活性だけに着目するとAOK2p株、AOK17株の値がCK33株よりも高いが、糖化力や甘酒Brixの値はAOK17が最も低かった。AOK2p株の糖化力もCK33株には及ばないが、700 U/g乾燥麴以上と高値であったことから、酵素力価の面ではAOK17よりもAOK2p株の方が適しているのではないかと考えられた。AOK17株を用いた甘酒の官能評価は、すっきり感、香りの評価や総合評価が低かった(図1;中心に近いほど高評価)。AOK2p株は、香りの評価がCK33株よりも若干低かったが、総合ではCK33株と同程度であった。したがって、AOK2p株も新たな育種の親株として有望であることが示唆された。育種にはこのAOK2p株と、CK33株を育種する際に使用したAOK3006株の2株を親株として用いることとした。色調の面ではAOK2p株の褐変度が最も高く(図2)、CK33株のような褐変性を低下させた育種株を取得する必要があると考えられた。

表1. 各麴菌で作成した米麴の酵素力価、甘酒Brix

菌株	水分 (%)	α -アミラーゼ (U/g乾燥麴)	糖化力 (U/g乾燥麴)	甘酒Brix (%)
CK33	30.6	2407	1002	34.6
AOK2p	32.4	2858	733	34.7
AOK17	32.0	3557	517	33.8

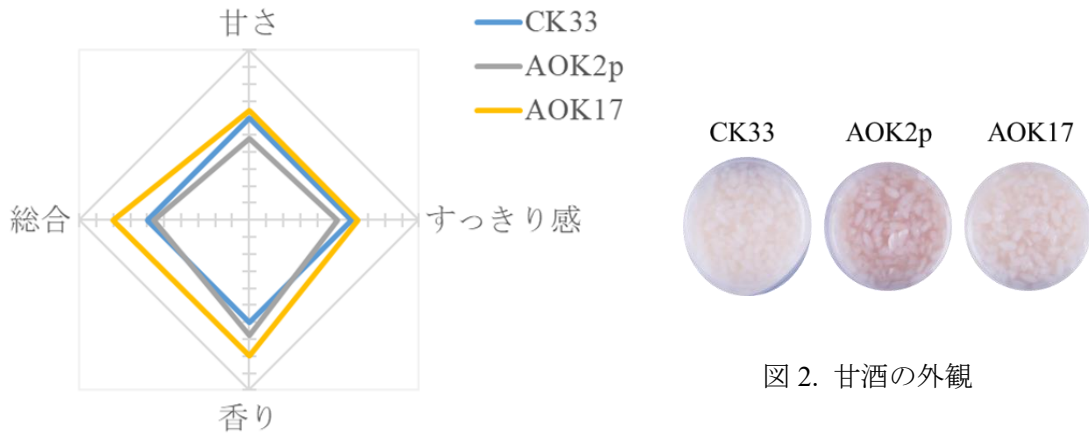


図 1. 親株選定のための甘酒官能評価

2. チロシナーゼ活性の簡易検出法の開発

チロシナーゼ活性は、緩衝液中で米麴を破砕して調製した粗酵素抽出液に基質である DOPA を加え反応・呈色させることで測定している。この操作はやや煩雑であり、多検体の測定には向かなかったため、簡易的な検出方法の検討を行った。検討には、チロシナーゼ活性が低い CK33 株とその育種の親株である AOK3006 株、およびチロシナーゼ活性が高い味噌用麴菌を用いた。粗酵素抽出液を調製しない検出法の可能性について検討した結果、米麴に 10% (V/V) エタノールを含む 5mM DOPA 溶液を加えて 40°C で 1 日以上放置することで、チロシナーゼ活性に応じた褐変度を示すことを明らかにした (図 3)。粗酵素抽出液を調製して測定するチロシナーゼ活性結果 (図 4) と外観の褐変度が相応しており、多検体向けの簡易検出法として利用可能であると判断した。

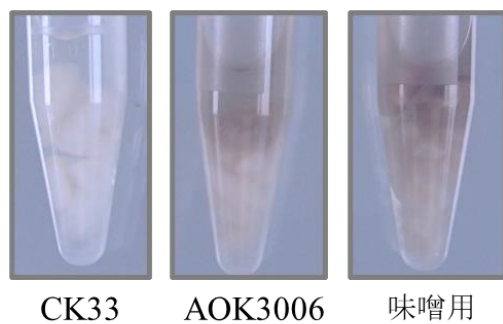


図 3. 米麴と DOPA を用いた簡易検出法

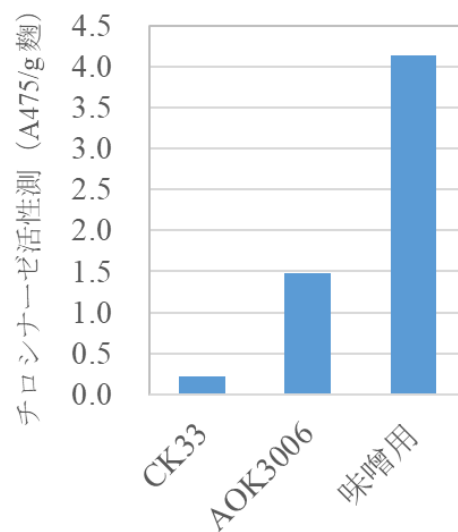


図 4. 米麴のチロシナーゼ活性

3. AOK3006 株、AOK2p 株を親株としたチロシナーゼ活性低減株のスクリーニング 3-1) 米麴と DOPA を用いた簡易検出法によるスクリーニング

トランスポゾン変異処理後の胞子を 18°C で 8~10 日間培養後、コロニー径が大きくかつ胞子形成が見られる株を PDA 米粉培地に 45 株収集した。次に、小スケールで米麴を作成し、DOPA を用いたチロシナーゼ活性簡易検出にてスクリーニングを行った結果、褐変度合いが低い株が 1 株 (A-19) 得られた (図 5)。実際のチロシナーゼ活性を測定したところ、A-19 株でも確かに活性が低下していたことから、チロシナーゼ活性の低減が褐変度低下に寄与している可能性が考えられた (図 6)。図 5、6 の結果を見ると、A-19 以外の株 (A-17、A-18、A-20) でもチロシナーゼ活性は低下していたものの、簡易検出法では褐変が見られたことから、候補株からは除外した。

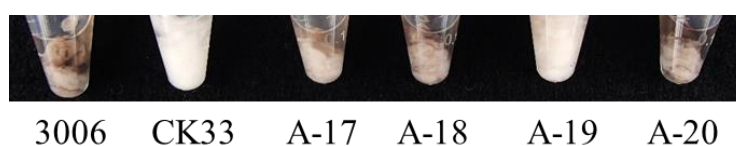


図 5. 米麴と DOPA を用いた簡易検出法によるスクリーニング例

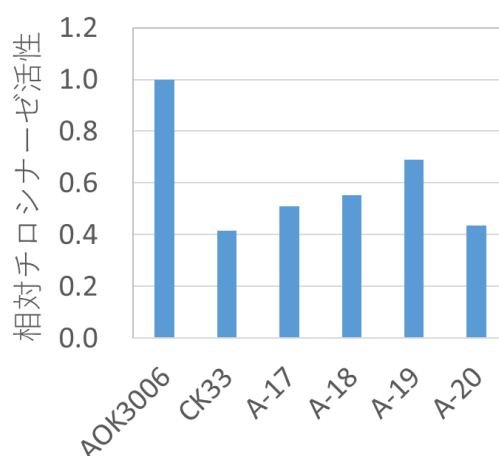


図 6. 簡易検出法によるスクリーニングに供した候補株のチロシナーゼ活性

3-2) 硝酸還元酵素欠損株選抜培地を用いたスクリーニング

硝酸還元酵素欠損株選抜培地で生育してくる耐性株は通常窒素代謝に何らかの変異が導入されている可能性が高いが、同時にチロシナーゼ活性低減株が取得される可能性も高いことが報告されている⁸⁾。この知見を利用してチロシナーゼ活性低減株が取得可能かどうか検討するため、AOK3006 株および AOK2p 株をトランスポゾン変異処理後、選抜培地での生育が良い、または胞子形成が見られた耐性株を取集した (AOK3006 株で 22 株、AOK2p 株で 223 株)。AOK3006 株由来の候補株のうち、窒素代謝に影響が無い株 (=硝酸ナトリウムを唯一の窒素源とする最少培地で生育する株) を 4 株選抜した (C-1 株、C-3 株、C-8 株、C-10 株)。

これら候補株のチロシナーゼ活性を簡易評価した結果、C-3 株の外観の褐変度合いはCK33と同程度であり（図7）、実際のチロシナーゼ活性も低下していた（図8）。C-8株、C-10株はチロシナーゼ活性が数倍に上昇した株であり、本研究の目的には合致しなかったが、C-3とは基本的な遺伝的バックグラウンドは同じ（＝親株が同じ）であるため、「チロシナーゼ活性を上昇させる遺伝子」を探る研究材料として有用な遺伝子資源になり得ると考えられる。



図7. 硝酸還元酵素欠損株選抜培地により選抜された候補株の簡易評価

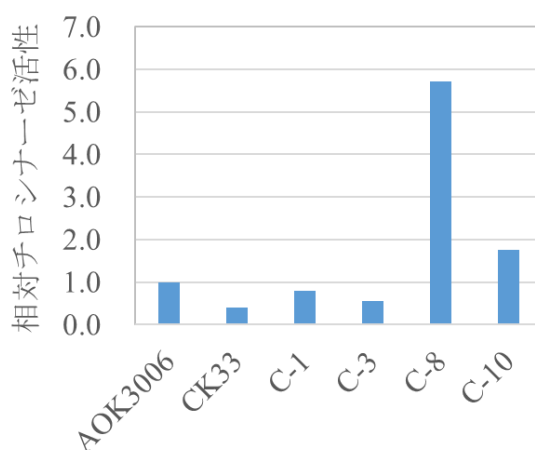


図8. 硝酸還元酵素欠損株選抜培地により選抜された候補株のチロシナーゼ活性

AOK2p株についても、硝酸還元酵素欠損株選抜培地上で生育が良好な株のうち、窒素代謝に影響が無い株から目的株をスクリーニングすることにした。通常であればAOK3006株と同様に簡易検出法による選抜後にチロシナーゼ活性を測定し、候補株を選抜するところだが、AOK2p株由来の候補株を硝酸ナトリウムを唯一の窒素源とする最少培地で培養したところ、通常深緑色を示す胞子の色が褐色となった株が1株得られた（C-2p-69）。胞子の色とメラニン形成に関わるチロシナーゼ活性との関係は明らかになっていないが、色の変化を引き起こす点は共通しているため、この株の米麴での評価を実施した。その結果、親株であるAOK2p株は出麴の段階で既に褐変が起こるが、C-2p-69株では褐変が抑制されているようであった（図9）。チロシナーゼ活性を測定した結果、DOPAを基質とした活性は7割程度、チロシンを基質とした活性は8割程度それぞれ親株よりも低下していた（図10）。チロシナーゼはメラニン形成の初期反応である「チロシン→DOPA」変換とそれに続く「DOPA→DOPAキノン」変換を触媒する酵素であり、褐変に深く関与

していることが知られている⁹⁾。C-2p-69株では、メラニン形成の入口を司る活性の方が低下していたことから、親株であるAOK2p株よりは褐変進行リスクが低いと考えられた。残念ながらAOK2p株の元々のチロシナーゼ活性が高く、低褐変性麴菌として実用化するには更なるチロシナーゼ活性の低減が必要だが、以上の結果は孢子の色の変化に着目した低チロシナーゼ活性株の選抜が可能であることを示唆していた。



