

秋田県総合食品研究所報告

第 5 号

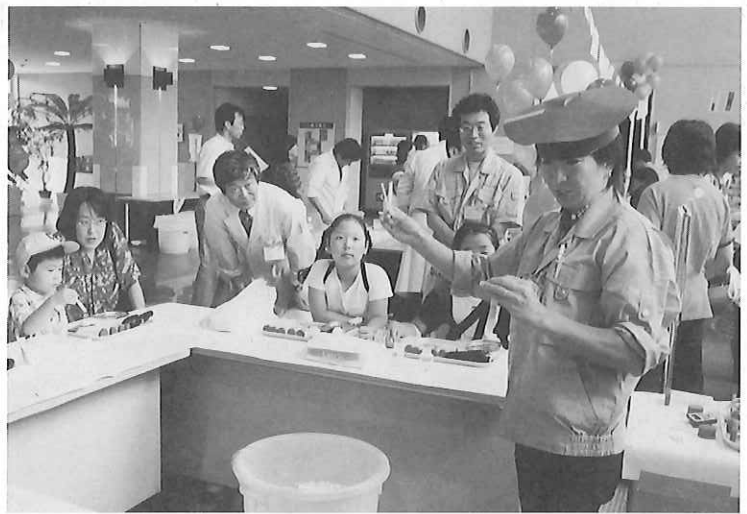
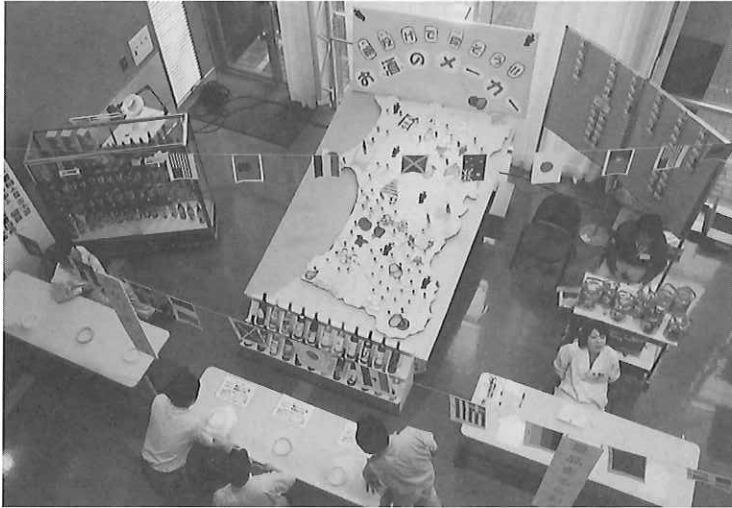
平成15年 (2003年)

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

No.5, 2003

Akita Research Institute of Food and Brewing

ARIF



目 次

1. 原著論文 (報文)

- 「米麴および市販米味噌の抗変異原性」・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究、一米麴の製造法についての検討」・・・・・・・・ 7
○柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理
- 「安全、高品質な食品の製造に関する研究、一いぶり大根漬について」・・・・・・・・ 14
○佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫
- 「攪拌式造粒一真空乾燥法によるぬか床用乳酸菌スターターの粉末化」・・・・・・・・ 21
○佐々木康子、菅原久春、鈴木聡美、柴本憲夫
- 「食品包装容器等のプラスチック素材のポータブル近赤外分光装置による判別」・・・・・・・・ 27
○熊谷昌則、天野敏男、小川信明
- 「秋田県産ハタハタずし製品の成分と官能評価」・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33
○塚本研一、戸松 誠、熊谷昌則、保莉美佳、戸枝一喜、船木 勉
- 「大豆および米遺伝資源試料の活性酸素消去活性とその相乗効果」・・・・・・・・・・・・ 40
○秋山美展、大久長範、高田吉丈、島田信二、山口誠之
- 「DNA鑑定による新奨励米「めんこいな」の品種判別技術の開発」・・・・・・・・・・・・ 48
○小笠原博信、高橋砂織

2. 原著論文 (研究ノート)

- 「無洗米の米飯テクスチャーと貯蔵による変化」・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 55
○大能俊久、堀 一之、大久長範
- 「乾めんの電子顕微鏡による断面観察」・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 58
○大久長範、大能俊久

3. 総説

- 「秋田県産農水産物の生理機能性の解明とその応用一食材から化粧品素材へ」・・・・・・・・ 61
○堀 一之、畠 恵司、高橋砂織

4. 特許の要約 (4件)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 71
5. 学会発表 (26件)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 73
6. 外部発表論文再録 (15件)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 87
7. その他の外部発表論文リスト (10件)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 171

1. 原著論文（報文）

「米麴および市販米味噌の抗変異原性」

○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫

「安全、高品質な食品の製造に関する研究、一米麴の製造法についての検討」

○柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理

「安全、高品質な食品の製造に関する研究、一いぶり大根漬について」

○佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫

「攪拌式造粒一真空乾燥法によるぬか床用乳酸菌スターターの粉末化」

○佐々木康子、菅原久春、鈴木聡美、柴本憲夫

「食品包装容器等のプラスチック素材のポータブル近赤外分光装置による判別」

○熊谷昌則、天野敏男、小川信明

「秋田県産ハタハタずし製品の成分と官能評価」

○塚本研一、戸松 誠、熊谷昌則、保苺美佳、戸枝一喜、船木 勉

「大豆および米遺伝資源試料の活性酸素消去活性とその相乗効果」

○秋山美展、大久長範、高田吉丈、島田信二、山口誠之

「DNA鑑定による新奨励米「めんこいな」の品種判別技術の開発」

○小笠原博信、高橋砂織

米麴および市販米味噌の抗変異原性

渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫（秋田県総合食品研究所応用発酵部門）
Takayuki WATANABE, Kaoru OWARI, Koichi TAKAHASHI, Norio SHIBAMOTO

【要約】

変異原性物質、Trp-P-2(3-Amino-1-methyl-5H-pyrido(4,3-b)indole acetate) に対する米麴、および市販米味噌の抗変異原性を明らかにした。今回調べた全ての米麴の糖化液には抗変異原活性が認められなかったが、米麴を凍結乾燥した粉末物には Trp-P-2 の変異原性を抑制する働きが認められた。また全ての味噌の 80%メタノール抽出液は Trp-P-2 に対して抗変異原活性を示し、サンプル間に活性の差を認めた。

【緒言】

味噌は抗腫瘍活性など様々な生理機能性を有している食品である。発癌の予防効果が期待できる抗変異原活性を味噌が有していることも複数報告^{1)~4)}されており、米味噌、麦味噌、豆味噌などの種類ごとの活性の比較やその活性物質の研究が行われている。

一方、味噌は地域、企業、商品により、原料や製造方法の多様な食品であることが知られている。しかしこのように多様な市販味噌の抗変異原活性を比較検討した例はまだない。

そこで我々は味噌の生理機能性の向上に役立てることを目的として、市販味噌 18 点の変異原性物質 Trp-P-2 に対する抗変異原性試験を行った。

また米麴は味噌、漬物など国内の多くの伝統食品に不可欠で重要な食品材料である。

麴菌の微生物菌体としての抗変異原活性はすでに報告があるが⁵⁾、米麴そのものの抗変異原活性は報告されていない。麴は多くの食品で自己分解された形で摂食される場合が多い。そこで今回、我々は自己分解物のモデルケースとして米麴を糖化液とした場合の抗変異原活性を調査し、また米麴のそのままの形状の活性も凍結乾燥粉末として測定した。

この際、活性の有無のみでなく既に抗変異原活性が報告されている野菜や、味噌など他の食品と比較することも試みた。

【実験方法】

1) 試料の収集

県産の米味噌 8 点、県外産を 10 点（米味噌 9 点、豆味噌 1 点）、県内の販売店で購入し常法により、一般分析を行なった。米麴は売り麴と呼称される主に漬物用に販売されている麴 3 点と味噌製造工場の麴 3 点を購入した。

2) 市販味噌の抗変異原性試験

味噌 5 g に 80%メタノール 50 ml を加え、ホモジナイザー（日本精機製作所 BLA-501）を用い 3 分間磨砕した後、3000 rpm、10 分間遠心後の上清を採取した。

沈殿物に対して同様の操作を 3 回繰り返し行い、遠心上清を合わせて 200 ml にした溶液をサンプルとして抗変異原性試験に供した。抗変異原性試験はエイムス試験のプレインキュベーション法⁶⁾を用い以下の条件で行った。各サンプル 100 μ l に変異原 Trp-P-

2 (和光純薬工業社製)、S9 (S9/コファクターAセット、オリエンタル酵母社製をPhosphate buffered salineで4倍希釈) 500 μ lを加え、*Salmonella typhimurium* TA98 (IFO 14193)の培養液 (37 $^{\circ}$ C、一晚振とう) 100 μ lを加え37 $^{\circ}$ C、20分加温した後、測定用プレートに撒いて、37 $^{\circ}$ C、2日間培養後のアミノ酸非要求性の復帰変異株の数を測定 (Sとする) した。

サンプルの代わりに同量の溶媒を用い変異原を加え同様の操作を行った場合の変異株数をT、変異原の溶媒のジメチルスルホキシドを変異原の代わりに加え同様の操作を行った場合の変異株数をBとして以下の式により抗変異原性を求めた。

$$\text{抗変異原活性 (\%)} = (T - S) / (T - B) \times 100$$

3) 麴糖化液の抗変異原活性

米麴各100gに熱水200mlを加え、56 $^{\circ}$ C、1時間保持した後、濾紙 (アドバンテック東洋社製、No. 2) による濾過液をさらに0.20 μ mのフィルター (アドバンテック東洋社製、DISMIC-25) で濾過し、1) の味噌の80%メタノール抽出液と同様に抗変異原性試験を行った。

4) 米麴の固形物としての抗変異原活性

米麴は加水凍結物を粉碎後、凍結乾燥した。ポテトデキストロース液体培地で振とう培養した麴菌体、および比較のため野菜類、味噌についてもそれぞれ同様に凍結乾燥粉末とした。凍結乾燥した各サンプルに一定量のTrp-P-2溶液 (終濃度0.5 μ g/ml) を加え、37 $^{\circ}$ C、1時間振とうした後、遠心上清100 μ lをエイムス試験に供した。

【結果と考察】

1) 市販味噌の抗変異原性

表1に市販味噌18点の表示項目、価格、表2に一般成分分析値を示した。

米味噌17点について表示項目から原料割合を推測すると米が大豆より多い、いわゆる麴歩合が10以上の味噌は6点あり、この内の1つ (Q) は甘味噌と呼ばれる味噌である。

甘味噌を除く米味噌について全窒素、直接還元糖、粗脂肪、食塩の分析値をみると製品毎の違いが多く、またpHも差が認められ、製品毎の原料配合、熟成方法等、製造方法が多様であることがうかがえる。味噌の色の明るさを示すY%も製品間に大きな差が認められた。各市販味噌の80%メタノール抽出液について2連の抗変異原性試験を3回行った平均値を図1に示した。今回調べた全ての味噌の抗変異原活性が認められたが、最も高い製品 (R) は豆味噌であり、甘味噌と言われる米味噌 (Q) の活性が今回調べた中では最も低く、その他の米味噌はその中間的な活性の高さを示した。

味噌の抗変異原性の成分として報告されている、脂肪酸、脂肪酸エステル、イソフラボンなどが、大豆由来の成分であることから、大豆の使用割合の多い味噌の活性が高いことが予想されるが、今回の結果でもその予想と合致する傾向がみられた。

しかし米が大豆より多く使用されている、いわゆる麴歩合の高い味噌であっても、活性の高かった味噌 (H) があった。このことから、原料の使用割合以外の要因が活性の高さ

に影響している可能性が認められた。また同一メーカーの製品（CとD、IとJ）でも活性に差がみられ、どちらも価格の高いサンプルの活性が高かったことから使用原料や、熟成期間が活性に影響を与えている可能性が考えられる。味噌の着色の原因成分であるメラノイジンは味噌の熟成により生成するアミノ酸と糖の反応生成物であるが、抗変異原活性を有していることが認められている³⁾。メラノイジンが多いと思われる着色の進んだ、Y%の低い味噌の高活性も予想したが、今回の米味噌の結果からはその傾向は明らかにすることは出来なかった。なお県内の米味噌の活性の平均値と県外の米味噌の活性の平均値には大きな差が認められなかった。今後はさらに多くの市販米味噌について抗変異原活性を調べ、脂肪酸エステル¹⁾、脂肪酸²⁾、イソフラボン⁴⁾、メラノイジン³⁾など既知の活性成分の定量とその抗変異原活性との関連について調べる予定である。

表1 市販味噌の表示項目、価格

No.	品名	産地	原材料	価格/kg
A	米味噌	秋田	大豆、米、食塩	647
B	米味噌	秋田	米、大豆、食塩、アルコール	428
C	米味噌	秋田	大豆、米、食塩、アルコール	398
D	米味噌	秋田	大豆、米、食塩	717
E	米味噌	秋田	大豆、米、食塩、アルコール	528
F	米味噌	秋田	大豆、米、食塩、アルコール	548
G	米味噌	秋田	米、大豆、食塩、アルコール	498
H	米味噌	秋田	米、大豆、食塩	980
I	米味噌	県外	大豆、米、食塩、アルコール	258
J	米味噌	県外	米、大豆、食塩、アルコール	398
K	米味噌	県外	大豆、米、食塩	397
L	米味噌	県外	大豆、米、食塩、かつお節粉末 かつおエキス、昆布エキス、アルコール、調味料	398
M	米味噌	県外	大豆、米、食塩、かつお節粉末 かつおエキス、昆布エキス、アルコール、調味料	464
N	米味噌	県外	米、大豆、食塩、アルコール	556
O	米味噌	県外	大豆、米、食塩	796
P	米味噌	県外	大豆、米、食塩、アルコール、調味料（アミノ酸等） かつおエキス、煮干粉、たんぱく加水分解物、 煮干エキス、昆布エキス	298
Q	米味噌	県外	米、大豆、食塩、水あめ、アルコール、V. B2 保存料（ソルビン酸K）、漂白剤（次亜塩素酸Na）	736
R	豆味噌	県外	大豆、食塩、砂糖、かつお節、こんぶ、 調味料（アミノ酸等）、アルコール	796

表2 市販味噌の一般分析値

No.	全窒素 (%)	還元糖 (%)	粗脂肪 (%)	NaCl (%)	pH	Y %	x	y
A	1.71	15.13	4.90	11.66	4.77	5.09	0.4709	0.3948
B	1.64	16.79	3.14	10.74	4.92	9.73	0.4805	0.4030
C	1.83	13.70	4.90	11.30	5.00	21.73	0.4359	0.4103
D	1.72	13.73	5.00	11.59	5.05	12.23	0.4709	0.4082
E	1.76	12.43	3.98	9.81	5.05	12.91	0.4714	0.4132
F	1.62	15.49	3.44	12.18	4.99	8.33	0.4785	0.4014
G	1.30	23.90	3.20	10.66	4.98	14.00	0.4629	0.4081
H	1.51	16.42	4.44	9.84	4.65	10.19	0.4717	0.4053
I	1.86	11.50	3.90	12.17	5.22	24.63	0.4273	0.4070
J	1.92	10.97	4.58	11.43	4.97	7.73	0.4720	0.3970
K	1.85	9.81	4.04	11.79	4.95	7.80	0.4788	0.3973
L	1.97	12.70	4.50	11.19	5.13	14.04	0.4604	0.4042
M	2.01	12.00	6.02	11.05	5.27	16.65	0.4622	0.4046
N	1.72	16.82	6.88	8.43	4.96	17.37	0.4589	0.4071
O	1.81	20.58	4.86	10.99	4.84	6.35	0.4770	0.3991
P	2.10	15.13	5.78	11.44	5.13	10.52	0.4696	0.4019
Q	1.33	20.64	2.20	2.62	4.46	39.44	0.4069	0.4116
R	2.76	3.72	9.46	10.80	4.81	2.43	0.4578	0.3796

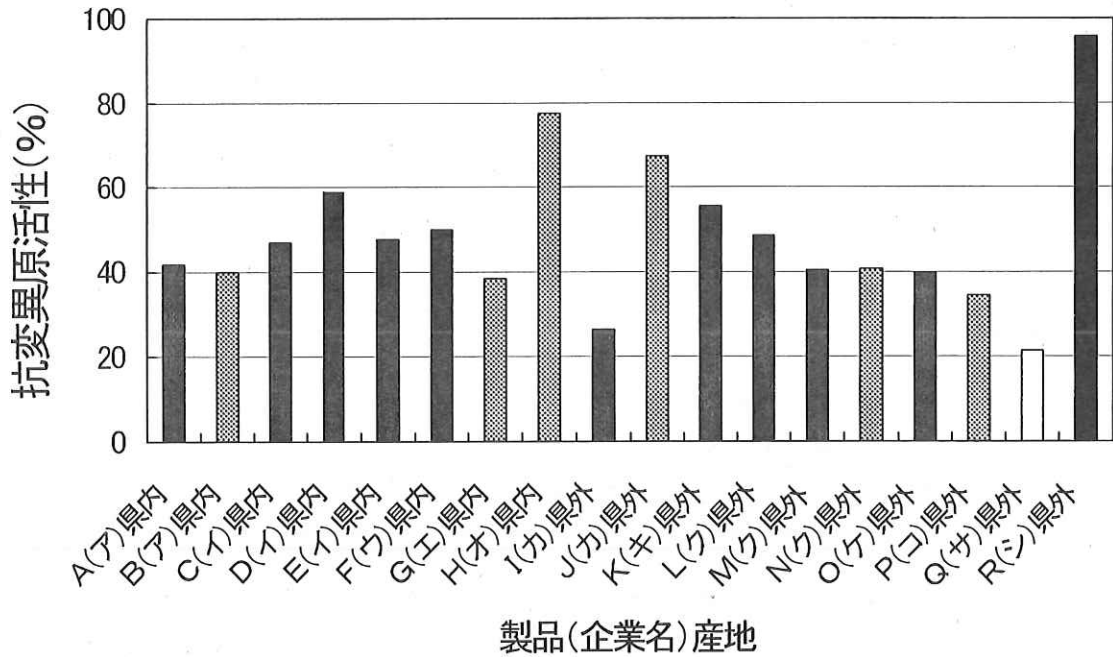


図1 市販味噌80%メタノール抽出物の抗変異原活性

2) 麴糖化液の抗変異原活性

今回調べた6点の麴の糖化液には Trp-P-2 に対して抗変異原活性が認められなかった。
(データ省略) 今回麴の分解物のモデルとして糖化液を用いたが、サンプルが高濃度の糖類や若干のアミノ酸類を含んでいたことから、ヒスチジン要求性の変異株を求めるエイムス試験では活性測定に難しい点があった。今後、麴糖化液に関しては抗変異原活性の測定方法の検討が必要と考える。

3) 米麴の固形物としての抗変異原活性

麴そのもの活性として凍結乾燥品とした場合の抗変異原活性を、麴菌体、味噌について野菜の凍結乾燥品を対照として測定した結果を図2に示した。

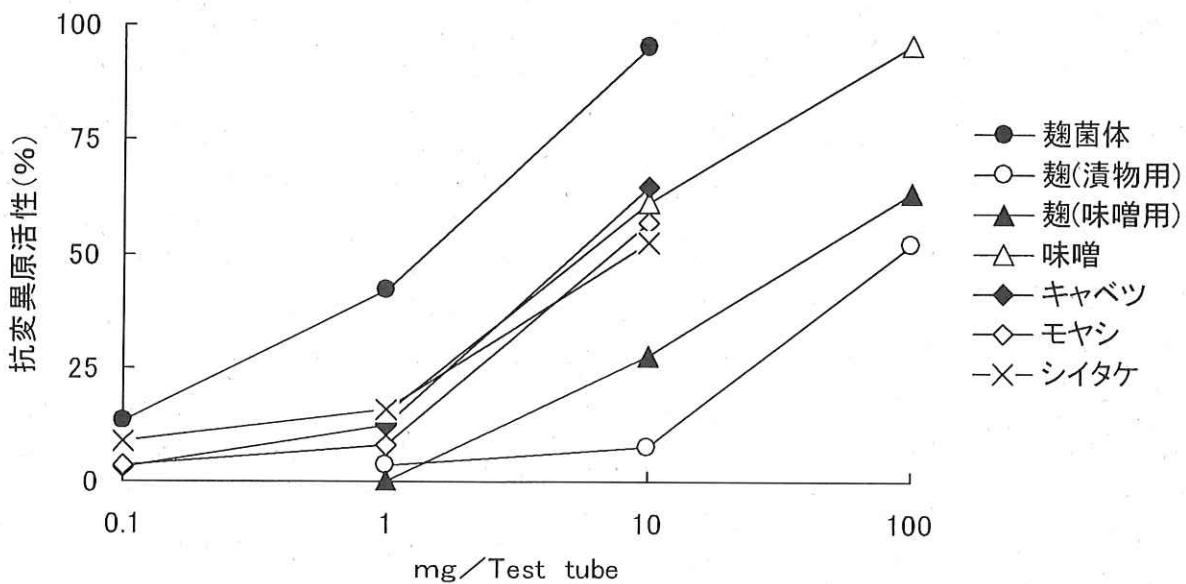


図2 麴菌体、米麴、味噌、野菜の抗変異原活性の比較

活性の強さは麴菌体>味噌>麴でキャベツ、モヤシ、シイタケは味噌と同程度の活性であった。すでに麴菌の抗変異原活性については報告されている³⁾。麴菌体を含む米麴にも明らかに Trp-P-2 の変異原活性を抑制する働きがあることが認められた。

なお米麴の活性は乾燥重量で比較するとキャベツなどの1/10程度であるが、麴の水分が28%程度、野菜類はいずれも90%以上であることから今回の結果を新鮮重量に換算して比較すると、米麴は日常的に摂食される野菜類と同等の抗変異原活性を有していた。

米麴の麴菌体量と抗変異原活性との相関や自己消化した際の米麴の抗変異原性は、今後の課題として取り組みたい。

【文献】

- 1) 岡崎 秀, 秋葉美智子, 木村秀一 : 昭和 5 9 年度日本農芸化学会大会講演要旨集, p.636(1984)
- 2) 山本和子, 大崎好子, 加藤哲太, 宮崎利夫 : 味噌の科学と技術,42,65(1994)
- 3) 加藤博通 : 味噌の科学と技術,41,40(1993)
- 4) 鈴木 充, 北川由加, 神山卓文, 富田信一, 清澤 功, 松山 惇 : 1999 年度日本農芸化学会大会講演要旨集,p133(1999)
- 5) Naomi Asahara,Xue Bin Zang,Yoshiyuki Ohta : J. Sci. Agric., 58,395(1992)
- 6) 早津彦哉 : 変異原物質試験法,p31 廣川書店(1990)

安全、高品質な食品の製造に関する研究

—米麴の製造法についての検討—

柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理
(秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Norio SHIBAMOTO, Takayuki WATANABE, Koko SASAKI, and Mari SUGAWARA

【要約】

県内の食品の安全性、品質向上をめざし、HACCP手法を用いて伝統的食品の製造工程の検討を行った。水産漬け物、漬け物の中でも浅漬けについては病原微生物などの存在が指摘されている。秋田ではとくに、ハタハタずしに大腸菌群が存在する例があり、原因の多くは麴の製造に問題があることが明らかとなり、麴について特に微生物面から検討を行った。その結果、HACCP手法に則って、品質のよい製品ができるようになった。

【緒言】

秋田の特産であるハタハタずしについてのクレームとして大腸菌群の存在が流通業界から出された。県の衛生指導基準にはないが、製造工程が衛生的か否かの判断基準として求められる。このため、原料から製品に至る工程を調べたところ、米麴に原因することがわかり、米麴の製造法を検討する必要に迫られた。安全な食品の製造工程を作るためにHACCPの導入が言われている。現状の施設で動線、ゾーニング、重要管理点などの考えを取り入れ、HACCPの簡易構築ができないか検討した。

【実験方法】

1. 原材料

(1) ハタハタずし

大腸菌群についてクレームの発生した県内のハタハタずし製造業者から3週間熟成したもの、製造直後のものを入手し、使用した。

(2) 米麴の製造、製造原料、製造過程の試料

県内の米麴製造業者に共同研究を申し込み、米麴の製造、製造工程の改良などHACCPの手法を用いた微生物管理を試みた。また各試験段階の試料を得た。

2. 試料調製

(1) ハタハタずしについて

熟成期間の異なる各サンプルを上敷き笹、下敷き笹、ハタハタ魚体、麴部分、野菜・海藻部分に分け、笹以外は各5gを45mlの滅菌生理食塩水中でマステイクーターで30秒間磨砕した。得られた磨砕液を上記生理食塩水で数段10倍希釈し、微生物検査に供した。

なお、笹についてはふき取り法（衛生試験法¹⁾）により測定した。
検査に使用した培地は次の通りである。

一般生菌	ペトリフィルム（好気性細菌数測定用；リー・エム・スケア社製）
大腸菌群	デゾキコルト培地（日水製薬社製）、混釈法

(2) ハタハタずし製造用麴について

製造会社の異なる2点の米麴、製造途中の調味付け麴、漬け込み直前の熟成麴サンプル2点を上記と同じ方法で分析した。ハタハタずし漬け込み用麴の作り方は米と麴を5：4で混ぜ、調味後、16時間熟成後、漬け込み用麴とする。

(3) pHの測定

微生物検査に用いたマステイケーター磨砕液をpHメーター（TOA社製）で測定した。

(4) 落下細菌検査

直径9cmのペトリシャーレに目的にかなう培地を注入、固化し、検査場所に25分間開放し、その後これを37℃、24時間培養し、生成するコロニーを計測した。

大腸菌群測定	デゾキコルト寒天培地（日水製薬社製）
一般生菌	標準寒天培地（日水製薬社製）

(5) 工場施設の汚染検査

ふき取り培養法（衛生試験法による）により行った。各微生物の検出は一般生菌、大腸菌群はハタハタずし細菌検査に準じ、乳酸菌数測定はBCP加7°プレートカウントプレート培地（日水製薬社製）を用い、混釈法で行った。

3. 一般衛生管理、HACCP導入の手順について

一般衛生管理についてはティーポール社²⁾の方法により、HACCP手法については加藤³⁾の方法により行った。

- (1) 現状の把握：現場内視察、環境微生物測定
- (2) 衛生管理ポイントの提案：ゾーニング、動線、重要管理点
- (3) 標準衛生作業手順の作成
- (4) マニュアル作成
- (5) 点検表の作成

【結果】

1. 大腸菌群汚染製造工程で作られたハタハタずしの菌検査

取引先の菌検査により、大腸菌群の汚染があるとのクレームが発生し、対策のため汚染原因の調査をした。

原因を究明するため、製造直後と3週間熟成させた製品について、大腸菌群、一般生菌の数を測定した。その結果を表1に示す。

表1 クレームハタハタずしの菌数測定

		大腸菌群	一般生菌	pH
製造直後製品	笹 上敷き	3.0×10^4	4.0×10^5	
	笹 下敷き	1.2×10^4	2.0×10^7	
	野菜・海藻	1.2×10^2	1.7×10^5	4.20
	ハタハタ魚体	0	2.0×10^4	4.21
	麩部分	3.5×10^4	2.5×10^5	4.20
熟成品	笹 上敷き	1.6×10^2	4.0×10^5	
	笹 下敷き	1.7×10^2	5.0×10^6	
	野菜・海藻	3.0×10	1.7×10^5	4.38
	ハタハタ魚体	0	7.0×10^4	4.37
	麩部分	4.0×10	2.2×10^6	4.35

注) 笹の菌数は1枚あたりの菌数、それ以外は(CFU/g)

ハタハタずしの内容物の大腸菌群の分析の結果、麩部分と下敷きの笹に多く存在することが明らかとなった。麩部分に非常に多いことから、漬け込み用麩の製造過程に問題があったことが推定された。また下敷き笹に大腸菌群が多く存在したのは漬け込み用麩に最も接して、麩が付着していたためである。熟成品の方が製造直後製品より大腸菌群が減少している。これは乳酸発酵による低いpHでの長時間熟成により大腸菌群が死滅したためと考えられる。一般生菌のほとんどが乳酸菌であった(データ示さず)。

2. 原料麩、漬け込み用麩の菌検査

漬け込み用麩が大腸菌群汚染の原因であることが明らかになったため、2社の麩とそれを使用して作成した調味付け麩、さらに熟成させた漬け込み用麩について菌検査を実施した。

表2 原料麩、漬け込み用麩の菌数検査

		大腸菌群	一般生菌
A社製	麩 1	6.0×10^2	2.0×10^7
	麩 2	0	3.2×10^7
	調味付け麩	1.0×10	2.0×10^7
	漬け込み用麩	1.0×10	2.2×10^8
B社製	麩 1	1.0×10^3	3.6×10^7
	麩 2	8.0×10^3	3.5×10^7
	漬け込み用麩	2.0×10^2	1.5×10^8

(単位はCFU/g)

A社、B社の原料麩を比較した場合、明らかに大腸菌群汚染の程度が違い、B社の製品は衛生的に作られていないことがわかる。ハタハタずしの汚染原因が明らかになり、漬け込み期間の短いハタハタずしは大腸菌群が検出されることが明らかとなった。集めることのできた県内の麩すべてについて同じ検査を行っ

たところ、数社を除いてほとんどの会社の製品から大腸菌群が検出された（データ示さず）。

3. 麴の製造工程

麴の製造工程を図1に示す。

重要管理点は蒸煮工程と最後の金属探知機の2点とし、他の工程は一般衛生管理で行うこととする。

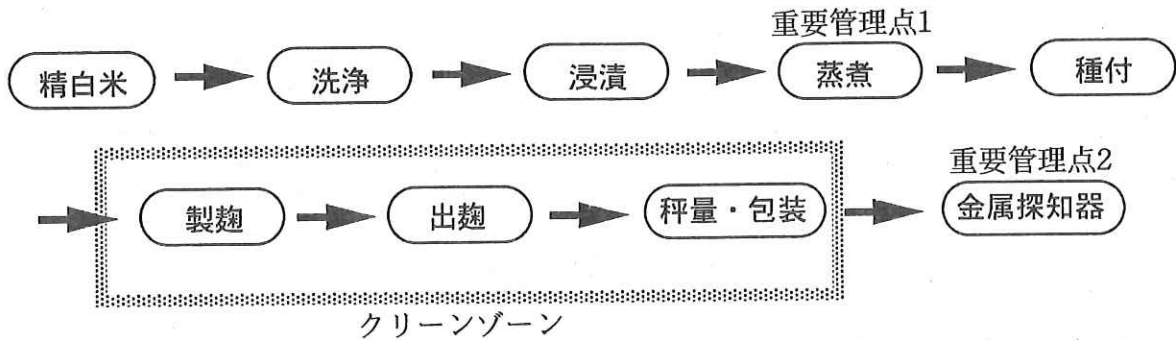


図1 米麴の製造工程

4. B社の麴製造の現場視察

麴製造B社と高品質製品製造の共同研究を行うこととし、最初に工場視察を行った。工場の見取り図、機械の配置は図2に示す。

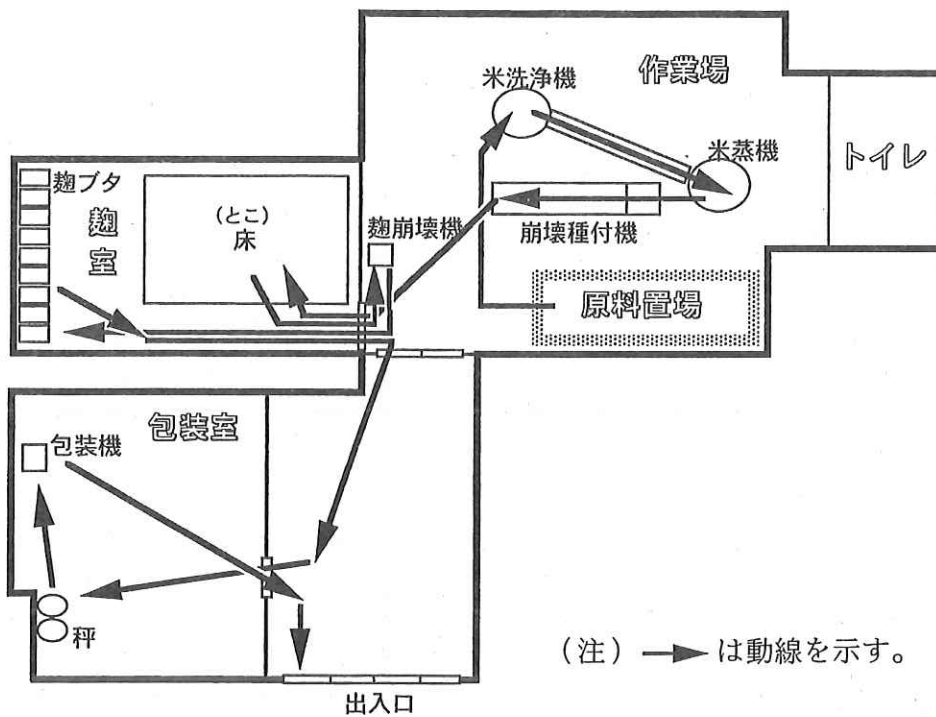


図2 工場見取り図および動線

(1) ゾーニング

味噌、醤油、麴製造で何代も続いた老舗（従業員数6名）のため、昔風の作りであり、機械の配置、汚染区、準清潔区、清潔区の完全な区別が不可能であった。このため、製造工程図からして、最も管理の難しいムロだけを清潔区とし、準清潔区は今回は設けないことにした。

(2) 動線

原料から製品の流れは図2の中の矢印のように流れる。

(3) 一般衛生管理

現場視察での微生物検査の結果を表3に示す。清潔区であるべきムロの状態、種付け機、使用する器具すべての面において、麴が食品として衛生的に製造されていない状態であった。まず、5S（整理、整頓、清潔、清掃、習慣付け）から始めた。最初現場視察（12月）の検査と比較して、共同研究の開始した4月にはムロに至る機械、ムロの微生物汚染はなくなったが、表4に示されるように、製品の大腸菌群は減少しなかった。6月より使用器具の消毒殺菌に注意したが、衛生面での習慣付けができていなかったため、好悪を繰り返した。1月、製造工程を再チェックし、2月の結果では麴かきおとしのササラだけになり、製品から大腸菌の検出が大幅に減少した。他の作業に使用しているササラを混同しなければ、ほぼ大腸菌群のない製品ができるまで到達できた。（表5）

