

# 秋田県総合食品研究所報告

第 6 号

平成16年（2004年）

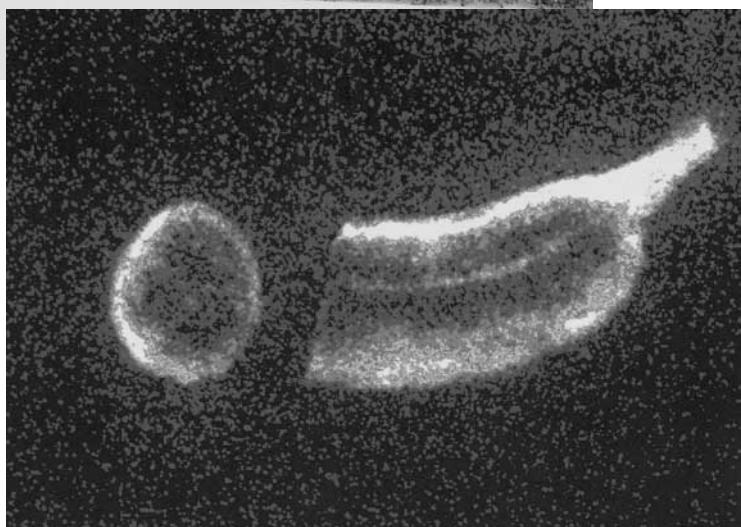
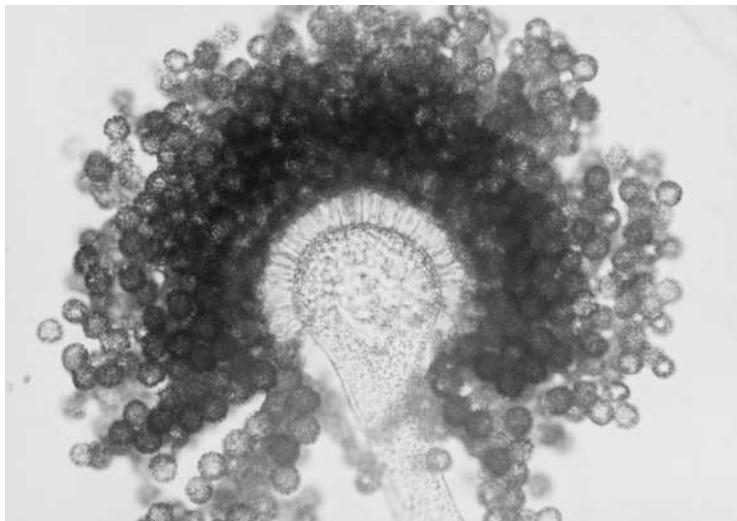
---

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

No.6, 2004

# Akita Research Institute of Food and Brewing

## *ARIF*



# 目 次

1. 原著論文（報文）	
「安全、高品質な食品の製造に関する研究」	1
－比内鶏燻製品についての検討－	
菅原真理、柴本憲夫	
「安全、高品質な食品の製造に関する研究」	8
－広域流通を目的とした賞味期限の長いきりたんぽの製造について－	
佐々木康子、菅原真理、高橋徹、熊谷昌則、柴本憲夫	
「大豆種皮からの酵素処理によるマンノース、マンノオリゴ糖の製造法」	13
戸枝一喜、保苅美佳	
「稲庭うどん製造工程への携帯型近赤外分光装置の適用」	18
熊谷昌則、大久長範、小川信明	
「温度感受性味噌酵母とその利用」	25
高橋慶太郎、渡辺隆幸、秋山美展	
「新しい吟醸酒用自動製麹機の開発と吟醸酒の醸造試験」	32
田口隆信、高橋仁、渡辺誠衛、新野葉子、中田健美、立花忠則、齊藤久一	
2. 原著論文（研究ノート）	
「加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響」	41
高橋徹、三浦靖、小林昭一	
3. 総説	
「新しい活性酸素種およびその消去成分の検出・定量法」	45
秋山美展、大久保一良	
「秋田味噌醤油品評会出品物分析結果のまとめ」	50
尾張かおる、渡辺隆幸、高橋光一	
4. 特許等の要約（3件）	59
5. 学会発表（36件）	61
6. 外部発表論文再録（11件）	79
7. その他の外部発表論文リスト（12件）	137

## 1. 原著論文（報文）

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

# 安全、高品質な食品の製造に関する研究

## －比内鶏燻製品についての検討－

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

### 【要 約】

比内鶏燻製品製造工場A社は、賞味期限内にもかかわらず、包装の「ふくれ」によるクレームが多く、対策を求められていた。汚染微生物は、主に乳酸菌であることが判明した。各工程室のゾーニングを行い、長靴の消毒槽を設置するなどHACCP手法を用いた工程改善を行った結果、「ふくれ」を生ずる製品は減少した。

### 【緒 言】

日本三大地鶏である比内地鶏は、比内町を中心とする県北部で飼育されており、きりたんぽの具や燻製品に加工され、秋田県の特産品として全国に流通している。燻製品製造工場A社は、真空包装製品を10°C以下の冷蔵流通で全国販売しているが、賞味期限内にもかかわらず包装の「ふくれ」によるクレームが多く、対策にせまられていた。しかし、「ふくれ」の原因が不明であるため、根本的な解決策が見つからないとA社から相談を受けた。鶏燻製品は、食品衛生法では加熱食肉製品に分類され、加熱殺菌後容器に入れたものとされる。また、製造規格では、加熱殺菌は製品の中心温度が63°C・30分、冷却は衛生的な場所で十分行わなければならないと規定されている。包装後の冷却製品の取扱も衛生的に行うことが義務づけられ、10°C以下で保存・流通しなければならない。微生物規格は大腸菌；陰性、黄色ブドウ球菌；1000/g以下、サルモネラ；陰性と決められている。「ふくれ」の原因是、微生物汚染、特に嫌気性細菌によるものと予想されたので、製品の微生物検査を行い、汚染原因微生物を特定した。また、A社工場は建て増し方式のため機械、設備の配置転換を行わずに、HACCP手法を用いた製造工程の改善を試みた。

### 【実験方法】

#### 1) 試料

試料とした比内鶏燻製品は、A社から提供を受けた。製造工程は図1の通りである。図1に示したように、製品には、「ロール」と「スライス」の2種類があり、今回試料として用いたのは、以下の3種類である。

- (1) 「ふくれ」発生製品（以後、製品と記載）
- (2) 製造工程中の燻製ロール品（以後、ロール製品と記載）
- (3) 製造工程中の燻製スライス品（以後、スライス製品と記載）

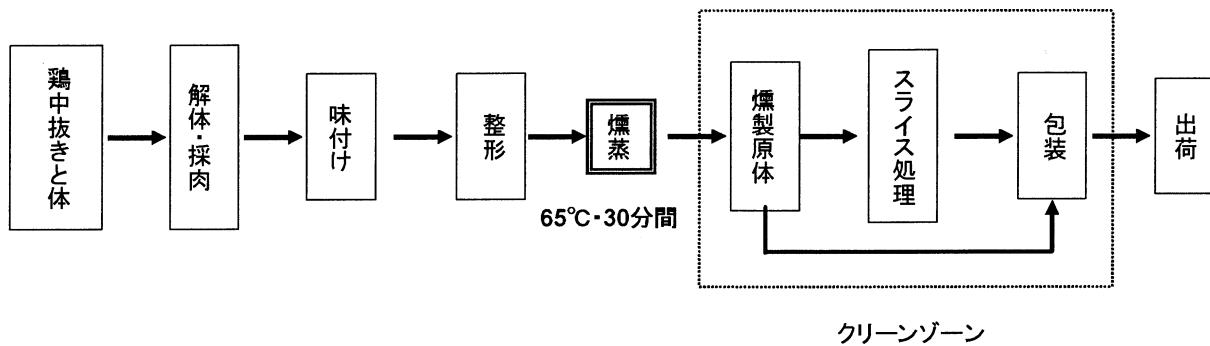


図1 比内鶏燻製品の製造工程

## 2) 微生物検査

採取した試料各5gは細刻し、45ml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秒間磨碎した。得られたマスティケーター磨碎液を滅菌生理食塩水で数段階希釈し、微生物検査用試料とした。

微生物検査に使用した培地は次の通りである。

一般生菌	: ハリトリワイルム（好気性細菌数測定用；スリーエムヘルスケア社製）
大腸菌・大腸菌群	: ハリトリワイルム ( <i>E.coli</i> 測定用；スリーエムヘルスケア社製)
クロストリジア	: クロストリジア寒天培地（日水製薬社製）
ブドウ球菌	: マンニット食塩培地（日水製薬社製）
黄色ブドウ球菌	: スタフィロLA（デンカ生研社製）
サルモネラ	: MLCB培地（日水製薬社製）
乳酸菌	: BCP加プレートカウントアガール（日水製薬社製）

## 3) pH測定

微生物検査に用いたマスティケーター磨碎液をpHメーター（T0A社製）で測定した。

## 4) 水分活性

各試料を定法に従って、水分活性測定装置（novasina社製 TH2/RDT-33/BS）で測定した。

## 5) 食塩濃度

各試料を定法に従い抽出・ろ過し、ろ液の食塩濃度を電位差自動滴定装置 AT-400（京都電子工業社製）で測定した。

## 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ポール社<sup>1)</sup>の方法により、HACCP手法については加藤<sup>2)</sup>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 ) 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°C、48時間培養後、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<sup>3)</sup>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（日水製薬社製）で、37°C、48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°C、48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°C、24時間培養した。培養後、出現したコロニー数を計測した。

### 【結果と考察】

#### 1 ) 製品、ロール製品およびスライス製品の微生物検査結果

製品、ロール製品およびスライス製品について、微生物検査を行った結果を表1に示す。製品は、加熱食肉製品の微生物規格に適合していたが、ネットが発生し、賞味に耐えない状態であった。また、低温で生育し、悪臭を発生しないことから、一般生菌のほとんどが乳酸菌と考えられた。

表1 鶏燻製品の微生物検査結果

	一般生菌	大腸菌	サモネラ	黄色ブドウ球菌	乳酸菌	クロストリジア
製品	$1.8 \times 10^8$	陰性	陰性	陰性	$1.6 \times 10^8$	$1.2 \times 10$
ロール製品	$1.3 \times 10^2$	陰性	陰性	陰性	$1.0 \times 10$	陰性
スライス製品	$1.3 \times 10^3$	陰性	陰性	陰性	$1.6 \times 10^3$	陰性

菌数の単位は (CFU/g)

#### 2 ) 燻製品の成分分析結果

ロール製品およびスライス製品の成分分析結果を表2に示す。

表2 鶏燻製品の成分分析結果

	水分活性(Aw)	pH	食塩濃度(%)
ロール製品	0.97	6.2	2.3
スライス製品	0.98	6.4	2.0

鶏燻製品は、真空包装されているため、嫌気性菌の増殖のおそれがある。嫌気性菌のうち、食中毒菌として最も問題とされるボツリヌス菌の生育阻止条件は、pH4.5以下またはAw0.94以下であるが、製品は、ボツリヌス菌の生育阻止条件を満たしていなかった。

原料である比内鶏生肉には、一般生菌 $2.0 \times 10^4$ 個、大腸菌 $3.0 \times 10^2$ 個、乳酸菌 $2.0 \times 10^2$ 個、クロストリジウムが20個存在していたので、クロストリジウムによる汚染防止対策が必要とされた。

### 3) 加熱・冷却工程の検討について

HACCP手法に従って鶏燻製品製造工程の解析を行い、重要管理点として燻蒸工程および包装工程の2点を設定した。従来は、中心温度65°C・30分で燻蒸し4時間放冷後、機械に入れたまま翌朝まで約14時間冷却しその後包装を行っている。この工程の微生物検査を行い、クロストリジウムの殺菌が可能かどうかを検討した。その結果を表3に示す。

表3 ロール製品の燻蒸冷却条件の違いによる微生物検査結果

	一般生菌	大腸菌	乳酸菌	クロストリジウム
焼き上げ前	$2.0 \times 10^4$	$7.5 \times 10^2$	$2.5 \times 10^4$	$3.0 \times 10$
ロール製品1	$2.0 \times 10^2$	陰性	$6.0 \times 10^2$	陰性
ロール製品2	$3.5 \times 10$	陰性	$3.5 \times 10$	陰性

菌数の単位は (CFU/g)

条件：ロール製品1：燻蒸後、放冷4時間。機械内保管（翌朝中心温度20°C）

ロール製品2：燻蒸後、放冷4時間。冷蔵庫保管（翌朝中心温度8°C）

表3に示したように、中心温度65°C、30分の燻蒸条件は、明らかに殺菌の効果は認められたが、放冷後室温冷却あるいは冷蔵庫での保管の違いは、両者に優位な差は認められなかった。また「ふくれ」は、おもにスライス製品に発生しているので、乳酸菌およびクロストリジウムは、スライス工程で付着していると考えられた。

### 4) 一般的衛生管理

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。

ゾーニングでは、燻蒸までの工程を汚染区、燻製室、スープ加工室、生肉包装室、清潔区にいたる通路を準清潔区とした。スライス工程および包装工程室は、従来通路から直接入室していた入り口を閉鎖し、燻製品保存室を前室として区切り、二重ドアで入室することによって、清潔区とした。汚染区と準清潔区、清潔区の境界に、それぞれ長靴消毒槽を設置した。清潔区への入室は、入室者を限定し、履き物の取

り替え、手洗い設備を設置し、他の作業との交差をなくした。

燻製品の流れの動線については、スモークハウスの設備を移動させることができないため、スープ加工室で原料と燻製加工品が交差するが、燻製加工品をケースに保管し移動していることや、原料搬入と加工品搬出に大きな時間差があることを利用し、動線の交差を解消することにした。しかし、原料と燻製品の交差には、微生物汚染など重大な危険性があるため、今後の工場の改裝の際にはスモークハウスの配置を変え、理想的な動線を確保する必要がある。

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、8月から12月に菌数が多いが、これは工場の稼働時間に比例していると考えられる。稼働時間にかかわらず、工場全体の清掃を習慣づけることが必要である。ふき取り検査の結果、一般生菌、乳酸菌、クロストリジアの菌数は、清潔区では著しく減少した。特に、スライサー、ハサミ、秤など、燻蒸後の製品に触れる機械、器具の消毒、殺菌を徹底したため、乳酸菌、クロストリジアの菌数が減少し、スライス製品への汚染を防止することができた。汚染区は、鶏解体による血液などの汚染が避けられないため、床、壁の清掃をアルコール噴霧で徹底的に行い、菌の拡散を防止した。

表4 落下細菌数測定結果

測定場所	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
解体室 I テーブル	1	1	72	1	25	67	27	15	12	10	15	4
解体室 I 床	1	+	252	23	+	83	+	+	14	2	30	+
冷蔵庫	0	0	4	0	0	7	19	3	2	65	3	30
解体室 II テーブル	1	1	20	3	+	45	16	36	7	6	6	0
解体室 II 床	0	1	30	+	+	89	+	+	37	80	20	0
スープ充填タンク	5	0	3	2	+	+	24	3	3	5	15	1
燻製室作業台					2	14	2	1	8	0	1	0
燻製機前					0	18	2	0	1	0	0	0
肉加工室					4	6	65	5	1	0	0	1
包装室前室					7	12	21	0	7	0	0	3
真空包装機	0	2	5	1	0	10	2	3	3	1	1	13
包装室床	5	3	3	8	3	2	6	1	1	0	0	11
包装室テーブル	1	2	2	3	22	1	1	0	0	0	0	0
包装室手洗い					1	9	15	0	57	0	0	2
包装室冷蔵庫					0	3	0	4	0	0	0	0
包装室コンテナ					0	0	12	9	2	0	0	0
スライサー					1	0	5	1	35	0	0	+

(注) 数字はシャーレ1枚あたりの菌数、+は測定不能を示す。

一般的衛生管理の基本である5S（整理、整頓、清掃、清潔、躾）を実行することで、高品質な燻製品を製造することが可能になり、「ふくれ」発生の製品は激減した。既存の小規模な工場でも、従業員教育、点検表への記録、マニュアルの策定な

表5 ふき取り検査結果

ふき取り場所	一般細菌												乳酸菌																
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月					
解体室長靴	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	260	6160	>10 <sup>4</sup>	300	>10 <sup>4</sup>																						
解体室ゴミ†	>10 <sup>4</sup>	3160	>10 <sup>4</sup>	910	>10 <sup>4</sup>	890	>10 <sup>4</sup>																						
冷蔵庫床	>10 <sup>4</sup>	0																											
ヘカリ	>10 <sup>4</sup>	1000	>10 <sup>4</sup>																										
解体室床	5700	>10 <sup>4</sup>	0	>10 <sup>4</sup>	100																								
解体室壁	3740	0	880	>10 <sup>4</sup>	1640	1460	300	220	570	0	0	470	>10 <sup>4</sup>	0	230	>10 <sup>4</sup>	160	110	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	0	0	0				
スープ充填機	970	50	440	50	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	1120	730	0	0	450	10	100	0	120	>10 <sup>4</sup>	200	0	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	600	10					
スープ室壁	10	120	10	0	270	120	2590	0	0	0	0	0	0	140	0	0	110	10	20	0	0	0	0	0	0	0			
スープ室床	>10 <sup>4</sup>	1260	>10 <sup>4</sup>	0	1050	40	0	400	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	10	>10 <sup>4</sup>	500	>10 <sup>4</sup>							
焼製室壁	5500	0	20	10	900	>10 <sup>4</sup>	790	260	110	0	0	10	20	0	210	70	760	200	0	210	20	0	0	0	0	0			
焼製室床	190	0	130	10	170	1400	100	740	0	0	0	0	0	20	0	0	10	20	0	0	70	0	0	0	0	0	0		
肉パック室床	4180	1010	770	>10 <sup>4</sup>	140	>10 <sup>4</sup>	140	>10 <sup>4</sup>	80	400	50	>10 <sup>4</sup>	0	0	>10 <sup>4</sup>	20	0	0	>10 <sup>4</sup>	1200	40	>10 <sup>4</sup>							
肉包装シート	890	630	>10 <sup>4</sup>	850	20	>10 <sup>4</sup>	750	>10 <sup>4</sup>	240	30	450	40	600	350	0	50	>10 <sup>4</sup>	0	120	>10 <sup>4</sup>	220	0	280	0	0	0	0		
包装室壁	30	0	30	1320	0	2600	200	630	>10 <sup>4</sup>	-	0	170	0	0	0	1520	0	80	10	>10 <sup>4</sup>	0	0	80	0	0	0	0		
冷蔵庫	140	70	0	70	50	50	0	40	0	0	10	90	10	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
コンテナ	170	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	140	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
スライサー	640	0	650	10	0	10	0	0	0	0	0	0	150	0	0	810	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0		
スライサー刃	60	0	0	0	80	80	10	50	0	30	10	0	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0		
ハカリ	0	10	0	1980	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	1320	0	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	
3.5イコロナ	0	0	180	0	110	40	30	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
包装室床	20	60	0	>10 <sup>4</sup>	0	310	10	0	100	0	40	0	0	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
焼製包装機	20	10	0	10	0	0	50	0	0	10	0	0	10	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
焼製はさみ	230	1200	50	>10 <sup>4</sup>	0	10	0	0	0	0	0	0	810	40	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ハカリ受け	>10 <sup>4</sup>	0	20	20	0	0	0	10	0	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	>10 <sup>4</sup>	0	0	0	0	0	0	0	10	

菌数の単位は (CFU／100cm<sup>2</sup>)

どで、HACCP対応は可能であることが示唆された。

#### 【文 献】

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

# 安全、高品質な食品の製造に関する研究

## —広域流通を目的とした賞味期限の長いきりたんぽの製造について—

佐々木康子、菅原真理、高橋徹、熊谷昌則、柴本憲夫  
(秋田県総合食品研究所応用発酵部門、食品開発部門)

Koko SASAKI, Mari SUGAWARA, Toru TAKAHASHI, Masanori KUMAGAI, and Norio SHIBAMOTO

### 【要約】

秋田県の伝統食品であるきりたんぽを賞味期限の長い製品にするために、きりたんぽ製造業 A社をモデルに、HACCP手法に基づいて、焼成工程と金属探知工程を重要管理点 (CCP) に設定し、製造工程管理及び一般衛生管理を行った。その結果、脱酸素剤入のきりたんぽの賞味期限を常温で40日間保証できるようになった。

### 【緒言】

きりたんぽは、秋田県における重要な加工食品の一つであり、これまで、筆者らは、市販きりたんぽ鍋セットの品質特性の調査<sup>1)</sup> やきりたんぽ製造における製品の冷却特性<sup>2)</sup> についての研究を行ってきた。従来、きりたんぽは、現地販売のみの特産品に過ぎなかつたが、近年、大手スーパー、コンビニ、インターネットなどでの販売により全国的な商品になりつつある。これに伴って、製品には、長期間の安全性と品質の保証が求められるようになった。しかしながら、きりたんぽは、これまで地域限定の生鮮食品として扱われてきたため、秋田県の「食品等の衛生基準」にも規定がなかつた。一方、食中毒事件などの発生により、食品の安全確保のための対策が消費者から求められている。それを受け、流通業界は、食品企業に対して、製品の規格基準の設定、一般衛生管理への取り組み、さらには HACCPシステムの導入などの要求を強めている。また、大手スーパーでは、製造委託会社の採用の決定にあたり、独自に設定した厳しい製品基準を満たしていることを採用の条件にしているところもある。そこで、早くからきりたんぽ製造の自動化に取り組んだ県内企業 A社を、きりたんぽ製造業のモデルとして選び、本研究を行つた。また、A社では、脱酸素剤入のきりたんぽ製品を生産しているが、包装の膨れのクレームが発生し、その対策を迫られていた。そこで、安全で高品質な賞味期限の長いきりたんぽを製造するために、HACCP手法に基づいた製造工程管理を行つた。

### 【実験方法】

#### 1. きりたんぽの製造工程

A社で生産されている脱酸素剤入のきりたんぽの製造工程を図1に示す。

#### 2. きりたんぽ製造工場 A社の現状把握

きりたんぽ製造業のモデルとするため、A社の工場視察を行つたところ、原料置場、スープ製造場所、きりたんぽ製造場所、冷却・包装室のゾーニングの不備があり、動線が交差していることがわかつた。

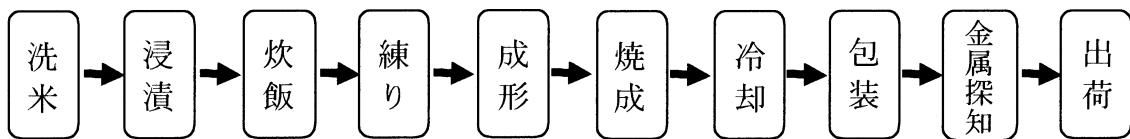


図1 製造工程

### 3. 工場の汚染状況の検査

工場の汚染状況を調べるために、落下細菌検査とふき取り検査を行った。落下細菌検査は、シャーレ（直径9cm）に下記の一般生菌測定用とカビ測定用の平板培地を作成し、検査場所に20分間開放することにより行った。その後、次の温度と時間で培養した。一般生菌は、標準寒天培地（日水製薬社製）で、37°C、48時間培養、カビは、ポテトデキストロース寒天培地（日水製薬社製）で、25°C、5日間培養を行い、培養後、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<sup>3)</sup>に従い、ふき取り培養法で行った。ふき取り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（好気性細菌数測定用；スリーエムヘルスケア社製）で、35°C、48時間培養、大腸菌群は、デゾキシコレート培地（日水製薬社製）、混釀平板培養法で、37°C、24時間培養、カビは、ポテトデキストロース寒天培地（日水製薬社製）、塗抹平板培養法で、25°C、5日間培養、乳酸菌は、BCP加プレートカウントアガール培地（日水製薬社製）、混釀平板培養法で、30°C、48時間培養を行い、出現したコロニー数を計測した。

### 4. 焼成工程におけるきりたんぽの中心温度測定

新工場で生産された脱酸素剤入りのきりたんぽ製品に包装の膨れクレーム品が発生したため、原因を調べたところ、乳酸菌汚染であることがわかった。そこで、乳酸菌汚染が原料由来によるものか焼成工程以後の二次汚染なのかを調べるために、焼成工程におけるきりたんぽの中心温度を測定した。中心温度は、デジタル温度計 CT-250（TERAOKA社製）を使用して測定した。

### 5. スタンプ検査

乳酸菌汚染が従業員の手指由来かどうか調べるために、ステンレス製の浅いバットにBCP加プレートカウントアガール培地（日水製薬社製）で平板を作成した。従業員の手のひらを培地の表面に押し当ててスタンプ検査をし、30°C、48時間培養を行った。

### 6. 製品の賞味期限設定

きりたんぽの製品規格書案を表1に示す。この製品規格書案では、常温保存で40日の賞味期限を設定しているが、賞味期限内に膨れクレーム製品が発生していた。膨れの原因是、乳酸菌であることがわかったので、乳酸菌に焦点を合わせ、工場の一般衛生管理を行い、その後製造した包装済製品（1袋3本入）について、賞味期限設定のため、25°Cで保存試験を行った。初発、保存後28日目、40日目、60日目の製品を各2袋ずつサンプリングし、1袋あたり2本計4本のきりたんぽについて、次の通り、微生物検査を行った。採取したサンプル各5gは細刻し、45ml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秒間磨碎した。得られた磨碎液を滅菌生理食塩水で数段階希釈し、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(一般生菌数測定用；スリーエムヘルスケア社製)で、35°C、48時間培養、大腸菌・大腸菌群は、ペトリフィルム(*E. coli* 及び大腸菌群数測定用；スリーエムヘルスケア社製)で、35°C、24時間培養、カビ・酵母は、ペトリフィルム(カビ・酵母数測定用；スリーエムヘルスケア社製)で、25°C、5日間培養、ブドウ球菌は、マンニット食塩培地(日本製薬社製)、塗抹平板培養法で、37°C、24時間培養、クロストリジウムは、クロストリジア寒天培地(日本製薬社製)、パウチ法で、37°C、24時間培養、乳酸菌は、BCP加プレートカウントアガール培地(日本製薬社製)、混釀平板培養法で、30°C、48時間培養を行い、出現したコロニー数を計測して平均し、菌数を算出した。

表1 製品規格書案

製品の名称及び種類	きりたんぽ
原材料の名称	米
添加物の名称及び使用量	なし
性状及び特性	水分活性 0.98 pH 6.5 前後
包装形態	脱酸素剤入り 包材の種類 : BNY <sup>15</sup> /ONY <sup>15</sup> /LPE <sup>80</sup>
微生物規格	一般生菌数：1万以下/g (自社基準) 大腸菌群：陰性 食中毒菌：陰性
容量規格	3本 / 1袋
喫食または保存法	加熱調理 常温、直射日光を避ける
対象消費者	一般消費者 (子供、老人含む)

## 7. 製品の成分分析

### 1) pH測定

微生物検査に用いたきりたんぽのマスティケーター磨碎液をpHメーター (TOA社製) で測定した。

### 2) 水分活性 (Aw) 測定

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

## 【結果】

### 1. A社のゾーニング、動線

A社では、従来、手作業で冷却工程を行っていたが、焼成工程から冷却工程の流れを全自動化し、冷却工程をクリーンルームで行う<sup>2)</sup>ため、工場の増改築をする計画があった。そこで、新工場の改築にあたっては、原料搬入通路の確保、きりたんぽ製造場所からの原料置場とスープ製造機械の撤去、粗熱をとるための場所の確保、動線の交差をなくす間取りにするよう、提案した。その結果、旧工場と比較して、新工場では、工程の流れが整理され、製品動線の交差がなくなった。ゾーニングは、包装室を清潔区域に、作業室を準清潔区域に、それ以外を汚染区域として設定することができた。作業室入口には長靴消毒槽を設置し、包装室入口には二重ドアの前室に粘着シ-

トを設置して、それぞれの区域のバリアとし、清潔区域である包装室を無菌状態に保つようにした。

## 2. 一般衛生管理とHACCPの簡易構築

新工場において、平成14年4月から1年間、加藤<sup>4)</sup> の方法により、HACCPの簡易構築を行った。きりたんぽの製造工程及び重要管理点を図2に示す。製造工程の危害分析を行い、重要管理点（CCP）は焼成工程及び金属探知工程の2点とし、それ以外の工程はティップール社<sup>5)</sup> の方法により、一般衛生管理で行うこととした。

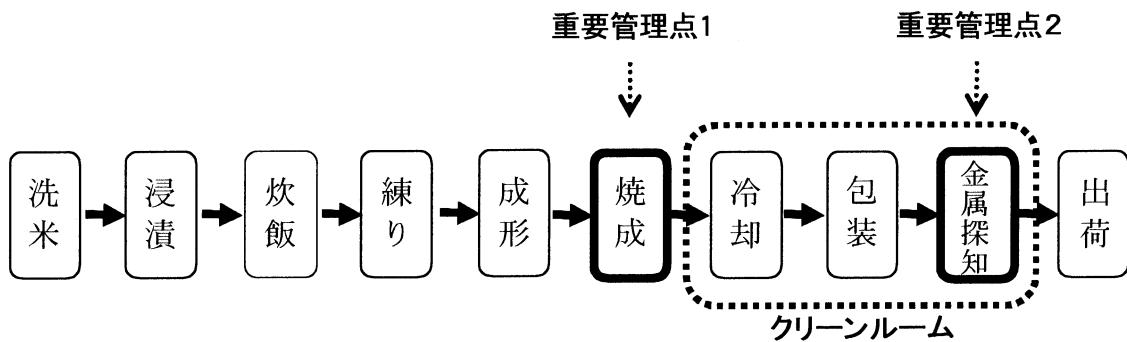


図2 製造工程

## 3. 焼成工程におけるきりたんぽの中心温度測定と乳酸菌汚染対策

表2にきりたんぽの焼成工程（焼成時間は15分間）における中心温度を示した。焼成終了直後のきりたんぽの中心温度は98～102℃であることがわかったので、焼成以前の工程できりたんぽに乳酸菌が存在していたとしても、この焼成条件で乳酸菌は死滅する。よって、乳酸菌汚染は、焼成工程以降の工程に問題があるために発生したと考え、ふき取り検査を行った。その結果、乳酸菌汚染が冷却工程と包装工程の間にいると推察されたので、清潔区域での乳酸菌対策が課題になった。乳酸菌汚染は、手指由来ではないかと推測し、従業員の手のスタンプ検査を行った結果、手指由来である可能性が高いことが確認された。その結果をA社に報告し、入室時の注意、手洗い方法、手袋の脱着方法、アルコールスプレーの使用方法など一般衛生管理についての教育訓練を行った。

表2 きりたんぽの焼成工程における中心温度（℃）

検査日時	成形直後	焼成途中	焼成終了	串抜き後
2002.11.5	58	88	98	94
2002.12.4		90	102	93
2003.1.9		90	101	94

## 4. 製品の賞味期限設定

製品の保存試験を25℃で行い、微生物検査した結果を表3に示す。この結果から、製品は、60日間保存しても微生物的に問題がなく、官能検査の結果でも、異常が認められなかつたので、賞味期限を常温で40日間保証できると判断した。