親株 C-2p-69

図9. AOK2p株由来候補株の状貌（米麴）

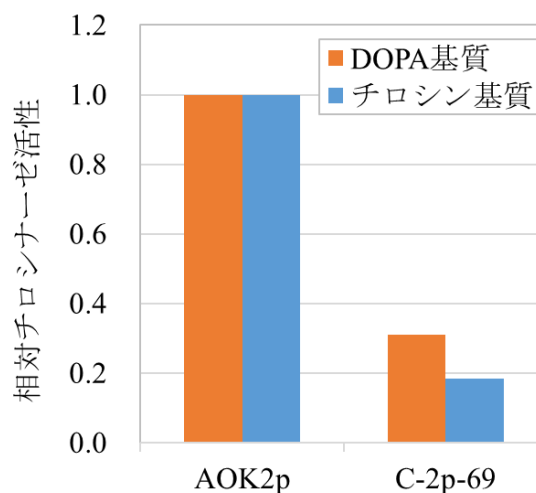


図10. AOK2p株由来候補株のチロシナーゼ活性

4. CK33を親株とした孢子形成能向上株のスクリーニング

CK33の種麴生産性を向上させる試みはこれまでもしてきたが、孢子形成能が大きく改善された改良株は得られていない⁶⁾。既報ではトランスポゾン変異処理後の目的株のスクリーニング方法として、低温下で生育の早い株を取得する方法やCD最少寒天培地上で生育が良好な株を取得する方法を実施している。本研究で検討した硝酸還元酵素欠損株選抜培地を用いるスクリーニングでは、AOK3006株において孢子形成能が向上した株も確認されていることから、CK33株を親株とした孢子形成能向上株のスクリーニングを再度試みることにした。CK33株の孢子懸濁液を様々な銅ストレス条件（硫酸銅（II）の終濃度が0, 10, 20, 33.3mM）で処理することでトランスポゾン転移を誘発し、硝酸還元酵素欠損株選抜培地上で生育が良好で、かつ孢子着生が良い株を収集した。CK33株には親株であるAOK3006株には無い遺伝子マーカーが存在するため、収集した候補株がCK33由来であることをPCR法により確認した。その結果、0mM銅ストレス試験区で4株、10mM試験区で3株、20mM試験区で17株、33.3mM試験区で4株CK33遺伝子マーカーを保持していることが確認された（図11）。これら候補株をPDA米培地で30℃、5~7日間培養し、孢子形成能が改善されているか目視にて確認したところ、いずれの株もCK33よりも大きく改善されていた（データ未掲載）。しかしながら、小スケールで米麴を作成し、その褐変性を簡易評価したところ、全ての株で強い褐

変性を示した。さら候補株を収集・評価することで目的株が得られる可能性も考えられるが、AOK3006 株由来の育種候補株が得られたことから、CK33 株からの育種は断念した。

尚、3-2)で得られた候補株 C-8 および C-10 株も PDA 米培地上での孢子形成能が向上していたことから、孢子形成能の強弱とチロシナーゼ活性の強弱は連動していることが示唆されるが、その詳細については今のところ不明である。

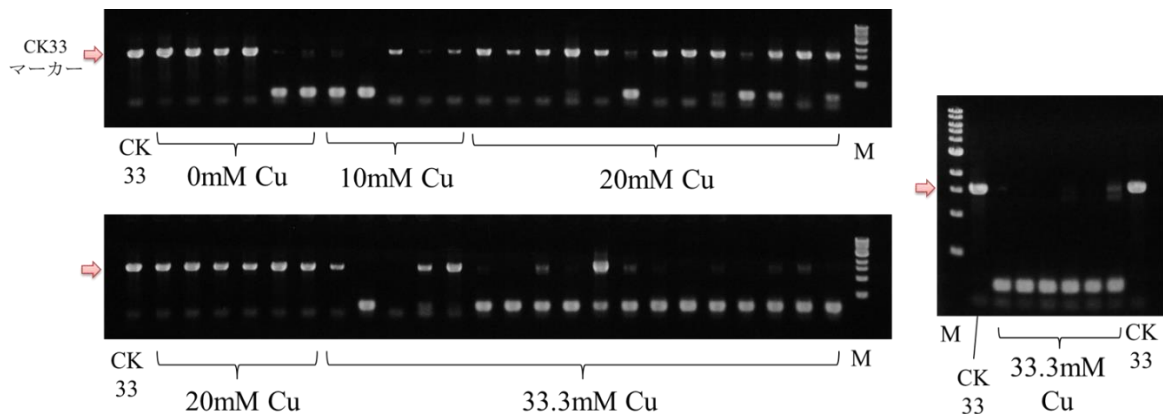


図 11. CK33 由来候補株の CK33 遺伝子マーカー確認

5. AOK3006 株由来低チロシナーゼ活性株を用いた種麴製造試験

選抜された AOK3006 株由来チロシナーゼ活性低減株 2 株 (A-19、C-3) の PDA 米培地上での孢子形成量を目視にて比較したところ、CK33 株よりも多いと評価された (図 12)。

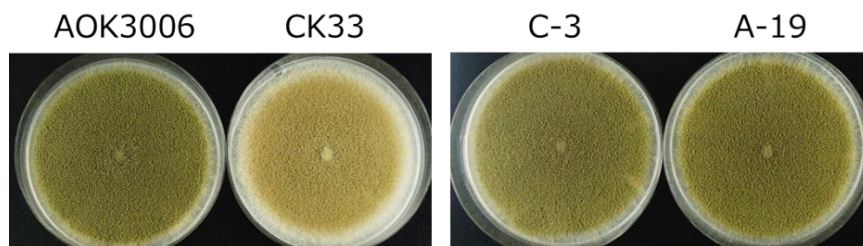


図 12. AOK3006 由来低チロシナーゼ活性株 (PDA 米培地)

次に、小スケールでの種麴製造試験を株式会社秋田今野商店にて実施した。その結果、全ての候補株において、目視での孢子形成量は親株である AOK3006 と同様に良好であり、CK33 よりも大きく改善されていた。これら 2 株のうち、C-3 株を NGA3 株と命名し (Next Generation Amekoji 3)、120kg スケールの種麴現場製造試験を実施した。その結果、NGA3 株は CK33 株の 2 倍以上の種麴生産性を示すことが確認された (表 2)。

表 2. NGA3 株の種麴生産性

種麴製造試験株	種麴生産性 (分生孢子kg / 原料玄米120 kg)
CK33	2.0
NGA3	4.4

6. AOK3006 株由来低チロシナーゼ活性株を用いた種麴製造試験

上記の小スケールでの種麴試験で製造した種麴を用い、米麴製造試験を実施した (C-3 株のみ 2 連)。盛り後の品温上昇は AOK3006 株が最もよく、育種候補株 2 株は、中間から CK33 株よりの品温上昇を示した (図 13)。一方、最高品温は候補株が最も高く、次いで AOK3006 株、CK33 株の順となった (それぞれ 44、42、40°C) (図 13)。出麴の性状としては、親株である AOK3006 株はやや黄色みがかかったものとなったが、候補株や CK33 株は白い仕上がりとなった。得られた米麴の酵素力価を測定したところ、候補株のチロシナーゼ活性は全て CK33 株よりも低かったことから、目的とする育種株が得られていることが確認できた (図 14)。候補株の糖化酵素力価 (α -アミラーゼ活性、糖化力) は CK33 株よりは低かったが、グルコースの遊離に必要な糖化力は 600 U/g 乾燥麴以上有しており、糖化には問題ないと考えられた (図 14)。また、甘酒の味わいに寄与すると考えられる中性プロテアーゼ活性は AOK3006 株、CK33 株と同程度であった。さらに、甘酒を試作し分析したところ、候補株 2 株の pH、Brix および明度 (L*) は CK33 株とほぼ同じ値を示した (表 3)。特に、糖度に大きく関与する Brix に大きな違いはなかったことから、上述のとおり糖化に必要な酵素力価は十分有しているものと考えられた。

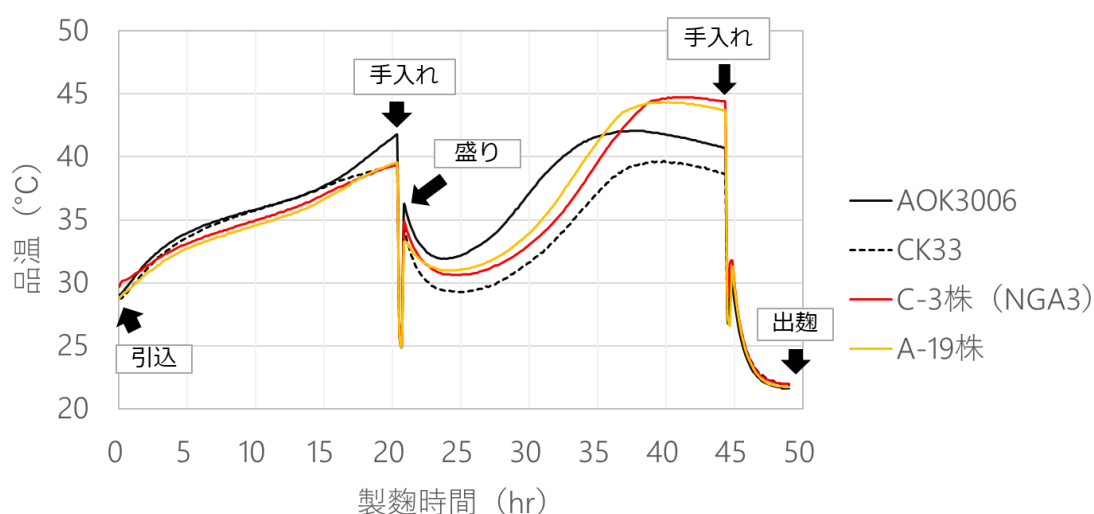


図 13. AOK3006 由来候補株の品温経過

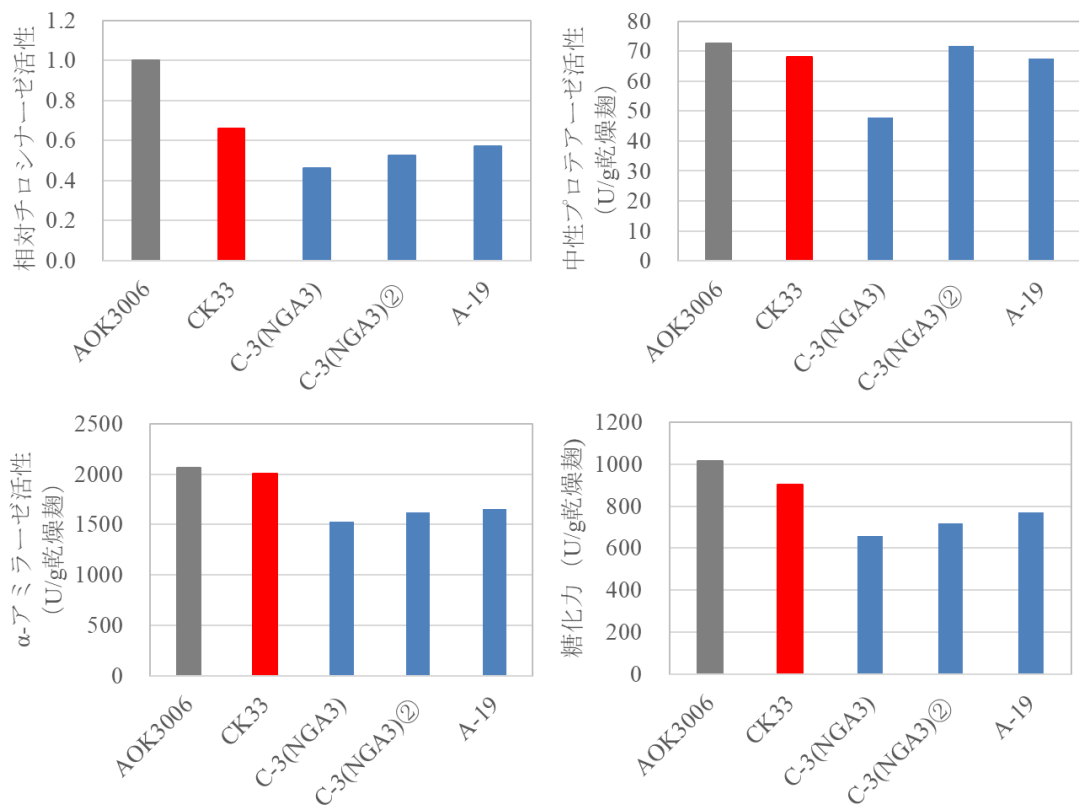


図 14. AOK3006 由来候補株の酵素力価 (C-3 株のみ 2 連)