表3 ふきとり検査（大腸菌群）の結果

No.	ふき取り箇所	4/24	5/30	6/27	7/25	8/27	9/26	10/29	11/19	12/12	1/21	2/19	3/18
1	崩壊種付け機	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	麴崩壊機	0	0.1	0	0	15	0.4	0	0	0	0	0.1	0
3	タオル	0	0			212	0	0.1	0	0	0	0	0
4	箕			0.2	1.2	0.5	0	0	0	0	0.1	0.2	0
5	ムロ・温床の表面	0	0.1	0.1	19.5	7.8	0	0	0	0.4	0.4	0	0
6	ムロ・温床・毛布	0	0	0	5.3	2.2	0	0	0	0.1	0	0	0
7	ムロ・洗面器	0	0	0	0	0	0.6	0	0	0	0	0	0
8	ムロ・温床・布						0	0	0.5	0	0	0	0.1
9	ムロ・針金	6.9	1.8	0	0.1	91	3.5	0.1	0	0	58	0	0
10	ムロ・温度センサー	0	1.1	3.3	0.1	0	0.1	0	131	2.1	269	0	0
11	ムロ・切返し用ほうき							0	0	1.5	6.4	0	0
12	ムロ・切返し用スコップ							0.1	0.3	10 ³ 以上	0.6	0	0
13	ムロ・手入れ用スコップ（小）							0.1	0	0.5	3.8	0	0
14	ムロ・ならし板							0	0	0.1	2.4	0	0
15	ムロ・しきり布							0	0	3.6	2.4	0	0
16	ムロ・棚（スコップ等の置場）							0.1	307	61	0.1	0	0
17	ムロ・ささら（崩壊機使用時）							705	10 ³ 以上	10 ³ 以上	0.9	442	10 ³ 以上
18	ムロ・麴ブタ（最上段・蓋用）							385	2.5	0.9	0	3.7	1.1
19	麴カッター	0	0	7.5	0	3.0	0	2.4	1	0.1	0	0	0
20	ハガシ（ヒラ）	0	0	24.5	0	0	0.1	0	22.9	0	0	0	0
21	計量器（秤）	0	0	6.6	0	109	0	0.3	0.5	0	0.3	0	0
22	包装室・板		0	0	0	0.1	0.5	0	0.4	0	0	0.1	0.1
23	シーラー		0	3.9	0	0.5	0	0.1	0.4	0	0.3	0	0
24	洗面所		0	2.3	0	69	0	0		0	0	0	0

（単位はCFU/cm²）

表4 落下細菌の結果

No.		カビ											細菌												
		4/24	5/30	6/27	7/25	8/27	9/26	10/29	11/19	12/12	1/21	2/19	3/18	4/24	5/30	6/27	7/25	8/27	9/26	10/29	11/19	12/12	1/21	2/19	3/18
1	米洗浄機	13	828	36	21	12	1	19	84	多	5	11		4	86	8	3	3	1	4	10	11	1	1	
2	米運搬用トタン					3					4	5						6					4	0	
3	米蒸機	36	310	42	10		10	11	22	多	2	0	5	4	11	6	3		2	4	5	9	0	2	0
4	崩壊種付機(1)	11	1044	39	12	15	7	12	28	多	3	10	10	2	36	2	5	3	4	9	3	13	0	0	5
5	崩壊種付機(2)	14	1096	33	27	14	11	21	156	多	4	17	51	3	23	4	2	3	3	10	4	15	1	1	6
6	作業場(麴ブタ)	56	598	42	70	12	75	18	25	多	6		8	6	210	4	6	13	8	6	4	10	1		3
7	麴崩壊機	9	522	98	31	9	34	20	14	多	2	16	5	5	181	20	12	2	9	9	2	27	0	3	3
8	温床(1)	23	184	441	56	57	407	119	*	168	176	174	118	3	5264	9	158	85	59	276	*	540	1096	6	37
9	温床(2)	25	176	374	35	85	285	89	*	244	91	110	93	3	2888	6	88	54	23	55	*	317	357	10	30
10	温床(3)	19	174	304	42	102	226	83	*	192	146	63	76	13	4544	2	115	62	36	76	*	461	221	5	13
11	温床(4)	20	204	283	40	56	325	141	*	267	58	106	61	1	1824	8	102	39	38	116	*	478	75	7	7
12	麴室	9	324	250	24	54	262	98	107	201	88	47	42	1	3136	5	94	31	5	41	70	444	187	5	43
13	包装室	22	128	1	0	7	11	16	69	多	8	11	12	1	6	2	8	118	2	0	2	14	1	0	0
14	秤	19	76	2	0	9	8	17	51	多	5	3	4	4	5	0	5	15	1	5	2	13	2	2	1
15	包装機	30	83	5	0	5	6	34	57	多	12	11	10	5	8	0	2	2	3	0	0	11	1	1	0

(注) 単位はCFU/plateである。ただし、*はコロニー拡散のため測定不能を表す。

表5 工程毎の米麴の大腸菌群数

出麴日	米麴	種付後	1回目切返し後	2回目切返し後	出麴
2001.9.27		2.4×10^2	2.0×10	4.0×10^2	5.2×10^3
2001.10.11		陰性	7.4×10^2	1.4×10^3	10^4 以上
2001.11.18		陰性	陰性	1.5×10	1.8×10^3
2001.11.19		陰性	陰性	7.3×10^2	8.5×10^2
2002.1.18		陰性	陰性	1.0×10	4.0×10^3
2002.1.19		陰性	陰性	9.0×10^2	2.6×10^2
2002.1.23		陰性	5.0	2.5×10	1.7×10^3
2002.2.21		陰性	陰性	6.0×10	7.5×10

(単位はCFU/g)

【考察】

食品への麴の使用方法が変化したため、伝統的手法で作られてきたほとんどの麴が安全な食品製造の原料となりえなくなっている。麴の使用は旧来、米麴味噌、漬物、発酵期間の長い水産漬物であった。近年はハタハタずし、浅漬など熟成期間が短くなり、非加熱摂取されるこれら製品は麴中の微生物がそのまま食品に持ち込まれている。大腸菌群は秋田県の衛生指導基準においても言及されていないが、流通業界では製造所の衛生状態の基準とし、大腸菌群の存在しないことを求めている。

これらのニーズに対応するため、県内の麴製造所、その製品について、調査した。数社すぐれた会社はあったもののほとんどは大腸菌群に汚染されていた(データ示さず)。この現状を打開し、広域流通可能な食品原料としての麴の製造にHACCP手法を用いて行った。HACCPとはいったものの、まず、5Sの徹底、一般衛生管理から始めた。1年間の共同研究期間終了時では一般衛生管理の半ばであった。製品としては非常な改善が見られ、大腸菌群数 1.0×10^2 (CFU/g)以下が達成できた。これ以上の製品の品質向上には設備への投資が必要とされる。

【文献】

- 1) 西島基弘編：衛生試験法・注解(金原出版)、68-106、2000
- 2) テイポール社：食品工業、1999-5、75-78
- 3) 加藤光男：HACCP導入のポイント(日本経済新聞社)、98-145、1999

安全、高品質な食品の製造に関する研究

—いぶり大根漬について—

佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫（秋田県総合食品研究所応用発酵部門）
Koko SASAKI, Mari SUGAWARA, and Norio SHIBAMOTO

【要約】

県内企業 A社のいぶり大根漬にクロストリジア汚染があったことが保健所の抜き取り検査によって判明し、A社は、クロストリジア汚染への対策を求められていた。A社から相談を受け、クロストリジアと指摘された菌の詳しい同定を行ったところ、クロストリジアと指摘された菌は、毒素非生産の菌種であった。一方、クロストリジア汚染対策としては、クロストリジア汚染の原因となる土壌の持ち込みをなくするための消毒槽の設置、ゾーニングの変更による製品への土壌の接触防止など、HACCP手法を用いた工程改善を行った。その結果、製品のクロストリジアは陰性になった。

【緒言】

伝統食品であるいぶり大根漬は、本来は保存食であり、微生物的変質がきわめて少ない食品であった。ところが、近年、真空包装を用いた低塩の広域流通製品が主流となり、低塩分に起因する微生物汚染、および真空包装に起因する嫌気性菌（特にクロストリジウム属菌）汚染が問題となっている。今回、A社のいぶり大根漬にクロストリジア汚染があったことが保健所の抜き取り検査によって判明し、クロストリジア汚染の対策を求められていると A社から相談を受けた。これに対して、検出されたクロストリジアが食中毒菌のボツリヌス菌であるかどうかを調べるために、クロストリジアの同定を行った。また、クロストリジアを陰性にするための微生物汚染対策として、HACCP手法を用いた工程改善を行った。

【実験方法】

1) 試料

試料としたいぶり大根漬は、一本漬で、A社から提供を受けたものであり、製造工程は図 1の通りである。今回試料として用いたのは、以下の 2種類である。

- (1) 加熱殺菌済製品（保健所から指摘された製品と同一ロット。以後、製品と記載）
- (2) 漬込み中のいぶり大根漬（以後、半製品と記載）

原料大根受け入れ → 水洗 → 連編 → スモーク乾燥 → 水洗 → 漬込 → 水洗 → ガス抜き → 計量 → 真空包装 → 加熱殺菌（80℃，30分間） → 冷却 → 検査（金属探知器）→ 箱詰め → 保管 → 出荷
--

図 1 いぶり大根漬の製造工程

2) 微生物検査

採取したサンプル各 5 g は細刻し、45 ml の滅菌生理食塩水を加え、マスティケーター（グンゼ産業社製）で 30秒間磨砕した。得られたマスティケーター磨砕液を滅菌生理食塩水を用いて段階希釈し、微生物検査用試料とした。微生物検査に使用し

た培地、培養温度、培養時間は次の通りである。一般生菌は、ペトリフィルム（一般細菌数測定用；スリーエムヘルスケア社製）、35℃、48時間培養、大腸菌・大腸菌群は、ペトリフィルム（*E. coli* および大腸菌群数測定用；スリーエムヘルスケア社製）で、35℃、24時間培養、クロストリジアは、クロストリジア寒天培地（日水製薬社製）、フィルムパウチ法で、37℃、24時間培養、乳酸菌は、BCP加プレートカウントアガール（日水製薬社製）で、30℃、72時間培養、カビ・酵母は、ペトリフィルム（カビ・酵母測定用；スリーエムヘルスケア社製）で、25℃、5日間培養、耐熱性好気性菌は、75℃、15分間加熱後、急速冷却し、一般生菌数測定法に準じて行い、培養後、出現したコロニー数を計測した。

3) pHの測定

微生物検査に用いたマスティケーター磨砕液をpHメーター（TOA社製）で測定した。

4) 水分活性の測定

定法により、水分活性測定装置（novasina社製 AWC 203C）で測定した。

5) クロストリジアの分離、同定

保健所の指摘を受けた製品と同一ロットの製品（いぶり大根漬 1本入）2袋（1袋から5ヶ所 計10カ所サンプリング；2連）について微生物検査を行ったが、クロストリジアは検出されなかった。半製品について微生物検査を行ったところ、半製品6本（計25カ所サンプリング；2連）のうち4本（計6カ所）からクロストリジアの黒色コロニーが9コロニー検出された。これらのコロニーを釣菌し、クロストリジア寒天培地で培養を行ったところ、3コロニーは黒色を示さなかったもので、これらはクロストリジアではないと判断した。黒色を示した6コロニーを釣菌し、クロストリジア寒天培地で培養した。さらに釣菌し、コロンビア寒天培地（日本ビオメリュ社製）上に菌を塗抹して37℃、24時間嫌気培養した。コロンビア寒天培地上に生育した菌を嫌気性菌同定キット「アピケンキ」（日本ビオメリュ社製）で同定した。また、各菌株の性状（グラム陽性・陰性、菌の形状、芽胞形成の有無）も調べた。菌の形状、芽胞形成の有無は顕微鏡で確認し、グラム陽性・グラム陰性の判定は、Ryuの方法¹⁾（菌体に3%水酸化カリウム溶液をスポイトで1滴滴下して混合したとき、粘って糸を引くものを陰性、粘らないものを陽性とする）で行った。なお、菌株の保存には、GAM半流動高層寒天培地（日水製薬社製）を用いた。

6) A社工場の一般的衛生管理および HACCP手法導入の手順

一般的衛生管理についてはティーポール社²⁾の方法により、HACCP手法については加藤³⁾の方法により行った。

- (1) 現状の把握：現場内視察、環境微生物測定
- (2) 衛生管理ポイントの提案：ゾーニング、動線、重要管理点
- (3) 標準衛生作業手順書の作成
- (4) マニュアル作成
- (5) 点検表の作成

7) A社工場の現場視察

クロストリジア対策のため、A社（従業員4人、パート10人）の工場視察を行った。工場は、時期により稼働状況が異なり、10月はぬか床の準備、11月からスモーク乾燥・漬込が開始される。5月～8月は包装殺菌後の製品（冷蔵貯蔵中）の出荷およびカット製品の製造を行っている。製造工程の解析を行い、HACCP手法における重要管理点として、真空包装後の加熱殺菌工程および検査工程（金属探知機）の2点を設定し、それ以外の工程管理は、一般的衛生管理で行うことにした。

8) 工場施設の汚染検査

落下細菌検査では、シャーレ（直径9 cm）に一般生菌測定用の標準寒天培地（日水製薬社製）を注入、固化したものを検査場所に25分間開放し、37℃、48時間培養して出現したコロニー数を計測した。

ふき取り検査は、衛生試験法⁴⁾に従い、ふき取り培養法で行った。一般生菌は、標準寒天培地で、37℃、48時間培養、大腸菌群は、デゾキシコレート寒天培地（日水製薬社製）で、37℃、24時間培養、クロストリジウムは、クロストリジウム寒天培地（日水製薬社製）、フィルムパウチ法で、37℃、24時間培養した。培養後、出現したコロニー数を計測した。

9) 加熱殺菌工程における製品の積算温度および到達温度測定

加熱殺菌工程は、包装した製品を角形アミケースに積み重ね、90～95℃の殺菌槽中で30分間加熱することにより行っている。製品の位置をケースの上層、中層、下層に分け、加熱積算型温度感受性ラベルとサーモラベル（到達温度）をそれぞれの位置の製品に貼り付けて、温度測定を行った。温度測定は、12月から2月までの3ヶ月間、1日1回行った。

【結果と考察】

1) 製品および半製品の微生物検査結果

製品および半製品について、微生物検査を行った結果を表1に示す。製品はクロストリジウム陰性であったが、半製品はクロストリジウム陽性であった。また、製品は、菌数が300以下または陰性であり、菌数が少なかったが、半製品には、一般生菌、乳酸菌、酵母が多数検出された。

表1 製品および半製品の微生物検査結果

	一般生菌	大腸菌群	大腸菌	乳酸菌	酵母	カビ	耐熱性好気性菌	クロストリジウム ^{a)}
製品	2.0×10	陰性	陰性	1.0×10	陰性	陰性	3.0×10	0/20
半製品	1.9×10 ⁴	陰性	陰性	1.2×10 ⁵	3.4×10 ⁵	陰性	1.2×10 ²	9/50

(注) 菌数の単位は CFU/g

a) クロストリジウムの結果は (コロニー数) / (検査数) で表した。

2) 製品および半製品の成分分析結果

製品および半製品の成分分析結果を表2に示す。この結果から、製品は、クロストリジウムのなかで最も問題となる食中毒菌 *Clostridium botulinum* (ボツリヌス菌) の生育阻止条件である水分活性 (aw) 0.94以下、pH 4.5以下を満たしていないことがわかった。また、食塩濃度も、製品規格である4.5%に達していなかった。

表2 製品および半製品の成分分析結果

	水分活性 (aw)	pH	糖度 (%)	食塩濃度 (%)
製品	0.97	5.3	18.9	3.3
半製品	0.95	5.1	20.8	4.2

3) クロストリジアの分離、同定

半製品から分離された6菌株の性状と同定結果について表3に示す。分離株として同定されたのは、*Bacteroides* 属菌が2種類と *Clostridium* 属菌が1種類であった。*Bacteroides* 属菌は、芽胞を形成しないため、耐熱性がなく、現状の加熱殺菌条件で死滅すると考えられるので、今回、保健所で検出されたクロストリジアは、芽胞を形成する *Clostridium bifermentans* であると推察される。本菌は食中毒菌ではないが、食品の品質劣化に関与し、芽胞を形成するため耐熱性がある。*Clostridium* 属菌は、現状の加熱殺菌条件で死滅させるのは困難であるため、混入しないように、製造工程の改善が必要である。また、クロストリジアは、一般的に土壌由来であると考えられるため、工場内への土の持ち込みを防止することが重要である。

表3 分離株の性状と同定結果

No.	グラム陽性(+) グラム陰性(-)	形状	芽胞の有無	同定結果
1	-	桿菌	無	<i>Bacteroides asaccharolyticus</i>
2	-	桿菌	無	<i>Bacteroides asaccharolyticus</i>
3	-	桿菌	無	<i>Bacteroides intermedius/disiens</i>
4	+	桿菌	有	<i>Clostridium bifermentans</i>
5	-	桿菌	無	<i>Bacteroides intermedius/disiens</i>
6	+	桿菌	有	<i>Clostridium bifermentans</i>

4) 一般的衛生管理

A社工場の落下細菌数測定結果を表4、ふき取り検査の結果を表5に示す。落下細菌については、どの測定場所でも菌数が少なく、ほとんど問題がなかった。12月から2月までは特に落下細菌数が少ないが、これは、積雪期であるため、風による菌の持ち込みが少なかったためと考えられる。ふき取り検査の結果、クロストリジア、大腸菌群とも、工程改善により減少した場所もあったが、減少しなかった場所もあった。減少しなかった場所は、原料由来の菌による二次汚染があったためと考えられる。

表4 落下細菌数測定結果

測定場所	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月
廃棄ぬか置場	0	1	0	*	8	1	1	1	0	0
流し(1)	0	2	*	3	1	2	6	0	*	*
製品段ボール(1)	1	2	0	0	11	1	8	*	1	0
製品段ボール(2)	0	0	1	0	9	1	2	2	0	1
秤	0	1	2	4	4	3	3	3	3	3
選別機	1	0	22	1	13	5	9	1	1	16
作業台(1)	2	1	1	2	3	36	14	3	0	4
流し(2)	2	0	1	0	0	11	*	4	2	0
殺菌槽	0	2	0	1	1	13	3	8	*	1
作業台(2)	0	2	3	1	3	2	38	1	1	0
充填機							5			
スライス機							4			

(注) 数字はシャーレ1枚あたりの菌数、*は、測定不能を示す。

表5 ふきとり検査結果

ふきとり場所	一般相箇										大島郡群										クrostロジア													
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月				
洗浄場	2.8×10 ²	4.0×10 ⁴	10 ² 以上	10 ² 以上	3.0×10 ²	1.0×10 ²	1.8×10 ²	9.0×10 ²	2.2×10 ²	2.8×10 ⁴	4.0×10 ²	1.7×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10 ²	6.2×10 ²	1.0×10	0	3.0×10 ²	5.5×10 ²	1.2×10 ²	5.0×10	2.0×10	1.0×10 ²	6.0×10 ²	8.0×10 ²	1.3×10 ²	2.0×10 ²	3.0×10 ⁴	10 ² 以上	0				
焼製室	6.4×10 ²	4.1×10 ²	6.2×10 ⁴	10 ² 以上	1.6×10 ²	4.4×10 ²	5.0×10 ²	6.0×10 ²			1.0×10	2.3×10 ²	0	1.3×10 ²	0	0	1.0×10	0				1.0×10 ²	1.0×10	1.0×10	10 ² 以上	6.0×10 ²	4.0×10 ²	3.0×10 ²	3.0×10 ²					
溜込室		1.4×10 ²	10 ² 以上	10 ² 以上	10 ² 以上	8.0×10 ⁴	1.1×10 ²	2.9×10 ²	3.2×10 ²	9.0×10 ²	0	3.1×10 ⁴	2.0×10 ²	1.0×10 ²	7.0×10 ²	1.0×10	3.0×10 ²	9.0×10 ²	2.5×10 ⁴	3.8×10 ²	0	2.2×10 ²	5.0×10	4.5×10 ²	3.0×10 ²	3.0×10 ²	4.0×10	2.0×10 ⁴	10 ² 以上	2.0×10 ²				
冷蔵庫 (5℃)	2.0×10	1.0×10 ²	2.2×10 ²	10 ² 以上	10 ² 以上	1.4×10 ²	2.0×10 ²	2.1×10 ⁴	2.0×10 ²	1.0×10 ²	0	0	0	1.0×10 ²	2.1×10 ⁴	6.3×10 ²	0	2.0×10 ²	7.0×10	1.0×10	0	0	0	4.0×10 ²	2.0×10 ²	8.2×10 ⁴	1.0×10 ²	2.0×10 ⁴	2.0×10 ⁴	0				
トイレノブ	2.0×10 ²	1.0×10 ²	9.0×10 ²	7.9×10 ²	3.0×10 ²	6.0×10	8.0×10	2.0×10 ²	3.0×10	5.0×10	0	0	0	0	1.0×10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0×10 ⁴	0			
トイレ前床		1.4×10 ²	10 ² 以上	8.1×10 ²	10 ² 以上	10 ² 以上	10 ² 以上	1.4×10 ²	10 ² 以上	10 ² 以上		10 ² 以上	2.0×10 ⁴	6.0×10	1.8×10 ⁴	10 ² 以上	1.6×10 ⁴	2.1×10 ⁴	10 ² 以上	10 ² 以上			10 ² 以上	10 ² 以上	9.0×10 ²	3.8×10 ²	6.0×10 ²	9.6×10 ⁴	2.0×10 ⁴	1.9×10 ⁴	1.0×10 ⁴			
秤	6.2×10 ²	5.0×10 ²	4.0×10 ²	2.0×10 ²	8.0×10 ²	1.8×10 ²	2.0×10 ²	5.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10	0	0	0	8.0×10	1.0×10 ²	4.0×10	3.0×10	4.0×10 ²	1.1×10 ²	0	0	0	0	0	2.0×10 ²	0	0	1.0×10 ²	4.0×10 ²				
選別機	5.0×10 ²	2.0×10 ²	6.0×10 ²	9.0×10	2.0×10 ²	2.2×10 ²	1.0×10 ²	3.0×10 ²	1.0×10 ²	8.0×10 ²	0	0	0	0	0	2.0×10 ²	0	0	9.0×10	2.0×10 ²	0	0	0	0	0	1.0×10 ²	0	0	0	3.0×10 ²	0			
中央台	2.0×10	1.0×10 ²	4.0×10 ²	0	6.0×10 ²	4.5×10 ²	2.0×10 ²	4.0×10 ²	4.0×10 ²	2.0×10 ²	0	0	0	0	2.0×10	2.3×10 ²	0	3.0×10	1.0×10 ²	2.0×10 ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0×10 ²	0			
充填機	2.0×10 ²	4.0×10 ²	4.0×10 ²	3.8×10 ²	3.0×10	1.3×10 ²	4.0×10	1.0×10 ²	3.0×10 ²	5.0×10 ²	0	0	0	0	2.0×10	2.8×10 ²	1.0×10	2.0×10	0	6.0×10	0	0	0	1.0×10	4.0×10 ²	3.0×10 ²	0	0	0	0	0			
充填機作業台		1.0×10 ²	1.0×10 ²	10 ² 以上	7.0×10 ²	5.0×10 ²	1.0×10 ²	5.0×10	1.0×10	5.0×10		0	0	0	2.0×10	2.0×10	0	0	0	0	0			0	0	0	1.0×10 ²	1.0×10 ²	0	0	0	0		
充填機前床		3.5×10 ²	10 ² 以上	10 ² 以上	1.3×10 ⁴	2.6×10 ²	1.6×10 ⁴	6.0×10 ²	4.0×10 ²	1.0×10 ⁴		0	0	6.0×10	1.0×10 ²	1.0×10 ²	7.0×10	0	8.0×10	3.0×10			5.0×10	0	1.4×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10 ²	4.0×10	0	5.0×10 ²	0			
真空包装機	4.0×10	0	1.4×10 ²	1.1×10 ²	1.0×10 ²	2.2×10 ²	2.0×10 ²	3.0×10	3.0×10	4.0×10 ²	0	0	0	0	1.0×10	2.0×10	0	1.0×10	0	1.0×10 ²	0	0	0	0	0	2.0×10 ²	1.0×10 ²	0	0	0	0	0		
除水機		6.0×10 ²	1.2×10 ²	1.4×10 ²	1.0×10 ²	1.2×10 ²	1.0×10 ²	3.0×10	2.0×10	1.0×10 ²		0	0	0	0	1.0×10	0	0	1.0×10	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
除水機作業台		1.0×10 ²	7.0×10	7.0×10	3.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10	5.0×10	5.0×10		0	0	0	1.0×10	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
テラー弁		1.6×10 ²	7.2×10 ²	1.0×10 ⁴	7.0×10	4.4×10 ²	3.0×10 ²	1.0×10 ²	3.0×10	8.0×10 ²		5.0×10	0	0	0	0	2.0×10 ²	2.0×10	0	2.0×10			0	0	1.0×10	0	0	1.0×10	2.0×10 ²	0	0	0	0	
検査		1.4×10 ⁴	10 ² 以上	10 ² 以上	1.2×10 ⁴	7.0×10 ²	2.0×10 ²	2.0×10 ²	1.0×10 ²	2.0×10 ²		1.0×10	1.0×10 ²	6.0×10	3.0×10 ²	1.0×10 ²	8.0×10	7.0×10 ²	1.0×10 ²	3.0×10			1.0×10	1.0×10 ²	5.6×10 ²	5.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10	1.0×10 ²	7.0×10 ²	0			
製品保管室	2.0×10 ²	7.0×10 ²	1.5×10 ⁴	10 ² 以上	3.7×10 ⁴	3.5×10 ⁴	1.0×10 ²	2.0×10 ²	3.0×10 ²	2.0×10	2.0×10	5.0×10 ²	0	4.2×10 ²	7.0×10	0	5.0×10	1.0×10 ²	5.0×10	3.0×10	0	0	0	0	7.0×10 ²	1.0×10 ²	0	0	2.0×10 ²	0	0			
コンテナ			10 ² 以上	10 ² 以上	2.0×10 ²	4.2×10 ²	2.0×10 ²	5.0×10 ²	1.0×10 ²	1.0×10			1.0×10	0	1.0×10	5.0×10	0	2.0×10 ²	1.5×10 ²	0				8.0×10	0	0	2.0×10 ²	0	1.0×10 ²	0	0	0		
標識板			1.1×10 ²	1.5×10 ⁴	1.0×10 ²	4.0×10	9.0×10	4.0×10	3.0×10 ²	2.0×10			0	1.0×10	0	1.0×10	0	0	1.0×10	0				0	0	0	0	0	0	0	0	1.0×10 ²	0	
トイレ前床清掃後					6.9×10 ²										2.0×10												1.3×10 ²							
包丁										1.0×10 ²																					2.0×10 ²		0	
まな板										1.0×10 ²																						0	0	0

単位は (CFU/100cm²)

工場の一般的衛生管理の具体的方法として、ゾーニング、動線、清掃・殺菌方法などについて検討した。工程改善後の A 工場の見取図および動線を図 2 に示す。ゾーニングでは、漬込前までの工程を行う原料洗い場と燻製室を汚染区とし、殺菌・包装室を清潔区とした。充填機・真空包装機周辺は、外に面する出入口があり、事務室とも接近しているため、カーテンを設置して、仕切りにすることによって、清潔区とした。しかし、漬込場は、外に面する出入口近くにあり、漬込場の奥に資材置場があり、トイレのドアが漬込場に近接していることから、準清潔区の確保は困難であった。そこで、トイレ前 1ヶ所と漬込場から清潔区へ入る入口 1ヶ所に長靴用消毒槽を設置することにより、土の持ち込みを防止することにした。漬込樽は、洗浄のしやすさを考え、木製からプラスチック製への交換を行った。製品の流れの動線については、機械を移動させることができないため、包装から殺菌の工程で、動線が交差しているが、包装済製品であるため、現時点での問題は少ないと考えられる。しかし、動線の交差による包装破壊や異物混入の危険性が残されているため、今後の工場の改装の際に機械の配置を変え、動線の交差を解消することにした。以上の工程改善を行った結果、製品のクロストリジアは陰性になった。

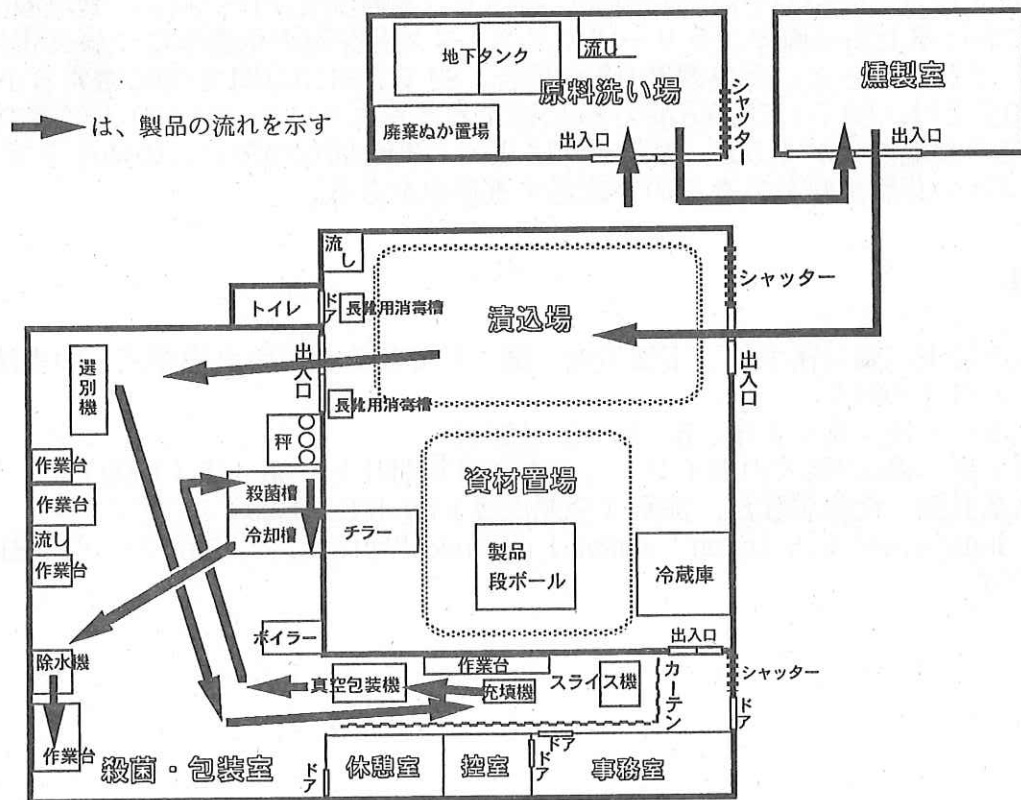


図 2 工程改善後の A 工場の見取図および動線

5) 加熱殺菌工程における製品の積算温度および到達温度の測定

加熱殺菌工程における製品の積算温度および到達温度を測定した結果、80℃、30分間の殺菌条件を満たしていない不良品があることがわかった。殺菌槽の製品全部が殺菌不良になった場合には、殺菌槽の構造不良と製品の詰めすぎで温水の循環が不十分になっていることが原因と考えられた。また、同じ殺菌槽の中で一部の製品が殺菌不良になった場合では、製品のサイズが L サイズ (約 300~400 g) で、かつ

殺菌槽での位置が下層の場合に殺菌不良が起こったと考えられる。殺菌条件を満たした良品と殺菌条件を満たしていない不良品について、菌数、pHおよび水分活性の測定結果を表6に示した。不良品では、クロストリジア寒天培地上に、クロストリジアが検出され、さらに、白色の嫌気性菌も多数検出されたが、殺菌条件を満たした良品の場合には、クロストリジアが検出されなかった。このことから、殺菌条件を満たしていない場合に不良品が発生することがわかった。

表6 良品と不良品の菌数、pHおよび水分活性測定結果

	一般細菌	大腸菌群	クロストリジア	pH	水分活性 (aw)
良品	3.5×10	陰性	陰性	5.0	0.96
不良品	6.0×10	陰性	1.0×10	5.3	0.96

(注) 菌数の単位は CFU/g であり、2試料×2連の計4試料の平均値である。

また、Junejaら⁵⁾は、タンパク非分解性のボツリヌスB型菌芽胞の加熱による不活性化に対する食塩の影響を調べた研究において、加熱温度75～90℃、食塩濃度0～3%における七面鳥肉のスラリー中のボツリヌス菌芽胞の生残率について報告している。それによると、食塩濃度0%の場合、80℃、91.3分間で6Dに達するが、食塩濃度3%では、80℃、78.6分間で6Dに達するとされている。いぶり大根漬の場合、製品規格の食塩濃度が4.5%、殺菌条件は80℃、30分間なので、この条件下でクロストリジアの芽胞が殺菌できるのか確認する必要がある。

【文献】

- 1) 春田三佐夫、細貝祐太郎、宇田川俊一編：目で見える食品衛生検査法、中央法規出版、p.71 (1994)
- 2) テイポール社：食品工業、5、75-78 (1999)
- 3) 加藤光男：HACCP導入のポイント (日本経済新聞社)、98-145 (1999)
- 4) 西島基弘編：衛生試験法・注解 (金原出版) 68-106 (2000)
- 5) V.K.Juneja, and B.S.Eblen: *Journal of Food Protection*, 58 (7), 813-816 (1995)

攪拌式造粒—真空乾燥法による ぬか床用乳酸菌スターターの粉末化

佐々木康子*、菅原久春*、鈴木聡美、柴本憲夫*
(*秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Koko SASAKI*, Hisaharu SUGAWARA*, Satomi SUZUKI, and Norio SHIBAMOTO*

【要約】

ぬか床から優良乳酸菌2種類 (*Lactobacillus plantarum* および *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum* 2) を分離し、分離株を用いたぬか床の試作、キュウリのぬか漬の試作を行った。これら優良乳酸菌を粉末化するため、小規模、簡便な攪拌式造粒—真空乾燥法を用い、造粒試験を行った結果、長期保存可能な漬物用乳酸菌スターターが開発できた。この乳酸菌スターターは、アルミ蒸着フィルムで包装し、冷蔵または冷凍保存すれば、生菌数の減少がほとんどない状態で1年間保存できることがわかった。

【緒言】

ぬか漬は、全国的に非常に多く食されている漬物であるが、ぬか漬として販売されているものよりも、家庭のぬか床で漬けたもののほうが多いと言われている。家庭でぬか床を作る場合には、ぬか床の熟成に時間がかかり、また、有害な菌によって変敗することもよく起こるため、熟成された優れた香味をもつぬか床の需要は高い。そこで、県内の漬物製造業者のぬか床から優良乳酸菌を分離し、さらに安定した状態で保存できる漬物用乳酸菌スターターを開発した。

【実験方法】

1) 供試培地

[液体培地]

MRS brothはMERCK社製、GYP液体培地は、グルコース 10.0 g、酵母エキス 10.0 g、ポリペプトン 10.0 g、酢酸ナトリウム3水和物 5.0 g、NaCl 5.0 g、Tween 80 solution (Tween 80 5.0% (w/v)) 10 ml、Salts solution (MgSO₄ 4.0% (w/v)、MnSO₄ · 5H₂O 0.2% (w/v)、FeSO₄ · 7H₂O 0.2% (w/v)、NaCl 0.2% (w/v)、conc. HCl 1.0% (v/v)) 0.5 ml を蒸留水 1 L に溶解し、pH 6.0 に調整したものをを用いた。