表3 保存日数の経過による製品の菌数

	初発	28日目	40日目	60日目
一般生菌	3.0	$4.5 \times 10$	$7.0 \times 10^3$	$9.0 \times 10^2$
大腸菌群	陰性	陰性	陰性	陰性
大腸菌	陰性	陰性	陰性	陰性
カビ	5.0	陰性	陰性	陰性
酵母	陰性	陰性	陰性	陰性
ブドウ球菌	陰性	陰性	陰性	陰性
クロストリジウム	陰性	陰性	陰性	陰性
乳酸菌	5.0	$3.0 \times 10$	$2.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^3$

菌数の単位は (CFU/g)

## 5. 製品の成分分析

製品の成分分析を行ったところ、Aw 0.99、pH 6.3であった。製品は、脱酸素剤入のため、嫌気性菌増殖のおそれがある。嫌気性菌のうち、食中毒菌として最も問題であるボツリヌス菌の生育阻止条件は pH 4.5以下または Aw 0.94以下であるが、製品は、ボツリヌス菌の生育阻止条件を満たしていなかった。

## 【考察】

脱酸素剤入のきりたんぽが全国流通するようになり、流通業者から製品の規格基準設定が要求されているが、秋田県では、きりたんぽは、「食品等の衛生基準」に規定されていない。また、嫌気性の食中毒菌として最も危惧されているボツリヌス菌の生育阻止条件は、pH 4.5以下または Aw 0.94以下であるが、脱酸素剤入のきりたんぽは、この生育阻止条件を満たしていなかった。これらのことから、脱酸素剤入のきりたんぽの安全性を確保するため、きりたんぽ業界主導の自主衛生基準の設定が必要であると考えられる。

## 【文献】

- 1) 秋田県総合食品研究所報告、No. 2、1-8、2000
- 2) 秋田県総合食品研究所報告、No. 4、1-5、2002
- 3) 西島基弘：衛生試験法・注解（金原出版）、68-106（2000）
- 4) 加藤光男：HACCP導入のポイント（日本経済新聞社）、98-145（1999）
- 5) テイポール社：食品工業、5、75-78（1999）

# 大豆種皮からの酵素処理によるマンノース、 マンノオリゴ糖の製造法

戸枝一喜、保苅美佳（秋田県総合食品研究所食品開発部門）

Kazuki TOEDA and Mika HOKARI

## 【要約】

納豆製造時に発生する大豆種皮の利用法について検討した。大豆種皮にはマンナンが多く含まれることから、マンナンの効率的な抽出法を検討した。その結果、大豆種皮を 121℃の熱水で抽出することにより、マンナンを選択的に抽出することができた。抽出の最適条件は 121℃で 1~3 時間であった。大豆種皮の熱水抽出物をマンナナーゼにより糖化することによりマンノース、マンノビオース、マンノトリオースが生成した。マンノース生産には試験したマンナナーゼの中ではセルロシン GM5 が良好であった。マンノオリゴ糖生産にはスミチーム ACH または *Bacillus polymyxa* KT551 マンナナーゼが適していた。

## 【緒言】

県内においては納豆生産が盛んであり、その生産に伴い種々の廃棄物が発生する。特に引き割り納豆の生産量が多く、大豆引き割の際に種皮が発生し、その処理にメーカーは苦慮している。

一方、マンノース、マンノオリゴ糖には鶏の餌に添加することにより鶏体内のサルモネラ菌を低減する効果があり、大量生産が望まれているが、まだ工業生産に至っていない。そこで、マンナンを多く含む大豆種皮から酵素を用いたマンノース、マンノオリゴ糖の生産法の開発を目的とした。

## 【原料および実験方法】

### 1) 大豆種皮

大豆種皮は秋田県内の納豆メーカーから分与を受けたものであり、引き割り納豆の製造の際に発生したものを用いた。大豆種皮の多糖を既報<sup>1)</sup>に従い調製した。得られた多糖中の構成糖を日下部ら<sup>2)</sup>の方法に従い硫酸加水分解し、加水分解物を HPAEC-PAD で分析した。

### 2) マンナナーゼ

マンナナーゼは *Bacillus polymyxa* KT551 の生産する新規酵素 (KT551)<sup>3)</sup> で、部分精製したものを用いた。食品工業用マンナナーゼとしては *Bacillus subtilis* 由来のビガラーゼ (洛東化成製)、好アルカリ性 *Bacillus sp.* 由来の GODO (合同酒精製)、*Aspergillus niger* 由来のスミチーム ACH (新日本化学工業製)、*Aspergillus niger* 由来のセルロシン GM5 (阪急バイオインダストリー製) を用いた。

### 3) 单糖、マンノオリゴ糖の分析

单糖およびマンノオリゴ糖の分析は DX-500 (ダイオネックス社製) 高性能陰イオン交換クロマトグラフィーシステム (HPAEC-PAD) を用いて行った。このシステムは、ポンプ (GP-40 Gradient Pump)、オートサンプラー (DAS-80)、検出器 (Pulsed amperometric detector) で構成した。カラムは CarboPac PA-1 カラム ( $\phi 4\text{mm} \times 250\text{mm}$ ) を使用した。移動相は A:0.1M NaOH, B:0.1M NaOH + 0.5M 酢酸ナトリウムの 2 溶媒を用い流速 1.0 ml/min で单糖の溶出プログラムは戸枝<sup>4)</sup>らの方法を用いた。マンノオリゴ糖の分析に用いた溶出は次のようなプログラムで行った。

0→1min, A:B 100:0→100:0; 1→25min, A:B 100:0→80:20; 25→30min, A:B 80:20→0:100.

### 4) 大豆種皮からの熱水によるマンナンの抽出

大豆種皮からのマンナン抽出は熱水により行った。テフロンシール付ネジ口試験管に大豆種皮 0.5 g、水 9.5 ml を採り、所定時間加熱した。60、80、100 °C の加熱には THERMO ALUMI BATH AL-120 (IWAKI 製)、121、133°C の加熱にはオートクレーブ SS-320 (トミー製) を用いた。加熱処理液を冷却後 10000×g、15 分遠心分離し、熱水抽出液を得た。抽出液中の单糖とオリゴ糖を HPAEC-PAD で分離・定量し、全糖量をフェノール硫酸法で定量した。

### 5) 大豆種皮熱水抽出物のマンナナーゼによる糖化

121 °C、1 時間の条件で得られた大豆種皮熱水抽出物 20 mg、マンナナーゼ 4.3 ユニットを含む緩衝液 1 ml を加え、50 °C で 18 時間反応させた。なお、緩衝液としてはビガラーゼおよび KT551 には 0.1M リン酸 Na (pH 7.0) および GODO には 0.1M Tris-HCl (pH9.0)、スミチーム ACH およびセルロシン GM5 には 0.1M クエン酸 Na (pH5.0) を用いた。

### 【結果と考察】

#### 1) 大豆種皮分画物の構成糖

大豆種皮を温水、蔥酸等で分画し、得られた各分画物中の構成糖を表 1 に示した。

表 1 大豆種皮の分画物中の構成糖

	分画中の糖組成 (Mol%)			
	温水抽出	蔥酸	ヘミセルロースA	ヘミセルロースB
L-Fucose	0.9	0.7	0.6	2.7
L-Rhamnose	1.7	3.0	1.6	6.9
L-Arabinose	4.0	4.1	4.4	22.8
D-Galactose	26.1	19.2	7.3	23.2
D-Glucose	-	-	8.3	9.9
D-Mannose	59.9	45.1	17.7	10.8
D-Xylose	-	-	50.6	8.9
D-Galacturonic acid	7.5	27.9	7.2	13.3
D-Glucuronic acid	-	-	2.4	1.5

得られた 4 分画の中で温水抽出および蔴酸画分はマンノースが主成分であった。特に温水抽出によりマンナンが効率よく抽出できることが判明した。温水抽出条件を最適化することにより更に効率的なマンナンの抽出が可能であることが示唆された。

## 2) マンナンの热水抽出

大豆種皮の热水による抽出された全糖量を図1に示した。大豆種皮から抽出される全糖量は処理温度、処理時間の増加に伴い増加した。処理温度 133°C で 2 時間処理すると種皮重量の 15.3% の全糖量（マンノース換算として）が抽出された。

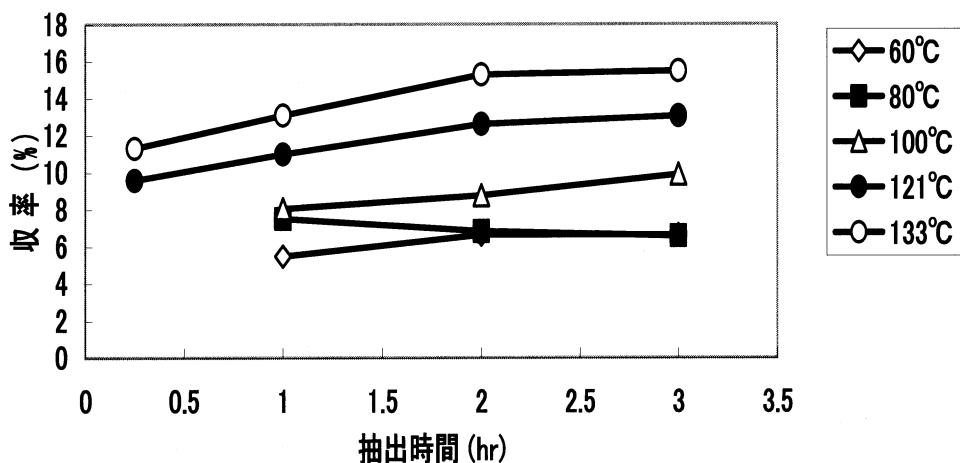


図1 大豆種皮の热水抽出

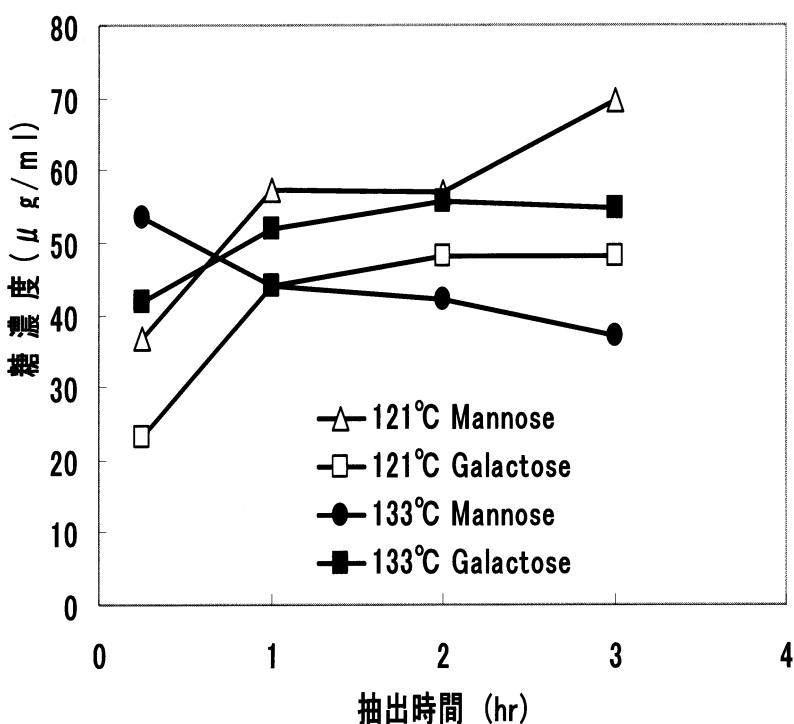


図2 大豆種皮の热水抽出液中の構成糖

121℃の処理温度ではマンノースは加熱時間の増加に伴い増加した。しかし、133℃の処理温度ではガラクトースは加熱時間の増加に伴い増加したが、マンノースは逆に減少した(図2)。この原因としては133℃では抽出されたマンナンがマンノースに分解されると共に、生成したマンノースが分解されて減少すると考えられる。マンナンの効率的な抽出には121℃、1時間または133℃、15分が好ましかった。既報による大豆種皮の抽出温度は70℃であったが、今回の試験により、加熱温度を上げることにより、更にマンナンが抽出されたものと考えられる。これは核酸で抽出されるマンナンが熱水条件で抽出されたものと考えられる。戸枝ら<sup>4</sup>もアラビナンを多く含むビート搾汁残渣から高温による蒸煮条件で効率的にアラビノースの生成を確認している。この様に高温の蒸煮条件で単糖のみならず、多糖の抽出にも効果があることが判明した。

### 3) 大豆種皮からの熱水によるマンナンの調製

耐熱性ガラスビンに大豆種皮50g、水950mlを取り、オートクレーブにて121℃で1時間加熱処理した。処理液を10000×g、30分遠心分離することにより抽出液を得た。抽出液を凍結乾燥して17.8gの乾燥物を得た。これは大豆種皮の35.6%の固形分に相当する。

### 4) 大豆種皮熱水抽出物のマンナナーゼによる糖化

大豆種皮熱水抽出物の各種のマンナナーゼ糖化により生成した単糖、オリゴ糖を表2に示した。糖としてはガラクトース(Gal)、マンノース(M1)、マンノビオース(M2)、及びマンノトリオース(M3)の生成が認められた。これらの他に未同定のオリゴ糖が生成された。使用酵素の違いにより、生成する単糖とマンノオリゴ糖の生成量が大きく変化した。マンノースの生産にはセルロシンGM5が最適であった。この様にマンノース生成量が格段に多いのはセルロシンGM5中にα-ガラクトシダーゼおよびβ-マンノシダーゼが多く存在しているためと思われた(データ示さず)。ガラクトースの生成量が多いのも同じ理由によるものと思われる。一方、GODOとスミチームACHではマンノースは全く生成しなかった。

マンノオリゴ糖の生成に関してはスミチームACHおよび*Bacillus polymyxa* KT551

表2 大豆種皮熱水抽出物のマンナナーゼ糖化による生成糖

マンナナーゼ	生成量(%)				
	M1	M2	M3	Gal	合計
ビガラーゼ	0.46	0.42	0.24	0.03	1.16
KT551	1.23	0.65	0.06	0.28	2.23
GM5	5.35	0	0.35	2.71	8.40
GODO	0	0.31	0.37	0.40	1.07
ACH	0	0.93	0	0.80	1.73

マンナナーゼが良好であった。*Bacillus polymyxa* KT551 マンナナーゼにはα-ガラクトシダーゼおよびβ-マンノシダーゼが存在しないため(データ示さず)、生成したマンノオリゴ糖が加水分解されないため、生成量が多くなったものと思われる。

スミチーム ACH 中の酵素活性は調べていないが、 $\beta$ -マンノシダーゼ活性が無いか、在っても弱いものと思われる。表 2 の分析値は同定された単糖とオリゴ糖の定量値であるが、ガラクトースを含む未同定のオリゴ糖の存在を考慮すると、実際にはもっと多くのオリゴ糖が生成していると思われる。

以上の結果より、大豆種皮から薬品を使わずに、熱水抽出とマンナーゼの組み合わせにより、マンノースおよびマンノオリゴ糖を生産できることが明らかとなった。生成したマンノースおよびマンノオリゴ糖は、精製して食品素材として利用できる。また、未精製の酵素糖化液の場合は家禽の飼料に添加可能であり、サルモネラ菌低減飼料の開発も可能と思われる。

本研究は都道府県等農業関係試験研究事業〔先端技術等地域実用化研究促進事業〕(バイオテクノロジー実用化型)の補助により行われた。

#### 【文献】

- 1) M.G.Jackson *et al.* : Anim. Feed Sci. Technol., 2, 105–130(1977)
- 2) 日下部功、神山 由、安井恒男：農化、51、167(1977)
- 3) 戸枝一喜、戸松 誠、川端康之：日本応用糖質科学会平成 12 年度大会 講演要旨 p61
- 4) 戸枝一喜、川端康之：日本食品科学工学会誌、49, 551 (2002)

# 稲庭うどん製造工程への携帯型近赤外分光装置の適用

熊谷昌則、大久長範、小川信明\*

(秋田県総合食品研究所食品開発部門、\*秋田大学工学資源学部)

Masanori KUMAGAI, Naganori OHISA and Nobuaki OGAWA

## 【要 約】

職人技が受け継がれている「稲庭うどん」の製造現場で、その工程管理に適用可能な近赤外分光法による成分分析法について検討した。携帯可搬型装置の利用により、稲庭うどん半製品にその場で光を当てるだけの簡便な操作により、数秒以内で水分などが定量できることを示した。これにより、乾燥工程がモニタリング可能となり、品質の安定化や微生物の低減化に貢献できることが分かった。また本法は小麦粉の原料管理や稲庭うどん製品の品質管理にも適用可能である。

## 【緒 言】

我々の研究グループは、近赤外分光法の優れた特性に着目し、種々の食品素材やプラスチック素材の定性・定量分析法に関する研究を行ってきた。試料をそのまま非破壊で、迅速に、かつ簡便に試料構成成分を定量することができる近赤外分光法の実用的側面のみならず、分析化学的見地から近赤外スペクトルの基礎的な解析方法を構築してきた<sup>1-4</sup>。現在、一連の基礎研究で得られた成果を、秋田県の地場産業である「稲庭うどん」に活用できるのではないかと考え、それを実証するための研究に取り組んでいる。

「稲庭うどん」は300年以上の歴史を有し、四国の「讃岐うどん」、名古屋の「きしめん」とともに日本の代表的なうどんの3銘柄のひとつに数えあげられている。その製造法は現代にあっても手綱いによる技法が代々受け継がれており、職人の経験と勘がそれを支えている。

本研究では、稲庭うどん製造工程への携帯型近赤外分光装置の適用について検討した。

## 【方 法】

### 1) 検体

稲庭うどんの原料は小麦粉、食塩、水のみである。実際に稲庭うどんの製造に用いられている主原料の小麦粉は、各社ともオリジナル配合でブレンドされているため入手が困難である。そこで本研究では、一般の製麺用小麦粉10検体を測定試料として用いた。稲庭うどんは、メーカーの異なる市販の22検体を用い、麺状のままのものと、比較のため麺を粉碎して粉状にしたものとを測定試料とした。

## 2) 近赤外スペクトルの測定

近赤外スペクトルは、携帯型近赤外分光装置の PlaScan-SH（オプト技研）を用い測定した。本装置は、分光方式に音響光学可変波長フィルタ(AOTF)を採用しているため小型化されており、製造現場に持ち込んでの測定が可能である。さらに波長スキャンの高速化により、対象物に光学部をわずか数秒間当てるだけでスペクトルが測定できるという特長を有する。

## 3) 理化学成分、生菌数の測定

小麦粉、稲庭うどんの水分、たんぱく質、灰分、脂質、炭水化物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。小麦粉の平均粒度は、レーザー回折粒度測定装置 MICROTRAC HRA (Leeds & Northrup 社) を用いて測定した。生菌数は標準寒天培地法により測定した。

### 【結果と考察】

#### 1) 原料管理への適用

図1に麵用小麦粉10検体の近赤外原スペクトルと、正規標準化処理したスペクトルを示す。図2は、正規標準化処理したスペクトルに主成分分析を適用して得られた主成分スコア散布図である。ここでは、麵用小麦粉10検体(A-J)のスペクトルの違いが距離となって判別されているので、その位置関係により検体の類似度、非類似度を明らかにすることができる。近赤外スペクトルは検体である小麦粉の構成成分に依存して変化するが、それが今回の判別結果にどのように関与しているかを示したのが表1である。主成分1には、主として平均粒度、たんぱく質量が影響し、主成分2には主として炭水化物、たんぱく質、水分、脂質量が影響していることが示されている。我々は、主成分スコア散布図の解釈において、近赤外スペクトルと試料構成成分の化学構造の違いをさらに関連づけるために、波長寄与率スペクトルという指標を提案<sup>1</sup>している。図3の波長寄与率スペクトルから、主成分2に対して、でんぷん、水、たんぱく質、アミノ酸に帰属される波長領域の寄与が高いことが定量的に示された。これは表1を支持する結果でもある。

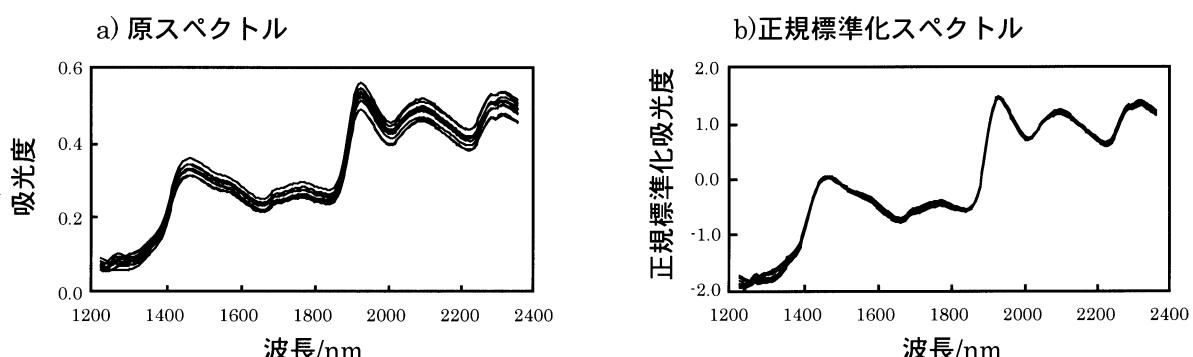


図1 麵用小麦粉10検体の近赤外スペクトル

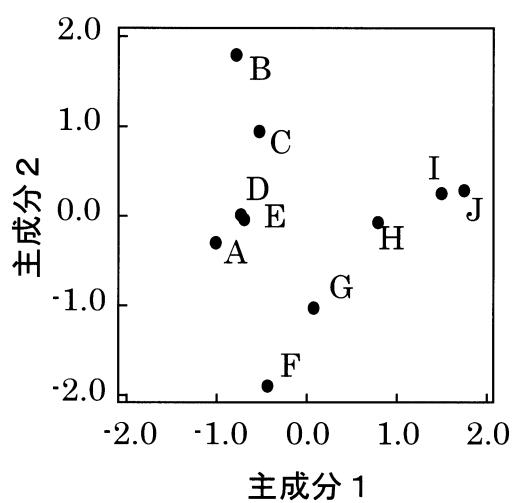


図2 麵用小麦粉10検体の判別結果  
(主成分スコア散布図)

表1 理化学分析項目と主成分の相関係数

理化学分析項目	主成分1	主成分2
水分	-0.186	-0.694
たんぱく質	0.478	-0.700
灰分	0.374	0.376
脂質	-0.066	-0.658
炭水化物	-0.345	0.825
平均粒度	0.544	-0.338

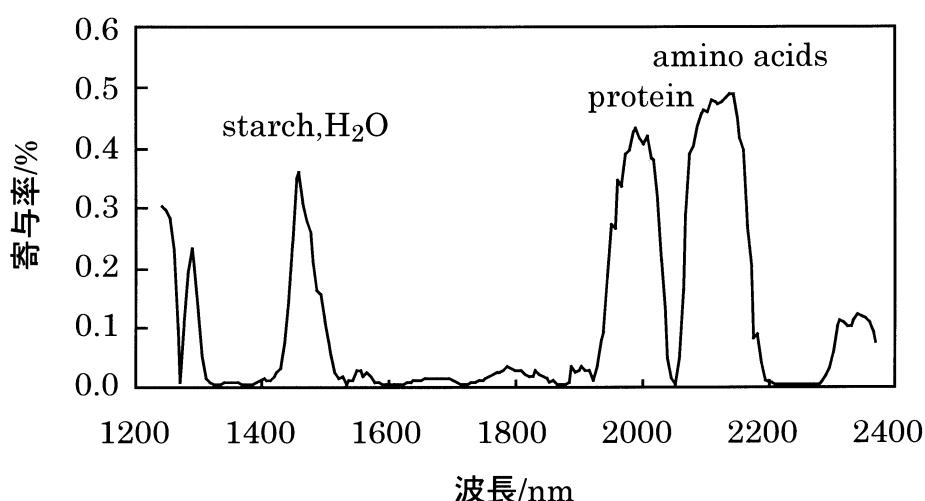


図3 主成分2の波長寄与率スペクトル

近赤外スペクトルを用いると、このような小麦粉の定性判別のみならず、水分、たんぱく質などといった複数の分析項目を1回の測定で精度よく定量することも可能である。理化学測定では、それぞれに専用の器具、機器、試薬等が必要であり、時間と専門知識も要するのに対して、近赤外分光法は現場で、誰でも、簡便にかつ迅速に測定できるという大きなメリットがある。

## 2) 工程管理への適用

一般に近赤外スペクトルのような分光スペクトルは、測定試料表面の物理特性の

影響を受けることが知られている。小麦粉の平均粒度が主成分 1 に影響していたことからも分かるように（表 1）、スペクトル測定試料表面は散乱光や迷光が生じないよう、できるだけ均一であるのが望ましい。しかしながら稲庭うどんは、メーカーごとに形状や色といった外観が少しずつ異なっているので、ここでは検体を粉碎して均一化した粉状の試料と、麺状のままの試料について近赤外スペクトルを測定し、両者を比較した。図 4 に、稲庭うどん 22 検体を粉末状にして測定した近赤外スペクトルを、図 5 には麺状のまま測定した近赤外スペクトルを示す。得られたそれぞれの近赤外スペクトルは正規標準化処理を行った後、PLS 回帰モデルにより成分の推定と予測精度の評価を行った。

その結果（表 2）、麺状のままで粉碎試料と同等の精度で稲庭うどんの一般成分を定量できることが明らかになった。特に、水分と灰分は精度良く分析できることが示された。図 6 は稲庭うどんの水分を予測する PLS 回帰分析の回帰係数を示したものであるが、1450 nm および 1940 nm の水 OH に帰属される波長の寄与が高いことが分かる。したがって、近赤外スペクトルによる水分の定量は水の化学構造に基づいたものであることが示された。稲庭うどんの一般成分のうち、たんぱく質、灰分、脂質、炭水化物は原料小麦粉に由来するものであり、工程管理項目として分析

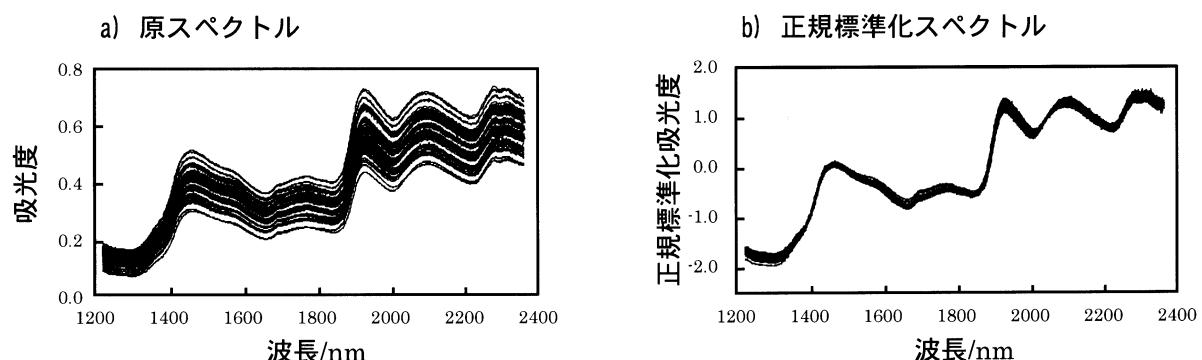


図 4 稲庭うどん（粉末）の近赤外スペクトル

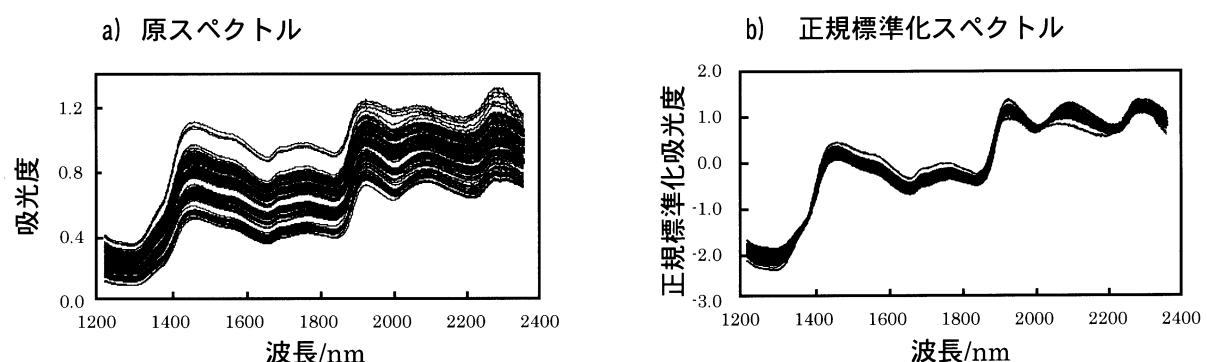


図 5 稲庭うどん（麺状）の近赤外スペクトル

値を求める必要性は少ない。しかしながら、水分は乾燥工程においてきわめて重要な管理項目である。さらに、稲庭うどんの灰分としての分析値は、副原料として添加された食塩含量を示すものであることから、灰分は配合組成通りの適正な食塩が添加されたことを確認するための重要な管理項目のひとつである。

このように近赤外分光法を用いることによって、稲庭うどんの製造工程をモニタリングすることが可能で、工程管理項目として水分と食塩含量を製造現場で非破壊的に、しかも数秒以内で測定することができる。なお、一般にこれらの項目の理化学分析には数時間かかる。

表2 PLS回帰分析による検量精度の評価

		Calibration		Validation	
		Factors	R <sup>2</sup>	SEC	SEP
麺状	水分	3	0.953	0.324	0.945
	たんぱく質	9	0.867	0.328	0.662
	灰分	9	0.933	0.230	0.804
	脂質	7	0.735	0.069	0.580
	炭水化物	9	0.893	0.406	0.698
粉末	水分	3	0.960	0.298	0.954
	たんぱく質	7	0.910	0.269	0.780
	灰分	7	0.908	0.271	0.798
	脂質	8	0.877	0.047	0.556
	炭水化物	6	0.923	0.343	0.863

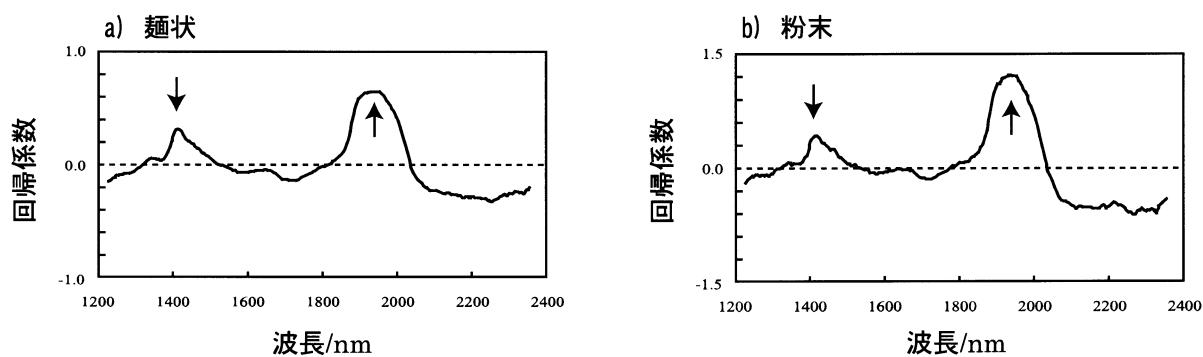


図6 水分のPLS回帰分析における回帰係数

### 3) 品質管理への適用

図7に示すように、稲庭うどんは製品中の水分が生菌数とほぼ比例することが分かった。これまで述べたように、近赤外分光法により稲庭うどん製品中の水分が非破壊で、簡便に測定できることが示されているので、水分を定量することにより製品中の生菌数を概算することができる。