表 3. AOK3006 由来候補株の甘酒分析値 (C-3 株のみ 2 連)

使用菌株	Brix	pH	色彩 L*
AOK3006	23.0	5.9	66.8
CK33	22.8	5.5	66.5
C-3 (NGA3)	22.6	5.6	67.3
C-3 (NGA3) ②	23.1	5.5	68.5
A-19	22.7	5.7	68.0

7. 育種候補株 NGA3 を用いて製造した米麴および甘酒の官能評価

NGA3 株種麴 (120kg スケール種麴現場製造試験品) を用いて作成した米麴、および米麴から調製した甘酒を用いて官能評価を実施した。その結果、米麴、甘酒ともに評点が 2.4 であり、いずれも「普通～よい」の評価であった (表 4)。また、順位も米麴では 9 サンプル中 2 位、甘酒では 3 位と、いずれも高評価、高順位であった。したがって、NGA3 株を使用してもあめこうじと遜色ない高品質な米麴、甘酒が製造できることが示された。

表 4. 官能評価結果（左：米麴、右：甘酒）

官能評価サンプル	評点	順位	官能評価サンプル	評点	順位
NGA3	2.4	2	NGA3	2.4	3
A	2.8	8	A	2.0	1*
B	1.9	1	B	2.0	1*
C	2.6	5	C	2.9	5
D	2.7	7	D	3.0	6
E	2.5	4	E	2.1	2
F	2.7	6	F	2.0	1*
G	2.9	9	G	3.2	7
H	2.5	3	H	2.6	4

*A、B、Fは同点

以上これまでの結果をまとめると、麴菌 AOK3006 由来の低チロシナーゼ活性株として取得された NGA3 株は、糖化に必要な十分な活性を有し、麴を製造したときの褐変性が少なく、さらに CK33 株と比較して種麴生産性が高いという産業上有用な麴菌株であることが示された¹⁰⁾。

8. 今後

- 1) NGA3 株の使用に加え、製造装置や条件設定の更なる検討を重ね、種麴生産収量の更なる向上を図る。
- 2) あめこうじ製造認定企業における NGA3 株の米麴試験製造、甘酒製造試験を実施し、現場適性（破精込み、酵素力価、甘酒官能評価等）を確認する。
- 3) 品温設定、種麴使用量等を検討することで、NGA3 株に最適な製麴条件を明らかにし、現場製造へとフィードバックする。

【引用文献】

- 1) 秋田県総合食品研究センター編（2018）あめこうじ, ARIF Letter, Vol.23, 秋田県総合食品研究センター
- 2) Ogasawara H, Obata H, Hata Y, Takahashi S and Gomi K（2009）*Crawler*, a novel *Tc1/mariner*-type transposable element in *Aspergillus oryzae* transposes under stress conditions. *Fungal Genet. Biol.* **46**, 441-449.
- 3) 小笠原博信（2010）麴菌におけるトランスポゾン (*Crawler*) 活性の発見と醸造産業への応用展望, 日本醸造協会誌 **105**, 334-342.
- 4) 小笠原博信、佐々木康子、渡辺隆幸、佐藤勉、瓜生摂、今野宏、高橋砂織（2013）トランスポゾン転移技術を利用した白色麴菌株の育種と発酵食品への応用, 秋田

県総合食品研究センター報告 **15**, 19-28.

- 5) 小笠原博信、高橋仁、今野宏、佐藤勉, 新規麴菌, 特許第 5803009 号, 2015-11-04
- 6) 上原健二、佐藤勉、瓜生摂、伊藤俊彦、小笠原博信 (2018) 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, 秋田県総合食品研究センター報告 **20**, 1-11.
- 7) しょうゆ試験法編集委員会編 (1985) しょうゆ試験法 p287-289, 財団法人日本醤油研究所, 東京
- 8) 小畑浩、秦洋二、川戸章嗣、安部康久, 低チロシナーゼ活性実用麴菌株の取得方法, 特許第 4043847 号, 2007-11-22
- 9) 大場 俊輝、佐藤 和夫、鹿毛 政史、原 昌道、菅間 誠之助 (1974) 米麴チロシナーゼの簡易測定法と酵素産生条件の検討, 日本醸造協会雑誌 **69(1)**, p56-58.
- 10) 上原健二、渡辺隆幸、中村勇之介、小笠原博信、今野宏、佐藤勉, 高糖化力、低チロシナーゼ活性、且つ種麴生産に適した新規麴菌, 特開 2022-133812, 2022-9-14

ICT を活用した酒蔵への支援可能性調査

上原 (佐藤) 智美、黒崎 文華

(秋田県総合食品研究センター)

Tomomi (Sato) UEHARA and Fumika KUROSAKI

【要約】

総米 5 kg の清酒仕込み試験を実施し、二種類のセンサー(温度と二酸化炭素, CO₂)と録画用カメラを用いてデータを記録した。もろみ期間中、温度履歴については、櫛入れの有無やセンサー位置に関係なく品温に著しい差は見られなかった。CO₂濃度については、期間を通して規則性が見られず、現時点でもろみの発酵管理に活用することは難しいと判断した。また実証試験は 2 回に分けて行い、実証 1 回目は櫛入れ作業の軽減について、実証 2 回目は汲水歩合(仕込み水の量)が酒質に及ぼす影響について検討を行った。1 回目の結果では、アルコール濃度は櫛入れの頻度に関係なくほぼ同じであった。その他の成分については、若干の差は見られるものの、全ての試験区において発酵の遅延やもろみの腐敗(腐造)などの悪影響は見られなかった。2 回目の結果では、アルコール濃度は汲水歩合に関係なくほぼ同じであった。その他の成分については、汲水歩合が少ないほど値が高いまま推移していく傾向を示した。

【緒言】

清酒は米と米麴および水を原料とした「もろみ」中で、酵母のアルコール発酵により造られる。清酒醸造において重要である「もろみ」管理では、品温を調べるための「もろみ」の攪拌作業(以下、櫛入れと表記)に始まり、適量をサンプリングしてろ液を得た後に各種分析を行い、その結果を基に品温の調整、水の添加(追水)などの操作を実施する。一つのタンクに対して上記のような作業を 1 か月程度行った後に、自動圧搾機等を用いて清酒を製成(上槽)している。このように非常に労力のかかる作業を経て、清酒醸造が行われている。

ICT は農業分野での発展が目覚ましいが、近年は清酒醸造に同技術を利用しようという試みも行われている。福島県および長野県では、発酵の際に出る音「発酵音」に着目したもろみの発酵管理への活用の検討を行っているが、発酵音の測定のために空調を止める等の環境を整える必要があり、実用化には至っていない^{1),2)}。また新潟県にある酒蔵では、発酵中の「におい」に着目した実証試験を実施するなど、新しい取り組みが行われている³⁾。もろみ・麴の品温経過や日々の分析結果をクラウド上で管理して仕込みの状況を社員で共有するサービスは既に行われているが、本試験で収集した画像データなどを有効活用するシステムはまだない。

本研究では、秋田県の主力産品である清酒について情報通信技術を活用することで、軽労化や生産性の向上等へ繋がることを期待して試験を実施したため、その結果の一部について報告する。

【実験方法】

実証試験は2回行い、それぞれの試験で温度センサー、CO₂センサー、録画用カメラ（開始から終了まで）、外気温、湿度のデータを連続して記録した。分析項目は、一般成分（アルコール濃度、ボーメ、酸度、アミノ酸度、グルコース濃度、ピルビン酸濃度）、香气成分および有機酸を設定し、2～3日に1回サンプリングを行い、遠心分離（4℃、8000 rpm、15分間）後の上清を試料とした。仕込み試験は、試験区あたり総米5 kg（それぞれの仕込み配合を表1と2に示す）で行い、原料米は秋田酒こまち（精米歩合40%）、酵母はきょうかい1801号（日本醸造協会）、種麹菌はグルコS（秋田今野商店）を用いた。

1. 糶入れ作業の検討（実証1回目）

糶入れは、下記の3条件で仕込み試験を実施した。

〔試験区1-1〕ほとんど行わない（糶入れ積算回数：100回）

〔試験区1-2〕サンプリング時に行う（糶入れ積算回数：500回）

〔試験区1-3〕上槽まで毎日行う（糶入れ積算回数：1300回）

食品用のシリコン製ヘラ（幅10 cm×長さ38 cm）を糶棒とし、上下1回の攪拌を糶入れ1回とした。〔試験区1-1〕では留仕込みと上槽時に、〔試験区1-2〕では、留仕込みと上槽時とサンプリングごと（8回）に50回、〔試験区1-3〕では留仕込み時から毎日50回を上槽するまで（26日間）糶入れを行った。仕込みの温度経過は添仕込みを13℃、踊りを12℃、仲仕込みを9℃、留仕込みを6℃とし、一日あたり0.5℃ずつ品温を上昇させ、最高温度を11℃とした。サンプリングは留仕込みをもろみ1日目として、4、7、10、14、17、20、22、24日目に実施した。

表1 実証1回目の仕込み配合

	酒母	添	仲	留	計
総米 (g)	425	725	1575	2275	5000
掛用白米 (g)	348	609	1323	1911	4191
麴用白米 (g)	77	116	252	364	809
汲水 (ml)	500	1040	2250	3210	7000

2. 汲水歩合が酒質に及ぼす影響の検討（実証2回目）

留仕込み時までの汲水歩合（仕込み水量）は、下記の3条件で試験を実施した。

〔試験区2-1〕汲水歩合125%（仕込み水量：6250 ml）

〔試験区2-2〕汲水歩合140%（仕込み水量：7000 ml）

〔試験区2-3〕汲水歩合155%（仕込み水量：7750 ml）

汲水歩合（%）は、総汲水量／総米×100によって算出した。

表 2 実証 2 回目の仕込み配合

	酒母	添	仲	留-125	留-140	留-155	計-125	計-140	計-155
総米 (g)	410	730	1600	2260			5000		
掛用白米 (g)	300	620	1360	1920			4200		
麴用白米 (g)	110	110	240	340			800		
汲水 (ml)	820	1000	2140	2290	3040	3790	6250	7000	7750

汲水歩合が異なるため、留仕込み時に水量を調整した。仕込みの温度経過は実証 1 回目と同様に行った。サンプリングは留仕込みをもちろみ 1 日目として、4、7、10、14、17、21、24、26 日目に実施した。

【結果および考察】

1. 糶入れ作業の検討 (実証 1 回目)