[寒天培地]

BCP加プレートカウントアガールは日水製薬社製、普通寒天培地は日水製薬社製、MRS寒天培地はMRS brothに寒天を1.5%添加したものをを用いた。ブリックス寒天培地は、蒸留水 600 ml、トマトジュース 400 ml、ポリペプトン 15.0 g、グルコース 20.0 g、NaCl 5.0 g、酵母エキス 6.0 g、Tween 80 6.0 g、可溶性デンプン 0.5 g、寒天 15.0 g、CaCO₃ · 沈降性 5.0 g を混合して調製した。

2) ぬか床からの優良乳酸菌の分離・同定

県内メーカーのぬか床をサンプルとし、ぬか床 5 g を採取して、滅菌生理食塩水で段階希釈した希釈液 1 ml をフィルムパウチに入れ、BCP加プレートカウントアガール 15 ml を注入し、培養 (30°C、72時間) した。コロニーを10株釣菌し、普通寒天培地にストリーク法で塗抹して、30°C、72時間嫌気培養した。さらにコロニーを

釣菌し、同様に普通寒天培地で嫌気培養を行った。コロニーを釣菌し、MRS brothで30℃、24時間静置培養し、同様にMRS brothで静置培養したのち、MRS寒天培地で30℃、24時間嫌気培養し、乳酸菌同定キット「アピ50CHL」（日本ビオメリュー社製）で同定を行った。また、釣菌した菌株は、ブリックス寒天培地に穿刺培養（30℃、24時間）した後、保存菌株（5℃で保存）とした。また、並行して、保存菌株が乳酸菌であるかどうかの確認試験を行った。乳酸菌の条件として、芽胞形成なし、グラム陽性、カタラーゼ試験陰性であるので、芽胞形成は顕微鏡で確認し、グラム陽性・グラム陰性の判定は、Ryuの方法¹⁾（菌体に3%水酸化カリウム溶液をスポイトで1滴滴下して混合したとき、粘って糸を引くものを陰性、粘らないものを陽性とする）で行い、カタラーゼ試験は、3%過酸化水素水をスポイトで菌体に1滴滴下してガス発生したものを陽性、ガス発生しないものを陰性とした。

3) むか床およびむか漬の製造試験

生育の速さ、pH、香りなどを条件に分離・選抜された2株の乳酸菌をスターターとして用いて、むか床〔配合：米ぬか35g、溶液A（水50ml、トマトジュース20ml、食塩6.2g、グルタミン酸ナトリウム1.0g、砂糖12.5g）〕の製造試験を行った。米ぬかと溶液Aは別々に滅菌した。乳酸菌2株は各々GYP液体培地で30℃、24時間前培養して遠心分離（3,000rpm、5分間）で菌体を回収した。菌体を5mlの滅菌生理食塩水で2回洗浄し、5mlの滅菌生理食塩水に懸濁させ（菌液の濃度は 1.5×10^{10} CFU/ml）、菌液全量を溶液Aに添加した。これを米ぬかに混合し、30℃、24時間乳酸発酵させて、むか床を製造した。製造したむか床に生のキュウリを5℃で24時間漬込み、キュウリのむか漬を試作した。

4) むか床の有機酸分析

製造したむか床の有機酸分析は、むか床の0.1N塩酸希釈液を用いて、カルボン酸分析計（東京理化社製 S-3000）を用いて行った。

5) 乳酸菌の大量培養

保存菌株とした乳酸菌2株を滅菌したGYP液体培地100mlに各々植菌し、30℃、8時間静置培養し、前培養とした。次に、大量培養として、培養装置（丸菱バイオエンジニアリング社製 MDN-5L(S)）を用い、滅菌したGYP液体培地2Lに、前培養した乳酸菌培養ブロス100ml全量を植菌し、培養温度30℃、攪拌速度30rpmで、2N NaOH滴下によりpH6.0に自動調整するように設定し、22時間培養した。各培養液を遠心（7,000rpm、15分間）後、菌体を200mlの1/15Mリン酸緩衝液（pH7.0）に分散させた。さらに同じ条件で遠心・集菌して、30mlの滅菌水に分散させ、スターター作成用乳酸菌菌体とした。

6) 造粒試験

分散媒としてスキムミルク（森永乳業社製）、上新粉（淡路製粉社製）、バインダーとしてデキストリン（和光純薬工業社製）を用い、配合割合、加水量、造粒速度についての検討を行った。造粒機は、奈良式高速攪拌型混合造粒機（奈良機械社製 NMG-5L）を用いた。

7) 乳酸菌スターターの作成

スキムミルク100g、上新粉150g、デキストリン25gを混合し、造粒機の攪拌速度を低速にし、攪拌槽上部からスターター作成用乳酸菌菌体30mlを100mlガラススプレー瓶（桐山社製）を用いて、噴霧した。造粒後、真空乾燥装置（TABAI社製ラポスター LHV-120）で30℃、18時間真空乾燥させ、乳酸菌スターターを作成した。

8) 乳酸菌スターターの粒度分布の測定

粒度分布測定は、粒度分析計（日機装社製 MICROTRAC HRA MODEL 9320-X100）を用いて、エタノール溶液中に分散して行った。

9) 乳酸菌スターターの保存試験

乳酸菌スターター造粒物を5gずつはかりとり、アルミ蒸着フィルムで包装し、-80℃、-20℃、5℃、25℃、37℃で1年間保存した。保存開始後、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年後に各保存温度帯から2袋ずつサンプリングし、2連（2袋×2連 合計4連）で乳酸菌の生菌数を測定した。乳酸菌の生菌数の測定は、造粒物を各5g採取して、滅菌生理食塩水で段階希釈し、BCP加プレートカウントアガールで嫌気培養（30℃、72時間）することにより行った。

【結果と考察】

1) むか床由来の優良乳酸菌の同定

乳酸菌の性状と同定結果を表1に示した。むか床から分離されたのは、*Lactobacillus plantarum* および *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* の2種類であることがわかった。むか床の製造試験には、生育の速さ、pH、香りなどの条件で選抜されたNo.1 およびNo.2の2株を使用した。

表1 乳酸菌の性状と同定結果

No.	芽胞形成 あり (+) なし (-)	グラム陽性 (+) グラム陰性 (-)	カタラーゼ試験 ガス発生あり (+) ガス発生なし (-)	アピ 50CHL同定結果
1	-	+	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>
2	-	+	-	
3	-	+	-	
4	-	+	-	
5	-	+	-	
6	-	+	-	
7	-	+	-	
8	-	+	-	
9	-	+	-	
10	-	+	-	

2) むか床の有機酸分析結果

むか床の有機酸分析結果を表2に示した。どちらのむか床においても、有機酸のうち、乳酸の生産量が最も多く、どちらの乳酸菌も乳酸を大量に生産していたが、*Lactobacillus plantarum* のほうが *Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* よりも約3倍の乳酸を生産していた。この結果は、キュウリのむか漬の官能試験の結果とも合致する。

3) むか漬の官能試験

Lactobacillus plantarum を用いたキュウリのむか漬は、乳酸味が強くすっきりした味で、*Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* を用いたキュウリのむか漬は、酸味が少なくマイルドな味という差はあったが、風味は、どちらも良好であった。

表2 むか床の有機酸分析結果

	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2</i>
乳酸	15.0	5.2
酢酸	0.7	0.9
クエン酸	0.5	0.3
リンゴ酸	0	0.6

(単位はmg%)

4) 造粒試験

乳酸菌スターターを作成するには、菌体を造粒して粉末化することが最も取扱いやすく、保存性もよいと考えられたので、造粒試験を行った。乳酸菌のスターターの粉末化についてはすでに吉川²⁾らにより漬物、味噌、ヨーグルト用乳酸菌について流動層乾燥法で開発されている。今回は攪拌式造粒と真空乾燥の組み合わせで粉末化を試みた。この方式の特色は小規模で簡便に粉末化できることである。

造粒試験では、まず、造粒可能な分散媒の選択と、最大加水量についての検討を行った。

分散媒には、乳酸菌の菌保護剤として最も適しているスキムミルクを選択したが、スキムミルクだけでは、加水したときに、造粒機の攪拌羽根および内壁面への付着が非常に起こりやすく、造粒はできなかった。そのため、スキムミルクに上新粉を添加した検討を行うことにした。スキムミルク、上新粉、水の混合比率の検討においては、スキムミルクを多く含み、より多く加水でき、造粒が均一であることを条件とした。混合は手作業で行い、目視による粒度のばらつきと操作性の評価を行った。表3に最大加水量および粒度に対するスキムミルクと上新粉の配合比の影響を示した(粒度の評価において、+++は粒径が均一に揃っている、++は粒径が中程度に揃っている、+は粒径が不揃い、±は造粒操作困難と定義する)。

スキムミルク：上新粉＝4：6の場合、最も操作性はよかったが、粒強度が低かった。そのため、粒強度の改善を目的として、バインダーとしてデキストリンを添加し、デキストリンの添加量についての検討を行った。デキストリン1～2gを添加したとき、最大加水量は3.0mlであり、最も操作性がよく、粒強度も高くなった。また、デキストリン1～2gの範囲では、デキストリン量による操作性と粒強度の差がなかったため、デキストリン量は1gに決定した。

次に、造粒機による造粒試験を行った。スキムミルク：上新粉：デキストリン＝4：6：1の配合割合で試験を行った。具体的には、スキムミルク100g、上新粉150g、デキストリン25gを混合した。この混合割合における手作業での最大加水量は75mlであるが、75mlでは造粒機での操作性が悪いので、造粒機での加水量は50ml、30mlの2種類に設定した。加水は、スプレー瓶で攪拌槽へ噴霧しながら行い、造粒速度は、低速、高速の2種類で行った。加水量50mlで造粒速度が低速の場合、造粒機の攪拌羽根および内壁面への付着が起こり、操作性が悪く、粒径のばらつきが大きかった。加水量50mlで造粒速度が高速の場合、機械への付着は少なかったが、粒子同士の付着が起こり、粒径のばらつきが大きかった。加水量30mlで造粒速度が高速の場合、粒径のばらつきが大きかった。加水量30mlで造粒速度が低速の場合、粒径が均一に揃っていた。

表3 最大加水量および粒度に対するスキムミルクと上新粉の配合比の影響

配合		最大加水量(ml)	粒度の評価
スキムミルク(g)	上新粉(g)		
8.0	2.0	2.0以下	++
6.0	4.0	2.0	±
5.0	5.0	2.5	+
4.0	6.0	3.0	+++
3.0	7.0	3.5	++

5) 乳酸菌の大量培養

2株の乳酸菌の前培養として、GYP液体培地 100 ml で 30 °C、8時間静置培養した結果、*Lactobacillus plantarum* の菌数は 6.0×10^7 (cell/ml)、*Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* の菌数は 5.4×10^6 (cell/ml) であった。次に、培養装置を用いて 22時間培養した結果、*Lactobacillus plantarum* の菌数は 5.0×10^8 (cell/ml)、*Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* の菌数は 2.6×10^9 (cell/ml) であった。これは、乳酸菌スターターを作成するのに十分な濃度の菌体であった。

6) 乳酸菌スターターの粒度分布測定結果

作成した2種類の乳酸菌スターターの粒度分布を測定した結果、どちらも粒径のピーク（粒径のピーク値は、*Lactobacillus plantarum* では 148 μm、*Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* では 228 μm）が1つで、粒径が比較的揃っていることがわかった。

7) 乳酸菌スターターの保存試験

造粒物をアルミ蒸着フィルムで包装して1年間保存し、乳酸菌の生菌数を測定した結果を表5に示した（保存期間1年未満のデータは示さず）。この結果から、製造した乳酸菌スターターは、常温では菌数が減少するが、冷蔵または冷凍保存では、生菌数の減少がほとんどない状態で1年間保存できることがわかった。

表5 乳酸菌スターターの保存試験結果

	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2</i>
初発	8.0×10^7	8.0×10^7
-80 °C	8.0×10^7	3.5×10^7
-20 °C	6.5×10^7	4.5×10^7
5 °C	1.0×10^7	2.3×10^7
25 °C	5.0×10^5	1.0×10^7
37 °C	4.0×10^4	4.0×10^3

(単位は、CFU/g)

8) まとめ

① 市販のぬか床から優良乳酸菌 2株を分離し、それぞれ、*Lactobacillus plantarum*、*Leuconostoc mesenteroides mesenteroides/dextranicum 2* と同定した。

- ② この2株を漬物用の乳酸菌スターターとして粉末化し、アルミ蒸着フィルムで包装し、冷蔵または冷凍保存することにより、1年間安定して使用することが可能であった。
- ③ 漬物用乳酸菌スターターの造粒には、スキムミルク：上新粉：デキストリン＝4：6：1の重量割合で配合した分散媒を用い、分散媒の重量に対する加水量を11%、造粒速度を低速にすると、最も操作性、粒強度が優れ、粒径が均一になった。
- ④ 乳酸菌の粉末化は、攪拌式造粒－真空乾燥の組み合わせで行った。この方式は小規模で簡便に実施できる特色がある。

【文献】

- 1) 春田三佐夫、細貝祐太郎、宇田川俊一編：目で見える食品衛生検査法、中央法規出版、p.71 (1994)
- 2) 吉川修司、浅野行蔵、富永一哉：乾燥粉末乳酸菌のスターターの開発（第1報）、北海道立食品加工研究センター報告、2、65-69 (1996)

食品包装容器等プラスチック素材の ポータブル近赤外分光装置による判別

熊谷昌則、天野敏男*、小川信明**

(秋田県総合食品研究所食品開発部門、*オプト技研、**秋田大学工学資源学部)

Masanori KUMAGAI, Toshio AMANO and Nobuaki OGAWA

【要 約】

食品包装容器等に用いられるプラスチック素材をポータブル近赤外分光装置によって、簡便・迅速に非破壊で判別する方法について検討した。判別においては、実用面のみならず、近赤外スペクトルから試料の化学構造に基づいたスペクトル情報を分析化学的に抽出するためのスペクトル解析処理法や化学的解釈法について検討した。本研究では、スペクトルの二次微分処理から派生したバーコードスペクトルという新たなスペクトル解析処理法を考案した。

【緒 言】

商品の保護や取り扱いの利便性、さらには情報提供などを目的として、食品の包装容器には様々なプラスチック素材が使われている。平成12年4月に施行された容器包装リサイクル法（容器包装に係わる分別収集及び再商品化の促進などに関する法律）では、従来のガラス製容器包装・PETボトルに加え、プラスチック製包装容器、紙製包装容器が新たに対象として加えられた。平成9年、我が国ではプラスチック廃棄物の総排出量に対して、埋め立て処理率が約34%、焼却処理率が53%であり、熔融などにより再度プラスチックとして再生し、利用されているのは12%ほどにすぎない¹⁾。プラスチックのリサイクルやリユースにおいては、その正確な分別が必要不可欠であり、再資源化率向上のためには回収現場でも簡便に分別できる技術が求められている。

このような状況の中、本研究では近赤外（NIR）分光法の非破壊性・迅速性・簡便性といった特性に着目し、新しく開発されたポータブルNIR分光装置を用いて、プラスチックの簡便な判別手法について検討した。判別においては、実用面のみならず、近赤外スペクトルから試料の化学構造に基づいたスペクトル情報を分析化学的に抽出するためのスペクトル解析処理法や化学的解釈法について検討し、さらに、その成果を広く社会に還元していくための技術に応用することを目的とした。

【方 法】

近赤外スペクトルは、ポータブル型近赤外分光装置のPlaScan-SH（オプト技研）を用いて測定した²⁾。図1に測定装置の概略を示す。本装置は分光方式に音響光学可変波長フィルター（AOTF）を用いたことにより波長の高速スキャンによる迅速測



- 分光方式 : 音響光学可変波長フィルター (AOTF)
- 寸法 : 縦 15cm 横 25cm 幅 6cm 重量 1.6kg (判別計のみ)
- 電源 : AC100 ~ 240V 50/60Hz 消費電力 約 60W (電力はコンピューターから供給)
- 波長範囲 : 900 ~ 2500 nm の間にて波長範囲を自由に設定可能 設定精度 0.6 nm
- 測定点数 : 100, 200, 400, 500, 800, 1200, 2400 点/設定波長範囲
- 測定回数 : 1 ~ 200 回/測定点
- 走査回数 : 1 ~ 200 回
- 測定速度 : 5000 点/秒
- (判別時間例) 測定点 800 × 測定回数 3 × 走査回数 3 = 7200 点
- 7200 / 5000 = 1.44 秒

図 1 ポータブル近赤外分光装置 PlaScan-SH

定と装置の小型化による携帯可搬性が実現されている。本装置はもともと、プラスチックの判別を主目的に開発されたものであり、標準で 15 種類のプラスチック (表 1) を判別するためのソフトが内蔵されている²⁾が、我々は製造元であるオプト技研との共同研究により、さらなる判別精度向上のための検討を重ねている。

プラスチック素材は、食品包装容器を中心に、その他プラスチック素材も含めて約 100 点を収集し、1100-2500nm の NIR スペクトルを反射法により測定した。

表 1 PlaScan-SH で判別可能なプラスチックの種類

ABS : acrylonitrile-butadiene-styrene	PMMA : polymethylmethacrylate
AS : acrylonitrile styrene	POM : polyacetal
PA : polyamide	PP : polypropylene
PBT : polybutylene terephthalate	PS : polystyrene
PC : polycarbonate	PUR : polyurethane
PC/ABS	PVC : polyvinyl chloride
PE : polyethylene	PVDC : polyvinylidene chloride
PET : polyethylene terephthalate	OTHER

【結果と考察】

1. プラスチックの判別

本実験のために収集した約 100 点のプラスチック素材のうち、PlaScan-SH による事前判別の結果、71 点については 9 種類 (polyethylene:PE, polypropylene:PP, polymethylmethacrylate:PMMA, polyvinyl chloride:PVC, polystyrene:PS, acrylonitrile styrene:AS, acrylonitrile-butadiene-styrene:ABS, polycarbonate:PC, polyethylene terephthalate:PET) のプラスチックに判別することができた。残りについては other と判別され、スペクトルの形状がブロードであったりノイズが多いなど、プラスチックの種類を特定することができなかった。

2. 正規標準化スペクトル

事前判別が行われた 71 点のプラスチック素材について、その NIR 原スペクトルを詳細に検討したところ、ベースラインシフトや系統的な誤差によるバラツキが認められ、スペクトルの形状をプラスチック素材ごとに特徴付けることが困難であった。そこで、個々のスペクトルから全波長にわたるスペクトルの平均を差し引き、さらにその標準偏差で割ることによって、全てのスペクトルの吸光度値が平均 0、標準偏差 1 となるような正規標準化処理を行った。これにより、スペクトルの形状ごとにプラスチック素材の特徴を容易に抽出することが可能となった^{2,3)}。

3. 二次微分スペクトル

NIR スペクトルには、ベースライン変動などの除去に有効なスペクトル前処理法として二次微分処理が用いられることが多い。図 2 は原スペクトルとその微分スペクトルを模式的に表したものである。

4. バーコードスペクトル

この研究では二次微分処理から派生して、新たなスペクトル解析処理法を提案する²⁻⁵⁾。すなわち、二次微分処理で得られたスペクトルに対して、二次微分化吸光度 (d^2A) の値が正の場合を 1 とし、ゼロ以下の場合を 0 とする 2 値化変換を行った。NIR スペクトルはプラスチックの汚れや傷などといった表面状態の違いによって反射率に影響を受けやすいので、化学的に構成成分が同じプラスチックでも異なるスペクトル形状を与え

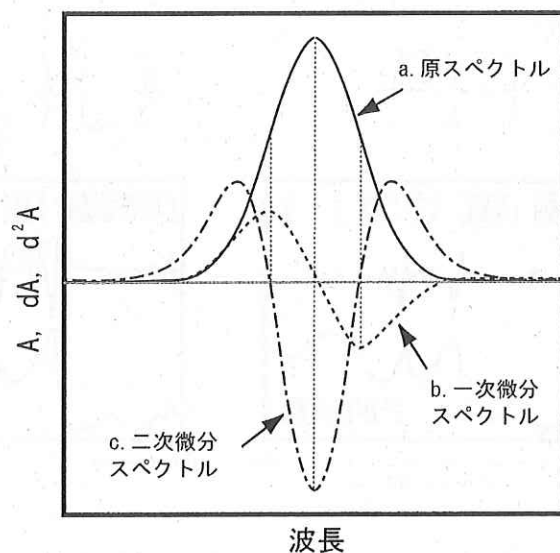


図 2 原スペクトルとその微分スペクトル

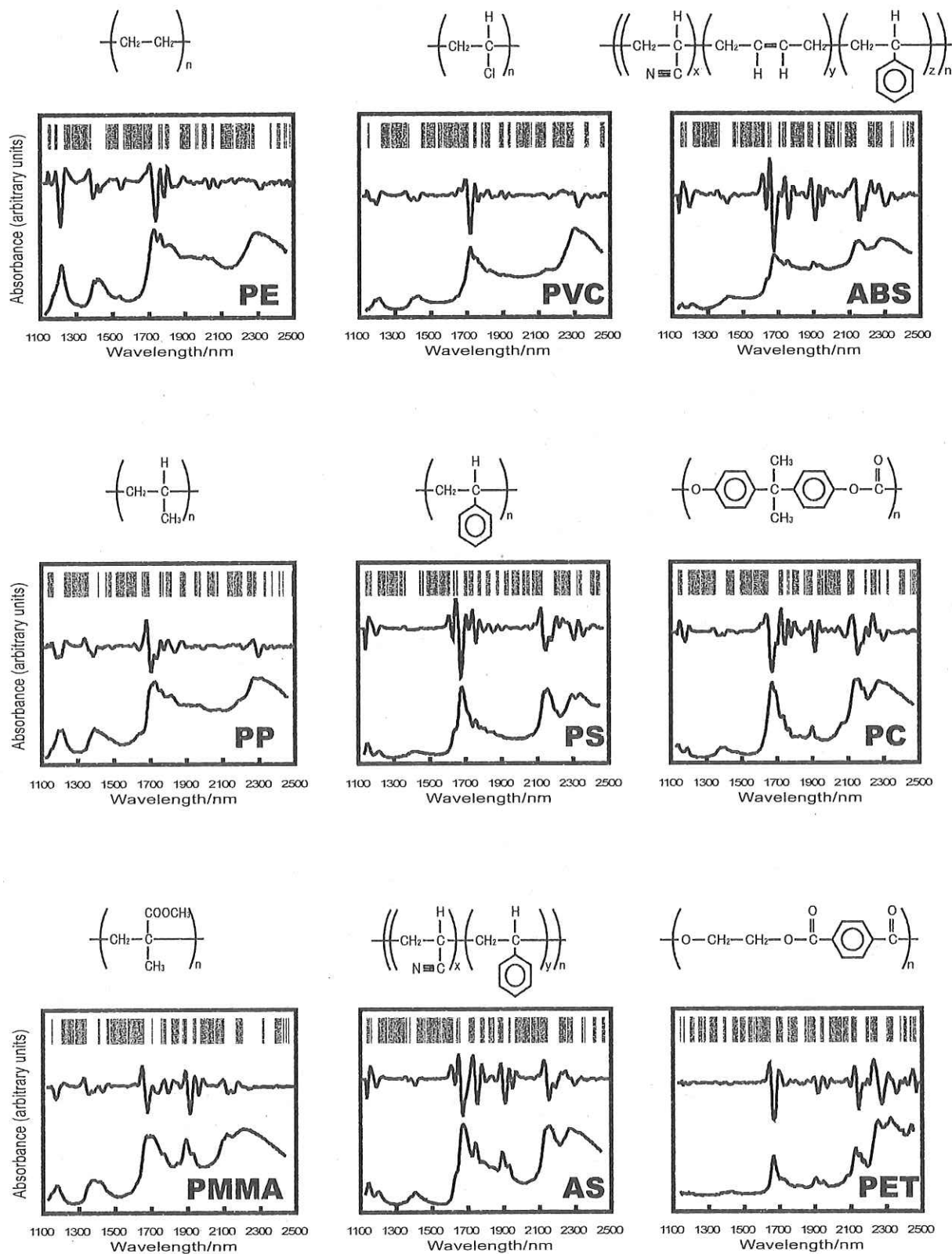


図3 プラスチック素材の化学構造と NIR 正規標準化スペクトル、二次微分スペクトル、バーコードスペクトル

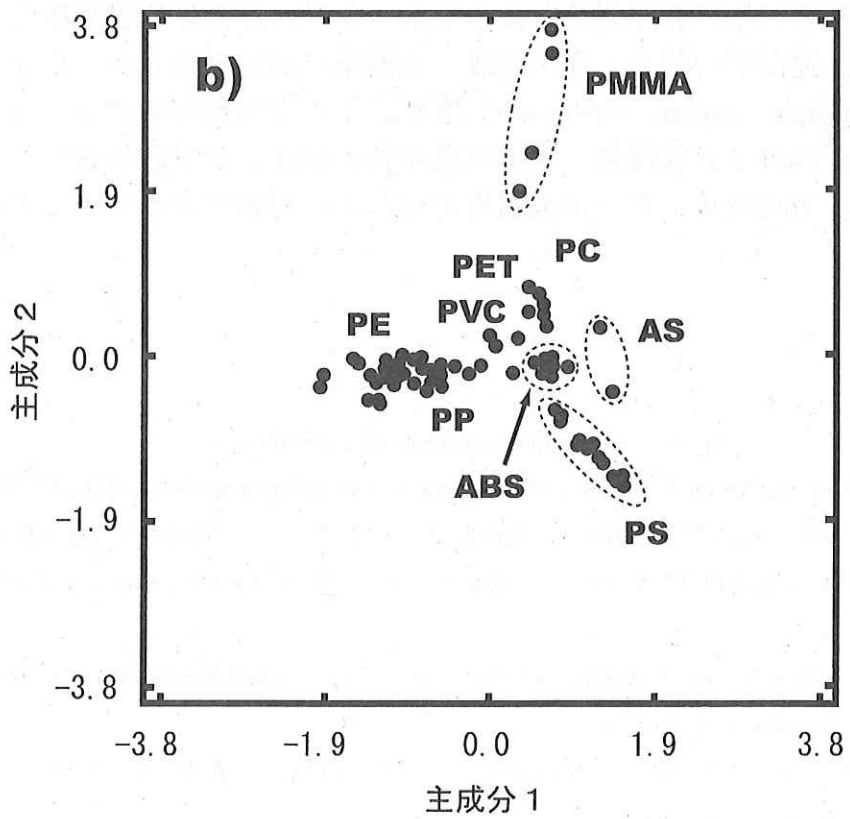
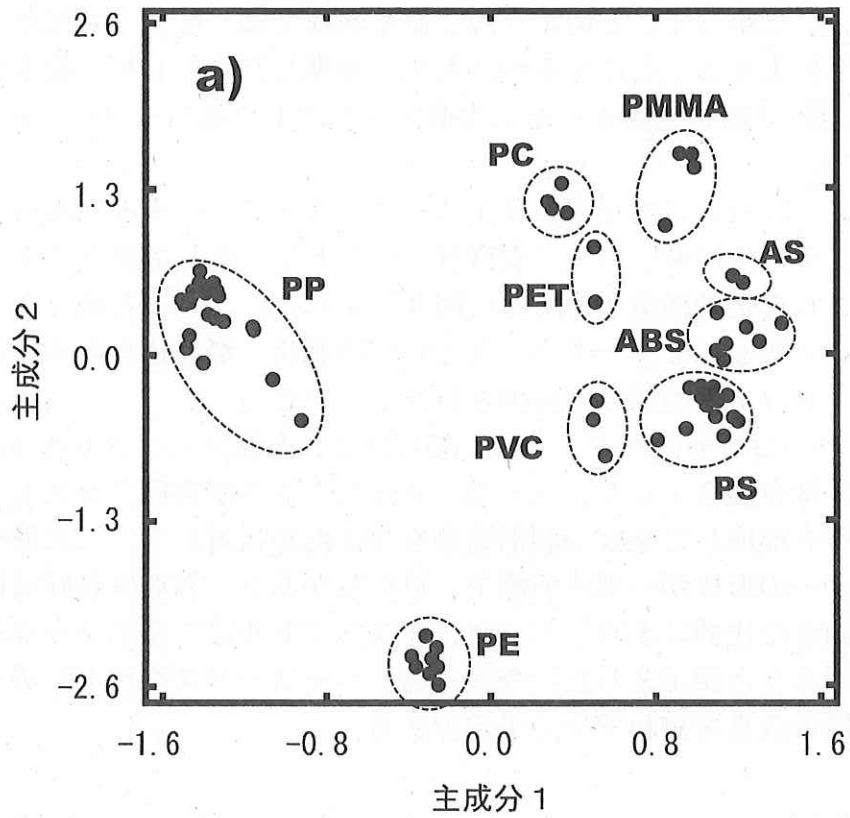


図4 プラスチック素材の判別

a) バーコードスペクトル、b) 二次微分スペクトルに基づいた主成分スコア散布図

ることがある。したがって、このような2値化変換では、ピーク強度などのスペクトル情報を一部損失することになるが、あえて過度なスペクトル一致度を回避する目的がある。以後、2値化変換された二次微分スペクトルをバーコードスペクトル²⁾と呼ぶことにする。

以上、これまでに得られた正規標準化スペクトルをプラスチック素材ごとにそれぞれ平均化し、それらに基づいて二次微分スペクトル、そして新たに考案したバーコードスペクトルを化学構造式とともに図3に示した。これは各種プラスチック素材の代表スペクトルとしてデータベースとしての利用³⁾が見込まれるとともに、判別のためのソフトウェア開発にも応用されることになる。

図4には、バーコードスペクトル a) ならびに二次微分スペクトル b) に基づいた主成分スコア散布図を示した。バーコードスペクトルが各種プラスチック素材ごとにクラスターを形成して良好な判別結果を与えたのに対して、二次微分スペクトルではクラスターの形成が一部不明瞭で、重なりがあり、判別は良好とはいえなかった。これら両者の比較により、バーコードスペクトルはプラスチックの判別に優れた情報を有することが示された。今後とも、バーコードスペクトルの有効性を検証し、なお一層の改良を重ねていく予定である。

6. 産業への応用

近赤外分光法は、試料に光を当てるだけで迅速に、かつ、そのまま非破壊での測定が可能で、さらに本研究で用いたようなポータブル近赤外分光装置を用いれば、どこにでも持ち運びが可能で、現場で誰でも簡単に測定できるというメリットがある。on-line、in-line、at-line、off-line のいずれの工程でも利用できる。

ポータブル近赤外分光装置は、食品や農産物の定性、定量分析法⁶⁻⁸⁾としても利用できるもので、製造現場における品質安定化などに貢献できるものと考えられる。

【文 献】

- 1) 厚生労働省ホームページ, http://www.env.go.jp/recycle/kosei_press/h000404a.html
- 2) M. Kumagai, H. Suyama, T. Sato, T. Amano, and N. Ogawa, *J. Near Infrared Spectrosc.*, **10**, 247 (2002).
- 3) 熊谷昌則、陶山秀人、佐藤朋覚、天野敏男、菊地良栄、小川信明、日本素材物性学会講演要旨集 p.23 (2002).
- 4) 熊谷昌則、陶山秀人、佐藤朋覚、天野敏男、菊地良栄、小川信明、化学系7学協会連合東北地方大会講演要旨集 p.120 (2002).
- 5) M. Kumagai, H. Suyama, T. Sato, T. Amano, R. Kikuchi and N. Ogawa, *International Journal of the Society of Materials Engineering Resources*, in press.
- 6) 熊谷昌則、軽部貴久子、松浦奈津美、佐藤朋覚、大久長範、天野敏男、菊地良栄、小川信明、日本分析化学会第51年会講演要旨集, p24 (2002).
- 7) M. Kumagai, K. Karube, T. Sato, N. Ohisa, T. Amano, R. Kikuchi, and N. Ogawa, *Anal. Sci.*, **18**, 1145 (2002).
- 8) 熊谷昌則、松浦奈津美、李華、佐藤朋覚、菊地良栄、大久長範、小川信明、秋田大学サテライト・ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー研究成果発表会(2003.2.14)

秋田県産ハタハタずし製品の成分と官能評価

塚本研一、戸松誠、熊谷昌則、保莉美佳、戸枝一喜、船木勉*
(秋田県総合食品研究所、*秋田県水産振興センター)

Ken-ichi TSUKAMOTO, Makoto TOMATSU, Masanori KUMAGAI, Mika HOKARI,
Kazuki TOEDA, and Tsutomu FUNAKI

【要約】

秋田県の主要な水産加工品であるいずしについて高鮮度の沿岸漁獲物を利用した製造技術を確立するため、秋田県における市販ハタハタずし製品の成分等を分析した。製品の状態、成分、製造方法は沿岸北部、中央部、南部で異なり3タイプに類型化された。また、ハタハタずし製品の成分が風味や嗜好にどのように影響するかを調べるため官能評価を行い検討した。その結果ハタハタずしの官能評価は魚肉部では生臭、酢臭、麴臭、甘味、苦味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量が少なく、適当な塩分と硬さを有するもの、また米飯部では生麴臭、甘味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量、塩分が少ないものが総合的に好まれると考えられた。今後これらの官能評価項目や分析値を指標として製造技術の開発を行う必要がある。

【緒言】

いずしは秋田県の主要な水産加工品で、特にハタハタずしは秋田県を代表する特産品となっている。ハタハタずしについては、これまで一部の地域の製品の成分について報告されているだけで¹⁾、秋田県全域について総合的に把握されてはいなかったため、前報^{2) 3) 4)}で秋田県全域の市販品の調査・分析を行い報告した。今回はさらに市販品を分析し地域による製品の特徴を把握するとともに、官能評価による品質関連成分と嗜好の相関を検討しハタハタずしの品質に重要な要因の把握を目的とした。

【実験方法】

1. 市販ハタハタずしの分析

前報²⁾と同様に行った。

2. 市販ハタハタずしの官能評価

水産業関係者および食品関係研究者で構成された11名のパネルにより、秋田県の沿岸北部(A)、中央部(B)、南部(C)の3地区で製造されたハタハタずし製品について各地区1製品ずつの官能評価を行った。魚肉部と米飯部に分けた試料について官能特性の強度と嗜好の評価を以下の項目で行い、製品全体では嗜好の総合評価のみを行った。

- I におい (生臭、酢臭、麴臭)
- II 風味 (生臭、酢臭、麴臭)
- III 味 (甘味、酸味、旨味、塩味、苦味)
- IV 食感 (硬さ)
- V 総合評価

なお、評価方法は次のようなシート (評価票) を使用し、Aを基準 (ゼロ) としてB、C (+, -の距離(mm) 尺度) を評価する尺度法により行った。

官能評価シート

市販ハタハタずしの評価 2002. 10. 2

氏名 _____

市販のハタハタずしについて試料Aを基準として試料BおよびCを次の項目について評価 (強度と嗜好) してください。なお魚肉部と米飯部はそれぞれを評価し、空欄には自由に意見を記入してください。

