

秋田県総合食品研究所報告

第 7 号

平成17年 (2005年)

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

No.7, 2005

Akita Research Institute of Food and Brewing

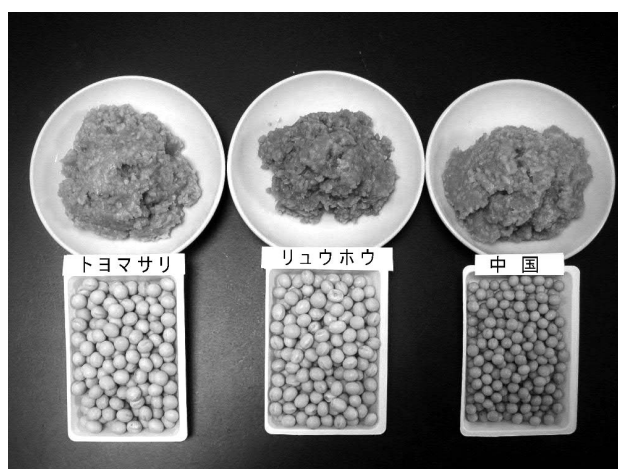
ARIF



【秋田県産地ビール】

「近赤外スペクトルによる ビールのパターン認識分類」

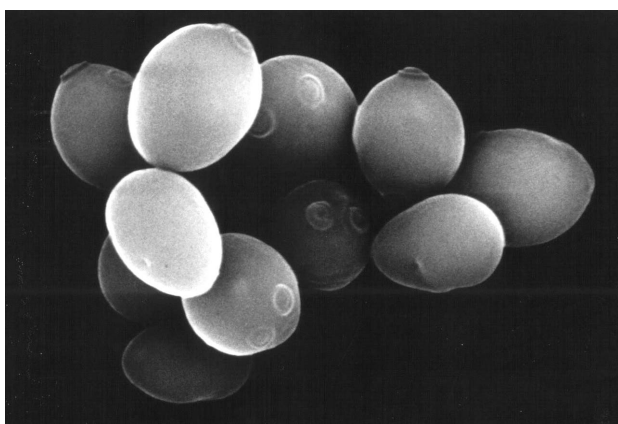
(熊谷 昌則 他)



【県産大豆とそれを用いた味噌】

「高品質味噌を目的とする 県産大豆の蒸煮条件の検討」

(尾張 かおる・渡辺 隆幸)



【こまち酵母】

「色素培地を用いた 優良酵母の育種とその酒造適性」

(渡辺 誠衛 他)

目 次

1. 原著論文（報文）

- ① 「近赤外スペクトルによるビールのパターン認識分類」・・・・・・・・・・ 1
熊谷昌則、高橋 豊、進藤 昌、小川信明
- ② 「味覚センサによる市販食用塩の味質評価」・・・・・・・・・・ 6
熊谷昌則、三浦幸子、杉本真帆、石川匡子、松永隆司
- ③ 「マンナナーゼ生産菌の分離と培養条件の検討」・・・・・・・・・・ 12
戸枝一喜、保苺美佳
- ④ 「食品の加熱工程における加熱履歴表現モデルの構築」・・・・・・・・・・ 17
秋山美展、高橋 徹、大久長範、長縄明大
- ⑤ 「高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討」・・・・・・・・・・ 23
尾張かおる、渡辺隆幸
- ⑥ 「秋田県産酒造原料米における酒造適性の経年変動」・・・・・・・・・・ 31
高橋 仁、渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信、中田健美、立花忠則、田口トモ子
- ⑦ 「色素培地を用いた優良酵母の育種とその酒造適性」・・・・・・・・・・ 38
渡辺誠衛、新野葉子、田口隆信、高橋 仁、大野 剛、中田健美、立花忠則

2. 原著論文（研究ノート）

- ① 「秋田酒こまちと蕎麦における γ -アミノ酪酸の分布」・・・・・・・・・・ 47
大久長範、大能俊久、高橋 仁
- ② 「食品工場におけるカビの発生事例」・・・・・・・・・・ 49
佐々木康子、菅原真理
- ③ 「県産味噌のイソフラボン量と配糖体、アグリコンの比率」・・・・・・・・・・ 53
渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- ④ 「食用担子菌類が持つ各種酵素活性」・・・・・・・・・・ 57
樋渡一之、小笠原博信、堀 一之、高橋砂織

3. 総説

- ① 「安全、高品質な食品製造に関する研究」・・・・・・・・・・ 61
ー秋田県内中小食品製造工場における HACCP 簡易構築の取り組みー
菅原真理、佐々木康子

4. 特許の概要（7件）・・・・・・・・・・ 69
5. 学会発表要旨（33件）・・・・・・・・・・ 73
6. 外部発表論文再録（14編）・・・・・・・・・・ 91
7. その他の外部発表論文リスト（7件）・・・・・・・・・・ 167

1. 原著論文（報文）（7編）

- ① 「近赤外スペクトルによるビールのパターン認識分類」・・・・・・・・・・ 1
熊谷昌則、高橋 豊、進藤 昌、小川信明
- ② 「味覚センサによる市販食用塩の味質評価」・・・・・・・・・・ 6
熊谷昌則、三浦幸子、杉本真帆、石川匡子、松永隆司
- ③ 「マンナナーゼ生産菌の分離と培養条件の検討」・・・・・・・・・・ 12
戸枝一喜、保苺美佳
- ④ 「食品の加熱工程における加熱履歴表現モデルの構築」・・・・・・・・・・ 17
秋山美展、高橋 徹、大久長範、長縄明大
- ⑤ 「高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討」・・・・・・・・・・ 23
尾張かおる、渡辺隆幸
- ⑥ 「秋田県産酒造原料米における酒造適性の経年変動」・・・・・・・・・・ 31
高橋 仁、渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信、中田健美、立花忠則、田口トモ子
- ⑦ 「色素培地を用いた優良酵母の育種とその酒造適性」・・・・・・・・・・ 38
渡辺誠衛、新野葉子、田口隆信、高橋 仁、大野 剛、中田健美、立花忠則

近赤外スペクトルによるビールのパターン認識分類

熊谷昌則、高橋 豊*、進藤 昌、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, Yutaka TAKAHASHI, Sho SHINDO and Nobuaki OGAWA

【要 約】

秋田県産地ビールならびに国産ビール、発泡酒の近赤外 (*Near Infrared*: NIR) スペクトルに対して、ケモメトリックス手法によるパターン認識分類を行い、理化学成分との関連を調べた。

【緒 言】

NIR スペクトルを用いる NIR 分光分析法は、試料をそのまま非破壊で簡便・迅速に分析できるため広範囲の用途で利用されている¹⁾。近赤外分光分析法のビール製造への応用例としては、アルコールの定量²⁾、ビール麦の発酵能に関連してβ-グルカンや麦芽エキス分ならびにホップのα酸などの定量^{3, 4)}などがある。

本研究では、秋田県産地ビールならびに国産ビール、発泡酒の NIR スペクトルに対して、パターン認識分類⁵⁾を行い、理化学成分との関連を調べた。

【方 法】

一般小売店より購入した秋田の地ビール 15 検体ならびに国産ビール、発泡酒 23 検体の計 38 検体を供試サンプルとした。サンプルの NIR スペクトルは携帯可搬型近赤外分光光度計 PlaScan-SH (オプト技研) を用いて、0.5mm の石英セル (藤原製作所) と白色セラミック板を用いた透過反射法により 1200nm~2400nm の領域を 1nm の分解能でスキャンした。サンプルの理化学成分として、苦味価、総ポリフェノール、全窒素、pH、色度、外観エキス、エタノールの項目をビール酒造組合のビール分析法⁶⁾ に準じて定量した。データ解析にはケモメトリックス用ソフトウェア *Pirouette Version 3.11* (InfoMetrix 社) を用いた。

【結果と考察】

サンプルの NIR 原スペクトル (図 1) は、主に水 OH の倍音または結合音に帰属される 1450、1940 nm 付近のバンドピーク、そして主として CH₂ の結合音に帰属される 2310 nm 付近のバンドピークが重なり合った、やや単調な形状を示した。これらのスペクトルから、地ビール、ビール、発泡酒などといったサンプルの種別を視覚的に特定することは困難であった。サンプルの理化学分析値 (図 2) は、サンプルの種別によりエタノール含量に差は認められなかったものの、それ以外の分析項目では有意差が認められた。特に、地ビールは全窒素、外観エキスが他と比べて高い傾向を示しているのが特徴である。

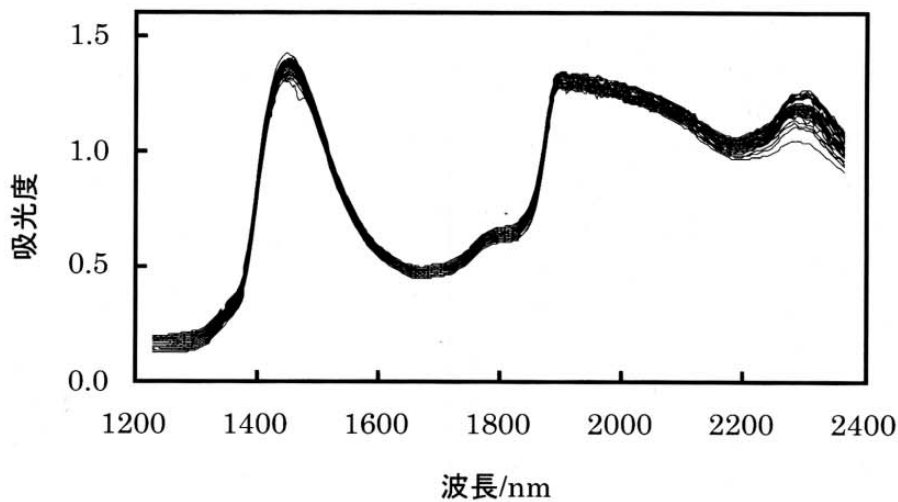


図1 サンプルの（38検体）のNIR原スペクトル

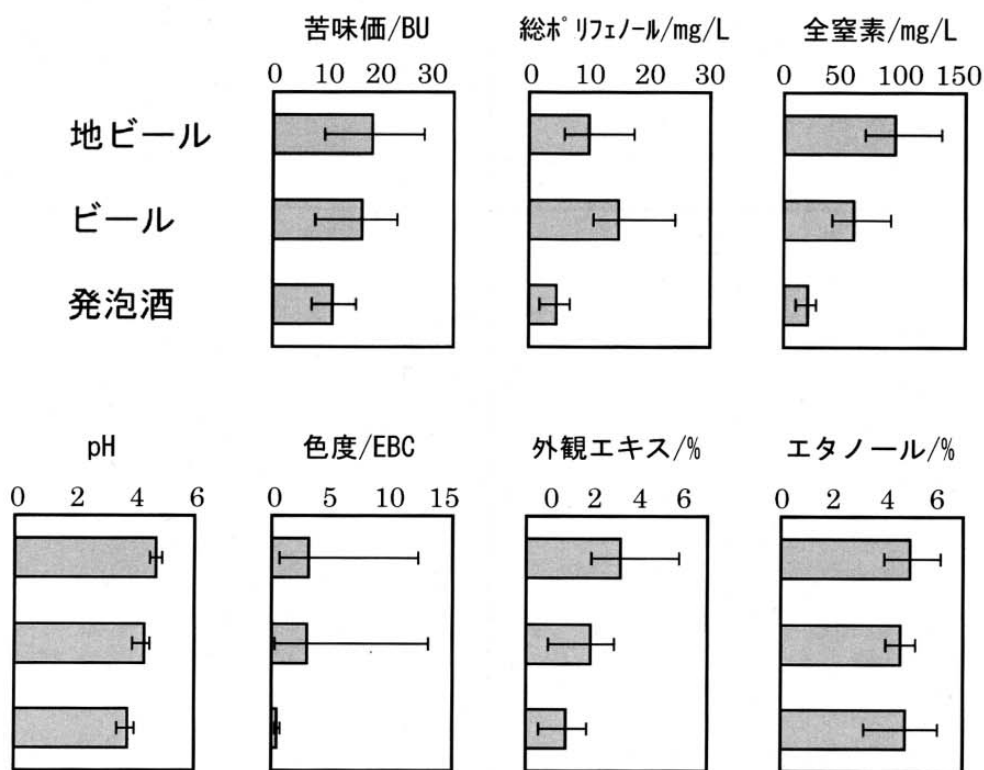


図2 サンプルの理化学分析値

ケモメトリックスによる解析において、はじめに NIR 原スペクトルに対して主成分分析 (*Principal Component Analysis*: PCA) を行い、外れ値の検出を行った。ここでは、図 3 に示すように、サンプル残差とマハラノビス距離における 95% 確率限界に基づくカットオフ値から外れた No.4, 27, 23, 8, 10 の 5 サンプルを外れ値とみなし、以降の解析から除外した。

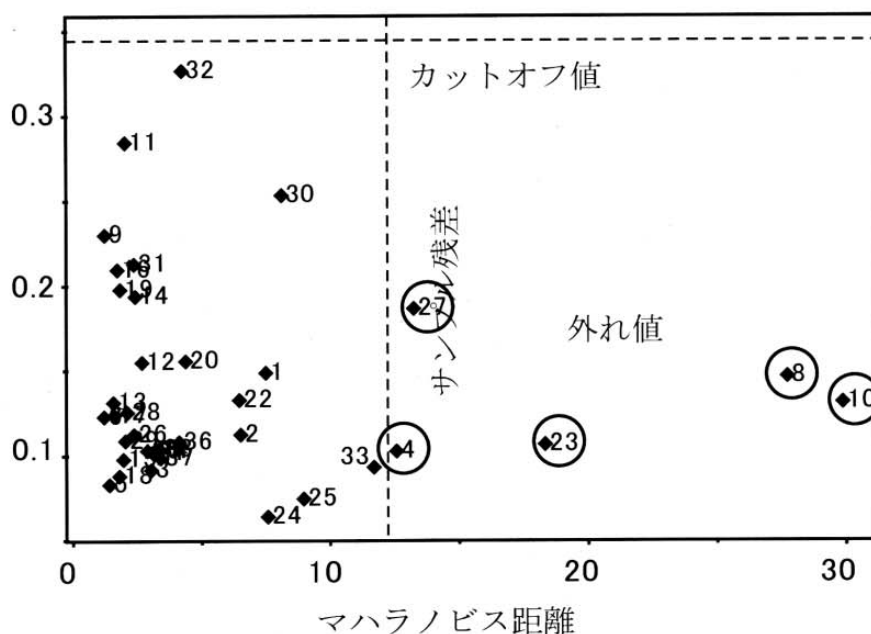


図3 NIRデータのPCAによる外れ値の検出

次に、外れ値を示したサンプルを除外した残りの 33 サンプルに対して SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) を適用し、パターン認識分類によるサンプルの判別について検討した。SIMCA では、それぞれのカテゴリごとに PCA を行い、得られた主成分スコアの分布の広がりに基づき、それぞれのカテゴリの SIMCA box と呼ばれる部分空間を構築するのが特徴である。これに対して、一般によく用いられる線形判別分析などは判別面として分離平面が設定されるため、オーバーフィッティングなどの問題が伴うことがある。図 4 に SIMCA box 構築によるサンプルの三次元空間分布を示した。サンプルの主成分スコアに加えて、それぞれの主成分方向におけるスコアの標準偏差に基づいた楕円部分空間が示されている。ここでは比較のため、NIR データに基づく分布(a)と理化学データに基づく分布(b)を一緒に示してある。NIR データに基づく分布では地ビールのサンプル群がビールおよび発泡酒のサンプル群と明確に離れて分布しているが、ビールと発泡酒の分離は不十分であることが分かる。一方、理化学データに基づく分布では発泡酒のみが他の群と明確に分離され、地ビールとビールでは分布の重なりが見られた。

ここで、部分空間の分離に寄与する変数を明らかにするため、SIMCA box 構築時の Total Modeling Power を図 5 に示した。縦軸の Total Modeling Power は 1 に近いほど部分空間分布に対するその変数の重要度が高いことを意味する。NIR データの場合は、1250-1350nm (主に CH 伸縮振動の第 2 倍音に帰属)、1550-1850nm (主に CH 伸縮振動の第 1 倍音に帰属)、2200nm 近傍領域 (主に NH の結合音に帰属) の波長吸光度が、図 4 で示された地ビール群とビール・発泡酒群を判別するために重要な変数であることが分かる。一方、理化学データの場合は、全窒素、外観エキスが、図 4 において発泡酒群とビール・地ビール群を判別するために重要な変数で

あることが示された。図2の結果からは、発泡酒群とビール・地ビール群の大きな違いは色度の項目であるようにも見えるが、色度はサンプル間のばらつきが大きい
ため、部分空間における群判別への寄与は少なく見積もられたものと考えられる。

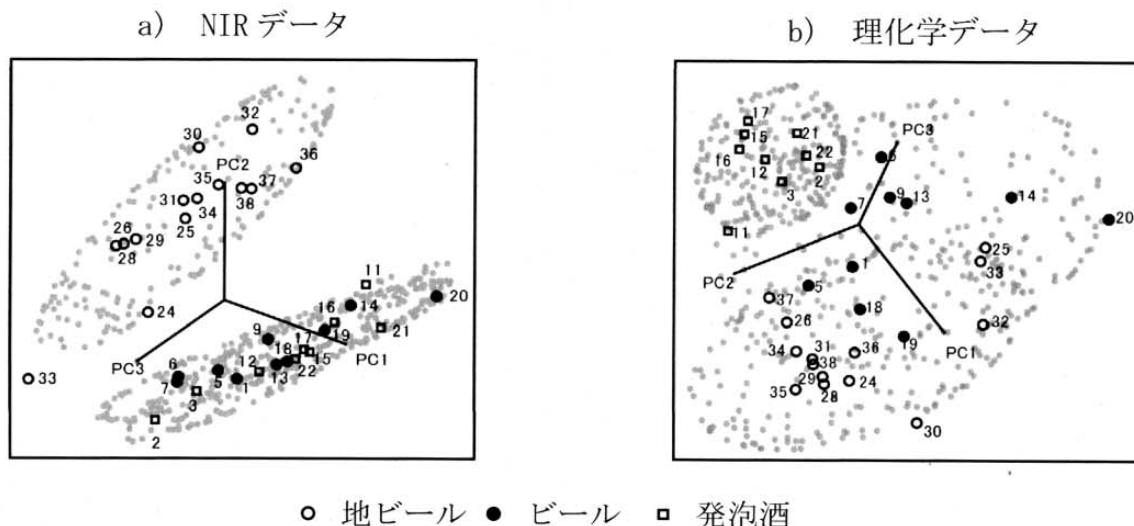


図4 SIMCA box 構築によるサンプルの三次元空間分布

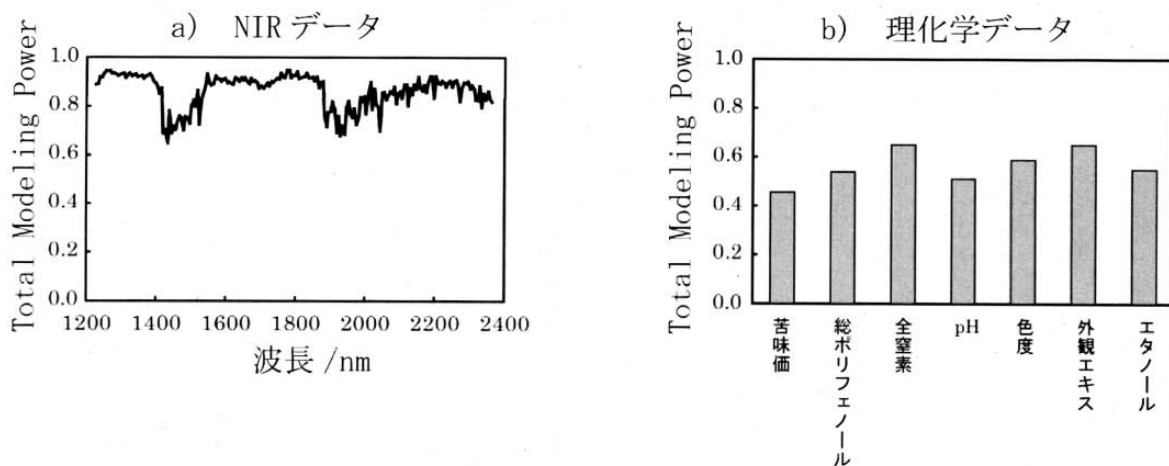


図5 SIMCA box 構築時の Total Modeling Power

図6に、NIR スペクトルに基づく PCA で得られた主成分スコアより作成した秋田県産地ビールのポジショニングマップを示した。主成分1は総ポリフェノールおよび外観エキスとの正相関が、また主成分3は苦味価および色度との負相関が認められた。また、これらの成分間の違いを反映して、NIR スペクトルにより地ビールがメーカーごとにクラスタリングされることが明らかになった。メーカー間では使用する原料用水も異なるので、ビールの最終品質への影響などについても興味を持たれる。

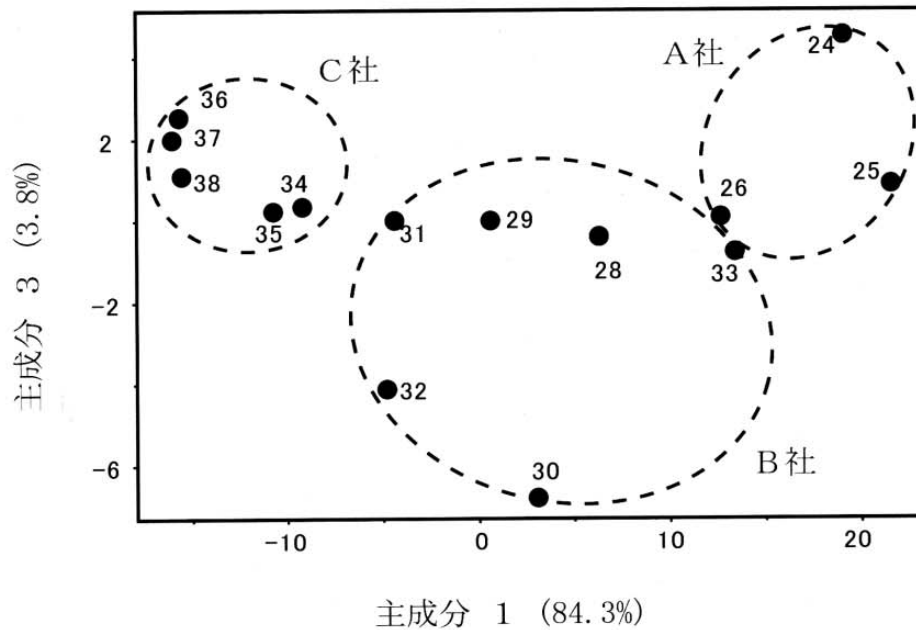


図6 NIR スペクトルに基づく主成分スコアによる
秋田県産地ビールのポジショニングマップ

【結 論】

ビールの NIR スペクトルに対して、ケモメトリックス手法のひとつである SIMCA を適用してパターン認識分類を行ったところ、地ビール群が他のビールおよび発泡酒群と明確に判別できることが分かった。しかしながら、ビールと発泡酒の判別は不十分であった。一方、理化学分析値を用いた場合には、発泡酒のみが他の群と明確に判別され、地ビールと他のビールでは重なりが見られた。これらの判別結果においては、NIR スペクトルならびに理化学分析値とも、全窒素と外観エキスの違いによる影響が大きいことが分かり、秋田県産地ビールは、全窒素、外観エキスが他のビールや発泡酒に比べて高い傾向にあることが明らかとなった。また、NIR スペクトルに基づいたポジショニングマップにより秋田県産地ビールのメーカーごとの特徴なども明らかになった。

【文 献】

- 1) D. A. Burns and E. W. Ciurczak, "Handbook of Near-Infrared Analysis", Marcel Dekker, New York (2001).
- 2) A. G. Coventry, M. J. Hunston, *Cereal Food World*, **29**, 715 (1984).
- 3) C. F. McGuire, *Cereal Chem.*, **59**, 510 (1982).
- 4) 加藤忠, 眞田松吉, *食品工業*, **26**, 52 (1983).
- 5) 宮下芳勝, 佐々木慎一, ケモメトリックス 化学パターン認識と多変量解析, 共立出版 (1995).
- 6) ビール酒造組合編集, BCOJ ビール分析法, 日本醸造協会 (1996).