稲庭うどんのような乾麺には規定がないが、食品衛生法に基づく“生めん”の衛生規範では、グラム当たりの生菌数は300万( $3.0 \times 10^6$ )cfu (colony forming unit : コロニー形成単位) 以下であることが求められている。したがって稲庭うどんの品質管理においても、大凡の目安として製品中の水分を12%以下にするのが望ましい、などの品質管理基準を設定できるのではないかと考えられる。

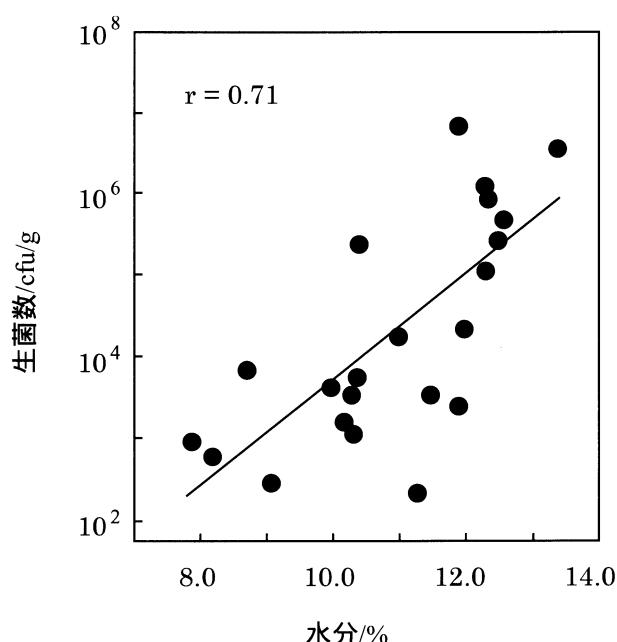


図7 稲庭うどん製品中の水分と生菌数との関係

さらに、近赤外スペクトルにより、小麦粉と同様に、稲庭うどんを製品別に判別することができた。図8に、正規標準化処理した近赤外スペクトルから得られた主成分スコア散布図による、メーカーの異なる稲庭うどん製品22検体の（No.1-22）の判別結果を示す。このような図は製品のポジショニング分析として利用できるため、マーケティングへの応用も可能である。

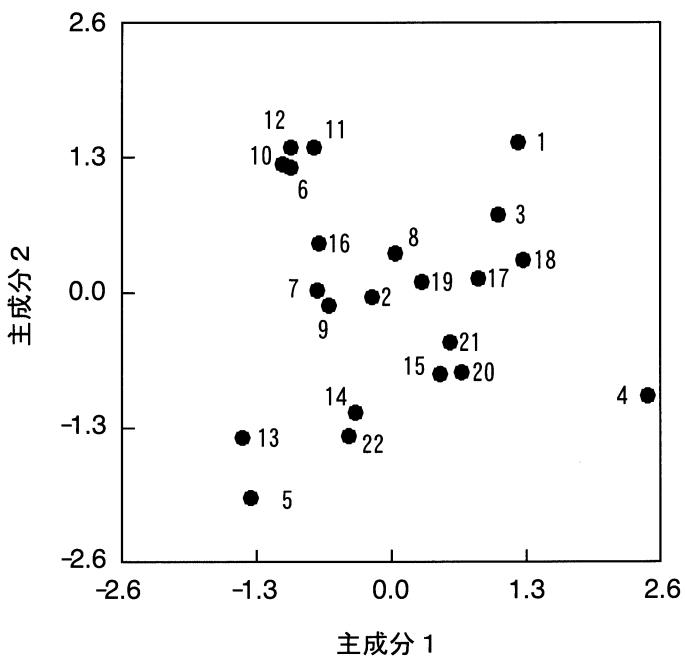


図8 稲庭うどん製品22検体の判別結果  
(主成分スコアプロット)

本稿では、我々のグループが行ってきた近赤外分光法に関する基礎研究の成果を産業界に広く還元するために、地場産業である稻庭うどん製造における原料管理、工程管理、品質管理に近赤外分光法が適用できる可能性があることを中心に述べた。

稻庭うどんの製造現場では、その日の気温や湿度、小麦粉の状態により加水量を微妙に調整するといった職人技が求められ、それが安定した品質を生み出している。

ここに示したように、近赤外分光法では光を当てるだけで、その場で、わずか数秒以内に、原料小麦粉や稻庭うどん製品中の水分などを誰でも簡単に数値で表すことができる。本法が伝統に支えられた稻庭うどんの製造において、その職人技のほんの一端でも、科学的な裏付けをもってそれをサポートし、稻庭うどんの品質のさらなる安定化と向上化に貢献できれば幸いである。

### 【文献】

- 1) M. Kumagai, K. Karube, T. Sato, N. Ohisa, T. Amano, R. Kikuchi, and N. Ogawa, *Anal. Sci.*, 18, 1145 (2002).
- 2) M. Kumagai, H. Suyama, T. Sato, T. Amano, and N. Ogawa, *J. Near Infrared Spectrosc.*, 10, 247 (2002).
- 3) M. Kumagai, H. Suyama, T. Sato, T. Amano, R. Kikuchi and N. Ogawa, *Int. J. Soc. Mater. Eng. Resour.*, 11, 5 (2003).
- 4) M. Kumagai, N. Ohisa, T. Amano, and N. Ogawa, *NIR 2003;Proceedings of the 10th International Conference*, in press.

# 温度感受性味噌酵母とその利用

高橋慶太郎、渡辺隆幸<sup>\*1)</sup>、秋山美展<sup>\*2)</sup>

(総合食品研究所生物機能部門、<sup>\*1)</sup>応用発酵部門、<sup>\*2)</sup>食品開発部門)

Keitaro TAKAHASHI, Takayuki WATANABE, and Yoshinori AKIYAMA

## 【要約】

味噌製品における残存酵母の再発酵による炭酸ガス発生を抑制するため、製品への影響が少ない穏和な処理により酵母を死滅させるシステムの構築とその実用化を検討した。穏和な処理方法としては、味噌の品質に影響の少ない50°C以下の中温加熱を選択し、加熱は短時間で均一な加温が可能なジュール加熱法を用いた。この中温加熱により死滅する酵母として、研究所保存味噌用酵母から環境ストレスに対する感受性の高い株を一次選抜し、一次選抜株から熱感受性の高い株を1株選抜した。この選抜株は生体保護効果の高いトレハロース蓄積が低く、このため熱感受性が高いと考えられた。また、本酵母はエチルアルコールに対しても一定の感受性を示した。選抜株の実用化を検討し、本酵母とジュール加熱システムとの組み合わせによる再発酵の無い味噌製造システムを構築し、その実用性を現場試験により確認した。

## 【緒言】

味噌製造においては発酵終了後も醸造用酵母が生存しているため、そのまま製品化すると残存酵母による炭酸ガス発生があり商品価値を著しく低下させる。そのため80°C以上の加熱による殺菌処理やエチルアルコール等の薬剤による静菌処理が行われている。しかしながら、前者は加熱により品質の劣化が激しく、また後者では添加薬剤による風味の変化や無添加味噌では利用できないなど問題が多い。近年、産業利用されている微生物においてはエネルギーの低減あるいは作業環境の改善を目的として各種のストレスに対し感受性の高い(低ストレス耐性)あるいは低い(高ストレス耐性)微生物の育種が盛んとなっている<sup>1-3)</sup>。

そこで、味噌醸造用酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* を対象として、味噌の品質への影響が殆どない中温(37-60°C)領域短時間処理により死滅する温度感受性自己消化株を取得し、この現象を物質レベルで解明するとともに、その実用化を目的とした。

## 【実験方法】

### 1. 供試菌株

秋田県内の味噌製造所より分離した当研究所保存味噌醸造用酵母 *Z. rouxii* 94株より感受性酵母の選抜を行った。供試酵母は醤油生揚げ培地；醤油生揚げ(全窒素1.7%、NaCl17%)10%、グルコース3.0%、酵母エキス0.25%、

リン酸一カリウム0.1%、NaCl5% (終濃度)で30℃・125rpm・3日間培養した菌体を冷5%NaClで2回遠心洗浄し使用した。洗浄菌体を105℃・16時間乾燥し、乾菌体量を求めた。また培養菌体を冷水で2回遠心洗浄した菌体より、湿菌体量を求めた。

## 2. ストレス感受性株の分離

96穴マイクロプレートに各供試酵母の50%懸濁液(w/w, 12% NaCl)を分注し、-10・-30・-50・-80℃で8日間冷凍し、37℃・5分間の解凍処理後、醤油生揚げ寒天培地(寒天1.75%)で30℃・3日間培養し、コロニー形成が観察されない株を冷凍ストレス感受性株とした。同様に2%エタノール溶液(12% NaCl)・15℃・8日間処理を行いエタノールストレス感受性株とした。またこの2種類の試験においてコロニー形成の最も良好な株を対照用のストレス非感受性株とした。さらに12% NaCl・4℃・8日間処理し、コロニー形成の良好な株を高保存性株とした。このようにして保存性の良いストレス感受性味噌用酵母を選抜した。選抜したストレス感受性味噌用酵母について、50%酵母懸濁液(12% NaCl)0.5mlを1.5ml容マイクロチューブに分注し、40℃・2時間及び45℃・2時間のヒートショックを加え、冷水で冷却後適宜5% NaClで希釈し醤油生揚げ寒天プレートで30℃・3日間培養した。出現したコロニーを計測し生菌数とした。また未熱処理の菌体についても生菌数を同様にして計測し、この両者より生存率を算出し生存率の低い株を温度感受性株とした。

## 3. 温度感受性試験

温度感受性株と非感受性株の50%懸濁液(12% NaCl)0.5mlを1.5ml容マイクロチューブに分注し、30～47℃・1時間処理を行い、生存率変化を比較した。また温度感受性株についてその50%懸濁液(12% NaCl)をブレンダーでペースト状にした無菌味噌に10<sup>6</sup>個／味噌1gになるように添加し、45～54℃の温浴中0～8時間熱処理を行い、味噌中の生存率変化を観察した。

## 4. エチルアルコール感受性試験

国内の味噌醸造で広く使用されている味噌用酵母2株とHS-2株を醤油生揚げ培地で8～72時間、30℃で培養した菌体を2%及び3%エチルアルコールに懸濁し、培養時間の違いによる、4℃又は30℃で2週間保存後のエチルアルコール耐性をプレート法による生存率で評価した。

## 5. 味噌加熱試験

温度感受性株及び非感受性株を添加した味噌300gを実験室用ジュール加熱装置(通電部；L80mm×D80mm×H40mm)を用い、50Hz・24～28V・10～16Aで50℃達温処理を行った。

## 6. 味噌分析

味噌の発酵ガス量は味噌300gを用いウォルフ変法<sup>4)</sup>により測定した。

その他の味噌の分析は基準みそ分析法<sup>5)</sup>に依った。

## 7. トレハロース含量・トレハラーゼ活性測定

温度感受性株及び非感受性株の前培養液 10 ml を醤油生揚げ培地 100 ml に接種し、0～7 日間培養した菌体を遠心集菌後、冷 5% NaCl で 3 回遠心洗浄した。集菌した菌体に 15% (v/v) 濃度になるように TCA 溶液を加え、37°C・30 分処理後の遠心上清を HPLC (カラム; Shodex Asahipac NH2P-50) により定量した。また、集菌した菌体について Mittenbuhler らの方法により<sup>6)</sup> 酸性トレハラーゼ活性を、また App らの方法により<sup>7)</sup> 中性トレハラーゼ活性を測定した。

## 8. 工場試験

醤油生揚げ培地で培養した温度感受性株を 10<sup>6</sup> 個／味噌 1 g になるように添加し、2 種類の原料配合で合計 15 トンの仕込みを行った。そして通常の味噌と同様の管理で室温で 6 ヶ月間発酵熟成を行った。さらに熟成後の味噌について一バッチ 20 kg のジュール加熱 (4 → 60°C, 15 ~ 17 分) を行い、自然冷却した味噌について発酵ガス発生量・生菌数・色度を経時的に測定した。

## 【結果】

### 1. 温度感受性株の分離

当研究所保存味噌醸造用酵母 *Z. rouxii* 94 株よりストレス感受性味噌用酵母 7 株を選抜した。また、対照用のストレス非感受性株 1 株を取得した。これらの 7 株について 40°C・2 時間及び 45°C・2 時間のヒートショックを加えて、その生存率が 40°C で 10% 以下で 45°C で 0.4% 以下の温度感受性株 4 株を取得した。さらに香気生成・増殖速度より実用性の高い 2 株 (Heat-shock Sensitive Strain — 1,2 ; HS-1,2) を選抜した。また一次スクリーニングで選抜したストレス非感受性株は熱に対しても生存率が 40°C で 90%、45°C で 8% と感受性が低いことが確認されたので、対照用の温度非感受性株 (Heat-shock Non-Sensitive Strain ; HNS) として用いることとした。

### 2. 選抜株の温度感受性

NaCl 溶液中で HS-1, 2 株について 30～47°C・1 時間処理での生存率より温度感受性を比較したところ、HS-1 株

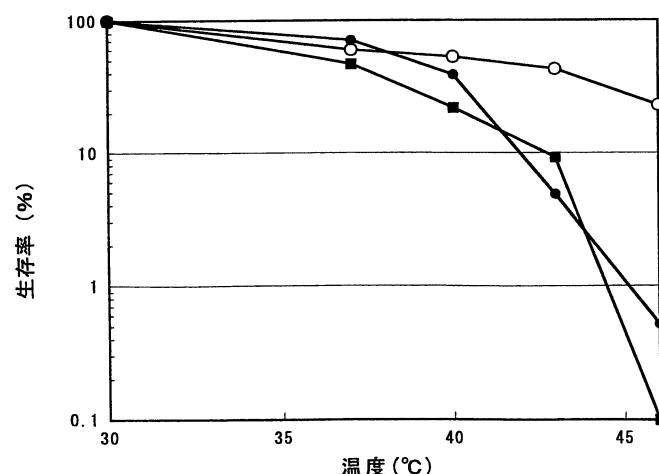


図 1. 選抜した味噌酵母を 1 時間熱処理した際の生存率変化  
O; HNS 株, ●; HS-1 株, ■; HS-2 株

$$\text{生存率 (\%)} = \frac{\text{熱処理した際の生菌数}}{\text{未処理での生菌数}} \times 100$$

よりHS-2株がより温度感受性が高いことが観察された(図1)。HS-2株について実際の味噌中の加熱温度・時間による生存率の変化を詳しく調べたところ(図2)、45～54℃の加熱により生存率はほぼ直線的に低下し、また50℃以上で生存率は急激に低下し、温度感受性が著しく増大することが味噌中でも確認された。

### 3. 選抜株のエチルアルコール感受性

供試3株の2%エチルアルコール、4℃での生存率を図3に示した。市販酵母Aは培養時間が長い菌体程アルコール耐性が高まり、72時間培養菌体では6%の生存率を示したが、HS-2株は培養時間にかかわらず生存率は約0.1%であった。一方、市販酵母Bは対数増殖期に当たる16時間及び24時間培養菌体で特異的に感受性が高くなることが観察された。

### 4. 味噌加熱試験

実験室用ジュール加熱装置で温度感受性株及び非感受性株を添加した味噌300gを50℃達温処理を行った。加熱に要した時間は2分46秒～3分34秒であった。加熱処理味噌と未処理味噌を30℃で保存し経時に生菌数と生成発酵ガス量を測定したところ、加熱処理直後は生存している酵母が観察されたが4日目では生菌数は0となった。一方、未処理味噌では保存6日目まで100～1000倍に生菌数は増加したが以後30日目まで初発の1/10に減少した。生成ガス量は熱処理味噌では生成が全く観察されなかつたが、無処理味噌では4日目よりその生成が確認された。その後16日目まで継続してガス生成が観察されたが、それ以降30日目までは生成は観察されなかつた。

### 5. トレハロース含量・トレハラーゼ活性

*Saccharomyces cerevisiae*では細胞内に存在するトレハロースは熱ストレスより細胞を保護する物質と考えられているが<sup>8)</sup>、図1で観察されたNHS, HS

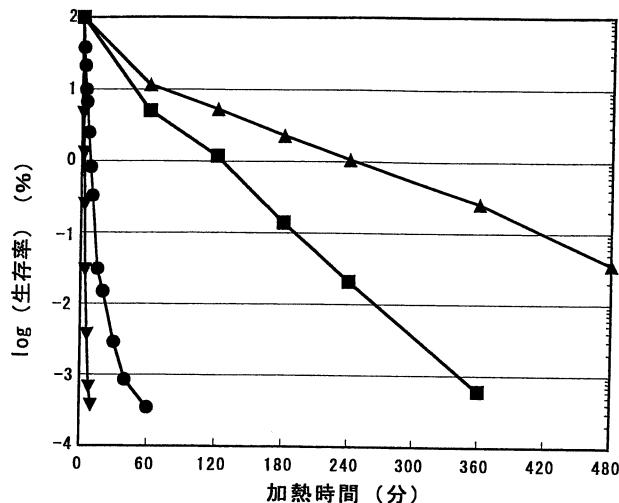


図2. 味噌中でHS-2株を加熱した際の生存率変化

▲: 45℃, ■: 48℃, ●: 52℃, ▼: 54℃

$$\text{生存率} (\%) = \frac{\text{熱処理した際の生菌数}}{\text{未処理での生菌数}} \times 100$$

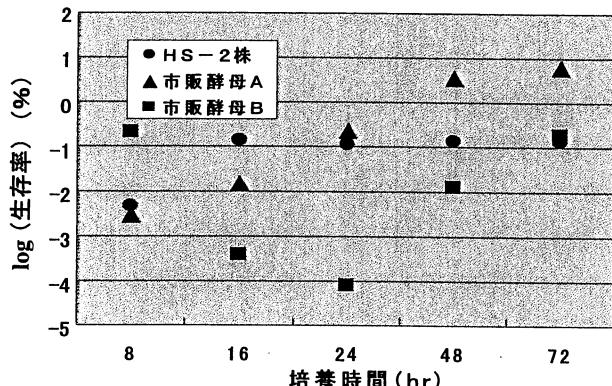


図3. エチルアルコール感受性

- 1, 2 株の熱感受性にトレハロース代謝系が関与しているかを検討した。この 3 株を醤油生揚げ培地で一週間培養し経時的に観察したところ、図 4 a に示したように熱感受性が高いほど菌体内のトレハロース蓄積が少ないことが観察された。また、このトレハロース蓄積の差は通常の酵母培養期間(1 ~ 3 日間)ではその増殖に影響を与えないと考えられた(図 4 b)。また図 4 a に見られたように、熱感受性の H S - 1, 2 株では蓄積したトレハロースが定常期以降減少したのに対して非感受性の N H S 株では減少が観察されず、この差がトレハロース合成系の差があるあるいは分解系の差かを明らかにするため、これら 3 株の菌体内のトレハロース分解酵素であるトレハラーゼの活性を測定した。*S. cerevisiae* での知見を基に酸性(pH 4.5)及び中性付近(pH 7.2)の二つの pH で細胞内トレハラーゼ活性の経時的な変動を測定した。その結果酸性トレハラーゼは培養 1 日目で N H S は H S - 1 株の 2 倍、H S - 2 株の 3 倍高活性であったが、その他の期間は 3 株間に大きな差は観察されなかつたが(図 5 a)、通常のパン酵母と比較して 2 ~ 3 倍高い酸性トレハラーゼ活性を示した。また中性トレハラーゼは 3 株間に大きな差が観察されたが、その活性は酸性トレハラーゼの 1 / 500 に過ぎなかつた(図 5 b)。

## 6. 工場試験

最も熱感受性が高く、また培養後期の細胞内トレハロース蓄積が少なく、かつ味噌釀造用酵母としての良好な香気形成のある H S - 2 株を用いて、9 3 及び 7 9 % 麸の原料配合で 15 トン規模の醸造・熱処理を行つたところ、表に示したように二種類の味噌とも 50 °C 処理では残存する酵母は 50 % 以上であったが 60 °C 処理では 0.3 % 以下まで低下した。また、加熱による色度(Y%)の変化は加熱直後は 9 3 % 麸配合で 0.7 ~ 1.1、7 9 % 麸配合で 1.0 ~ 1.4 濃化したが、さらに 30 °C で一ヶ月間保存したところ未処理味噌と比較して 0.1 ~ 0.8 の濃化に留まつた。さらに、40 ~ 60 °C で加熱処理した味噌を市販品と同様の包装をして、30 °C で一ヶ月間保存しガス発生を比較したところ、図 6 に示したように両方の配合の味噌とも加熱温度が高くなるに

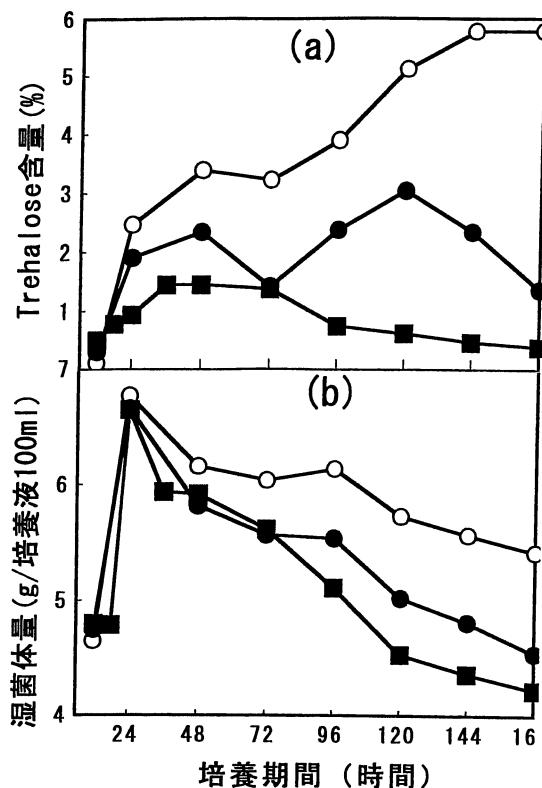


図 4. 選抜酵母 3 株の醤油生揚げ培地での  
トレハロース含量変化と増殖の比較  
○; HNS 株, ●; HS-1 株, ■; HS-2 株

従いガス発生量は低下し  
55°C以上では完全に抑制  
されることが観察された。

### 【考察】

短時間で均一な加温が可能なジュール加熱システムによる味噌の加温で、品質への影響が少ない温度帯（50°C以下）で死滅する酵母を研究所保存株より選抜した。選抜した温度感受性自己消化味噌酵母HS-2株は、トレハロースの菌体内蓄積が低く、*Z. rouxii*においても*S. cerevisiae*同様トレハロースが熱ストレスからの生体保護に関与していることが示唆された。また、トレハロースを分解する酵素であるトレハラーゼは、*S. cerevisiae*では酸性トレハラーゼ（至適pH 4.5）・中性トレハラーゼ（至適pH 7.2）の二種類のトレハラーゼの存在が知られているが、HS-2株の中性トレハラーゼ活性は酸性トレハラーゼ活性と比較して非常に低いことから、酸性トレハラーゼの中性付近の活性を示しているのではないかと推察され、*Z. rouxii*では*S. cerevisiae*と異なりトレハラーゼは酸性トレハラーゼしか保持していないものと考えられた。*S. cerevisiae*において菌体内のトレハロース分解は中性トレハラーゼにより分解されることが明らかとなっている<sup>2)</sup>。これらのことより図4aに示した3株間で培

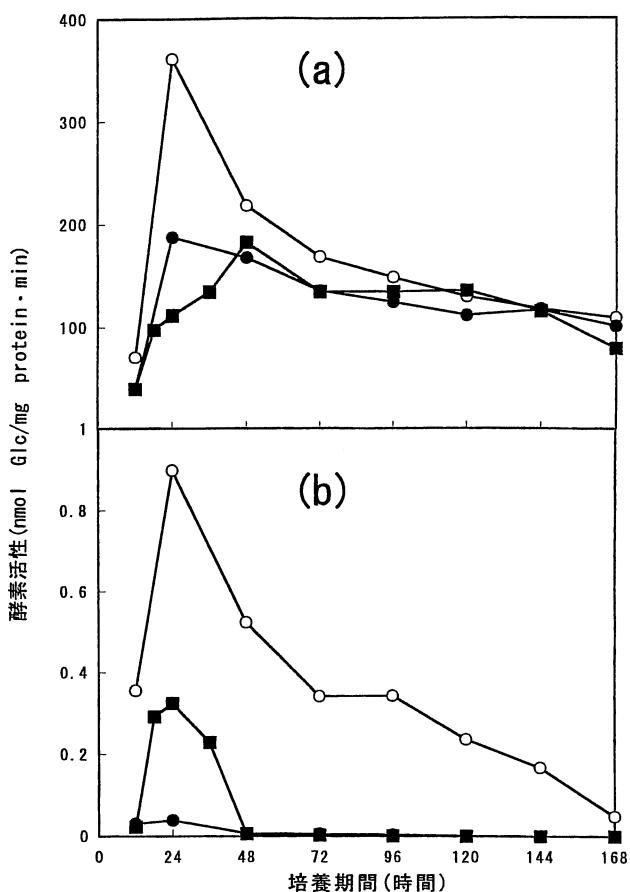


図5. 醤油生揚げ培地中での選抜した3株のトレハラーゼ活性の経時変化  
a:酸性トレハラーゼ(pH 4.5), b:中性トレハラーゼ(pH 7.2)  
○:HNS株, ●:HS-1株, ■:HS-2株

表 HS-2株を使用した工場醸造味噌の熱処理による特性変化

	酵母生存率(%)			色度変化(Y%)		
	未処理 50°C 60°C			処理直後/30°C, 30日間保存後		
	未処理	50°C	60°C	未処理	50°C	60°C
味噌A (93%麹)	100	53.6	0.28	13.4/8.0	12.7/7.8	12.3/7.4
味噌B (79%麹)	100	62.9	0.13	16.1/8.6	15.1/8.5	14.7/7.8

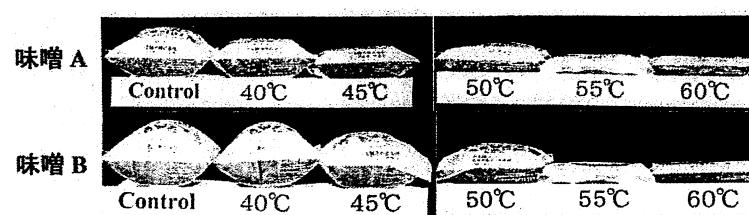


図6. HS-2株を使用した工場醸造味噌の熱処理による充填後の  
ガス生成量の比較 味噌A;93%麹, 味噌B;79%麹

養後期に細胞内トレハロースの蓄積に差が大きいのはトレハロースの分解系ではなく合成系の差異によるものと推察された。

H S - 2 株とジュール加熱装置を組合せたシステム実用化のための 15 トン規模の工場試験では、味噌品質への影響も少なくその有効性が確認された。これら知見を基礎として、製品味噌の再発酵によるガス生成抑制のため、通常のように発酵熟成を行い熟成終了後に中温(37-60°C)領域短時間処理する無添加で味噌の品質への影響が少ない新規なシステムを開発した<sup>9)</sup>。また、図5、表1の結果を考慮すると生きている酵母が未処理味噌の 0.3% (5 × 10<sup>2</sup>/味噌 1 g)以上存在してもガス発生は外観上無視できる量であると考えられ、生きた酵母が含まれる無添加生味噌への利用も可能であると考えられた。

さらに、H S - 2 株はエチルアルコール感受性が菌体フェーズにかかわらず 0.1% と一定の生存率であることは、ジュール加熱装置が使用出来ない場合でも本酵母は従来のエチルアルコール添加で安定的に再発酵が抑制可能であることを示しており、味噌醸造において有用な酵母であると思われる。

### 【参考文献】

- 1 ) A. Hino, H. Takano, and Y. Tanaka ; *Cereal Chem.*, **64**, 269-275 (1987)
- 2 ) J.Kim,P.Alizadeh,T.Harding,A.Hefner-Gravink, and D.Klionsky ; *Appl.Environ.Microbiol.*, **62**, 1563-1569 (1996)
- 3 ) J.Shima,A.Hino,C.Yamada-Iyo,Y.Suzuki,R.Nakajima,H.Watanabe,K.Mori, and H.Takano ; *Appl.Environ. Microbiol.*, **65**, 2841-2846 (1999)
- 4 ) パン用酵母試験法(日本イースト工業会編)、5-7(1991)
- 5 ) みそ技術ハンドブック(全国みそ技術会編)、32,62(1995)
- 6 ) K. Mittenbuhler, and H. Holzer ; *J. Biol. Chem.*, **263**, 8537-8543 (1988)
- 7 ) H. App, and H. Holzer ; *J. Biol. Chem.*, **264**, 17583-17588 (1989)
- 8 ) S. Nwaka, and H. Holzer ; *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **58**, 197-237 (1998)
- 9 ) 小玉醸造株式会社、秋田県 ; 特願平 11-49250 (1999)

# 新しい吟醸酒用自動製麹機の開発と吟醸酒の醸造試験

田口隆信、高橋仁、渡辺誠衛、新野葉子、中田健美、立花忠則、斎藤久一  
(秋田県総合食品研究所 酒類部門)

Takanobu TAGUCHI, Hitoshi TAKAHASHI, Seiei WATANABE  
Yoko NIINO, Takemi NAKATA, Tadanori TATIBANA, Kyuichi SAITO

## 【要 約】

現在、吟醸酒用の麹は麹蓋などを使用した製造法が主流であるが、麹の品質が安定せず製造労力もかかるため、新しい自動製麹機の開発が望まれている。また、吟醸酒用の麹は非常に高度な品質を求められるため、製麹中の蒸米の水分管理が重要となる。従って、新しい自動製麹機の開発には製麹中の蒸米水分の調整機能も備える必要がある。

本研究では、蒸米水分の調整機能を有する新しい方式の自動製麹機を開発した。自動製麹機で製造した麹の酵素バランスは良好で、それで仕込んだ吟醸酒の品質も麹蓋法による麹で仕込んだ吟醸酒より良好な結果を得た。