*記入例

	<u>魚肉部</u>	<u>米飯部</u>	自由意見
I におい			
<u>生臭</u>	B AC	B AC	
弱い	↓ ↓	↓ ↓	
	-----	-----	
	強い	強い	
嫌い	AC B	AC B	
	-----↓	-----↓	
	-----	-----	
	好き	好き	
.			
.			
V 総合評価			
製品全体の嗜好を記入してください。			
嫌い	C A B		
	-----↓		

	-----↓		

	好き		

【結果と考察】

1. 市販ハタハタずしの分析

ハタハタずしの成分分析では魚肉部と米飯部にほとんど差が無かったため、魚肉部の分析結果について以下に示す。また、A、B、C 3地区各3種類の製品について分析の結果、特徴が認められた成分については以下に記述する。

(1) 微生物

各製品の乳酸菌、酵母数を図1に示す。乳酸菌は特にB地区が多かった。酵母は特にC地区で多い傾向であった。A-1、A-2では菌数が少なく熟成期間が短いものと推定された。

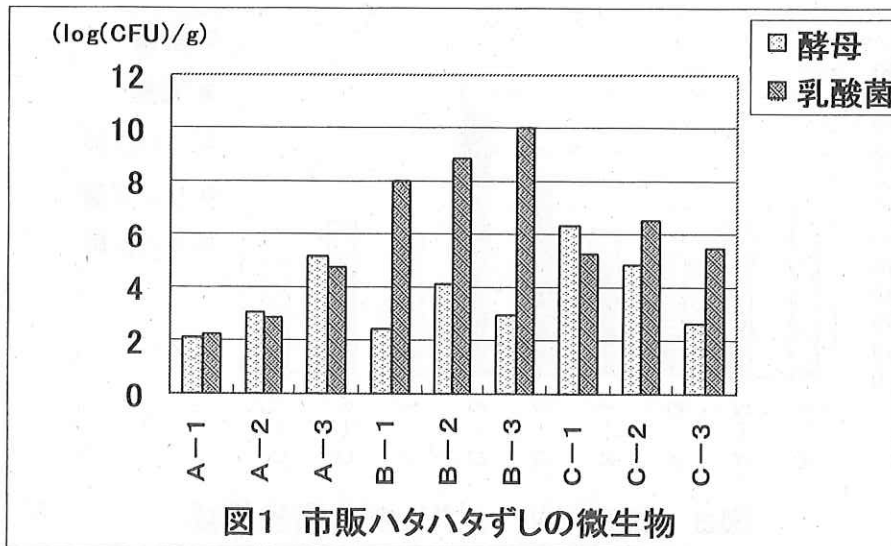


図1 市販ハタハタずしの微生物

(2) 糖類

図2に遊離糖量と組成を示す。遊離糖量はC地区が多い傾向にあった。A-3, B-1以外は砂糖を使用しているためシュクロースが検出された。また、マルトース、マルトトリオース等のオリゴ糖は特にB-1で多かった。さらにC地区ではグルコースが多く、麴による糖化が十分に行われていると考えられた。

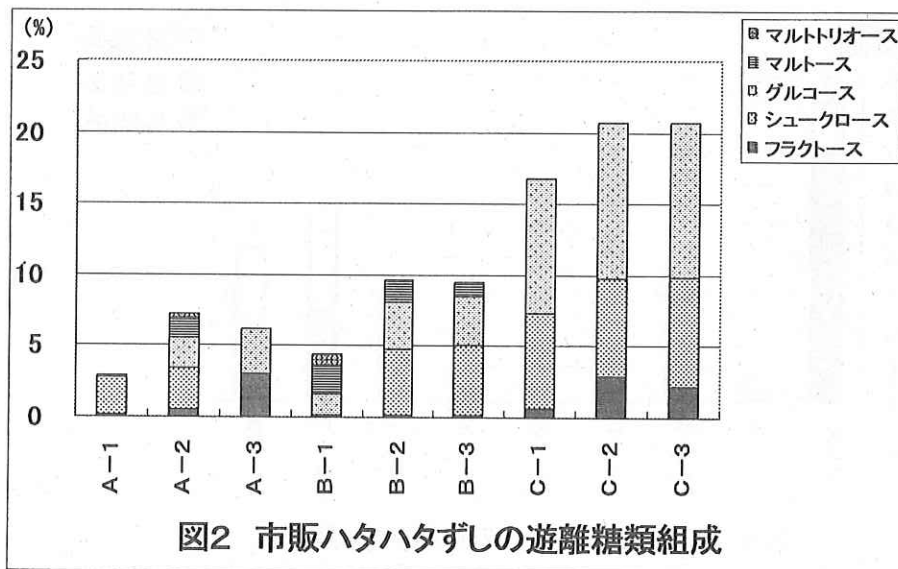


図2 市販ハタハタずしの遊離糖類組成

(3) 有機酸

図3に有機酸の量と組成を示す。有機酸の総量ではB地区が他より多い傾向があった。また有機酸の組成からみると、B地区では2/3以上が乳酸であり、乳酸菌数も多く(図1)乳酸発酵が進んでいると推定された。また、A地区とC地区の有機酸のほとんどは酢酸であり、特にA地区は乳酸菌と酵母が少ないことから、熟成期間は短いと推定された。

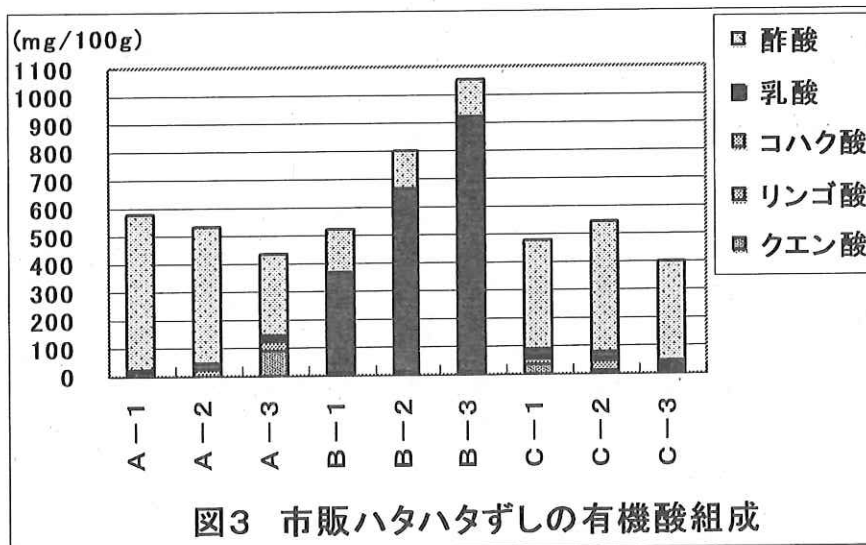


図3 市販ハタハタずしの有機酸組成

(4) 遊離アミノ酸

図4に遊離アミノ酸の総量と組成を示す。A-1が他より多いのは、調味料としてアミノ酸を添加していることによるものと考えられる。アミノ酸の組成では苦味系アミノ酸 (Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, His, Arg) がC地区で多い傾向が認められた。

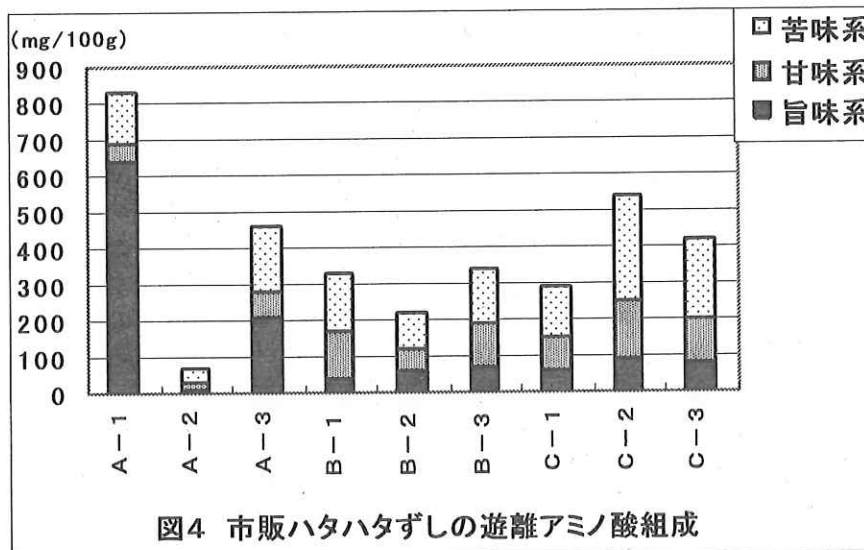


図4 市販ハタハタずしの遊離アミノ酸組成

(5) 核酸関連成分

核酸関連化合物は、ほとんどヒポキサンチン・グアニン (HX・G) まで分解されていた (図5)。また、特にAとCの製品からグアニル酸 (GMP) が検出されたが、これは添加した調味料に由来すると考えられた。

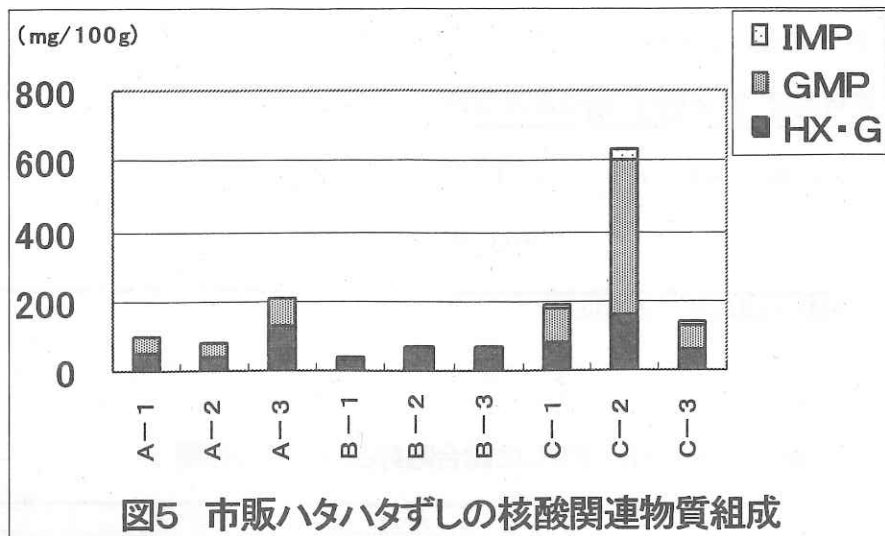


図5 市販ハタハタずしの核酸関連物質組成

(6) 水分活性、塩分、VBN (揮発性塩基態窒素)

C地区は塩分が他より高く、水分活性が低いことが特徴であった。これは遊離全糖量 (図2) が他より高いことによると考えられた。VBNはB地区とC地区でAより高い傾向があり、図1に示す乳酸菌数との相関が考えられた。

以上の結果から総合的に考察すると、秋田県の市販ハタハタずし製品は製造地区の違いで3タイプに類型化された。すなわち、A地区は熟成期間の短い混ぜずしタイプ、B地区は乳酸発酵を行う混ぜずしタイプ、そしてC地区は熟成期間が長く、糖分の多い押しずしタイプであった。いずれも地域に伝統的に伝わる作り方を基本としていると考えられた。

2. 市販ハタハタずし製品の官能評価

(1) 総合嗜好に対する各官能評価項目の影響

市販ハタハタずしの総合嗜好ではB, A, Cの順となったが有意な差ではなかった。また、魚肉部では、生臭 (C>A>B)、甘味 (C>A>B)、旨味 (C>A>B)、硬さ (B>A>C) の強度に有意差があった。米飯部では甘味強度 (C>A>B) のみで有意差があった。総合嗜好に対してどの官能評価項目の影響が大きいかを検討するため、重回帰分析で官能評価項目から総合嗜好を予測したところ、魚肉部では麴臭、硬さの嗜好、米飯部では酸味、麴臭、硬さの嗜好の影響が大きいことがわかった。

(2) 総合嗜好と各官能評価項目強度の相関

表1に示すように、総合嗜好と相関係数の大きかった各項目強度は魚肉部では生臭、酢臭、麴臭風味、甘味、苦味が負の相関で、塩味、硬さが正の相関であった。米飯部では麴臭風味、甘味が負の相関であった。

表1 市販ハタハタずし製品の総合嗜好と評価項目強度の相関

	生臭強度	酢臭強度	麴臭風味強度	甘味強度	苦味強度	塩味強度	硬さ強度
魚肉部	-0.90	-0.97	-1.00	-1.00	-0.99	+0.97	+0.97
米飯部			-0.90	-0.91			

* 数値は相関係数(±0.9以上)

表2 市販ハタハタずしの総合嗜好と分析値の相関

官能評価項目	分析項目	A-1		B-2		C-2	
		魚肉部	米飯部	魚肉部	米飯部	魚肉部	米飯部
1. 臭い、風味							
生臭	VBN(mg/100g)	5	3	15	7	8	6
	アンモニア(mg/100g)	16	9	17	13	12	10
	酸価(mg/g)	18		36		40	
酢臭	酢酸量(mg/100g)	558	458	128	91	464	328
麴臭	麴使用有無		無		有		有
2. 味							
甘味	全糖量(%)	3.0	4.6	7.5	9.6	15.0	14.2
酸味	有機酸(mg/100g)	583	468	1061	668	550	373
	酢酸量(mg/100g)	558	458	128	91	464	328
旨味	グルタミン酸(mg/100g)	633	767	67	48	60	53
	イノシン酸(mg/100g)	0	0	2	5	29	12
	グアニル酸(mg/100g)	56	51	2	3	447	243
塩味	塩分(%)	1.2	1.5	1.4	1.0	2.0	1.8
苦味	苦味系核酸HX/G	48	11	69	4	160	31
	苦味系アミノ酸(mg/100g)	140	100	150	100	280	220
3. 食感							
硬さ	水分(%)	55	66	64	64	55	65
	麴使用有無		無		有		有

総合嗜好との相関の大きい分析値(相関係数±0.9以上)
官能評価項目との相関の大きい分析値(相関係数±0.9以上)

負の相関
正の相関

(3) 総合嗜好と分析値の相関

表2に示すように、総合嗜好と相関係数の大きかった分析値は魚肉部ではヒポキサンチン、グアニンの核酸塩基成分と苦味系アミノ酸 (Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, His, Arg) 量が負の相関であった。米飯部では核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量、塩分と負の相関であった。また、各官能評価項目の強度と分析値で相関係数の大きかったのは、米飯部の甘味と全糖量のみであった。

以上の結果から、ハタハタずしの官能評価は魚肉部では生臭、酢臭、麴臭、甘味、苦味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量が少なく、適当な塩分と硬さを有するもの、また米飯部では生麴臭、甘味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量、塩分が少ないものが総合的に好まれると考えられる。今後これらの官能評価項目や分析値を指標として製造技術の開発を行う必要があると考えられた。

【文献】

- 1) Chang C-M, Ohshima T, Koizumi: *J. Sci. Food Agric.*, 66, 75-82 (1994)
- 2) 塚本研一、戸松誠、菅原真理、戸枝一喜、柴本憲夫、山田潤一：秋田総食研報、3、25-31 (2001)
- 3) 塚本研一、山田潤一、戸松誠、菅原真理、戸枝一喜、柴本憲夫：水産物の利用に関する共同研究、4 2集、6-9 (2002)
- 4) 塚本研一、船木勉、戸松誠、熊谷昌則、戸枝一喜：水産物の利用に関する共同研究、4 3集、88-89 (2003)

大豆および米遺伝資源試料の 活性酸素消去活性とその相乗効果

秋山美展、大久長範（秋田県総合食品研究所食品開発部門）、高田吉丈、山口誠之（独立行政法人農業技術研究機構東北農業研究センター）、島田信二（独立行政法人農業技術研究機構作物研究所）

Yoshinobu AKIYAMA, Naganori OHISA, Yoshitake TAKADA, Shinji SHIMADA and Masayuki YAMAGUCHI

【要約】

東北農業研究センター保有の遺伝資源である大豆 52 試料および米 36 試料の活性酸素消去活性を XYZ 系活性酸素消去発光法により測定した。大豆では、没食子酸 2 mM の発光強度を 100 とした場合の比発光強度は、平均 73.02、最大 147、最小 15.58 であり、標準偏差は 35.43 であった。比発光強度は大豆の総イソフラボン量との間にやや強い正相関があった。米では、平均 105.15、最大 170.67、最小 36.81、標準偏差 37.13 であった。赤米ウルチはいずれも高い値を示した。大豆水抽出液と米水抽出液との間の活性酸素消去相乗効果を調べた結果、相乗効果比は最大で 4.23 であったが、有色米では相乗効果は小さく、普通米が高い傾向を示した。

【緒言】

米や大豆はわが国の主要食糧資源であるばかりでなく、食文化を支えてきた重要な作物である。さらに近年では、食による健康の維持や疾病予防に対する社会の関心が急速に高まってきている。これまでの内外の研究により、米や大豆には体調調節維持効果を有するいくつかの成分が含まれることが明らかにされており、その化学構造解析や生体における有効性の検証などが精力的に行われてきた。

米や大豆の新たな需要拡大を考えると、その生理機能性を訴求することは大変有効であると考えられるが、そのためには科学的根拠に基づいた評価がなされていることが必要であることは言うまでもない。一般に穀類等に含まれる生理活性成分の種類や量は品種によって大きく異なり、さらに栽培環境や気象などの影響も受けるものと考えられている。本研究の目的は、遺伝資源として保有する米および大豆の活性酸素消去活性を測定し、それらを加工利用する際の基礎データとすること、米と大豆の相乗効果における品種間差を明らかにすることである。

【試料および実験方法】

1) 試料

試料は東北農業研究センターに保管されている大豆 52 試料、米 36 試料である (表1、表 2)。

大豆は全粒のまま、米は脱穀粒を粉碎し 500 μm 開孔の篩を通過させ、試料とした。

表1 供試大豆試料一覧

試料番号	品種系統名	生産年	試料番号	品種系統名	生産年
1	ふくいぶき	2002	27	栃木黒千石	2001
2	タチユタカ	2002	28	51S95DL/64/181	2001
3	リュウホウ	2002	29	朝鮮黒千石	2001
4	つるの卵	2000	30	岳間	2001
5	栃木	2000	31	5419/P2/66	2001
6	鶴の友	2000	32	台湾青皮大豆	2001
7	栃木生娘 1 号	2000	33	紫福在来選抜	2001
8	タマムスメ	1995	34	根釧在来 32 号	2001
9	ボンミノリ	1995	35	満倉金	2001
10	オクメジロ	1992	36	十交 0244 F9	2001
11	東秋	2000	37	士幌長葉 W	2001
12	早生大豆11号	2000	38	根釧在来 3 号	2001
13	小銀白	2000	39	根釧 15 号	2001
14	NOVOSADSKA8	1991	40	十系 117 号	2001
15	STEELE	2000	41	十系 805 号	2001
16	PI (USA) 96983	2000	42	キナコ豆	2001
17	BOONE PI (USA)54536-3	2000	43	COL/青森/1981	2001
18	PI 290156	2000	44	COL 岩手 1981L1	2001
19	PI 86023	1993	45	右大崎在来種	2001
20	CHESTNUT	1997	46	刈系 421 号	2001
21	GEORGE WASHINGTON	2000	47	刈系 293 号	2001
22	MAMMOTH BROWN	2000	48	刈系 297 号	2001
23	中鉄砲	2001	49	刈系 332 号	2001
24	今田大豆	2001	50	刈系 454 号	2001
25	ヤマベダイズ	2001	51	刈系 456 号	2001
26	栃木茶千石	2001	52	刈系 457 号	2001

表2 供試米試料一覧

試料番号	品種名 (出所)	特徴	試料番号	品種名 (出所)	特徴
1	朝紫 (C-1)	紫黒米モチ	19	稀珍黒米 (E-301)	紫黒米モチ長粒
2	朝紫 (SS-ASA)	紫黒米モチ	20	むつほまれ (TV1-4)	
3	朝紫 (中山間地)	紫黒米モチ	21	あきたこまち (TV1-20)	
4	朝紫 (最上町鍋倉)	紫黒米モチ	22	美山錦 (YV1-26)	酒米
5	紅衣 (C-6)	赤米ウルチ	23	キヨニシキ (TV2-1)	
6	紅衣 (SS-370)	赤米ウルチ	24	スノーパール (TV2-5)	低アミロース米
7	紅衣 (中山間地)	赤米ウルチ	25	ササニシキ (TV2-8)	
8	紅衣 (最上町鍋倉)	赤米ウルチ	26	ひとめぼれ (TV2-11)	
9	紅衣 (最上町向町)	赤米ウルチ	27	たつこもち (TV1-14)	
10	おくのむらさき	紫黒米ウルチ	28	ヒメノモチ (TV1-15)	
11	上海黒糯 (C-2)	紫黒米モチ長粒	29	奥羽366号 (TV2-30)	
12	赤室 (C-5)	赤米ウルチ	30	コシヒカリ (TV2-33)	
13	椎葉 (C-7)	赤米ウルチ	31	羽系682 (K1-22)	赤米モチ
14	豊の栄 (C-9)	赤米ウルチ	32	羽系飼726-1 (K4-8)	大粒
15	麝香 (C-13)	赤米ウルチ	33	羽系飼702 (K5-12)	長粒
16	アクネモチ (C-19)	緑米モチ	34	タカナリ (K5-21)	長粒
17	沖腿 (E-293)	赤米ウルチ	35	ふくひびき (K5-4)	
18	吉林黒米 (E-300)	紫黒米ウルチ長粒	36	奥羽飼384号 (K5-30)	大粒

生産年はすべて2002年。

2) 活性酸素消去活性の測定

活性酸素消去活性はXYZ系活性酸素消去発光法により測定した。10分間露光し、画像解析ソフトAQUACOSMOS(浜松ホトニクス)により発光画像の輝度を積算し発光強度とした。試料の発光強度は没食子酸(以下Ga)2.00mM200 μ lの発光強度を100とした場合の比発光強度に換算した。微弱発光強度から活性酸素消去活性の換算はY.Akiyama¹⁾らの方法によった。

X試薬:196mM過酸化水素 200 μ l

Z試薬:360mMアセトアルデヒド/飽和炭酸水素カリ溶液 200 μ l

試料:消去活性測定は全粒粉末100mgを供試した。相乗効果測定には、試料粉末2.5gを25ml純水で室温下1時間かくはん抽出し、遠心分離(6000rpm、15分)した。熱水抽出は95 $^{\circ}$ C10分間加熱した後、豆腐用ナイロン分離布で濾過した。

【結果と考察】

1) 大豆の活性酸素消去発光強度

表3に大豆のXYZ系活性酸素消去発光強度を示す。比発光強度100は没食子酸2.00 mM 200 μ lの発光強度に等しい。これはラジカル消去活性に換算すると、DPPHラジカル (2 mM) を約35%消去する消去活性に相当する。

表3 大豆試料のXYZ系活性酸素消去発光強度

試料番号	比発光強度	試料番号	比発光強度
1	99	27	48
2	90	28	75
3	84	29	56
4	53	30	81
5	58	31	127
6	75	32	81
7	64	33	77
8	81	34	28
9	147	35	35
10	139	36	27
11	93	37	23
12	56	38	30
13	106	39	30
14	118	40	81
15	75	41	44
16	109	42	16
17	45	43	17
18	20	44	30
19	56	45	128
20	75	46	71
21	120	47	54
22	136	48	65
23	80	49	103
24	52	50	47
25	114	51	135
26	49	52	95

試料数	平均	最小値	最大値	標準偏差
52	73.0	15.6	147.0	35.4

比発光強度：没食子酸 2.00mM を 100 とした場合の相対値

比発光強度の平均は 73 であるが最大値と最小値では約 10 倍の差が見られた。一般に産地による変動はこれほど大きくないので²⁾、品種間差によるものと考えられる。供試した大豆の総イソフラボン量の分析値（東北農業研究センター分析値；HPLC 法）と比発光強度の相関を図1に示す。

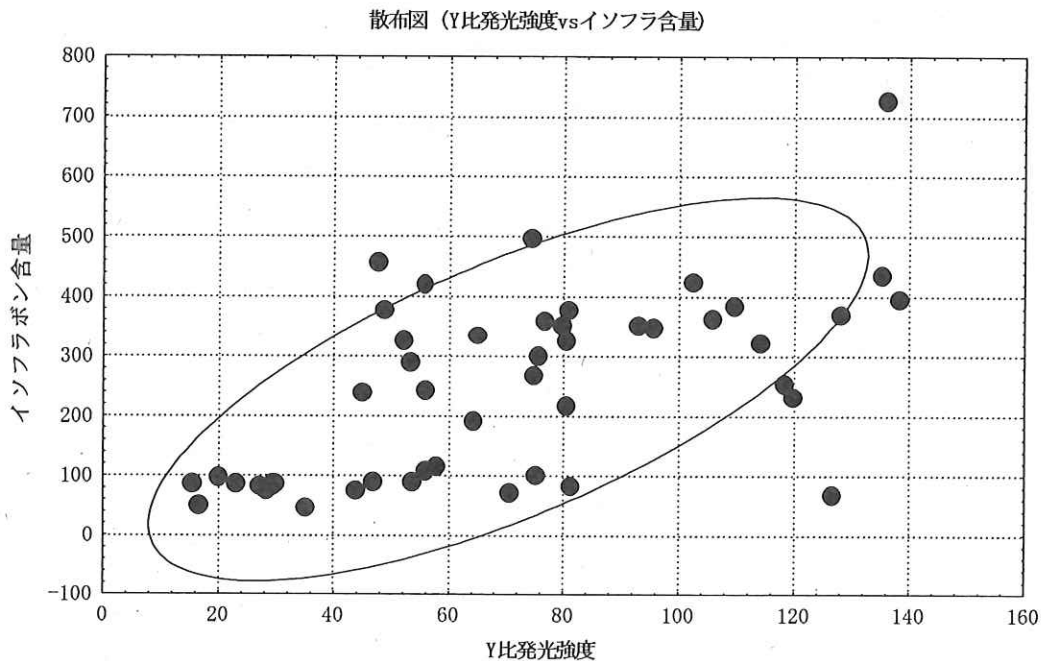


図1 比発光強度とイソフラボン総量との散布図
楕円は 95%信頼領域

比発光強度と総イソフラボン量との間の相関は、相関係数 0.61 (95%有意) で、やや強い正相関を示した。大豆に含まれ、活性酸素消去に係わる成分として明らかになっているものは、イソフラボン、サポニン、リポキシゲナーゼ、 β -コングリシニンのペプチドなどである。このうち、含有量や活性の強さから考えると、イソフラボンの寄与が一番大きいものと考えられるが、本試験の結果はこの仮説を支持するものとなった。

2) 米の活性酸素消去発光強度

表 4 に米の活性酸素消去発光強度を示す。比発光強度を品種群別にみると、赤米ウルチ>長粒ウルチ>中短粒ウルチ、モチ紫黒米モチとなった。紫黒米は一般に高い発光強度を示すことが多いが、今回供試した紫黒米モチ品種はいずれも低い値を示した。

表4 米試料の XYZ 系活性酸素消去発光強度

試料番号	比発光強度	試料番号	比発光強度
1	48.35	19	60.61
2	64.92	20	96.47
3	55.81	21	105.67
4	44.33	22	120.99
5	134.32	23	113.75
6	160.31	24	102.99
7	128.49	25	101.26
8	136.02	26	106.44
9	80.22	27	117.78
10	52.93	28	104.29
11	51.45	29	106.94
12	116.18	30	102.17
13	83.83	31	168.85
14	155.05	32	109.40
15	150.73	33	148.18
16	36.81	34	123.33
17	170.67	35	141.80
18	69.24	36	115.08

試料数	平均	最小値	最大値	標準偏差
36	105.15	36.81	170.67	37.13

比発光強度：没食子酸 2.00mM を 100 とした場合の相対値

3) 大豆と米の活性酸素消去相乗効果

米は大豆や茶と共存するとき、それらの活性酸素消去活性を飛躍的に高める効果のあることが明らかになっている^{3), 4)}。大豆および米試料のなかから、特徴的な品種を選びそれらにおける相乗効果を調べた。供試試料を表 5、6 に示す。

表 5 相乗効果測定用大豆試料

試料番号	品種系統名	比発光強度	総イソフラボン量 (mg/100g 乾物)	備 考
3	リュウホウ	84.05		代表品種
22	MAMMOTH BROWN	136	724.39	イソフラ 高、Y 強度 高
28	51 S 95 D L/64/181	74.62	495.04	イソフラ 高、Y 強度 中
35	満倉金	35.26	46.61	イソフラ 低 Y 強度 低
42	キナコ豆	15.58	86.42	イソフラ 中、Y 強度 低

表 6 相乗効果測定用米試料

試料 No.	品種系統名	比発光強度	備 考
1	朝紫 (C-1)	48.35	黒色モチ
5	紅衣 (C-5)	134.32	赤色ウルチ
21	あきたこまち	105.67	良食味米
22	美山錦	120.99	酒米
25	ササニシキ	101.26	良食味米

相乗効果比は以下の式により算出した。

$$\text{相乗効果比} = 2M / (S + R)$$

S : 大豆抽出液 200μl の発光強度

R : 米抽出液 200 μl の発光強度

M : 大豆抽出液 100μl + 米抽出液 100 μl の発光強度

表 7 大豆水抽出液と米水抽出液の相乗効果

	朝紫	紅衣	あきたこまち	美山錦	ササニシキ
リュウホウ	0.74	1	1.2		
MAMMOTH	0.58	1	1.25		
51S95D				1.95	2.23
満倉金	1.2	1.1	0.89		
キナコ豆				1.74	2.32

表 8 大豆熱水抽出液+米水抽出液の相乗効果

	朝紫	紅衣	あきたこまち	美山錦	ササニシキ
リュウホウ	0.74	1.33	1.3		
MAMMOTH		1.06	2.7	3.88	4.23
満倉金		1.21	1.57		

表 7、8 に相乗効果測定の結果を示す。相乗効果は大豆と米の組み合わせによって異なっており、相乗効果比で 0.4（逆相乗）から 4.23（強い正相乗）まで大きく変化した。最大の相乗効果を示したのは、MAMMOTH BROWN と美山錦の組み合わせであった。MAMMOTH BROWN は比発光強度、イソフラボン含量共に最高値を示した大豆品種であり、相乗効果発現におけるイソフラボンの関与を支持する結果である。米は単独では高い比発光強度を示す赤色ウルチ米は相乗効果をほとんど示さず、紫黒米では逆に消光効果を示した。米の相乗効果関与成分として、サイアミンやイノシトール 6 リン酸などを同定しているが、有色米にはこれらの成分が少ないものと推察される。紫黒米が逆の相乗効果（減衰効果）を示した原因については明らかではでないが、食品への加工利用を考える際には重要な知見となりうる。

【文献】

- 1) Yoshinobu Akiyama, Kazuyuki Hori, keishi Hata, Masaaki Kawane, Yukio Kawamura, Yumiko yoshiki and Kazuyoshi Okubo; Screening of chemiluminescence constituents of cereals and DPPH radical scavenging activity of γ -oryzanol; Luminescence, 16, 237-241 (2001)
- 2) 畑中咲子、丸山昇、鈴木康夫；宮城県産大豆の XYZ 評価、XYZ 系活性酸素消去発光研究会誌、2, 1, 33-37 (2003)
- 3) Y. Akiyama, Y. Kawamura, Y. Yoshiki and K. Okubo; Rice-tofu, its reactive oxygen scavenging activity and the making system; Proceedings of the third international soybean processing and utilization conference, 183-184 (2000)
- 4) 秋山美展、吉城由美子、大久保一良；茶カテキンの活性酸素消去相乗効果の解明と応用、第17回茶学術研究会講演要旨集 51-54 (2002)

DNA鑑定による新奨励米「めんこいな」の 品種判別技術の開発

小笠原博信，高橋砂織（秋田県総合食品研究所生物機能部門）
Hironobu OGASAWARA, Saori TAKAHASHI

【要約】

国内の米流通の多様化が進み，品質や食味が一層重視される中，「めんこいな」が秋田県の新奨励品種として登録され平成12年度産米から出荷され始めた．本研究では，既に「あきたこまち」で開発されているSTS(Sequence Tagged-Site)-PCR(Polymerase Chain Reaction)法による1粒品種判別技術を応用して，「めんこいな」のDNA鑑定による高精度な品種判別技術を開発した．

【緒言】

新食糧法施行等の規制緩和にともない米流通の多様化が進む中，品質と食味が一層重視されるようになった．米の品質保持の観点から，秋田県においても県産米の品種判別は重要な課題である．先に，RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)法を用いたDNA鑑別法を応用し，「あきたこまち」をはじめとする県奨励7品種について品種判定技術を開発したり¹⁾．さらに，5種のRAPDマーカの塩基配列解析によりSTS化したプライマーを用いた高精度かつ簡便な品種判別法を開発したり²⁾．本法は平成10年にJA全農秋田（当時秋田県経済連）に技術移転を行い，「あきたこまち」DNA鑑定事業として実用化されている．

その後，消費者や米流通加工業者等の良食味および銘柄指向はますます強まる中，平成11年に「めんこいな」が秋田県の新奨励品種として登録され，平成12年度産米から出荷され始めた．「めんこいな」は秋田県農業試験場が「ひとめぼれ」と「秋田39」から育種開発した新食感タイプの米で，今後の生産や販路拡大が期待されている．また，「あきたこまち」とは粘り等の食味バランスの異なる新規のブランド米として流通，加工業界からも大きな関心が寄せられている．

そこで，「めんこいな」についてもSTS-PCR判別について検討を行った．さらに，一部の判別マーカにおける品種間塩基配列を比較解析することにより新規の判別プライマーを作成した．これにより，「めんこいな」についても高精度かつ簡便な品種判別法を開発したので報告する．

【実験方法】

1. 試料

秋田県内で生産されている奨励米を本研究における品種判定の対象とした．標準試料米は品種，栽培履歴と管理が明確で，他の品種が混入する可能性のない秋田県農業試験場の原種圃場産のものを使用した．標準米の内容は平成11年度産の「あきたこまち」，「キヨニシキ」，「トヨニシキ」，「ササニシキ」，「たかねみのり」，「秋田39」，「でわひかり」，「ひとめぼれ」および，「めんこいな（秋田59号）」である．また，参考標準米として，新潟県農業試験場産の平成7年産「コシヒカリ」（秋田県農業試験場提供），および平成7年市販の滋賀県産「日本晴」を用いた．

2. 米1粒からのDNA抽出

玄米及び精白米1粒試料からのDNA抽出には市販のDNA抽出キット(ISOPLANT; ニッポンジーン社)を用い, キットに添付されているプロトコルを改良して使用した^{1,2)}. すなわち, 試料米1粒を1.5mlマイクロチューブに採取し, キット添付のSolution Iを300 μ l加え, 30°C10分間保持した. これにSolution IIを150 μ l加えミキサーで激しく攪拌した後, 50°C30分間静置した. 次にSolution IIIを150 μ l加え混合後, 水中に15分間静置した. これを遠心分離(MRX-150; トミー精工, 14,000 rpm, 16,000G, 4°C, 15分間)し, 上層(水層)を1.5mlマイクロチューブに移し, 2.5倍容のエタノールでDNAの沈殿を得た. 沈殿物を70%エタノールで洗浄後, 遠心濃縮機(CC-105; トミー精工)で乾燥し, RNaseA(10 μ g/ml)の入ったTEバッファ(10mM Tris-HCl, 1mMEDTA, pH8.0) 50 μ lに溶解した. これを55°C30分間反応したものを品種判別用DNA溶液とした.