味覚センサによる市販食用塩の味質評価

熊谷昌則, 三浦幸子*, 杉本真帆*, 石川匡子*, 松永隆司*

(秋田県総合食品研究所食品開発部門, *秋田県立大学生物資源科学部)

Masanori KUMAGAI, Sachiko MIURA, Maho SUGIMOTO, Kyoko ISHIKAWA
and Ryuji MATSUNAGA

【要 約】

製造法の異なる5群の市販食用塩20検体について、それらの味質を膜電位計測型味覚センサ応答値、ならびに主要無機イオン量、官能評価値により評価した。味覚センサは、市販食用塩の味質の違いを識別することが可能で、製造法の違いによっても、それぞれ異なる応答パターンを出力することが分かった^{1, 2)}。

【緒 言】

1997年に塩専売法が廃止され、2002年からは塩の製造販売が完全自由化されたのに伴って多種多様の食用塩が市販されるようになった。しかしながら消費選択の判断材料としては自然塩(天然塩)やミネラル塩といった定義の曖昧な表示や、健康維持・増進を訴求したキャッチフレーズが目立ち、科学的な根拠に基づいた情報は非常に少ないといわざるを得ない。本研究は、市販食用塩の理化学特性を明らかにするために、味覚センサによる味質評価について検討したものである。

【方 法】

1) 試料

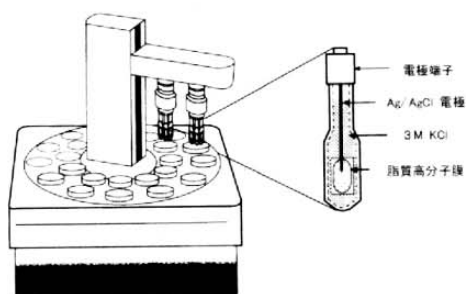
実験に供した市販食用塩20検体の製法別の分類と商品名、ならびに形状と1kgあたりに換算した購入単価を表1に示した。A群は、輸入塩を地先の海水で溶解して釜で煮詰めたり、にがりを追加したりするなどして再加工した輸入塩再加工塩5種、B群は海水を平釜焚きで煮詰めた平釜法塩6種(秋田県産品3種を含む)、C群はイオン交換膜法塩ににがりが添加されたもの5種、D群はグルタミン酸ナトリウムなどが添加された添加物塩、そしてE群が精製塩である。

2) 味覚センサ応答パターンの測定

食用塩の検体は、水分調整のため105℃で4時間乾燥後、1.2%水溶液を調製して味覚センサ測定試料とした。味覚センサは味認識装置SA402(アンリツ;現在はインテリジェントセンサーテクノロジー)を用いた。センサの基準液ならびに洗浄液は、図1中に示したモデル海水の40%水溶液を用いた。図1中には測定に用いた味覚センサの概要とセンサの8種類の人工脂質膜についても示してある。実際の味覚センサ応答値の測定は、洗浄液で5回センサ洗浄を行った後、基準液を測定し、続いてサンプルを測定したときの基準液とサンプルの相対電位で得られる。

表1 実験に供した市販食用塩20検体

製法別の分類と商品名	形状	単価 (円/kg)
A: 輸入塩再加工塩		
① 赤穂あらかなみ天日塩	凝集	248
② 赤穂の天塩 粗塩	凝集	350
③ 瀬戸のましお	フレーク	500
④ 鳴門のあらじお	フレーク	300
⑤ 昔塩 赤	凝集	500
B: 平釜法塩		
⑥ 海の晶	凝集	3125
⑦ 海の精	フレーク	2000
⑧ 最進の塩	立方凝集	1250
⑨ 幸炎窯の塩	凝集	4000
⑩ なまはげの塩	凝集	3000
⑪ なまはげの塩 藻塩	凝集	4000
C: イオン交換膜法塩にがり添加塩		
⑫ 瀬戸のほんじお	立方	258
⑬ 鳴門のうず塩	立方凝集	300
⑭ 昔塩 青	凝集	140
⑮ 赤穂塩 手塩	立方凝集	293
⑯ 五島灘の塩	立方凝集	266
D: 添加物塩		
⑰ アジシオ	立方	593
⑱ いそしおサラサラ	立方	196
⑲ チョダソルト	立方	280
E: 精製塩		
⑳ 精製塩	立方	107



Sensor	脂質高分子膜構成脂質
S1	Decylalcohol
S2	Oleic acid
S3	DOP
S4	DOP : TOMA = 9:1
S5	DOP : TOMA = 5:5
S6	DOP : TOMA = 3:7
S7	TOMA
S8	Oleylamine

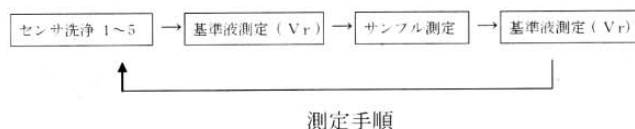
DOP : Dioctyl hydrogen phosphate
TOMA : Trioctyl methyl ammonium chloride

試料 : 検体を105℃で4時間乾燥後、1.2(w/w)水溶液を調製

基準液 : モデル海水 40%(W/W)水溶液
洗浄液

モデル海水の組成

成分	配合 g/kg
NaCl	26.69
MgCl ₂	3.28
MgSO ₄	2.10
CaSO ₄	1.38
KCl	0.72
MgBr ₂	0.08



測定手順

図1 味覚センサと測定試料の調製方法

3) 主要無機イオンの定量

食用塩の主要無機成分である Na、K、Ca、Mg、Cl、SO₄ の各イオンについてはキャピラリー電気泳動 CAPI-3300 (大塚電子) により定量した。

4) 官能評価

20~30代の男女15名に対して、味覚センサ応答パターンの測定で用いたものと同一組成のモデル海水40%水溶液を基準液として、乾燥処理食用塩の1.2%水溶液の塩味、苦味、渋味、くどさ、まろやかさの強度をそれぞれ5点評価法により2点比較法で評価させた。

【結果と考察】

食用塩の製法別の味覚センサ応答パターンを図2に示した。マイナス電荷膜のSensor 1から4は、同じ傾向の応答パターンを示したが、プラス電荷膜のSensor 5から8はそれぞれ異なる応答パターンを示した。製造法別に比較すると、B群(平釜法塩)はいずれのセンサにおいても他の群とは明らかに異なる応答パターンであることが分かる。E群(精製塩)についてはSensor 7の応答パターンが特徴的である。A群(輸入塩再加工塩)、C群(イオン交換膜法塩にがり添加塩)、D群(添加物塩)については、センサの組み合わせにより判別できるものと予測される。

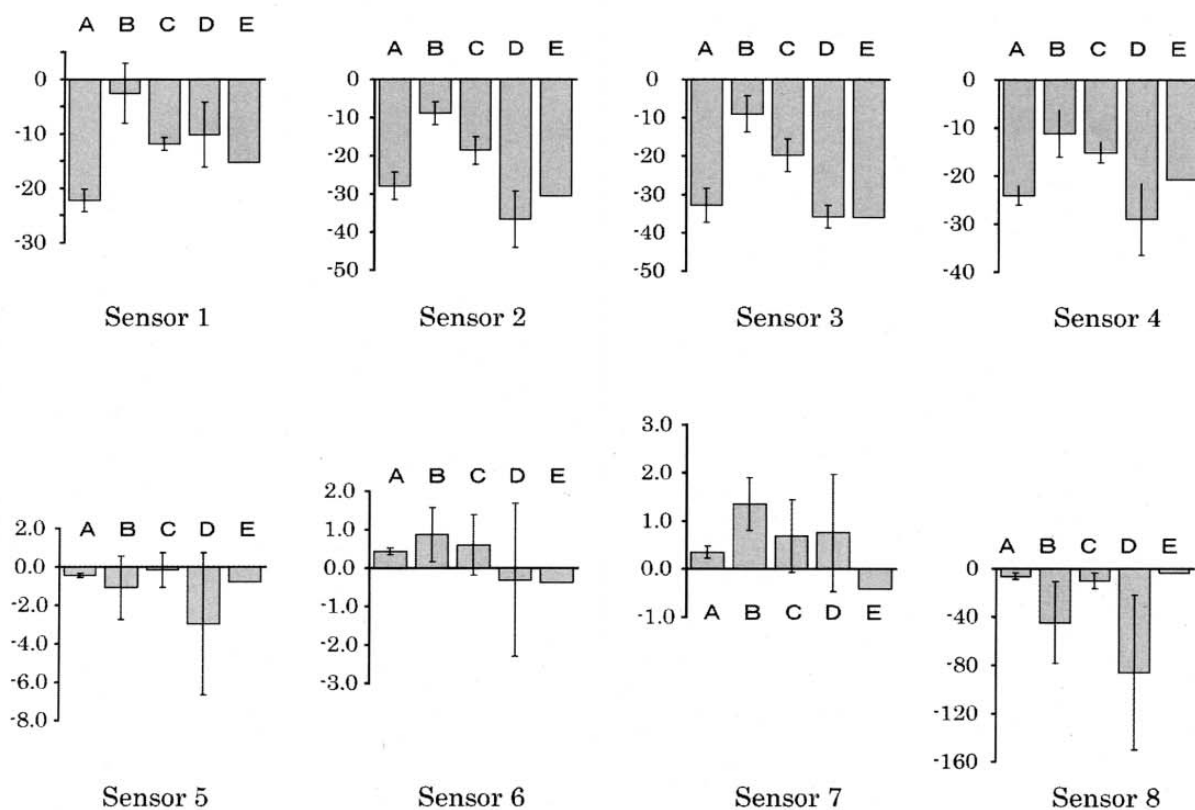


図2 食用塩の製法別 (A-E) の味覚センサ応答パターン (縦軸は相対電位 / mV)

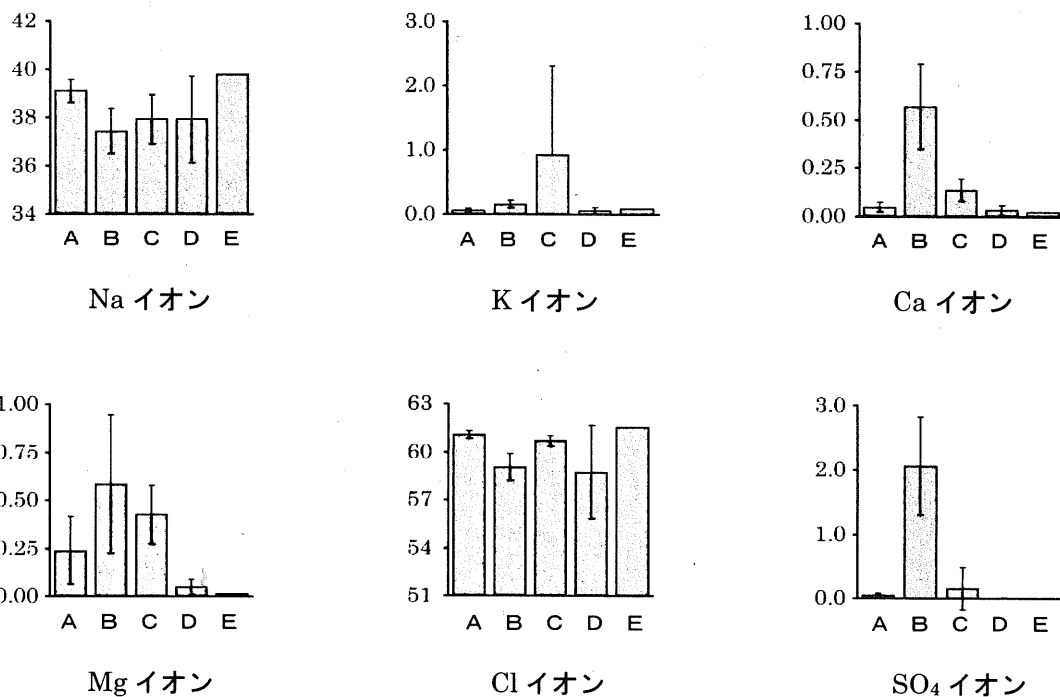


図3 食用塩の製法別 (A-E) の無機イオン量 (縦軸は濃度/%)

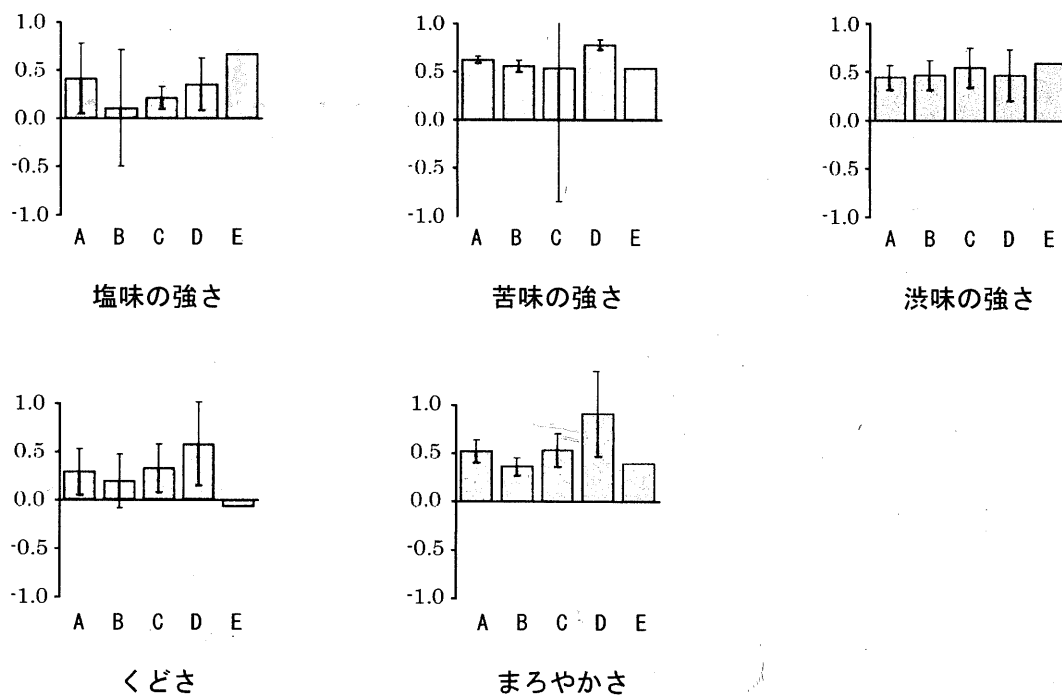


図4 食用塩の製法別 (A-E) の官能評価値 (縦軸はカテゴリ値、プラスが強い)

食用塩の製法別の無機イオン量を図3に示した。B群（平釜法塩）はNaイオンが少なく、Caイオン、Mgイオン、SO₄イオンが他の群に比べて多いことが分かった。C群（イオン交換膜法塩にがり添加塩）についてはKイオンが他の群に比べて多かった。

図4には製法別の官能評価値を示した。この結果は方法で述べたようにモデル海水の40%水溶液との比較で得られたものである。塩味の強さは、B群で弱く、E群（精製塩）で強いことが示された。くどさについては、E群が弱く、D群（添加物塩）がやや強かった。まろやかさについてはD群が最も強いという結果であり、これは添加物塩に含まれているグルタミン酸ナトリウムの影響と考えられる。

味覚センサ応答パターンについて、Sensor 1から8の応答値に対して、相関係数行列から出発する主成分分析で得られた主成分分析スコアプロットは図5のようになった。横軸は主成分1を表し、その寄与率は53.2%となっている。縦軸は主成分2を表し、その寄与率は33.7%であった。したがって、主成分1と2で全体のデータ変動の86.9%が説明されたことになる。図中の番号は検体の位置座標を表し、矢印は因子負荷量の大きさと方向を示したものである。検体間の距離は味覚センサ応答パターン、すなわち味質の類似度、非類似度を表している。これにより、D群（添加物塩）のNo.17が例外となっているものの、味覚センサ応答パターンにより製造法の違いで市販食用塩が識別されることが示唆された。

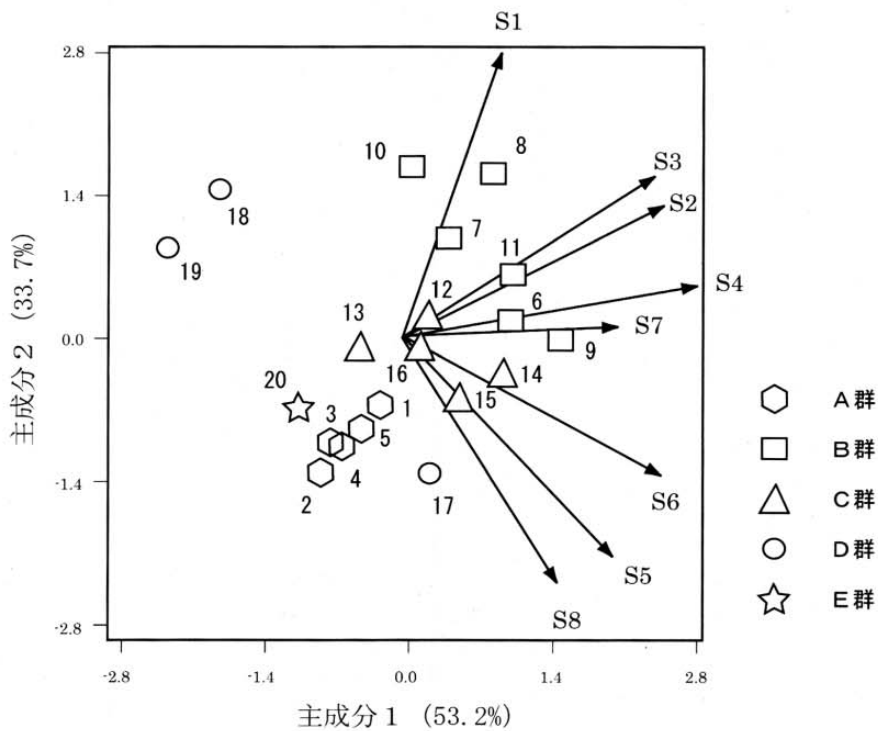


図5 味覚センサ応答パターンの主成分分析スコアプロット

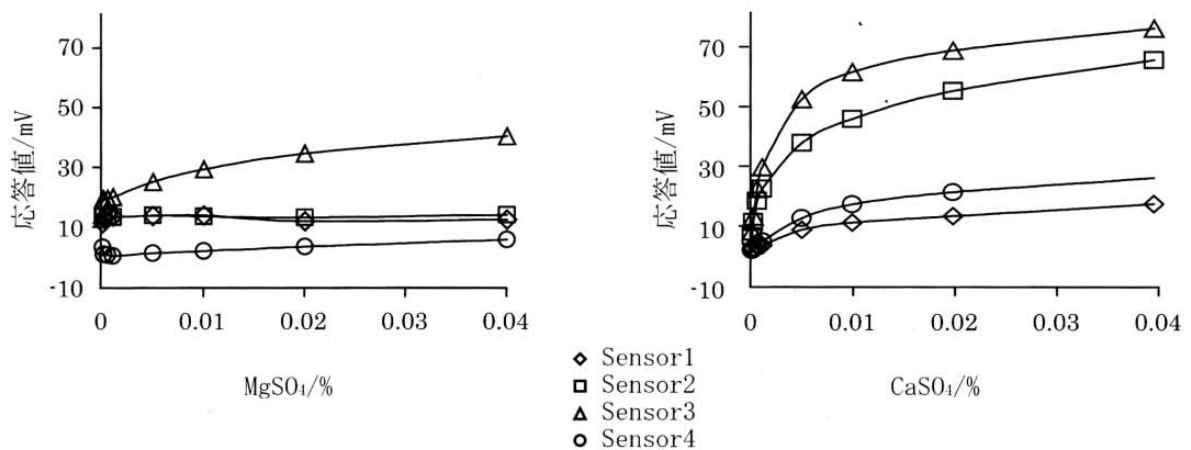


図6 塩類の違いによる味覚センサの応答

図6に示すように塩類の違いによって味覚センサの応答が異なることが分かってきた。硫酸マグネシウムと硫酸カルシウムを比較した場合、Sensor1から4のマイナス荷電膜ではCaイオンの応答が大きいことが分かる。これは、CaイオンのほうがMgイオンに比べてセンサ膜への親和性が強いことを示唆するものである。現在、味覚センサの応答特性と成分の関係を検討中である。

【結 論】

市販食用塩の味質評価において、味覚センサは有益な手法のひとつと考えられる。味覚センサは、市販食用塩の味質の違いを識別することが可能で、製造法の違いによっても、それぞれ異なる応答パターンを出力することが示された。食用塩に対する味覚センサ応答パターンと理化学特性や官能評価値の関係は不明な点も残されているので、今後も継続して検討する予定である。

【文 献】

- 1) 熊谷昌則, 三浦幸子, 石川匡子, 松永隆司, 味覚センサによる市販食用塩の味質評価, 日本食品科学工学会第51回大会講演集, p.90 (2004).
- 2) 石川匡子, 熊谷昌則, 三浦幸子, 松永隆司, 市販食用塩の無機成分分析値、味覚センサ応答値および官能評価の関係, 日本素材物性学会平成16年度年会講演要旨集, pp.30-33 (2004).