## 【緒 言】

香味のバランスのとれた吟醸酒を製造するためには、酵素バランスの良い優良な吟醸麹を造ることが必須条件である。しかし、従来の麹蓋法で吟醸麹を造るためには、麹室の環境や杜氏の熟練した技術、夜間の温度管理等様々な条件を整える必要がある。また、麹蓋法による麹造りにおいては、製麹後半の麹の乾燥操作も非常に難しく、麹蓋の違いによる麹の品質のばらつきも大きい。しかしながら、現在自動製麹機<sup>1)2)3)4)</sup>の中で製麹後半に蒸米を強制的に乾燥できる製麹機は市販されていない。

そこで、製麹後半の麹の乾燥が容易に制御でき、しかも酵素バランスの良い麹を製造することのできる盛り込みから出麹まで全自動の吟醸酒用製麹機の開発を行なった。

## 【実験方法】

### 1. 麹の酵素力価への蒸米吸水率の影響

精米歩合40%の「山田錦」の蒸米を原料とし、麹蓋を使用して製麹中の蒸米吸水率を変えた製麹試験を行ない、出麹した麹中の酵素力価( $\alpha$ -アミラーゼ、グルコアミラーゼ)への影響について検討した。

## 2. 新しい自動製麹機の開発

### 1) 麹製造用容器の検討

蒸米の盛り込み操作や手入れ乾燥操作及び麹の出麹操作の自動化に適した麹の製造容器の材質及び形状について検討した。

### 2) 蒸米の手入れ乾燥装置の検討

前述の麹製造用容器に盛り込んだ蒸米を容器の中で搅拌手入れ及び乾燥操作が容易にしかも効率的にできるような装置の方式を検討した。

### 3) 麹の出麹装置の検討

製造が完了した麹を麹製造用容器の中から自動で取り出すことのできる出麹の方式及び出麹装置について検討した。

### 4) 自動製麹機の全体構造の検討

前述の麹製造用容器、蒸米の手入れ乾燥装置及び麹の出麹装置を組み込んだ自動製麹機の全体構造について検討した。

## 3. 自動製麹機による吟醸麹の製造試験

### 1) 供試試料

精米歩合 40%の秋田県産酒造好適米「吟の精」の白米を原料として自動製麹機に盛り込み、吟醸麹の製造試験を行なった。

### 2) 吟醸麹の酵素力価及び麹菌体量の分析

自動製麹機で製造した吟醸麹の酵素力価をキッコーマン社製の糖化力測定キット及び $\alpha$ アミラーゼ測定キットを使用して分析した。麹の菌体量は同社の麹菌量測定キットを使用して分析した。

## 4. 吟醸酒の製造試験

### 1) 供試原料米及び仕込み総米

精米歩合 40%の秋田県産酒造好適米「吟の精」の白米を使用して、仕込み総米 100kg で吟醸酒の製造試験を行なった。

### 2) 供試吟醸麹

従来の蓋麹法で製造した麹を対照麹として使用し、自動製麹機で製造した麹を試験麹として吟醸酒の醸造試験に供した。

### 3) 吟醸もろみ及び吟醸酒の分析

吟醸もろみ及び吟醸酒のボーメ、アルコール度数、酸度及びアミノ酸度は所定分析法<sup>5)</sup>グルコースは和光純薬工業株製グルコース B テストワコー、香気成分はヘッドスペース法<sup>6)</sup>により分析した。

## 【結果】

### 1. 麹の酵素力価への蒸米吸水率の影響

蒸米の吸水率が 34.7% の時に種麹を白米 100kg 当たり 5g 敷布して麹の製造を開始し、製麹途中で蒸米の吸水率を調整しながら製造した麹試料 NO1～NO4 の蒸米吸水率と酵素力価を表 1 に示した。この結果から、製麹中の蒸米吸水率を調整することにより、麹中の酵素力価をコントロールすることが可能であることが示唆された。

表 1 蒸米吸水率の異なる麹の酵素力価

試料 NO	種麹散布時 蒸米吸水率%	出麹時の 蒸米吸水率%	$\alpha$ アミラーゼ (u/麹 g)	グルコアミラーゼ (u/麹 g)
1	34.7	16.0	755	262
2	34.7	14.8	687	231
3	34.7	14.4	590	215
4	34.7	11.2	490	170

### 2. 新しい自動製麹機の開発

#### 1) 麹製造用容器の検討結果

蒸米の盛り込み操作や手入れ乾燥操作及び麹の自動出麹操作がスムーズにできるような麹の製造容器の材質及び形状について検討した。その結果、材質はステンレス網製とし、形状は図.1 に示したとおり半円柱形とし、1 容器当たり白米 6kg の麹を製造できる大きさの容器が最適と判断した。

単位 (mm)

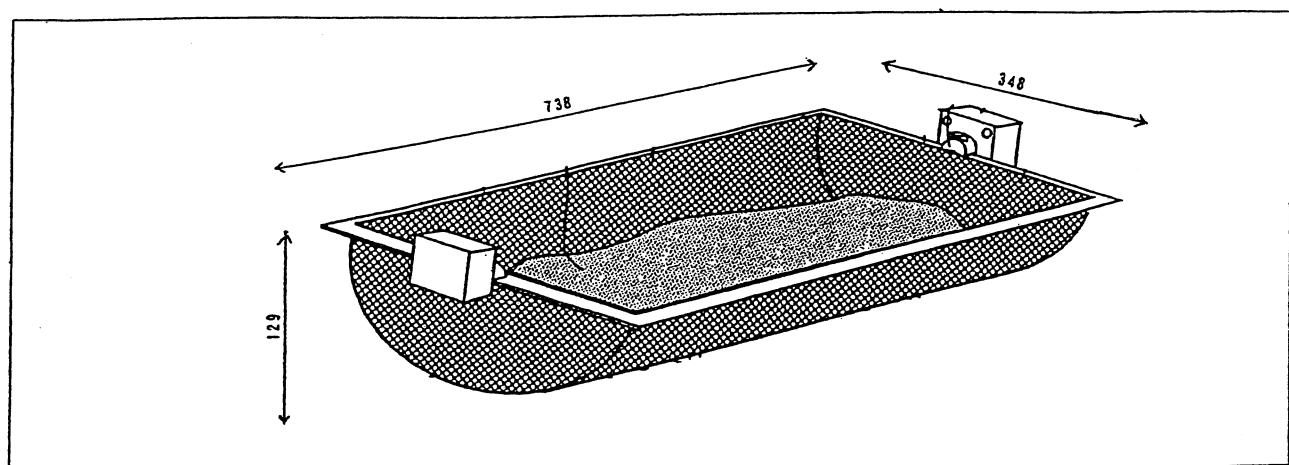


図.1 麹製造用ステンレス網製容器の模式図

## 2) 蒸米の手入れ乾燥装置の検討結果

麹製造用容器に盛り込んだ蒸米を容器の中で攪拌手入れ及び乾燥操作が容易にしかも効率的にできるような装置の方式を検討した結果、手入れ攪拌装置は図.2に示したとおり回転式のステンレス棒により麹の攪拌が可能であった。また、蒸米の乾燥装置も図.2に示したとおり、麹製造用容器下方から加圧エアー(6~8kgf/cm<sup>2</sup>)を噴射する移動式乾燥装置を考案し、乾燥を進めることができた。

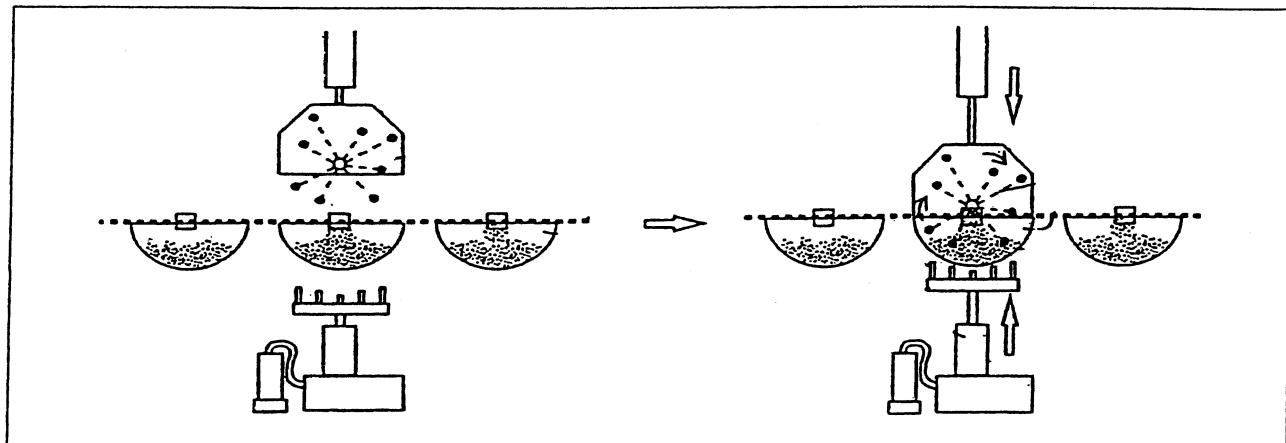


図.2 蒸米の手入れ攪拌装置及び乾燥装置の模式図

## 3) 麹の出麹装置の検討結果

製造が完了した麹を麹製造容器の中から自動的に取り出すことのできる出麹の方式及び出麹装置について検討した結果、図.3に示した半円柱形の麹製造用容器を反転させて麹を取り出す方式が最良と判断し装置を設計、作製した。

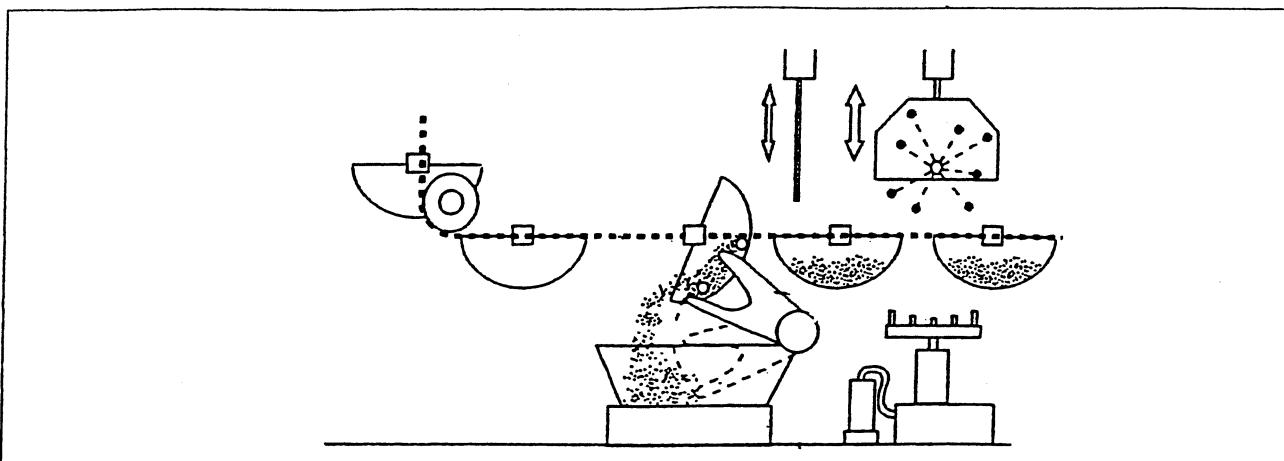


図.3 麹の出麹装置の模式図

## 4) 自動製麹機の全体構造の検討結果

蒸米の盛り込み装置、麹製造用容器、蒸米の手入れ乾燥装置及び麹の出麹装置を組み込んだ自動製麹機の全体構造について検討した結果、図.4に示した麹製造容器が循環移動する方式を採用し、およそ 100kg の白米を麹にできる能力を有する自動製麹機を考案、作製した。

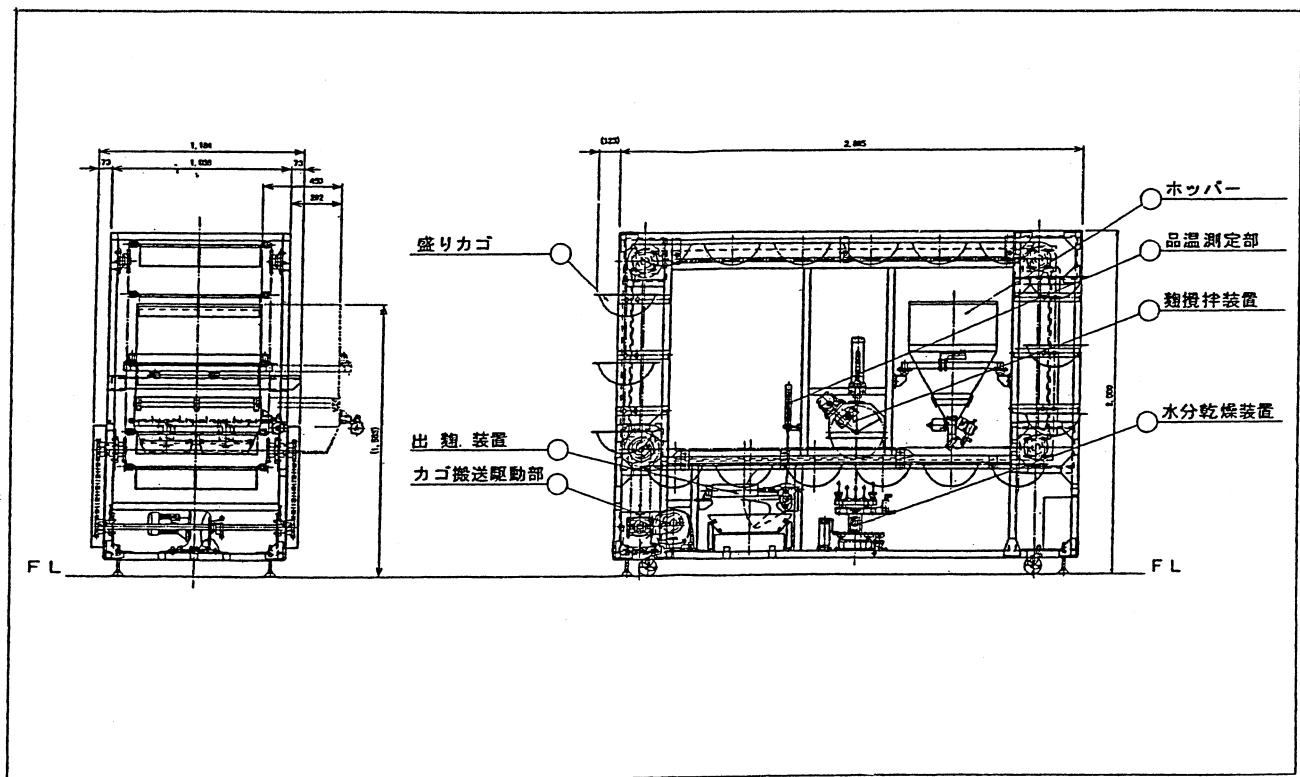


図.4 自動製麹機の全体構造図

### 3. 自動製麹機による吟醸麹の製造試験

#### 1) 自動製麹機による麹の製造結果

白米 100kg 当たり種麹 20g 使用し、種麹散布後 22 時間で自動製麹機に盛り込んだ。製麹中の麹の温度経過を図.5 に示した。出麹までの時間は 69 時間で出麹歩合は 11.2% であった。対照麹とした蓋麹法による麹の出麹時間及び出麹歩合はそれぞれ、69 時間、17.8% であった。この結果から、自動製麹機中の手入れ搅拌乾燥装置により製麹中の蒸米の乾燥を進めることができることが確認された。

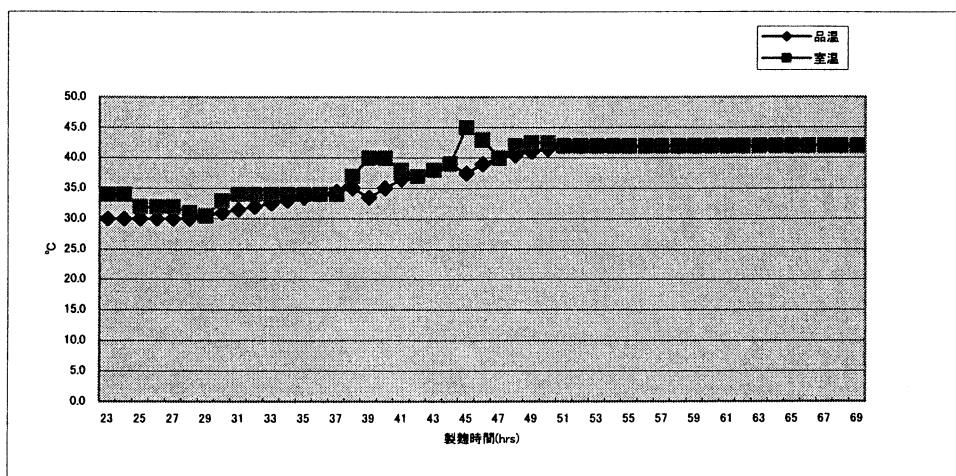


図.5 麹の温度経過

## 2) 吟醸麹の酵素力価及び麹菌体量の分析

自動製麹機及び蓋麹法で製造した吟醸麹のグルコアミラーゼ活性、 $\alpha$ アミラーゼ活性及び麹の菌体量を表.2に示した。対照とした蓋麹法による麹に比較して自動製麹機による麹は、麹の菌体量が少なく、 $\alpha$ アミラーゼ活性に対してグルコアミラーゼ活性の比が高いことや、 $\alpha$ アミラーゼ活性が高すぎないことなど吟醸麹として良好な条件を備えていた。

表.2 吟醸麹の酵素力価と菌体量

成分名	(単位)	蓋麹	機械麹
製麹時間	(hrs)	69	69
出麹歩合	(%)	17.8	11.2
$\alpha$ アミラーゼ( $\alpha$ )	(u/麹 g)	633	523
グルコアミラーゼ(G)	(u/麹 g)	209	207
G/ $\alpha$ 比		0.33	0.40
菌体量(mg/麹 g)	(mg/麹 g)	4.1	3.6

## 4. 吟醸酒の醸造試験

### 1) 吟醸もろみ及び吟醸酒の比較

もろみ管理に一般的に使われているボーメに醪日数を乗じた値であるBMD曲線を図.6に示した。自動製麹機で製造した麹で仕込んだもろみ(以下試験もろみと呼ぶ)は蓋麹法で製造した麹で仕込んだもろみ(以下対照もろみと呼ぶ)に比べて、アルコール添加前の日本酒度がやや高かったもののBMD曲線ではほとんど差がみられなかった。

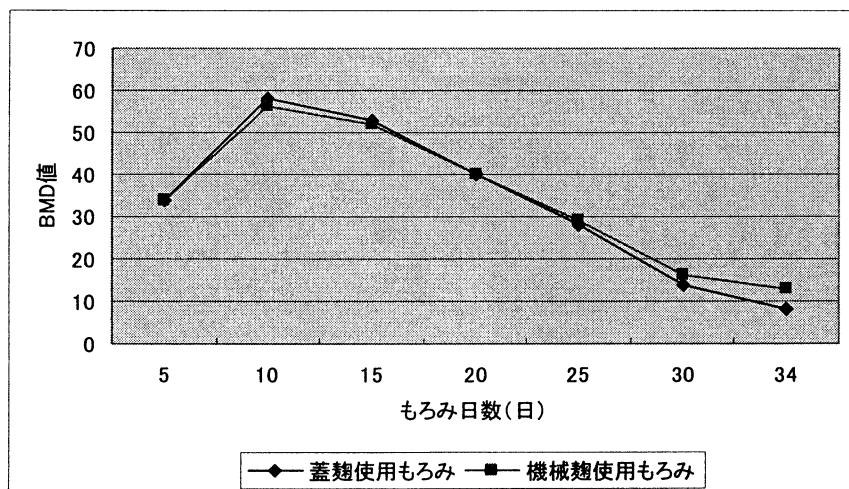


図.6 吟醸もろみのBMD曲線

アルコール添加前の成分は表.3に示したが、アルコール度数、酸度、アミノ酸度及びグルコースではほとんどの差がみられなかった。しかし、吟醸酒の主要な香気成分であるカプロン酸エチルは試験もろみの方がやや高かった。さらに、パネル7人による上槽後の製成酒のきき酒結果では、試験吟醸酒の方がやや評価が高く、短評も「含み香良、味きれい、なめらか」という評価を得た。

表.3 アル添前のもろみ成分及びきき酒結果

成分名	(単位)	蓋麹使用	機械麹使用
日本酒度		-2.2	-3.9
アルコール度数	(v/v%)	16.6	16.5
酸 度		1.2	1.2
アミノ酸度		1.4	1.4
グルコース	(g%)	1.1	1.1
酢酸イソアミル	(ppm)	6.3	6.3
カプロン酸エチル	(ppm)	5.3	6.2
きき酒評点 (良い1～5悪い) (パネル7人)		3.42	2.57

## 【考 察】

現在、吟醸麹は従来から使われている麹蓋などによる、労力のかかる製造法が主流となっているが、吟醸麹の品質の安定と労力の削減のために自動製麹機の開発が望まれている。また、香味のバランスのとれた吟醸酒を製造するためには、酵素バランスの良い優良な吟醸麹を造ることが求められる。そのためには、麹製造工程の後半に蒸米を乾燥させる操作が必要となる。しかしながら、現在自動製麹機の中で製麹工程後半に強制的に蒸米の乾燥を図ることのできる製麹機は市販されていない。

そこで、製麹工程後半に麹の乾燥が容易に制御でき、しかも酵素バランスの良い麹を製造することのできる新しい自動製麹機の開発を行なった。開発した蒸米の手入れ乾燥装置で実際に吟醸麹の製造試験を行なったところ、酵素バランスが良く適度に乾燥の進んだ吟醸麹を得ることができ、当初の目的を充分に達成した結果が得られた。

さらに、本自動製麹機で製造した麹で仕込んだ吟醸酒の醸造試験の結果、従来法の蓋麹法で製造された麹で仕込んだ吟醸酒と比較して、良好なきき酒結果が得られ、本自動製麹機の吟醸麹の製麹の優秀性が証明されたものと考えられる。

## 【謝 辞】

本自動製麹機を開発するにあたり、麹室の温度と湿度を自動で制御するプログラムをご提供いただいた菱農エンジニアリング㈱と開発当初からご協力いただいた銘醸機械(㈱)に深謝いたします。

## 【文 献】

- 1) 佐藤貞義、外 2 名：特開 H5-7486
- 2) 綾秀雄：特開 H8-131152
- 3) 河村傳兵衛、外 3 名：特開 H10-42859
- 4) 藤原章夫、外 2 名：特開 H9-24646
- 5) 第三回改正国税庁所定分析法注解：日本醸造協会発行(1974)
- 6) 吉澤淑：日本醸造協会誌、68, 59-61 (1973)

## 2. 原著論文（研究ノート）

「加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響」 ······ 41  
高橋徹、三浦靖、小林昭一

# 加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響

高橋徹, 三浦靖\*, 小林昭一\*

(秋田県総合食品研究所食品開発部門, \*岩手大学農学部農業生命科学科)

Toru TAKAHASHI, Makoto MIURA, and Shoichi KOBAYASHI

## 【緒言】

米の利用拡大に資するために米粉の食品加工分野への積極的な利用が望まれている。米粉や米デンプンは糊化過程での粘度変化が大きく、これらの調理・加工適性が他の穀粉よりも劣るとされている。そこで、米粉の加熱処理による糊液の物性改良を試みてきた<sup>1, 2)</sup>。本報では加熱処理が米粉の糊化特性に与える影響を動的粘弾性測定から解明することを目的とした。

## 【実験方法】

試料米には1998年秋田県産ウルチ米（あきたこまち）を用いた。精米歩留り90%で搗精した米粒を粉碎して無処理米粉（UTR）を得た。また、米粒を送風定温乾燥器（DN600, ヤマト科学株）にて160°Cで60分間の乾熱処理の後に粉碎して乾熱処理米粉（HDR）を得た。さらに、オートクレーブ（SS-320, 株トミー精工）にて120°Cで60分間の処理後に粉碎して湿熱処理米粉（HMR）を得た。

応力制御型レオメータ（RS50, Gebr. HAAKE GmbH社）に平板治具（直径35mm）を装着し、10%（w/w, 乾物重量）米粉懸濁液の糊化過程における動的粘弾性を測定した。測定中の試料の乾燥を防ぐため、シリコンオイル（KF96, 信越化学株）を外周部に塗布した。角周波数6.28 rad/sで30°Cから毎分2°Cで95°Cまで加熱したときの貯蔵弾性率（G'），損失弾性率（G''）および力学的損失正接（ $\tan\delta = G''/G'$ ）を測定した。なお、測定中は95°Cにおける線形領域内の応力（0.8 Pa）を印加した。得られた動的粘弾性曲線からG'が上昇を開始する温度を糊化温度（T<sub>G'</sub>），加熱時最高貯蔵弾性率（G'<sub>p</sub>），95°Cにおける貯蔵弾性率（G'<sub>95</sub>），およびG'<sub>95</sub>とG'<sub>p</sub>の差をブレイクダウン（G'<sub>BD</sub>）とそれぞれ定義し、動的粘弾性測定における糊化特性値とした。

## 【結果と考察】

UTR, HDRおよびHMRの糊化過程におけるG'を図1に示した。また、糊化特性値を表1に示した。T<sub>G'</sub>は、UTRが約64°Cであったが、HDRはUTRと比較して2°C程度上昇し、HMRは約16°C上昇した。一方、G'<sub>p</sub>はUTRが約1.4kPaと最も高かったが、HDRおよびHMRはUTRよりも大きく減少した。G'<sub>95</sub>はUTRとHMRに差が見られず、これらはHDRよりも

低い値を示した。

$G'$ は最大値を示した後に下降するが、HMR にこの現象は見られず、緩やかに上昇した。 $G'_{\text{p}}$  と  $G'_{\text{BD}}$  は  $G'_{95}$  と同様の傾向を示し、加熱処理温度の上昇に従って  $G'_{\text{BD}}$  も減少したが、HMR は 95°C でも  $G'$  が低下しなかったため、唯一ブレイクダウンを示さなかった。

デンプンの糊化過程における動的粘弾性測定は、分散系の内部構造などの推察に適した手法とされているが、米粉の糊化過程における糊化特性値の変化を次のようにまとめた<sup>3)</sup>。すなわち、温度上昇にともないデンプン粒（米粉）が膨潤し、これらの体積分率の増加によって粒同士が接触し、 $G'$ が増加を開始する。これは  $T_{G'}$  に相当する。続いて、デンプン粒から溶出したアミロースやアミロペクチンあるいはこれらを介した粒子間との相互作用も加わって  $G'$  が上昇する。 $G'$  が最大値 ( $G'_{\text{p}}$ ) を示した後に下降する現象は、粒内に残存した微結晶の完全な融解による内部構造の軟化や系が外力に対して容易に変形することを示唆する。これが  $G'_{\text{BD}}$  に相当する。以上が動的粘弾性測定によるデンプンの糊化にともなうその粘弾性挙動や内部構造の推察であるが、米粉の場合は、デンプン以外の成分や組織体も含むため、これらの相互作用も付加されると考えられる。

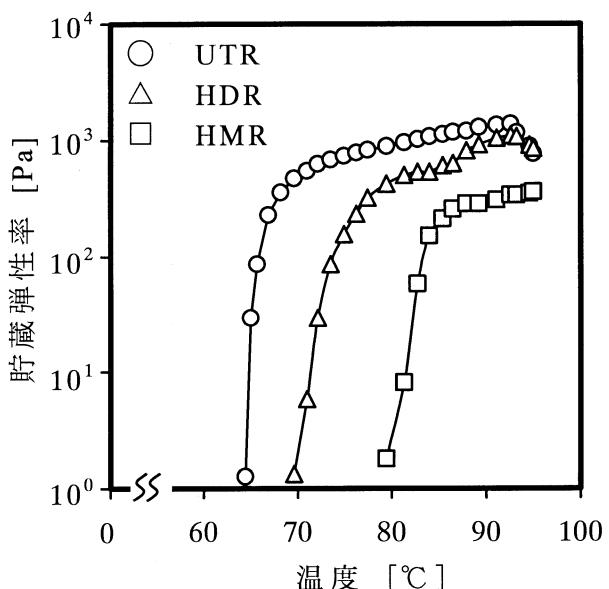


図 1 米粉の動的粘弾性曲線

表 1 動的粘弾性測定による米粉の糊化特性値

	$T_{G'}$ [°C]	$G'_{\text{p}}$ [Pa]	$G'_{95}$ [Pa]	$G'_{\text{BD}}$ [Pa]
UTR	$63.9 \pm 0.8^{\text{a}} \text{**}$	$1396 \pm 55^{\text{c}}$	$611 \pm 55^{\text{ab}}$	$784 \pm 69^{\text{b}}$
HDR	$65.5 \pm 0.4^{\text{b}}$	$778 \pm 40^{\text{b}}$	$660 \pm 30^{\text{b}}$	$117 \pm 29^{\text{a}}$
HMR	$79.8 \pm 2.1^{\text{c}}$	$519 \pm 26^{\text{a}}$	$519 \pm 26^{\text{a}}$	観察されず

\*同じアルファベット間では有意差なし（有意水準 0.05）

HDR および HMR の  $G'$  の低下は、米粉の膨潤・糊化の抑制を示唆する。HMR は HDR よりもこの現象が顕著であることから、湿熱処理が乾熱処理よりも米粉の膨潤・糊化を抑制する加熱処理であり、本実験においては 120°C で 60 分間の湿熱処理がその効果を最大にする加熱処理であることが明らかとなった。また、HMR は 95°C であっても  $G'$  が低下せず、最も米粉の膨潤・糊化が抑制される米粉であると考えられた。

各米粉の 85°C と 95°C における複素弾性率  $G^*$  ( $= \sqrt{G'^2 + G''^2}$ ) および  $\tan\delta$  を表 2 に示した。 $G^*$  は総合的な動的粘弾性値を意味するが、85°Cにおいて UTR の  $G^*$  が最も大きく、加熱処理温度の上昇にしたがい  $G^*$  は減少し、HMR は UTR の約 1/6 であった。また、95°C における  $G^*$  は、UTR が約 600 Pa と 85°C における約 1/2 となったのに対し、加熱処理米粉は増加した。これは、95°C における加熱処理米粉の  $G'$  の減少、すなわち、 $G'_{BD}$  が UTR と比較して小さいためであろう。これらは、湿熱処理馬鈴薯デンプンおよびトウモロコシデンプンと同様の結果であった<sup>4)</sup>。85°C における UTR の  $\tan\delta$  は 0.08 と最も小さいのに対し、加熱処理によって  $\tan\delta$  は増加し、HMR は UTR の約 5 倍であった。この理由として、加熱処理によって米粉の膨潤・糊化が抑制されたことで体積分率は UTR と比較して小さく、系は粘性的挙動を示したと考えられる。また、95°C における UTR の  $\tan\delta$  は、85°C における値よりもわずかではあるが上昇した。このことは、UTR は 85°C の場合よりも粘性的挙動を示すが、米粉の膨潤・糊化が進行して粒構造が脆弱となり、膨潤した粒同士によって形成された凝集構造が部分的に破壊したためであると推察した。一方、95°C における加熱処理米粉の  $\tan\delta$  は、85°C における値よりも低下した。すなわち、これらの系がより弾性的挙動を示しており、UTR などと比較して米粉の膨潤が継続し、粒同士や溶出した多糖類、特にアミロースやアミロペクチンとの相互作用による凝集構造の形成が進行したと考えられる。しかしながら、HMR の  $\tan\delta$  は UTR や HDR よりも大きく、HMR の膨潤やアミロースやアミロペクチンの溶出がそれらよりも抑制されたことが示唆された。湿熱処理はデンプン粒の膨潤・糊化を抑制する物理的処理であり、米粉の調理・加工適性の向上が期待される。