一般成分の分析結果を図 1 と表 3 に示す。アルコール濃度については、糶入れの頻度に関係なく、ほぼ同じであった。その他の成分については、若干の差は見られるものの、総米 5 kg の仕込み試験では糶入れを行わなくても、発酵の遅延やもちろみの腐敗 (腐造) などの悪影響は見られなかった。

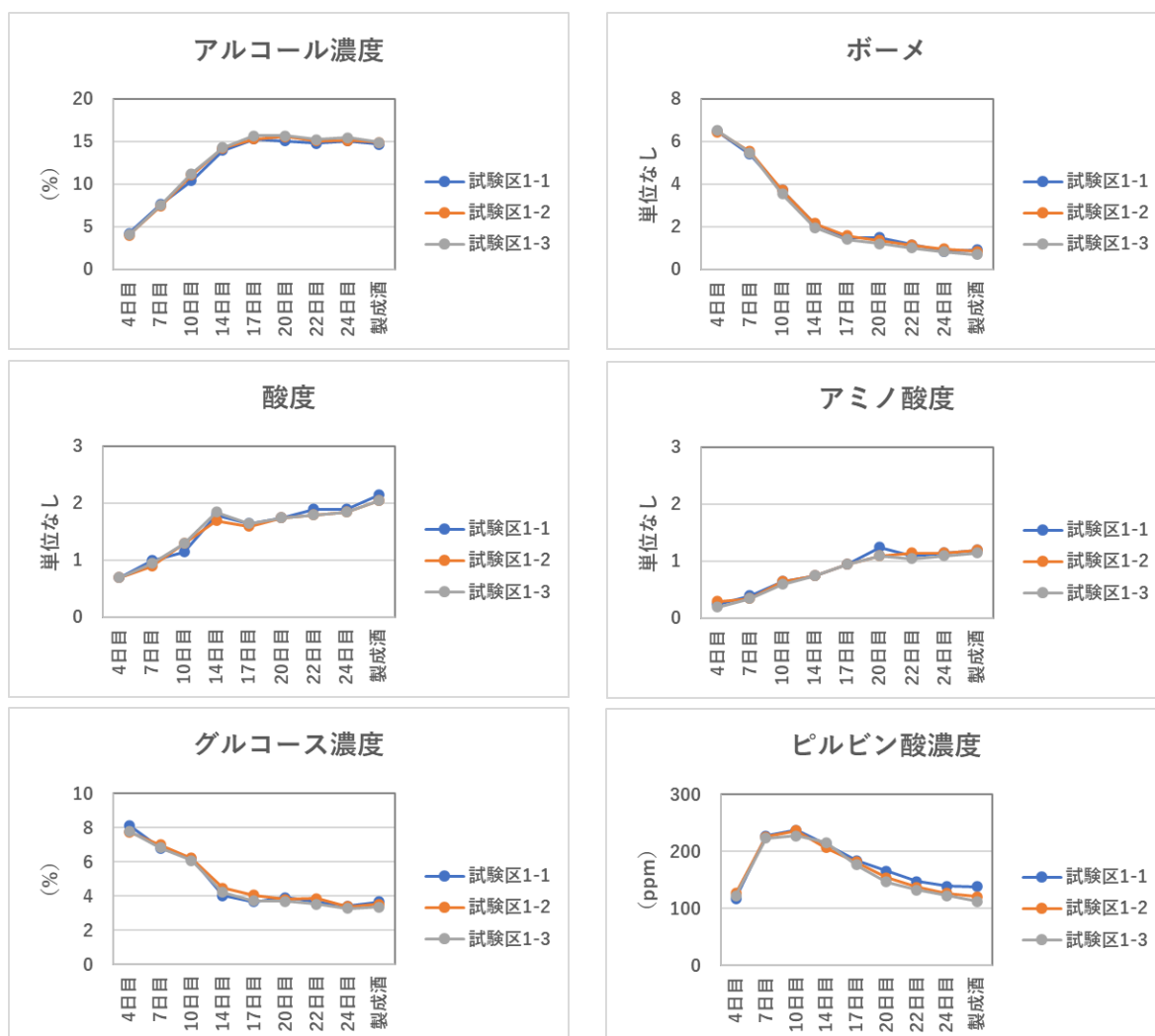


図 1 サンプリング時におけるもちろみの一般成分の推移 (分析項目はグラフ中に記載)

表3 製成酒の一般成分（カッコ内は単位を示す）

	アルコール(%)	ブーメ	酸度	アミノ酸度	グルコース(%)	ピルビン酸(ppm)
試験区1-1	14.70	0.91	2.15	1.20	3.66	138.13
試験区1-2	14.90	0.84	2.05	1.20	3.54	120.81
試験区1-3	14.90	0.70	2.05	1.15	3.35	112.08

次に、香気成分の分析結果を図2、表4および図3に示す。多くの香気成分でサンプリング14・20日目に最大の生成量を示し、以降はほぼ横ばいであった。また樽入れの頻度により、製成酒中の濃度が変化した成分（カプロン酸エチル、酢酸イソアミル、酢酸エチル、n-プロパノール）と濃度にあまり変化が見られなかった成分（イソアミルアルコール、i-ブタノール）の2つのタイプに分けられた。

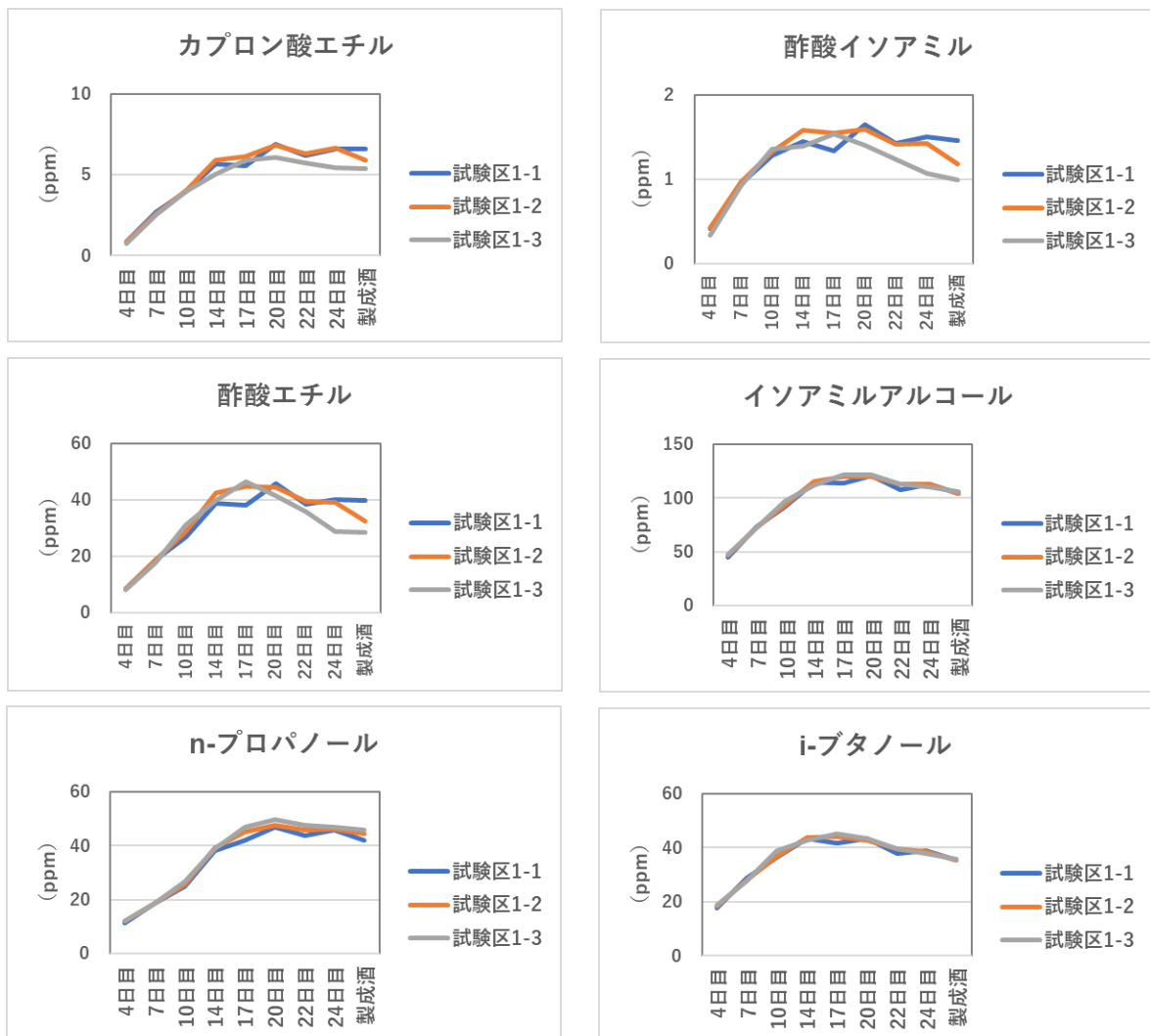


図2 サンプリング時のもろみの香気成分の推移（分析項目はグラフ中に記載）

表 4 製成酒の香気成分（単位は ppm）

	カブロン酸 エチル	酢酸イソアミル	酢酸エチル	イソアミル アルコール	n-プロパノール	i-ブタノール
試験区1-1	6.58	1.46	39.73	103.69	41.99	35.58
試験区1-2	5.92	1.18	32.38	104.38	44.27	35.38
試験区1-3	5.38	0.99	28.44	105.62	45.69	35.74

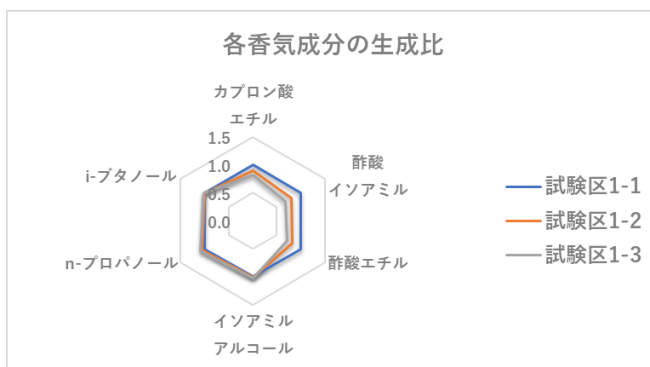
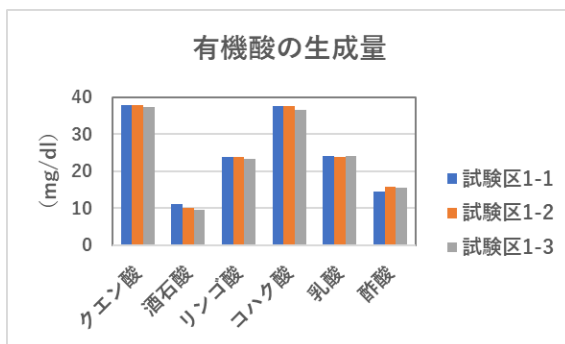
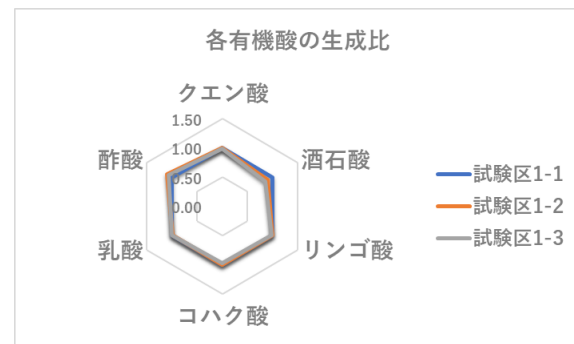