マンナナーゼ生産菌の分離と培養条件の検討

戸枝一喜、保莉美佳
(秋田県総合食品研究所食品開発部門)
Kazuki TOEDA and Mika HOKARI

【要約】

秋田県大雄村の畑地土壌から菌体外にマンナナーゼを生産する細菌 4 株を分離した。この内のマンナナーゼを最も良く生産する 1 株はグラム陽性の桿菌であり、バチルスポリミキサ (*Bacillus polymyxa*) と同定された。本菌によるマンナナーゼ生産に及ぼす炭素源を検討した結果、単糖、小糖類にはマンナナーゼ生産誘導能は認められなかった。コーヒー抽出残渣、フスマ、脱脂米糠、大豆種皮、コブラミールはマンナナーゼ生産に良好であった。特にコーヒー抽出残渣とコブラミールを炭素源とすると著しいマンナナーゼ生産が認められた。

【緒言】

食品製造に伴い発生する副産物としては種々のものがある。例えば、県内では引き割り納豆の製造が盛んであり、その際に大豆種皮が発生する。大豆種皮の主成分はマンナンなどの糖質である。マンナンはマンノースまたはマンノオリゴ糖の原料として利用できる。マンノースまたはマンノオリゴ糖には鶏体内のサルモネラ菌を排菌させる効果が知られている¹⁾。また、マンノオリゴ糖にはビフィズス菌増殖促進効果も知られている²⁾³⁾。本研究ではマンナンからのマンノースまたはマンノオリゴ糖を生産するのに必要なマンナナーゼ生産する微生物を、自然界から分離することを目的とした。

【実験方法】

1) マンナナーゼ生産菌の分離

秋田県大雄村より採取した土壌から RBB-ガラクトマンナン培地 (0.2 % RBB-ガラクトマンナン, 0.2 % KH_2PO_4 , 0.2 % NH_4NO_3 , 0.02 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 % 酵母エキス, pH 6.5) を用いてマンナナーゼ生産菌の分離を行った。コロニーの周辺に基質の青色のバックに、透明なハローを生成したコロニーをマンナナーゼ生産菌として釣菌した。

2) KT551 菌株の同定

KT551 菌株の同定試験は、長谷川⁴⁾の方法と Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2 に準拠して行った。

3) 培養方法

マンナナーゼ生産 KT551 の液体菌培養条件の検討

マンナナーゼ生産検定用培地 (炭素源 2 %、ポリペプトン 1.2 %、酵母エキス 0.5 %、 KH_2PO_4 1.0 %、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 %、pH 5.5 ; 100 ml) を含む 500 ml 三角フラスコで回転振とう (30 °C) 培養した。

4) マンナナーゼ活性測定法

β -1, 4-マンナナーゼ活性は 1 % (w/v) コンニャクグルコマンナンを基質に用いて測定した。0.1 M PBS (pH 7.0) 0.1 ml、酵素溶液 0.9 ml の反応混合液 1 ml を 30 °C で 30 分間保温した。生成した還元糖量をソモギーネルソン法にて測定し、マンノースの標準曲線から算出した。1 ユニットは 1 分間に 1 μ mol のマンノースを生成する酵素量とした。タンパク質は BSA を標準物質としてローリー法にて定量した。

【結果と考察】

1) マンナナーゼ生産菌の分離

秋田県平鹿郡大雄村の納豆工場付近の堆肥化した大豆種皮から RBB-ガラクトマンナン培地の上に大きなハローを作る 5-5~8 の 4 菌株を分離した。形態的特徴とグラム染色の結果から、5-5、5-6、5-7 は近縁種であり、5-8 は明らかに別種と考えられた (表 1)。この中でマンナナーゼ活性の最も高かった 5-5 株をマンナナーゼ生産菌として選抜した。5-5 株を更に純化し、KT551 株と命名した。以下の実験には KT551 株を用いた。

表 1 マンナナーゼ生産菌の諸性質

Strain	Gram-stain	Shape	Spore	Motility	Aerobic growth
5-5	+	Rod	+	+	+
5-6	+	Rod	+	+	+
5-7	+	Rod	+	+	+
5-8	-	Rod	+	-	-

2) KT551 菌株の同定

表 2 に KT551 株の形態・生理学的諸性質を示した。KT551 株はグラム陽性桿菌で、運動性を有し、胞子を形成する通性嫌気性の菌であった。これらの性質は KT551 株がバチルス属であることを示唆した。KT551 株は、カタラーゼ陽性、V-P テスト陽性であり、糖からの酸の生成能、糖質及び蛋白質の資化性、硝酸塩の還元性 (陽性)、卵黄反応性 (陰性)、などの試験結果を基に Bergey's Manual に照らして、バチルス ポリミキサ (*Bacillus polymyxa*) と同定した。以後、本菌をバチルス ポリミキサ KT551 と呼称する。

3) KT551 菌によるマンナナーゼ生産のための液体培養条件の検討

炭素源として単糖、オリゴ糖、多糖、食品加工副産物を用いてマンナナーゼ生産条件を検討した。その結果、エリスリトール、キシロース、アラビノース、フコース、ラムノース、キシリトール、リボース、グルコース、ガラクトース、フラクトース、マンノース、グルコサミン、マンニット、グルクロン酸、ガラクトン酸では、マンナナーゼ活性は殆ど認められなかった (データ示さず)。リボースとマンノースのマンナナーゼ誘導活性は低かったが、菌体増殖は良好 (OD660 nm でそれぞれ 8.75、8.55) であった。マルトース、キトサン、シュークロース、トレハロース、セロビオース、ラクトース、イソマルトオリゴ糖、キシロオリゴ糖はすべてマンナナーゼ生産誘導活性が低かった。

表2 堆肥分離菌 KT551 株の諸性質

Characters	Strains	
	<i>B.polymyxa</i> *	KT551
Cell diameter > 1.0 μ m	—	—
Spores round	—	—
Sporangium swollen	+	+
Parasporal crystals	—	—
Catalase	+	+
Anaerobic growth	+	+
Voges-Proskauer test	+	+
pH in V-P broth < 6	d	—
> 7	—	—
Acid from D-Glucose	+	+
L-Arabinose	+	+
D-Xylose	+	+
D-Mannitol	+	+
Gas From glucose	+	+
Hydrolysis of Casein	+	+
Gelatin	+	+
Starch	+	+
Utilization of Citrate	—	—
Propionate	ND	—
Degradation of tyrosine	—	—
Deamination of phenylalanine	—	—
Egg-yolk lecithinase	—	—
Nitrate reduced to nitrite	+	+
Formation of Indole	—	—
Dihydroxyacetone	+	+
NaCl and KCl required	—	—
Growth at pH 6.8, nutrient broth	+	+
5.7, nutrient broth	+	+
Growth in 2% NaCl	ND	—
5% NaCl	—	—
7% NaCl	—	—
10% NaCl	—	—
Growth at 5°C	d	—
10°C	+	+
30°C	+	+
40°C	+	+
50°C	—	—
55°C	—	—

* : Bergey' s Manual のデータ

Symbols: +, 菌株の 90%またはそれ以上が陽性、-, 菌株の 90%またはそれ以上が陰性、d, 菌株の 11%-89%が陽性、ND, 検出されない

多糖および食品加工副産物の中では、コンニャク粉、ローカストビーンガムは生育基質としては良好であったが、マンナナーゼ生産誘導活性は低かった。コーヒー抽出残渣、フスマ、脱脂米糠、大豆種皮、コプラミールにはマンナナーゼ生産誘導活性が認められた。特にコーヒー抽出残渣、コプラミールでは著しいマンナナーゼ生産が認められた。KT551 株の生産するマンナナーゼは誘導酵素と思われるが、グルコマンナンおよびガラクトマンナンを高含有するコンニャク粉やローカストビーンガムによっては誘導されなかった。この理由については現在検討中である。コーヒー抽出残渣、コプラミールは炭素源としては安価であり、酵素生産コストの低減を図ることができる。

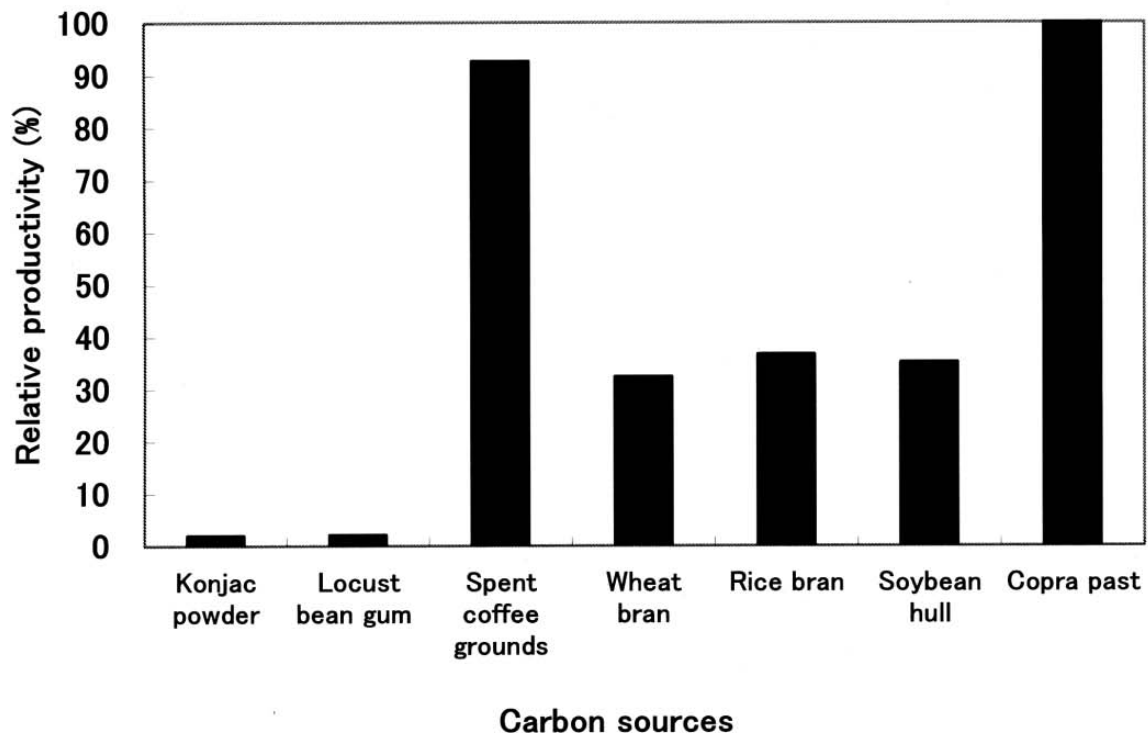


図1 バチルス ポリミキサ KT551 株のマンナナーゼ生産に及ぼす炭素源の影響

4) コーヒー抽出残渣およびコプラミールを用いた液体培養によるマンナナーゼ生産

コーヒー抽出残渣およびコプラミールを炭素源としてバチルス ポリミキサ KT551 による経時的なマンナナーゼ生産を図2に示した。コプラミール培地ではコーヒー抽出残渣培地よりマンナナーゼ生産が遅れた。しかし、培養6日目にはコーヒー抽出残渣培地もコプラミール培地とほぼ同程度のマンナナーゼ生産量に達した。酵素生産量が最大となるのにコプラミール培地でも3日間の培養時間を要したが、これは菌体増殖が遅いためだと思われる。この対策としてはマンノースなどの良好な生育基質を添加する必要がある。

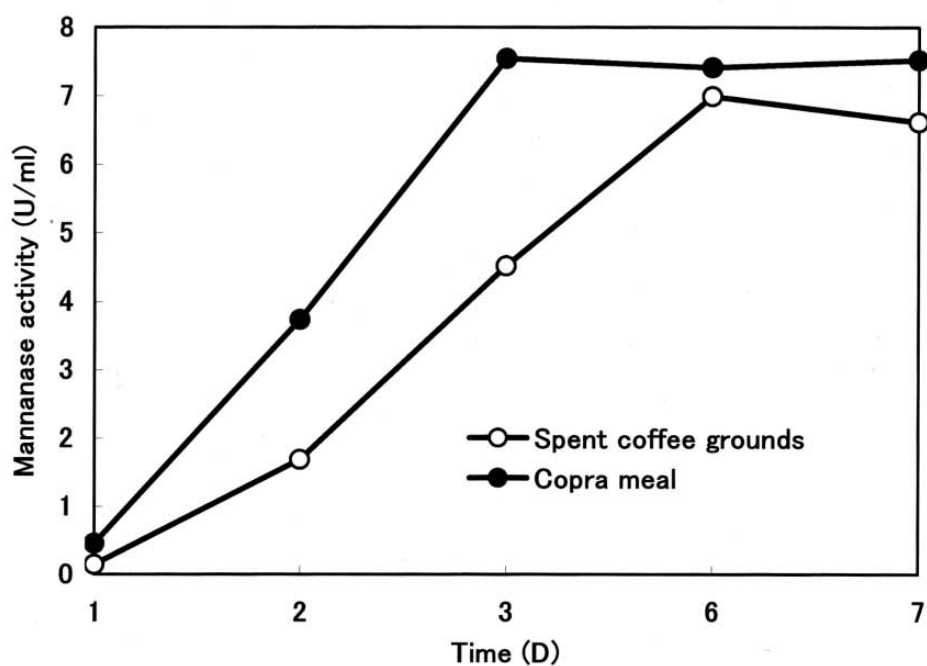


図2 バチルス ポリミキサ KT551 株によるマンナーゼ生産の経時変化

【文献】

- 1) B. A. Oyofa, R. E. Droleskey, J. O. Norman, H. H. mollenhauer, R. L. Ziprin, D. E. Corrier, and J. E. DeLoach : *Poultry Science*, **68**, 1351-1356 (1989)
- 2) 浅野一郎、中村保幸、星野宏充、青木敬司、藤井繁佳、井村直人、飯野久和 : 日本農芸化学会誌、**75**、No. 10, 1077-1083 (2001)
- 3) I. Asano, M. Umemura, S. Fujii, H. Hoshino and H. Iino : *Health Sciences* . **21**, No. 1, 69-76 (2005)
- 4) 長谷川武治 : 微生物の分類と同定、学会出版センター (1985)

食品の加熱工程における 加熱履歴表現モデルの構築

秋山美展、高橋徹、大久長範、長縄明大*

(秋田県総合食品研究所、*秋田大学工学資源学部)

Yoshinobu AKIYAMA, Toru TAKAHASHI, Naganori OHISA and
Akihiro NAGANAWA.

【要約】

食品の加熱工程において、食品材料が受ける温度の影響を定量的に記述しうるモデルを作成することを目的としている。加熱履歴を統一的かつ定量的に算出するために加熱履歴値(C_v)を定義し、実際の食品成分の加熱履歴を C_v で記述し、その実験値と推定値の比較を試みた。メイラード反応をモデル反応系とし、反応量を支配する操作因子として加熱温度および加熱時間を取り上げ、それらの関係を一元的に記述しうる数学モデルの作成を試みた。推定値と実験値には高い相関が得られ、作成したモデルの妥当性が確認された。本モデルは加熱工程において食品材料が受けるであろう正味の加熱履歴（温度と時間の単純積ではなく、実際の総加熱効果）を記述しうるモデルになると思われる。

【緒言】

食品の加工や製造において加熱工程は重要かつ基本的な単位操作である。加熱により食品の成分は様々な変化を起し、結果として官能特性、微生物的衛生品質、物性などの品質に変化をきたす。これらの変化のうち、食品の品質からみて好ましいものもあればそうでないものもあり、食品加工における加熱操作は常にこの適不適の両面性を持っている。加熱の目的は、溶解、糊化、変性、殺菌、反応、酵素失活、乾燥など極めて多岐にわたっており、原材料の種類や加熱の目的に応じて種々の加熱装置と加熱方法が用いられてきた。加熱工程における重要な操作パラメータは加熱の温度とその時間である。調理における加熱温度（昇温速度）や保持時間の管理はいわゆる"プロの技"として、調理者の技量を表すもっとも端的な例であろう。食品製造において、加熱温度と時間が製品品質に及ぼす効果について、もっとも詳細に研究されてきたのは殺菌工程についてである。微生物の殺菌における温度と時間の関係が体系的に整理されたことによって近代の食品製造学は成立したといっても過言ではない。しかしながら、殺菌（微生物の熱死滅）以外では食品成分の熱による変化に関する統一的な研究は少ない。その原因の一つとして、加熱工程における熱履歴を普遍的に記述できる方法が未開拓であることが挙げられる。食品に含まれる化学成分や微生物は多様であり、かつそれらの加熱による変化は一様ではない。この

ため、加熱による変化の程度を一律に表現できないことがこの分野の研究を遅らせた大きな要因であったと考えられる。

本研究は食品の加熱工程において、食品材料が受ける温度の影響を定量的に記述しうるモデルを作成することを目的としている。加熱履歴を統一かつ定量的に算出するために加熱履歴値(Cv)を定義し、実際の食品成分の加熱履歴をCvで記述し、その実験値とCv値の比較を試みた。

【実験方法】

5%キシロースと5%グリシンの混合溶液を各種加熱条件(表1)で加熱後急冷した。試料の280nmにおける吸光度を指標としてメイラード反応による生成物量を算出した。得られた実験値(C)と別途定義した加熱履歴値(Cv)の値を比較し、加熱履歴モデルの妥当性を検証した。

表1 加熱条件

実験 No.	θ_1 [°C]	t_1 [min]	θ_2 [°C]	t_2 [min]	実験 No.	θ_1 [°C]	t_1 [min]	θ_2 [°C]	t_2 [min]
1	70	2	75	4	13	70	6	75	4
2	70	2	80	4	14	70	6	80	4
3	70	2	85	4	15	70	6	85	4
4	70	2	90	4	16	70	6	90	4
5	70	2	95	4	17	70	6	95	4
6	70	2	100	4	18	70	6	100	4
7	70	4	75	4	19	70	8	75	4
8	70	4	80	4	20	70	8	80	4
9	70	4	85	4	21	70	8	85	4
10	70	4	90	4	22	70	8	90	4
11	70	4	95	4	23	70	8	95	4
12	70	4	100	4	24	70	8	100	4

θ_1 :初段加熱温度, t_1 :初段保持時間, θ_2 :終段加熱温度, t_2 :終段保持時間

【結果と考察】

1) 加熱履歴値 C_v の定義

加熱履歴値を式 1 のように定義する¹⁾。

$$C_v = \int \int f(t, \theta) dt d\theta \quad \text{-----} \quad 1$$

C_v : 加熱履歴値

f : 近似関数

t : 時間

θ : 温度

ここで定義した C_v は時間 t 、温度 θ 、反応量 Y をそれぞれ x, y, z 軸にとった場合の立体の体積を表している(図 1)。

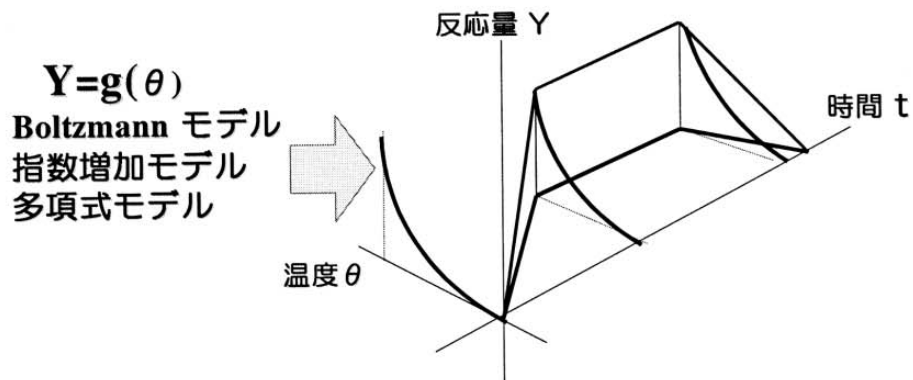


図 1 温度-時間-反応量によって表される加熱履歴値

温度と時間で構成される xy 平面上の曲線は加熱対象（食品）の温度-時間曲線である。食品の加熱による変化速度（反応速度）が温度によらず一定であるならば、加熱履歴値は xy 平面における温度-時間曲線によって囲まれる図形の面積に等しい。しかしながら、一般に化学反応や微生物の死滅挙動は温度に対して指数的に変化し、かつその変化率も個々の反応（微生物種）によって異なっている。この変化率の温度依存性を考慮したものが本研究で導入した C_v 値である。 yz 平面上に温度と反応量（反応速度）の関係を取り（図 1 中の各種モデル）、その曲線と前述の温度-時間曲線とで形作られる立体の体積が求められれば加熱履歴値として定量的な記述がきることになる。