3. STSマーカーの増幅

前報²⁾で使用したSTSプライマー5種類(ARIF1からARIF5: プライマー記号ARIF秋田県総合食品研究所の英語略名称より)を用いて, 各品種のSTSマーカーの増幅を行った. すなわち, 滅菌水13.3 μ lに添付10倍バッファ(100mM Tris-HCl, 500mMKCl, 15mMMgCl₂, pH8.3) 2 μ l, 添付2.5mM dNTP Mixture 1.6 μ l, 10 μ Mプライマー2 μ l, DNAポリメラーゼ(TaKaRa Taq 5U/ μ l; 宝酒造)0.1 μ lを混合し, これにDNA溶液(1ng/ μ l) 1 μ lを加え(合計20 μ l), ザイモリアクターII(アトー社)によりDNA増幅を行った. 反応条件は前加熱94°C・1分後, 変性94°C・1分, アニーリング55°C・1分, 伸長反応72°C・2分を40サイクル行い, 最終伸長反応は72°C・5分とした.

4. ARIF3マーカー塩基配列の品種間比較

ARIF3プライマーセット²⁾を用い「あきたこまち」および「めんこいな」のSTS-PCRを行った. 得られた反応液全量を6倍Blue-Orange Loading Dye(プロメガ社)にて処理後, 2%アガロースゲル(L03; 宝酒造)に添加し, 50V・60分間泳動した. DNAをエチジウムブロマイドで染色後, トランスイルミネーター(フナコシ社)上で目的のARIF3バンドのみを含むアガロースゲルを切り出した. アガロースゲルからのDNA抽出にはGeneClean(BIO101社)を用いた. 精製したそれぞれのARIF3マーカーDNA断片をpGEM-Tベクター(プロメガ社)に挿入後(DNA Ligation Kit Ver. II; 宝酒造), 選択したクローンについてDNAシーケンサーModel 373S(アプライドバイオシステムズ社)により塩基配列を決定した.

5. STSプライマーの作成

得られたARIF3マーカーの塩基配列情報を基に「めんこいな」の欠損部分, あるいは「あきたこまち」の結合部分に20merのプライマーを作成し, 判別用プライマーセットの検討を行った. PCRは同様に行い, 増幅終了後, 反応液5 μ lを採取し, 6倍Blue-Orange Loading Dye 1 μ lを加え, 全量を2%アガロースゲルに添加し, 100V・30分間電気泳動した. DNA分子量マーカーはpHY Marker(宝酒造)を用いた.

表1 ARIF3分別STSプライマーの塩基配列

プライマー	塩基配列
ARIF3a	F 5' ACAGAGGGAGAGGGAGTATG 3' R 5' TTTGACCGGATGTCGGAAGA 3'
ARIF3b1	F 5' ATATAATGAATCTGGACTAA 3' R 5' TAATGCTTAATGCATGTGTA 3'
ARIF3b2	F 5' ACTAAGTATGTGTTAAGGTA 3' R : ARIF3b1Rと同様

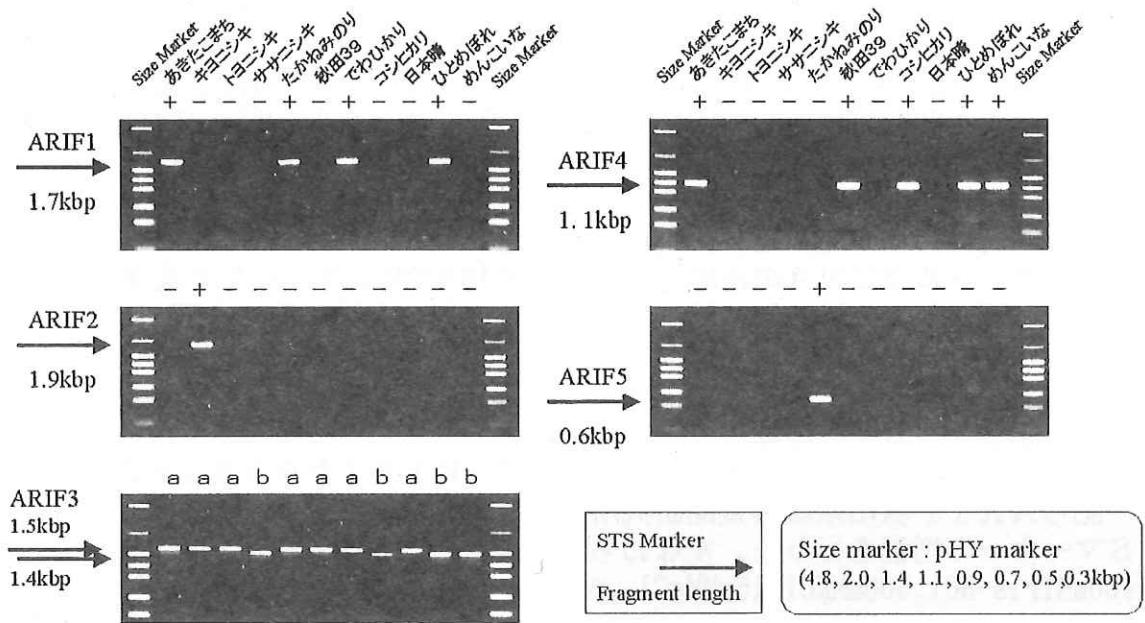


図1 従来のSTS-PCR法による秋田県奨励米の品種判別

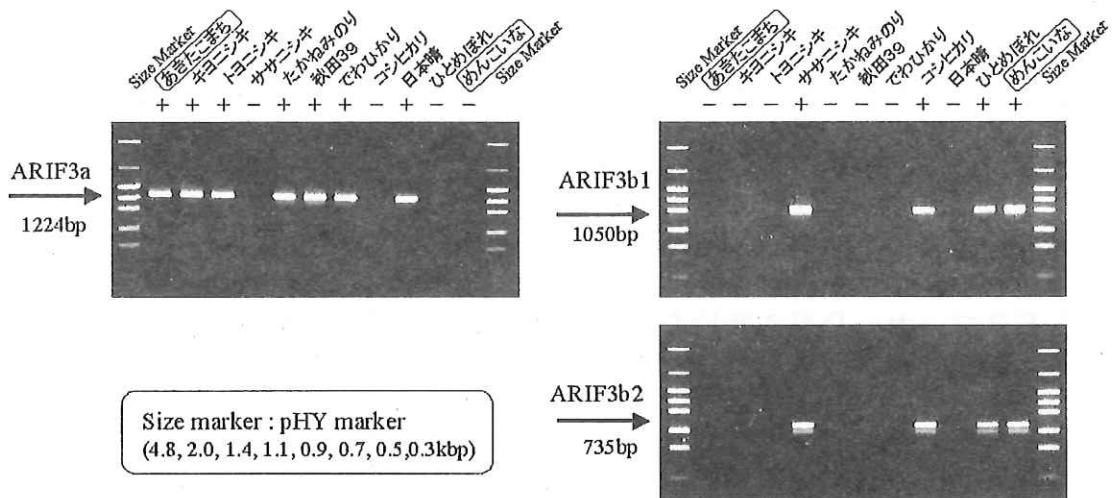


図2 ARIF3マーカーの分別STS-PCR判別

【結果および考察】

1. STSプライマーの作成

「めんこいな」を他の秋田県奨励品種から区別するためにはARIF3マーカーによる判別が必要である(図1, 表2, 判別マーカーの塩基配列は別表1~6)。しかしながら, 図1に示すように, 従来のSTS-PCRではaタイプとbタイプのマーカーの長さの差が100bp程度しかなく, 明確な判別が容易でない場合もあった。そこで, 「あきたこまち」グループ(aタイプ), および「めんこいな」グループ(bタイプ)それぞれを別々に増幅できるようなプライマー設計を目的として, 「あきたこまち」と「めんこいな」についてARIF3マーカー塩基配列の比較解析を行った。その結果, 「めんこいな」では5箇所, 最大70bp, 合計で約100bpの

欠損が認められ、2グループのARIF3マーカの電気泳動における差と一致していた(図1)。欠損部分および結合部分の塩基配列を基にいくつかのプライマー(20mer)を設計し、PCR条件について検討することにより、表1に示す3組のプライマーセットを作成した。

2. ARIF3マーカの分別STS-PCR

新たに作成したARIF3aマーカにより、「あきたこまち」をはじめとすaグループのみが1224bpの判別バンドとして明確に増幅された。一方、ARIF3b1マーカにより「めんこいな」をはじめとするbグループのみが、1050bpの判別バンドとして明瞭に増幅された。また、ARIFb2マーカも同様に735bpのマーカのみが明確に増幅された。したがって、ARIF1, 4, および3bマーカにより、「めんこいな」についても「あきたこまち」と同様に秋田県奨励品種の中で明確で高精度な品種判別が可能となった。また、同様にARIF3マーカによる判別が必須である「ひとめぼれ」についても明確な判別が可能となり、秋田県奨励品種へのDNA鑑定実用化の範囲が広がった。(表2)

3. 秋田県奨励米DNA鑑定技術の応用

本研究により、秋田県奨励米全品種が判別マーカの有無(+,-)による明確なバンド・パターンによりタイプ分けが可能となった。このSTS-PCR法による品種判別は、すでに実用化されている流通段階での品種鑑定はもちろん、育種現場や採種過程における品種の確認、あるいは、生産段階での集荷品種の確認等幅広く利用されることが期待される。最近では、炊飯米での品種判別³⁾や、「コシヒカリ」判別キットの開発⁴⁾等も報告されており、加工流通段階でもPCR品種判別法が応用可能となってきている。近年、食の安全や農水産物のトレーサビリティへの要求が高まる中、DNA鑑定を利用した品種判別技術の実用面での必要性はますます高まってくるものと考えられる。

表2 「めんこいな」および秋田県奨励米の品種判別結果

プライマー セット	秋 田 県 奨 励 品 種									参 考 品 種	
	あきたこまち	キヨニシキ	トヨニシキ	ササニシキ	たかねみのり	秋田39	でわひかり	ひとめぼれ	めんこいな	コシヒカリ	日本晴
ARIF1	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
ARIF2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARIF3a	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
ARIF3b	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
ARIF4	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
ARIF5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Type	A	B	C	D	E	F	G	H	I	I	C

【文献】

- 1) 小笠原博信：秋田県総合食品研究所報告，1，28 (1999)
- 2) 小笠原博信・高橋砂織：日本食品科学工学会誌，47，632 (2000)
- 3) 大坪研一ら：日本食品科学工学会誌，46，262 (1999)
- 4) 大坪研一ら：日本農芸化学会誌，76，388 (2002)

別表1 A R I F 1 マーカーの塩基配列 (DBJ Accession Number: A B 1 0 7 3 6 0)

1	CCGCAGTTAGATCAAGTGGCAAGGTTCCATGTTGGACTCAATCATGTCAAGTGAATCCATTGCTGAATAAGTTTCTTC	80
81	TTTTCTATAACAGTTCCTTTAGGGAAGATTGAACAATATACAAAGCATAATCTTAGCTCATGGGCATATTATAATATAT	160
161	TATCTTGAATGATGGAAATAGTGGTGAAGTTTTGTCTTGGGATAATCTTCTCTATCTTCCACATTTCTTTATCCTTTG	240
241	CAGCTTGCCAAATCTCACGCCTTTGTCGTTGAGCATTACCACAGAACCGAGAAAATTGGCTACCAAGGGTGTGCCTTCA	320
321	CACCTTCTAACGATTTCTTCCATATTCCTGAACAACGGGTCAACCGACCTGTCATTGCCCTTTGAGAGAATATTTT	400
401	TAAACAATCATCCTCAGATAAAGCTGCCAACTTGTACAGTGAACGGTGGAAATCAGCTTAGCTACTTTATTGCTATGAG	480
481	TGGTCACTATGATCTTCTTCTGTGTGTCTACCTGTAAGCAACATCTGCTTCAATTCATTCACTTCTTCATCCTTTCCC	560
561	CAAAGGCTGTCTATTATGATCAAGCAACTATATTTATTTAGCACACGCTGAACAGCATTCTTGATTGACTGCAGCTGCAT	640
641	ATTTCCCTCAATTTTTCTGTAGTTTGTGAAACTATATCTCTCCCAATTTTTTCAAGGTTGATATTACCCATGGAACAT	720
721	GAACCCATATCCTAAAGCTGAATACCTCTGTTCTTGTATCATTGAAAACAACTGTGCAAGGCTTGTCTTTCCAAAACCT	800
801	ACAGGCCAACTATGGGTATAATACAAAGCTCTTCAGCGCTGTTTTGCATTAAGATCCATGAGATGATCCAAATCAGC	880
881	ATCCCTCCGACAATTGCAATGTCAGTATTTCTGTATGATGTTGTTTGGCTTCTCTCAAATAATGCACAGCTGAATTGA	960
961	TATATGAAAGGAAATGATACTGATTGGGCAACTGTTGGCTTTGCTGTAGCATCTCTCTTGGATTTTCATCTTATAAACC	1040
1041	ATGCTACCTTTCAGAAAGCATTGGATTGGATAGCGAGCAGAATAATGACCCCTGTAATTTATGAAGCTAGCCTTAGTCAG	1120
1121	GAAAGACATTTAGTATTTGATACTATTGTTGCTGGAAGAACAAAATGGAGATAGGTAATAACAGTTGGTGCAGCAAG	1200
1201	GAACCAAGGCCGGTATCAACCCCTACATAGCAGATAGATCATAGATGCACAATTGTTGGTAAAGTACCTTGCAATTTCT	1280
1281	TTTCCATATAAATACAAAGGTTTTTTTTTCAAATATTCGTCGATCAATTTTTGCTATGTAAGGCAAAAGCTGATTG	1360
1361	CTTACCAAAAACAAAAGAATCGAGTGCTCTGACGATGTGGCATGTAAGTATTAGGTTTATCTCTCACTATTTGCAAAAG	1440
1441	GGTGTGAAGTATAGTACAATCTACAGGTATGTGGCATGTAATTTAGGTTTATCTCTCACTACTACCAGTATCAAGGA	1520
1521	ATTTATAAGGAAAAAAGAGAGTAAATCTAGTACTAGTAAATCAATATTGTTTAAATATATAAAACATAATCACAAAT	1600
1601	CTCAGAGCTGTTCCACTCTCCACAGGCAATGAAGCAATCTAATGGTGCATCTAAGTCCG	1662

別表2 A R I F 2 マーカーの塩基配列 (DBJ Accession Number: A B 1 0 7 3 6 1)

1	GTCGTTCTGTGGTTAGGACAGGGTCGCAAAATTCAGTCTTAGAGAATACTCCCTCCGTCCTCAAATATAGCAATTTTTAGT	80
81	GTCTAGATTCATAGCTAAAAATTGCTATATTTTGGGACAGAGGTAGTAGGTTTTAGTTCTTAAGTTCTCTTGTATCCTG	160
161	TCCCCTCTATTTTAGTTCTTTTTCGGTTGTTCCGATGTAATAACTTTTACTCCTTAATACAATGATACGCTCCTTGCG	240
241	TATTTCCAAAATAAATGAGAACTAAGAAGTCAAACCTGAACTGTACAAGCGCTAGAGAGTGAACAAAACAGTTTGGTG	320
321	ACAACCTGACAAATCAAATTTGGCAAACCTGCCAGGCAGCTCAACAAGGACACATTGTATGTGAGGTGAGAAACATCATGC	400
401	TAAAAAACATTATGAAACTTCCACAGATCATAAAGCTTTATGAAAACACATAGACAAGCACTTGTACAGTAGCATAT	480
481	TGTATATTTGTGCGAAGTACAAAACCAATTAATCAATATATTAACATACGCAATCAAATACGAGAGATATCACAC	560
561	AAAATACGAGAAATAGTTGAGTGTGAAGAGACAAGCAGAGATTTTTTTTTAACGACACAAACAGAGATTTCTAGACC	640
641	AACAAGACTCCATTTAAGGGGTGAAAGCAAAAGGACACGATCATGGCCGTCAGTGGCAGAGACCGGATGAAGGGAGGCG	720
721	GTGGGTCCGTAGAAGGCAGCAGGAAACGTATATA TGGCAATCGACGAAGCAGGGAACAGAGTGGACAGCACAAGCCGAC	800
801	AGACCACAGGACTACAGGAGAGAGCTGAAGTCTATATGAGCATGAGGCGCTACCTTGTAGCAGGTGGCGAAGAGACG	880
881	AAGTTACCTGAGAGAGCAAACTTTGGAGTGTCTGTGCAAAAACAAAGGAAAAGTGAAGTTAATGATGTGTTTCGTAAGATCA	960
961	TGAGCGAATGAAAATAAATATATATAGAGTACTTCTGATAATGCATTTGATGGGCCTTCACCTTTGCGCTTCTCCGTAGT	1040
1041	AGTGATTCGAAGCACAATTCATCTGAATTCCTTCCAGCGGATATGCGCAATCTTTGGCCAGCTTCTCCATCAGGTGCT	1120
1121	CTGCAGCTCTCCTCAAGAGCTCACAAACCCATATACATATATGCTGGAGGGAGGACGGCAGATCAGGTAGAGATGATAT	1200
1201	GTTGGGGCAATAATAGATATCGAGTTTCTTTAGACTGGATAGGCATTCATATTTCTGGTAGTGAACCTATTTCCACT	1280
1201	CACATAACCTGAGGCACTTGACCGATGTGAAATTTGAGATTCTTCTAATGAAACGGATGACTCCTTGACGCTCTCAAGA	1360
1361	GAGAGAAACCTGGAACCTACAAACCTTCAGCGGAGAGCATGTGGTTGAGCATAACAGAAGTCTAATATAGAGCGAACG	1440
1441	CTGGACCGGAACCTGTGAGATGCTCTCGGTAGTAAGCTTTGGAACATCTATCAAGTGCACGTGGTGAAGCTGCAGGGAAG	1520
1521	ACAAACCTTCCAGCACGATAAATCTGGCAAATGATATAGCGAGAATGATTCGAGGGAGGTAAAGTCAACACATAAAG	1600
1601	GACGCCGAGCTCCTACAGCCAGATAAGAGAATATCATCCAGATGTGGCCAGTCAACCGCAGAAGAAGTCAAGCTGAAAGCAC	1680
1681	ACAACCTGTATACATAGCTTCTCAAGGGACATTGGCATAAATCTGCACCACGTGCCAACTGTAAGAAGGACAGGAAA	1760
1761	ATAATCTTATTTCTGAAAGAGAGGTAGCAGATCGCAAGCCCCGAACGATCTGAGACACCAGCAGGAACGAC	1832

別表3 A R I F 3 a マーカーの塩基配列 (DBJ Accession Number: A B 1 0 7 3 6 2)

1	TCTATACATGGGCCGTACATCATTCCAATGTGCTAACTATAATCACTTAGGAGAACATTACGTGGTGTATCCACAGTT	80
81	ATGATTTCACTTCCGTGATAGGAAGAAACAACCTTTTTTTTCCAATATATATGGCTCAATGGAGATGTTCTGTCTAC	160
161	TTGTGCAAGCAATGCATTACTCCATCCGTCCAATAAAAAACAAATCTAAGATAGGATGTGACATTTCTAATATAATGAA	240

(次ページにつづく)

(つづき)

241	TCTGGACACACATCTCATACTAGATTGATATTTTATAGGACAGAGGGAGAGGGAGTATGTGTGTATATTGCTCTATGGCG	320
321	TAAAAACATATGGTGACTGCAAAACGATATACTAAGCAAGCAAAGCACGCAGAACGTATGGTGACTGCAAAACGATATA	400
401	TATCTCTTAAGCAAAACGATATGGTTTTGCAAGCAAAGCATGGAGAACGTACGGCAAATTAAGTACCTCGGGCTGTCTC	480
481	TTGACTGATCTCACATGCACGATCAATTAACATACTATACTAAGTATGTGTTAAGAGCAATTTTATGGTACTTGAGA	560
561	AGTTACCATGAAATACCATTTTTCTATTGTAATTTGGTATCTCTGGTACCTAGGTAATGAGATACCAAATTTTAC	640
641	ACTAATTTTTGGTACCTCATGGTACCTTCTAAGGACAGTAGAATGGCCATGTGCTAATGAATTACATTGCTAATTAG	720
721	TACTTGATCAGCATAAGCAAGTTGATCGAACTAGCTTGCTTTGGATCGATGCAACTTCTGAGATTTGACAAATGTTGC	800
801	TGGTATCTGCTGCTCATCGGTACTGTCTGTACTGTCAGAAAGTTCAGAATGGAACACCAGTATTTAGGTGGTGTGGGA	880
881	TCTAGTACTTAACCTAGTCCCTGTATTTAAACACTAATTTAGAGTATTAATATAGGCTACTTATAAACTAATTACA	960
961	GAAATGAAAGCTAATTCACGAGACAAATTTTTAAGCCTAATTAATCTATAATTAGATAATGTTTACTGTAGCATCACAT	1040
1041	AGGCTAATTATGGATTAATTAGGCTCAATAGATTCGCTCGCGAATTAGTCCAAGATTATGGATGGGTTTTTATTAATAG	1120
1121	TCTATGTTAATATTATAATTAGTGTCCAAACATCCGATGTGATAGGGACTTAAAAGTTTTAGTCCCATCTAAACAGGG	1200
1201	TCTTAATATTAGGTCTGGTTAGTTTCCAATTTTTCTCAAAAACATCACATCGAATCTTTGTACACATGCATTAAGC	1280
1281	ATTAATATAGATAAAAACTAATTCACAGTTTGCATGGAAATCACGAGACGAATCTTTTGAGCCTAATTAGTCCAT	1360
1361	GATTAGAGATATGTGCTACAGTAACCTACATGTGCTAATGATGGATTAATTAGGCTCAAAGATTGCTCTCGCGGTTCC	1440
1441	AGGCGAGTTATGAAATAGTTTTTTCATTCTGTGCCGAAAACCTCTCCGACATCCGGTCAAA	1503

別表4 A R I F 3 b マーカーの塩基配列 (DDBJ Accession Number: A B 1 0 7 3 6 3)

1	TCTATACATGGGCCGGTACATCATTCCAATGTGCTAACTATAATCACTTAGGAGAACATTACGTGGTGTATCCACAGTT	80
81	ATGATTTTCAGCTTCCGTGATAGGAAGAAACAACCTTTTTTTTTTCCAATTATATATGGCTCAATGGAGATGTTCTGTCTCA	160
161	CTTGTGCAAGCAATGCATTACTCCATCCGTCCAATAAAAAACAACTCTAAGATAGGATGTGACATTTTCTAATAATGA	240
241	ATCTGGACTAAACATATGGTGACTGAAAAACGATATACTAAGCAAGCAAAGCACGCAGAACGTATGGTGACTGCAAAACG	320
321	ATATATATCTCTTAAGCAAAACGATATGGTTTTGCAAGCAAAGCATGGAGAACGTACGGCAAATTAAGTACCTCGGGCTT	400
401	GTCTCTGACTGATCTCACATGCACGATCAATTAACATACTATACTAAGTATGTGTTAAGGTACCATTTTTTCTATT	480
481	TTTTCTATTGTAATTTGGTACCTCTGGTACCTAGGTAATGAGATACCAAATTTTACACTAATTTTTTGGTACCTCA	560
561	TGGTACCTTCTAAGGACCGTAGAATGGCCATGTGCTAATGAATTACATTGCTAATTAGTACTGTGATCAGCATAAGC	640
641	AAGTTGATCGAACTAGCTTGCTTTGGATCGATGCAACTTCTGAGATTTGACAAATGTTGCTGGTGTGCTGCTCATCG	720
721	GTAAGTCTGTACTGTCAGAAAGTTCAGAATGGAACACCAGTATTTAGGTGGTGTGGATCTGACTTAACTCTAGTCCC	800
801	TGATTTAAACACTAATTTAGAGTATTAATAATAGGCTACTTATAAACTAATTACAGAAATGAAAGCTAATTCACGAGA	880
881	CAAAATTTTTAAGCCTAATTAATCTATAATTAGATAATGTTTACTGTAGCATCACATAGGCTAATTTAGGATTAATTAGG	960
961	CTCAATAGATTCGCTCTCGCAATTAGTCCAAGATTATGGATGGGTTTTTATTAATAGTCTATGTTAATATTTATAATTA	1040
1041	GTGTCCAAACATCCGATGTGATAGGGACTTAAAAGTTTTAGTCCCATCTAAACAGGGTCTTAATATTTAGGTCTGGTTA	1120
1121	GTTTCCAATTTTTCTCAAAAACATCACATCGAATCTTTGTACACATGCATTAAGCATTAAATATAGATAAAAACTA	1200
1201	ATTGCACAGTTTGCATGGAAATCACGAGACGAATCTTTTGAGCCTAATTAGTCCATGATTAGAGATATGTGCTACAGTAA	1280
1281	CCTACATGTGCTAATGATGGATTAATTAGGCTCAAAGATTGCTCTCGCGGTTCCAGGCGAGTTATGAAATAGTTTTT	1360
1361	TCATTCTGTCCGAAAACCTCTCCGACATCCGGTCAAA	1399

別表5 A R I F 4 マーカーの塩基配列 (DDBJ Accession Number: A B 1 0 7 3 6 4)

1	CCACAGCAGTGCTTCATGTGATGTAGAATACAGTTTAGTTCAGTACACGCAGGATCATACACAGCTATAATTAATGCTG	80
81	CTGAAAAATTTATGTATTATTTGCAATAGTACCGTACGGTTATTTTCAAGTACATATGCTTGAACATGCAGTAGTATA	160
161	TTTGGCATGTGTTCCGGTATGAACTAAACTTTCTTTAGAACCACATATTAGTATATCTTACTAGACTGTTGCTAGCGAAAA	240
241	CATCATTATCTGTACTGTTTTTCTGCAATCTGCAGAGGTGCATATATCTACTCCTTAAAAACTGGAATGGTGTGGTG	320
321	TTGGTGTGCTCTATGTAGCCTCAACTAAGAAATTTCTGGTATAAATTTATGTAGACATTTGAGTGTGATTTTTATTTA	400
401	GGGGCAAAATTTACTAAAATTTGCATATGTATGTAGTTTTTGTATTAGAGTATAATTGTTTTTCAAGTACAGAAC	480
481	TATGTTATATTCATTTGAGATCTGTCACAACTCACAACACACAGGCATAATGGTAGTTTCTTATAATGTCAGTCACCA	560
561	TTATTTTCAGTTGCTGCTTTTTGCCAACTTTAGGTAAGATTTGTAACTTTTCCACCTGCTGTTTACAGGTCTGTTTTT	640
641	AATGTACCCTATTTTCCGCCACTGAAATATACAATGCAATTCGTGTTTTTTCATTGCTGCTATGTCTGGATGACTGGAT	720
721	TTGGAACTTCTCATACTATTATTAAGAAAGACTTTAGTCTTGCAGATTTGCTCAGGTGCCATTCTGATCTTTAACC	800
801	CCAATCTGTTCTATATGATACTTTAGTATGTTTTCAATTTCTTGATTTAATGCATGGTTTACACTGACAACCATATTTCT	880
881	AATGCAGATGATGGGAGACTTAATTTTTTGGTCTTCTGCTGCATTTGCTTGCATGTTTACACTGACAACCATATTTCT	960
961	TATGCCAATGCACACTTTGTTTACTCTTATGGTATATGGGTCCCTGGTCTCTTAAATAAGTATAATGAGATACCTTCA	1040
1041	GTGATGGCAATGAAGATTGTCAGCTGCTTCTAGCAGTATCTGATATGGGAAATTCCTGGTGTATTTGAACTGCTGTG	1120
1121	G	1121

別表6 ARIF5マーカーの塩基配列 (DDBJ Accession Number: AB107365)

1	GCCGCCAGAGGAGGAGGCAGCAGCAGTAGCGCAGTGCAGAGCCATCCAGCAGAGTGGCTCAGAGATTCCAGATCTTTGG	80
81	CTGCCCTTGATCATTGACACGGACAGATCACAGATAGATGAGAATGTGAGATGGAGTAGAAGTAGATGATCAAGATCAGC	160
161	CAAATGGCTGTGAATGTAAGCTTGAAAATGTGTGCGAAAAATCTGCTGATAGTGTACTATTGCTGATAAGGAGACTGA	240
241	CCGTGTGGGCTATGGCCGCTTTGTAGTTTTAATATAGTCACATGCTTATAACAAATGTTTTCTAACCTCCTAAATGG	320
321	TGTATTTTTTAAAAAAATTATATTTCTTTATCGATACTTTTTAGAAAAATAAACCTATCATCTTTTAAATTTAATT	400
401	CACTCATTTCATTGTCTTAACTCCAGTTGTGGAGATAAGGGGTGATAATTATTTGACTAATTAGATAGTTAATCTAAAT	480
481	AATAGTGTACTAGGCCCTTCCTATATCTAAAATCTCTGCCACTAATAAATTCACCTTCATCCATCATACATTACACTT	560
561	TCAAATGGTCCGAAGACTTCCTCTGGCGGC	590

2. 原著論文（研究ノート）

「無洗米の米飯テクスチャーと貯蔵による変化」

○大能俊久、堀 一之、大久長範

「乾めんの電子顕微鏡による断面観察」

○大久長範、大能俊久

無洗米の米飯テクスチャーと貯蔵による変化

大能俊久・堀一之*・大久長範

(秋田県総合食品研究所 食品開発部門、*生物機能部門)

Toshihisa OHNO, Kazuyuki HORI and Naganori OHISA

【緒言】

近年、洗米操作を行わないで炊飯できる米、すなわち無洗米が市販されている。無洗米には、調理操作の簡便さと研ぎ汁を出さないという環境汚染抑制の効果が、今後も消費者の認知に伴って、無洗米の市場規模は増加すると推測される。

無洗米に関するこれまでの研究は、成分測定や炊飯特性と米飯の官能検査などが中心であった。米飯のテクスチャーは米のおいしさや食味に関与する重要な要因である¹⁾にもかかわらず、無洗米のテクスチャーを機器により測定した研究は少ない。また、米の貯蔵中において、遊離脂肪酸は澱粉の糊化膨潤に関係している^{2, 3)}ことが知られている。無洗米は普通精米に比べて貯蔵中の遊離脂肪酸量の増加が小さいことが分かっており⁴⁾、貯蔵した無洗米米飯のテクスチャーは普通精米米飯のそれとは違う挙動を示すことが予想される。

そこで、無洗米米飯（以下CWRと表示）のテクスチャーを1粒ずつ大変形、小変形で複合的に機器測定し⁵⁾、普通精米米飯（以下CCRと表示）のそれと比較した。併せて、無洗米を貯蔵した場合の米飯テクスチャーの変化を追跡した。

【実験方法】

(1) 試料

平成11年秋田県産あきたこまち玄米を、精米機HCP3B〔株〕サタケ製〕で精米歩合90%にとう精したものを普通精米とし、普通精米に約15%の水を加えて表面を軟らかくし粒同士を摩擦させて表層を取り除いた後に乾燥する無洗米装置スーパージフライス〔株〕サタケ製〕で処理したものを無洗米とした。

供試米の一般化学成分（水分：135℃3時間乾燥法、粗タンパク質：ケルダール法、粗脂肪：酸分解法、灰分：550℃5時間直接灰化法、炭水化物：差し引き法）ならびに脂肪酸度（大坪らの比色法⁶⁾）を測定して表1に示した。精米の30℃貯蔵は水分変化がないようにアルミパウチ中で行った。

表1 供試した普通精米と無洗米の化学成分の比較

	普通精米	無洗米
水分 (%)	16.0	16.3
粗タンパク質 (%)	5.7	4.7
粗脂肪 (%)	0.7	0.4
灰分 (%)	0.4	0.2
炭水化物 (%)	77.2	78.4
脂肪酸度 (mg KOH/100g 乾物米)		
貯蔵日数 (30℃下)		
0日	4.4	2.7
60日	44.9	13.1

値は2反復の平均値

(2) 米飯粒のテクスチャーの測定

測定手順を以下に示す。

1) 7.5 meshのふるいを用いて上部に残留した普通精米，または無洗米を実験に供した。アルミカップに精米10 gを量り，普通精米は約2.5倍量の蒸留水を加え，薬さじを使用して10回攪拌を行い液を捨てる洗米操作を5回繰り返した後，精米と合わせて23 gになるように蒸留水を加えて1時間静置した。無洗米は洗米操作を行わず，1.3倍量の蒸留水を加えて同様に静置した。

2) 次に電気炊飯器（松下電器製SR-W100）の釜内にカップを移し，釜に蒸留水100 mlを入れて炊飯した。炊飯終了後15分蒸らし，上層部の米飯を除いてシャーレに移してポリエチレンフィルム中に密閉して，25 °Cに2時間静置した。

3) 最後に米飯粒1粒ずつについてテンシプレッサー（タケトモ電機製TTP-50BX2型）でテクスチャーを測定した。岡留ら⁵⁾の方法に準じて，圧縮速度と引張り速度とを2 mm/sに固定して，小変形，大変形の2バイト測定を行った。小変形で測定する米飯粒表層部のテクスチャーは，米飯粒の元の高さに対して25 %の変形とし，大変形で測定する米飯粒全体のテクスチャーは90 %の変形とした。圧縮時における圧縮荷重の最大値を米飯粒の硬さ，引張り荷重の最大値を米飯粒の粘り，粘りを硬さで割った値をバランス度とした⁷⁾。

今回測定を行ったのは，上で記した米飯粒表層と全体の硬さ，粘り，バランス度である。従来行われていた米飯粒全体のテクスチャーの測定に加えて，今回のように米飯粒表層のテクスチャーの測定を行い，二つを組み合わせることにより，米飯のテクスチャーの相違を詳細に捉えることができる⁵⁾。

また，米飯の状態で25 °Cに2時間保存したものに加えて，24時間保存したものについても同様に測定した。さらに，30 °Cに60日貯蔵した普通精米，無洗米についても同様の測定を行った。各測定は60反復とした。