表 2 糊化過程における米粉の複素粘性率 ( $G^*$ ) および  $\tan\delta$

	85 °C		95 °C	
	$G^*$ [Pa]	$\tan\delta$	$G^*$ [Pa]	$\tan\delta$
UTR	1254±122 <sup>c</sup> ※	0.08±0.01 <sup>a</sup>	599±82 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>
HDR	535±10 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>	666±31 <sup>b</sup>	0.13±0.01 <sup>a</sup>
HMR	200±28 <sup>a</sup>	0.38±0.02 <sup>c</sup>	426±15 <sup>a</sup>	0.26±0.01 <sup>b</sup>

※同じアルファベット間では有意差なし（有意水準 0.05）

### 【文献】

- 1) 高橋徹, 篠田和雄, 三浦靖, 金哲, 小林昭一: 食品科学工学会誌, 49, 757-764 (2002)
- 2) 高橋徹, 三浦靖, 小林昭一: 食品科学工学会誌, 50, 230-236 (2003)
- 3) Eliasson, A. C.: *J. Texture Stud.*, 17, 253-265 (1986).
- 4) 川端晶子, 高瀬直明, 阿久澤さゆり, 澤山茂: 応用糖質科学会誌, 43, 471-477 (1996)

### 3. 総説

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

# 新しい活性酸素種およびその消去成分の 検出・定量法

秋山美展（秋田県総合食品研究所食品開発部門）

大久保一良（東北大学名誉教授）

Yoshinobu AKIYAMA, Kazuyoshi OKUBO

## 【要約】

活性酸素種および活性酸素消去成分の検出・定量法として XYZ 系活性酸素消去発光法（以下 XYZ 法）を紹介する。XYZ 法は迅速かつ簡易な方法でありながら、多試料の同時分析や活性成分の二次元的分布を視覚的に観察できるなどの従来法にはない優れた特徴を有する。XYZ 法の測定原理と実際の分析例、さらに最近注目されている医療診断分野での活用について述べる。

## 【緒言】

食の安全性や信頼性を損ねるような事件や事故が急増しており、原料生産から製造、流通に至る一連のフードシステムはよりいっそうの安全性と信頼性を築いていかなければならない状況にある。一方では食の三次機能が注目を集めしており、関連する研究報告は膨大な数に上っている。食の三次機能性およびその関連物質の研究は *in vitro* 実験から動物実験を経て、ヒトにおける有効性検証が求められる時代になってきた。そのため探索的な *in vitro* 実験はより一層の省労力、省コストが求められる。本稿で紹介する XYZ 法は活性酸素種およびその消去物質の検出と活性測定を迅速かつ簡易に行うことができるため、*in vitro* 実験において大きな力を発揮する。

がんや生活習慣病の多くはわれわれの体内で生産される活性酸素が充分に消去できなくなった時に発症する可能性の高いことが明らかになってきており、食品中に含まれる活性酸素消去物質の探索や機能解析に関する研究が活発になされてきた。食品中の抗酸化物質の探索とその機能解析が進められた結果、活性酸素やラジカル物質が食品や生細胞の酸化に関わるより直接的な物質であることが明らかになってきている。その意味において、活性酸素種の特定や活性の測定、さらにそれら活性酸素種を消去しうる物質の探索は食の生理機能性評価の際の重要な課題である。しかしながら、農水産物や食品に含まれる活性酸素消去物質の探索、物質同定に関する研究はほぼ全盛期を過ぎており、今後はヒトにおける有効性の評価と作用機序の研究にシフトしていくものと思われる。XYZ 法は現時点では *in vitro* 実験のみで実用化されているが、測定装置の高感度化や小型化によってプローブ化された検出器を生体内に直接に挿入できるようになれば臨床サイドでの新しい診断ツールになるものと期待される。

## 【XYZ 法の概念】

XYZ 法は大久保らを中心とした研究グループによって開発された活性酸素およびその消去に関わる成分の新しい検出・定量法である<sup>1)-3)</sup>。一般に生化学や医学分野で活性酸素を論じる際には、一重項酸素、過酸化水素、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドの 4 種をさして活性酸素種ということが多い。生体内ではこのうち過酸化水素、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドが重要である。図 1 に分子状酸素（三重項酸素）が 4 電子を受け取って水に還元される概念図を示す。この過程で前述した 3 種の活性酸素種が生成される。ヒドロキシルラジカルとスーパーオキシドはラジカルでもあるため、実験的取り扱いが難しく検出、定量には ESR(電子スピン共鳴)装置を必要とする。過酸化水素は比較的安定であり、試薬として入手も容易であるため活性酸素種の代表的物質として多用される。XYZ 法においても活性酸素種として過酸化水素を使用する。

図 2 に XYZ 法の概念を示す。活性酸素種 (X)、その消去物質 (Y)、反応メディエータ (Z) の三者からなる化学微弱発光系である。消去物質の電子がメディエータの存在下で過酸化水素より生じたヒドロキシルラジカルを還元する際に発生する微弱発光を高感度 CCD カメラまたはフォトン検出器によって捉えることによって検出・定量を行う。いま、ある試料に X 試薬と Z 試薬を添加した際に発光が観察されればその試料には何らかの活性酸素消去物質が含まれていることになる。また、Y 試薬（没食子酸が多用される）と Z 試薬を添加した際に発光が観察されればその試料には X 成分（すなわち活性酸素種）が含まれることがわかる。一定条件下では微弱発光強度は X, Y, Z 三者の濃度積に比例することが明らかにされているため、既知濃度の X, Z または Y, Z 試薬を用いることにより試料の活性酸素消去活性または活性酸素活性を知ることができる。

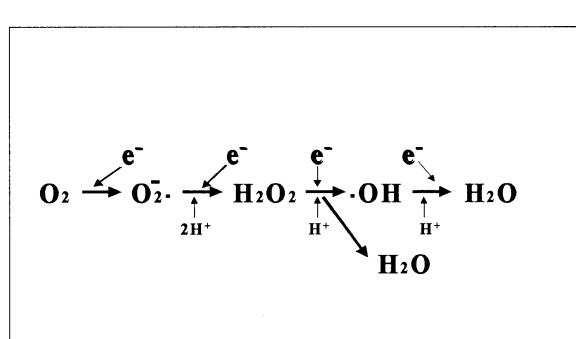


図 1 酸素の還元と活性酸素の生成

分子状酸素(三重項酸素)は  
還元されて順次、スーパーオキシド、  
過酸化水素、ヒドロキシルラジカルを  
経て水になる

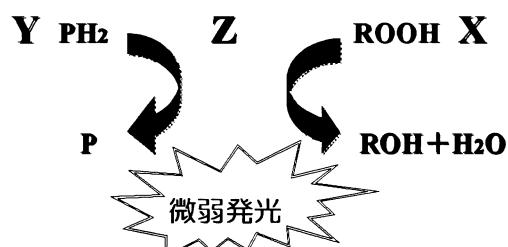


図 2 XYZ 法の概念

活性酸素種 (X) : 196 mM 過酸化水素、水素供与体 (Y) : 試料中の活性酸素消去成分、反応メディエータ (Z) : KHCO<sub>3</sub> 飽和 360 mM アセトアルデヒド、微弱発光測定 : 浜松ホトニクス㈱ ARGUS-50、東北電子産業㈱ CLD110

XYZ 系では X 試薬として 200-1000 mM 程度の過酸化水素、Z 試薬として炭酸水素カリ飽和 60-1000 mM 程度のアセトアルデヒドを用いるが次に示す物質群も XYZ 系において微弱発光を示すことが確認されている。

**X 物質群（活性酸素またはラジカル種）**

スーパーオキシド ( $O_2^-$ )、ヒドロキシルラジカル ( $HO \cdot$ )

脂質ヒドロペルオキシド (LOOH)、脂質ペルオキシラジカル (LOO  $\cdot$ )

アルコキシルラジカル (LO  $\cdot$ )

**Z 物質群（反応メディエータ）**

ヘミン、ヘマチン、ヘモグロビン、リポキシゲナーゼ

XYZ 法における微弱発光強度は ESR による DPPH ラジカルやヒドロキシルラジカル消去能および SOD (スーパーオキシドディスクターゼ) 様活性の測定結果とよい一致を示す。そのため、ESR によって検量しておくことによって XYZ 法により簡易迅速にそれらの活性測定（あるいは成分濃度定量）が可能である<sup>4, 5)</sup>。

**【二次元分布情報と HPLC ポストカラム法】**

活性酸素消去に関わる物質の検出・定量において XYZ 法が従来法と大きく異なるのは、活性酸素消去反応の際に放出される微弱発光を検出・画像化できる点にある。微弱画像撮影装置 (ARGAS system : 浜松ホトニクスなど) を用いれば 12 cm × 14 cm の視野範囲内の発光強度を単色濃淡または疑似カラーで画像観察ができる。このため、ウェルプレートを用いれば、16 点から 24 点程度の試料の同時分析が可能となる。また、果実、野菜、動物組織等の局所的な消去活性を二次元的に観察することができるため、成分の分布や動態についての情報を得ることも可能である。図 3 にバナナとレンコンの縦断面および横断面における活性酸素消去成分（活性）の二次元分布を示す。白い部分ほど消去活性が高いことを示している。カメラの対物レンズを選択することにより、細胞レベルでの発光強度分布を観察することも可能である。

XYZ 法によって生じる微弱発光をさらに高感度に検出できるフォトン検出器を HPLC とオンラインに接続することによって通常の HPLC で分離したピークの消去活性を連続的に調べることができる。この方法により、消去活性物質の同定や検索が格段に容易になる（図 4）。

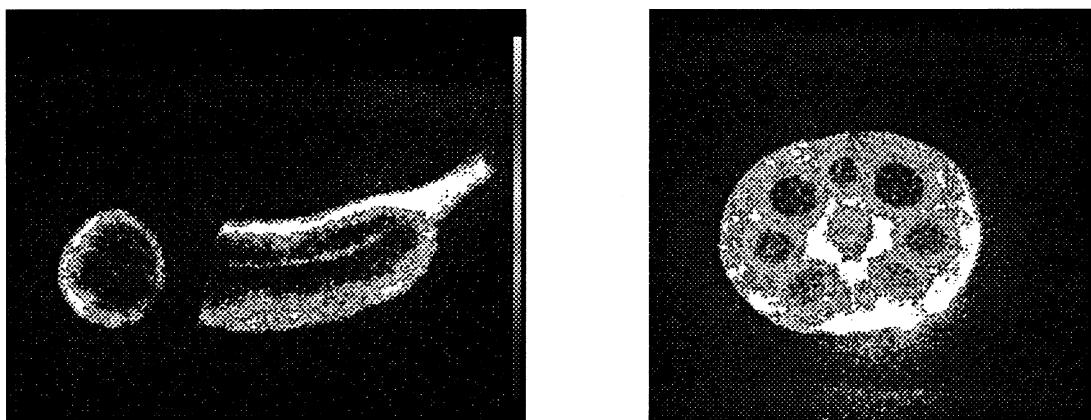


図 3 バナナおよびレンコンの活性酸素消去活性  
左：バナナ横断面と縦断面 右：レンコンの横断面  
白色部分の活性が高い。

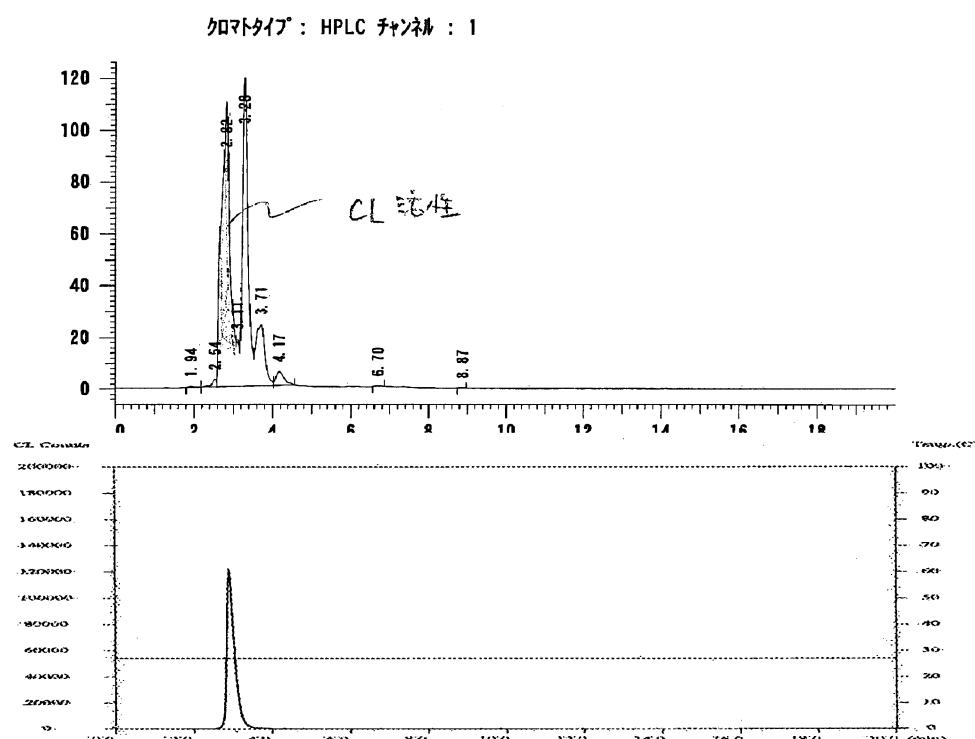


図 4 活性酸素消去物質の同時検出  
上段：HPLC クロマトグラム 下段：活性酸素消去活性

#### 【医療診断支援システムへの応用】

血液（血清、血漿）の生化学的検査データはわれわれの健康状態の管理や病気診断の際の重要なデータとなっており、医療現場では各種の自動検査装置が使用されている。吉城ら<sup>6)</sup>は、疾病と血液のXYZ系発光強度との間に一定の相関関係を見いだしており、新しい臨床診断の手法になりうるものと期待されている（図5）。ヒトの血液生化学分析値は個人差、病態、投薬など種々の要因によって変動する。XYZ系による発光強度も同様な影響を受けるため、さらなるデータの蓄積が必要ではあるが、現行の生化学検査項目にXYZ系のデータ

タを補うことで診断の精度向上に寄与できるものと思われる。血清のZ機能（活性酸素消去メディエータ機能）は手術等の外科的侵襲や投薬によって大きく変動することがわかっている<sup>7)</sup>。手術によって患者が受けるであろう身体的、精神的ストレスは患者によって個人差があるし、執刀医の力量によっても左右されることは想像に難くない。血清のZ機能の変動はヒトの受けるストレスをかなり正確に反映することから、術中の患者のストレス評価法としての利用が期待される。乳幼児や言語応答のできない重篤な患者には特に有効であると思われる。同様に、投薬による患者の生体反応をXYZ法で評価できれば、最適な投薬量や投薬時間などを患者個人別に設定することが可能となり、よりレベルの高い診療に寄与するものと期待される。

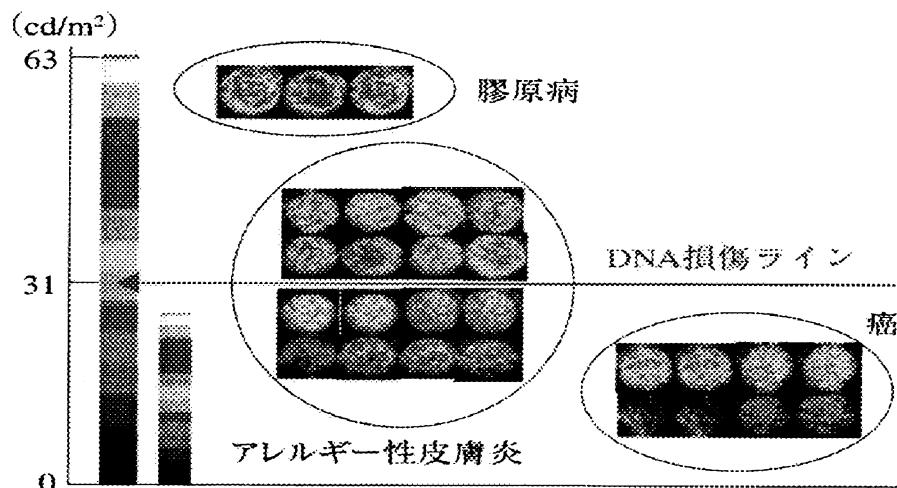


図5 病態と血清のZ活性<sup>6)</sup>

膠原病、アレルギー皮膚炎、癌患者より採取した血清の微弱発光画像

### 【おわりに】

本稿で紹介したXYZ法は大久保一良東北大学名誉教授らによって開発、実用化された手法である。XYZ法は食品関係の研究のみならず生化学や医学の分野にもその応用範囲を広げている。大久保先生は最近は臨床診断における実用化研究に精力的に取り組まれておられたが、平成16年1月に逝去された。生前のご指導とご厚情に対しここに記して感謝申し上げるとともに、ご冥福をお祈り申し上げます。

### 【文献】

- 1) Yumiko YOSHIKI *et al.* : *Phytochemistry*, **39**, No.1, 225-229 (1995)
- 2) Masaaki KAWANE *et al.* : *Luminescence*, **14**, 321-325 (1999)
- 3) 大久保一良他:ジャパンフードサイエンス、**38**, No.8, 18-21 (1999)
- 4) Yoshinobu AKIYAMA *et al.* : *Luminescence*, **16**, 237-241 (2001)
- 5) 秋山美展:東北大学博士論文 (2002)
- 6) 吉城由美子他:XYZ系活性酸素消去発光研究会誌、**2**, No.1, 9-14 (2003)
- 7) 大久保一良他:ジャパンフードサイエンス、**39**, No.7, 17-24 (2000)

# 秋田県味噌醤油品評会分析結果のまとめ

尾張かおる、渡辺隆幸、高橋光一

(秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Kaoru OWARI, Takayuki WATANABE and Koichi TAKAHASHI

## 【要 約】

昭和 45 年の第 17 回から 50 回までの、秋田県味噌醤油品評会出品物の一般成分分析結果を品質向上の手がかりとするためにとりまとめた。出品物全体の平均値と上位 5 社の平均値を各成分ごとに比較した結果、醤油では無塩可溶性固形分、食塩および全窒素に有意差があり品質との関連が認められた。味噌においても同様に比較したところ、色と直接還元糖およびエタノール量に有意差が認められた。

## 【諸言】

昭和 28 年から始まった秋田県味噌醤油工業協同組合主催の秋田県味噌醤油品評会は、平成 14 年に第 50 回を迎えた。その出品物については、一般成分分析を秋田県醸造試験場(現在秋田県総合食品研究所)と、秋田県味噌醤油工業協同組合が分担して行ってきた。その結果は、昭和 45 年の第 17 回から醸造試験場報告(現在総合食品研究所の業務概要)に掲載されている。

今回 50 回という節目を迎えたので、これまでのデータをとりまとめ各回平均値から変遷を探ると同時に、各回成績上位 5 社の平均値と比較することによって、これからさらに品質を向上させていく手がかりにしたいと考えた。

## 【実験方法】

第 17 回(昭和 45 年)から第 50 回(平成 14 年)までの分析結果は、秋田県醸造試験場報告(第 2 号～第 27 号)<sup>1)～26)</sup>、総合食品研究所年報第 1 号～第 2 号<sup>27), 28)</sup>、総合食品研究所の業務概要(平成 10 年度～14 年度)<sup>29)～34)</sup>に掲載されたものによった。

## 【結果と考察】

### 1. 醤油

#### 1) ボーメ度と食塩と無塩可溶性固形分

ボーメ度は一般的に醤油の濃さを表すものとして知られているが、食塩濃度に影響される値であるから、その分を差し引いて考えなければならない。それに対して無塩可溶性固形分は、醤油に溶在している物質のうち食塩以外の物質の量を表す指標である。図 1 に、ボーメ度、食塩および無塩可溶性固形分の平均値の経年変化を示した。左に品評会全体の平均値、右に上位 5 社の平均値の変化を示している。全体の平均

値を見ると34年間に食塩濃度は18%台から14%台に減少したので、ボーメ度も25°C台から緩やかに減少し23~24°Cになっている。しかし無塩可溶性固形分では第24回で25未満だった値が徐々に上昇し50回には28に近づいている。

上位5社では食塩濃度が全体の平均値より約1%少なく、5%有意差を認めた。ボーメ度は、食塩濃度減少の影響をあまり受けていないように見える。それは、無塩可溶性固形分が全体の平均よりハイペースで増加しているせいであろう。

この結果から成績上位の醤油には、食塩を減らした上で、後述するように全窒素量などをリッチにすることが必要であることがわかる。

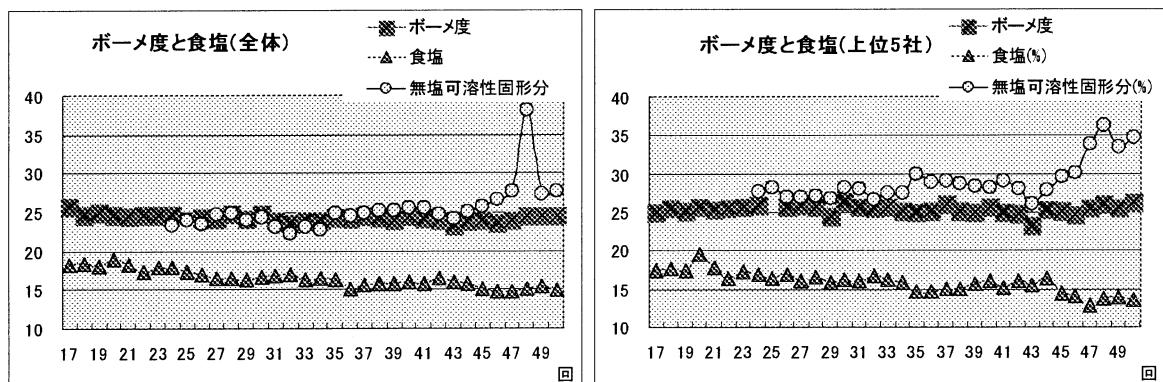


図-1 ボーメ度と食塩と無塩可溶性固形分の変化

## 2)全窒素

図-2に全窒素と窒素分解率の平均値の経年変化を示した。全窒素の平均の経年変化を見ると、上位5社平均が全体平均を常に約2%上回っており、大豆のもつ旨味成分のメルクマールである全窒素量は、品質と関連することが認められる。

また全窒素は、この33年間で徐々に増加し、全体平均では1.5%から1.9%、上位5社平均では1.9%から2.2%になった。しかし旨味成分の可溶化率を示すといわれる窒素分解率(全窒素に対するフォルモール窒素の割合)は、年によって多少の変動があ

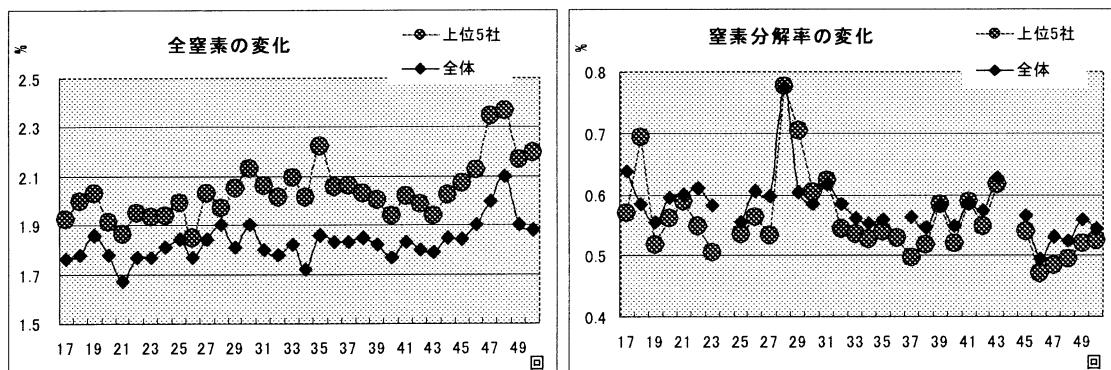


図-2 全窒素とタンパク分解率の変化

るが0.5～0.6にすぎず、増加の傾向が見られない。また全体と上位5社の有意な差も認められなかった。この結果から、フルモール窒素は醤油の品質評価に関連がないことが認められた。可溶性窒素の個々の動向については、アミノ酸分析結果により判断できるので、これを有効に用いていきたい。

### 3)pHと滴定酸度

図-3にpHと滴定酸度(酸度I、II)の平均値の経年変化を示す。まずpHは、全体と上位5社の平均値を比較すると有意差は認められなかった。年毎のデータが大きく異なっているが、ここ数年は4.8付近に落ち着いていたことから、秋田の醤油のpHは、4.8で安定しているとみえる。

滴定酸度は醤油中の酸量を示すもので、品質との関連ははつきりしていない<sup>35)</sup>とされる。各年の平均値の変化をみると、上位5社の平均が全体の平均を上回っていて、酸量が有意に多いことがわかるが、具体的な判断ができない。このデータから得られる情報よりは、有機酸分析データにより個々の品質傾向を直接把握したほうがよいと思われる。

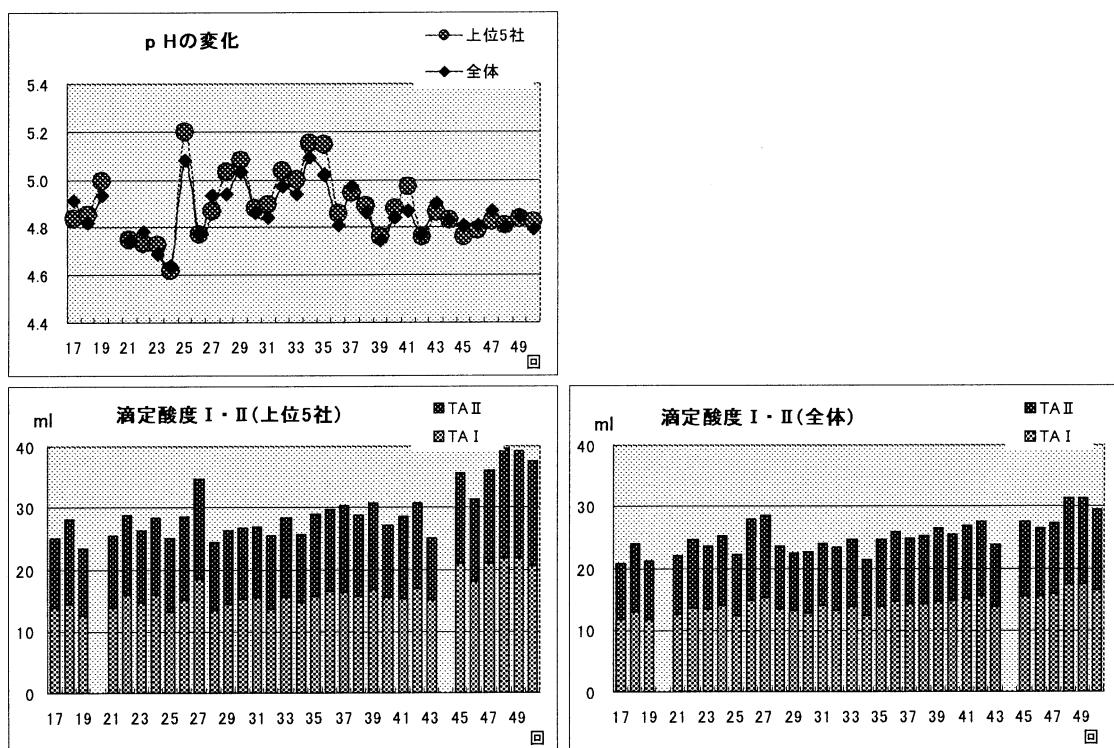


図-3 pHと滴定酸度の変化

### 4) 直接還元糖とエタノール

図-4に直接還元糖とエタノールの平均値の経年変化を示す。

直接還元糖は、上位5社が全体の平均値を毎回上回っており、明らかに品質との

関連が認められる。また両者ともに右上がりで増加している。この値が示すものは、醤油中の甘味物質の中の還元基を含む物質たとえばブドウ糖、果糖などである。麹菌酵素により分解された糖類と醸造微生物により消化された分の差が相当するが、味の調節のために添加される場合もある。還元基を持たない甘味料が添加されている場合は、この数値には反映されない。したがって、甘味の量の多少を論ずることはできないが、グラフから成績上位工場では還元基を含む甘味料の使用がある程度多いことがわかる。

また、第 27 回から測定されたエタノールでも、上位 5 社が全体の平均値を毎回上回っていて、有意差が明らかに認められる。両者ともに右上がりに増加してきていることから、酵母が順調に働き、醤油の香気がこの約 10 年間でかなり上がってきたことがわかる。

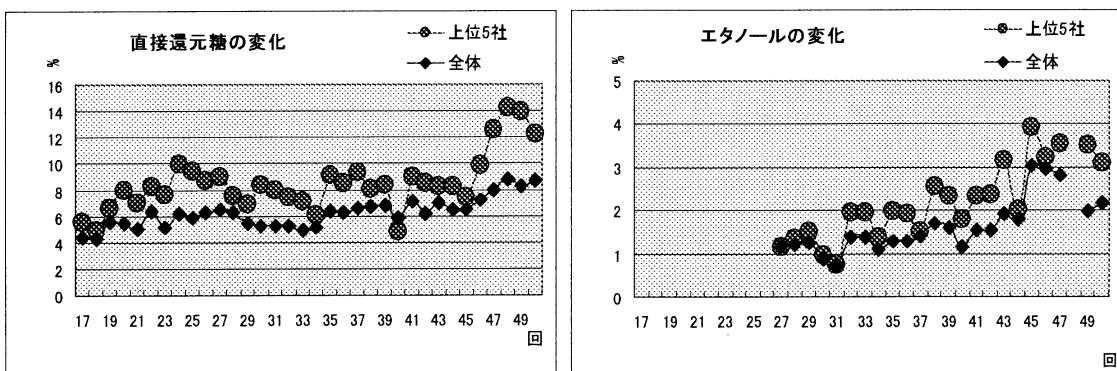


図-4 直接還元糖とエタノールの変化

## 2. 味噌

### 1) 水分と食塩と対水食塩濃度

水分と食塩と対水食塩濃度の変化を図-5 に示した。水分に関しては、第 33 回以前(ケット法)と第 34 回以降(プラスティックフィルム法)とで測定方法が異なったことにより、大きな差が生じた。全体の平均と上位 5 社の差は有意差が認められず、品質と水分の量は関連がなかった。また最近は 45%付近に収束していることから、45%が秋田味噌の水分適定量だと考えられる。