2) メイラード反応における C_v 値の算出

図 2 に各温度条件で処理した試料の吸光度を示す。温度に対して指数的な増加を示した。また終段保持時間 t_2 に対しては一次関数的増加を示した²⁾。

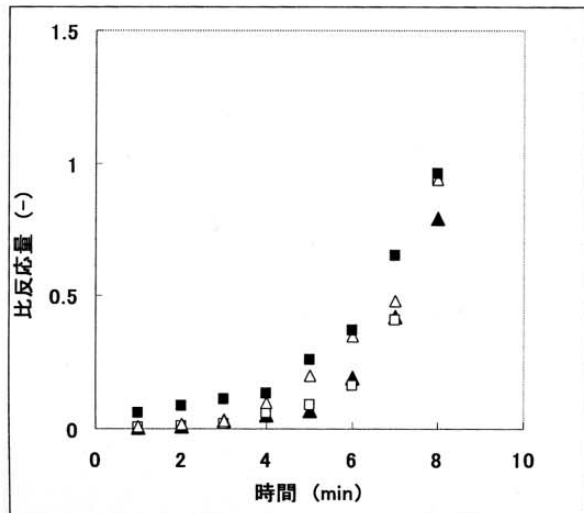


図 2 加熱温度と時間に対する吸光度の変化

▲ : $t_2 = 2 \text{ min}$ □ : $t_2 = 4 \text{ min}$
 △ : $t_2 = 6 \text{ min}$ ■ : $t_2 = 8 \text{ min}$

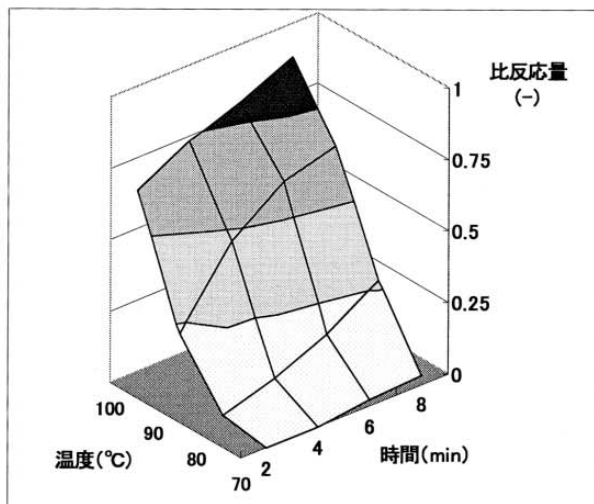


図 3 反応生成物量に対する温度と時間の応答曲面

図 3 に温度と時間を独立変数とし、メイラード反応生成物量(比反応量)を従属変数とした 3 次元グラフを示す。応答曲面と x, y, z の 3 座標面で囲まれる図形の体積が C_v 値に相当する。

実際に C_v 値を算出するためには応答局面を温度 (x) と時間 (y) の関数として記述する必要がある。しかしながら、得られた応答局面は複雑な形状をしており一つの関数による記述が困難なため、時間軸方向に 4 分割した。各分割ブロックの温度-比反応量曲線について各種の近似モデルを検討した結果、Boltzmann model がもっともよい適合性を示した。

Boltzmann model

$$Y = \frac{a-b}{1+\exp\{(\theta-c)/d\}} + b \quad \text{-----} \quad 2$$

Y:比反応量 [-]

θ : 温度 [°C]
 a, b, c, d : 定数 [-]

式 2 における定数 a, b, c, d を 4 分割したブロック別に求め、それらを更に終段保持時間 t [min] の関数として表すと以下のようになる。

- a: 0
- b: $g(t) = 0.07t + 0.8$
- c: $h(t) = -6.7 \log_e t + 98$
- d: 4.2

これらを式 2 に代入して式 3 を得る。

$$Y = \frac{-0.07t - 0.8}{1 + \exp\{(\theta + 6.7 \log_e t - 98)/4.2\}} + 0.07t + 0.8 \quad \text{----- 3}$$

3) C_v 値と実験値の比較

区分球積法によって求めた C_v 値と実験値（比反応量： C ）の関係を図 4 に示す。高い相関関係（相関係数 0.9836）が認められた。

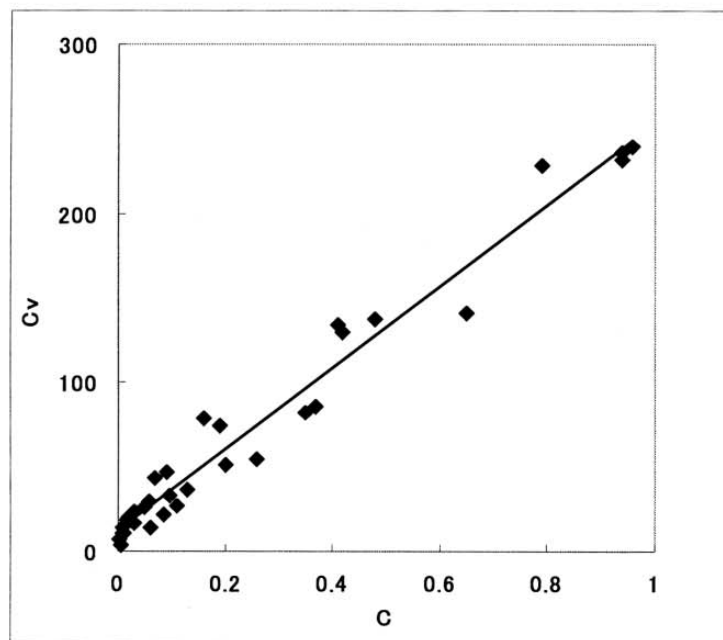


図 4 加熱履歴値 (C_v) と実験値 (C) の相関
 $R = 0.9836$

4) 考察

メイラード反応をモデル反応系とし、反応量を支配する操作因子として加熱温度および加熱時間を取り上げ、それらの関係を一元的に記述しうる数学モデルの作成を試みた。推定値と実験値には高い相関が得られ、作成したモデルの妥当性が確認された。本モデルは加熱工程において食品材料が受けるであろう正味の加熱履歴（温度と時間の単純積ではなく、実際の総加熱効果）を記述しうるモデルになると思われる。本実験では Boltzmann model を用いて近似を行ったが、反応の種類に合わせて指数近似、多項式近似等を適宜選択する必要がある。Cv 値は実験式より算出した値であるので、それ自体の物理的意味はないが、食品の加熱工程における各種成分の化学変化量や相転移等の物理変化量を総効果として表現しうる汎用的な数値であると考えられる。Cv 値は熱殺菌における f 値と同様の概念である。したがって、管理対象となる反応や変化について、温度-時間-変化量の応答局面が得られれば加熱による総効果を容易に推定することが可能である。

【謝辞】

本研究は平成 14 年に秋田総食研の研修生として卒業論文研究を行った秋田大学工学資源学部 4 年生（当時）和田祐子氏の研究成果の一部を活用させていただいた。記して感謝いたします。

【文献】

- 1) Yoshinobu Akiyama, The heat denaturation of soybean protein by twin screw extruder, *Proceedings of 6th International Congress on Engineering and Food*, pp 873-875 (1994)
- 2) 和田祐子、シュール加熱による食品加工に関する基礎研究、2002 年秋田大学卒業論文（2002）

高品質味噌を目的とする県産大豆の蒸煮条件の検討

尾張かおる、渡辺隆幸

(秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Kaoru OWARI and Takayuki WATANABE

【要約】

作付け・収量ともに増加した平成 15 年産県産大豆について、高品質味噌の製造を目的とした蒸煮条件を検討した。非脱皮大豆においては、従来から一般に行われている加圧蒸煮よりも途中で散湯を行う方法により、大豆が柔らかく仕上がり、色や保水性が向上した。また品評会向け等に用いられる脱皮大豆では一層の効果が認められた。

【緒言】

県産大豆は、ここ数年の米の減反政策により作付け量が増加し、価格も手ごろになってきている。そのため味噌加工のための蒸煮適性を明らかにして欲しいという業界からの要望が強い。従来から味噌用大豆の加工適性としては、蒸煮によって組織が軟化しやすいこと、および蒸煮大豆の色が明るく鮮やかに仕上がることがまず必要であるとされているが¹⁾、現在リュウホウのデータはない。そこで現在味噌用として使用されている中国大豆および北海道大豆を対照として、高品質味噌醸造に適した、県産大豆リュウホウの蒸煮条件を検討した。

【実験方法】

1. 試料大豆

リュウホウ（秋田県産）、トヨマサリ（北海道産）、中国（品種名不明）脱皮試験用としてスズユタカ（福島）、ミヤギシロメ（宮城）、タンレイ（宮城）、アヤコガネ（宮城）、タチナガハ（宮城）、オオスズ（青森）など 23 種類

2. 大豆成分分析

水分：Kett の穀類検査用粉碎機および Janke & Kunkel 社の小型ミルで粉碎し、130℃17 時間乾燥後の質量差から求めた。

百粒重：約 30g の大豆の重量と粒数を計測し、百粒に換算した。

3. 蒸煮方法

加圧蒸：100℃吹抜け後一定時間保持してから、0.75 kg/cm²の蒸熟を行った。吹抜け後の保持時間と、0.75 kg/cm²保持時間を検討した。

加圧散湯（以下散湯と省略）：100℃吹抜け後一定時間保持してから、0.75 kg/cm²の蒸煮を行い、約90℃の湯を散湯し再び0.75 kg/cm²の蒸煮を10分間行った。

両蒸煮法について、吹抜け後の保持時間および加圧蒸時間を検討した。

4. 蒸煮大豆の分析

硬さ：30℃まで放冷した大豆をバネばかりの上に乗せ、指で押しつぶしたときの加重を読み取りg数で表した。50粒の平均とバラツキを求めた。

水分：蒸煮後大豆10粒をアルミホイルの容器に入れ、通風乾燥機で105℃で17時間乾燥し、前後の重量から計算した。

色：大豆を乳鉢で摩砕し、日本電色工業（株）色差計Σ90で測定した。

【結果】

1. 原料大豆の性状

表1に示したように、百粒重はトヨマサリ>リュウホウ>中国であった。水分はリュウホウ<トヨマサリ<中国で、リュウホウの水分は10%未満であった。

表1 原料大豆の性状

品種	産地	百粒重	水分
リュウホウ	秋田県大森町	35.43	9.5
トヨマサリ	北海道	39.91	11.6
中国	中国	20.50	12.4

2. 大豆蒸煮試験

吹抜け後の保持時間を22分と40分に設定し、水分・硬さ・色を比較検討した。また0.75 kg/cm²で45分間加圧蒸時間した大豆（45分と省略）と、60分間に延長したもの（60分と省略）、および45分間加圧蒸後散湯処理した大豆（散湯と省略）を比較検討した。

2-1 水分

図1に蒸煮大豆の水分含量を示した。吹抜け後の保持時間は、いずれの大豆においても22分より40分の水分が多かった。

加圧蒸時間は、45分に比較して、60分および散湯処理の水分が多かった。

リュウホウでは吹抜け時間を40分にし、さらに加圧散湯することで、水分を60%に近づけることができた。トヨマサリと中国では、吹抜け後保持時間を40分にし、かつ加圧蒸60分あるいは散湯することにより60%以上

になった。

2-2 硬さ

図 2 に硬さの測定結果を示した。吹抜け後の保持時間は、トヨマサリと中国では 22 分が 40 分よりかなり硬かったが、リュウホウでは吹抜け後の保持時間は硬さに大きな影響を及ぼさなかった。

いずれの大豆でも、加圧蒸時間は 60 分あるいは散湯処理をおこなうことで、45 分より柔らかくなった。

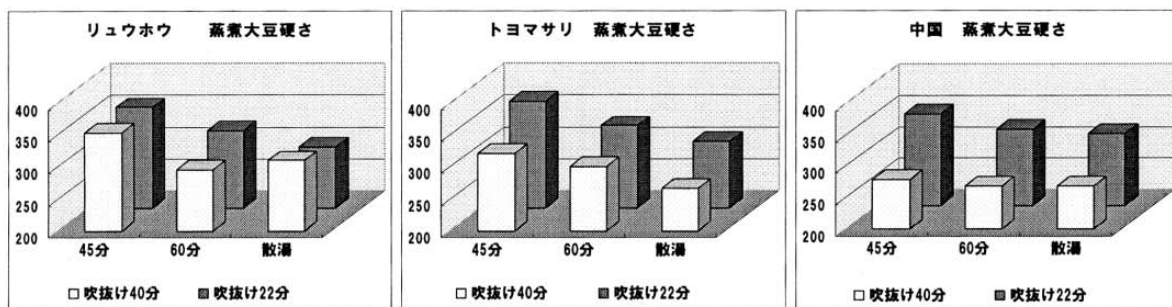


図 1 非脱皮大豆蒸煮試験 (水分)

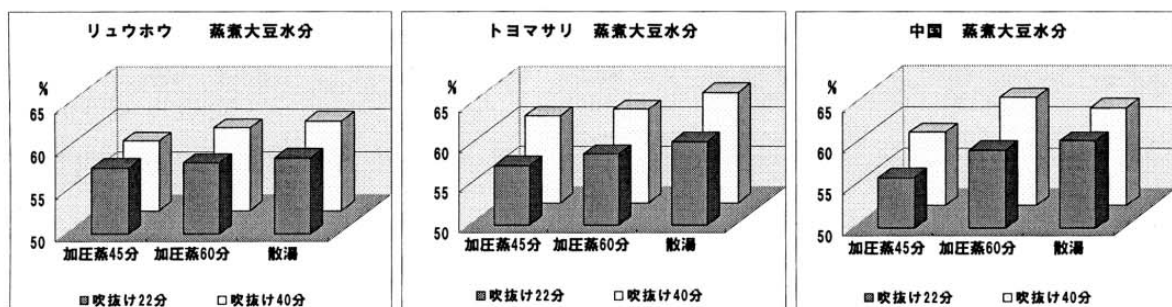


図 2 非脱皮大豆蒸煮試験 (硬さ)

今回の試験で硬さの目標は 300g 以下とした。300g 以下となる処理法は吹抜け後の保持時間に拘わらず、散湯、もしくは吹抜け後 40 分保持かつ 60 分加圧蒸であった。

2-3 色

図 3 に蒸煮大豆の色調を示した。吹抜け後の保持時間を比較すると散湯をしない加圧蒸単独の場合には 22 分 < 40 分となり、40 分保持した方が明るく仕上がった。散湯を行うと、22 分 > 40 分であり、40 分のほうが色が暗くなった。

加圧蒸時間を比較すると 45 分と 60 分では大きな差はなく、蒸煮大豆の着色の度合いは、吹抜け後の保持時間の影響が大きかった。

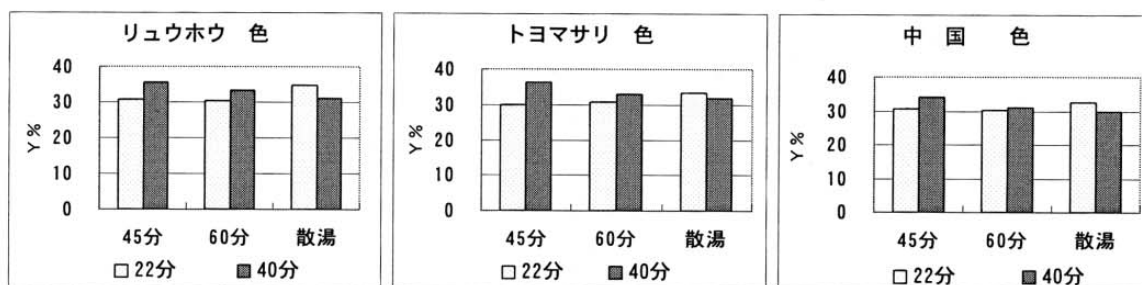


図3 非脱皮大豆蒸煮試験 (色 [Y%])

3. 脱皮大豆の蒸煮試験

リュウホウ、トヨマサリ、中国大豆（各 8kg）の脱皮大豆を調整後、蒸煮試験を行った。

脱皮時間と重量の減少割合を図4に示した。リュウホウとトヨマサリは脱皮による減量速度が似ていたが、中国大豆はそれに比較して非常に遅く、脱皮されにくかった。

1分ごとにサンプリングした試料を用いて蒸煮試験を行った結果を、表2に示した。加熱条件は、吹抜け後の保持時間60分、0.75 kg/cm² 25分保持後散湯再び0.75 kg/cm² 5分とした。脱皮時間が長くなるに従い脱皮率は増加し、蒸煮大豆は水分が増加し、色が明るくなった。脱皮率を上げることによりリュウホウも、水分が60%を超え、Y%は40台となった。

蒸煮大豆の味を考慮すると、表3に示したようにリュウホウ約15%、トヨマサリ約8%、中国約10%の脱皮率が適当と考える。

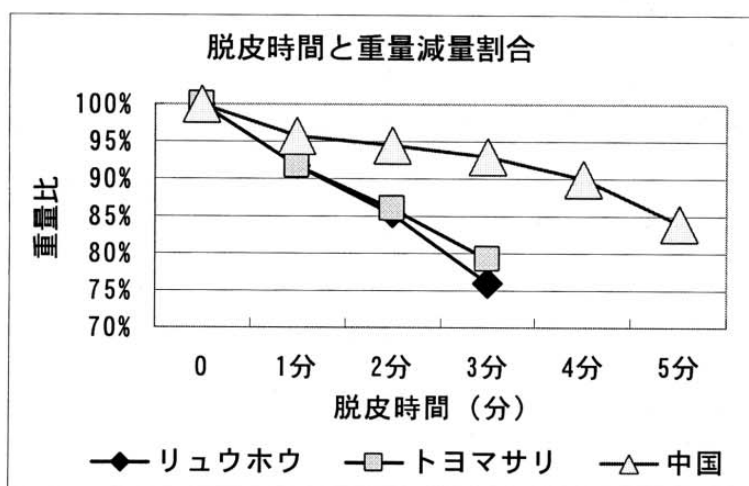


図4 脱皮時間と重量の変化

表2 脱皮時間が異なる大豆の蒸煮試験

	脱皮 時間 (分)	脱皮 率 %	水分 %	蒸煮大豆		
				Y %	x	y
リュウホウ 1	1	8.2	60.2	35.9	0.381	0.373
リュウホウ 2	2	14.9	61.7	42.2	0.372	0.369
リュウホウ 3	3	23.9	63.8	41.5	0.375	0.370
トヨマサリ 1	1	8.2	63.4	37.4	0.377	0.369
トヨマサリ 2	2	14.1	65.2	42.2	0.368	0.364
トヨマサリ 3	3	20.8	63.5	43.4	0.369	0.364
中国 1	1	4.2	59.5	33.6	0.396	0.383
中国 2	2	5.6	60.9	36.6	0.394	0.385
中国 3	3	7.0	62.4	36.4	0.391	0.381
中国 4	4	9.9	63.7	38.9	0.390	0.382
中国 5	5	15.9	63.7	41.9	0.383	0.377

表3 脱皮率が異なる大豆の蒸煮後の味

	脱皮率%	味	蒸煮大豆官能コメント
リュウホウ 1	8.2		皮のエグミ気になる
リュウホウ 2	14.9	○	甘さ、うまさ、ちょうどよい
リュウホウ 3	23.9		水っぽい
トヨマサリ 1	8.2	○	甘さひきたつ
トヨマサリ 2	14.1		水っぽくなる
トヨマサリ 3	20.8		さらに水っぽくなる
中国 1	4.2		硬い
中国 2	5.6		硬い
中国 3	7.0		硬い
中国 4	9.9	○	ほどよい味
中国 5	15.9		うまみ減る

4. 国産脱皮大豆蒸煮試験

県内外の国産大豆 23 点に前述のサンプル 3 点を加えたものを試料とした。各供試大豆 100g を洗浄、手作業で脱皮し、一晚浸漬した後に蒸煮試験を行った。加熱条件は、吹抜け後の保持時間 60 分、0.75 kg/cm² 25 分保持後散湯、再び 0.75 kg/cm² 5 分とした。

大豆の内容表示が明確なもの 23 点について大粒と中粒に分けて蒸煮水分

と蒸煮後の色を測定した。結果を表 4 に示したが、百粒重以外に差は認められなかった。

しかし蒸煮後の色 (Y%) と蒸煮大豆の水分には図 5 に示したような相関があった。今回使用した国産大豆サンプル 26 点の中では、リュウホウの水分と Y% はともに低かった。

表 4 国産脱皮大豆の蒸煮試験結果 (散湯)

	n		百粒重	水分 %	Y%	x	y
全体	23	Ave.	32.0	61.2	39.3	0.385	0.374
		Std.	4.517	1.619	1.936	0.006	0.005
		バラツキ	0.141	0.026	0.049	0.017	0.014
大粒	15	Ave.	34.6	61.3	39.3	0.385	0.375
		Std.	2.442	1.776	2.011	0.007	0.006
		バラツキ	0.071	0.029	0.051	0.018	0.015
中粒	8	Ave.	27.1	61.1	39.3	0.384	0.373
		Std.	3.231	1.382	1.923	0.006	0.004
		バラツキ	0.119	0.023	0.049	0.016	0.010

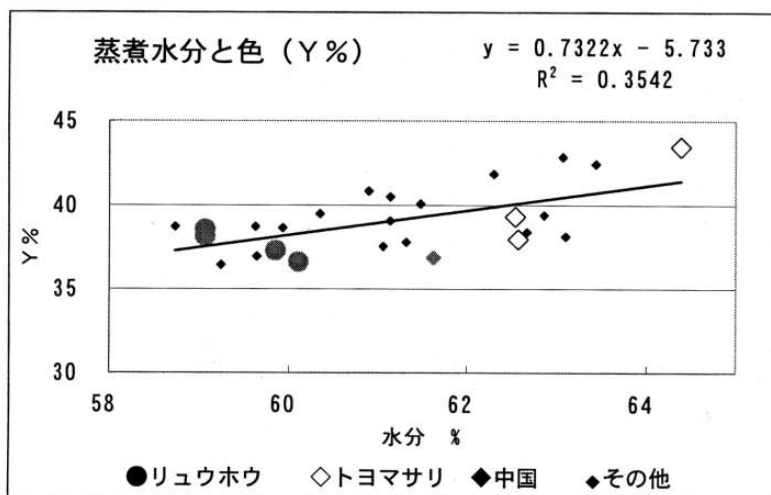


図 5 国産脱皮大豆の色 (Y%) と水分

【考察】

品質のよい秋田みそを製造するためには、米麴の品質や酵母・乳酸菌など有用微生物の選択等重要なポイントがいくつかあるが、原料として配合割合の多い大豆の品質は、特に重要である。

みそ用大豆として蒸煮する場合検討を要する項目は 3 点ある。まず水分で

ある。味噌の物性、有用微生物の増殖、保存性、香気などを考慮すると、加圧蒸ではできるだけ水分含量が多いことが望まれる。今回は 60%以上を目標とした。

次に硬さであるが、組成、色、有用微生物の増殖等に及ぼす影響を考慮して適度に柔らかい組成のものが望ましい。今回の試験では、上皿天秤で 300 g 以下を示すことを目標とした、