図 3 試験区 1-1（製成酒）の各香気生成量を 1 としたときの比

次に、製成酒の有機酸分析結果を図 4 および表 5 に示す。有機酸量については、搾入れの頻度に関係なく、大きな差は見られなかった。



(A)



(B)

図 4 製成酒の有機酸分析

(A) 各有機酸の生成量、(B) 試験区 1-1 の生成量を 1 としたときの比

表 5 製成酒の有機酸濃度（単位は mg/dl）

	クエン酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
試験区1-1	37.88	11.10	23.83	37.72	24.04	14.50
試験区1-2	37.84	9.99	23.78	37.53	23.83	15.89
試験区1-3	37.23	9.50	23.25	36.57	24.03	15.44

また今回の実証試験では、搾入れの回数に関わらず、もろみ中の温度の著しい差（本試験では 2℃以上と定義）は見られず、総米 5 kg のスケールでは、タンク内の

温度差はそう大きくないと考えられた。温度履歴については、2分に1回システムにデータが送信されているが、そのデータをそのまま採用せず、30分間および60分間といったある程度のまとまりで平均値を用いることにより、大きな温度差はないと判断した（データ量が膨大なため、未掲載）。もろみ期間中のCO₂濃度については、一日の最大と最小濃度をピックアップし、グラフを作成した（図5）。いずれの試験区でも発酵が盛んである7～11日目あたりにピークが確認されるものの、試験期間を通して濃度が最大および最小濃度となる条件に規則性は見られなかったことから、発酵の指標としてCO₂センサーを用いるには、現時点では難しいと判断した。規則性が見られなかったことについて、CO₂センサーが隣のタンクのCO₂濃度を含めて測定していた可能性が考えられ、センサーの設置位置を含めた再検討が必要と思われる。

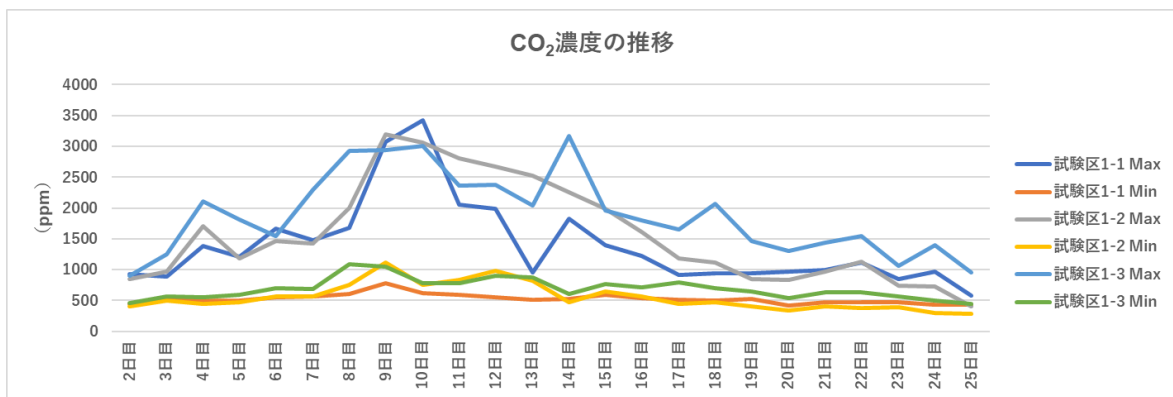


図5 CO₂濃度の推移（1日の最大値と最小値をそれぞれプロットしてグラフ化）

さらに、もろみ熟成歩合を表6に示す。もろみ熟成歩合とは上槽前のもろみにおいて、原料白米がどれだけのもろみ容量になったかを表す割合のことである。もろみ熟成歩合は、糶入れをほぼ行っていない試験区1-1や分析時のみ糶入れを実施した試験区1-2では、約64%であるのに対し、毎日実施した試験区1-3では約60%であった。本実証で条件が異なるのは「糶入れの頻度」だけであることから、糶入れを頻繁に行うと原料米が物理的に破壊⁴⁾されることで、もろみ熟成歩合に影響を与える可能性が高いと考えられた。試験区1-3では、上槽時の遠心分離後に糊と呼ばれる成分が大量に確認されており（図6）、物理的な溶解が他のタンクより多かったことが示されている。

表6 もろみ熟成歩合

	もろみ熟成歩合 (%)	もろみ重量 (kg)	もろみ液量 (L) (重量/1.07)	汲水 (L)
試験区1-1	64.48	3.22	10.47	7.25
試験区1-2	63.92	3.20	10.45	7.25
試験区1-3	59.99	3.00	10.25	7.25

上槽前のもろみの数量から米以外の原料を除いた数値により算出（以下の数式使用）
 もろみ熟成歩合 = (もろみ液量 L (もろみ重量から換算) - 汲水量 L) / 白米 kg



図 6 もろみの遠心分離後の写真（試験区 1-3 で糊が多くなっている）

最後に、酒蔵への糶入れ実施状況の聞き取り調査結果を表 7 に示す。回答いただいた 27 蔵のうち、約半分が毎日糶入れを行っているが、その他は分析時（2～3 日おき）や全く糶入れを行わないなど、蔵ごとに糶入れに掛ける時間や作業量に差があることが分かった。

表 7 県内 27 蔵の糶入れ実施状況

糶入れ頻度	蔵数
毎日、実施	13
分析時に実施	4
もろみ初期に実施以降、行わない	10

2. 汲水歩合が酒質に及ぼす影響の検討（実証 2 回目）

一般成分の分析結果を図 7 と表 8 に示す。アルコール濃度については、汲水歩合（仕込み水の量）に関係なく、ほぼ同じであった。その他の成分については、汲水歩合が少ないほど値が高いまま推移していく傾向を示した。

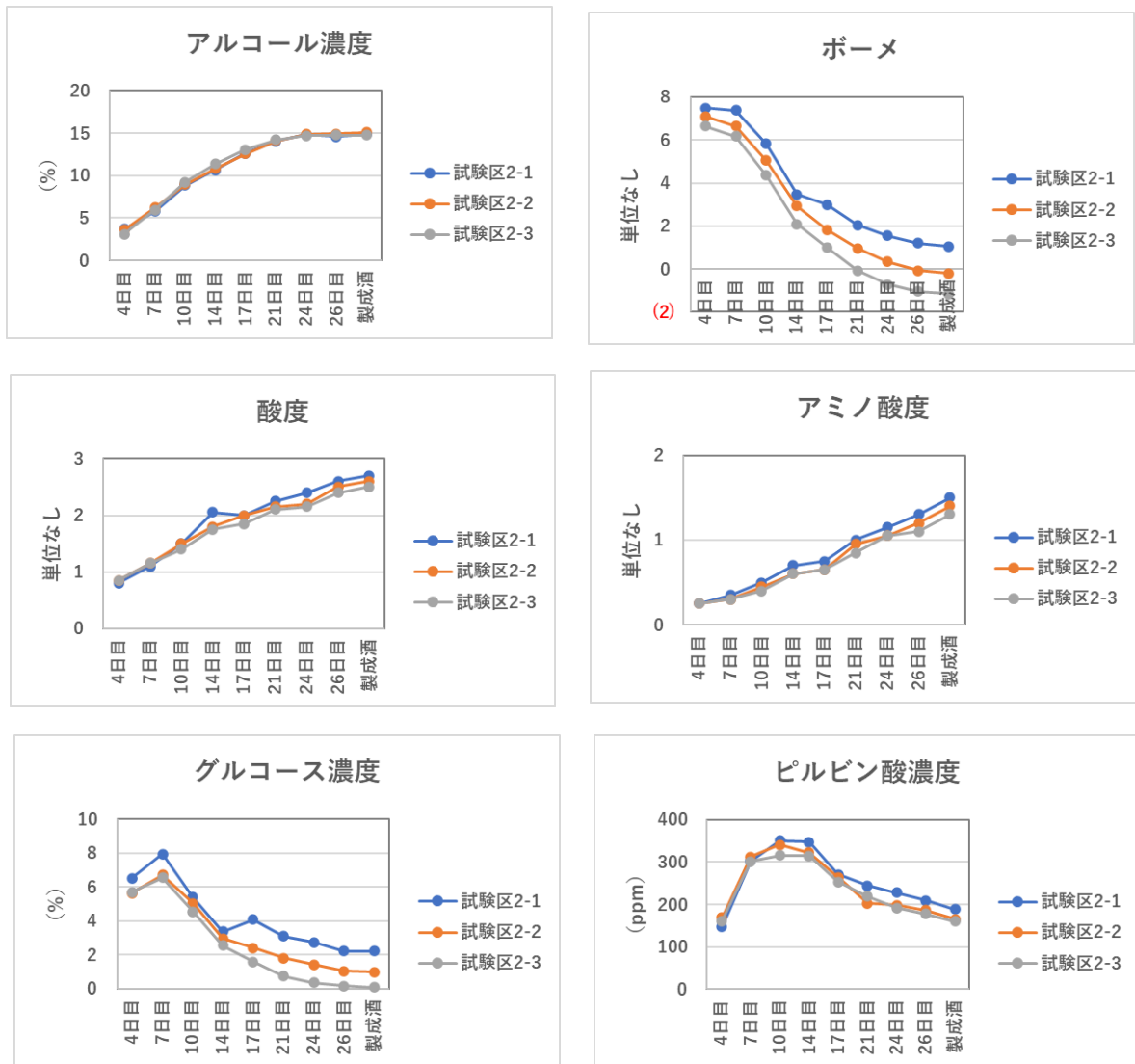


図7 サンプルング時におけるもろみの一般成分の推移
(分析項目はグラフ中に記載)

表8 製成酒の一般成分 (カッコ内は単位を示す)

	アルコール(%)	ブーメ	酸度	アミノ酸度	グルコース(%)	ピルビン酸(ppm)
試験区2-1	14.90	1.06	2.70	1.50	2.22	189.00
試験区2-2	15.10	-0.19	2.60	1.40	1.00	165.79
試験区2-3	14.75	-1.16	2.50	1.30	0.10	160.61

次に、香気成分の分析結果を図 8、表 9 および図 9 に示す。今回の試験では、香気成分分析は 17 日目以降から実施した。汲水歩合の違いにより、製成酒中の濃度にあまり変化が見られなかったものはカプロン酸エチルのみで、他の香気成分については、汲水歩合が少ない方が香気分量も多くなり、これまでの報告と同様の結果であった。特に酢酸エチルと酢酸イソアミルは、汲水歩合が高いほど、大幅な減少が認められた。