食塩は 33 年間で約 1% 減少して、ここ数年は約 11.5% に落ち着いてきている。上位 5 社と水分と食塩の比率から対水食塩濃度を求めるとき、第 33 回以前は年較差が大きかったが、ここ数年は約 20 で落ち着いている。この値も上位 5 社と全体平均の間で有意差が認められず、品質との関連はないと考えられる。全体平均の差は有意な差が認められなかった。

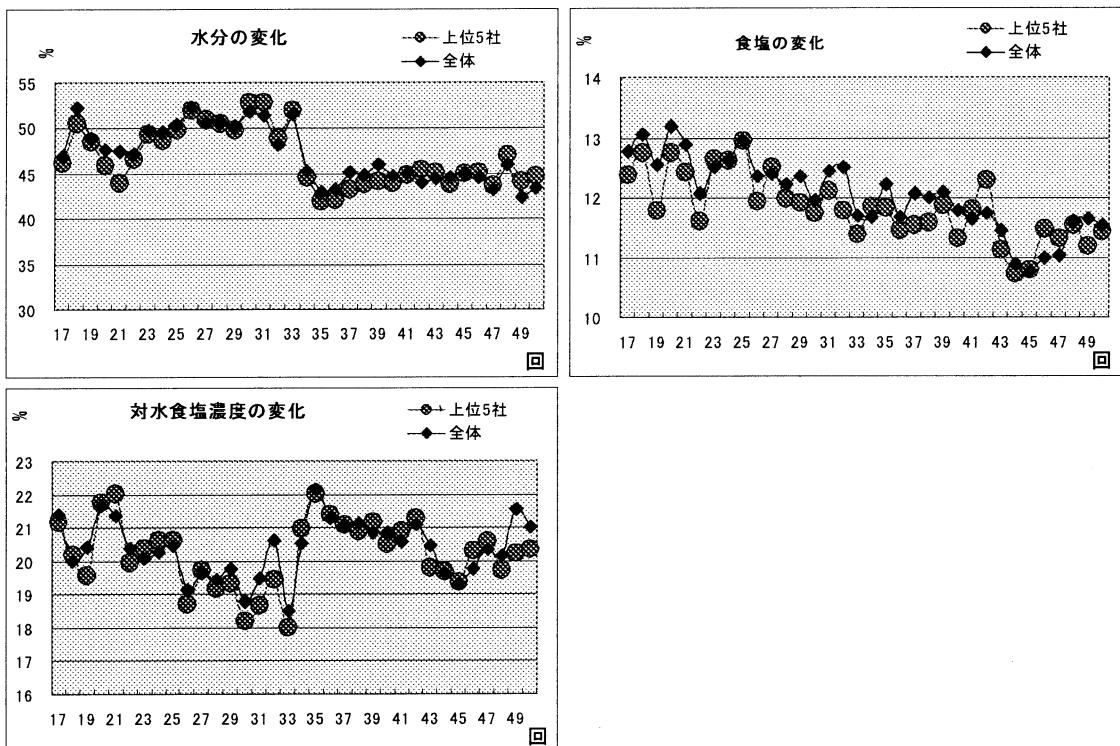


図-5 水分の変化

## 2)色

色の白さをあらわす Y% と、赤みの冴えをあらわす x の変化を図-6 に示した。図から明らかなように、Y% も x も全体平均と上位 5 社の平均との間には明らかな有意差が認められる。Y% は、第 22 回からの 28 年間で右下がり傾向にあり、濃色化が進んできている。上位 5 社が常に全体平均より濃色であった。x は回を重ねるごとに右上がり、すなわち赤みが冴える傾向にあった。特に第 44 回以降の上位 5 社の平均値は 0.5 に近くなっていた。

この結果により品評会という場面で秋田味噌の色を見るとときには、熟成がしっかりと進んでいることを示す濃い色と、鮮やかな赤みが品質評価に直結していることがわかる。

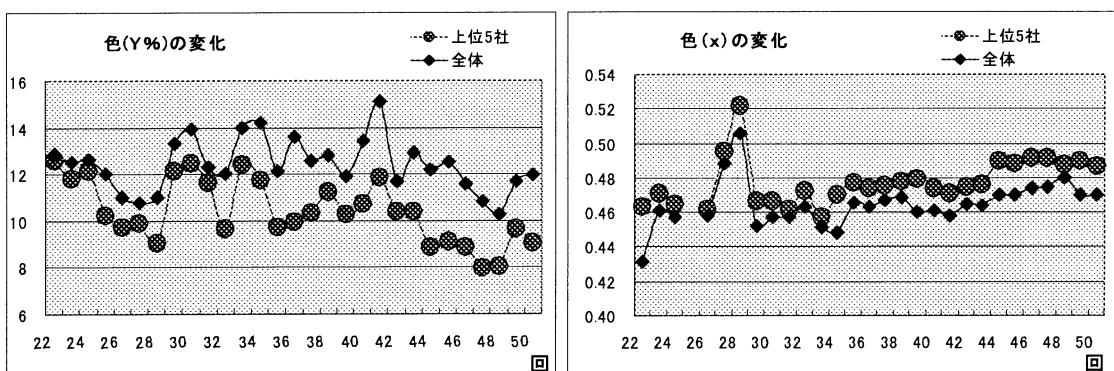


図-6 色の変化

### 3)直接還元糖、pH、全窒素

直接還元糖、全窒素及びpHの変化を図-7に示した。

直接還元糖は34年間で約5%増加し、約20%になった。しかし上位5社と全体平均には有意差が認められず、品質との関連はなかった。

味噌の全窒素は第36回から全体平均と上位5社に明らかに有意差が認められ、上位5社が1.9~2.0%であるのに対し、全体平均は1.8%と低くなかった。これは、上位5社の麹歩合が低いことを示している。それにも拘わらず上位5社の直接還元糖が少くないことは、麹の糖化力が優れているためと考えられる。

pHは、第17回から32回までは年によるバラツキが大変大きかったが、33回以降はやや増加傾向にあるものの安定している。全体平均と上位5社には有意差が認められないで、品質判断には利用できない。醤油と同様に、有機酸分析データのバランスなどで関連付ける必要があると思われる。

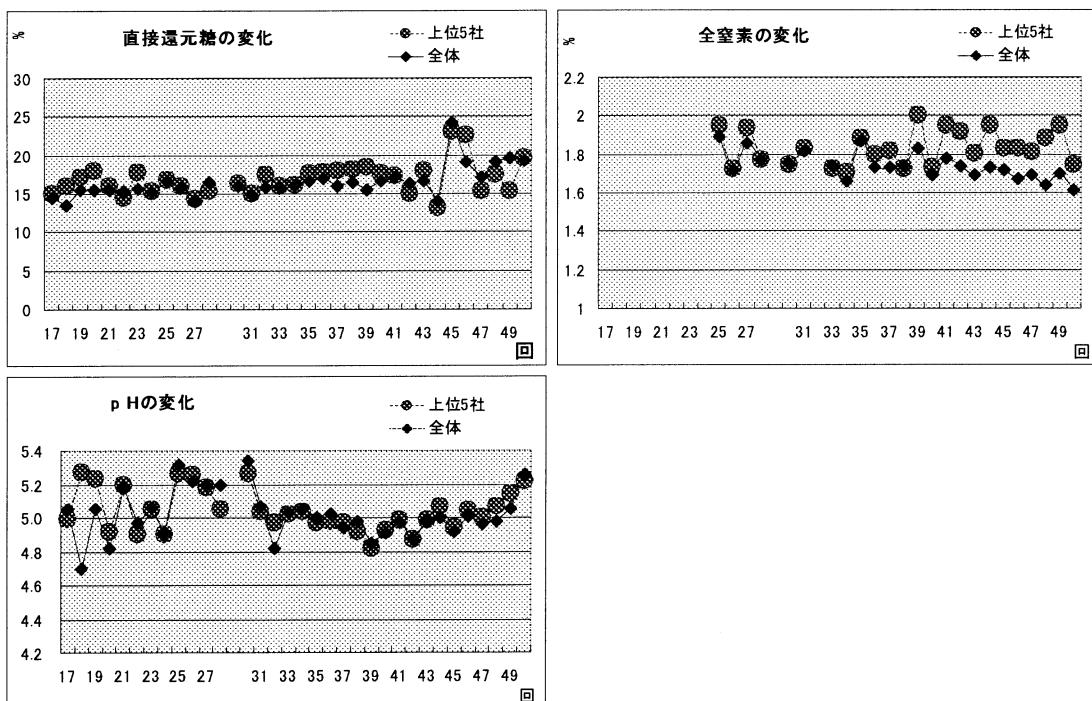


図-7 直接還元糖、全窒素及びpHの変化

### 4)エタノール

エタノールの変化を図-8に示す。

秋田みそは主張しすぎないおとなしい香りが特徴であった。第41回までは、上位5社も全体の平均もともに約1%で、両者に有意な差は見られなかった。しかし記録的な冷夏であった第41回を境に、42回から大きく増加した。ゆらら酵母配布事業も重なったせいか、上位5社を中心に酵母の働きが活発化したこと、保存その他の目的のため添加量が増大したこともあり、エタノールが増加したと考えられる。そのためエタノール

の量は、品質にある程度関連があると判断される。

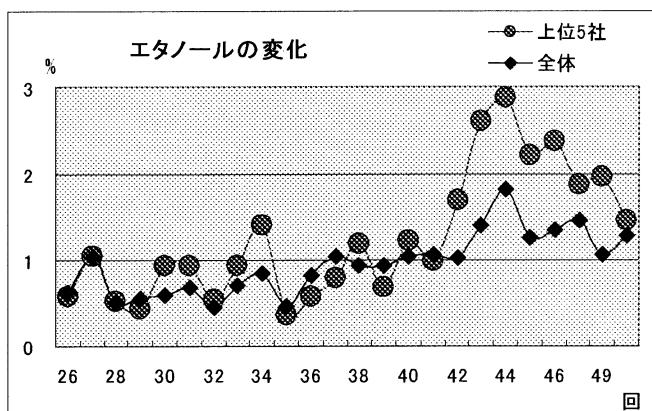


図-8 エタノールの変化

### 【まとめ】

品評会出品物の分析結果から、品質をさらに向上させる手がかりを探った。

醤油においては食塩濃度を14%台に減少させ、かつ全窒素量を増加させることにより無塩可溶性固形分を増加させる必要がある。

味噌においては色(Y%)は明るすぎず10を切る程度までしっかりと熟成させ、Xは逆に鮮やかな赤みができる方向に持って行くことが必要である。その他、麹歩合に頼りすぎずに直接還元糖を増やし、香りの代表であり、かつ引き立たせるエタノール量を増加させることがさらに品質向上につながる。

### 【文献】

- 1)秋田県醸造試験場報告, 2, 77-87(1970)
- 2)〃, 3,28-33(1971)
- 3)〃, 4,37-44(1972)
- 4)〃, 5,69-73(1973)
- 5)〃, 6,40-45(1974)
- 6)〃, 7,34-36(1975)
- 7)〃, 8,53-55(1976)
- 8)伊藤信義、斎藤弘子、高橋光一、太田口隆:秋田県醸造試験場報告, 9,37-44(1977)
- 9)太田口隆、高橋光一、伊藤信義、佐々木ひとみ:秋田県醸造試験場報告, 10,55-59(1978)
- 10)高橋光一、佐々木ひとみ、高橋均、伊藤信義、太田口隆:秋田県醸造試験場報告, 11,62-66(1979)
- 11)高橋光一、佐々木ひとみ、高橋均、太田口隆:秋田県醸造試験場報告,

12,82-85(1980)

- 12) 高橋光一、佐々木ひとみ、高橋均:秋田県醸造試験場報告, 13,79-81(1981)
- 13) 高橋光一、吉田かおる、佐々木ひとみ:秋田県醸造試験場報告, 14,121-124(1982)
- 14) 秋田県醸造試験場報告, 15, 68-71(1983)
- 15) 秋田県醸造試験場報告, 16, 77-83(1984)
- 16) 高橋光一、吉田かおる、伊藤信義、三平玲子:秋田県醸造試験場報告, 17,101-108(1985)
- 17) 高橋、尾張、渡辺、伊藤、三平:秋田県醸造試験場報告, 18,90-96(1986)
- 18)-23) 高橋光一、吉田かおる、渡辺隆幸、伊藤信義、三平玲子:秋田県醸造試験場報告, 19,81-86(1987), 20,74-84(1988), 21,71-79(1989), 22,60-67(1990), 23,82-96(1991), 24,34-43(1992)
- 24)-26) 高橋光一、吉田かおる、渡辺隆幸、伊藤信義、須藤田鶴子:秋田県醸造試験場報告, 25,81-86(1993), 26,76-83(1994), 27,64-71(1995)
- 27),28) 高橋光一、吉田かおる、渡辺隆幸、伊藤、三浦:総合食品研究所年報, 1,28-37(1996), 2,27-34 (1997)
- 29) 平成 10 年度総合食品研究所の業務概要、72-79(1998)
- 30) 平成 11 年度総合食品研究所の業務概要、77-82(1999)
- 31) 平成 12 年度総合食品研究所の業務概要、77-81(2000)
- 32) 平成 13 年度総合食品研究所の業務概要、63-68(2001)
- 33) 平成 14 年度総合食品研究所の業務概要、66-71(2002)
- 34) 平成 15 年度総合食品研究所の業務概要、61-66(2003)
- 35) しょうゆ試験法、財団法人日本醤油研究所、p20(1985)

#### 4. 特許等の要約（3件）

「新規酵母及びそれを用いた清酒の製造法」	59
渡辺誠衛、立花忠則、中田健美、田口隆信、高橋仁、大野剛	
「こまち酵母（商標）」	59
「新規アミラーゼ、該アミラーゼ生産能を有する微生物及びその製造方法」	60
金子隆宏、大能俊久、大久長範	

発明の名称：新規酵母及びそれを用いた清酒の製造法

発明者：渡辺誠衛、立花忠則、中田健美、田口隆信、高橋 仁、大野 剛

代理人：久保田藤郎

出願日：平成14年12月16日

出願番号：特許願2002年第363285号

要約：

【目的】清酒の製造に用いる酵母であって、各香気成分をバランスよく生産し、かつ醪日数が必要以上に長くならないアルコール生成速度の速い酵母を提供すると共に、当該酵母を用いて香りと味が良好な清酒を効率よく製造する方法を提供することを目的としている。また、発酵の緩慢さに起因する作業問題を改善することを目的とする。

【解決手段】清酒醸造において、香りをバランスよく生成し、かつ醪日数が必要以上に長くならない発酵力を有する *Saccharomyces cerevisiae* 3K8-157A株 (FERM P-19141) 並びに当該酵母を使用する清酒の製造法。

発明の名称：こまち酵母（商標）

発明者：渡辺誠衛、立花忠則、中田健美、田口隆信、高橋 仁、大野 剛

登録日：平成15年10月3日

登録番号：登録第4714566号

発明の名称：新規アミラーゼ、該アミラーゼ生産能を有する微生物及びその製造方法

発明者：金子隆宏、大能俊久、大久長範

出願番号：特願 2003-388678

出願日：平成 15 年 1 月 19 日

【要約】

[課題] 雜菌汚染を防止でき、且つ澱粉が  $\alpha$  化することなく、さらには工場内の廃蒸気で充分設定出来る 50～60°C で作用可能な新規アミラーゼを提供することに加え、該アミラーゼを効率よく生産する微生物、並びに該微生物を用いたその効率的な製造方法を提供すること。

[解決手段] 下記の性質を有するアミラーゼ、該アミラーゼの生産能力を有するストレプトマイセス属 E-2248 株、及び該アミラーゼの製造方法/(1)作用および基質特異性：マルトテトラオース以上のマルトオリゴ糖、グリコーゲン、アミロース、アミロペクチン、可溶性澱粉、 $\alpha$  化した澱粉および生澱粉、さらにはそれらの部分分解物を分解し、主生成物としてマルトースを生成する。/(2)分子量：50kDa/(3)至適温度：50～60°C/(4)至適 pH：6.0 付近/(5)熱安定性：50°C 以下で安定/(6)pH 安定性：pH5.0～6.0 で安定/(7)金属イオンの影響： $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  により促進、 $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  により阻害(以下省略)

## 5. 学会発表（36件）

「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」	61
○高橋砂織、堀一之、小笠原博信、高橋慶太郎、樋渡一之、立花忠則、森勝美	
「GlcNAc2-epimerase:Structure and function」	61
○ Saori Takahashi, Kazuyuki Hiwatashi, Hironobu Ogasawara, Keitaro Takahashi, Kazuyuki Hori	
「LupeolによるB16 2F2細胞分化誘導機構」	62
○畠恵司、堀一之、高橋砂織	
「Role of p38 MAPK in Lupeol-Induced B16 2F2 Cell Differentiation」	62
○畠恵司、堀一之、高橋砂織	
「NMRによる味噌発酵過程の評価－脂肪酸の変動について－」	63
○堀一之、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫、高橋砂織	
「SPME（固相マイクロ抽出）法によるフタル酸エステル類サンプリング条件の検討」	63
○堀一之、高橋砂織	
「麹菌の着色因子に関する研究－チロシナーゼ遺伝子の菌株間比較－」	64
○小笠原博信、今野宏、高橋砂織	
「マイタケプロテアーゼとプロテアーゼフリーマイタケ」	64
○樋渡一之、加賀屋明良、井上俊三、高橋慶太郎、高橋砂織	
「麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> の菌株の違いが味噌の抗変異原性に与える影響」	65
○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、堀一之、柴本憲夫	
「高度生澱粉資化性菌の生産するアミラーゼについて」	65
○金子隆宏、大能俊久、大久長範	

「発芽玄米と糀発芽玄米の遊離アミノ酸含量の比較」 ······ 66

○大久長範、大能俊久、森勝美

「コロニー形成曲線の乾燥食品に存在する細菌への適用」 ······ 66

○大久長範、森勝美

「無洗米のタンパク質の挙動」 ······ 67

○大能俊久、金子隆宏、大久長範

「3種無洗米米飯のこげに関する研究」 ······ 67

○大能俊久、堀川あゆみ、金子隆宏、大久長範

「ハタハタ (*Arctoscopus japonicus*) 卵巣のゼリー状物質について」 ······ 68

○戸枝一喜、塚本研一、杉山秀樹、舟木勉

「*Bacillus polymyxa* KT551 マンナナーゼによるタラガムからのガラクトマンノオリゴ糖の生成」 ······ 68

○戸枝一喜、堀一之、保苅美佳、伊藤聖子、加藤陽治

「近赤外スペクトルのバーコード化による判別解析手法の開発」 ······ 69

○熊谷昌則、李華、高橋豊、天野敏男、小川信明

「近赤外スペクトルによる石膏（硫酸ナトリウム）水和物の組成分析に関する基礎研究」 ······ 69

○熊谷昌則、天野敏男、小川信明

「稲庭うどんの製造における原料、工程、品質管理に対するポータブル近赤外分光装置の適用」 ······ 70

○熊谷昌則、松浦奈津美、大久長範、天野敏男、小川信明

「稲庭うどん製造工程へのポータブル近赤外分光装置の適用」 ······ 70

○熊谷昌則、松浦奈津美、大久長範、天野敏男、小川信明

「Discrimination of Noodle Flours Using a Portable Near Infraed Spectrometer coupled with Chemical Information」 ······ 71

○ Kumagai, M., Ohisa, N., Amano T. and Ogawa N.

「Discrimination of Plastics based on the Chemical Structures using a Portable Near Infraed Spectorometer」	71
○ Kumagai, M., Amano T. and Ogawa N.	
「米の活性酸素消去相乗作用」	72
○秋山美展、島田信二、高田吉丈、山口誠之	
「プログラム加熱法による豆腐ゲル強度の改善」	72
○秋山美展、大久長範、森勝美、三保茂之、長繩明大	
「米の活性酸素消去能を最大限に發揮しうる加工技術の開発」	73
○秋山美展	
「微弱発光による活性酸素およびその消去成分の検出、定量法」	73
○秋山美展、大久長範、森勝美、大久保一良	
「ジュール加熱技術の実用化に関する研究」	74
○三保茂之、秋山美展、長繩明大、足立高弘、和田祐子	
「ジュール加熱装置におけるプログラム昇温制御」	74
○三保茂之、長繩明大、秋山美展、足立高弘	
「プログラム加熱法による豆腐ゲル強度の改善」	75
○秋山美展、三保茂之、長繩明大、和田祐子、大久長範、森勝美	
「ジュール加熱におけるプログラム昇温の最小分散制御」	75
○伊藤博基、三保茂之、長繩明大、秋山美展、足立高弘	
「加熱処理米粉糊液のレオロジー特性に与える pH およびレトルト処理の影響」	76
○高橋徹、大久長範、三浦靖、小林昭一	
「Analysis of apoptosis induced by a novel cytotoxic protein, aralin, from <i>Aralia elate</i> 」	76
○ T. Komeno, M. Tomatsu, K. Kuriyama, Y. Kawasaki, N. Adachi, I. Tamura, A. Sugiyama, A. Ikuta, F. Tashiro	

「食品産業廃棄物のモルトフィードからの L-乳酸の発酵生産」 ······ 77

○進藤昌、立花忠則、森勝美

「ビールの原料であるホップ中に含まれるマトリックスメタプロテアーゼ (MMPS)  
活性阻害成分」 ······ 77

○進藤昌、杉本勇人、立花忠則、森勝美

「タラノキカルスおよび起源植物由来抗腫瘍タンパク質の比較」 ······ 78

○戸松誠、柴本憲夫、上野雅弘、生田安喜良、近藤俊哉、吉川孝文

「タラノキカルスおよび植物体が生産する抗腫瘍タンパク質の活性の比較」 ··· 78

○上野雅弘、戸松誠、生田安喜良

発表学会：第17回キチン・キトサン・シンポジウム（2003年、秋田市）  
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）の構造と機能：ヌクレオチドの役割を中心にして  
発表者：○高橋砂織、堀一之、小笠原博信、高橋慶太郎、樋渡一之、立花忠則、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、主に腎臓で合成されるタンパク性のレニン阻害物質で、ブタ腎臓皮質より最初に単離されている。最近、我々はヒトRnBPがGlcNAcと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すなど、RnBPの新たな機能を見出している。今回、組換え型の各種動物由来酵素に対するヌクレオチドの影響を検討するとともに、ヌクレオチドが酵素活性及び酵素の構造と機能にどのような影響を与えるのかを検討した。【方法】組換え型酵素類の大腸菌での発現ベクターは、pUK223-3を基本ベクターとして作成した。GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は、ManNAcを基質として、生じたGlcNAcをN-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼの共役系で測定した。【結果及び考察】精製した組換え型ヒト、ブタ、およびラット酵素の比活性はそれぞれ、26.3、14.1及び27.8 units/mg であった。また、組換え型酵素類は濃度依存的に、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、ATP, ADP, dATPやddATPなどのヌクレチド添加が必要であった。これらのヌクレオチドに対する親和性は、ラット型酵素が最も高かった。ヒト型酵素とラット型酵素の各種キメラ酵素を用いた解析から酵素の中央ドメインがヌクレオチド結合に必須であることが判明した。

発表学会：第76回日本生化学会大会（2003年、横浜市）  
演題：GlcNAc 2-epimerase: Structure and function  
発表者：Saori Takahashi, Kazuyuki Hiwatashi, Hironobu Ogasawara, Keitaro Takahashi, Kazuyuki Hori

Renin binding protein (RnBP) is an endogenous renin inhibitor. This protein inhibits renin activity with the apparent dissociation constant of 0.2 nM. Recently, RnBP was identified as GlcNAc 2-epimerase. The enzyme catalyzes the conversion between GlcNAc and ManNAc, and requires nucleotides for its enzyme activity. Nucleotides such as ATP, dATP, ddATP enhanced GlcNAc 2-epimerase activity in a dose dependent manner. In the present study, structural domain and amino acid residues conferring nucleotide binding were identified by the construction of chimeric enzymes and site-directed mutagenesis. GlcNAc 2-epimerase activity was measured by the method of Takahashi *et al.* [J. Biochem. 128, 951-956, 2000]. The constructed chimeric and mutated enzymes were expressed in *E. coli* JM109 cells and the nucleotide specificities of the enzyme were determined in order to identify the nucleotide binding region. The results indicate that middle domain of GlcNAc 2-epimerase molecule participate in the specificity of nucleotide binding and nucleotides are essential to form catalytic domain of GlcNAc 2-epimerase.

発表学会:日本薬学会第 124 回大会 (2004 年 3 月、大阪)

演題 :Lupeol による B16 2F2 細胞分化誘導機構

発表者 :○畠 恵司, 堀 一之, 高橋 砂織 (秋田県総食研)

要旨 :【目的】色素細胞は  $\alpha$ -メラノサイト刺激ホルモンなどで分化することが知られている。我々はこれまで lupeol を始めとするルパン型トリテルペンがマウスマラノーマ細胞株 (B16 2F2) の分化の指標であるメラニン産生促進活性や樹状突起伸長活性を示し、これら活性の発現にはルパン骨格 C-3 位の構造が重要な役割を担うことを報告してきた。本研究では、lupeol による B16 2F2 細胞分化に対する種々の化合物の影響は、B16 2F2 細胞内メラニン含量を定量することで評価した。Mitogen-activated protein kinase (MAPK) のリン酸化レベルは Western blotting により確認した。【結果】Lupeol は種々の protein kinase A (PKA) 活性化物質により促進されたが、逆に PKA 阻害剤である H89 添加により抑制された。また、cAMP-PKA 系の下流標的分子を探索するため、種々のシグナル伝達阻害剤を用いて、lupeol による B16 2F2 細胞分化誘導に対する影響を検討した結果、p38 MAPK 阻害剤である SB203580 が lupeol による B16 2F2 細胞分化誘導を抑制した。また、Western blotting により lupeol を処理した B16 2F2 細胞において、p38 MAPK リン酸化が確認された。これらの結果は、lupeol による B16 2F2 細胞分化誘導に p38 MAPK 経路が関与することを支持するものである。

発表学会:日本生化学会第 76 会大会 (2003 年 10 月、横浜)

演題 :Role of p38 MAPK in Lupeol-Induced B16 2F2 Cell Differentiation

発表者 :○畠 恵司, 堀 一之, 高橋 砂織 (秋田県総食研)

要旨 :Previously, we reported that lupane triterpenes induced B16 2F2 mouse melanoma cell differentiation. In a study on the structure-activity relationships, it was revealed that keto function at C-3 of lupane triterpenes enhanced their differentiation-inducing activities on B16 2F2 cells and a carbonyl group at C-17 was essential for their apoptosis-inducing activities on some cancer cells. In the present study, we investigated the signaling mechanism involved in the stimulatory effects of lupeol on B16 2F2 cell differentiation. SB203580, an inhibitor of p38 MAPK, blocked lupeol-induced B16 2F2 cell differentiation. Moreover, Western blot analysis demonstrated that lupeol elevated the level of p38 MAPK phosphorylation. These data suggested that the activation of p38 MAPK was involved in B16 2F2 cell differentiation induced by lupeol.

発表学会:2003年9月 日本食品科学工学会第50回大会 (東京都世田谷区)

演題: **NMRによる味噌発酵過程の評価  
—脂肪酸類の変動について—**

発表者:○堀 一之、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、柴本憲夫、  
高橋砂織(秋田県総食研)

要旨:

**【目的】**発酵、熟成により味噌の脂肪油／トリアシルグリセリンはリバーゼで脂肪酸とグリセリンに分解され、その脂肪酸がエタノールの共存下で脂肪酸エチルエステルとなる。このエチルエステルは抗変異原性や熟成香気と密接な関係があるとされ機能性の見地からも、各要素の存在比の実態把握が望まれる。そこで先にモデル系での実験を行った<sup>1)</sup>が、今回試験醸造した味噌について、熟成過程での変化について検討した。

**【方法と結果】**NMR測定条件は既報に準じた<sup>1)</sup>。抽出方法としては凍結乾燥したものをクロロホルム－メタノールで加熱還流抽出した。このサンプルではトリアシルグリセリン、脂肪酸エチルエステル以外にグリセリンとブドウ糖が抽出されたが、熟成によってエチルエステル、グリセリンの増加が確認された。しかし測定時間が約1日必要なため、抽出溶媒を種々検討しジエチルエーテルを用いればブドウ糖が混入しないことが明らかになった。<sup>1)</sup>第123回日本薬学会要旨集, 3-203 (2003)

発表学会:2004年3月 日本薬学会第124年会 (大阪市)

演題: **SPME(固相マイクロ抽出)法によるフタル酸エステル類  
サンプリング条件の検討**

発表者:○堀 一之、高橋砂織(秋田県総食研)

要旨:

**【目的】**フタル酸エステル類は、塩化ビニールなど各種石油製品の可塑剤として利用されている。しかし内分泌かく乱物質として疑われており、衛生試験法では環境試験法(水質)および生活用品試験法(器具・玩具)が設定されている。食品分野でもプラスチック包材は広く使われており、安全性の面から食品に移行するフタル酸エステル類を容易に実態把握できることは意義深い。そこで、水質試験の公定法である有機溶媒抽出法などと比較し、操作上簡易であるSPME(固相マイクロ抽出)の有用性について検討した。

**【方法と結果】**GC/MS装置はHP5890シリーズII(カラム:Ultra Alloy UA-5+)および日本電子GCmate(BU-20)。試料はスペルコEPA 606標準6種混合物を用いそれぞれ20 μg/Lに設定した水溶液を用いた。ファイバーの種類、溶液温度、抽出方法(ヘッドスペース、浸漬)あるいは塩析効果について6種のフタル酸エステル類の抽出率を検討し、さらに食品抽出で想定される懸濁液モデル系についても検討を行った。ファイバーの種類では低極性分配モードの7 μm PDMS化學結合型が良好であった。ヘッドスペース法では溶液加温を行っても10 %を上回る回収率を得ることができなかった。浸漬法では、溶液温度70°C以上で回収率はほぼ飽和となる(70 °C:82.4±8.6 %, DEHP SIM m/z 149)が、さらに食塩添加の塩析効果によりその回収率が向上した。

発表学会：食品酵素化学研究会第3回学術講演会（2003年9月，盛岡）  
演題：麹菌の着色因子に関する研究—チロシナーゼ遺伝子の菌株間比較—  
発表者：○小笠原博信，今野 宏\*，高橋砂織（秋田県総食研，\*株秋田今野商店）  
要旨：【目的】酒，味噌・醤油，漬物等の米麹を使用した発酵食品の商品価値は外観の「白さ」に影響される。そこで、褐変性因子の一つとされるチロシナーゼの影響を解明することを目的として、褐変性の異なる実用麹菌(*Aspergillus oryzae*)のチロシナーゼ遺伝子 *melO*<sup>1)</sup>をそれぞれクローニングし、遺伝子構造について菌株間の比較を行った。

【方法】供試菌として強褐変性株 *A.oryzae* AOK-1，及び非褐変性株 *A.oryzae* AOK-64（秋田今野商店），さらに白色系株 *A.oryzae* W-6（秋田総食研保有株）の3株を選択した。褐変性比較のため、米麹を製麹し、国税庁所定分析法に従い酵素抽出液を調整した。チロシナーゼ活性（DOPA 酸化活性，475nm），米麹の麹菌体量および糖化力（キット法，キッコーマン）を測定した。*melO* (*A.oryzae* RIB 128) 遺伝子<sup>1)</sup>を基に設計したプライマーと *LA Taq*（宝酒造）を用いて PCR を行った。目的の 1.2kb のプロモーター領域と 1.7kb のチロシナーゼ遺伝子コード領域が得られ、菌株毎の各フラグメントを pGEM-T ベクタ（プロメガ社）に挿入し、塩基配列決定と配列の菌株間比較を行った。

【結果】米麹の褐変性は AOK-1 株で大きく、W-6 株ではわずかで、AOK-64 株においては、ほとんど褐変化が認められなかった。チロシナーゼ活性は米麹の褐変性と相応して AOK-1 株で最も高く、W-6 株ではその 1/10，AOK-64 株では 1/100 の相対活性であった。一方、米麹の糖化力も AOK-1 株で高かったが、AOK-64 株、W-6 株ではともに相対活性は 1/3 程度であった。*melO* 遺伝子比較の結果、チロシナーゼ部分で AOK-1 株が RIB 128 株の *melO* と 100% 一致していたが、AOK-64 株では 19 塩基の変異とアミノ酸 5 個の違いが認められ、また、W-6 株では 6 塩基、アミノ酸 3 個の違いが認められた。米麹の褐変性に及ぼすチロシナーゼ活性および遺伝子構造の差違による寄与が示唆された。

1) Y.Fujita, et al. *Biochim. Biophys. Acta*, **1261**, 151-154 (1995).