【結果と考察】

米飯粒のテクスチャーの測定結果とt検定による有意差の検定結果を表2に示した。

表2 米飯粒のテクスチャー

	米飯粒表層 (圧縮率25%)			米飯粒全体 (圧縮率90%)			
	粘り (N)	硬さ (N)	バランス度	粘り (N)	硬さ (N)	バランス度	
CCR貯蔵0日	炊飯2時間後	0.282±0.072	0.936±0.176	0.305±0.070	8.34±0.64	32.1±4.6	0.265±0.042
	炊飯24時間後	0.263±0.079	0.970±0.226	0.277±0.076	8.48±0.53	33.5±4.8	0.258±0.040
CCR30°C貯蔵60日	炊飯2時間後	0.231±0.053	1.013±0.143	0.229±0.050	8.06±0.58	35.0±4.8	0.235±0.038
	炊飯24時間後	0.198±0.058	1.035±0.204	0.196±0.059	8.10±0.47	34.3±4.3	0.240±0.038
CWR貯蔵0日	炊飯2時間後	0.262±0.075	0.861±0.144 [†]	0.306±0.072	8.53±0.56	30.9±4.8	0.281±0.040 [†]
	炊飯24時間後	0.255±0.070	0.913±0.205	0.282±0.062	8.76±0.51 ^{**}	31.6±4.0 [†]	0.282±0.037 ^{**}
CWR30°C貯蔵60日	炊飯2時間後	0.240±0.059	0.966±0.199	0.253±0.057 [†]	8.06±0.56	32.7±4.7 ^{**}	0.252±0.041 [†]
	炊飯24時間後	0.233±0.063 ^{**}	0.999±0.212	0.236±0.056 ^{**}	8.21±0.51	32.5±4.2 [†]	0.257±0.036 [†]

CCR：普通精米米飯 CWR：無洗米米飯

測定値は平均値±標準偏差 (n=60) を示す。*は同一条件のCCRに対してt検定による有意差あり (p<0.05)。**は同じく (p<0.01)。

まず，米飯粒全体のテクスチャーについて結果を述べる。米飯粒全体のテクスチャーについては岡部の報告があり，米飯粒全体のバランス度は米飯のおいしさの指標になる⁷⁾とされている。貯蔵0日炊飯2時間後では，CWRはCCRに比べて，粘りが大きく，軟らかい傾向を示し，バランス度は有意に大きかった。この米飯を

24時間保存すると両者ともに粘りと硬さがやや増加したが、CWRのバランス度はやはり有意に大きかった。30℃60日貯蔵することで、両者ともに粘りが小さく、硬くなり、バランス度が小さくなった。そして、CWRのバランス度は依然有意に大きかった。この米飯を24時間保存してもCWRのバランス度は有意に大きかった。

CCRは洗米操作により固形分が1%程度減少し⁸⁾、従って実質的にCWRで加水量が少ないにもかかわらず、CWRは軟らかくてバランス度が高い特徴を示すことが認められた。この原因として、無洗米は粒同士の摩擦によって精米表層を削るため通常の水洗操作で除けないものを除いている可能性などがあげられる。日本では、バランス度の大きい米飯が一般的に好まれるので、無洗米は普通精米に比べて炊飯米として適性が高いと推察できる。

次に米飯粒表層のテクスチャーについて結果を述べる。貯蔵0日炊飯2時間後は、CWRはCCRに比べてやや軟らかく、粘りが小さい傾向を示したが、バランス度はほとんど同じであった。この米飯を24時間保存したところ、CWR、CCRともにバランス度がやや減少する傾向を示した。30℃に60日貯蔵した場合、炊飯2時間後では、CCRは粘りが0.282から0.231へ大きく減少し、硬さが増加し、バランス度は0.229に減少した。一方、CWRは硬さは増加したが粘りは0.262から0.240へやや減少しただけであり、バランス度は0.253であった。更に、CCRはその米飯を24時間保存することで、粘りがより減少しバランス度は0.196まで減少したが、CWRのバランス度は0.236であった。

このように、貯蔵による米飯粒表層のテクスチャーの変化が小さいことから、無洗米は貯蔵に適していると推察された。遊離脂肪酸は米の表層部に多い⁹⁾ことから、60日貯蔵による普通精米の脂肪酸度の増加(表1)は米の表層で多かったと推測できる。貯蔵により増加した表層の脂肪酸が澱粉と相互作用してCCR米飯粒表層の粘りを大きく減少させ、その結果CCRの米飯粒表層のバランス度が大きく減少したと推定される。

【文献】

- 1) 谷達雄・吉川誠次・竹生新治郎・堀内久弥・遠藤勲・柳瀬肇：栄養と食糧，22，452-461(1969)。
- 2) Yasumatsu, K., Moritaka, S. and Kakinuma, T. : *Agric. Biol. Chem.*, 28, 265-272(1964)。
- 3) 庄司一郎：米飯の技術とその利用，堀込広明編，(工業技術会，東京)，p. 122(1990)。
- 4) 深井洋一・松澤恒友・石谷孝佑：食科工，44，367-375(1997)。
- 5) 岡留博司・豊島英親・大坪研一：食科工，43，1004-1011(1996)。
- 6) 大坪研一・柳瀬肇・石間紀男：食総研報，51，59-65(1987)。
- 7) 岡部元雄：ニューフードインダストリー，19(4)，65-71(1977)。
- 8) 北尾敦子・倉賀野妙子・奥田和子：日本調理科学会誌，31，220-226(1998)。
- 9) 大西真理子・小川宣子・山中なつみ・庄司一郎：日本家政学会誌，48，303-313(1997)。

乾めんの電子顕微鏡による断面観察

大久長範・大能俊久（総合食品研究所食品開発部門）

Naganori OHISA and Tosihisa OHNO

【緒言】

稲庭うどんには空隙が、縦方向に長く伸びていることが X線CT画像により確認され、茹で上がりの早さと関連があるのではないかと考えられた¹⁾。これらの空隙が、他の乾めんにも存在するのか否かを電子顕微鏡により調べた。

【実験方法】

市販の稲庭うどん（佐藤養助商店、小川商店、無限堂、寛文五年堂、稲庭吉左衛門、佐藤養悦、秋田県）、稲庭素麺（老舗三嶋屋、秋田県）、揖保の糸（兵庫県手延素麺協同組合）、白石温麺（白石興産、宮城県）、三輪素麺（（株）森岡、奈良県）、ナンバーワン素麺（日清製粉）を試験に使用した。乾麺を折り、断面に金属を蒸着した後に、走査型電子顕微鏡（日立S-2460N）により観察した。実態顕微鏡も併用した。稲庭うどんと稲庭素麺は手延べ製法を採用している。

【実験結果及び考察】

稲庭うどんの横断面には、数は少ないが大きな（100 μm 前後）空隙と40 μm 前後の小さな空隙が混在していた（写真、図1）。稲庭素麺にも15 μm 程度の空隙があった。10 μm 以下の微細な穴は、白石温麺（図2）、三輪素麺、ナンバーワン素麺にも認められた。100 μm 前後の大きな空隙は、稲庭うどんにしか存在せず、稲庭うどんの特徴と考えられた。

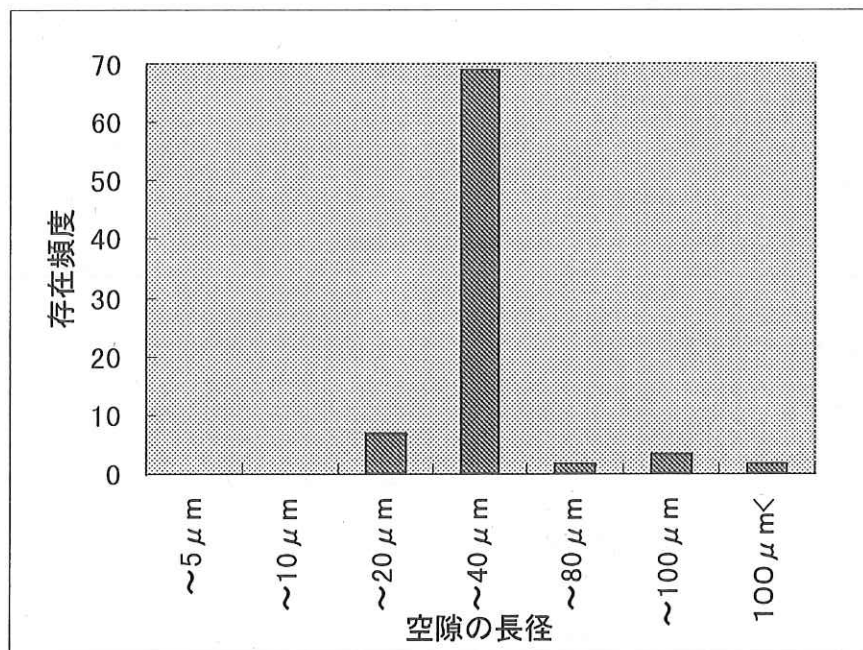


図1 稲庭うどんの断面に存在する空隙の長径

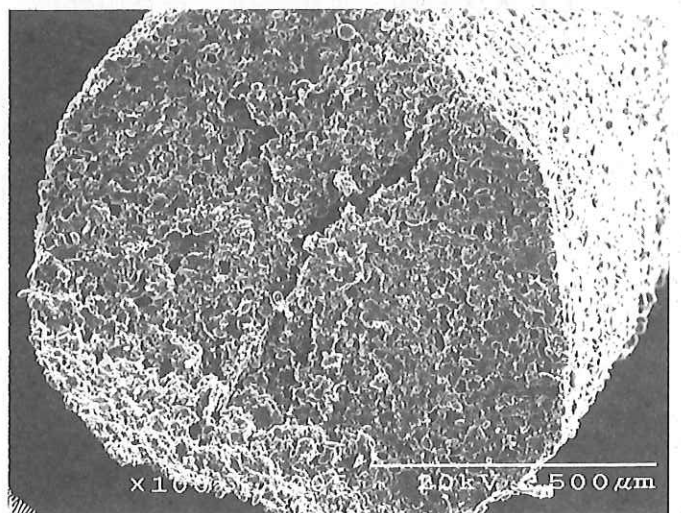
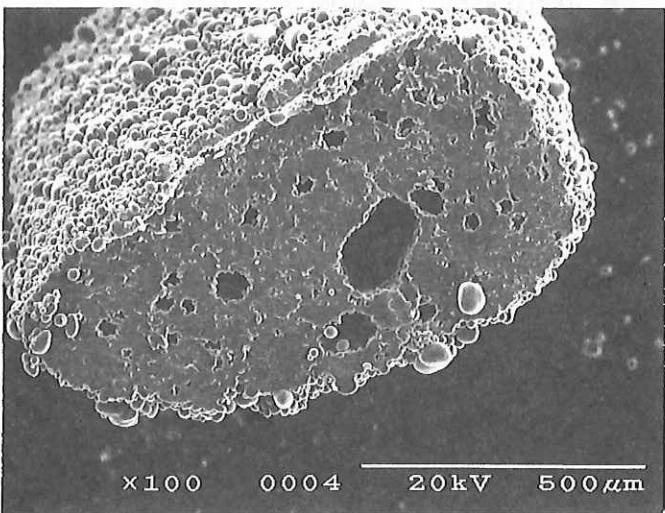
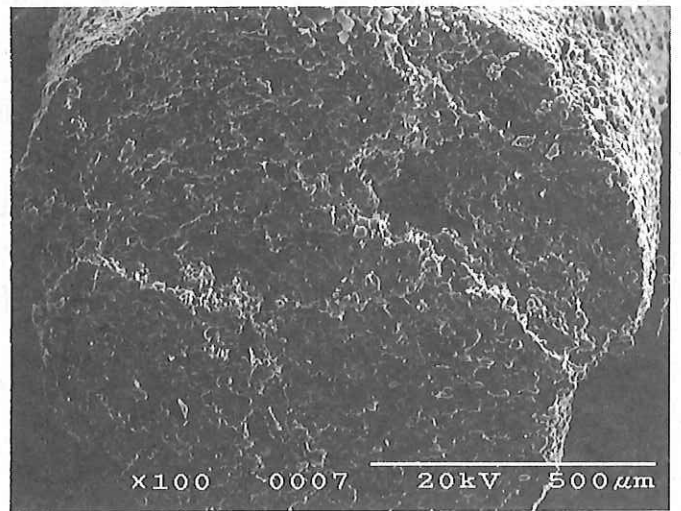
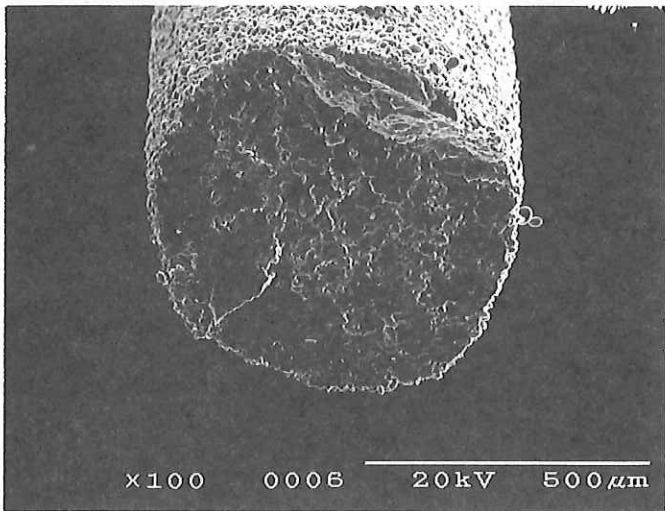
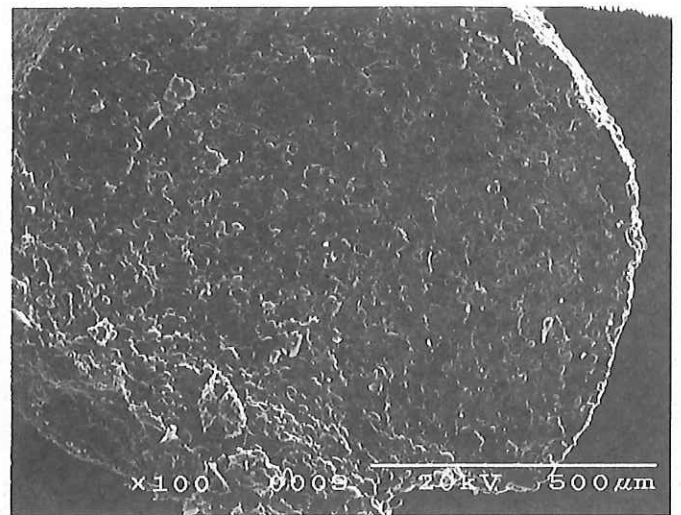
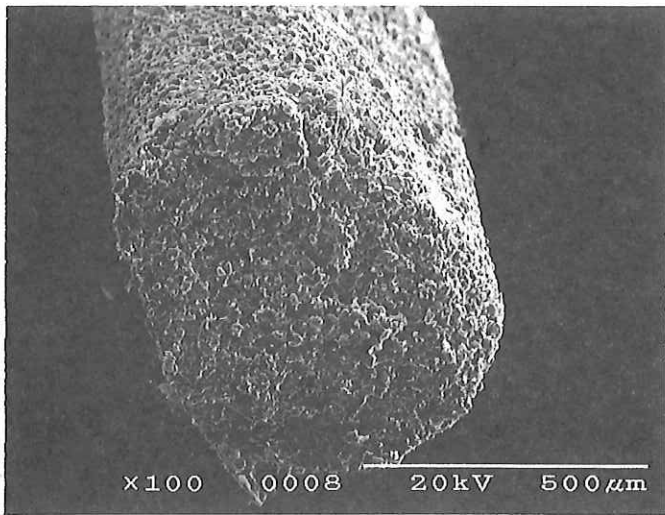


写真1 乾めん横断面の電子顕微鏡観察 (x100)
 左側上から：揖保の糸、三輪そうめん、稲庭うどん、
 右側上から：ナンバーワン素麺、白石温麺、稲庭素麺

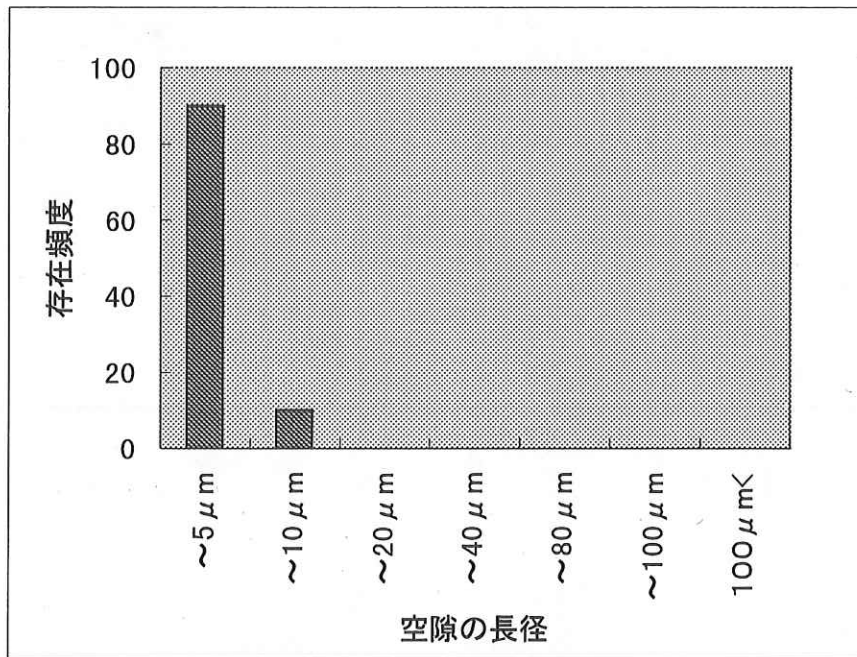


図2 白石温麺の断面に存在する空隙の長径

木村らは、手打ち生うどんの中にも気泡が存在することを確認し、真空ミキサーを用いた機械製麺では気泡の混入はかなり減少することを見いだした²⁻³⁾。恐らく小麦粉と塩水を混合するときに、気泡が普遍的に混入する。その気泡が微細なまま止まるか成長するかは機械製麺、手打ち、手延べ乾めんにより異なるものと考えられる。稲庭うどんのように長く伸びた空隙になるメカニズムは、まだ解明されていない。

【文 献】

- 1) 大久長範、千葉紘子、長谷川勇治、高島 聡、秋山美展：食品科学工学会誌，49，547-550 (2002)
- 2) 木村利昭、藤原正弘、小川敬子、藤野良子、相良康重、神武正信、井筒雅、中島一郎、農芸化学会誌、70，1343-1350 (1996)
- 3) 木村利昭：食品工業、44(10)，42-49 (1997)

3. 総説

「秋田県産農水産物の生理機能性の解明とその応用—食材から化粧品素材へ—」

○堀 一之、畠 恵司、高橋砂織

秋田県産農水産物の生理機能性の解明とその応用 — 食材から化粧品素材へ —

堀 一之、畠 恵司、高橋 砂織
(秋田県総合食品研究所・生物機能部門)

Kazuyuki Hori, Keishi Hata, Saori Takahashi

【要約】

我々は秋田県産農水産物、特に山野草、海藻、キノコ (総数 100 種以上) に含まれる生理活性物質の探索研究を行った。特に、化粧品素材への応用を視野に美白及び抗白髪 of 生理活性評価を行い、美白活性物質として、マンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) より ergosterol peroxide を、また抗白髪作用物質として、タンポポ根 (蒲公英根) から lupeol を見出した。さらに、化学構造と活性の発現についての知見も得た。

【はじめに】

今日「医食同源」・「薬食同源」の見地から、食材に含まれる生理活性物質の探索研究が活発に展開されている。当研究所においても開所以来「県産農水産物の生理機能解明とデータベース化」・「健康志向性食品の開発と生理機能性の解明」といったテーマを掲げ、種々の秋田県産農水産物の生理機能解明並びに県産食材に含まれる生理活性物質の探索研究を行ってきた¹⁻⁴⁾。本稿では、特に皮膚や毛根部に局在する色素細胞 (メラノサイト) のメラニン産生能を制御する活性物質の探索研究を通じ、食材に含まれる生理機能性物質から化粧品開発へと発展しつつある事例を中心にその研究の概略を紹介する。

【メラニン産生抑制物質の探索について】

メラニン色素は紫外線防御のために、メラノサイトと呼ばれる細胞が産生する黒色色素である。主に眼球、皮膚並びに毛髪の色を司る色素として知られておりその産生能は加齢と共に変動する。過剰なメラニン色素産生は日焼け、シミ、そばかすの原因となるため、メラニン色素産生を抑制する物質を使用した「美白剤」に関する研究は活発に行われており、アルブチンなどのメラニン産生抑制物質は実際に化粧品に応用されている⁵⁾。我々は、メラニン色素産生制御物質の探索研究を行うにあたり、先ず市販マウス B16 メラノーマ細胞から、顕微鏡観察下で容易にメラニン色素産生を確認できる亜株 (B16 10F7) をクローニングした。B16 10F7 細胞は、メラニン色素合成の律速酵素であるチロシナーゼの阻害剤及び酵素タンパク質の発現抑制物質の両者を目視により判別できるという利点があり、スクリーニングとして使用する細胞株には適している。こ

の B16 10F7 細胞を使用し、秋田県産農水産物について美白活性をスクリーニングした結果、ウド (*Aralia cordata*)、タラノメ (*A. elata*)と言ったウコギ科植物、アカモク (*Sargassum horneri*)等のホンダワラ科の海藻類、マンネンタケ子実体 (*Ganoderma lucidum*)などのキノコ類に顕著な活性が認められた^{6,7)}。

【靈芝由来メラニン産生抑制物質】

靈芝(これはマンネンタケの別名)の生理機能については種々の報告がある。中でも免疫賦活・抗癌に関する報告例は極めて多く、それは高い β -glucan 含量に起因するものと考えられている⁸⁾。先述の様に、靈芝メタノールエキスに強いメラニン産生抑制活性を認めたので、同エキスより B16 10F7 細胞のメラニン抑制能を指標に活性物質の単離を行った。得られた活性物質の化学構造は各種スペクトルの結果から ergosterol peroxide であることが判明した (Fig. 1-A)。これはビタミン D₂ 前駆体である ergosterol (Fig. 1-B)の構造類似体であることから、両者の B16 10F7 細胞メラニン産生に対する影響を検討した。Ergosterol peroxide は 1 μ g/ml 以上の濃度で無添加と比較して有意にメラニン産生を抑制したが ergosterol にはほとんどメラニン産生抑制効果が認められなかった^{9,10)}。

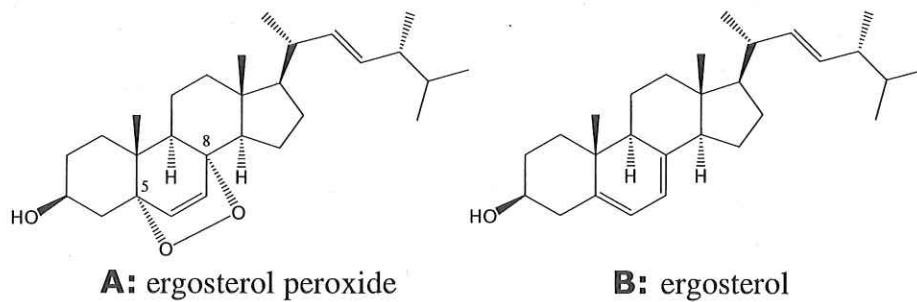


Fig. 1 Chemical Structure of Ergosterol Peroxide (A) and Ergosterol (B)

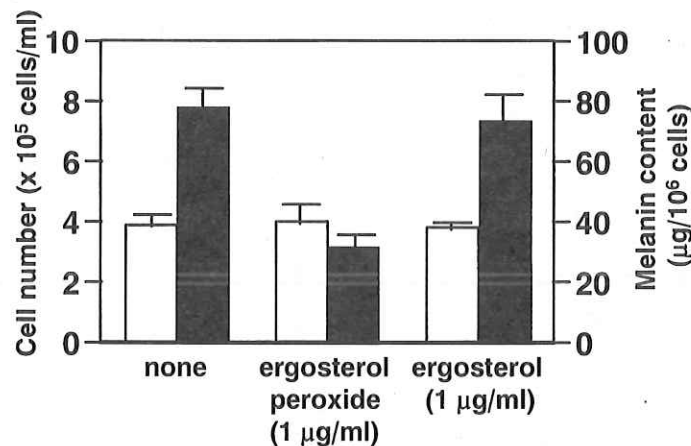


Fig. 2 Effect of Ergosterol Peroxide on Melanin Synthesis of B16 10F7 Cells
 Aliquots of 1 ml of B16 10F7 cells (10⁵ cells/ml) were incubated without or with ergosterol peroxide or ergosterol for 72 h, and the cell growth (□) and melanin content (■) were measured.

この結果から、活性発現には5位と8位間の peroxy 部分が重要な役割を担っていることが示唆された。

【メラニン産生促進物質の探索について（逆の活性）】

メラニン色素は毛髪の色素でもあり、老化に伴う白髪という現象は毛球部に存在するメラノサイト細胞のメラニン色素産生が鈍ることが主たる原因と考えられる。このメラノサイトを活性化しメラニン色素産生を亢進する物質、すなわちこれまで述べてきた活性の逆に相当する物質についての事例は少ない¹¹⁻¹⁵⁾。我々は、先のメラニン産生抑制物質の探索研究の過程で、偶然マウスメラノーマ細胞のメラニン産生を逆に促進する働きのあるエキスを幾つか見いだした。そこで、 α -メラノサイト刺激ホルモン (α -melanocyte stimulating hormone, α -MSH)によるメラニン産生促進活性を指標とし、市販 B16 細胞より B16 2F2 細胞株を単離することに成功した。この細胞は、通常の培養ではメラニン産生が確認できないが、 α -MSH 等の促進物質添加によりメラニン産生能が亢進し、顕微鏡観察下で容易に判別できる優れたクローンである。このクローンを用いて秋田県産農水産物のエキスバンクよりメラニン色素産生促進活性についてスクリーニングを行った結果、ノアザミ (*Cirsium japonicum*)、セイヨウタンポポ (*Taraxacum officinale*)やオニノゲシ (*Sonchus asper*)といったキク科植物、ワカメ (*Undaria pinnatifida*)などの海藻類、キシメジ (*Tricholoma flavovirens*)等のキノコ類に顕著な活性が認められた¹⁶⁾。

【タンポポ根由来メラニン産生促進物質】

そこで、次に大量に入手容易なタンポポ根(生薬名：蒲公英根)のエタノールエキスよりメラニン産生促進物質の単離を行った。活性物質は構造解析の結果、代表的 lupane 型トリテルペンの一つである lupeol であった (Fig 1)¹⁶⁾。

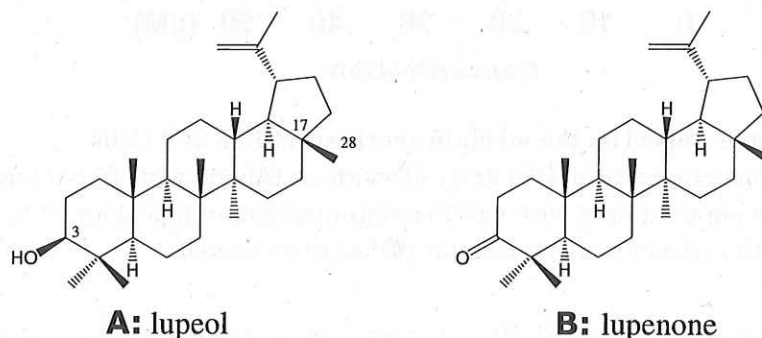


Fig. 3 Chemical Structure of Lupeol (A) and Lupeone (B)

これまで、lupeol の生理活性に関しては、抗炎症作用や発癌プロモーション抑制作用などが報告されているが¹⁷⁻¹⁹⁾、B16 細胞のメラニン産生促進などの細胞分化に関する報告はなかった。Lupeol は 2 μ M 以上の濃度で B16 2F2 細胞

のメラニン産生を促進した (Fig. 4)が、 oleanane や ursane 型といった他の五環性トリテルペンには活性は認められなかった。すなわち、メラニン色素産生促進能は lupane 型トリテルペンに特有の生理活性であることが推察された²⁰⁾。

また、近年 lupane 型トリテルペンの一つである betulinic acid がヒトメラノーマ、神経芽腫、脳腫瘍細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導するという

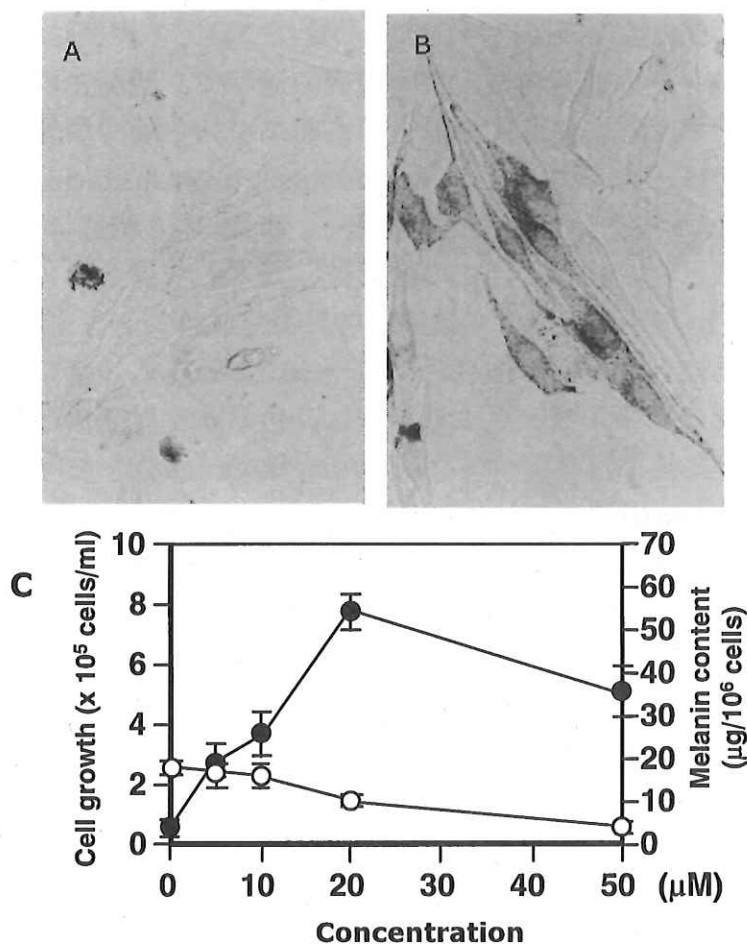


Fig.4 Effect of Lupeol on the melanin synthesis of B16 2F2 Cells

A and B: Photomicrographs of B16 2F2 cells without (A) and with 10 μM lupeol (B).

C : Following treatment with various concentrations of lupeol for 72 h, the cell growth (○) and melanin content (●) were measured.