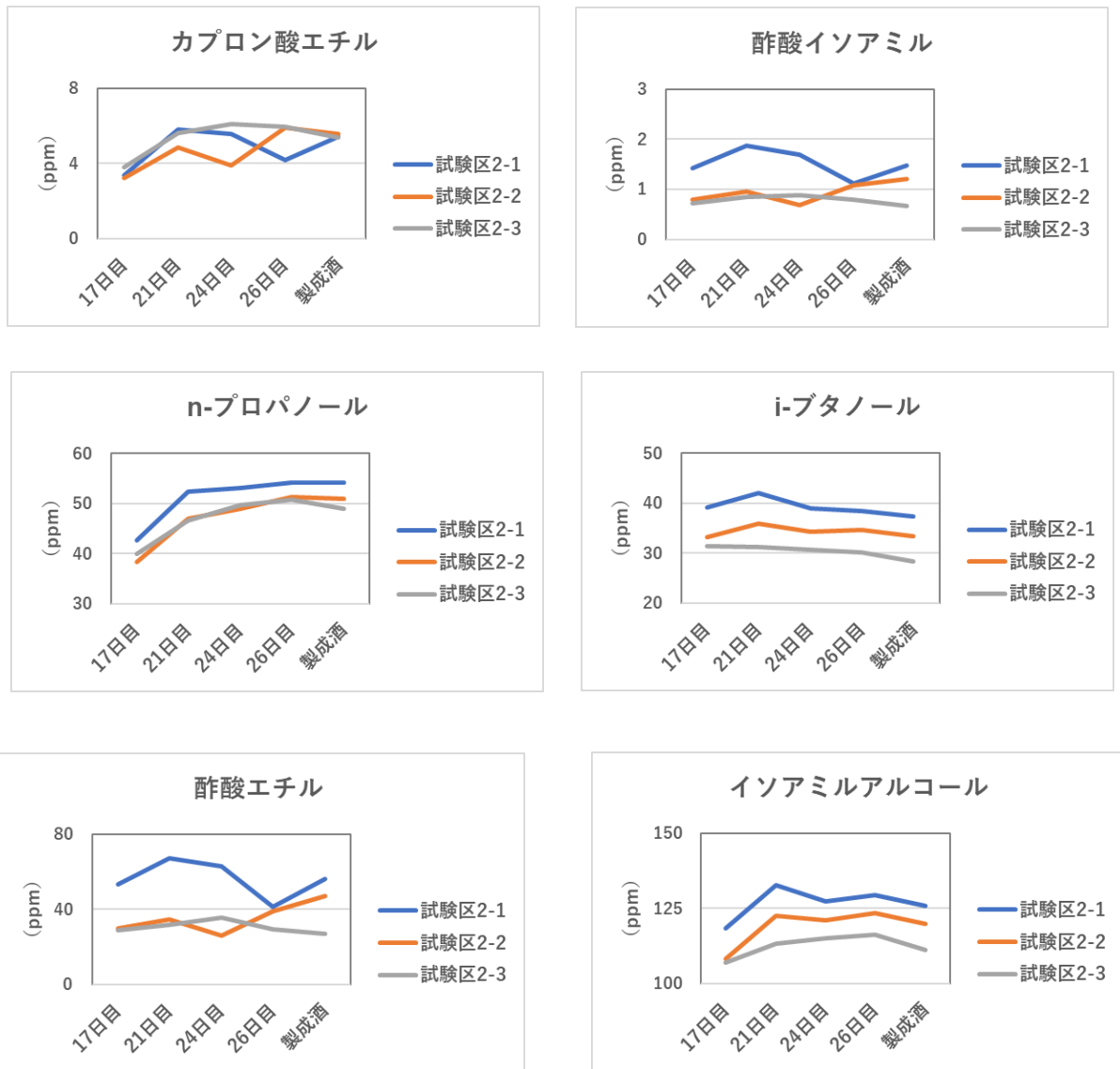


図 8 サンプルング時のもろみの香気成分の推移（分析項目はグラフ中に記載）

表 9 製成酒の香気成分（単位は ppm）

	カプロン酸エチル	酢酸イソアミル	酢酸エチル	イソアミルアルコール	n-プロパノール	i-ブタノール
試験区2-1	5.43	1.47	56.10	125.77	54.26	37.34
試験区2-2	5.57	1.20	46.94	119.93	51.00	33.39
試験区2-3	5.37	0.66	26.94	111.24	48.96	28.44

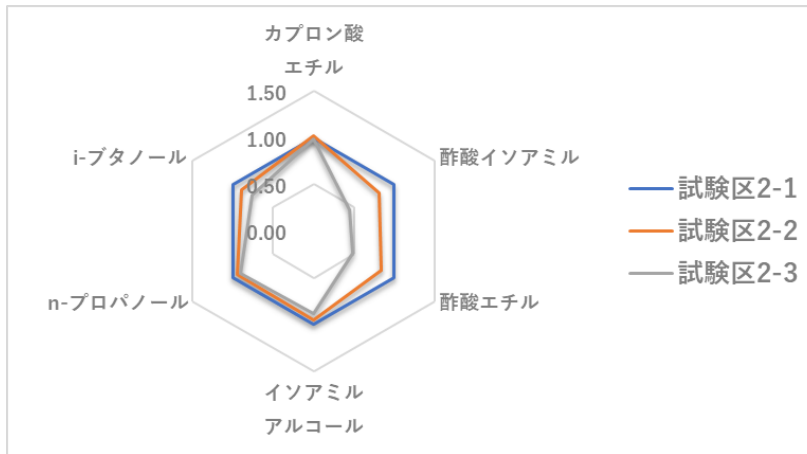
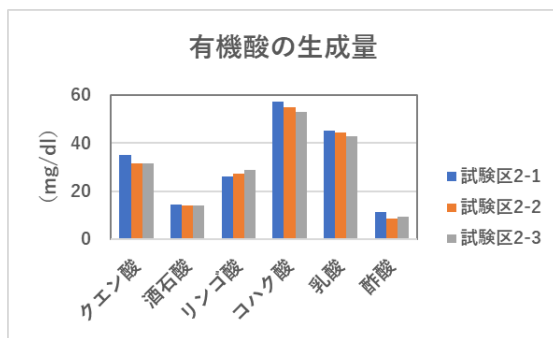


図9 試験区 1-1（製成酒）の各香気生成量を1としたときの比

製成酒の有機酸分析結果を図10および表10に示す。有機酸濃度についても、汲水歩合が少ない方が高くなる傾向にあり、清酒中の有機酸の総量を示す酸度の違いを反映していた。また2回目の実証試験では、各タンクの温度センサー1本を水温測定に使用し、もろみ中の温度を3本のセンサーで計測した（データ未掲載）。



(A)



(B)

図10 製成酒の有機酸分析

(A) 各有機酸の生成量、(B) 試験区 2-1 の生成量を1としたときの比

表10 製成酒の有機酸濃度（単位は mg/dl）

	クエン酸	酒石酸	リンゴ酸	コハク酸	乳酸	酢酸
試験区2-1	35.04	14.30	25.98	57.29	45.17	11.26
試験区2-2	31.69	13.87	27.08	54.72	44.22	8.58
試験区2-3	31.66	13.86	28.93	52.87	42.90	9.40

もろみ期間中の CO₂ 濃度については、一日の最大と最小濃度をピックアップし、グラフを作成した（図 11）。こちらも前回の試験と同様に、一日のうちに最大および最小濃度となる条件に規則性は見られなかったが、汲水歩合が少ないほどもろみ中の CO₂ 濃度も低く推移する傾向が確認された。

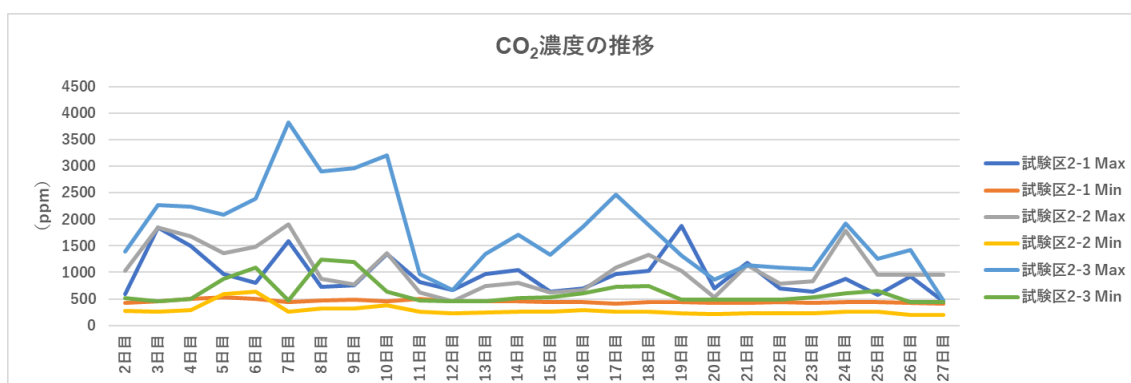


図 11 CO₂ 濃度の推移（1 日の最大値と最小値をそれぞれプロットしてグラフ化）

2 回目の実証試験では、「汲水歩合」に着目して実験を行った。一般的に溶けにくい原料米の場合に汲水歩合を低くし、溶けやすい原料米の場合に汲水歩合を高くするというのが定法であるが、今回は同じ原料米を使用して汲水歩合を変更している。また通常は適切な発酵管理の観点から、グルコース濃度やボーメ値を指標に、発酵が停滞しないよう水を加える「追水（おみず）」という操作があるが、本試験では条件を一定にする目的上、追水を一度も実施せずに上槽した。

2 回の実証試験とも、温度センサー、CO₂ センサー、画像、外気温、湿度などの各種データを連続して記録した。

製成酒の官能評価では、13 名のパネリスト（NTT 東日本秋田支社：5 名、秋田県総合食品研究センター醸造試験場の職員：8 名）が参加した。官能評価後、全員に一番渋味を感じたものについて質問したところ、試験区 1-1 を挙げたのは 3 名、試験区 1-2 は 2 名、試験区 1-3 は 8 名であり、糶入れの頻度が多すぎることで、渋味や苦味となる成分が生成されやすい可能性が示唆された。

最後に分析値と画像データなどを関連付けた発酵管理システムや AI を用いた発酵予測システムの開発に期待したい。

【謝辞】

本研究は NTT 東日本との共同研究により実施した。また糶入れの実施状況についての聞き取りに応じていただいた酒蔵の皆さま、官能評価に御協力いただいたパネリストの方々に対して感謝する。

【引用文献および参考資料】

- 1) 須藤直子、高樋昌、佐藤正、高橋幹雄、鈴木賢二 (2003) 音響解析による清酒もろみの発酵状態の判定 福島県ハイテクプラザ試験研究報告, 87-89.
- 2) 小杉俊、大森信行、豊田敦至、尾崎実、羽柴壮一 (2018) 清酒製造における発酵音の測定 長野県工技センター研報, 13, M81-M82.
- 3) 報道発表資料、2020年4月21日 (吉乃川株式会社、旭化成株式会社、国立研究開発法人物質・材料研究機構、東日本電信電話株式会社新潟支店)、
<https://www.ntt-east.co.jp/niigata/news/pdf/20200421.pdf>
- 4) 鼓尚男 (1967) 清酒もろみ中の固形物の溶解 日本醸造協会雑誌, 62(6), 589-594.