味噌の色に直接影響を及ぼす蒸煮大豆の色は、仕込み時点で着色がはなはだしいと発酵熟成の過程でさらに進行するので、目標とする色にコントロールすることが困難になる。そのため今回は Y% は 40 以上とし、できるだけ明るい色調とすることを目標とした。

処理法として検討した散湯は、蒸煮大豆の水分を 2~4% 高くし、着色の原因物質を洗い流す効果によって Y% も高くする効果がある。²⁾

1. 非脱皮大豆

加圧蒸の前の予備加熱ともいえる吹き抜け後の保持時間は、リュウホウの場合 22 分では水分も軟らかさも不十分で、40 分は必要であった。加圧蒸時間については、45 分では不十分で、60 分あるいは 45 分後に散湯を行うことで水分が増加し、大豆の硬さも減少した。しかし、今回の試験では蒸煮大豆の着色が進み、いずれの条件でも大豆の品種に関わらず Y% が 30 台であった。このことから、非脱皮大豆の加圧蒸(散湯も含む)だけでは、今回の目標とする蒸煮条件を満たさず、高品質な味噌用の蒸煮には向かないことが判明した。

2. 脱皮大豆

非脱皮大豆の蒸煮では着色が進行し、目的とする蒸煮大豆を得ることができなかったので、脱皮処理を検討した。

脱皮処理を行うことで、蒸煮水分が 60% 以上になり、蒸煮大豆の色(Y%) も 40 以上を確保できたことから、リュウホウの脱皮処理は高品質な味噌用の蒸煮に有効である。

最適な脱皮割合は大豆により異なることが認められた。リュウホウはトヨマサリと脱皮スピードが似ていたが、トヨマサリよりやや多く脱皮率を上げる必要があると考えられた。これは原料欠減に繋がり、採算面では不利である。

3. 国産大豆と比較して

大粒と中粒では価格差があるが、今回の試験では蒸煮大豆の性状的な差があるとはいえなかった。むしろ蒸煮水分と Y% にいくらか相関があり、水分

と明るい色合いは粒の大きさに無関係であるといえる。

リュウホウは、水分が少なく色調の明るさも不足であった。リュウホウの蒸煮仕上がりを向上させるには、脱皮処理や加圧散湯蒸以外の工夫が必要である。同時に、栽培面、保存面らの改良も必要であろう。

【文献】

- 1) みそ技術ハンドブック（全国味噌技術会編）、6（1995）
- 2) 今井誠一・松本伊左尾、味噌技術読本、31-32（1990）

秋田県産酒造原料米における酒造適性の経年変動

高橋仁、渡辺誠衛、大野剛、田口隆信、中田健美、立花忠則、田口トモ子（秋田県総合食品研究所酒類部門）

Hitoshi TAKAHASHI, Seiei WATANABE, Tsuyoshi OHNO, Takanobu TAGUCHI, Takemi NAKATA, Tadanori TACHIBANA, and Tomoko TAGUCHI

【要約】

平成 14～16 米穀年度（RY）の秋田県産 9 地区 4 品種の原料米を用い、酒造原料米の統一分析法による分析結果を統計的手法で解析した。

(1) 米穀年度間より品種間による変動が大きい分析項目は、玄米千粒重、吸水性 20 分値、吸水性 120 分値、消化性ブリックス糖度、白米粗蛋白質であり、品種間より米穀年度間による変動が大きい項目は、玄米粗蛋白質、消化性アミノ酸度、白米カリウムであった。

(2) 同一品種における産地間の変動について分散分析により検討した結果、「美山錦」、「めんこいな」とも有意な分析項目はなかった。米穀年度間については「美山錦」が玄米千粒重、玄米粗蛋白質、消化性アミノ酸度の 3 項目、「めんこいな」が砕粒歩合、吸水性 20 分値、120 分値、消化性蒸米吸水率、ブリックス糖度、アミノ酸度、白米カリウムの 8 項目に有意な変動がみられた。

(3) 9 地区品種の平均値によるクラスター分析の結果、「美山錦」、「秋田酒こまち」、「めんこいな」、「吟の精」の 4 グループに分類され、品種特性が認められた。

(4) 米穀年度ごとに地区品種の因子分析を行った結果、いずれの年度についても精米特性、粗蛋白質、溶解性、玄米の状態が因子負荷量の上位に挙げられた。また、9 地区品種、3 ヶ年 27 試料の因子分析結果のプロットから、「美山錦」、「秋田酒こまち」が「吟の精」、「めんこいな」よりも変動が少なく、品質が安定していると考えられた。

【緒言】

清酒醸造において、原料米の特性を把握することは極めて重要である。昭和 51 年度から酒米研究会を中心として、酒米の特性把握のために全国酒米統一分析法^{1,2)}によるデータの蓄積が行われ、これらの成果は吉沢³⁾、宮野^{4~6)}、岡崎他⁷⁾により、原料米特性の解析に利用され酒造へ活用されている。また、水間他⁸⁾はこれらのデータに統計的手法を用いて酒造特性の経年変動の解析を行うなかで、品種間、米穀年度間に加え産地間の差異が存在することを指摘している。

秋田県では、昭和 63 年から地場に安定生産できる吟醸酒用原料米を目的とした酒造好適米開発事業を進める中で、旧秋田県醸造試験場（現秋田県総合食品研究所醸造試験場）と秋田県農業試験場、秋田県酒造組合が協力して酒造原料米の分析を行う体制が整い、平成 8 年から秋田県酒造組合酒造原料米分析チームとして活動している。

本報では、これらの分析活動から平成 14～16 米穀年度に秋田県と同じ栽培地区で収穫された 9 地区 4 品種の酒造原料米の分析データを用い、水間他⁸⁾の解析手法を参

考に酒造特性の経年変動について検討を行った。

〔実験方法〕

1. 原料米

平成 14～16 年秋田県産の酒造好適米、美山錦（南秋田郡、仙北郡、湯沢市）、「吟の精」（仙北郡、湯沢市）、「秋田酒こまち」（湯沢市）に一般米の「めんこいな」（南秋田郡、仙北郡、平鹿郡）を加えた計 9 地区 4 品種を精米歩合 70%（見掛け精米歩合）として使用した（表－1）。精米はサタケ製テストミルを用いて行った。

2. 原料米の分析

原料米の一般分析および消化性分析は国税庁所定分析法⁹⁾および酒米研究会統一分析法¹⁾によった。ただし、水分・粗蛋白質はブランルーベ社の InfraAlyzer500 を使用した近赤外分光分析法¹⁰⁾により行った。

3. 解析

パソコンによる表計算ソフト、マイクロソフトエクセルを用い基本統計量、分散分析を行った。クラスター分析、因子分析は同ソフトのマクロ機能を用いた。

〔結果および考察〕

1. 各種原料米分析項目の品種平均と生産年度平均

成分値および消化性試験

平成 14～16 年における 3 年間の各品種の成分値の分析結果を表－1 に示した。表－1 における地区品種別の分析値は秋田県内の同一地区における平成 14～16 年の平均値であり、米穀年度別分析値は同一米穀年度における 9 地区品種の平均値である。地区品種別平均値はデータ間の年次変動を消去し、地区品種特性を明確にするものであり、米穀年度別の平均値は栽培された米穀年度の特徴を示す⁸⁾。

玄米千粒重では、米穀年度間の変動係数 2.8% に比較して品種間の変動係数は 10.9% と大きいことから、米穀年度の影響が少なく品種に強く依存した特性と考えられる。吸水性 20 分値、120 分値、消化性のブリックス糖度、白米粗蛋白質の分析項目にも同様の傾向がみられた。また、品種間よりも米穀年度間の影響が大きい項目としては、玄米粗蛋白質、消化性のアミノ酸度、白米カリウムが挙げられた。その他の分析項目は品種間の変動係数と米穀年度間の変動係数が同程度であった。

玄米粗蛋白質が米穀年度間の影響を強く受け、白米粗蛋白質が品種間の影響を強く受けたことは、玄米が気象条件、施肥条件等の影響を受けやすいことが考えられる一方、白米は、斎藤他¹¹⁾の報告のように品種固有の玄米形態および精米特性の影響により表皮付近の粗蛋白質の除去の程度が異なることが蛋白質含量に影響したと考えられる。一例を挙げると、吟の精（湯沢市）は玄米 8.0% から白米 5.1% に対して、「秋田酒こまち」（湯沢市）は玄米 8.0% に対して 4.6% となり、玄米の形態が丸形の「吟の精」が比較的扁平型の秋田酒こまちに比較して蛋白質が残りやすい傾向を示している。

栽培地区品種間では、仙北郡産、湯沢市産とも「吟の精」の千粒重が大きく、大粒であった。吸水性では、酒造好適米で吸水速度の指標となる 20 分値が高かったのに

対して、最大吸水量を示す 120 分値は変動係数が 2.3%と低く酒造好適米と一般米に顕著な差はみられなかった。消化性では酒造好適米の「秋田酒こまち」（湯沢市）がブリックス糖度で 11.6%と高い値を示し溶解が良好であった。

表-1 秋田県産酒造原料米4品種の地区別および年度別の分析値(平成14~16RY)

品種	栽培地区	RY	玄米			精米歩合70%白米								
			千粒重(g)	水分(%)	粗蛋白質(%/dry)	無効精米歩合(%)	砕粒歩合(%)	吸水性20分値(%)	吸水性120分値(%)	蒸米吸水率(%)	ブリックス糖度(%)	アミノ酸度(ml)	粗蛋白質(%/dry)	カリウム(ppm/dry)
美山錦	南秋田郡	14	27.5	16.1	7.0	3.4	20.8	28.4	30.0	31.2	11.5	0.6	4.7	723
		15	25.4	16.0	7.6	1.7	23.0	28.8	29.5	30.8	12.1	0.7	4.5	614
		16	26.4	15.4	8.3	4.7	34.0	29.6	30.3	31.0	11.5	0.8	4.9	400
美山錦	仙北郡	14	27.7	16.2	6.8	3.7	27.6	29.0	30.5	31.8	11.7	0.7	4.7	592
		15	26.1	16.4	8.1	1.4	24.3	28.7	29.4	30.6	11.6	0.7	4.9	657
		16	27.0	16.6	9.0	3.0	39.9	28.7	29.6	31.9	11.2	0.9	5.3	355
美山錦	湯沢市	14	27.2	16.9	7.2	7.2	33.5	29.1	30.5	32.2	11.7	0.7	4.8	619
		15	25.7	16.3	8.1	1.4	22.1	28.5	30.1	31.4	11.6	0.8	4.9	500
		16	28.0	16.9	8.4	2.1	34.0	30.1	30.5	33.0	11.7	0.8	4.6	538
吟の精	仙北郡	14	30.6	15.5	7.8	2.8	23.7	28.8	31.1	33.0	10.2	0.6	4.8	597
		15	29.4	16.6	8.7	5.0	43.8	30.0	31.2	32.1	11.3	0.7	5.3	709
		16	30.3	16.3	9.0	3.2	41.0	29.4	31.0	33.5	10.1	0.8	5.0	421
吟の精	湯沢市	14	30.7	15.6	7.8	5.1	33.9	28.8	32.2	33.2	10.6	0.7	5.2	660
		15	28.4	15.9	8.1	3.7	43.7	30.0	31.2	32.3	11.1	0.8	4.9	580
		16	31.0	16.3	8.3	5.3	43.7	30.7	31.8	34.6	10.7	0.8	5.1	502
秋田酒こまち	湯沢市	14	27.4	16.4	7.3	3.7	16.6	28.4	29.7	31.5	11.6	0.6	4.5	569
		15	27.1	16.6	8.4	0.5	20.0	27.7	29.3	30.1	11.8	0.8	4.6	609
		16	28.0	16.3	8.2	2.7	28.1	29.1	29.7	33.0	11.4	0.8	4.6	422
めんこいな	南秋田郡	14	23.7	16.2	7.7	1.6	11.1	24.0	31.3	32.6	10.8	0.6	4.7	633
		15	21.8	16.0	8.8	0.7	16.5	27.2	30.3	31.5	11.5	0.7	5.1	591
		16	22.8	16.3	8.4	4.3	43.8	28.8	30.7	33.2	10.9	0.7	4.8	412
めんこいな	仙北郡	14	24.0	15.8	7.6	2.2	13.2	25.5	31.9	33.1	10.7	0.6	4.7	588
		15	22.5	16.6	7.9	0.2	18.1	27.3	30.3	31.5	11.0	0.4	4.5	699
		16	23.3	16.3	8.2	2.1	32.1	28.9	31.0	33.3	10.8	0.8	4.5	398
めんこいな	平鹿郡	14	22.5	15.7	8.7	2.3	19.8	25.6	32.1	33.6	10.3	0.7	5.8	619
		15	22.7	16.2	8.3	0.7	21.5	26.6	30.2	30.8	11.4	0.8	5.0	594
		16	23.1	16.3	9.1	2.3	36.8	27.6	30.7	33.6	10.8	0.8	5.0	406
平均値(n=27)			26.3	16.2	8.1	2.9	28.4	28.3	30.6	32.2	11.2	0.7	4.9	556
標準偏差値			2.8	0.4	0.6	1.7	10.2	1.5	0.8	1.1	0.5	0.1	0.3	107
変動係数			10.8	2.4	7.4	58.8	36.0	5.4	2.7	3.5	4.7	12.9	6.2	19.2
地区品種ごとの平均値(14~16RY)														
美山錦	南秋田郡		26.4	15.8	7.6	3.3	25.9	28.9	30.0	31.0	11.7	0.7	4.7	579
美山錦	仙北郡		26.9	16.4	8.0	2.7	30.6	28.8	29.9	31.4	11.5	0.7	5.0	535
美山錦	湯沢市		27.0	16.7	7.9	3.6	29.8	29.3	30.4	32.2	11.7	0.7	4.8	552
吟の精	仙北郡		30.1	16.1	8.5	3.7	36.2	29.4	31.1	32.9	10.5	0.7	5.1	576
吟の精	湯沢市		30.0	16.0	8.0	4.7	40.4	29.8	31.7	33.3	10.8	0.7	5.1	581
秋田酒こまち	湯沢市		27.5	16.4	8.0	2.3	21.6	28.4	29.6	31.5	11.6	0.7	4.6	533
めんこいな	南秋田郡		22.8	16.2	8.3	2.2	23.8	26.7	30.8	32.4	11.0	0.7	4.9	545
めんこいな	仙北郡		23.2	16.2	7.9	1.5	21.1	27.2	31.0	32.6	10.8	0.6	4.6	562
めんこいな	平鹿郡		22.7	16.1	8.7	1.8	26.0	26.6	31.0	32.7	10.8	0.8	5.3	540
平均値(n=9)			26.3	16.2	8.1	2.9	28.4	28.3	30.6	32.2	11.2	0.7	4.9	556
標準偏差値			2.9	0.3	0.3	1.0	6.6	1.2	0.7	0.8	0.4	0.1	0.2	19
変動係数			10.9	1.6	4.1	35.9	23.1	4.3	2.3	2.4	4.0	7.4	5.0	3.4
米穀年度ごとの平均値														
			26.8	16.0	7.6	3.6	22.2	27.5	31.0	32.5	11.0	0.6	4.9	622
			25.4	16.3	8.2	1.7	25.9	28.3	30.2	31.2	11.5	0.7	4.9	617
			26.7	16.3	8.5	3.3	37.0	29.2	30.6	33.0	11.0	0.8	4.9	428
平均値(n=3)			26.3	16.2	8.1	2.9	28.4	28.3	30.6	32.2	11.2	0.7	4.9	556
標準偏差値			0.7	0.2	0.5	1.0	7.7	0.8	0.4	0.9	0.3	0.1	0.0	111
変動係数			2.8	1.0	6.2	35.2	27.2	3.0	1.4	2.8	2.5	9.0	0.3	19.9

2. 「美山錦」および「めんこいな」の産地別・米穀年度別分析値の比較

稲の栽培は、気象条件、土壌条件、栽培方法が異なる多様な環境下で行われており、このことが原料米の成分の変動に影響していると考えられる。表-1の分析データ（「美山錦」：南秋田郡産、仙北郡産、湯沢市産、「めんこいな」：南秋田郡産、仙北郡産、平鹿郡産）を用い栽培地区間および米穀年度間の変動について分散分析により検討した（表-2）。

検討の結果、栽培地区間で5%の有意差が生じる分析項目はなかったが、5%の有意差に近い変動の分散比を示した分析項目は「美山錦」では玄米水分、消化性の蒸米吸

水率、「めんこいな」では消化性の蒸米吸水率であった。高橋他¹²⁾は同一県内の4地区で栽培された3品種を2年間分析した結果、玄米千粒重、粗蛋白質の2項目で有意差が生じたことを、また、水間他⁸⁾は全国5産地の「日本晴」を6年間の分析を行い、玄米千粒重、吸水性20分値、白米粗蛋白質の3項目で有意差が生じたと報告しているが、今回用いた分析試料では栽培地区の違いによる有意差は認められなかった。これは、栽培地区が南秋田郡、仙北郡、平鹿郡、湯沢市の酒造原料米に適した地区で収穫されたことにより、比較的栽培条件が揃っていたためと考えられる。栽培地区間で差が少ないことは、酒造適性の観点から望ましいことである¹³⁾。

米穀年度間に有意差が生じた項目としては、「美山錦」が玄米千粒重、玄米粗蛋白質、消化性アミノ酸度の3項目、「めんこいな」が砕粒歩合、吸水性20分値、120分値、消化性蒸米吸水率、ブリティクス糖度、アミノ酸度、白米カリウムの8項目であった。このことから、「美山錦」は「めんこいな」より米穀年度の影響を受ける項目が少なく、特に吸水性、消化性の項目ではアミノ酸度を除き安定した成分値であることが確認された。

表-2 栽培地区と米穀年度による美山錦およびめんこいな分散分析結果(分散比)

		玄米千粒重(g)	玄米水分(%)	玄米粗蛋白質(%/dry)	無効精米歩合(%)	砕粒歩合(%)	吸水性20分値(%)
美山錦	栽培地区	0.946	4.230	1.073	0.207	1.085	0.658
	米穀年度	9.411 *	0.101	21.707 **	2.874	7.400	2.087
めんこいな	栽培地区	0.748	0.200	3.010	0.557	0.844	0.670
	米穀年度	2.773	2.354	1.459	6.483	20.611 **	15.447 **
		吸水性120分値(%)	消化性蒸米吸水率(%)	消化性ブリティクス糖度(%)	消化性アミノ酸度(ml)	白米粗蛋白質(%/dry)	白米カリウム(ppm/dry)
美山錦	栽培地区	1.857	5.931	0.476	1.107	1.198	0.157
	米穀年度	3.172	5.120	0.890	8.821 *	0.450	3.889
めんこいな	栽培地区	0.822	0.294	1.089	1.698	4.142	0.197
	米穀年度	21.367 **	19.545 **	9.184 *	0.910	0.669	23.480 **

** : 1%有意 (F境界値 18.000)、* : 5%有意 (F境界値 6.944)

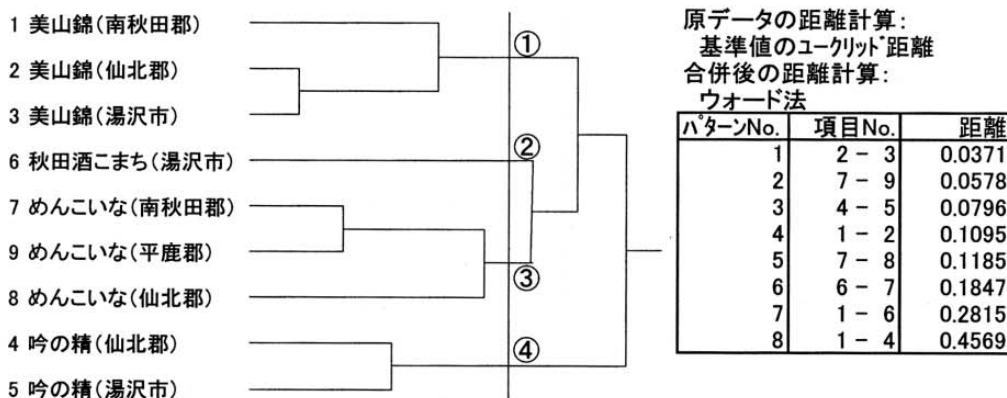


図-1 9栽培地区品種のクラスター分析によるデンドログラム

3. 品種のクラスター分析

表-1に示した9地区の品種ごとの平均値の12分析項目を用いて、クラスター分

析を行い、品種特性を検討した（図－1）。解析は標準化した基準値のユークリッド距離を用いてウォード法により行った。その結果、デンドログラムは、「美山錦」、「秋田酒こまち」、「めんこいな」、「吟の精」の品種を含む4グループに分類でき、品種特性の違いが示された。また、グループ①の「美山錦」では仙北郡産と湯沢市産の特性が近く、グループ③の「めんこいな」では南秋田郡産と平鹿郡産の特性に近い位置となった。

4. 因子分析による米穀年度の影響

9地区品種について各米穀年度ごとのデータを用いて、因子分析を行った¹⁴⁾。表－3に米穀年度ごとに抽出された因子の解釈と寄与率を寄与率の順に第3因子まで示した。例えば14RYにおける第1因子は寄与率45.3%で玄米、白米とも粗蛋白質の因子負荷量が高く、消化性のブリックス糖度の因子負荷量が低いため、米に由来する味と溶解に関する因子とし、第2因子は無効精米歩合、砕粒歩合などの項目から、精米特性に関する因子、第3因子は玄米千粒重と玄米水分の負荷量が高いので玄米の状態に関する因子とした。同様に15RY、16RYについても検討を行ったところ、寄与率はやや異なるものの、因子負荷量の上位に精米特性、粗蛋白質、溶解性、玄米の状態が挙げられた。14RY～16RYにおける精米特性に関する因子の寄与率は26.5～43.1%と大きく、次に負荷量が大きい因子としては粗蛋白質と溶解性に関わる因子、次いで玄米の状態に関わる因子となり、年度に関わらず同一傾向の因子が抽出される傾向となった。