報告が相次いでなされている²¹⁻²³⁾。そこで、我々は種々の lupane 型トリテルペンを調製し、特にメラニン産生促進能及びアポトーシス誘導能の制御部位について検討した。その結果、B16 2F2 細胞のメラニン色素産生に与える影響については、lupeone (Fig. 3-B)等 C-3 位がケトン基となった化合物は、元の 3β 水酸基の化合物より、低濃度でも色素産生促進活性を有した。一方、同細胞のアポトーシス誘導活性については、17β位メチルすなわち C-28 位がアルデヒド

やカルボン酸(エステル)などで置換された化合物群に共通して活性が認められた。以上を総括すると、lupane型トリテルペンのB16 2F2細胞の色素産生促進活性とアポトーシス誘導能は、各々別々の部位が制御していると考えられ、細胞内の情報伝達系も独立した経路が存在することを示している。また、我々の最近の研究より、lupane型トリテルペンのB16 2F2細胞のアポトーシス誘導にはtopoisomerase Iと呼ばれる酵素の阻害が引き金になることが判明した²⁴⁾。

【終わりに】

これまで、メラニン色素産生を天然由来の成分で制御する試みは美白剤の開発が主な研究対象だった。我々は、偶然認められたメラニン産生促進の現象に着目し、メラニン細胞のクローニングで優れたアッセイ系を確立することに成功し、lupane型トリテルペン類について化学構造と活性に関する知見を得ることが出来た。今後、細胞内シグナル伝達など活性発現のメカニズム解明を進め、将来的には、秋田の農水産物をリードとしメラニン色素を抑制・促進の両面から制御できる化粧品素材への展開を視野に入れてさらに研究を行っていきたい。

【引用文献】

- 1) 畠 恵司、石川匡子、堀 一之, *Natural Medicines*, **52**, 269-272 (1998)
- 2) Keishi Hata, Kyoko Ishikawa, Kazuyuki Hori, *Animal Cell Technology: Challenges for the 21st Century* (Kluwer Science Publishers), 373-377 (1999)
- 3) Keishi Hata, Fuyuki Sugawara, Naganori Ohisa, Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 1040-1044 (2002)
- 4) 畠恵司, 堀一之, 高橋砂織, *Natural Medicines*, **56**, 153-156 (2002)
- 5) 伊福欧二, 老化防止・美白・保湿化粧品の開発 (シーエムシー), 144-161 (2001)
- 6) Keishi Hata, Yoshihiro Iwahori, Kazuyuki Hori, Yoshihito Okada, Toru Okuyama, *Natural Medicines*, **54**, 144-147 (2000)
- 7) Naoko Miura, Keishi Hata, Shin Hatakeyama, Noriyuki Tsujimura, Kenji Sakamoto, *Res. Commun. Pharmacol. Toxicol.*, **5**, 176-177 (2000)
- 8) Naoko Miura, Shin Hatakeyama, Noriyuki Tsujimura, Kenji Sakamoto *Res. Commun. Pharmacol. Toxicol.*, **5**, 191-194 (2000)
- 9) 畠 恵司, 堀 一之, 三浦直子, 坂本賢二, 高橋砂織, *Natural Medicines*, **55**, 304-307 (2001)
- 10) 堀 一之, 畠 恵司, 向山俊之, 三浦直子, 坂本賢二, 高橋砂織, *細胞*, **34**, 33-35 (2002)
- 11) Paloma Valverde, Jose C. Garcia-Borron, Celia Jimenez-Cervantes, Francisco Solano, Jose A. Lozano, *Eur. J. Biochem.*, **217**, 541-548 (1993)
- 12) Genji Imokawa, Yukihiro Yada, Mitsuyoshi Kimura, *Biochem. J.*, **314**, 305-312 (1994)

- 13) Rosa Busca, Corine Bertolotto, Jean-Paul Ormne, Robert Ballotti, *J. Biol. Chem.*, **271**, 31824-31830 (1996)
- 14) Walter Engalo, Corine Bertolotto, Roser Busca, Anne Brunet, Gilles Pages, Jean-Paul Ortonne, Robert Ballotti, *J. Biol. Chem.*, **273**, 9966-9970 (1998)
- 15) Xiaoxian Zhao, Yoko Wakamatsu, Miki Shibahara, Nobuhiko Nomura, Christian Geltinger, Tadaatsu Nakahara, Takehide Murata, Kazunari K. Yokoyama, *Cancer Res.*, **59**, 482-486 (1999)
- 16) Keishi Hata, Kyoko Ishikawa, Kazuyui Hori, Tomokazu Konishi, *Biol. Pharm. Bull.* **23**, 942-946 (2000)
- 17) Mery Hasmeda, George Kweifio-Okai, Theodore Macrides, Gideon M. Polya, *Planta Med.* **65**, 14-18 (1999)
- 18) Toshiro Akihisa, Ken Yasukawa, Hirotohi Oinuma, Yoshimasa Kasahara, Sakae Yamanouchi, Michiko Takido, Kunio Kumai, Toahitake Tamura, *Phytochemistry*, **43**, 1255-1260 (1996)
- 19) Midori Takasaki, Takao Konoshima, Harukuni Tokuda, Kazuo Masuda, Yoko Arai, Kenji Shiojima, Hiroyuki Ageta, *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 606-610 (1999)
- 20) Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi, *J. Nat. Prod.*, **65**, 645-649 (2002)
- 21) Emily Pisha, Heebyung Chai, Ik-Soo Lee, Tangai E. Chagwedera, Norman R. Farnsworth, Geoffrey A. Cordell, Christopher W. W. Beecher, Harry H. S. Fong, A. Douglas Kinghorn, Daniel M. Brown, Mansukh C. Wani, Monroe E. Wall, Tina J. Hieken, Tapas K. Das Gupta, John M. Pezzuto: *Nature Med.*, **1**, 1046-1051 (1995)
- 22) Simone Fulda, Irmela Jeremias, Hans H. Steiner, Torsten Piesch, Klaus-Michael Debatin, *Int. J. Cancer*, **82**, 435-441 (1999)
- 23) Simone Fulda, Santos A. Susin, Guido Kroemer, Klaus-Michael Debatin, *Cancer Res.*, **58**, 4453-4460 (1998)
- 24) Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Hironobu Ogasawara, Saori Takahashi, *Toxicol. Lett.* **143**, 1-7 (2003)

【付表】 各種培養細胞に対するスクリーニング結果

和名	学名	レチノイン酸誘導 HL60株 好中球様細胞刺激活性 (引用文献4)				B16 10F7株 メラニン産生抑制活性 (引用文献6)				ヒト白血病細胞株HL60 分化誘導活性 (引用文献1, 16)				B16 2F2株 細胞分化誘導活性 (引用文献16)				マウス前骨芽細胞 MC3T3 E1分化誘導活性*			
		P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M
山菜など植物類																					
スギナ	<i>Equisetum arvense</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	A	N	N	N	N	N	N	N	N
ゼンマイ	<i>Osmunda japonica</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	A	AA	AAA	N	N	N	N	N	N	N	N
ワラビ	<i>Pteridium aquilium var. latiusculum</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
クサソテツ	<i>Matteucia struthiopteris</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N	N	A	N	A	N	A	N	A
ミヤマイラクサ (=アイコ)	<i>Laportea macrostachya</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	A	AAA	A	N	N	A	A	N	N	A	A
ウワバミソウ (=ミズ)	<i>Pilea hamaoi</i>	N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
イタドリ	<i>Polygonum cuspidatum</i>	N	N	N	N	N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ギンギシ	<i>Rumex crispus var. japonicus</i>	N	N	N	N	N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ニリンソウ	<i>Anemone flaccida</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	N	N	N	N	N	N	N	N
ジュンサイ	<i>Brasenia schreberi</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	N	N
ウスバサイシン	<i>Asiasarum sieboldii</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	A	N	AA	N	N	A	AA	N	N	A	AA
コンロンソウ	<i>Cardamine leucantha</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
シボリダイコン	<i>Raphanus sativas</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ミズワサビ	<i>Eutrema wasabi</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	A	N	N	N	N	N	N	N	N
トリアシショウマ	<i>Astilbe thunbergii</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N
ヤグルマソウ	<i>Rodgersai podophylla</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	A	A	N	N	N	N	N	N	N
クズ	<i>Pueraria labata</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	N	A	N	N	N	N	N	N	N	N
モロヘイヤ	<i>Corchorus olitorius</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N	AA	AA	N	N	N	N	N	N	N	N
ウド	<i>Aralia cardata</i>	N	N	N	AAA	N	N	AAA	AAA	N	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
タラノキ	<i>Aralia elata</i>	N	N	A	AA	N	N	AAA	AAA	N	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
シャク	<i>Anthriscus sylvestris</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
エゾニュウ	<i>Angalica ursina</i>	N	N	N	AAA	N	N	AAA	AAA	N	N	N	A	N	A	AA	AA	N	N	N	N
ハマボウフウ	<i>Glehnia littoralis</i>	N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	N	N	A	A
セリ	<i>Oenanthe stolonifera</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
コンフリー	<i>Symphyrum officinale</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	AAA	N	N	A	A	N	N	A	A
ニワトコ	<i>Sambucus sieboldiana</i>	N	N	N	AA	N	N	N	N	AA	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ツルニンジン	<i>Codonopsis lanceolata</i>	N	N	N	N	N	N	N		N	N	N	N	N	N	A	A	N	N	A	A
モミジガサ	<i>Cacalia delphinifolia</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ヨブスマソウ (=ホンナ)	<i>Cacalia hastata var. glabra</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ノアザミ	<i>Cirsium japonicum</i>	N	N	N	N	N	N	AAA	AAA	N	N	AAA	A	N	A	A	A	A	N	N	A
フジアザミ	<i>Cirsium purpuratum</i>	N	N	N	N	N	N	AAA	AAA	N	N	AA	N	AA	AA	AA	AAA	A	N	N	A
フキ	<i>Petasites japonica</i>					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ノボロギク	<i>Senecio vulgaris</i>									AA	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ブタナ	<i>Hypochoeris radicata</i>									AA	N	A	N	N	N	AAA	AA	N	N	N	N
オオジシバリ	<i>Ixeris debilis</i>									N	N	N	N	N	A	A	A	A	N	N	A
ジシバリ	<i>Ixeris stolonifera</i>									N	N	N	N	N	A	A	A	A	N	N	A
ハマニガナ	<i>Ixeris repens</i>									A	A	N	N	N	A	A	AA	A	N	N	A
コオニタビラコ	<i>Lapsana apogonoides</i>									N	N	N	N	N	N	AAA	N	N	N	N	N
コウゾリナ	<i>Picris hieracioides</i>									N	N	A	N	AA	AA	AAA	AAA	N	N	N	N
オニノゲシ	<i>Sonchus asper</i>					N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	AA	AAA	AAA	N	N	N	N
ノゲシ	<i>Sonchus oleraceus</i>					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	AAA	N	N	N	N
セイヨウタンポポ	<i>Taraxacum officinale</i>					N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	AAA	AAA	N	N	N	N
オニタビラコ	<i>Youngia japonica</i>									N	N	N	N	N	N	AA	A	N	N	N	N
ノビル	<i>Allium grayi</i>	N	N	N	AAA	N	N	N	N	N	N	N	AA	N	N	N	N	N	N	N	N
カタクリ	<i>Erythronium japonicum</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

和名	学名	レチノイン酸誘導 HL60株 好中球様細胞刺激活性 (引用文献4)				B16 10F7株 メラニン産生抑制活性 (引用文献6)				ヒト白血病細胞株HL60 分化誘導活性 (引用文献1, 16)				B16 2F2株 細胞分化誘導活性 (引用文献16)				マウス前骨芽細胞 MC3T3 E1分化誘導活性 *			
		P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M
ヤブカンゾウ	<i>Hemerocallis fulva</i>	N	N	N	A					N	N	AA	A	N	N	N	N				
コバギボウシ	<i>Hosta albo-marginata</i>	AAA	AAA	AAA	AAA	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	A	A			
オオバギボウシ	<i>Hosta sieboldiana</i>	AAA	AAA	A	AAA	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	N	N				
シオデ	<i>Smilax riparia</i>	N	N	N	N	N	N	A	N	N	N	AAA	N	N	N	N	N				
ミョウガ	<i>Zingiber mioga</i>	N	N	A	AAA	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N				

キノコ類																					
シイタケ	<i>Lentinula edodes</i>	AAA	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ヒラタケ	<i>Pleurotus osatreatus</i>	AAA	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	N	N	N
サクラシメジ	<i>Hygrophorus russula</i>																	N	N	N	N
ハタケシメジ	<i>Lyophyllum decastes</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	A	AA	A	A	AAA	N	N	N
シャカシメジ	<i>Lyophyllum fumosum</i>																	A	A	AAA	AAA
ホンシメジ	<i>Lyophyllum shimeji</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	A	N	AAA	N	N	N
ツキヨタケ	<i>Lampteromyces japonicus</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ムラサキシメジ	<i>Lepista nuda</i>																	AA	AAA	AA	AAA
サマツモドキ	<i>Tricholomopsis rutilans</i>																	N	N	N	N
シモコシ	<i>Tricholoma auratum</i>																	AAA	AAA	AAA	AAA
キシメジ	<i>Tricholoma flavovirens</i>	N	N	N	N					N	N	AA	AA	N	N	AAA	AAA	AAA	AA	AAA	AAA
シロシメジ	<i>Tricholoma japonicum</i>																	N	N	N	N
マツタケ	<i>Tricholoma serotinus</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	A	A	N	N	N	N
シモフリシメジ	<i>Tricholoma portentosum</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	A	A	AAA	AA	AA	A	AA	N
ナラタケ	<i>Armillariella mellea</i>																	N	N	N	AA
モミタケ	<i>Catathelasma ventricosum</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
スギヒラタケ	<i>Pleurocybella porrigens</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AAA	AAA
ムキタケ	<i>Panellus serotinus</i>									N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N	AA	A
シバフタケ	<i>Marasmius oreades</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N
シロタマゴテングタケ	<i>Amantia verna</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	AA	N
ナメコ	<i>Pholiota nameko</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ヌメリスギタケモドキ	<i>Pholiota aurivella</i>																	N	N	N	N
ヌメリサカサタケ	<i>Cortinarius pseudosalor</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	A	N	A	AA
アカイボカサタケ	<i>Rhodophyllum quadratum</i>																	A	N	N	N
ベニハナイグチ	<i>Suillus pictus</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
アマタケ	<i>Suillus bovinus</i>									N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
アカハツ	<i>Lactarius akahatsu</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ハツタケ	<i>Lactarius hatsudake</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
シロヒメホウキタケ	<i>Ramariopsis kuntzei</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	AAA	AA
ホウキタケ	<i>Botrytis botrytis</i>																	N	N	N	N
ヤマブシタケ	<i>Hericium erinaceum</i>																	N	N	N	N
ブナハリタケ	<i>Mycoleptodonoides aiychisonii</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
エゾヒラタケ	<i>Climacodon septentrionalis</i>																	N	N	N	N
コウタケ	<i>Sarcodon aspratus</i>									N	N	N	N	N	N	N	N	A	N	N	N
マイタケ	<i>Grifola frondosa</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	A	AAA	AA	A	AA	A	AAA
トンビマイタケ	<i>Meripilus giganteus</i>	N	N	N	N					N	N	AA	N	N	A	N	A	N	A	N	AAA
マツタケ	<i>Laetiporus sulphureus miniatus</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
マンネンタケ	<i>Ganoderma lucidum</i>																	A	A	N	AA
ホコリタケ	<i>Lycoperdon perlatum</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	N

和名	学名	レチノイン酸誘導 HL60株 好中球様細胞刺激活性 (引用文献4)				B16 10F7株 メラニン産生抑制活性 (引用文献6)				ヒト白血病細胞株HL60 分化誘導活性 (引用文献1, 16)				B16 2F2株 細胞分化誘導活性 (引用文献16)				マウス前骨芽細胞 MC3T3 E1分化誘導活性*			
		P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M	P	BP	E	M
海藻類																					
アナアオサ	<i>Ulva pertusa</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	A				
ミル	<i>Codium fragile</i>	N	N	N	N					N	N	N	A	N	N	N	N				
アミジグザ	<i>Dictyota dichotoma</i>	N	N	AAA	AAA					N	N	N	N	N	N	N	N				
エゾヤハズ	<i>Dictyopteria latiuscula</i>	N	N	AAA	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
イシモクズ	<i>Sphaerotrichia divaricata</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
ケウルシグサ	<i>Desmarestia viridis</i>	N	N	AA	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
マコンブ	<i>Laminaria japonica</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	A	AA				
ツルアラメ	<i>Ecklonia stolonifera</i>	N	N	A	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
ワカメ	<i>Undaria pinnatifida</i>	N	N	N	N					N	N	N	AAA	N	N	AA	A				
フシスジモク	<i>Sargassum confusum</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
イシモク	<i>Sargassum hemiphyllum</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
アカモク	<i>Sargassum horneri</i>	N	N	A	AA					N	N	N	N	N	N	N	N				
ヤツマタモク	<i>Sargassum patens</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	AA	N	N	N				
ウミトラノオ	<i>Sargassum thunbergii</i>	N	N	N	AAA					N	N	N	N	N	N	N	N				
ヨレモク	<i>Sargassum tortile</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	AA	N	N	N				
マクサ	<i>Gelidium amansii</i>	N	N	A	N					A	N	A	AA	N	N	A	A				
キョウノヒモ	<i>Grateloupia okamurai</i>	N	N	N	N					N	N	N	A	N	N	N	N				
ホソバミリン	<i>Solieria mollis</i>	N	N	N	N					AAA	AAA	N	AAA	N	N	N	N				
オガノリ	<i>Gracilaria verrucosa</i>	N	N	N	N					N	N	N	A	AA	N	AA	A				
オキツノリ	<i>Gymnogongrus flabelliformis</i>	N	N	N	N					N	N	A	N	N	N	N	N				
ツノマタ	<i>Chondrus ocellatus</i>	N	N	N	AAA					N	N	N	A	A	N	N	A				
フシツナギ	<i>Lomentaria catenata</i>	N	N	AAA	AA					N	N	A	A	N	N	A	AA				
イギス	<i>Ceramium kondai</i>	N	N	N	N					N	N	N	AA	N	N	N	N				
コノハノリ	<i>Laingia pacifica</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N				
イソムラサキ	<i>Syphyocladia latiuscula</i>	N	N	N	N					N	N	N	N	N	N	N	N				

* K. Hata, F. Sugawara, N. Ohisa, S. Takahashi, & K. Hori, *Biol. Pharm. Bull.*, 25, 1040-1044 (2002). 大まかには骨粗鬆症に対する培養細胞のスクリーニングである。

【凡例】 実験方法などの詳細は各文献を参照のこと。Nは当該活性が確認できなかったことを、A~AAAは活性が確認されかつ増えるごとに活性が強く認められたことをあらわしている。抽出溶媒について、Pは生理食塩水・BPは沸騰生理食塩水・EはエタノールおよびMはメタノールである。

なお、本データを取りまとめるにあたっては以下の方々の協力によるところが大きく、ここに記して感謝する。

- 山菜・キノコ類の採集・鑑定については 前大潟村公民館長 畠山 陽一先生にご指導いただいた。
- キノコ類の分類について 森林技術センター 菅原 冬樹主任研究員にご教示いただいた。
- 海藻類の入手・分類については 水産振興センター山田 潤一主任研究員にご協力いただいた。
- 自生品の採集およびエキスバンク構築については、応用発酵部門 柴本 憲夫主席研究員、戸松 誠主任研究員とともに行ったものである。
- 各種抽出エキスの作成については、研究補助に携わっていただいた歴代の職員の方々の努力によるものである。
- マウス前骨芽細胞 MC3T3 E1分化誘導活性実験については、(財)インテリジェントコスモス学術振興財団より助成をいただいた。

4. 特許の要約

「アルドースレダクターゼ阻害作用剤および活性酸素消去作用剤」

○戸松 誠、堀 一之、石川匡子、柴本憲夫

「エルゴステロール誘導体からなるメラニン生成抑制剤及び美白剤、並びにエルゴステロール誘導体を含有する組成物」

○畠 恵司、坂本賢治

「ガノデロールBからなるメラニン生成抑制剤及び美白剤、並びにガノデロールBを含有する組成物」

○畠 恵司、坂本賢治

「骨形成促進剤及び骨形成促進食品」

○畠 恵司、堀 一之、大久長範

発明の名称：アルドースリダクターゼ阻害作用剤および活性酸素消去作用剤

発明者：戸松 誠、堀 一之、石川匡子、柴本憲夫

公開番号：特開2002-220334

公開日：平成14年8月9日

【要約】

[課題]

従来より食品もしくは食品素材として利用されており、安全性に問題がなく、各種疾患に対して副作用の心配が殆どない農水産物からの抽出液を有効成分とするアルドースリダクターゼ阻害作用剤および活性酸素消去作用剤を提供すること。

[解決手段]

クロロゲン酸メチル、ケルセチン-3-O-キシロピラノシルグルコピラノシド、ケンフェロール-3-O-キシロピラノシルグルコピラノシド、ケルセチン-3-O-グルコピラノシドおよびケルセチン-3-O-(6"-アセチルグルコピラノシド)よりなる群から選ばれた少なくとも1種の化合物を有効成分として含有することを特徴とするアルドースリダクターゼ阻害作用剤および活性酸素消去作用剤。

発明の名称：エルゴステロール誘導体からなるメラニン生成抑制剤及び美白剤、並びにエルゴステロール誘導体を含有する組成物

発明者：畠 恵司 (秋田県総合食品研究所)、坂本 賢二 (榊坂本バイオ)

公開番号 (公開日)：特開 2002-114685 (平成 14 年 4 月 16 日)

【要約】

[課題]紫外線照射後の日焼け皮膚の美白、また日焼け等によるしみ、そばかす、肝斑の皮膚色素沈着の予防、改善及び治療に有効な物質及びこれを含有した組成物を提供すること。

[解決手段]エルゴステロールペルオキサイドからなるメラニン生成抑制剤、美白剤並びに前記化学構造で表される化合物を有するメラニン生成抑制剤、美白剤、食品により課題を解決した。

発明の名称：ガノデロール B からなるメラニン生成抑制剤及び美白剤、並びにガノデロール B を含有する組成物

発明者：畠 恵司 (秋田県総合食品研究所)、坂本 賢二 (㈱坂本バイオ)

公開番号 (公開日) : 特開 2002-284690 (平成 14 年 10 月 3 日)

【要約】

[課題]紫外線照射後の日焼け皮膚の美白、また日焼け等によるしみ、そばかす、肝斑の皮膚色素沈着の予防、改善及び治療に有効な物質及びこれを含有した組成物を提供すること。

[解決手段]ガノデロール B からなるメラニン生成抑制剤、美白剤並びに前記化学構造で表される化合物を有するメラニン生成抑制剤、美白剤、食品により課題を解決した。

発明の名称：骨形成促進剤及び骨形成促進食品

発明者：畠 恵司、堀 一之、大久 長範 (秋田県総合食品研究所)

公開番号 (公開日) : 特開 2002-284689 (平成 14 年 10 月 3 日)

【要約】

[課題]自然界に産する食物を利用し、食品として飲食・喫食することができ、副作用が無く、かつ骨粗鬆症の予防に役立つ骨形成促進剤及び骨形成促進食品を提供する。

[解決手段]茸から単離、精製して得た化学構造 (22E,24R)-ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β -triol で表される骨形成促進剤と、前記化学構造で表される成分を含む茸を使用した骨形成促進食品によって課題を解決した。

5. 学会発表 (26件)

「フラボノイドにおける活性酸素消去相乗効果」

○秋山美展、森 勝美、古城由美子、大久保一良

「プログラム加熱法による加熱工程中の反応及び状態変化の個別制御」

○秋山美展、大久長範、三保茂之、長縄明大

「XYZ系極微弱発光分析法を用いたダツタンソバ粉の活性酸素消去能」

○藤田かおり、井上直人、秋山美展

「乾めんの寸法と内部気泡が食塩の溶出に及ぼす影響」

○大久長範、千葉紘子、長谷川勇治、秋山美展

「きりたんぼ製造における冷却工程の制御」

○高橋 徹、熊谷昌則、佐々木康子、大久長範

「加熱処理米粉糊化液のレオロジー特性」

○高橋 徹、三浦 靖、小林昭一

「微生物の増殖抑制に対する増殖速度係数 (b) の比較検討」

○菅原久春

「微生物の増殖速度係数と休眠期間による各種抗菌剤の評価」

○菅原久春、菅原真理

「ポータブル近赤外分光装置による廃プラスチックの細分別解析」

○熊谷昌則、陶山秀人、佐藤明覚、天野敏男、菊池良栄、小川信明

「近赤外スペクトルによるプラスチック素材の細分判別分析」

○熊谷昌則、陶山秀人、佐藤明覚、天野敏男、菊池良栄、小川信明

「近赤外分光法による製粉穀類の判別に関する基礎検討」(分析化学討論会)

○熊谷昌則、軽部貴久子、佐藤明覚、大久長範、天野敏男、菊池良栄

「近赤外分光法による製粉穀類の判別に関する基礎検討(II)」(分析化学会)

○熊谷昌則、軽部貴久子、松浦奈津実、佐藤明覚、大久長範、天野敏男

「タラノキカルスから抗腫瘍タンパク質の生産」

○無尽俊之、椎名 直、生田安喜良、戸松 誠、柴本憲夫

「機能性成分評価技術の開発ー糖尿病合併症予防成分とその利用ー」

○戸松 誠、進藤 昌、柴本憲夫

「高度分岐澱粉の添加が澱粉製品の物性に及ぼす影響」

○川端康之、高田洋樹、戸枝一喜、北尾 悟、高橋 徹、柴本憲夫

「マイタケ由来プロリルアミノペプチダーゼの精製と諸性質」

○樋渡一之、加賀屋明良、井上俊三、高橋慶太郎、高橋砂織

「NMRを用いた味噌発酵における脂質関連物質の組成解析」

○堀 一之、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、高橋砂織

「Lupaneトリテルペンのヒト腫瘍細胞に対する選択毒性」

○畠 恵司、堀 一之、小笠原博信、高橋砂織

「多様性を示すN-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ」

○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之

「N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）のヌクレオチド結合部位について」

○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之、森 勝美

「N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）の構造と機能」

○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之、森 勝美

「N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）のヌクレオチド結合領域の同定について」

○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之、森 勝美

「ビール中の糖尿病合併症予防活性成分について」

○進藤 昌、戸松 誠、門脇博之、立花忠則、柴本憲夫、森 勝美

「EFFECT OF NUCLEOTIDES ON N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE 2-EPIMERASES (RENIN BINDING PROTEINS)」

○Saori Takahashi, Keitaro Takahashi, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hori,
and Katsumi Mori

「秋田県の伝統食品「赤ずし」に関する微生物的考察」

○佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫

「麴歩合の高い米味噌における機能性香味成分増加技術の開発」

○尾張かおる、高橋光一、渡辺隆幸、堀 一之

演 題：フラボノイドにおける活性酸素消去相乗効果

発表学会：2002年8月 日本食品科学工学会（名古屋市）

発表者：○秋山美展¹⁾、森勝美¹⁾、吉城由美子²⁾、大久保一良³⁾

(¹⁾秋田県総合食品研究所、²⁾東北大学院生命科学、³⁾金沢大学院医学系)

【目的】穀類や茶、大豆などは活性酸素消去能を有することが知られている。演者らは穀類と茶（または大豆）が共存するとき、その活性酸素消去能が2～3倍に増加する事実を見いだしている（相乗効果）。相乗効果発現のメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】相乗効果発現時の微弱発光波長解析、酸化還元電位（ORP）測定、反応活性化エネルギー測定を行った。

【結果】 H_2O_2 /scavenger/MeCHO/ $KHCO_3$ の微弱発光系（XYZ系活性酸素消去発光）における発光波長は相乗効果発現にともなってその発光スペクトルが大きく変化した。したがって、相乗効果発現は単なる増幅効果ではなく、質的变化をとともなうものと考えられた。ORP測定の結果から、相乗効果発現時に活性酸素種と水素供与体（scavengers）間のORPポテンシャルが増加する傾向にあることが確認された。反応活性化エネルギーは相乗効果発現時には低下することが確認された。以上の結果より、フラボノイドの活性酸素消去相乗効果の発現メカニズムとして、①水素供与体が酸化重合する際にホモカップリングよりもヘテロカップリングする方が活性化エネルギーが低下する場合、②活性酸素種と水素供与体間のORPポテンシャルを高めるような別の水素供与体が存在する場合、が考えられる。

演 題：プログラム加熱法による加熱工程中の反応および状態変化の個別制御

発表学会：2002年8月 日本食品工学会（東京都）

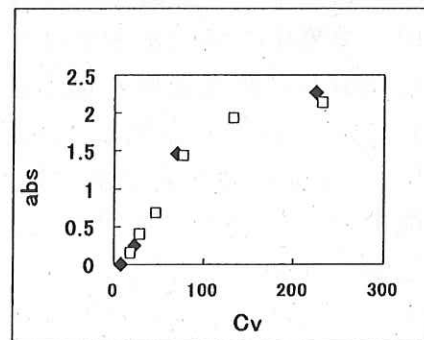
発表者：○秋山美展¹⁾、大久長範¹⁾、三保茂之²⁾、長縄明大²⁾

(¹⁾秋田県総合食品研究所、²⁾秋田大学工学資源学部)

【目的】プログラム加熱法は任意温度で昇温を停止し一定時間保持したのち、さらに昇温・保持を行う方法である。加熱工程中で起こる様々な反応や現象変化に対して、個別に温度と時間の至適条件を与えることにより、それらを効率的に制御することを目的としている。本研究ではプログラム加熱時の材料の正味の加熱履歴を統一的に記述しうるモデル式を求め、その妥当性を検討した。

【方法】材料の正味の加熱積算量を表現しうる一般式を求めるため、メイラード反応系をモデルとして、様々な加熱条件における計算加熱積算量と実測加熱積算量の比較を行った。

【結果と考察】加熱積算量（以下Cv値）と実加熱積算量（吸光度）は材料の時系列的温度履歴によらずCv値のみの関数となった。従って、Cv値は材料に加えられた熱の正味の積算値を表す指標となりうるということが明らかとなった。



◆単純昇温加熱 □プログラム加熱

演 題：XYZ系極微弱発光分析法を用いたダツタンソバ粉の活性酸素消去能

発表学会：2002年7月 日本作物学会第39回講演会（富山市）

発表者：○藤田かおり¹⁾、井上直人¹⁾、秋山美展²⁾

(¹⁾信州大学農学部 (²⁾秋田県総合食品研究所)

【目的】ダツタンソバは血管収縮抑制や活性酸素消去機能を有するルチン含有量が高いことが知られている。しかしながらダツタンソバ粉の活性酸素消去能についてはほとんど報告がなされていない。本研究ではダツタンソバの食品加工を念頭におき、種子の部位別活性酸素消去能について、XYZ系極微弱発光分析法を用いて研究を行った。

【供試材料・方法】2000年に収穫した北陸4号を試料とした。試料約30gをコーヒーミルで粉碎し、外皮を除去したのち、グロート部を篩により、粒径別に5画分に分別した。分別試料0.1gをXYZ系発光分析に供した。XYZ系発光分析はY.Akiyamaらの方法（文献1）に従った。活性酸素消去能に供した試料中のルチン含量を測定するため試料0.2gをメタノール10mlにより（70℃/30min）抽出した。抽出液は遠心後HPLCに供した。

【結果と考察】活性酸素消去能は粒度の細かい分画ほど高い傾向を示した。ソバは中心部分が粉状であり、石臼などで挽く場合、中心部分である更科粉がはじめに挽かれてでてくる。本実験での粒度の細かい分画がそれに相当するものと考えられる。各分画のルチン含量をHPLCにより測定した結果は、粒度の粗い分画に多い傾向を示し、活性酸素消去能の結果とは一致しなかった。これらの結果から、ダツタンソバ粉の活性酸素消去能にはルチン以外にも関与する成分のあることが推定された。

発表学会：日本食品科学工学会49回大会、2002年（名古屋市）

演 題：乾めんの寸法と内部気泡が食塩の溶出に及ぼす影響

発表者：○大久長範¹⁾、千葉紘子²⁾、長谷川勇治³⁾、高島 聡¹⁾、秋山美展¹⁾

(¹⁾秋田県総食研、²⁾聖霊女子短大、³⁾(株)島津製作所)

【目的】秋田県稲川町に、300年以上の歴史を誇り昔ながらの製法を受け継ぐ「稲庭うどん」がある。この乾めんの特徴は、茹で上がりが早く、煮崩れせず、乳白色のつるつるした光沢を持つこと等である。今回は茹でによる食塩の溶出と乾めんの断面積等の関係を調査した。

【方法】稲庭うどん（佐藤養助、稲庭屋、小川商店、寛文五年堂、無限堂、佐藤養悦、ほりえ）、揖保の糸、白石温麺、三輪素麺、ナバーワうどんその他を使用した。乾めんの断面観察：実態顕微鏡とX線CT（島津SMX-130CT-SV）により観察した。食塩溶出：沸騰中の蒸留水500mlに乾めん25gを投入し、弱火で茹でた。茹で液を経時的に採取し、食塩濃度を滴定により測定した。酵素消化性：茹で麺にαアミラーゼ（クイターゼ T5）を添加し、還元糖の生成を調べた。

【結果】1) 手延べ乾めんである稲庭うどんグループの断面には、気泡が観察され、気泡は縦に伸びていた。揖保の糸、白石温麺、三輪素麺、ナバーワうどん等には、気泡が観察されなかった。

2) ボイルにより溶出する食塩は、断面積が小さくなるに従い、あるいは表面積/体積比が増加するに従い、大きくなる傾向が認められた。3) 茹で麺のαアミラーゼ消化は、ナバーワうどんより稲庭うどんの方が速やかであった。

発表学会：日本食品工学会第3回年次大会，2002（東京都）

演題：きりたんぼ製造における冷却工程の制御

演者：（秋田総食研）○高橋 徹、熊谷昌則、佐々木康子、大久長範

（㈱トーヨー）鎌田 均、（元祖秋田屋）鈴木幸夫

【緒言】焼成工程直後のきりたんぼは、ほぼ無菌状態であるが、冷却および包装工程が手作業のため、微生物による二次汚染が問題となっている。特に長時間工場内にさらされる冷却工程の自動化と清浄化が求められている。しかしながら、きりたんぼ製造時における製品の冷却特性は明らかにされていない。そこで本研究は、きりたんぼ冷却工程の制御で重要となる製品の冷却特性を種々の冷却条件下における測定から解明することを目的とした。【実験方法】焼成直後のきりたんぼに熱電対を挿入し、その温度履歴を計測した。冷却条件の比較として、自然冷却（送風なし）ならびに送風ファンによる強制冷却が製品の冷却速度に与える影響、また、冷却ブース試験機を用いた製品の冷却特性についてそれぞれ検討した。【結果と考察】冷却速度定数（ k ）を求めたところ、強制冷却による k は自然冷却の約 1.5 倍であった。一般に冷却工程後の包装工程における製品温度は 20~30℃が望ましいことが経験的に知られているが、自然冷却と強制冷却を比較した場合、製品温度が 30℃まで達するのに強制冷却では約 20 分間であったのに対して、自然冷却では 40 分間以上も必要であった。一方、冷却ブース試験機によるいくつかの冷却条件での測定の結果、冷却初期段階における製品の冷却に対しては、雰囲気温度の調節もさることながら、送風が大きい効果を与えることが判明した。また、雰囲気温度を 5℃で送風した場合は、製品温度を 30℃まで冷却するのに要した時間は約 10 分間であった。

発表学会：日本食品科学工学会第49回大会，2002（名古屋市）

演題：加熱処理米粉糊化液のレオロジー特性

演者：（岩手大・農，秋田総食研・食品開発）○高橋 徹，（岩手大・農）三浦 靖・小林昭一

【目的】 これまでに米粉の糊化特性等が加熱処理（乾熱処理，湿熱処理）によって変化することを報告した¹⁾。本研究では，無処理米粉および加熱処理米粉から調製した糊化液のレオロジー特性の比較から，加熱処理がその特性に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】 無処理米粉，乾熱処理米粉および湿熱処理米粉の 10%(w/w)水懸濁液を 95℃で加熱した糊化液を試料とした。各米粉糊化液の動的粘弾性および流動特性の測定には，応力制御型レオメータ（RS50，HAAKE 社）を用いた。なお，懸濁液のレオロジー特性は，試料が測定前に受けつづりの大きさや静置時間に強く依存するため，これらの履歴を一定にした後，測定に供した。

【結果】 各米粉糊化液のひずみ依存性から，応力-ひずみの線形領域は乾熱処理米粉糊化液（HDT）が最も広く，無処理米粉糊化液（UT），湿熱処理米粉糊化液（HMT）の順に狭くなった。また，周波数分散測定の結果，各試料とも測定範囲内において平坦部を示し，三次元網目構造が形成されていることを示唆した。一方，各試料のみかけの粘性率は，HDT，UT，HMT の順に大きく，特に HMT は他の試料よりも著しく低下した。これらより，湿熱処理は，米粉の膨潤・糊化を抑制し，その糊化液のレオロジー特性にも影響を与えていると考察した。

1) 高橋ら：第1回日本食品工学会大会要旨，p.67 (2000).