【学会発表概要】 1件

発表学会：秋田応用生命科学研究会第34回講演会

演題名：秋田応用生命科学研究会のこれまでの歩みと秋田での研究について

発表者：高橋砂織（秋田県総合食品研究センター）

発表日と場所：2021年12月3日（秋田県総合食品研究センター&Zoom）

【要旨】

（秋田応用生命科学研究会について）秋田応用生命科学研究会の前身である「秋田応用微生物研究会」は、平成14年（2002年）5月に「秋田県内の微生物、微生物由来の機能性や機能性評価法の開発等の研究を推進するため」の情報交換の場を提供する目的で設立されました。「秋田応用微生物研究会」の設立発起人は、秋田大学医学部杉山俊博教授（初代会長）、秋田県立大学小嶋郁夫教授、同稲本民夫教授、秋田県総合食品研究所高橋砂織、同戸枝一喜氏、秋田十條化成株式会社井上俊三氏、小玉醸造株式会社小玉真一郎氏及び株式会社坂本バイオ坂本賢二氏の8名でした。平成17年5月からは、講演会の発表内容や会員の研究分野の広がりから、ライフサイエンス・バイオテクノロジー全般を包括する意味で、「秋田応用生命科学研究会」に名称を変更し、現在まで活動が続いております。杉山会長亡き後は、会長に秋田県立大学の小林正之先生、副会長に秋田大学の後藤猛先生をお迎えして新たな体制で研究会が運営されており、益々の発展が期待されます。また、事務局も樋渡一之氏、小笠原博信氏、高橋から、樋渡一之氏、佐々木玲氏、松井ふゆみ氏と刷新され、今後20年は継続出来る体制が整っております。秋田応用生命科学研究会の目的の一つである情報交換の効果として、会員同士の共同研究や学生会員の当センターへの就職実績などこれまで20年の活動が多くの実りをもたらしてきたことは、研究会を組織した大きな成果と思います。秋田県立大学の学生さんや特任助教で当研究会での発表経験を持つ方々3名が当研究センターへの就職を叶えています。また、私自身も、科研費関連研究では秋田大学の後藤猛先生、秋田県立大学の吉沢結子先生、常盤野哲夫先生に、また共同研究では秋田大学医学部の久場敬司先生に大変お世話になりました。さらに、後藤猛先生の研究室の多くの学生さんも共同研究に参画して頂き感謝しております。

（秋田県総合食品研究センターでの研究について）大学・大学院では、血圧関連酵素レニンの研究をしておりました。その関係で、昭和50年4月に大学院を中退し、恩師の推薦で国立循環器病センター研究所（現国立循環器病研究センター研究所）生化学部に職を得ました。生化学部の部長は、大阪大学医学部生化学教室の助教授から移られた方で、当時、杉山先生は助手をしておられました。後に、秋田でお会いすることになるとは思ってもおりませんでした。平成4年5月に京都工芸繊維大学に移り、微生物由来の酵素やその阻害剤、組み換え型レニンやレニン結合タンパク質の研究を進めておりました。平成9年5月に縁があり秋田県総合食品研究センター（旧秋田県総合食品研究所）に職を得ました。当初から、食物由来のレニン阻害物質探索研究を進めたいと思ってありましたが、酵素入手や活性測定など多く問題があり、なかなか難しい状況が続きました。本研究会で後藤猛先生のバキュロウイルス発現系の話を知り、組み換え型ヒトレニンの発現にご協力頂くことが出来ました。これを契機に仕事を発展させることが出来ました。ここ10年間の食物由来レニン阻害物質などの研究を紹介したいと思います。共同研究して頂いた皆様のご協力に感謝いたします。

【外部発表論文概要】 4件

(1)論文題名:ACE2-like carboxypeptidase B38-CAP protects from SARS-CoV-2-induced lung injury.

著者名 : Tomokazu Yamaguchi^{1,16}, Midori Hoshizaki^{1,2,16}, Takafumi Minato^{1,16}, Satoru Nirasawa³, Masamitsu N. Asaka⁴, Mayumi Niiyama⁵, Masaki Imai⁶, Akihiko Uda⁷, Jasper Fuk-Woo Chan⁸, Saori Takahashi⁹, Jianbo An¹, Akira Saku¹, Ryota Nukiwa^{2,10}, Daichi Utsumi⁴, Maki Kiso⁶, Atsuhiko Yasuhara⁶, Vincent Kwok-Man Poon⁸, Chris Chung-Sing Chan⁸, Yuji Fujino¹⁰, Satoru Motoyama¹¹, Satoshi Nagata¹², Josef M. Penninger^{13,14}, Haruhiko Kamada⁵, Kwok-Yung Yuen⁸, Wataru Kamitani¹⁵, Ken Maeda⁷, Yoshihiro Kawaoka⁶, Yasuhiro Yasutomi⁴, Yumiko Imai², and Keiji Kuba^{1,16}

¹Departement of Biochemistry and Metabolic Science, Akita University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8534, Japan.

²Laboratory of Regulation of Intractable Infectious Diseases, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition (NIBIOHN), 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085 Japan. ³Biological

Resources and Post-Harvest Division, Japan International Research Center for Agricultural Science, 1-1 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8686, Japan. ⁴Tsukuba Primate Research Center (NIBIOHN), Hachimandai, 1-1 Tsukuba, Ibaraki, 305-0843, Japan. ⁵Laoratory of Biopharmaceutical

Research, NIBIOHN, 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan. ⁶Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan.

⁷Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjyuku-ku Tokyo 162-8640, Japan. ⁸State

Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Carol Yu Center for Infection, Department of Microbiology, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Pokfulam, Hong Kong Special Administration Region, China. ⁹Akita Research Institute of Food and Brewing, 4-26 Sanuki, Arayamachi, Akita 010-1623, Japan. ¹⁰Department

of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka 565-0871, Japan. ¹¹Department of Surgery, Akita University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan. ¹²Laboratory of Antibody Design, NIBITOHN, 7-6-8 Saito Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan. ¹³Departement of Medical Genetics, Life Science Institute, University of British Columbia,

2350 Health Science Mall, Vancouver, BC V6T 1Z3, Canada.¹⁴IMBA, Institute of Medical Biotechnology of the Austrian Academy of Science, 1030 Vienna, Austria, ¹⁵Department of Infectious Diseases and Host Defense, Graduate School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan.¹⁶These authors contributed equally: Tomokazu Yamaguchi, Midori Hoshizaki, Takafumi Minato, and Keiji Kuba.)

雑誌名 : Nature Communications 12, Article Number 6791

<https://www.doi.org/10.1038/s41476-021-27097-8>

発行日 : 2021 年 11 月 23 日

要約 : Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is a receptor for cell entry of SARS-CoV-2, and recombinant soluble ACE2 protein inhibits SARS-CoV-2 infection as a decoy. ACE2 is a carboxypeptidase that degrades angiotensin II, thereby improving the pathology of cardiovascular diseases or acute lung injury. Here we show that B3-CAP, an ACE-like enzyme, is downregulated in the lungs of SARS-CoV-2-infected hamsters, leading to elevation of angiotensin II levels. Recombinant Spike also downregulates ACE2 expression and worsens the symptoms of acid-induced lung injury. B38-CAP does not neutralize cell entry of SARS-CoV-2. However, B38-CAP treatment improves pathology of Spike-augmented acid-induced lung injury. In SARS-CoV-2-infected hamsters or human ACE2 transgenic mice, B38-CAP significantly improves lung edema and pathologies of lung injury. These results provide the first in vivo evidence that increasing ACE2-like enzymatic activity is a potential therapeutic strategy to alleviate lung pathologies in COVID-19 patients.

(2)論文題名 : High-throughput screening of anti-lipidemic agents using PXB-cells®, human primary hepatocytes from humanized mice livers: Assessment of lipoproteins by an enzyme-linked immunosolvent assay on apolipoproteins

著者名 : Sayaka Tomatsu ¹, Masaki Takahashi ², Gen Toshima ⁴, Shiho Nakagawa ⁴, Junichiro Takahashi ⁴, Kazuya Miyashita ³, Kazumi Ogura ³, Masakazu Kakuni ², Keishi Hata ^{1, *}

(¹Akita Research Institute of Food & Brewing, ²PhoenixBio Co., Ltd., ³Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd., ⁴Skylight Biotech Inc.,)

雑誌名 : *Journal of Biological Macromolecules* 21(2), 81-92(2021)

発行日 : 2021 年 12 月 1 日

要旨 : We previously assessed anti-lipidemic activity by evaluating lipoprotein profiles in PXB-cells®, human primary hepatocytes from humanized mice livers, using LipoSEARCH®. This highly sensitive assay system detects low levels of extracellular lipoproteins; however, an increased throughput is needed to simultaneously assay multiple analytes. We herein investigated whether an enzyme-linked immunosolvent assay (ELISA) on apolipoproteins (APO) accurately detects reductions in extracellular lipoprotein levels in PXB-cells treated with

fenofibrate as an alternative to LipoSEARCH. These results suggest the applicability of ELISA on APO to the conventional screening of anti-lipidemic activities in a large number of candidates.

(3) 論文題名：秋田県における保健機能食品開発：「あきた機能性食品素材研究会」設立により商品化を加速

著者名：戸松さやか、佐々木玲、福田敏之、杉本勇人、畠恵司

雑誌名：New Food Industry 64(2), 103-105(2022)

発行日：2022年2月1日

要旨：保健機能食品とは、食品の機能性を表示できる食品で、国が個別に許可した“特定保健用食品（トクホ）”、身体の健全な成長、発達、健康の維持に必要な栄養成分の補給・補完を目的とした“栄養機能食品”、事業者の責任において、科学的根拠に基づいた機能性を表示可能な“機能性表示食品”の3種類からなる。保健機能食品の市場は、機能性表示食品が登場した2015年は5,235億円だったものが、3年後の2018年には7,376億円まで伸びた。特に、機能性表示食品市場の成長が顕著で、2020年にはトクホ市場を追い抜いた（株式会社富士経済発表より）。これまで、秋田県内で発売された保健機能食品には、秋田大学とかおる堂が共同で開発したビタミンDを含む栄養機能食品「大学病院の先生が考えたサブリ饅頭®」、機能表示食品として届出が受理された商品は、あきたこまち生産者組合の「GABA（ギャバ）のチカラ 白米」など4品目とヤマダフーズ株式会社の「おなかの調子を整える」機能を表示した絹豆腐の計5品目（令和3年12月1日現在）で、市場の成長性を鑑みて、益々注力すべき分野であると考えられる。

秋田県総合食品研究センター（秋田県総食研）は、1995年の開所以来、県産食材の生理機能性解明と健康食品開発にも力を入れており、機能性素材の開発や、細胞試験からヒト介入試験まで、県内企業ニーズに対応してきた。近年では、保健機能食品開発にも力をいれ、関与成分の定量、保存期間における定量、試作品における関与成分の定量、安定性の確認、届出申請のサポートを支援している。本稿では、秋田県総食研が関わった保健機能食品や、さらなる商品開発を目的に設立した「あきた機能性食品素材研究会」について紹介する。

(4) 論文題名：美の国からのヘルス&ビューティフーズ発信

著者名：戸松さやか¹、児玉雅¹、畠恵司¹、加藤咲子²、若泉裕明²

(¹秋田県総食研、²東商事株)

雑誌名：食品と開発 57(3)、91-93(2022)

発行日：2022年3月1日

要旨：秋田と言えば、きりたんぼ、あきたこまちと共に秋田美人を思い浮かべる人が多いだろう。日照時間と関連づけて、肌の白さをその要因とする説があるが、実際に、秋田県内で数千人の女子高校生を対象に行われた皮膚の白色度調査において、平均的

な日本人よりも、むしろ西欧白色人種に近いという結果が報告された。株式会社ポーラが 2012 年より実施している「ニッポン美肌県グランプリ」においても、秋田県女性の肌は 2018 年と 2020 年には総合 2 位、2021 年度も“キメ”部門で 3 位となるなど、秋田に対するイメージと合致するデータが発表されている。

秋田県総合食品研究センター（秋田県総食研）では、県産食材や特産品に含まれる生理機能性研究の一環として、美肌に着目した研究を行ってきた。その過程で、秋田県北に位置する三種町の特産品であるジュンサイ (*Brasenia schreberi*) に抗酸化力や抗メタボ作用を見出し、それらの研究成果が、秋田県産ジュンサイを原材料にした化粧品・健康食品素材「ジュンサイエキス」（オリザ油化株式会社、愛知県一宮市）の開発に繋がった。ジュンサイエキスを配合した化粧品／ヘルスケア商品開発は、秋田県内でも進み、高清水化粧品株式会社、AdeB カンパニー株式会社や有限会社 Rets などから発売されている。2021 年度より、秋田県総食研では、美容・健康食品開発の活性化を目的とし、「美の国からのヘルス&ビューティフーズ発信」という研究課題の中で下記の 3 項目について取り組んでいる。

- ・秋田県産食材の機能性評価
- ・あきたヘルス&ビューティフーズの開発
- ・あきたふうどミーティングとの連携

本稿では、ラボ試験における素材の発掘から秋田県内食品企業への技術移転までについて紹介する。

(5)論文題名：しよつつる製造時のもろみと最終製品の 品質に及ぼす酵素剤添加の影響

著者名：原田渉弘¹、塚本研一^{2,3}、高橋徹²、田中彰⁴、早坂浩史⁵、船津保浩¹

(¹酪農学園大学、²秋田県総合食品研究センター、³塚本技術士事務所、⁴北海道立総合研究機構、⁵味香り戦略研究所)

雑誌名： *New Food Industry*, **64**(4), 243–251(2022).