表－3 米穀年度ごとに抽出された因子の解釈と寄与率

因子番号		1	2	3
14RY	因子の解釈	粗蛋白質と溶解性	精米特性	玄米の状態
	寄与率(%)	45.3	26.5	12.5
15RY	因子の解釈	精米特性	溶解性	粗蛋白質
	寄与率(%)	43.1	20.2	16.1
16RY	因子の解釈	精米特性	粗蛋白質と溶解性	玄米の状態
	寄与率(%)	29.4	24.0	17.2

また、9地区の品種3ヶ年の全試料（n=27）について、因子分析を行った結果、第1因子は寄与率36.7%で精米特性と消化性に関わる因子負荷量が大きく精米に関連した砕米など影響による溶解の因子、第2因子は寄与率26.1%で吸水性の速さによる消化性に関わる因子、第3因子は寄与率19.1%で千粒重と蛋白質に関わる因子と推定された。第1因子と第2因子をプロットした図－2から「美山錦」と「秋田酒こまち」が比較的まとまった場所に位置したのに対して、「吟の精」は分布がばらつく傾向があり、「めんこいな」はさらにばらついた。美山錦は米穀年度、栽培地区に関わらず農業試験場などの栽培指針に基づいた栽培管理が行われた結果、酒造特性を保持されていると考えられる。「秋田酒こまち」は、栽培地区および米穀年度のサンプル数が少ないことから、今後のデータ集積によりその安定性を確認する必要がある。

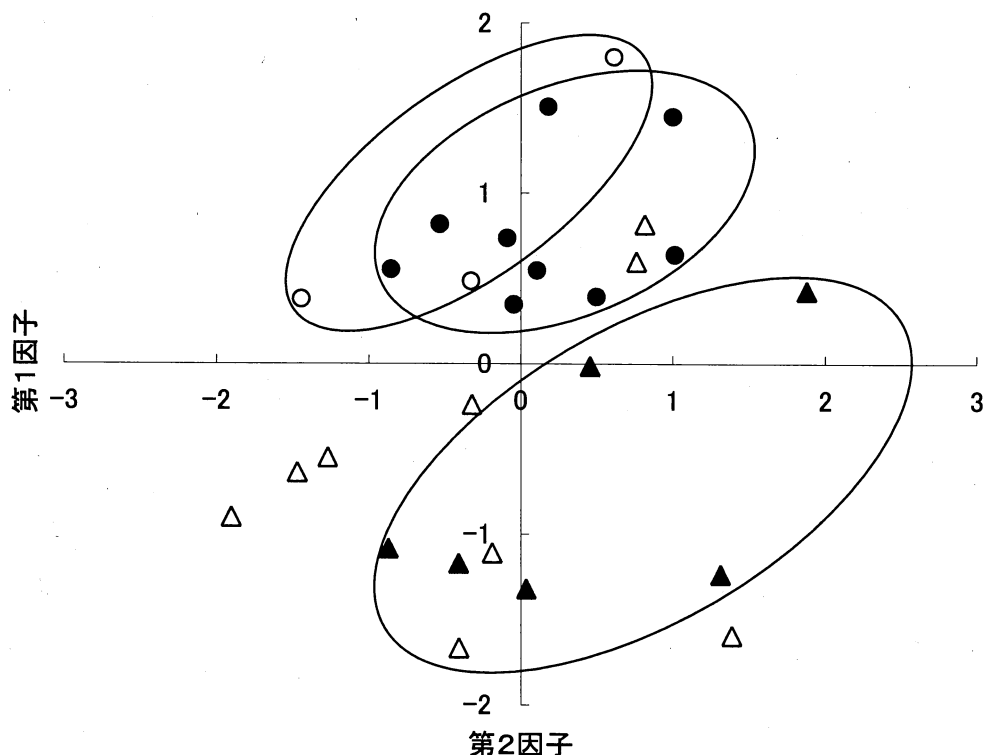


図-2 秋田県内9地区品種の因子得点プロット(14~16RY)

第1因子: 精米特性に関する因子

第2因子: 吸水の速さに関する因子

●: 美山錦、▲: 吟の精、○: 秋田酒こまち、△: めんこいな

[謝辞]

本報は平成14~16年秋田県酒造組合原料米分析チームと共同で分析したデータを用いており、データの蓄積にご尽力頂きました秋田酒類製造(株)武田伸氏、秋田銘醸(株)大友理宣氏、小玉醸造(株)石川敬氏、福乃友酒造(株)一星雅彦氏、沼館酒造(株)小柳秀雄氏、森川酒造店 森川英貴氏、秋田県酒造組合酒造技術研究委員会 備前次雄委員長、佐渡高智副委員長、秋田県立大学 岩野君夫教授に深謝致します。

[文献]

- 1) 吉沢 淑: 醸協, 77(10), 656(1982)
- 2) 吉沢 淑: 醸協, 77(11), 798-805, (1982)
- 3) 吉沢 淑: 醸協, 79(3), 156-164(1984)
- 4) 宮野信之: 醸協, 81(11), 782-788(1986)
- 5) 宮野信之: 醸協, 81(12), 854-858(1986)
- 6) 宮野信之: 醸協, 82(1), 33-40(1987)
- 7) 岡崎直人、伊藤 清、小林信也: 醸協, 83(11), 764-769(1988)
- 8) 水間智哉、古川幸子、中村智美、清川良文、柳内敏靖、若井芳則: 醸

協,96(5),349-359(2001)

9) 日本醸造協会：国税庁所定分析法注解、第四回改正(1993)

10) 若井芳則、井上佳彦、西川泰央、邑田淳一、三浦 剛：醸協,79(6),445-446(1984)

11) 斎藤富男：醸協,93(10),778-783(1998)

12) 高橋康次郎、北本勝ひこ、戸塚 昭、吉沢 淑、中村欽一、大橋 勝、庭山 孝：
醸協,79(8),586-591(1984)

13) 野白喜久雄：醸協,69(10),640-644(1974)

14) 若井芳則、宮崎紀子、水間智哉、中村智美、長野知子、福田 潔、柳内敏靖：生
物工学,74(4),245-254(1996)

色素培地を用いた優良酵母の育種とその酒造適性

渡辺誠衛・新野葉子・田口隆信・高橋 仁・大野 剛

中田健美・立花忠則

(秋田県総合食品研究所 酒類部門)

Seiei WATANABE, Yoko NIINO, Takanobu TAGUCHI, Hitoshi TAKAHASHI,

Tsuyoshi OONO, Takemi NAKATA, Tadanori TACHIBANA,

【要約】

清酒酵母は一般的に孢子形成能が極めて低く、交雑法による清酒酵母育種の大きな障害となっている。しかし、既に色素培地を用いて孢子形成能の低い清酒酵母から高頻度で一倍体を取得する方法は報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。今回はこの方法を改良して、優良な吟醸酒用酵母から高頻度で一倍体を取得し、交雑法により2つの酵母の優れた性質を有する新規吟醸酒用酵母を育種した。さらに、育種株の中から優良な1株を選抜し、小仕込試験と現場醸造試験により実用性を確認した。本酵母は「こまち酵母」と命名され、平成14年から秋田県酒造協同組合より吟醸酒製造用酵母として配布されている。

【諸言】

近年、清酒の多様化、差別化、そして、より一層の高品質化を目的として積極的な優良清酒酵母の分離、改良、育種が広く行われており、その実用株の開発が進められている。特に、香りに特徴のある酵母の分離・育種に関して多くの研究が報告されており、芦田ら¹⁾、柳内ら²⁾、秋田ら³⁾は、酢酸イソアミル高生産性酵母、市川ら⁴⁾は、セルレニン耐性株よりカプロン酸エチル高生産性酵母、秋田ら⁵⁾、福田ら⁶⁾は、 β -フェネチルアルコール、酢酸 β -フェネチル高生産性酵母を取得している。これら特定の香气成分を高生産する酵母は、清酒に香气の面で特徴づけが可能であり、吟醸酒の高品質化・清酒の多様化に多大に貢献している。しかし、これら特定の香气成分を高生産する酵母は薬剤耐性や変異処理により、やもすれば、従来保持していた優良な性質が失われるケースもみられる。

一方、従来から二つの酵母の有用な性質のみを有する酵母の育種方法として、交雑法があり、吉田ら⁷⁾⁸⁾、奥野ら⁹⁾は、孢子形成能の解明や一倍体の交雑により二倍体の実用株を育種している。しかし、ヘテロタリック(a/ α)で二倍体である清酒酵母の交雑を行う際、清酒酵母は極めて孢子形成能が低く、大きな障害となっている。永井ら¹⁰⁾は各種の色素添加培地を検討した結果、泡無し酵母の判別を可能とし、黒瀬ら¹¹⁾は、エオシンYとアマランスを含む色素培地で一倍体株を高頻度で取得し、実用株を育種している。

我々は、これらの色素培地を改良した培地を用いて、協会酵母から一倍体を取得し、

交雑法により、香気生成能が高く、発酵力も考慮した新規吟醸酒用酵母の育種を試みた。さらに、育種株の小仕込試験と現場醸造試験により酒造適性を検討し、良好な結果が得られたので報告する。

【 実 験 方 法 】

1. 使用菌株

(財)日本醸造協会のきょうかい 901 号 (K901)、きょうかい 1001 号 (K1001)、きょうかい 12 号 (K12)、きょうかい 14 号 (K14)、きょうかい 1601 号 (K1601) と、きょうかい 1501 号 (K1501) の計 6 株を用いた。

2. 一倍体株の取得方法

永井ら¹⁰⁾、黒瀬ら¹¹⁾の改良培地として、ポンソーRとアニリンブルーを用いた色素培地による一倍体株の取得を試みた。Pre-sporulation 培地 (1% Bact-yeast extract、2% Bact-peptone、2% Glucose、2% Bact-agar) で 30℃、2 日間培養後、Sporulation 培地 (Potassium acetate、Bact-yeast extract、Glucose、Bact-agar) で 20℃~28℃、3~6 日間培養し、孢子形成を行った。菌体 0.3~0.5g 取り 0.5ml の殺菌水に懸濁した。その後、30℃~37℃で 5~3hr Zymolyase 処理 (50mM tris-HCl pH8.0、10mM EDTA、0.5mg/ml Zymolyase 100-T) を行い、50~55℃で 30~10 分 Heat shock を行った。殺菌済み流動パラフィン を 1ml 当たり 0.5ml 加え、1 分間攪拌し、3000rpm、10 分の遠心分離後、液層の境界線の流動パラフィン部位を取り、適当に希釈後、色素選択培地 (6.72g Y.N.B.、10g Glucose、30g Sucrose、3g Methionine、3g Bact-yeast extract、20g Bact-agar、10ml Filtrated anilin blue (250mg/100ml)、10ml Filtrated ponsou-R (250mg/100ml)) にプレートした。30℃、3~5 日間培養後、赤色に染色したコロニーを釣菌した。

3. 一倍体株の諸性質

(1) Haploid 株の確認と接合型の決定

色素培地で分離した Haploid 株と思われる株について、標準 Haploid 株 a Type と α Type のそれぞれと凝集反応させ、凝集性のない株を Diploid 株、凝集性の強い株を Haploid 株とし、標準 a Type と凝集する株を α Type、標準 α Type と凝集する株を a Type とした。

(2) Haploid 株の発酵試験

YPD 培地 (1% Yeast extract、2% Poly peptone、2% Glucose) で、30℃、2 日間前培養を行った後、アルコール脱水麴を用いた培地¹²⁾ (8g アルコール脱水麴、22ml 麴エキス Be'6、1ml 酵母培養液) で 15℃、14 日発酵させた。3500rpm、30 分遠心分離のろ液について、発酵力は振動式密度計 (アントンパール社製、DMA 58) を用いて日本酒度で求めた。一般成分は、国税庁所定分析法¹³⁾により香気生成能は、ガスクロマトグラフィーを用いてヘッドスペース法¹⁴⁾で定量した。

4. 交雑方法と Diploid 株の取得

交雑に用いる Haploid 株を、YPD 液体培地 (1% Yeast extract、2% Polypeptone、2% Glucose) で、30℃、2 日間前培養を行った後、約 1×10^7 cells/ml に調整した a Type と α Type を 100 μ l ずつ混合し、30℃ で 1 夜静置し接合させ、それらを YPD 液体培地に 20 μ l 接種、30℃ で 24 時間培養した。適当に希釈後、前記 Selection pigment 培地に接種し、30℃、3~5 日間培養後、大きな Colony でかつ、青色のコロニーを Diploid 株として釣菌した。

交雑した Diploid 株について、前記同様にアルコール脱水麴¹¹⁾を用いた培地で発酵試験を行い、発酵能、酸生成能、香気生成能を調べた。

5. 交雑株の DNA 含有量

標準 Haploid 株の a Type と α Type と交雑株について DNA 含量を測定した。Full growth させた菌体を Schneider 法¹⁵⁾で DNA を分解・抽出した後、Burton 法¹⁶⁾で定量した。検量線は Sigma 社製の Sarmor testes DNA Type III を標準 DNA として作成した。

6. 吟醸酒製造試験

(1) 仕込み方法

原料米は、精米歩合 45% の山田錦を使用した。酵母仕込みで行い、一般的な吟醸酒の仕込配合で 3 段仕込みで行った。品温は、恒温器により制御し、最高温度は 10~11℃ とした。

(2) 分析方法

醪を 3500rpm、30 分遠心分離し、ろ液を分析試料とした。一般成分は、国税庁所定分析法¹³⁾により、香気成分は、ヘッドスペース法¹⁴⁾により分析した。官能試験は、パネラー 6 名で、5 点法 (1:良い ~ 5:悪い)で行った。

【実験結果及び考察】

1. 供試菌株の諸性質

現在、主に使われている吟醸酒用酵母 6 種類について、アルコール脱水麴を用いた培地¹²⁾で発酵試験を行い、分析結果を表 1 に示した。日本酒度を指標とした発酵能は、K1001>K901>K12>K14>K1501>>K1601 の順に発酵力が旺盛だった。

香気生成能は、イソアミルアルコール生成量が K1601>K901>K1001>K1501>K12>K14 の順、酢酸イソアミル生成量が K1001>K1501>K901>K1601>K12>K14 の順、カプロン酸エチル生成量が K1601>>K1501>K1001>K901>K12>K14 の順となった。

交雑に供する親株は、香気生成能から K1601 が有望で、発酵能から K901、K1001、K12 が有望と思われた。

表 1. 供試菌株の諸性質

No.	酵母名	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	香気成分 (ppm)		
						イソアミルアルコール	酢酸イソアミル	カプロン酸エチル
1	K901	0.8	19.2	4.4	1.6	244.5	34.0	1.92
2	K1001	1.0	19.3	2.6	1.7	237.8	42.3	1.95
3	K12	0.8	19.2	3.3	1.9	209.3	21.2	1.66
4	K14	-3.8	18.3	3.6	1.9	195.8	18.7	1.63
5	K1501	-4.6	18.2	3.2	1.6	235.1	36.2	2.52
6	K1601	-14.0	17.1	3.1	1.7	264.0	30.5	5.24

2. 一倍体株の取得と諸性質

供試株の6種類の酵母から、前記の色素培地を用いて、赤色に染色された Haploid 株と思われるコロニーを釣菌した。K901 から 175 株、K1001 から 97 株、K12 から 120 株、K14 から 170 株、K1501 から 296 株、K1601 から 59 株、合計 916 株を分離した。この中から比較的小さいコロニー148株を選抜し、標準 Haploid 株の a Type と α Type のそれぞれと凝集試験を行い、接合型を調べた結果、a Type が 60 株、 α Type が 85 株、凝集反応を示さないのが 3 株だった。

次に、交雑に用いる優良な Haploid 株の選抜を試みた。Haploid 株と確認された 145 株についてアルコール脱水麴を用いた培地¹²⁾で検討した。15℃、14 日間発酵後、ろ液について分析し、香気成分と発酵力を評価した。

高香気生成株として、カプロン酸エチル生成量と酢酸イソアミル生成量を指標とした。高発酵力株として、日本酒度を選抜の指標とした。その結果、高香気生成 Haploid 株は、K1601-3、K1601-7、K1601-24、K1601-30、K1601-33、K12-65 の 6 株。これらはすべて α Type だった。一方、発酵力の面から選抜した a Type の Haploid 株は、AK1-140-111-15、AK1-140-111-93、K1001-83、K901-27 の 4 株だった。香気生成能の高い α Type 6 株と、発酵力の強い株として a Type 4 株の Haploid 株を交雑に供した。

3. 交雑株の育種

表 2 に示したように、香気生成能の高い α Type 6 株と、発酵力の強い株の a Type 4 株の組み合わせで、 α Type 6 株 × a Type 4 株 = 24 通りの交雑を行い、360 株の交雑株を取得した。

表 2. 交雑組み合わせ

高香気生成株			×	高発酵力株		
No.	Haploid名	type		No.	Haploid名	type
1	K1601-3	α		H	K1501-15	a
2	K1601-7	α		J	K1501-93	a
3	K1601-24	α		K	K1001-83	a
4	K1601-30	α		L	K901-27	a
5	K1601-33	α				
6	K12-65	α				

4. 交雑株の発酵試験

交雑株 360 株について、一次スクリーニングでは、アルコール脱水麹培地¹²⁾を用いた培地で発酵試験を行い、日本酒度、酸度、香气成分を測定し、①発酵が良好。日本酒度±0以上。②カプロン酸エチルが 3ppm 以上。③酸が高すぎない。④官能的に良好。⑤味のふくらみがある、等を選抜条件とした。図 1 に、日本酒度を指標とした発酵能と、カプロン酸エチルを指標とした香气生成能の散布図を示した。交雑株の発酵能は、日本酒度で-38 から+13 と幅があり、香气生成能も、カプロン酸エチルで 1.6ppm から 14.3ppm とバラエティーのある交雑株が得られた。その中から、一般成分、香气成分、官能試験などを総合的に判断して、1K9、2J2、3K8、5J8、5L4、13K10 の 6 株を選抜した。

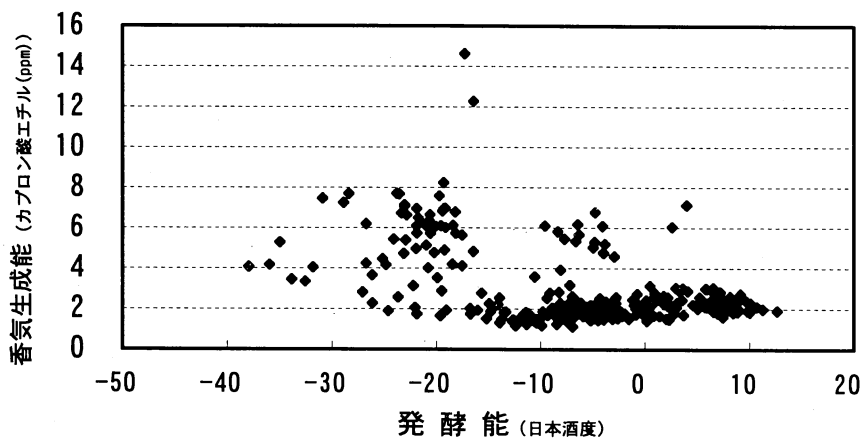


図 1. 交雑株の発酵能と香气生成能

5. 交雑株の小仕込試験

二次スクリーニングでは、交雑株 6 株について総米 10Kg の吟醸酒製造試験を行った。上槽後の一般成分と香气成分を表 3 に示した。その中から、醪日数が 33 日で、日本酒度-1.0、アルコール 15.3%で香气成分の高い 3K8 株を選抜した。官能試験結果から、香味のバランスの良い酒質となったが、対照の K1501 株に比べ、やや酸生成の低い傾向があった。

表 3. 交雑株小仕込試験結果 (総米 10Kg)

	No.	Strain	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	香气成分 (ppm)			上槽日数
							イソamilアルコール	酢酸イソamil	カプロン酸エチル	
交雑株	1	1L9	-12.7	10.6	1.6	2.2	62.1	0.7	8.9	40
	2	2J2	1.3	17.2	1.8	1.2	119.5	5.4	4.5	31
	3	3K8	-1.0	15.3	1.2	1.6	220.2	7.3	7.6	33
	4	5J8	-1.9	14.1	1.1	1.8	224.3	7.5	7.5	40
	5	5L4	-10.9	12.6	1.2	2.1	247.4	7.7	6.6	40
	6	13K10	-1.8	16.5	1.8	1.5	89.2	3.2	9.8	30
対照		K1501	-0.9	16.7	1.6	1.2	127.9	7.5	4.3	28

6. 交雑株の改良

酸生成の高い株を目的として、3K8 株からシングルコロニーを 200 株単離した。アルコール脱水麹培地¹²⁾を用いた培地で発酵試験を行い、エタノール生成量、香気成分生成量、酸生成量、アミノ酸生成量について比較した結果、3K8-151A、3K8-157A、3K8-158A、3K8-170A、3K8-181A の 5 株を選抜した。

5 株の酒造適性を調べる目的で、親株の 3K8 株と K1501 株を対照に精米歩合 45% の山田錦を用いて総米 1 Kg、醪最高品温 11℃で吟醸酒小仕込試験を行った結果を表 4 に示した。3K8-157A 株は、醪日数が K1501、3K8 株と同じく 34 日目となり、アルコール生成量は 16.1% と良好な発酵速度を示した。酸度は、親株の 3K8 株の 1.1ml に比べ、1.3ml と酸生産性がわずかながら改良された。香気生成能は、酢酸イソアミルが 10.2ppm、カプロン酸エチルが 5.4ppm となりバランスの良い成分となった。パネル 6 名、5 点法 (1: 良~5: 悪) で官能試験を行った結果を表 5 に示した。評点の平均値が 1.3 と高く評価され、「香り華やかで、含み香があり、ふくらみのある吟醸酒」となり、良好な酒造適性が認められた。

また、3K8-157A 株の DNA 含量を定量した結果、標準 Haploid 株の a Type が $6.2 \mu\text{g}/10^8 \text{ cells}$ 、標準 Haploid 株の α Type が $5.2 \mu\text{g}/10^8 \text{ cells}$ に比べ、3K8-157A 株は $11.8 \mu\text{g}/10^8 \text{ cells}$ となり、2 倍体であることが確認された。

表 4. 3K8 シングルコロニーの小仕込試験結果 (総米 1 Kg)