発表学会:日本食品保蔵科学会第51回大会(日本大学湘南キャンパス,2002年)

演題:B-3 微生物の増殖抑制に対する増殖速度係数(b)の比較検討

発表者:○菅原久春(秋田総食研)

【目的】低食塩・低甘味の食品が消費者・市場での要請であり、結果的に微生物制御の技術面でのハードルは従来にも増して高くなっている。浅漬けなどの日持ち延長を考えた場合キトサン等の日持ち向上剤やビタミンB₁・ラウリル硫酸塩等が使用されている。主に漬物由来の酵母や乳酸菌を用いて微生物抑制の効果について増殖速度係数を個別に測定・分析をし、抗菌効果について数値で判断可能か検討をした。

【方法】酵母(YM培地)、乳酸菌(GYP培地)を用意し、L型培養管(培地10ml)に初発菌数が10⁵/mlになるように調整し、アドバンテック東洋製TN-112D温度勾配バイオフォトレコーダを使用して(O.D.660nm)30℃で培養中の微生物の生育曲線を描かせ、対数増殖期の時間と生菌数の比で増殖速度係数(b)を求め、抗菌効果について数値化し判断をした。

【結果】対数増殖期において増殖速度係数(b)を求めた。食塩の増加で増殖速度係数(b)は概ね低下したが、耐塩性の酵母にあっては増加していた。初発菌数の相違では増殖始動までの休眠期の相異であり増殖速度係数(b)は同じ値であった。

B(t)は

$$dB(t)/dt = b \times B(t)$$

$$B(t) = B(M) \times \text{EXP}(\int b \times dt) \quad *$$

dB(t)/dt : 増殖速度

b : 増殖速度係数

B(M) : 対数増殖期生菌数初期値

温度一定で * は

$$B(t) = B(M) \times \text{EXP}(b \times t)$$

$$b = \text{LN}\{B(t)/B(M)\} \div t$$

$$t = \text{LN}\{B(t)/B(M)\} \div b$$

B(t) : 生菌数 , t : 時間

$$\tau = \text{LN}(2) \div b$$

τ:2倍に増殖するまでの世代時間

上記の式で増殖速度係数(b)を求めた。また、増殖始動までを休眠期と位置づけ抗菌効果の指標の一つとした。このことで、抗菌効果を数値化することによつて的確に判断することが可能となった。

発表学会:日本食品科学工学会第49回大会(名古屋市名城大学,2002年)

演題:3Ca8 微生物の増殖速度係数と休眠期間による各種抗菌剤の評価

発表者:○菅原久春・菅原眞理 (秋田県総合食品研究所)

【目的】浅漬け等のシェルフライフ延長及び品質保持を目的として、キトサン、ビタミンB₁・ラウリル硫酸塩などが使用されているので、客観的な評価が困難であった。今回演者らは、漬け物由来の乳酸菌・酵母に対する抗菌剤の抑制効果について、休眠期間及び増殖速度係数¹⁾(b)を測定・数値化する事により、評価が客観的に可能かどうかを検討したので報告する。

【方法】L型培養管(培地10ml)に酵母8種類(YM培地)、乳酸菌12種類(GYP培地)を用い、初発菌数が10⁵/mlになるように調製し、それぞれキトサン、グリシン、ナイシン、ビタミンB₁・ラウリル硫酸塩、キトサン+グリシンを添加し、30℃で振とう培養した。培養中の生育曲線はADVANTEC製TN-112D温度勾配バイオフォトレコーダを使用して(O.D.660nm)描いた。休眠期間は微生物が増殖を始めるまでの時間とし、660nmにおけるO.D.値が0.025以上になった時間を増殖期の開始とした。bは、対数増殖期における時間と生菌数の比から求めた。このbと休眠期間を用いて、それぞれの抗菌剤の微生物増殖抑制効果について評価を行った。

【結果】食塩濃度の増加で耐塩性酵母を除きbは低減した。乳酸菌では、抗菌剤の種類や濃度で、菌株により増殖抑制に違いが認められた。例えば、キトサン0.05%で増殖が阻止された菌株は、*Lactobacillus plantarum*(ATCC14917)、*Leuconostoc mesenteroides*など、キトサン0.1%では*Streptococcus faecalis*、*Pediococcus pentosaceus*など、ナイシン0.1%では*Lactobacillus brevis*などであった。一方、ビタミンB₁・ラウリル硫酸塩については、25mg%添加区で*P. pentosaceus*、*S. thermophilus*など、50mg%添加区ではすべての乳酸菌の増殖が抑制された。また、キトサン+グリシン添加区では、乳酸菌のすべてに増殖抑制効果が増大した。すなわち、bとしては低減する結果となり、増殖抑制が不可能でも休眠期間の延長がみられた。

1):日本食品保蔵科学会第51回大会(平成14年6月)発表

発表学会：化学系7学協会連合東北地方大会（弘前市）

演 題：ポータブル近赤外分光装置による廃プラスチックの細分判別解析

発表者：○熊谷昌則^{1, 2}、陶山秀人²、佐藤朋覚²、天野敏男³、菊地良栄²、小川信明²

（¹秋田総食研、²秋田大工学資源、³オプト技研）

【目的】我々の研究グループでは、近赤外(NIR)分光法を廃プラスチックの判別分析に適用し、さらなる分別精度向上のため、判別をより細分化する解析手法について検討を行ってきた。本研究では、その研究をさらに発展させるべく検討を続けた。解析にあたっては単に数学的、統計的手法だけに頼ることなく、化学構造に基づくスペクトルの解釈を重視した定量的判別手法の確立を目指した。

【実験】廃プラスチック素材として71点を収集し、供試試料とした。NIRスペクトルは、プラスチック判別計として開発されたポータブルNIR分光装置PlaScan(オプト技研)によって、1100-2500nmの領域を透過反射法で測定した。本装置は、分光方式に音響光学可変波長フィルタ(AOTF)を採用しており、波長の高速スキャン並びに装置の小型化が図られているため、持ち運びが容易で、現場測定も可能であるという特長がある。

【結果と考察】得られたNIR原スペクトルは、試料毎にベースラインシフトが認められたが、正規標準化処理が系統誤差の除去に有効であった。また、原スペクトルの二次微分スペクトルを2値化変換したバーコードスペクトルの主成分分析により、PP、PE、PC、PET、PVC、ABS、PS、AS、PMMAのプラスチックが種類別に判別可能なことが示された。主成分に対する波長寄与率スペクトルから、判別に係わるのは芳香族CH、エステルC=Oなどに帰属される波長の寄与が高いことが示された。これまでPPとPEについては構造中の-CH₃の割合が判別に関与していることを明らかにしてきたが、現在、これらの共重合体の細分判別の可能性についても検討を行っている。

発表学会：日本素材物性学会平成14年度(第12回)年会(秋田市)

演 題：近赤外スペクトルによるプラスチック素材の細分判別分析

発表者：○熊谷昌則^{1, 2}、陶山秀人²、佐藤朋覚²、天野敏男³、菊地良栄²、小川信明²

（¹秋田総食研、²秋田大工学資源、³オプト技研）

【目的】近赤外(NIR)分光法の非破壊性・迅速性・簡便性といった特性に着目し、新しく開発された携帯可搬型の近赤外分光装置を用いて、プラスチック素材の簡便な判別手法について検討した。さらに、分別精度向上のため、プラスチック素材の判別をより細分化する解析手法について検討を行った。

【実験】測定、解析に用いたプラスチック素材は、事前情報として種類が判明しているもの、不明のもの、合わせて13点である。NIRスペクトルは、現場測定が可能な携帯可搬型近赤外分光分析装置PlaScan(オプト技研)により、白色セラミック板を用いた透過反射法で測定した。

【結果と考察】NIR原スペクトルの前処理法としては正規標準化処理が系統誤差の除去に有効であった。PVCはPEならびにPPとは異なるスペクトル形状であり、容易に判別が可能であった。PPは-CH₃を、PVCは-Clをそれぞれ繰り返し構造内に有するため、PPのみ、1360nm付近に-CH₃に由来するピークがブロードではあるが認められ、PE、PVCとの違いを示していた。一方、-CH₂-に由来する1410nmのピークはいずれのプラスチックにおいても認められたが、同様に-CH₂-に由来する1550nmのピークはPEに特徴的であった。また、吸光度比スペクトルは、試料のさらなる細分判別を可能にし、化学構造の違いに基づいたスペクトルの解釈を容易にした。一方、原スペクトルの二次微分スペクトルからバーコードスペクトルを導出し、これに対して主成分分析を適用したところ、プラスチックのさらなる細分判別に有効であり、吸光度比スペクトルの結果を支持することが示された。

発表学会：第 63 回分析化学討論会（姫路市）

演 題：近赤外分光法による製粉穀類の判別に関する基礎検討

発表者：○熊谷昌則^{1, 2}、軽部貴久子²、佐藤朋覚²、大久長範¹、天野敏男³、菊地良栄²、
小川信明²（¹秋田総食研、²秋田大工学資源、³オプト技研）

【目的】製粉穀類のうち、「そば粉」と「麺用つなぎ小麦粉（割り粉）」が NIR 分光法で判別できるかどうか、ならびに理化学的理解にもとづくスペクトルの解釈を目的としてその基礎検討を行った。

【実験】供試試料は製粉業者より入手した、産地の異なるそば粉 5 検体と、麺用つなぎ小麦粉 10 検体である。NIR スペクトルは、携帯可搬型 NIR 分光装置 PlaScan（オプト技研）を用いて 1200 - 2400nm の波長領域を拡散反射法で測定した。化学分析値は水分、たんぱく質を五訂日本食品標準成分表分析マニュアルに準じて測定した。

【結果と考察】得られた NIR スペクトルには系統的誤差が観察されたが、正規標準化処理を行うことによってこれらは除去された。回帰モデルによる NIR スペクトルからの水分、たんぱく質量の推定においては、Kubelka - Munk 変換が有効であった。NIR スペクトルにこれらの前処理を施した後、主成分分析を適用したところ、主成分 2 でそば粉と小麦粉が判別できることが分かった。主成分分析では、主成分と元の変数間の相関が因子負荷量として求められるが、これを 2 乗した総和が固有値であり、さらに変数の数で割ったものが寄与率に一致する。このことから、それぞれの変数（ここでは波長に相当）ごとに寄与率を求め波長に対してプロットしたところ、主成分に關与した波長の帰属が容易となった。これを波長寄与率スペクトルと呼ぶことにするが、主成分 1 では C-H、starch、glucose の O-H、cellulose の O-H に帰属される波長の寄与率が高く、でんぷんなどの構成成分の違いを、また判別に關与した主成分 2 では C-H、protein の N-H、amide に帰属される波長の寄与率が高く、たんぱく質量との相関も高いことから、たんぱく質などの構成成分の違いを表しているものと推察された。

発表学会：日本分析化学会第 51 年会（札幌市）

演 題：近赤外分光法による製粉穀類の判別に関する基礎検討（II）

発表者：○熊谷昌則^{1, 2}、軽部貴久子²、松浦奈津美²、佐藤朋覚²、大久長範¹、天野敏男³、
菊地良栄²、小川信明²（¹秋田総食研、²秋田大工学資源、³オプト技研）

【目的】前報では、NIR 分光法を製粉穀類の「そば粉」と「麺用つなぎ小麦粉（割り粉）」に適用したところ、両者の NIR スペクトルは非常に似かよっていたが、NIR スペクトルを標準化し、主成分分析を行うことによって、両者が判別できることを示した。さらに波長寄与率スペクトルを導入することによって、NIR スペクトルの単なる数学的・統計学的解釈のみならず、化学的理解にもとづいた解釈が可能となることを示した。そこで今回は、そば粉と小麦粉の配合品である「調整そば粉」中のそば粉配合割合が NIR 分光法によって推定できないかどうか検討した。

【実験】調整そば粉のモデル試料として、製粉業者より入手した産地の異なるそば粉 4 検体と、麺用つなぎ小麦粉 5 検体を、それぞれ所定の割合で混合したもの 89 試料を調製し、NIR スペクトルは、携帯可搬型 NIR 分光装置 PlaScan（オプト技研）を用いて 1100 - 2500nm の波長領域を拡散反射法により測定した。検体の水分、たんぱく質は五訂日本食品標準成分表分析マニュアルに準じて定量した。

【結果と考察】標準化スペクトルについて回帰モデルによるそば粉配合割合の推定を行ったところ、良好な検量線が得られた。しかしながら、そば粉と小麦粉の混合品のスペクトルは、それぞれ単独のスペクトルによる加成性が成立せず、特に-OH に帰属される波長領域での違いが明らかになった。さらに、そば粉、小麦粉単独のスペクトルから求めた水分の検量回帰モデルに対する混合品の当てはまりがやや悪いことが示された。これらは、そば粉と小麦粉を混合したことにより、粉体中の水分の存在状態が変化したのではないかと考えられる。そば粉配合割合の違いや粉体中の水分の存在状態の違いが NIR スペクトルに与える影響については、化学的な検討を継続中である。

発表学会：第20回 日本植物細胞分子生物学会 奈良大会

演題：タラノキカルスから抗腫瘍タンパク質の生産

発表者：○無尽俊之¹、椎名直¹、生田安喜良²、戸松誠³、堀一之³、柴本憲夫³

(¹東理大・基礎工・²総研、³秋田総食研)

【目的】タラノキ(*Aralia elata* Araliaceae)は新芽を春の山菜として、又、樹皮・根皮は糖尿病の民間薬として利用されており、新芽からは糖吸収・アルコール吸収抑制物質としてトリテルペン配糖体が報告されている。一方、演者らは培養細胞からトリテルペン配糖体を単離し報告してきた。今回、演者らが起源植物から見出したヒト形質転換細胞に選択的致死作用を示す強力なタンパク質(araliatumoricin, ATM)に注目し、ATMがカルスから生産されるかどうかを目的に実験を行った。

【方法】カルスは茎より M&S 培地に2, 4-D(D)-kinetine(K), NAA(N)-K を添加して誘導し、材料の培養組織は同じ MS 培地に N(1mg/l)-Benzyladenine(0.1mg/l)を添加して培養を行い、1.1kg(生重量)が得られた。これをバッファー [50mM Tris/HCl(pH7.4), 1mM EDTA] で抽出し、硫酸塩析、イオン交換およびアフィニティークロマトを行い、CA-ATM 0.2mg を得た。Assay はヒト正常繊維芽細胞株(WI-38)およびそれを SV40で形質転換した細胞株(VA-13)への50%致死濃度(LD₅₀)を WST-1法により測定することで行った。

【結果】VA-13が死滅する濃度で CA-ATM を加えても、WI-38の生存率は高く、LD₅₀値はそれぞれ12および1ng/ml であった。2-メルカプトエタノール存在・非存在下における SDS-PAGE から、CA-ATM は A-, B-chain がジスルフィド結合し、その B-chain は ATM よりも低分子化していた。しかし、抗腫瘍活性及び N 末端アミノ酸配列等が一致しており、ATM 類似の抗腫瘍タンパク質がタラノキのカルス培養により供給される可能性を示した。

発表学会：産学官地域技術交流会 (山形)

演題：機能性成分評価技術の開発—糖尿病合併症予防成分とその利用—

発表者：○戸松誠、進藤昌、柴本憲夫 (秋田県総合食品研究所)

【目的】生活習慣病の代表ともいえる糖尿病において、最も恐ろしいことは網膜症・腎症・神経障害等の合併症発症であるといわれている。合併症発症に深く関わっているとされるアルドース・レダクターゼ(Aldose Reductase, AR)を阻害すれば合併症を予防できるのではないかと考えられている。我々は、合併症予防効果を持つ食品素材の開発に向けて、各種食用動植物資源から AR 阻害活性の探索を行っているが、トチュウ葉およびビール・ホップに強い AR 阻害活性が認められたので報告する。また、トチュウのくせの低減・マイルド化に、微生物処理法が有効か検討した。

【方法】AR 阻害活性は、ヒト筋肉細胞起源の組換え体 AR を用い、グリセルアルデヒドとの反応により消費される NADPH の吸光度変化を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。反応は、96穴マイクロプレートを用いた反応系100 μ l、室温で10分間行った。トチュウの微生物処理は、食品製造に汎用される菌(乳酸菌5種、酵母1種、カビ2種)を用い、反応後、乾燥させた。粉末化は、処理した葉の水抽出液にサイクロデキストリンを加え、スプレードライヤー(SD)で調製した。

【結果】トチュウの微生物処理によって、いくつかの菌でマイルド化され、AR 阻害活性の低下も起こらなかったことから、微生物処理法は有効な手段と考えられる。さらに、SD 粉末化したものでも、活性低下は起こらないことから、粉末化も可能であることが示された。ビールからは、ホップ中の α 酸が加熱処理してできるイソ α 酸(ビールの苦味成分)が、活性成分として含まれることがわかった。最近、この成分は、マウスの血糖値上昇抑制効果が報告され、総合的な糖尿病改善作用を持つ食品素材の開発等が期待される。

本成果の一部は、H12-14年度中小企業庁「中小企業技術開発産学官連携促進事業」の補助のもと行われ、トチュウの成果は(株)秋田今野商店、物産中仙(株)、秋田県立大学との、またホップの成果は、秋田県麦酒醸造技術研究会との共同研究で得られた。

2002年度日本応用糖質科学会大会

高度分岐澱粉の添加が澱粉製品の物性に及ぼす影響について

(¹大阪樟蔭女大・食物栄養, ²江崎グリコ・生物化学研, ³秋田総食研)

○川端康之¹, 高田洋樹², 戸枝一喜³, 北尾悟¹, 高橋徹³, 柴本憲夫³

【目的】*Neurospora crassa* 由来のグリコーゲン枝作り酵素を澱粉湖化液に作用させることにより, 高度な分岐構造を持ち湖化液がほとんど老化しない水溶性の澱粉(高度分岐澱粉, HBS)を調製できる¹⁾。HBSの用途開発への知見を得る目的で, 澱粉湖化液などにHBSを添加し, その物性変化について検討した。

【方法】澱粉湖化液にHBSを添加したときの粘性挙動の変化はB型粘度計を用いて検討した。HBSの添加が澱粉の湖化過程に与える影響についてはラピッドビスコアナライザーを用いた。HBSを添加した上新粉だんごを調製し, 冷蔵保存後の硬化度をテンシプレッサーで測定した。

【結果】澱粉湖化液にHBSを添加した場合, 固形分の増加にも関わらず粘度低下が認められた。また, 米粉澱粉にHBSを共存させて湖化過程をRVAで追跡させたところ, 最高粘度と最終粘度の低下が認められた。上新粉だんごを調製し冷蔵保存後の老化による硬化の度合いを測ったところ, HBSを添加すると硬化が抑制される傾向があった。このことから, HBSは澱粉の湖化過程においてその水和を促進し, 老化による離水を抑制する機能を持つことが予想された。

1) Kawabata et al., *J. Appl. Glycosci.*, 49(3), 2002, in press.

発表学会 : 2003年度 日本農芸化学会大会(神奈川県藤沢市)

演 題 : マイタケ由来プロリルアミノペプチダーゼの精製と諸性質

発表者 : ○樋渡一之、加賀屋明良*、井上俊三*、高橋慶太郎、高橋砂織

(秋田県総食研・生物機能、*秋田十條化成)

要旨:【目的】食品加工等への利用を目的として、食習慣のある担子菌類からプロリルアミノペプチダーゼを探索した。その結果、活性や入手の容易さ等からマイタケ(*Grifola frondosa*)に注目し、その酵素の諸性質について検討した。

【方法・結果】酵素活性は、プロリルパラニトロアニリド(Pro-pNA)を基質として遊離したpNAを405nmで測定することにより求めた。マイタケ子実体をホモジナイズして硫酸濃縮した後、DEAE-Sepharose CL-6B、Butyl-Toyopearl 650M、Sephacryl S-100 HR、Mono-Qの4段階のカラムクロマトで精製し、電気泳動的に単一の酵素標品を得た。本酵素は、中性領域に比較的幅広い至適pHを持ち、Pro-pNAに対して高い特異性を示した。各種酵素阻害剤の影響を検討した結果、本酵素がPCMBやヨード酢酸によって阻害されたことからチオールプロテアーゼであることが示唆された。分子量はSDS-PAGEで33 kDa、ゲル濾過で58 kDaと求められたことから、本酵素は二量体で存在していることが判明した。

演 題：NMRを用いた味噌発酵における脂肪関連物質の組成解析

発表学会：2003年3月 日本薬学会第123年会（長崎市）

発表者：○堀 一之¹，渡辺隆幸²，尾張かおる²，高橋光一²，高橋砂織¹
（秋田県総食研¹生物機能，²応用発酵）

要 旨：【目的】味噌の発酵・熟成により、大豆由来のトリグリセリドはリパーゼの作用で脂肪酸とグリセリンに分解される。さらに、副次的に酵母によって生成したエタノールと先の脂肪酸から、対応するエチルエステルが生成する。このエチルエステルは、熟成に伴う香りの主成分だけでなく、抗変異原性を有することも知られており、発酵過程でのこれら脂肪関連物質の実態を把握は味噌製造の高品質化研究の見地から強く求められている。今回、NMRによってトリグリセリドとエチルエステルの組成が解析できるかについて検討した。【方法】味噌の脂質抽出法としては、凍結乾燥の後、ソックスレー法あるいは加熱環流冷却法によりエーテルおよびクロロホルム-メタノールで抽出した。モデル化合物として、大豆油とリノール酸エチルを用いた。

【結果と考察】先に演者らが発表した¹³C NMRによる測定法*に準じ、待ち時間の延長と逆ゲート付デカップリング条件下35 °Cでピリジン-d₆を測定溶媒とし、 δ 58~74 ppm部分と δ 172~173 ppm部分の各シグナルの面積比を求めた。さらに、通常の¹H NMR測定においてもトリグリセリドの1,3位メチレンおよび2位メチンプロトンとエチルエステルのメチレンプロトンのシグナルがそれぞれ分離して現れ、従前法のように分離することなく容易に両者の組成比が求められることが判明した。
*堀ら，日科工誌，48(9)，650-655 (2001)。

発表学会：2003年度日本薬学会（長崎市）

演題：Lupaneトリテルペンのヒト腫瘍細胞に対する選択毒性

発表者：○畠恵司、堀一之、小笠原博信、高橋砂織（秋田県総食研）

要旨：【目的】我々はこれまで、lupaneトリテルペンが B16 2F2 マウスメラノーマ細胞に対し分化誘導をおこなうことを見だし、lupaneトリテルペンによる同細胞分化誘導とアポトーシス誘導は異なる部位が制御していることを報告した [Hata K. et al., *J. Nat. Prod.* 65,645-648 (2002)]。本研究では lupaneトリテルペンの種々のヒト腫瘍細胞に対する選択毒性について検討した結果を報告する。

【方法】Lupaneトリテルペンによる腫瘍細胞増殖抑制能は IC₅₀ 値を比較することにより検討した。また、アポトーシスの誘導は Hoechst 33258 による蛍光染色ならびに DNA ラダーを検出することにより確認した。

【結果】C-17 位にカルボニル基を有する lupaneトリテルペンは、種々のヒト腫瘍細胞増殖を顕著に抑制した。特に lup-28-al-20(29)-ene-3-one (1)はヒト白血病細胞株、肺癌細胞に対し強いアポトーシス誘導能を示した。更に adriamycin (ADR)耐性及び vincristine (VCR)耐性の K562 細胞を用い、1のこれら薬剤耐性株に対する増殖抑制能を親株である K562 に対するものと比較した結果、両耐性株は ADR 及び VCR の両薬剤に対して耐性を示し、多剤薬剤耐性株であることが確認できた。しかしながら、1は親株である K562 細胞と同じ濃度域で ADR-及び VCR-耐性 K562 細胞のアポトーシスを誘導することが判明した。

発表学会：第16回キチン・キトサン・シンポジウム 特別講演（2002年、上田市）
演 題：多機能性を示すN-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ
（レニン結合タンパク質）

発表者：○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之
（秋田県総食研・生物機能）

【目的】最近、我々はヒトRnBPがN-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) 2-エピメラーゼ活性を持つことを示した。今回、各種動物由来の組換え型酵素を精製し、ヌクレオチドに対する親和性を検討するとともに、ヒト型とラット型酵素の各種キメラ酵素を作成し、ヌクレオチド結合部位を検討した。GlcNAc 2-エピメラーゼの多機能性について考察する。

【方法】GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は、ManNAcを基質とし、生じたGlcNAcをN-アシル-D-ヘキソサミンオキシダーゼとペルオキシダーゼの共役系で測定した。レニン活性の測定には、新規蛍光クエンチ基質 (Nma-His-Pro-Phe-His-Leu*Leu-Val-Tyr-Lys(Dnp)rr-NH₂, r はD-Argをまた、* は切断部位を示す) を持ちいた。

【結果及び考察】組換え型ヒト、ブタ、およびラット酵素はそれぞれ2量体で存在し、レニン活性を強く阻害した。組換え型酵素類のエピメラーゼ活性の発現には、各種ヌクレチドの添加が必須であった。また、ヌクレオチドに対する親和性は、ラット型酵素>ブタ型酵素>ヒト型酵素の順番であった。これまでの結果から、RnBPは、1) レニン活性の阻害、2) 活性型レニンの分泌制御、3) GlcNAc 2-エピメラーゼ活性と少なくとも3種類の機能を持つことが示されている。

発表学会：第16回キチン・キトサン・シンポジウム 一般講演（2002年、上田市）
演 題：N-アセチルグルコサミン2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）の
ヌクレオチド結合部位について

発表者：○高橋砂織、高橋慶太郎、小笠原博信、堀 一之、森 勝美
（秋田県総食研・生物機能）

【目的】最近、我々はヒトRnBPがN-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) とN-アセチル-D-マンノサミン (ManNAc) との相互変換を触媒するGlcNAc 2-エピメラーゼ活性を持つことを示した。今回、各種動物由来の組換え型酵素を精製し、ヌクレオチドに対する親和性を検討するとともに、ヒト型酵素とラット型酵素の各種キメラ酵素を作成することによりヌクレオチド結合部位を明らかとした。

【方法】GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は、ManNAcを基質として、生じたGlcNAcをN-アシル-D-ヘキソサミンオキシダーゼとペルオキシダーゼの共役系で測定した。組換え型酵素の発現ベクターは、pUK223-3をもとに構築した。各種キメラ酵素は制限酵素の切断部位を基に構築した。組換え体は、大腸菌 JM109細胞で発現した。

【結果及び考察】精製した組換え型ヒト、ブタ、およびラット酵素はそれぞれ2量体で存在し、レニン活性を強く阻害した。組換え型酵素類の活性発現には、各種ヌクレチドの添加が必須であった。また、ATP、dATPやddATPに対する親和性は、ラット型酵素>ブタ型酵素>ヒト型酵素の順番であった。また、ヌクレチドの親和性が異なるヒト型酵素とラット型酵素の各種キメラ酵素を作成し、解析した結果、酵素分子の中央部分がヌクレオチド結合に重要であることが示された。

発表学会：食品酵素化学研究会第2回学術講演会（2002年 京都市）

演 題：N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）の
構造と機能 —ヌクレオチドの役割について—

発表者：○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之、森 勝美
（秋田県総食研・生物機能）

【目的】最近、レニン結合タンパク質 (RnBP) がN-アセチルグルコサミンとN-アセチルマンノサミンの相互変換を触媒するGlcNAc 2-エピメラーゼ活性を持つことが判明し、多機能タンパク質として注目されている。今回、動物由来各種組換え型酵素類を精製し、その諸性質を検討した。

【方法】組換え型酵素類は、Taqプロモーター制御下に大腸菌JM109細胞で発現し、常法に従い精製した。GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は、ManNAc を基質として用い、生じたGlcNAcをN-アシル酸化酵素とペルオキシダーゼとの共役系で測定した。

【結果と考察】組換え型酵素類の各種ヌクレオチドに対する親和性は、ラット型酵素、ブタ型酵素及びヒト型酵素の順番であった。キメラ酵素類は、ヌクレオチドに対する特異性や親和性の違いによりヒト型酵素群 (HHH, HHR, RHH, RHR) とラット型酵素群 (RRR, RRH, HRR, HRH) の2群に分類された。その他の解析結果を総合して、RnBP分子の中央領域すなわち96残基から305残基の領域がヌクレオチド結合ドメインであると判断された。

発表学会：2002年度日本生化学会大会（京都府）

演 題：レニン結合タンパク質（N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ）の
ヌクレオチド結合領域の同定について

発表者：○高橋砂織、小笠原博信、高橋慶太郎、堀 一之、森 勝美
（秋田県総食研・生物機能）

【目的】レニン結合タンパク質(RnBP)はレニンの内在性阻害タンパクで、これまで、ヒト、ブタやラットRnBPのcDNAクローニングが完了しているとともに、ゲノム遺伝子構造などが明らかとされている。最近、RnBPがN-アセチルグルコサミン(GlcNAc) 2-エピメラーゼと同一の分子であることが判明し、多機能タンパク質として興味を持たれている。今回、ヒト型とラット型RnBPとの各種キメラ組換え型RnBP構築により、RnBPのヌクレオチド結合ドメインについて検討した。

【方法及び結果】組換え型RnBPは大腸菌JM109細胞で発現し、常法(1)に従い精製した。GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は、N-アセチルマンノサミン(ManNAc)を基質として、生じたGlcNAcをN-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼと共役系で測定した(1)。ATPに対するラットRnBPの親和性がヒトRnBPに比べ約10倍高いことを利用し(2)、親和性の相違で結合ドメインを評価した。3ドメイン（N末端、中央領域、C末端領域）のキメラ6種類を解析した結果、RnBP分子の中央領域がヌクレオチド結合に重要であることが示唆された。

(参考) (1) Takahashi, S., et al. (2000) *J. Biochem.* 128, 951-956.

(2) Takahashi, S., et al. (2001) *J. Biochem.* 130, 815-821.

発表学会：2002年度日本農芸化学会大会（仙台）

演題：ビール中の糖尿病合併症予防活性成分について

発表者：○進藤 昌、戸松 誠 門脇博之* 立花忠則 柴本憲夫 森 勝美
（秋田総食研 *秋田麦酒研究会）

要旨：【目的】糖尿病による合併症は細胞内の高濃度グルコースが、アルドースレダクターゼ(AR)によって変換されたソルビトールの蓄積に因って発症するとされている。今回、ビール中に AR の働きを阻害する成分の存在が示唆されたので報告する。

【方法】サンプルは、秋田県内のメーカーで醸造されたビール並びに国内産の麦芽、ホップ、ビール酵母を用いた。AR 阻害活性の測定は、ヒト筋肉細胞起源の組換え体 AR を用い、グリセルアルデヒドとの反応により減少する NADPH の吸光度変化を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。

【結果】凍結乾燥したビールのメタノール可溶画分に強い AR 阻害活性が認められた。さらに原料別に阻害活性を検討したところ、ホップ煮沸可溶化液の酸性下で抽出されたイソオクタン層に、強い阻害活性が認められた。また、この画分に AR の酵素反応を阻害すると報告されている、フラボノイドやポリフェノールが検出されなかったことより、AR の酵素作用の阻害には α 酸または、イソ α 酸が関与していることが示唆された。

発表学会：5th International Conference of the European Chitin Society (2002, Trondheim, Norway)

演 題：EFFECTS OF NUCLEOTIDES ON *N*-ACETYL-D-GLUCOSAMINE 2-EPIMERASES
(RENIN BINDING PROTEINS)

発表者：Saori Takahashi, Keitaro Takahashi, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hori, and
Katsumi Mori (Akita Research Institute of Food and Brewing, ARIF)

Renin is a highly specific aspartic proteinase that regulates blood pressure through its action on angiotensin I. Renin binding protein (RnBP) is an endogenous renin inhibitor first isolated from porcine kidney as a complex of renin, so called high molecular weight renin. We recently demonstrated that human RnBP is the enzyme GlcNAc 2-epimerase. The essential cysteine residues for human GlcNAc 2-epimerase were identified by the construction of several cysteine/serine mutants. In the present study, we expressed human, rat, and porcine RnBP in *E. coli* JM109 cells, and the effects of nucleotides on purified recombinant enzymes were investigated. The human GlcNAc 2-epimerase activity was not detected in the absence of nucleotides, whereas ATP, dATP, ddATP, ADP and GTP enhanced the human GlcNAc 2-epimerase activity. Rat and porcine enzymes were activated by several nucleotides. Rat GlcNAc 2-epimerase had higher affinity for ATP, dATP, and ddATP than did the human and porcine enzymes. Human GlcNAc 2-epimerase had the lowest affinity for the nucleotides among the enzyme used in this study. Nucleotides that enhance the activity of GlcNAc 2-epimerase protect these enzymes against degradation by thermolysin. These results indicate that nucleotides are essential for the formation of the catalytic domain of GlcNAc 2-epimerase.

発表学会：2002年8月 日本食品科学工学会第49回大会（名古屋市）

演 題：秋田県の伝統食品「赤ずし」に関する微生物的考察

発表者：○佐々木康子，菅原眞理，柴本憲夫（秋田総食研）

【目的】 「赤ずし」は、秋田県で、夏期、特にお盆のときに作られる飯ずしで、けいとまま、赤漬け、赤まとも呼ばれる。赤ずしは、うるち米もしくはもち米のご飯を食塩、砂糖で調味し、キュウリの塩漬と塩もみした赤ジソを加えて、漬け込んで作られる。秋田県の「食品等の衛生指導基準」によると、一般細菌数において、そう菜（非加熱処理）については 10^6 以下という基準があるが、発酵食品では基準を適用しないことになっている。しかしながら、赤ずしについては、これまで、発酵食品とそう菜のどちらに該当するかという判断基準がなかった。また、赤ずしの漬込は、通常2日間であるが、一部の地域では、漬込4時間程度で製品として流通させている。そこで、本研究では、赤ずしが漬込後、どれ位の時間で発酵食品として位置づけられるか調べる。

【方法】 試料とした赤ずしは、秋田県内の赤ずし製造業者により製造されたものである。漬込後、1時間、4時間、8時間、12時間、24時間、48時間、72時間後にサンプリングした赤ずしを試料とし、常法により、微生物検査、pH、水分活性の測定を行った。

【結果】 微生物検査の結果、赤ずしの漬込直後から乳酸菌数の増加が確認され、pHも次第に低下しているため、赤ずしは、発酵食品であるといえる。また、漬込12時間後以降には、赤ずしのpHが4.5以下になっていた。pHが4.5以下の食品では、ボツリヌス菌の生育が抑制されるため、赤ずしは、安全な乳酸発酵食品であるといえる。さらに、漬込24時間以降には、サルモネラ、ブドウ球菌が陰性になったため、これらの結果から、漬込後24時間以上経過した赤ずしを発酵食品として扱うのが、食品の安全性の観点から妥当であると考えられる。

発表学会：2002年8月 日本食品科学工学会第49回大会（名古屋市）

演 題：麴歩合の高い米味噌における機能性香味成分増加技術の開発

発表者：○尾張かおる、高橋光一、渡辺隆幸、堀一之

【目的】 消費者の健康志向が高まり多くの機能性食品が開発される中、醸造食品においては香味の向上に加え強い抗酸化性や抗腫瘍性が認められているHEMF (2(or5)-ethyl-4-hydroxy-5(or2)-methyl-3(2H)-furanone) が注目を集めている。米の生産が盛んな秋田県内では米麴の割合が高い味噌を好む傾向が強いが、現在の製法ではHEMFを充分作出する事ができない。そこで官能的に香味の向上が判別できるHEMF $15 \mu\text{g/g}$ を目標に試験醸造を行い、最適条件を検討したので結果を報告する。

【方法】 市販品は秋田県内味噌製造工場から入手した。試験醸造は、基本配合を麴歩合(原料大豆重量に対する米重量の割合 $\times 10$): 20, 水分: 42%, 食塩: 11.5%, 添加酵母: *Zygosaccharomyces rouxii* AM2¹⁾、仕込み総量: 10kg、発酵熟成温度: 25°C、同期間: 120日間とし、アルコール脱水麴²⁾添加・配合・発酵温度等の条件について検討した。HEMFの定量は酢酸メチルで抽出後GCにより分析した。

【結果】 麴歩合が高い市販味噌のHEMF含量は $15 \mu\text{g/g}$ に満たなかった。試験醸造の結果、麴歩合の高い味噌はそうでない味噌に比べHEMF生成量が減るが、アルコール脱水麴添加仕込により増加した。配合条件を低食塩・高水分にすることでHEMF生成量は増加し、約 $25 \mu\text{g/g}$ 生成した。仕込後4週間における酵母の増殖が、HEMF生成量増加を促進していた。

1) 渡辺隆幸：日本醸造協会誌, 93, 22(1998)

2) 尾張かおる, 高橋光一, 渡辺隆幸：日本醤油研究所雑誌, 26, 191(2000)