発行日：2022 年 4 月 1 日

要旨：秋田県の伝統食品の 1 つであるしよつつるは熟成に 2 年以上を要ため製造業者から熟成期間の短縮化が求められている。そこで、蛋白質分解酵素製剤を用いてしよつつるを試作し、熟成中の品質について調査することを目的とした。pH はいずれの試料も熟成終了までに大きな変化はなかった。また、全窒素分はいずれの試料も熟成の進行に伴い増加傾向にあり、酵素添加区が対照区に比べ高い値であった。最終製品の品質を市販製品と比較すると、遊離アミノ酸総量では対照区が最も少なく、市販製品は酵素添加区のほぼ中間であった。色調では酵素添加量が増加すると、明度 (L*)、赤味度 (a*) が低く、黄味度 (b*) は高くなった。味覚センサー分析データの主成分分析からは、対照区に比べて 0.1%酵素区では原料由来の苦味がやや異なり、1.0%酵素区とは酸味の強さの点および市販製品とはうま味 (余韻) の強さの点でそれぞれ著しく異なった。

(6)論文題名：酵素剤添加しよつづの物理化学的特性と官能的品質に及ぼす発酵スターターと食塩濃度の影響

著者名：高橋徹¹、塚本研一^{1,2}、渡辺隆幸¹、佐々木康子¹、上原健二¹、須藤あさみ¹、小林侑太郎³、船津保浩³

(¹秋田県総合食品研究センター、²塚本技術士事務所、³酪農学園大学)

雑誌名：日本食品科学工学会誌, **70(2)**, 85–93(2023).

発行日：2023年2月15日

要旨：本研究では乳酸菌発酵スターターと蛋白質分解酵素製剤を用いて3種類の食塩濃度（28%、25%および20%）でしよつづを試作してその品質特性として、ヒスタミン濃度、物理化学特性、味覚分析および官能評価をそれぞれ実施した。いずれの試料の色特性はほぼ類似していた。味覚分析データの主成分分析結果から食塩濃度20%、14-1株添加区は食塩濃度20%、スターター無添加区に比べてうま味（先味と後味）が強調された。順位法による官能評価から、同じ処理区は味が有意に（ $p<0.05$ ）好まれるという結果であった。伝統的製法のしよつづは常温で熟成に2~3年かかり、食塩量も28%と高いが、発酵スターターおよび蛋白質分解酵素製剤を用いて製造したしよつづは30℃で6ヶ月程度の熟成で仕上がり、食塩濃度も28%から20%に低減可能となり、味も好まれることから新たなタイプの製品の製造の可能性が示された。

秋田県における保健機能食品開発： 「あきた機能性食品素材研究会」設立により商品化を加速

戸松 さやか (TOMATSU Sayaka)¹, 佐々木 玲 (SASAKI Akira)¹, 福田 敏之 (FUKUDA Toshiyuki)¹,
杉本 勇人 (SUGIMOTO Hayato)¹, 畠 恵司 (HATA Keishi)^{1*}

Key Words: 保健機能食品, 機能性表示食品, エゴマ, 歩行能力, ポリメトキシフラボン, ギャバ

はじめに


保健機能食品とは、食品の機能性を表示できる食品で、国が個別に許可した“特定保健用食品（トクホ）”，身体の健全な成長，発達，健康の維持に必要な栄養成分の補給・補完を目的とした“栄養機能食品”，事業者の責任において，科学的根拠に基づいた機能性を表示可能な“機能性表示食品”の3種類からなる。保健機能食品の市場は，機能性表示食品が登場した2015年は5,235億円だったものが，3年後の2018年には7,376億円まで伸びた。特に，機能性表示食品市場の伸びが著しく，2020年にはトクホ市場を超えるまで成長した¹⁾。これまで，秋田県内で発売された保健機能食品としては，秋田大学とかおる堂が共同で開発したビタミンDを含む栄養機能食品「大学病院の先生が考えたサプリ饅頭[®]」，また，機能性表示食品として届出が受理された商品は，あきたこまち生産者組合の「GABA（ギャバ）のチカラ 白米」など計6品目（2021年12月1日現在）で，市場の成長性を鑑みても注力すべき分野であると考えられる。

秋田県総合食品研究センター（秋田県総食研）は，1995年の開所以来，県産食材の生理機能性解明と健康食品開発支援を業務の中心の一つとし，県内企業ニーズに応じて，機能性素材の探索や，機能性評価系の開発を行ってきた。近年では，保健機能食品開発支援に力をいれ，関与成分の定量，賞味期限における安定性の確認および届出申請を支援してい

る。本稿では，これまで秋田県総食研が関わった保健機能食品やさらなる商品開発を目的に設立した「あきた機能性食品素材研究会」について紹介する。

1. 秋田県総食研が関わった保健機能食品の開発事例

1-1. 皮膚の健康維持のためのエゴマ種子油「翡翠[®]」

エゴマ（*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara）に多く含まれる α -リノレン酸や，魚油に特徴的なドコサヘキサエン酸/エイコサペンタエン酸などのn-3系脂肪酸は，それらの不足が皮膚炎症の原因となり，しかも，体内で合成されないことから，2015年に栄養機能食品の栄養素として追加された。東商事株式会社（秋田県大仙市）は，秋田県内で栽培されたエゴマ種子から低温圧搾を行い，搾油した食用エゴマ油（商品名：翡翠[®]， 1a)を，賞味期限内における α -リノレン酸の安定性を確認したうえで，“皮膚の健康維持を助ける栄養素”と表示し，展開している²⁾。

1-2. 歩行力サポートサプリメント「てくケア」

筋肉における代謝機能は，運動機能を左右する重要な因子の一つであると考えられている。黒ショウガ（*Kaempferia parviflora*）に含まれるポリメトキシフラボンには，筋肉細胞におけるミトコンドリアの合成およびエネルギー代謝亢進作用が報告されており，黒ショウガエキスを含む食品には，加齢に伴っ

* 責任著者：畠 恵司 (email: hata@arif.pref.akita.jp)

¹ 秋田県総合食品研究センター（〒010-1623 秋田県秋田市新屋町砂奴寄 4-26）



図1 秋田県における保健機能食品

- a: エゴマ種子油「翡翠®」とエゴマ種子 (東商事株式会社)
- b: 歩行能力サポート食品「てくケア」と黒ショウガ根茎部+ジュンサイ幼葉 (株式会社サノ)
- c: 「爛漫ギャバ粉末」と機能性発酵素材工場 (秋田銘醸株式会社)

て低下する運動機能の維持・サポート効果が期待される。実際、黒ショウガエキスを継続摂取した健康成人者では、“単位時間あたりの歩行距離”と“立ち座り回数”の項目で改善効果が認められている³⁾。株式会社サノ（秋田市）は、黒ショウガエキスを含むサプリメント「てくケア」（図 1b）を、“中高年齢者において加齢により衰える歩行能力を維持する機能”と表示したサプリメントとして、消費者庁へ届出を行い、受理された（届出番号：G651）。また、「てくケア」に含まれているジュンサイエキスの機能として内臓脂肪蓄積抑制や、血液中の超悪玉コレステロール（小型、高密度コレステロール）の改善効果が見出されているため⁴⁾、ポリメトキシフラボンのエネルギー代謝亢進作用と合わせて、より効果的なメタボ対策が期待できる。

1-3. トリプルヘルスクレームが可能な「爛漫ギャバ粉末」

γ -アミノ酪酸（ギャバ）は、体内でも合成されるアミノ酸のひとつで、血圧上昇抑制作用やストレス緩和作用など、多くの生理機能が知られている。秋田銘醸株式会社（秋田県湯沢市）では、清酒製造工程で発生する米糠を原料に、*Lactobacillus brevis* IFO12005 による発酵で、高濃度のギャバ生産技術を確立した⁵⁾。さらに、この米糠乳酸発酵素材の新たな生理機能として、脂質代謝の改善機能を解明し⁶⁾、現在では、ギャバを約 4% 含む「爛漫ギャバ粉末」（図 1c）として、国内外に販路を拡げている。

2020 年、同社は、「あきた食品産業活性化モデル

育成事業」の一部助成を受け、機能性発酵素材工場を新設し、「爛漫ギャバ粉末」生産体制の強化を図った。また、本素材について、“睡眠の質（眠りの深さ、すっきりした目覚め）の改善”、“仕事や勉強などによる一時的なストレスや疲労感の緩和効果”、“血圧が高めの方の血圧を下げる機能”に関するシステムティックレビュー作成作業を完了し、県内外食品企業の機能性表示食品届出に対するサポートを開始した。自社においても、スティックゼリータイプのサプリメント（商品名：爛漫 GABA）を開発し、前述の 3 項目での機能性表示食品として届出受理された（届出番号：G830）。

2. 「あきた機能性食品素材研究会」の設立と主な活動内容

秋田県では、県内の保健機能食品開発をさらに加速する目的で、県内に事業拠点を置く 13 社と共に「あきた機能性食品素材研究会」を設立し、主に次の 3 項目について取り組んでいる。

- (1) 県産農林水産物や酒粕、大豆種皮等の低利用食品が有する機能性成分を活用した機能性素材の開発
- (2) 上記の素材および新規機能成分を活用した保健機能食品の開発
- (3) ヘルスケア全般に関する情報交換

2021 年度は「食品製造事業者商品力強化・市場開拓緊急支援事業」として、“酒粕”、“おから”および“米糠”などの低利用資源の機能性食品素材化に関する研究と機能性物質を高生産する微生物の探索を中心に進めている。

引用文献

1. 日本産業流通新聞 WEB 記事, <https://www.him-news.com/news/view/5093>
2. 戸松さやか, 加藤咲子, 若泉裕明, 佐々木 玲, 畠 恵司: 秋田県における保健機能食品開発: 栄養機能食品としてのエゴマ種子油「翡翠®」. *New Food Industry*, **62**(11): 791-795, 2020.
3. Toda K, Kohatsu M, Takeda S, Hito S, Shimizu N, Shimoda H: Enhancement of physical fitness by black ginger extract rich in polymethoxyflavones: a double-blind randomized crossover trial *Integr. Mol. Med.* **3**: 628-634, 2016.
4. 畠恵司, 高橋純一郎, 木内高信, 浜田健太郎: メタボ改善素材開発におけるリポタンパク質プロファイル解析の意義と応用~機能性素材探索からヒト臨床試験まで~. *New Food Industry*, **54**(4): 1-9, 2012.
5. 大友理宣, 木村貴一, 渡邊誠衛, 戸枝一喜: 米糠を用いた *Lactobacillus brevis* IFO12005 による γ -アミノ酪酸含有組成物. *生物工学会誌*. **84**: 479-483, 2006.
6. 大友理宣, 高嶋亜希子, 菊地継夫, 高橋純一郎, 戸枝一喜, 畠恵司: 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**: 33-38, 2011.