	No,	Strain No	日本酒度	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)	香気成分 (ppm)			上槽日数
							イソアミルアルコール	酢酸イソアミル	カプロン酸エチル	
交雑株	1	3K8-151A	-2.4	15.3	1.4	1.3	213.0	6.3	4.9	46
	2	3K8-157A	4.8	16.1	1.3	0.9	229.4	10.2	5.4	34
	3	3K8-158A	-2.2	15.4	1.3	1.3	215.7	6.6	5.6	46
	4	3K8-170A	1.2	15.7	1.4	1.2	245.0	7.8	5.4	46
	5	3K8-181A	-1.9	15.5	1.4	1.3	237.9	3.3	2.3	46
親株		3K8	2.6	15.6	1.1	1.0	224.4	10.0	6.0	34
対照		K1501	5.6	17.1	1.6	0.9	138.1	7.0	3.0	34

表 5. 3K8 シングルコロニーの小仕込官能試験結果

	No,	Strain No	評点	短評
				交雑株
	2	3K8-157A	1.3	華やか、含み香、ふくらみあり
	3	3K8-158A	1.8	華やか、含み香、後味良い
	4	3K8-170A	1.5	華やか、含み香、バランス良い
	5	3K8-181A	2.0	華やか、良好
対照		K1501	3.5	軽快、荒い、やや渋み

パネラー 6 名、5 点法 (1: 良~5: 悪)

7. 現場醸造試験

3K8-157A 株について、平成 12 酒造年度に県内清酒製造場の 16 場 (醪 19 仕込み) で総米 750Kg~1000Kg の吟醸酒現場醸造試験を行い、実用性が確認されたことから、平成 13 酒造年度に本格的に現場醸造を行った。一般成分の結果を表 6 に、香気成分の結果を表 7 に示した。3K8-157A 株の 34 醪と AK1 株の 38 醪について、平均値で比較

した結果、3K8-157A 株は AK1 株に比べ、醪日数が 34.6 日とほぼ同じく、アルコール 16.4%と発酵能もほぼ同じ程度だった。酸度は 0.3ml 低かった。香気成分は AK1 株に比べ、イソブタノールが 11.9ppm と低く、イソアミルアルコールが 193.1ppm とやや高く、酢酸イソアミルが 3.1ppm、カプロン酸エチルが 5.5ppm だった。平均値ということもあり、小仕込試験の香気成分値とやや差異がみられたが、製成された吟醸酒は、成分的にバランスが良く、官能的にも「香り華やかで、香味の調和した吟醸酒」と高い評価を得ることができた。

表 6. 現場醸造結果 (アルコール添加前一般成分)

酵母名	場数醪数	醪日数 (日)	日本酒度 (度)	アルコール (%)	酸度 (ml)	アミノ酸度 (ml)
3K8-157A	25場34醪	34.6	-2.5	16.4	1.3	1.0
AK1	23場38醪	34.9	-2.5	16.6	1.6	1.0
9号系	11場11醪	31.7	-3.1	16.5	1.5	1.0
その他	4場 4醪	34.0	-2.2	16.6	1.6	1.1

表 7. 現場醸造結果 (上槽後香気成分)

	場数醪数	酢酸エチル	ルナルブ ^o ロ ^a ノール	イソブタノール	イソアミルアルコール	酢酸イソアミル	カ ^o ロン酸エチル
3K8-157A	29場40醪	51.5	43.3	11.9	193.1	3.1	5.5
AK1	28場48醪	53.8	50.1	40.1	133.5	3.4	3.2
9号系	12場15醪	69.6	58.9	26.6	113.7	2.4	3.9
その他	6場 6醪	32.1	55.8	21.2	93.4	1.7	6.6

(平均値 ppm)

平成 13 酒造年度の全国新酒鑑評会の結果を表 8 に示した。秋田県の金賞が 9 場のうち、7 場が 3K8-157A 酵母を使用した吟醸酒であり、全国レベルでも本酵母の優秀さが確認された。本酵母は「こまち酵母」と命名され、平成 14 年から秋田県酒造協同組合より吟醸酒製造用酵母として配布されている。

終わりに臨み、現場醸造試験にご協力頂いた秋田県酒造組合と、快く現場醸造試験を引き受けて下さいました県内酒造メーカーの方々に厚く感謝いたします。

表 8. 平成 13 酒造年度全国新酒鑑評会結果

酵母名	金賞	銀賞	計
3K8-157A	7	2	9
AK-1	1	5	6
その他	1	4	5
合計	9	11	20

引用文献

- 1) S. ASHIDA, E. ICHIKAWA, K. SUGINAMI & S. IMAYASU : *Agric. Biol. Chem.*, 51(8), 2061-2065(1987)
- 2) 柳内敏靖, 清川良文, 若井芳則 : 醱酵工学, 67(1), 159-165(1989)
- 3) 秋田 修, 蓮尾徹夫, 原 昌道, 吉沢 淑 : 醱酵工学, 67(1), 7-14(1989)
- 4) 市川英治 : 醸協, 88(2), 101-105(1993)
- 5) 秋田 修, 井田哲郎, 小幡孝之, 原 昌道 : 醸協, 85(7), 501-505(1990)
- 6) K. FUKUDA, M. WATANABE, K. ASANO, H. UEDA & S. OHTA : *Agric. Biol. Chem.*, 54(1), 269-271(1990)
- 7) 吉田 潔, 稲橋正明, 野呂二三, 中村欽一, 野白喜久雄 : 醸協, 88(7), 565-569(1993)
- 8) 吉田 潔, 稲橋正明, 中村欽一, 秋山裕一, 野白喜久雄 : 醸協, 89(8), 647-651(1994)
- 9) 奥野陽子, 横原健偉致, 伊藤左央里, 杉野晴彦, 高瀬 護, 大谷知子, 内山博文, 今村武司, 中沢伸重, 大島泰治 : 醸協, 94(7), 575-587(1999)
- 10) 永井進, 西村公臣, 笠原秀夫 : 醸協, 67(11), 961-963(1972)
- 11) 黒瀬直孝, 浅野忠男, 垂水彰二, 川北貞夫 : 生物工学会誌, 78(6), 191-194(2000)
- 12) 斉藤久一, 渡辺誠衛, 田口隆信, 高橋 仁 : 醸協, 87(12), 915-921(1992)
- 13) 注解編集委員会編 : 第四回改定国税庁所定分析法注解, p7-p33, 日本醸造協会(1973)
- 14) 吉沢 淑 : 醸協, 68(1), 59-61(1973)
- 15) 微生物研究会法懇談会編 : 微生物学実験法, p258-p259 講談社サイエンティフィック(1975)
- 16) K. BURTON : *Biochem. J.*, 62, 315(1956)

2. 原著論文（研究ノート）（4編）

- ① 「秋田酒こまちと蕎麦における γ -アミノ酪酸の分布」・・・・・・・・・・ 47
大久長範、大能俊久、高橋 仁
- ② 「食品工場におけるカビの発生事例」・・・・・・・・・・ 49
佐々木康子、菅原真理
- ③ 「県産味噌のイソフラボン量と配糖体、アグリコンの比率」・・・・・・・・ 53
渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- ④ 「食用担子菌類が持つ各種酵素活性」・・・・・・・・・・ 57
樋渡一之、小笠原博信、堀 一之、高橋砂織

秋田酒こまちと蕎麦における γ -アミノ酪酸の分布

大久長範・大能俊久・高橋 仁*

(秋田県総合食品研究所食品開発部門、*酒類部門)

Naganori OHISA, Tosihisa OHNO, and Hitoshi TAKAHASHI

【緒言】

発芽玄米の機能性成分の一つとして γ -アミノ酪酸(GABA)が挙げられる^{1,2)}。玄米の表面を削った胚芽米を使用し、グルタミン酸と保温するとGABA含量を高めることができる³⁾。発芽玄米は玄米を水に浸けて発芽を進行させるものであるが、そばでも玄そばを水に浸ける「寒ざらし処理」が知られている⁴⁾。秋に収穫した新そばを、玄そばの状態に厳寒の冷たい清流に10から14日ほど漬け、山国の冷たい風で乾燥する。寒ざらし処理によりそばのGABA含量が2倍に増加したという⁴⁾。米とそばの比較をするために、先ずそれらの中のGABA分布を調べたので報告する。

【実験方法】

1. 試料

「秋田酒こまち」の玄米を小型精米器(ナショナルKG-15)で表面から3%と10%削り試料とした。また試験用精米器(サタケテストミル)を用いて20%, 30%, 40%になるように削り精白米とした。蕎麦粉としては富士製粉(株)から提供された1番粉から3番粉及び末粉を使用した。

2. 米粒によるGABA生成条件の検討

米粉又は蕎麦粉0.5gに0.1N HCl 9.5mlを1ml添加し、ブレンダーで1分間混合した後、この混合液を遠心分離(3000rpm, 10分間)し上清を得た。得られた上清を0.45 μ mのミリポアフィルターで濾過した。濾過済み試料を自動アミノ酸分析機(日本電子、JLC-500V)によりGABAおよび遊離アミノ酸を定量した。

【結果と考察】

表1に一番粉から末粉及びそば殻に含まれているGABA含量を示す。そば粉は内部のデンプン質の多い部位から順に粉になり、最後に残る末粉が種皮に相当する部分である⁵⁾。一から三番粉は玄米と同程度のGABAがまれていたが、末粉には多量のGABAが局在することが分かった。進藤らの報告でも同様な結果であった(10mg/100gのGABA)。そばは寒ざらし処理によりGABA含量が増加することが知られているが、寒ざらし処理をしなくても、末粉を利用すればGABA含量の高い食品ができると考えられた。

秋田酒こまち(玄米)のGABAの局在を調べた。玄米の搗精を進行させると徐々にGABA含量が少なくなり、30%研削米で検出限界となった(表2)。研削米にグルタミン酸を添加し保温したところ、40%研削米までGABAへの変換が認められたので、グル

タミン酸脱炭酸酵素 (GAD) は表層から40%程度の内部まで存在するものと考えられた。研削米のみ (グルタミン酸無添加) を37°Cに保温しても多少GABAが生成した。そば粉 (全層粉) に水を加えてもGABAが大きく増加するとうい報告もあり⁶⁾、内部にGADと基質 (グルタミン酸) のある穀物に加水し保温すればGABAが生成すると考えられた。

表1 そば粉のGABA含量

そば粉の種類	GABA含量(mg/100g)	そば粉の種類	GABA含量(mg/100g)
一番粉	3.4	末粉	25.9
二番粉	2.2	そば殻	3.2
三番粉	5.6		

表2 秋田酒こまち研削米のGABA含量とGABA変換能

研削度 (%)	GABA含量 (mg/100g)	37°C, 12h GABA(mg/100g)	37°C, 12h(+Glu) GABA(mg/100g)
3	4.8	-	-
10	2.5	-	-
20	0.2	3.5	16.7
30	0.0	0.2	3.0
40	0.0	0.2	0.4
50	0.0	0.0	0.0

【文献】

- 1) 牧俊夫：スプラウトの驚異「発芽玄米」、食品と科学、46 (No.5), pp.36-39 (2004).
- 2) 大久長範、菅原真理、阿部雪子、熊谷昌則、高橋砂織：胚芽米と鶏スープによるγ-アミノ酪酸の生成、食品科学工学会誌、47, 451-453 (2000).
- 3) 大久長範、吉元 茜、大能俊久、秋山美展：分つき米の予備加熱と炊飯によるγ-アミノ酪酸の蓄積、調理科学会誌、37, 印刷中
- 4) 後藤久美子・他：寒ざらし処理によるソバの成分変化、食品科学工学会誌、48, 449-452 (2001).
- 5) 柴田茂久：そば粉の成分組成、日本蕎麦協会編「そばの栄養」、pp.5-11 (2000).
- 6) 進藤久美子、堀金彰、安井明美：保存・加工・調理におけるソバ種実中のγ-アミノ酪酸および他の血圧正常化作用を有する成分・活性の挙動の解明、食品研究成績・計画概要 (独法編)、pp.190-191 (2005)

食品工場におけるカビの発生事例

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

【緒言】

これまで、秋田県内の食品製造における工程管理のモデル工場として、各食品工場（きりたんぼ、米麴、切り餅、だまこ、菓子）を設定し、衛生検査を行ってきた。その過程で、工場毎に特徴的なカビが検出されたので、その種類について報告する。

【実験方法】

1. 対象工場

秋田県内のきりたんぼ工場、米麴工場、切り餅工場、だまこ工場、菓子工場の各1社

2. 各工場の汚染状況の検査

各工場のカビの汚染状況を調べるため、落下細菌検査と拭き取り検査を行った。落下細菌検査は、シャーレ（直径9cm）にポテトデキストロース寒天培地（PDA培地；日水製薬社製）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、25℃、5日間培養を行い、出現したカビのコロニー数を計測した。拭き取り検査は、衛生試験法¹⁾に従って、拭き取り培養法で行い、培養は、PDA培地、塗抹平板培養法で、25℃、5日間培養し、出現したカビのコロニー数を計測した。

3. サンプルの微生物検査

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秒間磨砕した。得られた磨砕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。試料をPDA平板培地に塗抹して、25℃、5日間培養し、出現したカビのコロニー数を計測した。

4. カビの分離、同定

落下細菌検査、拭き取り検査及びサンプルの微生物検査で出現したカビを釣菌し、PDA平板培地で25℃、5日間培養した。同様の方法で、数回釣菌し、分離を行った。次に、分離したカビをスライドカルチャー法²⁾で、25℃、3～14日間培養した。また、PDA平板培地にカビを植菌し、25℃、3～14日間培養して、巨大コロニーを作成した。カビの属の同定のために、スライドカルチャー法による顕微鏡観察、巨大コロニーの形態観察を行い、文献³⁻⁷⁾との比較を行った。

【結果と考察】

1. 各工場で検出されたカビの種類

1) きりたんぼ工場

脱酸素剤入りきりたんぼのカビ発生クレーム品から、*Penicillium*、*Fusarium*、*Monascus* が検出された。また、落下細菌検査を行ったところ、包装室と作業室から *Cladosporium*、*Penicillium*、原料米置場、練機、冷却機から *Alternaria*、焼成機から *Fusarium*、包装室から *Neurospora* が検出された。拭き取り検査で検出されたカビは、包装室と作業室から *Cladosporium*、包装室の充填機から *Aspergillus*、保存室から *Penicillium*、包装室から *Alternaria*、冷却機から *Aspergillus* であった。カビ発生の原因調査のため、クレーム品の包材の顕鏡を行った。その結果、焼成したきりたんぼの表面にできる尖った焦げや、乾燥中にバリ（デンプンがフィルム状になったもの）が硬化してできた鋭い角が、包装フィルムを破ってできたピンホールが原因であると考えられた。そこで、ピンホール対策として、尖った焦げやバリを剥がす機械を導入したところ、カビ発生クレームは減少した。一方、落下細菌検査や拭き取り検査の結果では、クレーム品から検出されたカビ以外にも多くの種類のカビが検出されているので、今後、別の種類のカビが製品に混入する危険性がある。特に、包装室から検出された *Neurospora* は、増殖速度が速いので、対策が必要である。

2) 米麴工場

木製の麴蓋が緑色のカビで汚染されたため、麴蓋の拭き取り検査を行ったところ、*Aspergillus*、*Paecilomyces*、*Fusarium*、*Penicillium* が検出された。麴蓋から *Aspergillus* 以外のカビが検出されるのは問題なので、麴蓋の徹底した洗浄、殺菌、乾燥が必要である。

3) 切り餅工場

脱酸素剤入り製品のカビ発生クレーム品から、*Aspergillus* が検出された。のし餅成形時に使用しているとり粉を調べたところ、 10^4 (CFU/g) のカビが検出された。とり粉から検出されたカビを同定したところ、*Aspergillus* 及び *Penicillium* だったので、切り餅のカビ汚染は、とり粉由来と推定された。落下細菌検査と拭き取り検査の結果から、工場全体のカビ数は少なかったため、製品のカビ発生の主な原因は、脱酸素剤の入れ忘れ、ピンホール、シールミス等であると考えられる。中でも、脱酸素剤の入れ忘れが特に多いようであった。

4) だまこ工場

落下細菌検査で検出されたカビは、入口と作業室から *Penicillium*、入口から *Botrytis*、作業室から *Cladosporium* であった。拭き取り検査で検出されたカビは、入口床と冷蔵庫床から *Aureobasidium*、作業室床とシーラーから *Trichoderma*、作業台から *Penicillium* であった。製品の微生物検査を行ったところ、カビは検出されなかったが、現状のままでは製品にカビ汚染の危険性がある。

5) 菓子工場

アップルパイのカビ発生クレーム品から検出されたカビは、*Penicillium*、*Cladosporium*、*Neurospora*、*Aspergillus* であった。落下細菌検査で検出されたカビは、粉体混合室から *Neurospora*、包装室から *Penicillium*、*Cladosporium*、*Fusarium* であった。包装室と粉体混合室では、他の場所に比べ、特にカビ数が多かった。これは、包装室と粉体混合室に、空気が外から直接入ってくる構造になっているためであると推測された。拭き取り検査で検出されたカビは、ミキサーから *Fusarium*、冷蔵庫ドアノブから *Cladosporium* であった。カビ対策として、製品に脱酸素剤を使用したところ、カビの発生は抑えられた。

2. カビの巨大コロニーの写真

検出されたカビの中で、代表的なカビの巨大コロニーの写真を図1～図9に示す。

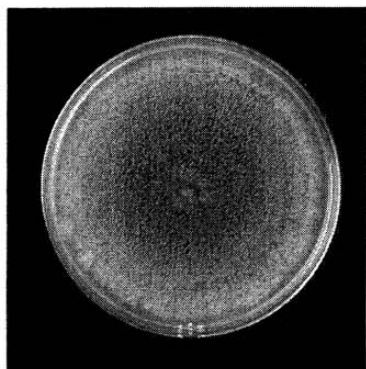


図1 *Aspergillus*

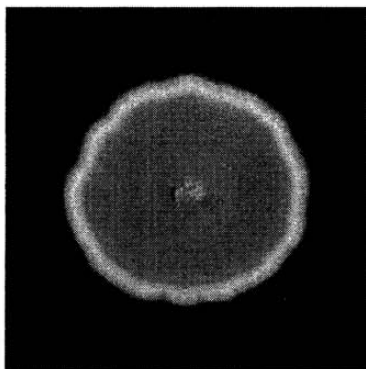


図2 *Penicillium*

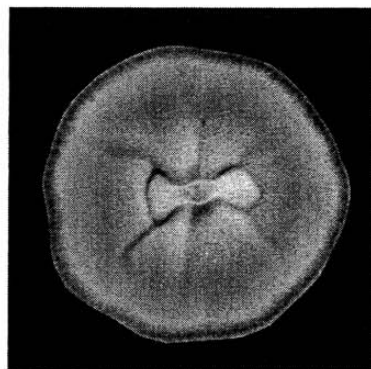


図3 *Cladosporium*

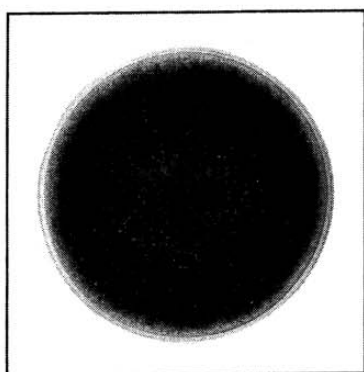


図4 *Alternaria*

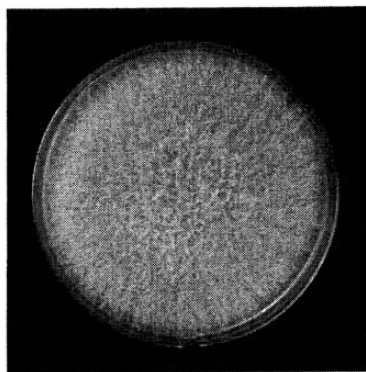


図5 *Fusarium*

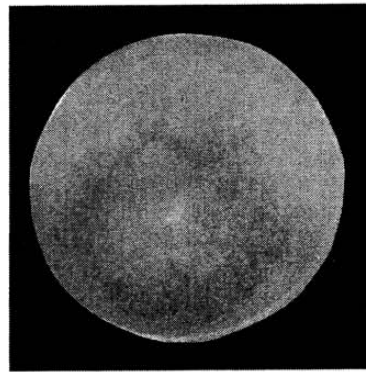


図6 *Rhyzopus*

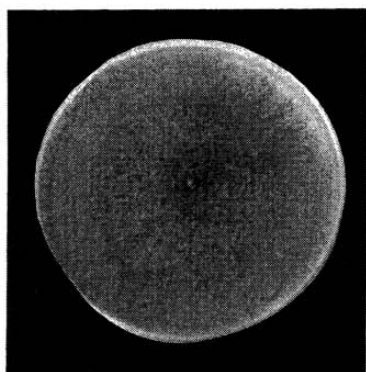


図7 *Nigrospora*

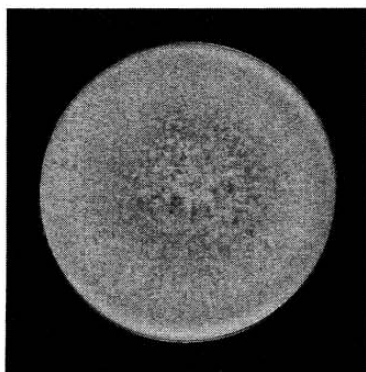


図8 *Trichoderma*

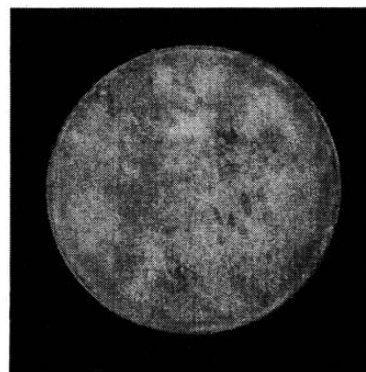


図9 *Neurospora*

3. 各カビの存在場所と特徴

カビは、穀類加工品、パン、肉類加工品、菓子、生菓子（水羊羹、大福、まんじゅう、カステラ等）、氷菓・冷凍食品、乳製品、卵、乾燥野菜、サラダ、味噌、ナッツ類、干柿、香辛料、水産練り製品、チョコレート、珍味、粉末スープ、ジャム、花蜜、果実、ドレッシング、煮豆、液糖、瓶詰、缶詰など、さまざまな食品に生育でき、土壌、農作物、加工食品、工業製品、空気中などに広く常在している。