発表学会：食品酵素化学研究会第3回学術講演会（盛岡市）  
演題：マイタケプロテアーゼとプロテアーゼフリーマイタケ  
—プロリルアミノペプチダーゼを中心に—  
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)

【目的】現在我々食習慣のある担子菌類由来の各種プロテアーゼに関する研究を行っている。今回、マイタケ(*Grifola frondosa*)に注目し、アミノペプチダーゼを探査した。その結果、新規のプロリルアミノペプチダーゼ(GfPAP)を見出し、その諸性質について検討を行った。

また、マイタケは強力な耐熱性プロテアーゼ活性を有することが知られており、パン・麺類・茶碗蒸しといったタンパク質の物性を利用した食品への応用は困難であった。そこで、プロテアーゼ活性を低減した乾燥マイタケ作製法の検討を行ったので併せて報告する。

【結果と考察】GfPAP は、中性領域で安定であり、比較的幅広い pH 域で活性を示した。反応至適温度は 60°C 付近であり、また本酵素は 60°C 付近まで安定であった。Pro-pNA に対して高い活性を示した。本酵素は PCMB やモノヨード酢酸によって阻害され、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filtration 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。

マイタケの加熱処理条件を工夫することで、プロテアーゼ活性をほぼ完全に失活させることに成功し、タンパク質含有食品へ直接利用可能であることが示された。

発表学会：日本食品科学工学会50回大会、2003年（東京都）

演題：麹菌 *Aspergillus oryzae* の菌株の違いが味噌の抗変異原性に与える影響

演者：○渡辺隆幸、尾張かおる、高橋光一、堀 一之、柴本憲夫

（秋田県総合食品研究所）

【目的】味噌中の既知の抗変異原物質として報告されている脂肪酸エステル、脂肪酸、イソフラボン類などの抗変異原物質の生成や構造変化には麹菌の生成する酵素が密接に関与している。しかし麹菌の菌株の違いが味噌の抗変異原性に与える影響を調べた報告例は少ない。そこで本研究では *A. oryzae* の様々な食品産業用保存株をそれぞれ単独で用いて製造した味噌の抗変異原活性の比較を行い、菌株の違いにより味噌の抗変異原活性の差が生じる原因について検討を行った。

【方法】今回の研究に用いた21株の *A. oryzae* はすべて（株）秋田今野商店所有の醸造用保存株を、対照として別メーカーの味噌用種麹を用い、各菌単独の米麹を作成した。各米麹を使用し、酵母を添加しない条件で4kg規模で製造した味噌から5gを採取し、80%メタノールで抽出した溶液を抗変異原性試験に供した。抗変異原性の評価は変異原Trp-P-2にS9 mixを加えた条件で *Salmonella typhimurium* TA98を用いたエイムス試験によった。

【結果】対照と比較して明らかに活性の高い味噌が3点認められた。

麹菌 K27 を使用した最も活性の高い味噌と対照の味噌をヘキサンと80%メタノールで段階的に抽出した結果、ヘキサンと80%メタノール双方の抽出部分に活性を認め、双方ともK27 使用味噌の活性が対照の味噌より高かった。味噌のソックスレー抽出物についてGC分析を行った結果では、高活性の味噌の遊離脂肪酸量が対照の1.5～3倍ほど多いことが認められた。また各種酵素力値を調べた結果、K27 使用麹のリバーゼおよびセルラーゼの力値が対照の麹の力値よりも高いことを認めた。すなわち今回調べた味噌の脂質部分の結果から、麹の各種酵素の作用により生成する遊離脂肪酸が味噌の抗変異原活性に大きく影響していることが示唆された。

発表学会：2004年度日本農芸化学会大会（広島大学）

演題：高度生澱粉資化性菌の生産するアミラーゼについて

発表者：○金子 隆宏、大能 俊久、大久長範（秋田県総食研）

秋田県内製粉工場の汚泥より生澱粉資化性の高い菌株を見出した。16S-rDNA 約500bp の相同性より本菌株は *Streptomyces* 属と思われた。本菌株の培養上清を澱粉吸着、DEAE-及びゲル濾過処理し、SDS-PAGE 的に単一の酵素蛋白(比活性 11.7U/g)を得た。本酵素は分子量約50kDa、反応至適温度50～60°C、至適pH6.0付近であった。本酵素は50°C以下の加温処理で100%、60°Cで50%、70°Cでほぼ0%の残存活性を示し(Ca<sup>2+</sup>共存下 pH5.0で30min処理)、各pHでの相対残存活性は、pH4.0で13%、pH5.0で83%、pH6.0で100%、pH7.0で63%であった(Ca<sup>2+</sup>共存下 50°C 1h処理)。また本酵素はCa<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>などで促進され、Cu<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>(何れも塩化物)などに阻害された。この傾向はα化澱粉より生澱粉に対して、より顕著であった。本酵素は澱粉、glycogen、G4以上のマルトオリゴ糖に作用し、主にG2、次いでG3、G1など生成したが、G1～3、pullulan、CDsには作用しなかった。本酵素は小麦(100)に、次いで米(96.6)、餅米(86.1)などの生澱粉によく作用したが、corn(52.7)、waxy corn(49.1)に対しては、芋類と同等であった(馬鈴薯(56.1)、甘藷(40.8)、tapioca(49.9)、括弧内は相対活性、可溶性澱粉(238.7))。

発表学会：日本食品科学工学会50回大会、2003年（東京）

演題：発芽玄米と粉発芽玄米の遊離アミノ酸含量の比較

発表者：○大久長範・大能俊久・森 勝美（秋田県総合食品研究所）

【目的】粉発芽玄米は、種子を粉の状態で発芽させ一旦乾燥した後に、脱皮し玄米にしたものである。脱皮時の衝撃が加わっていない粉状態の種子は、玄米より発芽率が高く活発な生育をすると傾向がある。従来の発芽玄米と粉発芽玄米を比較するために、遊離アミノ酸等を調査した。

【方法】玄米（あきたこまち、キヨニシキ）、発芽玄米（さがわい食品、M&M、ファンケル、亀田製菓）、粉発芽玄米（JA こまち）を使用した。発芽玄米その他の粉碎物に0.1N HClを加え、遊離アミノ酸とγ-アミノ酪酸を抽出した。アミノ酸等は自動アミノ酸分析機（日本電子、JLC-500V）で分析した。温度処理：48h 発芽させた粉を、金網バケットに入れ、40、50、60°Cの温水で1時間処理した。処理済みの粉は室温で乾燥した。

【結果】1) 玄米、発芽玄米及び粉発芽玄米の試料中の遊離アミノ酸含量とγ-アミノ酪酸含量には正の相関（0.928）が認められた。2) あきたこまちを原料とした試料がγ-アミノ酪酸含量が高く、ミルキークインの玄米を原料とした試料はアラニン含量が高いという傾向があった。3) 粉発芽した種子を、50°Cと60°Cで処理したところ、遊離グルタミン酸が減少し、遊離アラニンが増加した。

発表学会：食品科学工学会東北支部大会、2003年（仙台市）

演題：コロニー形成曲線の乾燥食品に存在する細菌への適用

発表者：○大久長範・森 勝美（秋田県総合食品研究所）

乾燥状態の食品は賞味期間が長く設定されていることが多い。玄米、発芽玄米や乾めんの賞味期限は6ヶ月から数年と長く、微生物活動は極端に抑制されていると考えられる。乾めんや玄米等の乾燥した状態にある食品や食品原料中に存在している微生物の状態を推測する為に、服部らの方法に従い、コロニー出現曲線を解析した。【実験方法】粉で保存していた秋田産あきたこまち、粉のままで発芽した粉発芽玄米、稻庭うどん（稻庭吉左衛門）を使用した。試料を滅菌水により段階希釀し、段階希釀した。希釀液0.3mlから1mlをペトリディスク（一般細菌計測用、3Mヘルスケア社製）に重層し、25°Cで培養した。

【実験結果と考察】1) 乾燥状態の食品のペトリディスクにおけるコロニー出現のパターンは異なっていた。2) コロニー数のから $\log(N_{\infty} - N)$ を求め培養時間に対してプロットしたところ、直線が得られ、服部らの一次反応モデルが成り立つことを確認した。コロニー形成曲線からλ（単位時間当たりのコロニー出現率）とtr（最初のコロニー出現までの時間）を求めた。3) 発芽玄米にはコロニー形成が速やかな細菌の存在が確認された（λ=2.7）。玄米中の微生物は24時間の誘導期を経てコロニーを形成し、コロニー数は100時間まで緩やかに増加した（λ=1.4）。4) 稲庭うどんには、50時間という長い誘導期を経て緩やかに増殖する細菌が存在した（λ=1.2）。

演題：無洗米のタンパク質の挙動  
発表学会：2003年9月 日本食品科学工学会（東京都）  
発表者：○大能俊久、金子隆宏、大久長範  
(秋田県総合食品研究所)

【目的】近年洗わないで炊ける無洗米が普及している。そのテクスチャーを普通精米を洗わないと比較したところ、無洗米はバランス度（米飯の粘りを硬さで割った値）が高い結果となった。このような無洗米のテクスチャー改良の原因がタンパク質にあるのではないかと考えて無洗米のタンパク質の挙動について検討を行った。

【方法】試料はBG無洗米、NTWP無洗米、スーパージフライス無洗米と普通精米で品種はいずれもあきたこまちである。これらについて以下の測定を行った。

①1.6倍量の蒸留水浸漬時、及び100℃達温時の溶出タンパク質量

②精米外層を10%研削した粉のタンパク質含有量

【結果】蒸留水浸漬1時間後の溶出タンパク質量は精米100g当たり、普通精米（水洗なし）で116mg、無洗米で48～60mg、水洗した普通精米は17mgであった。100℃達温時の溶出タンパク質は、普通精米（水洗なし）で162mg、無洗米で83～93mg、水洗した普通精米は50mgであった。このように無洗米の溶出タンパク質量は普通精米と普通精米を水洗したものとの間の値を示した。

一方、精米外層のタンパク質含有量は、普通精米で13.9%、無洗米は12.5～13.7%であり、無洗米で低い傾向を示した。

以上のように、無洗米化処理により無洗米外層のタンパク質量が少ないこと、にもかかわらず溶出タンパク質量が水洗した普通精米より多いことが分かった。

演題：3種無洗米米飯のこげに関する研究  
発表学会：2003年11月 日本食品科学工学会東北支部大会  
発表者：○大能俊久、堀川あゆみ\*、金子隆宏、大久長範  
(秋田県総合食品研究所、聖霊女子短大\*)

【目的】無洗米の流通量は年々増加し、2002年には米の全流通量の約10%を占めるに至っている。研ぎ汁を出さないなど環境に優しい商品である無洗米は、今後もその需要が増加すると考えられる。

しかし、無洗米は研がずに炊飯することから、普通精米を水洗したものに比べて浸漬液中に固形分が多くなることが指摘されており、このことから無洗米米飯ではこげができるやすいと予想される。そこで市販の主な無洗米、3種についてこげの出来具合を調べた。また、浸漬液中のこげに関与すると考えられる成分の定量を行った。

【方法】試料として2001年秋田県産あきたこまち3種類{BG無洗米、スーパージフライス(SJ)無洗米、NTWP無洗米、いずれも水洗をしないで使用}と普通精米あきたこまち(2.5倍量の蒸留水を加えてさじで10回攪拌する水洗操作を5回行ったもの)を使用した。米100gに対して蒸留水160gを加えて、浸漬時間は1、または18時間とし、ナショナル電気炊飯器SR-W100で炊飯した。

1) こげの数値化：こげの部分を採取してミノルタ色彩色差計CR-200でL\*a\*b\*値を測定した。

2) 浸漬液中の還元糖の定量：採取した浸漬液にエタノールを加えて80%エタノール溶液となるようにした。その後減圧乾固して蒸留水に溶かし、ダイオネクス社製Dx500クロマトグラフィーシステムで還元糖の分離と定量を行った。3) 浸漬液中の遊離アミノ酸の定量：上記減圧乾固品を0.02N塩酸溶液に溶かして日本電子データム社製全自動アミノ酸分析機JLC-500/Vで遊離アミノ酸を定量した。

【結果】無洗米3種の中ではNTWP無洗米を18時間浸漬した米飯のこげが多かった。それは、黄色みを示すこげのb\*値の大きいことからも確認できた。

浸漬液中の還元糖はグルコースが主要成分であった。また、遊離アミノ酸はアスパラギン酸やアスパラギン、グルタミン酸、アラニン、γ-アミノ酪酸、アンモニアなどが主要成分であった。総還元糖量と総遊離アミノ酸量は、NTWP無洗米を18時間浸漬したものが一番多かった。これはこげの結果と一致しており、還元糖と遊離アミノ酸がアミノカルボニル反応を起こしてこげが生成しているためであると推察した。また、酵素反応などにより浸漬時間が長いほうが還元糖と遊離アミノ酸が増加する傾向を示していたことから、浸漬時間が長くなるとこげができやすくなると考えられた。

学会発表：日本食品科学工学会第50回大会（東京農大）

演題：ハタハタ (*Arctoscopus japonicus*) 卵巣のゼリー状物質について

発表者：○戸枝一喜\*、塚本研一\*、杉山秀樹\*\*、舟木勉\*\*（秋田総食研\*、秋田水産振興センター\*\*）

#### 要旨

【目的】ハタハタはしょっつる鍋、ハタハタずしの原料として利用されている。季節ハタハタ漁時には産卵期のメスは抱卵し、その卵巣はゼリー状の物質を含んでいる。また、生のハタハタを塩焼きにしてもそのゼリー状物質は熱凝固せずにゼリー状態を保っており、その食感が好まれている。一方、卵巣のゼリー状物質は熱には比較的安定なもの、冷凍、塩蔵によって著しく失われることが知られている。そこで、加工の観点からゼリー状物質の安定化を図るために基礎試験として、ゼリー状物質の性質、化学成分について検討した。

【方法】ハタハタは秋田県男鹿市北浦漁港産の産卵期の3~4才のメスを試験に供した。卵巣を卵とゼリー状物質に分離し、得られたゼリー状物質について諸性質および一般成分分析を行った。構成アミノ酸は塩酸またはメタンスルфон酸で加水分解し、アミノ酸分析計に供した。蛋白質はケルダール法、全糖量はオルシノール硫酸法にて定量した。

【結果】産卵期の3~4才のハタハタ卵巣は体重の29.4%にも達した。卵巣からゼリー状物質をまた、卵巣のゼリー状物質の固形分はハタハタ卵巣固形分の2.49%であった。一般分析の結果、ハタハタ卵巣のゼリー状物質は蛋白質(71.9%)、糖質(1.38%)、灰分(20.7%)からなっていた。灰分の主にNaであり、灰分は透析することにより殆ど除去されることから、Naは無機塩で存在すると考えられた。ゼリー状物質の構成アミノ酸を分析した結果、全てのアミノ酸が検出され、特にGlu、Asp、Tyrのアミノ酸が組成比として10%を超えていた。ゼリー状物質の凍結乾燥物は加熱により水に溶解し、粘ちよう溶液となった。その他、NaOH水溶液、SDS水溶液に室温で溶解した。その分子量をSDS-PAGEで分析した結果、1バンドのみであったことから、1種類の蛋白質から成るものと考えられる。その分子量は43kDaであった。以上の結果からハタハタ卵巣のゼリー状物質は蛋白質であることが示唆された。

学会発表：日本農芸化学会2004年度大会（広島大）

演題：*Bacillus polymyxa* KT551 マンナナーゼによるタラガムからのガラクトマンノオリゴ糖の生成

発表者：○戸枝一喜、堀一之、保苅美佳、伊藤聖子<sup>1</sup>、加藤陽治<sup>1</sup>（秋田県総食研、1弘前大・教育）

#### 要旨

【目的】マンノオリゴ糖の機能性については比較的検討されているが、ヘテロオリゴ糖であるガラクトマンノオリゴ糖については機能性研究が余り進んでいない。そこで、ガラクトマンナンであるタラガムから酵素によるガラクトマンノオリゴ糖の生産方法の検討とガラクトマンノオリゴ糖の機能性について検討した。

【方法】酵素糖化液は活性炭クロマトグラフィーおよびゲルろ過に供し、オリゴ糖の精製をおこなった。オリゴ糖はHPAEC-PADにより分析した。

【結果】*Bacillus polymyxa* KT551 マンナナーゼをタラガムに作用させたところ、M2、M5のマンノオリゴ糖が生成すると共に、2種(GM1、GM2)のガラクトマンノオリゴ糖の生成が確認できた。構造解析の結果、GM1は $\beta$ -1,4-マンノトリオースにガラクトースが1分子結合した4糖であった。GM2は $\beta$ -1,4-マンノテトラオースにガラクトースが1分子結合した5糖であった。詳細構造については現在検討中である。GM1は主生成物であり、タラガムから27.3%、GM2は13.0%生成した。また、GM1、GM2のビフィズス菌増殖活性を検討した結果、活性が認められた。

発表学会：日本分析化学会第 52 年会（仙台市）

演　題：近赤外スペクトルのバーコード化による判別解析手法の開発

発表者：○熊谷昌則<sup>1, 2</sup>、李 華<sup>1</sup>、高橋 豊<sup>1</sup>、天野敏男<sup>3</sup>、小川信明<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田大工学資源、<sup>3</sup>オプト技研）

【緒言】我々は、これまで種々のプラスチック素材や食品素材の近赤外スペクトルから、素材の化学構造に基づいたスペクトル情報を効率的に抽出し、それを定性・定量分析に役立てるためのスペクトル解析法について検討している。その際、得られた近赤外スペクトルに対しては、単に数学的・統計的的解釈のみならず、化学的解釈を行うことに主眼をおいてきた。この研究では、近赤外スペクトルのバーコード化による新たなスペクトル前処理法を考案し、これを判別解析に応用した。

【方法】近赤外の原スペクトルには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ることから、通常はスペクトルの前処理が行われる。二次微分化処理は、有効な前処理法のひとつとして知られており、これによってピークの符号は反転するものの、原スペクトルのピーク位置が保持されたまま二次微分スペクトルのピークに変換されるので、原スペクトルとの対応が視覚的に把握しやすいという特長がある。ここでは二次微分化処理をさらに発展させ、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 値化変換法を考案し、これをバーコード処理と呼び、波長に対してプロットした図をバーコードスペクトルと呼ぶことにした。

【結果と考察】バーコード変換したスペクトルを用いて、9 種類のプラスチック素材 71 点を主成分分析により判別したところ、原スペクトルや二次微分スペクトルを用いたときに比べて、より良好な判別結果が得られた。NIR スペクトルは、試料の表面状態の違い、たとえば形状や、さらには汚れや傷などといった要因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ることがある。したがって、スペクトル間の類似度を過度に比較すると誤判別する危険性があり、簡素化した必要最小限の情報で判別するのが望ましいと考えられる。バーコード処理では、一部のスペクトル情報を損失することになるが、バーコードスペクトルは判別のための十分な情報量を有していることが示された。現在、バーコードスペクトルへの変換方法、ならびに他の食品素材等の判別への応用も検討中である。

発表学会：日本分析化学会第 52 年会（仙台市）

演　題：近赤外スペクトルによる石膏（硫酸ナトリウム）水和物の組成分析に関する基礎研究

（ポスター発表）

発表者：○熊谷昌則<sup>1,2</sup>・天野敏男<sup>3</sup>・小川信明<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田大工学資源、<sup>3</sup>オプト技研）

【目的】平成 9 年 4 月に、従来の塩専売法に代わって新たな塩事業法が施行され、塩の製造、輸入、卸売が登録・届出制となり、小売についての制限がなくなったのにともない、国内各地で地崎の海水を煮詰めるなどして製塩された塩が製造、販売されるようになった。石膏（硫酸ナトリウム）は海水を煮詰めていく工程で析出する成分であるが、二水和物、半水和物、無水和物の 3 形態をとり、しかも温度条件や母液組成によって析出する形態が異なるなどの現象が知られている。本研究では、製塩工程における石膏の析出形態を迅速、簡便に調べる方法として、近赤外スペクトルによる石膏水和物の組成分析について検討した。

【実験】硫酸ナトリウム水溶液と塩化カルシウム水溶液を等モル比で混合して得られた沈殿を、40°C、24 時間保持して石膏二水和物を得た。その一部を 150°C、8 時間保持して石膏半水和物を、また 600°C、8 時間保持して石膏無水和物を得た。それぞれの石膏水和物を所定量ずつ混合して、石膏水和物混合試料を調製した。試料の近赤外スペクトルは、ポータブル近赤外分光装置 PlaScan-SH（オプト技研製）によって、1200-2400nm の領域を透過反射法で測定した。

【結果と考察】得られた石膏水和物 3 形態の近赤外スペクトルは、それぞれ異なったスペクトルパターンを示し、二水和物では、水の OH 伸縮 1 次倍音に帰属される明瞭な吸収バンドが 1450、1945nm に観察されたのに対して、半水和物ではこれらが低波長側に約 20nm シフトしているのが観察された。無水和物の場合は、いずれもブロードで非常に弱い吸収が観察されるのみであった。石膏水和物混合試料の近赤外スペクトルから、主成分分析により求められた主成分スコア散布図を用いることによって石膏水和物 3 形態の混合組成比が推定できることが明らかになった。波長寄与率スペクトルから、主成分スコア散布図の主成分 1 軸は主として二水和物と無水和物の判別に対する寄与が高く、主成分 2 軸は半水和物に対する寄与が高いことが示された。これらの結果は、石膏水和物 3 形態の組成比に応じて求めた合成スペクトルの計算値とも非常に良く一致しており、近赤外スペクトルにより石膏水和物の組成分析が可能であることを示すのみならず、近赤外スペクトルにおける OH 吸収バンドの挙動に関する興味深い知見をもたらした。

発表学会：日本素材物性学会平成 15 年度年会（秋田市）

演題：稲庭うどんの製造における原料、工程、品質管理に対するポータブル近赤外分光装置の適用

発表者：○熊谷昌則<sup>1, 2</sup>、松浦奈津美<sup>1</sup>、大久長範<sup>2</sup>、天野敏男<sup>3</sup>、小川信明<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>秋田大工学資源、<sup>2</sup>秋田総食研、<sup>3</sup>オプト技研）

【目的】我々の研究グループでは、近赤外分光法の優れた特性に着目し、種々の食品素材やプラスチック素材の定性、定量分析法に係わる研究を行ってきた。本研究では、一連の基礎研究で得られた成果を秋田県の地場産業である「稲庭うどん」に活用できるのではないかと考え、それを実証するための研究に取り組んだ。

【実験】稲庭うどんの原料は小麦粉、食塩、水のみであるが、本研究では、製麺用小麦粉 10 検体を測定試料として用いた。また、稲庭うどん製品は、メーカーの異なる市販の 22 検体を用い、麵状のままのものと、比較のため麵を粉碎して粉状にしたものとを測定試料とした。試料の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。

【結果と考察】近赤外スペクトルを用いると、原料小麦粉の定性判別のみならず、水分、たんぱく質などといった複数の分析項目を 1 回の測定で精度よく定量することが可能であった。また、稲庭うどん製品は、粉碎することなく、麵状のまま一般成分が定量できることが明らかになった。水分は稲庭うどんの乾燥工程できわめて重要な管理項目であり、理化学分析で行うには数時間かかるが、今回の結果は、うどんを干したまま、その場で非破壊的に水分をモニタリングすることを可能にした。さらに、近赤外スペクトルにより、小麦粉と同様に、稲庭うどんを製品別に定性判別することができたので、マーケティングへの応用が期待される。

発表学会：日本分析化学会第 52 年会（仙台市）

演題：稲庭うどん製造工程へのポータブル近赤外分光装置の適用（ポスター発表）

発表者：○熊谷昌則<sup>1, 2</sup>、松浦奈津美<sup>1</sup>、大久長範<sup>2</sup>、天野敏男<sup>3</sup>、小川信明<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田大工学資源、<sup>3</sup>オプト技研）

【緒言】「稲庭うどん」は 300 年以上の歴史を有し、その製造法は現代にあっても手綱いによる技法が代々受け継がれている。製造現場では、その日の気温や湿度、小麦粉の状態により加水量を微妙に調整するといった職人技が求められ、それが稲庭うどんの安定した品質を生み出しているといわれている。これまで我々の研究グループでは、種々の食品素材やプラスチック素材の近赤外スペクトルに対して、単に数学的・統計学的解釈のみならず、分析化学的理解にもとづいた解釈を与えるためのスペクトル解析法を検討してきた。そこで、一連の基礎研究で得られた成果を地場産業の稲庭うどんに活用できるのではないかと考え、それを実証するための研究に取り組んだ。

【実験】測定試料は、製麺用小麦粉 10 検体と、メーカーの異なる市販の稲庭うどん 22 検体（麵状のままのものと、比較のため粉碎して粉状にしたもの）である。近赤外スペクトルは、ポータブル型近赤外分光装置 PlaScan-SH（オプト技研）を用いて拡散反射法で測定した。試料の水分、たんぱく質、灰分、脂質、炭水化物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。小麦粉の平均粒度は、レーザー回折粒度測定装置を用いて測定した。稲庭うどんの一般生菌数は普通寒天培地法でカウントした。

【結果と考察】製麺用小麦粉 10 検体の近赤外スペクトルから主成分分析により得られた主成分スコアプロットに対して、主成分 1 は主として平均粒度、たんぱく質量が関与し、また主成分 2 は主として炭水化物、たんぱく質、水分、脂質量が関与していることが示された。また波長寄与率スペクトルから主成分 2 に対しては、でんぶん、水、たんぱく質、アミノ酸に帰属される波長領域の寄与が高いことが定量的に示された。一般に拡散反射スペクトルは、測定試料表面の物理特性の影響を受けることが知られているので、稲庭うどんについては、麵状のままの試料と、検体を粉碎して均一化した粉末試料について、近赤外スペクトルを測定し比較したが、麵状のままでも化学成分を瞬時に他成分同時に、精度良く定量できることがわかった。また、稲庭うどんの水分が一般生菌数とほぼ比例することもわかり、本法で用いたようなポータブル近赤外分光装置を用いることによって、稲庭うどんの乾燥工程の現場において、非破壊で、誰でも簡単に水分が測定できるということは、稲庭うどんの製造工程管理に大いに役立つものと期待される。

発表学会 : 11th International Conference on Near Infrared Spectroscopy (Cordoba, Spain)  
演題 : Discrimination of Noodle Flours Using a Portable Near Infrared Spectrometer coupled with Chemical Information (Poster session)  
発表者 : Kumagai, M., Ohisa, N., Amano T. and Ogawa N.

Using a portable near infrared (NIR) spectrometer, the PlaScan SH (OPT Research, Inc., Japan) equipped with an acousto-optical tunable filter (AOTF), we examined flours for making Japanese noodles (soba); we relied not only on a statistical and mathematical approach, but also on a chemical interpretation of NIR spectra. Soba, a popular Japanese noodle, is a thin brownish noodle, which is made from buckwheat flour, or from a mixture of buckwheat and wheat flours. Wheat flour can be used as a binding agent and a texture modifier for Soba noodles. Therefore, buckwheat flour is mixed with wheat flour in some ratio.

First, we discriminated between buckwheat flour and wheat flour using NIR spectra. Using original spectra for a principal component analysis (PCA), particle-size difference was extracted and interpreted as the first principal-component factor. However, discrimination of flour materials can not be satisfied by this factor, which results in undesirable systematic variation. After standardized treatment for original spectra, particle-size effects were eliminated; alternatively, differences in chemical content were extracted as principal-component factors. Flour material discrimination was achieved much better using these factors. This study suggests the novel idea of utilizing wavelength contribution ratio spectra for chemically interpreting factors extracted from principal-component analysis for NIR spectra.

Next, we demonstrated prediction of buckwheat-flour-content ratio estimation in mixed flours performed by a calibration equation.

We corroborate the importance of chemical interpretation of the spectra. Therefore, this report also describes the relationship between NIR spectra and chemical-analysis data. Our strategies are to propose a qualitative and quantitative discrimination of materials coupled with chemical information based on their compositional differences; the method relies not only on a chemometrical approach, but also on chemical interpretation of NIR spectra.

発表学会 : 11th International Conference on Near Infrared Spectroscopy (Cordoba, Spain)  
演題 : Discrimination of Plastics based on the Chemical Structures using a Portable Near Infrared Spectrometer (Oral session)  
発表者 : Kumagai, M., Amano T. and Ogawa N.

A portable NIR spectrometer, PlaScan SH (OPT Research, Inc., Japan) equipped with an acousto-optical tunable filter (AOTF), was used to accomplish rapid identification of plastics. Main specifications are: dimensions (250 mmL × 150 mmW × 55 mmD), weight (1.7 kg), wavelength range (1100 to 2500 nm), time required (0.1 to 1 sec, depending on data points and number of repetitions), data points (100, 200, 400, 500, 800, 1200, and 2400 points), radiation source (tungsten halogen lamp, 5 W), and detector (lead sulfide). Standardized normalization treatment of original spectra reveals pattern differences of each spectrum more clearly. Absorbance spectra can easily indicate difference between polyethylene (PE) and polypropylene (PP) with the absorption band of the methylene group at 1410 nm. The result can be used to discriminate PE, PP and the copolymer. This suggestion is supported by principal component analysis of the second-order derivatives spectrum.

We propose the novel idea of utilizing a barcode spectrum, which is derived from the second-order derivatives spectrum and provides the effective alternatives to discriminate kinds of plastics. Second-order derivatives were exchanged to zero or one at all wavelengths; that is, a positive second derivative value is one, the other is zero. We designate this 0/1 value exchange spectrum as a barcode spectrum. The purpose of this 0/1 value exchange is to reduce systematic variation of the data set and extract qualitative information from NIR spectra to discriminate investigated plastic samples. The barcode spectrum sometimes loses information of peak intensity and negative peaks, but it has the advantage of discriminating wide varieties of plastic waste, including dirty, colored, damaged, and so on. Principal component analysis, which is applied to barcode spectra, reveals characteristics and similarity of NIR spectra among plastic samples; NIR spectra and the barcode one reflected the original chemical structure of plastic samples.

発表学会：第3回XYZ系活性酸素消去発光研究会（東京都）

演題：米の活性酸素消去相乗作用

発表者：○秋山美展（秋田総食研）、島田信二（独法作物研）、高田吉丈（独法東北農研セ）、山口誠之（独法東北農研セ）

【目的】遺伝資源として保有している米および大豆の活性酸素消去能を明らかにし、より活性の高い品種の作出と、用途開発を行う。

【方法】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およびその相乗効果をXYZ系活性酸素消去発光法により測定した。

【結果】有色米は単独で高い消去活性を示すが、大豆水抽出液との間の相乗効果は小さく、普通米が高い傾向を示した。大豆の消去活性はイソフラボン含量との間にかなり強い正の相関を示した。米と野菜および果実との相乗効果を調べた結果、ショウガ、ザク口、イチジク、レッドキャベツは強い相乗効果を示した。しかしながら、これらの野菜および果実は、緑茶に対しては負の相乗効果（減衰効果）を示し、相乗効果には正と負の組み合わせがあることがわかった。これらの結果は、活性酸素消去活性を訴求する商品の設計を行う際に原材料選択の重要な情報となりうるものと考えられる。

発表学会：日本食品工学会2003年大会（大津市）

演題：プログラム加熱法による豆腐ゲル強度の改善

発表者：○秋山美展、大久長範、森勝美、三保茂之\*、長繩明大\*

（秋田総食研、\*秋田大工学資源）

【目的】従来の加熱工程制御は対象物の昇温速度、到達温度および加熱時間を制御するだけであるが、プログラム加熱法で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。豆腐のゲル強度向上を目的として、豆乳の蒸煮工程にプログラム加熱法を適用し、豆腐の物性値に及ぼす影響を調べた。

【方法】充分に吸水した大豆1kgに蒸留水1.7kgを加えて磨碎したのち、濾別して豆乳を得た。豆乳は次の温度条件で加熱したのち直ちに冷却した。

a 単純加熱：104°C4分（中間保持なし）。

b プログラム加熱：60–90°Cで5–15分保持後104°C4分

冷却豆乳に凝固剤を加えたのち、85°C20分の加熱により豆腐を作製した。豆腐は一定温度に調整したのちレオナーRE-3305（山電）により破断応力、変形率等の物性値を測定した。また、従来法とプログラム加熱法で作製した豆腐の官能評価のために所内研究員をパネルとした嗜好調査を行った。

【結果】中間保持帯を設けない単純加熱（保持なし）よりも70°Cで10分間の中間保持帯を設けたプログラム加熱の方が破断応力は高くなった。破断エネルギーは70°C15分保持が最大値を示した。破断応力は豆腐の固さ、破断エネルギーは噛み応えに対応する物性値であり、中間保持条件を選択することにより、ある程度の範囲で豆腐の食感をコントロールすることが可能であると考えられる。豆腐製造におけるプログラム加熱法の有用性が確認された。

発表学会：平成14年度食糧庁米加工品需要開発技術普及会議（東京都）

演題：米の活性酸素消去能を最大限に発揮しうる加工技術の開発

発表者：○秋山美展（秋田総食研）

【目的】米は活性酸素消去能を有するが、他の作物に比較すると特別に強い消去能を有するとはいえない。しかしながら、米は大豆や緑茶と共に存するとき、その両者の活性酸素消去能が三倍以上にも高められる事実を見いたした（相乗効果）。この相乗効果発現のメカニズムを探るとともに相乗効果を最大限に生かした食品を開発する。また相乗効果の生体内における有効性を検証することを目的とした。

【方法】SD系ラットにパラコートを経口投与し活性酸素障害を誘導する。あらかじめ米および大豆の混合物を与えた群とコントロール群の尿中8-OHdGをモノクローナル抗体によるELISA法によって分析する。米と大豆の活性酸素消去相乗効果がどの程度臓器障害を抑制するか観察する。

【結果】米と大豆の混合食を与えた群の尿中8-OHdG量はコントロール群に比べて明らかに低下しており、米と大豆の活性酸素消去相乗効果が確認できた。剖検時の臓器観察によつても、コントロール群では肺に明らかな障害が認められたが、混合食群では異常を認めなかつた。これらの結果から、米と大豆の活性酸素消去相乗効果は生体内でも有効に発現しうることが期待される。

発表学会：平成15年秋田応用微生物研究会（秋田市）

演題：微弱発光による活性酸素およびその消去成分の検出、定量法

発表者：○秋山美展、大久長範、森勝美、大久保一良\*

（秋田総食研、\*金沢大院医）

【緒言】活性酸素は生体中で免疫作用や信号伝達などの重要な機能を担つてゐる一方で、がんや生活習慣病などを引き起こす原因物質のひとつと考えられている。穀類をはじめ大豆、緑茶などは日本の食生活を支えてきた重要な食料資源であるが、これらには活性酸素やフリーラジカルの毒性を消去できる能力（活性酸素消去能またはラジカル消去能）を有することが明らかになつてゐる。食による疾病予防や体調調節維持に対する社会の関心は高く、近年では食品およびその原料に含まれる有効成分を医療手段として積極的に活用しようとする補完代替医療が注目を集めている。そのため、活性酸素やその消去成分を迅速簡便に検出・定量できる方法の開発が望まれていた。XYZ系活性酸素消去発光法（以下XYZ法）は活性酸素やその消去成分の検出・定量を簡易迅速に行うことが可能であり、さらにそれらのin situにおける存在を可視化することができる。

【XYZ法】XYZ法は大久保（金沢大）、吉城（東北大）らによって開発された活性酸素およびその消去物質の検出・定量法である。定量可能な活性酸素（またはラジカル）種は、過酸化水素、スーパーオキシドアニオン、ヒドロキシルラジカル、DPPHラジカル、アルコキシルラジカルであり、消去成分としては、大半のフラボノイドやポリフェノール類である。XYZ法の概念と実際の分析について紹介する。

発表学会：2003国際食品工業展アカデミックプラザ (東京都)  
演題：ジュール加熱技術の実用化に関する研究  
発表者：○三保茂之、秋山美展、長繩明大\*、足立高弘\*、和田祐子\*  
(秋田総食研、\*秋田大工学資源)

【目的】ジュール加熱法は従来の伝熱加熱法に比べて多くの利点を有する一方で、加熱対象である食品の自己発熱による加熱であるため、特有の技術課題も内包している。ジュール加熱における発熱は食品材料の電気抵抗率に大きく依存することは明らかであるが、食品の化学成分や理化学的特性、さらには空間的構造との関係についてはほとんど明らかにされていない。本研究はジュール加熱における食品の加熱履歴を表す新しい手法の開発と食品内部における温度分布の非破壊的観察法の開発を目的としている。

【方法】メイラード反応による色素成分の生成を指標とした加熱履歴測定モデルを考えた。加熱溶液の吸光度を加熱温度と時間に対して三次元でプロットすることにより得られる立体の体積を加熱履歴値として定義し、実験値と計算値を比較しながら加熱履歴計算式の精密化を行う。また、感温液晶（温度依存性発色液晶）を用いて食品材料内部の温度変化を非定常的に観察する方法を開発する。

【結果】加熱履歴計算値と実験値は高い相関を示した。本研究で作成した加熱履歴計算式は昇温速度差があったり、中間温度保持部があるなど様々な加熱条件下における加熱履歴を統一的に記述しうることが明らかになった。感温液晶をマイクロカプセル化し、透明ゲル中に均一分散させることによって、温度分解能1.5°C前後で、ゲル内部における温度分布変化を経時的に観察・記録することができた。

発表学会：2003年電気学会 電子・情報・システム部門大会 (秋田市)  
演題：ジュール加熱装置におけるプログラム昇温制御  
発表者：○三保茂之、長繩明大、秋山美展\*、足立高弘  
(秋田大工学資源、\*秋田総食研)

【目的】ジュール加熱における温度制御の精度と安定性の向上を目的として最小分散制御法を導入する。実際の食品加熱に最小分散制御法を適用しその性能評価を行う。

【方法】加熱対象としてキシロースとグリシンの希薄溶液を用いた。メイラード反応によって生じる吸光度変化を加熱履歴指標とした。

【結果】表1に示すように、昇温過程で中間保持部を設けるプログラム加熱においても高い精度で温度制御が可能であった。

表1

温度	保持時間	保持温度の振れ幅	従来法 (PID制御法)
50[°C]	120秒	-0.17～+0.15[°C]	± 0.5～1.0 [°C]
70[°C]	120秒	-0.37～+0.29[°C]	± 0.5～1.0 [°C]

発表学会：第9回豆類利用研究会（善通寺市）

演題：プログラム加熱による豆腐ゲル強度の改善

発表者：○秋山美展、三保茂之\*、長縄明大\*、和田祐子\*、大久長範、森勝美  
(秋田総食研、\*秋田大工学資源)

【目的】従来の加熱工程制御は対象物の昇温速度、到達温度および加熱時間を制御するだけであるが、プログラム加熱法で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。豆腐のゲル強度向上を目的として、豆乳の蒸煮工程にプログラム加熱法を適用し、豆腐の物性値に及ぼす影響を調べた。

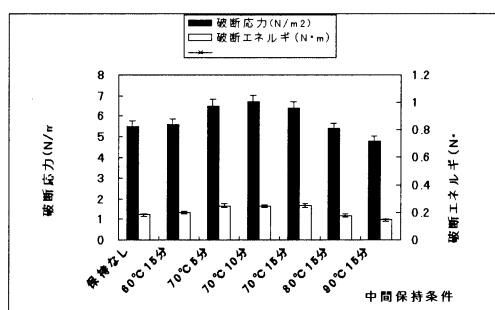
【方法】充分に吸水した大豆1kgに蒸留水1.7kgを加えて磨碎したのち、濾別して豆乳を得た。豆乳は次の温度条件で加熱したのち直ちに冷却した。

a 単純加熱：104°C 4分（中間保持なし）。

b プログラム加熱：60-90°C で5-15分保持後104°C 4分

加熱法の異なる2種類の豆乳に凝固剤を添加し定法により豆腐を作製した。作製した豆腐は一定温度に調整した後、研究所員をパネルとした官能評価試験により嗜好性を調べた。

【結果】中間保持帯を設けない単純加熱（保持なし）よりも70°Cで10分間の中間保持帯を



設けたプログラム加熱の方が破断応力は高くなつた。中間保持条件を選択することにより、ある程度の範囲で豆腐の食感をコントロールすることが可能であると考えられる。官能評価試験の結果、プログラム加熱によって作製した豆腐が有意に好まれた。

発表学会：計測自動制御学会2003大会（東京都）

演題：ジユール加熱におけるプログラム昇温の最小分散制御

発表者：○伊藤博基、三保茂之、長縄明大、秋山美展\*、足立高弘  
(秋田大工学資源、\*秋田総食研)

【目的】ジユール加熱法は食品の加熱加工において多くの利点をもたらすが、ジユール加熱特有の技術課題も存在する。食品の電気抵抗率は温度によって変化するため、従来法である固定ゲイン式のPID制御法では温度制御精度の向上には限界がある。ジユール加熱における温度制御精度の更なる向上と外乱に対する安定性の向上を目的として最小分散制御法を導入し、制御パラメータの最適化を目的とした。

【方法】①制御対象のモデル(積分系)を定め、最小分散制御法による制御系設計を行う。  
②設計した制御系を実験装置へ実装する。③モデル食品による加熱試験を行う。

【結果】単純成分系（食塩水、キシロース-グリシン溶液など）の食品モデルに対しては極めて高い温度制御性を示した。豆乳のような多成分系食品では単純系に比較すると昇温時のリニアリティがやや低下した。これは食品の電気抵抗値の温度依存性が単純系と多成分系では異なるためであると推察される。

発表学会：2003年9月 日本食品科学工学会第50回大会（東京都）

演題：加熱処理米粉糊液のレオロジー特性に与えるpHおよびレトルト処理の影響

発表者：○高橋徹，大久長範（秋田総食研），三浦靖，小林昭一（岩手大・農）

【目的】これまでに加熱処理（乾熱処理、湿熱処理）によって米粉の糊化特性が改質されることを力学特性測定、熱分析、X線回折などから明らかにした。米粉は食品調理・加工用原材料としてさまざまな条件下（低pH、レトルト加熱など）で用いられることが多い。そこで、本研究では加熱処理が米粉の調理・加工適性の向上に資するために、加熱処理米粉から調製した糊液のレオロジー特性に与えるpHおよびレトルト処理の影響を明らかにすることを目的とした。【方法】無処理米粉（UT），160°Cで60分間の乾熱処理した米粉（HDT160）および120°Cで60分間の湿熱処理した米粉（HMT120）を用いた。pHの影響を検討するためにクエン酸ナトリウム緩衝液（pH6.3, 4.5, 2.8）にてRVAによる糊化特性、糊液の流動特性および還元糖量を測定した。また、糊液の加熱耐性を検討するために、レトルト処理（120°C, 20分間）後の流動特性および還元糖量を測定した。【結果】pHを変化させた場合のRVAによる糊化特性の測定から、HDT160およびHMT120の糊化特性値の変化はUTと比較して小さかった。流動特性値や見かけの粘性率に及ぼすpHの影響は、HMT120が最も小さかった。糊液のpHが低下するにしたがい還元糖量は増加したが、UTが最も多く、HMT120が最少であった。また、UTはレトルト処理によってその粘性率が低下するが、HDT160やHMT120の粘性率は変化しないかあるいは増加した。また、レトルト処理前後におけるHDT160およびHMT120の還元糖量はUTよりも少なかった。この結果、乾熱処理ならびに湿熱処理は米粉に耐酸性や耐熱性を付与する加熱処理であると判断された。

発表学会：2003年度 日本生化学会大会（大阪）

演題：Analysis of apoptosis induced by a novel cytotoxic protein, aralin, from *Aralia elate*

発表者：○Takashi Komeno<sup>1</sup>, Makoto Tomatsu<sup>2</sup>, Keiko Kuriyama<sup>1</sup>, Yasushi Kawasaki<sup>1</sup>, Naomi Adachi<sup>1</sup>, Isamu Tamura<sup>1</sup>, Akinori Sugiyama<sup>1</sup>, Akira Ikuta<sup>3</sup>, Fumio Tashiro<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept. of Biol. Sci. and Technol. Tokyo Univ. of Science, <sup>2</sup>Akita Res. Inst. of Food and Brewing, <sup>3</sup>Res. Inst. for Sci. and Technol., Tokyo Univ. of Science)

最近タラノキ (*Aralia elate*) から癌細胞に選択的にアポトーシスを誘導する新規の細胞毒性タンパク質 aralin が戸松らによって報告された。aralin はA鎖、B鎖からなるタンパク質で、B鎖のN末端配列はヒマ種子に含まれる細胞毒性タンパク質 ricin とホモロジーがある。しかし、aralin によって誘導されるアポトーシスの詳細なメカニズムは不明である。そこで、今回 aralin に対する感受性が高いヒト扁平上皮癌細胞 SCC-25 を用いて解析した。ricin は細胞膜上の糖鎖を介して細胞内へ取り込まれ、細胞障害を示すことから、aralin も同様な機構で作用することが予想された。そこで、aralin 誘導アポトーシスに対するゴルジ体の機能を抑制する brefeldin A の影響を調べた。その結果、brefeldin A により aralin 誘導アポトーシスが有意に抑制された。さらに、rRNA Depurination Assay により、aralin のリボソーム不活性化能を調べた。その結果、約 0.5kb の rRNA の切断が検出され、28S rRNA が傷害を受けていることが明らかとなった。aralin によるアポトーシスが caspase を介しているかどうかをウェスタンプロットにより解析したところ、caspase-8 の活性化および caspase-3 の基質である PARP の分解が認められた。また、ヒストン H1 に由来する 17-kDa DNase が検出された。これらの結果より、aralin はゴルジ体を介して ER に運ばれ、リボソームの不活性化および caspase の活性化を引き起こし、最終的に 17-kDa DNase の活性化を介してアポトーシスを誘導することが明らかになった。

発表学会：2003年度日本農芸化学会大会（東京）

演題：食品産業廃棄物のモルトフィードからのL-乳酸の発酵生産

発表者：○進藤 昌、立花忠則、森 勝美（秋田総食研）

【目的】現在、食品工場から排出される植物性産業廃棄物の多くは焼却または埋め立てにより廃棄されており、環境に対する負荷が問題となっている。一方、環境保全のための生分解性プラスチックが開発されているが、原料である乳酸などの価格が高いため普及が進んでいない。そこで我々は、植物性廃棄物であるモルトフィードをモデル廃棄物とした乳酸生産について検討を行ったので報告する。

【方法】モルトフィードは物理的処理である高圧爆碎処理によって液化させた。また液化液の糖化は、セルラーゼ、グルコアミラーゼ及び固定化糸状菌の抽出酵素を用いて行った。

【結果】モルトフィードの爆碎処理条件の検討を行ったところ、30kg/cm<sup>2</sup>で1分間処理したときが最も液化効率が高かった。さらに得られた液化液中の単糖の生成はグルコアミラーゼとセルラーゼを同時に用いて処理を行ったときが最も生成量は多かった。次にモルトフィード液化液からの乳酸発酵について検討を行い、*Lactobacillus rhamnosus* NBRC14710 を用いることにより全糖濃度4%の液化液から14.5(g/L)のL乳酸を得ることができた。

発表学会：2003年度日本農芸化学会東北大会（山形）

演題：ビールの原料であるホップ中に含まれるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPS)活性阻害成分

発表者：○進藤 昌、杉本勇人、立花忠則、森 勝美（秋田総食研）

【目的】マトリックス線維を分解するマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)が種々の病体に関係していることが明らかとなっている。MMPの中でも、線維芽細胞等の間葉系細胞や、炎症部位に存在する好酸球等により産生される間質系のコラゲナーゼ(IV型コラゲナーゼ)が、ガン細胞の転移や潰瘍形成、歯周炎やう歯形成等に関与することが報告されている。一方、人の皮膚のシワやタルミの形成過程で起きる皮膚弾性の減少は、真皮線維芽細胞より産生されるコラゲナーゼ(I型コラゲナーゼ)がコラーゲンの傷害による3次元構造の変性に関わることが明らかとなっている。コラゲナーゼ活性阻害成分をビールの原料を用いて検索を行った。

【結果】ビールの原料であるホップ抽出成分に強いMMP阻害活性成分が見つかった。ホップの熱抽出成分の分画を行い活性成分を調べたところ分子量3000以下のポリフェノール画分に強い阻害活性が認められた。阻害活性の強度は、これまでにMMP活性を阻害すると報告されている緑茶やザクロよりも強く、MMP-1に対して緑茶の2.5倍高い阻害活性を示した。また、ビールの苦味を構成しているα酸およびイソα酸は、MMP活性を全く阻害しなかった。一方、製品ビールおよびホップ入り冷麦汁のMMP阻害活性は、同量の熱水抽出ホップに比較してMMP-1で50%、MMP-2で43%に低下していた。これは、ビール製造工程中にホップと麦汁を煮沸する際にポリフェノールがタンパクと共に沈し、阻害活性成分がビール及び冷麦汁で低濃度になったことに起因すると推察された。

発表学会：第21回 日本植物細胞分子生物学会 香川大会（2003）

演題：タラノキカルスおよび起源植物由来抗腫瘍タンパク質の比較

発表者：○戸松 誠<sup>1</sup>、柴本憲夫<sup>1</sup>、上野雅弘<sup>2</sup>、生田安喜良<sup>3</sup>、近藤俊哉<sup>4</sup>、吉川孝文<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>秋田総食研、東京理大・<sup>2</sup>基礎工・<sup>3</sup>総研、<sup>4</sup>北里大 薬)

【目的】タラノキ (*Aralia elata*, Araliaceae) の新芽から得られたヒト正常纖維芽細胞の増殖に影響を与える、形質転換細胞に選択的致死作用を示すタンパク質 (aralin) は、アポトーシス誘導により、細胞死を引き起こし、タラノキカルスは、aralin 類似なタンパク質 (CA-aralin) を生産すること等を報告してきた。N 末端配列が、type 2 ribosome-inactivating protein (RIP) として知られている ricin と相同性を示す事から、aralin および CA-aralin は数少ない type 2 RIP の一種であることが示唆されている。今回この点を解明するため、type 2 RIP の示す性質が aralin および CA-aralin にも存在するかどうか、さらに両タンパク質の糖鎖のタイプに相違があるかどうかを検討した。

#### 【方法】

- ・レクチン能：ウサギ赤血球凝集活性および糖による凝集阻害活性を常法で行った。
- ・RNA N-glycosidase 活性：ラット肝リボソームを基質とし、脱アデニン反応後に生じる特異的な RNA 断片 (R-fragment) を PAGE により分離して検出した。また EC<sub>50</sub> 値は、PAGE 上 R-fragment バンドの 5.8S バンドに対する相対強度をデンシティメーターで測定することにより算出した。
- ・糖鎖のタイプ分け：レクチン-プロット法で行った。

【結果】aralin、CA-aralin ともに赤血球凝集活性を示した。この凝集は、ガラクトース (Gal) や Gal を含むオリゴ糖等で阻害されたことから、Gal 特異的レクチンであることがわかった。さらに、とともに RNA N-glycosidase 活性をも示したことから、これらは type 2 RIP であることがわかった。また糖鎖は、コンカナバリン A (Con A) および小麦胚芽凝集素 (WGA) により認識されたことから、マンノースおよび N-アセチルグルコサミンを含む糖鎖であることが示唆された。

発表学会：日本薬学会 第123年会（長崎、2003）

演題：タラノキカルスおよび植物体が生産する抗腫瘍タンパク質の活性の比較

発表者：○上野雅弘<sup>1</sup>、戸松 誠<sup>2</sup>、生田安喜良<sup>3</sup>

(東京理大・<sup>1</sup>基礎工、<sup>3</sup>総研、<sup>2</sup>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、新芽から単離されたトリテルペン配糖体は、糖吸収・アルコール吸収抑制能をもつことが報告されている。又、演者らはカルスから数種のトリテルペン配糖体を単離したことを報告している。さらに、戸松らにより起源植物から精製されたヒト正常纖維芽細胞 (WI-38) の増殖に影響を与える、形質転換細胞 (VA-13) に選択的致死作用を示す強力な抗腫瘍活性タンパク質 (ATM) と類似のタンパク質 (CAATM) が、カルスから生産されることを報告してきた。今回、CAATM と ATM の性質及び活性の比較を行ったので報告する。

#### 【方法】

1. 培養および精製法：前回と同様な方法により行った。
2. Assay 法：ヒトガン細胞株 [MKN45 (胃癌)、MIA PaCa-2 (膵癌)、HL-60 (前骨髄性白血病)、SK MEL-28 (メラノーマ)、HeLa (子宮頸癌)、T24 (膀胱癌)、OVK18 (卵巣癌)、Hep G2 (肝癌) ] への 50% 致死濃度 (LD<sub>50</sub>) を WST-1 法により測定した。

【結果】CAATM は、ATM と同じく糖鎖を持ち、また pH・熱安定性が、ほとんど同じであった。さらに、抗 ATM 抗体を用いた ELISA 法において、両者の反応性はほぼ同一であった。両者の LD<sub>50</sub> 値は、ほとんどのガン細胞株に対して約 0.1～数 10 ng/ml であったが、SK MEL-28 に対しては、1 μg/ml 濃度でも致死効果がなかった。現在、カルスの CAATM 生産性について検討中である。

## 7. その他の外部発表論文リスト（12件）

「Selective Activation of N-Acyl-D-Glucosamine 2-Epimerase Expression in Failing Human Heart Ventricular Myocytes」

T. Bohlmeier, A. Ferdensi, M. R. Bristow, S. Takahashi, and S. Zisman

J. Cardiac Failure 9, 59-68 (2003)

「GlcNAc 2-epimerase can Serve a Catabolic Role in Sialic Acid Metabolism」

S. L. Luchansky, K. J. Yarema, S. Takahashi, and C. R. Bertozzi

J. Biol. Chem., 278, 8035-8042 (2003)

「Purification and characterization of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine troponin C」

K. Katayama, M. Tomatsu, H. Fuchu, M. Sugiyama, S. Kuwahara, K. Yamauchi,

Y. Kawamura, and M. Muguruma

Animal Sci. J., 74, 53-58 (2003)

「製麹における原料米の品種と精米歩合の影響」

岩野君夫、伊藤俊彦、長谷川恵美子、高橋和弘、高橋仁、中沢伸重

日本醸造協会誌、99, 55-63 (2004)

「地域特産品と感性—秋田の食から」

高畠聰、大久長範

感性商品開発の実践（日本感性工学会, 日本出版サービス）, 27-34 (2003)

「わが国における食用マメ類の研究」

秋山美展

(独) 農業技術研究機構 (2003)

「米と大豆の組み合わせでパワーアップ！！活性酸素を消す相乗効果」

秋山美展

現代農業（農文協）12月号, 322-325 (2003)

「地域農産物を化学する－秋田・鹿角のしづくりダイコン」

堀一之

FFI ジャーナル、**209**, 52-59 (2004)

「トチュウおよびホップの糖尿病合併予防効果」

戸松誠、進藤昌、柴本憲夫

BIO INDUSTRY **20**, 19-26 (2003)

「発芽玄米の現状と課題について」

大久長範

農業秋田 8月号、17-19 (2003)

「トチュウの新機能－糖尿病合併予防効果」

戸松誠

農業秋田 12月号、13-15 (2003)

「米の利用範囲の拡大を目指して」

高橋徹

農業秋田 2月号、49-51 (2004)

「地ビールの生き残りを賭けて」

進藤昌

農林水産技術ジャーナル、**27**, No.1, 13-14 (2004)

## 秋田県総合食品研究所報告規定

### 【総則】

1. 秋田県総合食品研究所報告は食品研究に関する幅広い分野の報文、研究ノート、特許の要約、既報論文再録等を掲載する。報文や研究ノートは独創的なものであり、価値ある新事実や結論を含むものでなければならない。
2. 投稿者は原則として秋田県総合食品研究所の職員とする。
3. 論文の用語は原則として日本語とする。

### 【掲載論文の種類】

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

#### （報文）（総説）

それ自身独立して完結した論文でなければならない。論文の長さは特に限定しないが、おおむね6－10ページであることが望ましい。

#### （研究ノート）

例えば限られた部分の発見や、新しい実験方法など、報文としてはまとまらないものであっても、報告する価値のあるものとする。3ページ以内にまとめること。

特許の要約は1／2ページにまとめること。

外部発表論文の再録に際しては論文発行元の了解を得ること。

学会発表要旨再録は1／2ページにまとめること。

### 【審査】

1. 原著論文に関しては、複数の編集委員によりその論文の価値判断がなされ、その結果を参考にして掲載の可否が決定される。
2. 編集委員は論文の内容、文章などについて著者に改訂を助言し、あるいは疑義の解明を求めることができる。
3. 編集委員の質問や意見に対して明確な回答がなされた場合は、速やかに修正原稿を提出しなければならない。

### 【原稿の書き方】

1. 一般的注意：論文の記述は正確を期し、全編にわたり簡潔明瞭であること。書き方が不備の場合には原稿の書き直しを求めることがある。
2. 原稿はワードプロセッサーを用いて印刷すること。A4判の用紙を縦長にして、表題は18ポイント、本文は12ポイントで、読みやすいように明瞭に印字すること。なお、書体は原則として明朝体を用いる。
3. 原稿はオフセット印刷となるので、上下、左右には2.5cmの余白を設ける。

### 【論文の形式】

1. 報文は次の形式をとる。
  - (1) 要約、(2) 緒言、(3) 実験方法、(4) 結果、(5) 考察、(6) 文献の順とする。謝辞を入れる場合には文献の前に入れる。
2. 研究ノートは次の形式をとる。
  - (1) 緒言、(2) 実験方法、(3) 結果と考察、(4) 文献とする。
3. 図表は本文中ではFig. 1, TableI (あるいは図1、表1) などのように書く。ただし図や表が1つの場合には番号を付ける必要はない。
4. 図表は本文中に直接挿入するので、明瞭に作成すること。
5. 文献の引用：本文中に該当人名または事項の右肩に引用の順に<sup>1)</sup>、<sup>2-4)</sup> のように番号を付し、一括して文献の項に記載する。
6. 投稿中の論文、私信、未発表結果は文献に入れず本文中に括弧に入れて引用する。
7. 他の論文の著者名を引用するときには混乱の起こらない限り姓のみとする。著者が2名の論文は両者の姓を併記し、3名以上の場合は筆頭著者以外を「他」と略記する。
8. 定義を必要とする略号や記号の使用は最小限にとどめる。使用するときは、初出の箇所に正式名を書き、続けて括弧に入れて略号を入れる。用いた略号は文末（文献のあと）に一括して表示する。表題には略号を用いない。

### 【文献】

1. 引用文献には、本文中の引用順に番号を付けて記載する。
2. 著者名は姓名とも記し、著者全員を記載する。なおページは最初と最後のページを記すこと。文献は著者名、雑誌名（書名）、巻、ページ、発行年の順に記し、欧文雑誌名はイタリック、巻はボールドとする。  
(例) 秋田太郎、新屋次郎、砂奴寄三郎：秋田総合食研報、1, 1-10 (1999)
3. 和文誌名は、科学技術文献速報、欧文雑誌名は *Chemical Abstract* や *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 投稿規定等を参照のこと。

### 【単位、略号と物質の名称】

種々の物理量の単位およびその用語と記号は国際単位系・SI (metric system) を基本とする。常用的に用いられている物質名のうち、極めて使用頻度が高く使い方が国際的に統一されている物質名は、定義なしで略号を用いることができる。

(*Biosci. Biotechol. Biochem.* 投稿規定等を参照のこと)

### 【学名】

学名はイタリックを用いる。

## 秋田県総合食品研究所報告 第6号

編集委員長	所長	伊藤 義文
編集副委員長	場長	立花 忠則
編集委員	中田 健美	
同	高橋 砂織	
同	菅原 久春	
編集幹事	大久 長範	
	伊藤 恒徳	
	大山 実	

発行 平成16年6月25日

発行者 秋田県総合食品研究所

〒010-1623

秋田市新屋町字砂呑寄4-26

電話：018-888-2000（代）

Fax：018-888-2008



この印刷物は表紙を除き古紙配合率100%の  
再生紙を使用しています。