穀類加工品に生育しやすいと言われているカビは、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Cladosporium*、*Alternaria*、*Fusarium*、*Rhizopus*、*Nigrospora*、*Trichoderma*、*Neurospora*、*Paecilomyces* など、非常に種類が多い。また、菓子に生育しやすいカビは、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Alternaria*、*Rhizopus* など、パンに生育しやすいカビは、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Alternaria*、*Fusarium*、*Neurospora* など、生菓みに生育しやすいカビは、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Cladosporium* などが多いと言われている。これらのカビは、今回、各工場からも検出された。

【文献】

- 1) 西島基弘：衛生試験法・注解（金原出版）、pp68-106（2000）
- 2) 春田三佐夫ら：目で見える食品衛生検査法（中央法規出版）、pp46-47（1989）
- 3) 高島浩介：一目でわかる図説かび検査・操作マニュアル（テクノシステム）、（1991）
- 4) 小笠原和夫：カビの科学（地人書館）（1994）
- 5) 宇田川俊一ら：菌類図鑑（講談社）（1993）
- 6) 椿啓介：不完全菌類図説（アイシーピー）（1998）
- 7) 講座/真菌の分離と分類・同定（防菌防黴）（1990-1995）

県産味噌のイソフラボン量と 配糖体、アグリコンの比率

渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
(秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Takayuki WATANABE, Kaoru OWARI, and Keitaro TAKAHASHI

【緒言】

イソフラボンはその様々な生理機能性から大豆加工食品中で注目される成分の一つである。大豆中のイソフラボンはゲニスチン、ダイジンなどの配糖体の形で存在するが、味噌、醤油などの発酵食品では、熟成中に微生物由来の β -グルコシダーゼの働きにより、糖が分離した形いわゆるアグリコンになることが知られている。そしてゲニステイン、ダイゼインなどのアグリコンは配糖体よりも強い様々な生理機能性を有していることも知られている¹⁾²⁾。

県産の味噌は米味噌の中でも比較的、発酵期間が長いことから、原料由来のイソフラボンの配糖体が熟成中に、アグリコンに変化していることが期待できる。今回、県産味噌のイソフラボン量とその配糖体、アグリコンの比率および麴の β -グルコシダーゼ活性について調べたので報告する。

【実験方法】

1) 試料

平成16年10月に行われた第52回秋田県味噌醤油品評会に出品された32点の味噌および平成16年1月から10月にかけて入手した市販味噌23点をイソフラボン測定用試料とした。

また県内企業において味噌製造用に作られた米麴19点、大豆麴4点を β -グルコシダーゼ活性測定用試料とした。大豆麴は品評会出品用の味噌の彩度を高める目的で、脱皮大豆を主原料として作られる特殊な麴である。なお今回、サンプルの米麴を用いて製造された味噌のサンプルも存在するが、市販味噌の一部に限定されており、麴と味噌のサンプルは関連の無いものが多い。

2) 試料の調製

味噌5gに80%メタノール25mlを加え、ホモジナイザーMX-8(日本精機株式会社製)により、3分間ホモジナイズ後、50mlメスフラスコでフィルアップし、室温(20℃)で16時間放置した。その後3000rpm、10分遠心分離を行い、上清を0.2 μ m DISMICフィルター(アドバンテック社)によりろ過し、HPLCによる分析を行った。

3) HPLCによるイソフラボンの測定条件

日立製の HPLC システム (ポンプ L-6320、L-6020、UV 検出器 L-7400、デガッサー L-7610、オートサンプラー AS-4010) を用い、以下の条件で分析を行った。

カラム：ワイエムシー社製 Hydrosphere C18 (5 μ m、12 nm)
150 mm \times 4.6 mm I.D.

溶媒 : A) 水 / 酢酸(100/1)

B) アセトニトリル / 水 / 酢酸(50/50/1)

30% B(0-5 min)、30-70% B(5-35 min)

流速 : 1.0 mL / min、温度 : 37°C、検出器 : UV 254 nm、

注入量 : 50 μ l (カット方式)

標準品として株式会社フジッコ製ゲニスチン、ダイジン、ゲニステイン、ダイゼイン、和光純薬工業株式会社製グリシチン、グリシテインを用いた。

4) β -グルコシダーゼ活性の測定

Matsuura³⁾らの方法により測定した。すなわち麴 5 g に 0.1 M リン酸クエン酸緩衝液 (pH 5.0) 50 ml を加え、20°C で 1 時間振とう抽出後、No. 2 濾紙により濾過し酵素液を作成した。1mM ρ -nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (MERCK 社製) 2 ml を 30°C、5 分間 恒温水槽で予熱後、酵素液 0.5 ml を加え攪拌し、30°C、60 分 反応後、0.5 M 炭酸ナトリウム 2.5 ml を加え反応を停止し、分光光度計により 420 nm を測色した。検量線は ρ -nitrophenol (和光純薬工業株式会社製) を用い、1 から 10 μ mol の濃度で作成した。測定結果から麴 1 g が 1 μ mol の ρ -nitrophenol を 1 時間に生成する単位を 1 U として計算した。

【結果と考察】

1) 味噌のイソフラボン

第 52 回秋田県味噌醤油品評会に出品された 32 点の味噌のイソフラボン測定量の結果を図 1 に、県産市販味噌 23 点についての結果を図 2 に示した。

品評会の味噌 100 g 中のイソフラボン量は平均値で 29.4 mg であった。

ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステインを合計した平均値は 22.4 mg、イソフラボン全体量に占めるアグリコンの重量比率の平均値は、77.9% であった。一方、市販味噌 100 g 中のイソフラボン量は平均値で 34.8 mg であった。ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステインを合計した平均値は 18.9 mg、イソフラボン全体量に占めるアグリコンの重量比率の平均値は、56.7% であった。

全般に品評会の味噌は市販味噌に比較してイソフラボンの合計値は少ないも

この、アグリコン量は量的にも多く、イソフラボン配糖体がアグリコンに変化している比率も高かった。品評会の味噌は製造時に大豆原料処理に脱皮処理、散湯処理、加圧煮等の色彩を向上させる工夫を行い、また市販品よりも比較的長期の熟成をする味噌もあると聞いている。以上、推測される製造時の条件の違いが、品評会出品味噌と市販味噌のイソフラボン量の相違につながったと考える。

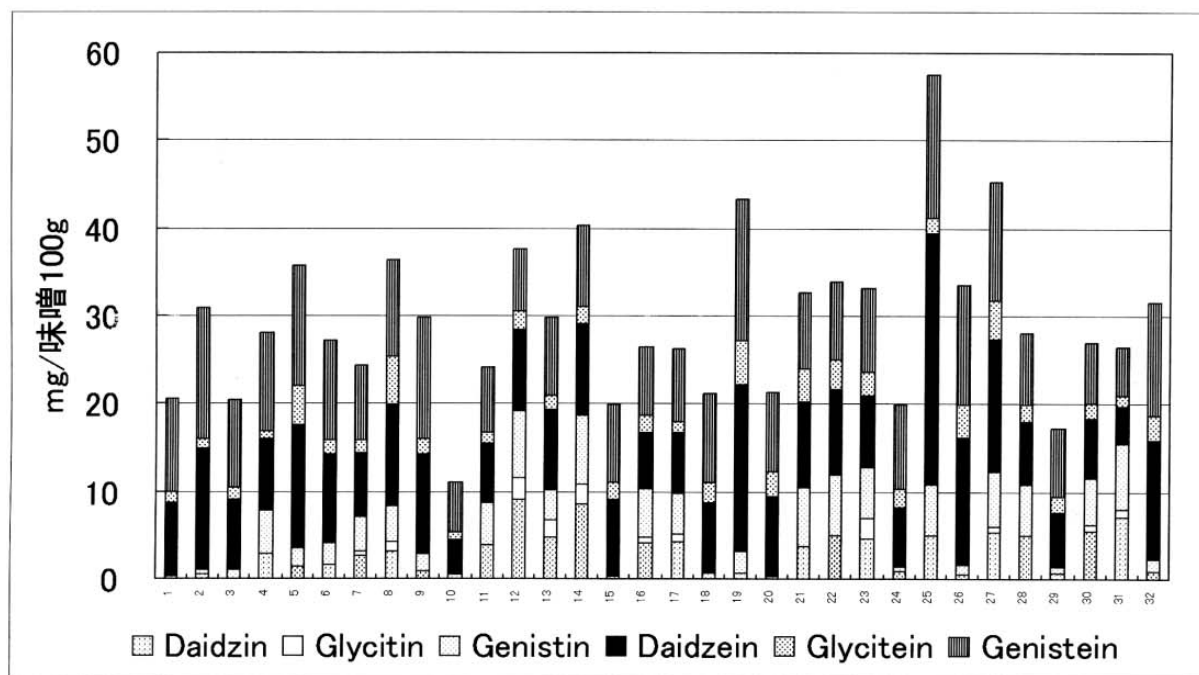


図1 第51回秋田県味噌醤油品評会に出品された味噌のイソフラボン量

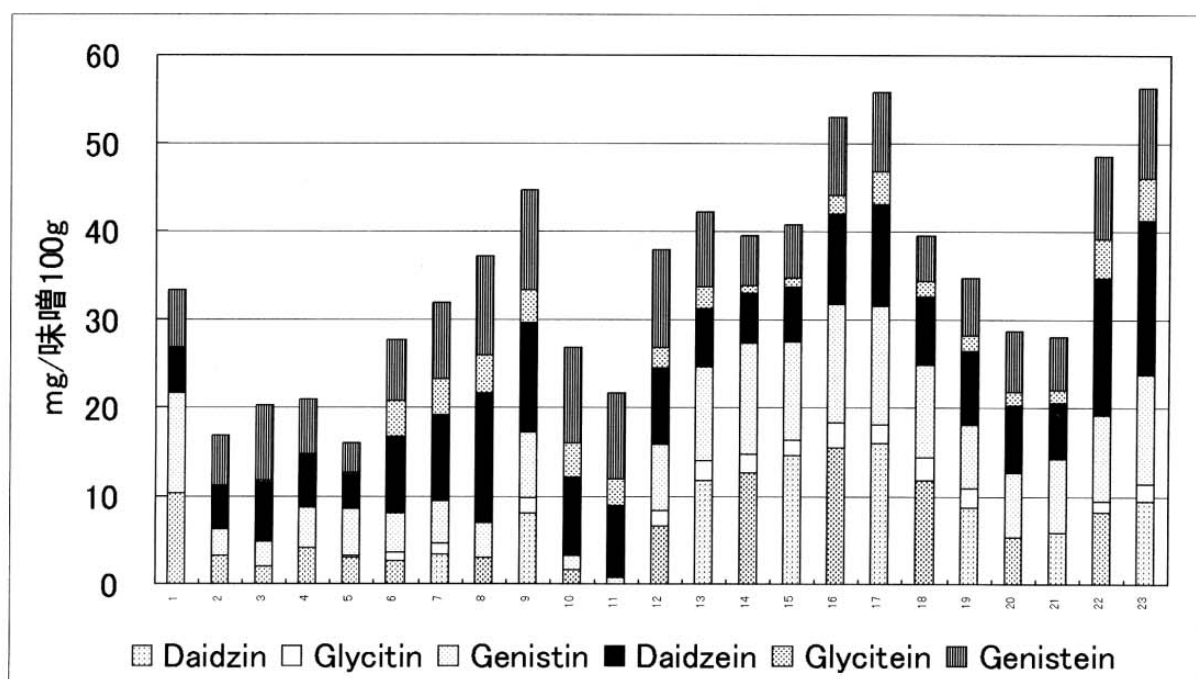


図2 県産市販味噌のイソフラボン量

2) 麴の β -グルコシダーゼ活性

米麴19点の β -グルコシダーゼ活性の平均及び標準偏差値は 1.66 ± 0.83 U、最大値 3.39 U、最小値 0.58 Uであった。一方、大豆麴4点の β -グルコシダーゼ活性は 179 U、 85 U、 36 U、 32 Uと米麴よりも高い値を示した。

大豆麴のサンプル数は少ないが、調べた限りでは米麴よりも明らかに β -グルコシダーゼ活性が高かった。大豆麴が使用されている品評会出品味噌の個数は不明だが、大豆麴が品評会出品味噌のアグリコン量が多いことに関連している可能性が示唆された。

【文献】

- 1) 清澤 功, 日本醸造協会誌, **94**(8), 620-627(1999)
- 2) 小幡明雄, New Food Industry, **41**(7), 1-6(1999)
- 3) Masaru Matsuura, Jun Sasaki, Sawao Murao, Biosci. Biotech. Biochem., **59**(9), 1623-1627 (1995)

食用担子菌類が持つ各種酵素活性

樋渡一之、小笠原博信、堀一之、高橋砂織
(秋田県総合食品研究所生物機能部門)

Kazuyuki HIWATASHI, Hironobu OGASAWARA, Kazuyuki HORI and Saori TAKAHASHI

【緒言】

これまで様々な酵素が食品加工に用いられてきたが、それらは微生物由来のものが中心である。しかし同じ菌類であり、酵素そのものの精製や性質の解明についての報告例は多いにもかかわらず、担子菌類(キノコ類)由来の酵素が食品産業で用いられた例は少ない。

また、栽培されている食用担子菌においては、発生不良で不完全な形でしか子実体が形成されない個体や収穫時に菌床から切り離す際に生じる破片といった出荷できないものがどうしても発生する。この部分は現在ほとんど廃棄されており、コスト面や環境面から有効に利用することのできる技術の開発が望まれている。

そこで本研究では、担子菌由来の酵素を用いた新たな食品加工法の開発と現在廃棄されている部分の有効利用を目的として、秋田県内で生育・栽培される食習慣のある担子菌類の持つ様々な酵素活性について検討を行った。

【実験方法】

秋田県内で生育・栽培されている食習慣のある担子菌類 38 種(栽培 9 種、天然 24 種)の子実体を POLYTRON PT10/35 (KINEMATICA 社製) を用いて 20mM リン酸緩衝液(pH 7.0) 中でホモジナイズした(20%(w/v))。その遠心上清を酵素溶液として各種酵素活性を測定した。酵素溶液中のタンパク質量はローリー法¹⁾で測定した。

1. エンドペプチダーゼ(EP)活性²⁾

4/3%のカゼインを含む 20 mM リン酸緩衝液(pH 7.0 および 3.0) 375 μ l に酵素溶液 125 μ l を加えて、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させた。0.5 ml の 0.44M トリクロロ酢酸を加えて反応を停止させた後、遠心分離した上清(0.5 ml) に 0.44 M 炭酸ナトリウム 2.5 ml と 0.9 M フォーリンチオカルト試薬 0.5 ml を加え、660 nm の吸光度を測定した。1 分間に 1 μ g のチロシンを遊離する酵素量を 1 U とし、リン酸緩衝液の pH が 7.0 の場合を中性エンドペプチダーゼ活性、3.0 の場合を酸性エンドペプチダーゼ活性とした。

2. アミノペプチダーゼ(AP)活性³⁾

基質として、各種のアミノ酸(AA)と *p*-ニトロアニリン(pNA) が結合した合成基質 AA-pNA を用いた。2 mM AA-pNA を含む 50 mM リン酸緩衝液(pH 7.0) 450 μ l に酵素溶液 50 μ l を加えて、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させた。0.5 ml の 10% 酢酸を加えて反応を停止させた後、405 nm の吸光度を測定した。1 分間に 1 μ mol の pNA を遊離する酵素量を 1 U とした。

3. 凝乳活性⁴⁾

10% スキムミルク、10 mM 塩化カルシウムを含む 50 mM 酢酸緩衝液(pH 5.5) 5 ml に 0.5 ml の酵素溶液を加え、35 °C でインキュベートした。反応開始から 10、30、60、120 分以内にカードを形成する活性をそれぞれ++++、+++、++、+とした。++++の菌についてはカード形成までの時間を測定し、1 分間でカードが形成される酵素量を 400 U とした。

4. キチナーゼ活性⁵⁾

1 mg/ml のキチンアズールを含む 20 mM リン酸緩衝液(pH 7.0) 0.9 ml と酵素溶液 0.1 ml を混合し、振盪しながら 30 °C で 24 時間反応させた。反応液の遠心上清の 595 nm の吸光度を測定し、24 時間で吸光度が 1.0 増加する酵素量を 1U とした。

5. *N*-アセチルグルコサミン(GlcNAc) 2-エピメラーゼ活性⁶⁾

50 mM *N*-アセチルマンノサミン、10 mM 塩化マグネシウム、5 mM ATP を含む 0.1 M トリス-塩酸緩衝液(pH 7.0) 80 µl に酵素溶液 20 µl を加えて、37 °C で 30 分間反応させた。0.9 ml の氷冷水を入れて一旦反応を停止させた後、希釈反応液 20 µl に 0.25 ml の溶液 I (1 mM 4-アミノアンチピリン、0.5 unit/ml *N*-アシル化糖酸化酵素、5 unit/ml ペルオキシダーゼを含む 0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.25)) と 0.25 ml の溶液 II (2 mM 3-ヒドロキシ 2,4,6-トリヨード安息香酸を含む 0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.25)) を加え、37 °C で 20 分間反応させた。最終的に生成したキノイミン色素の 515 nm の吸光度を測定し、1 分間に 1 µmol の GlcNAc を生成する酵素量を 1 U とした。

【結果と考察】

表1に食用担子菌類が持つ各種酵素活性を示した。

1. 中性 EP は、栽培種では強力な耐熱性プロテアーゼ活性を持つことで知られるマイタケやナメコが、野生種ではハタケシメジ、ホンシメジが高い活性を示した。ハタケシメジの活性は非常に高く、また近年では栽培も行われるようになってきたことから、食品加工等の酵素源としての利用が期待できる。
酸性 EP は栽培種ではヤマブシタケ、野生種ではスギヒラタケで高い値を示した。
2. プロリル AP 活性は、野生のアミタケ、マイタケ、スギヒラタケで非常に高い値を示した。
グルタミル AP 活性は、ほとんどの担子菌でごくわずか活性なしが認められなかった。
3. 凝乳活性は、野生のハタケシメジ、ホンシメジ、スギヒラタケで高い値を示した。チーズ製造に使われるレンネット様の酵素は、凝乳活性が高くプロテアーゼ活性(特に酸性エンドペプチダーゼ活性)が低いものが適当であると一般的に考えられている。この点から考えると、チーズ製造にはマンネンタケやブナハリタケが比較的適していると考えられる。
4. キチナーゼ活性は、野生のナラタケ、クリタケ、アカハツ、ヤマブシタケなどで比較的高い値を示したが、ほとんどの担子菌で活性は高くなかった。また、全体的に栽培種よりも野生種で活性が高い傾向が見られた。
5. GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は全ての担子菌で認められなかった。

表1 食用担子菌類が持つ各種酵素活性

和名	学名	中性EP (U/mg protein)	酸性EP (U/mg protein)	ブロリルAP (U/mg protein)	グルタミルAP (U/mg protein)	凝乳活性 (U/mg protein)	キチナーゼ (U/mg protein)	GlcNAc 2-エピメラゼ (U/mg protein)
栽培種								
ヒラタケ	<i>Pleurotus ostreatus</i>	7.6	2.6	61.6	0.3	-	0.21	-
エリンギ	<i>Pleurotus eryngii</i>	4.5	1.1	63.3	1.4	-	0.26	-
シイタケ	<i>Lentinula edodes</i>	7.7	2.2	17.1	0.3	-	0.16	-
ブナシメジ	<i>Hypsizigus marmoreus</i>	12.0	1.5	13.9	1.8	+	0.50	-
エノキタケ	<i>Flammulina velutipes</i>	2.9	1.1	7.7	0.9	-	0.11	-
ナメコ	<i>Pholiota nameko</i>	20.5	0.9	42.9	0.3	+	0.35	-
ヤマブシタケ	<i>Hericium erinaceum</i>	6.4	10.9	33.3	0.9	+++	0.25	-
マイタケ	<i>Grifola frondosa</i>	17.3	6.4	21.5	0.0	+	0.20	-
マンネンタケ	<i>Ganoderma lucidum</i>	3.1	2.6	4.8	-	+++	0.19	-
野生種								
ヒラタケ	<i>Pleurotus ostreatus</i>	11.2	1.6	46.8	-	-	0.52	-
キヌメリガサ	<i>Hygrophorus lucorum</i>	2.2	1.4	8.2	1.7	-	0.53	-
フユヤマタケ	<i>Hygrophorus hypothejus</i> F. pinetorum	1.7	1.6	7.4	0.5	-	0.92	-
ハタケシメジ	<i>Lyophyllum decastes</i>	55.0	4.1	6.1	1.9	++++ (1681)	0.80	-
ホンシメジ	<i>Lyophyllum shimeji</i>	35.7	2.4	2.3	-	++++ (805)	0.44	-
ムラサキシメジ	<i>Lepista nuda</i>	14.4	1.3	6.1	0.1	++	0.50	-
シロシメジ	<i>Tricholoma japonicum</i>	3.3	1.2	20.2	1.3	-	0.47	-
シモコシ	<i>Tricholoma auratum</i>	29.0	8.4	4.9	1.0	-	0.78	-
シモフリシメジ	<i>Tricholoma portentosum</i>	19.4	5.9	5.0	0.4	-	0.70	-
ハマシメジ	<i>Tricholoma myomyces</i>	4.5	2.2	52.9	1.0	-	0.77	-
ナラタケ	<i>Armillariella mellea</i>	2.6	3.1	2.9	0.2	-	1.10	-
スギヒラタケ	<i>Pleurocybella porrigens</i>	5.3	10.5	103.2	-	++++ (406)	0.45	-
ムキタケ	<i>Panellus serotinus</i>	3.5	2.2	72.5	1.5	-	0.68	-
エノキタケ	<i>Flammulina velutipes</i>	6.4	1.2	53.5	2.2	-	0.37	-
コガネタケ	<i>Phaeolepiota aurea</i>	3.0	1.1	26.2	1.0	-	0.82	-
クリタケ	<i>Naematoloma sublateralitium</i>	6.2	2.0	4.2	1.3	-	1.00	-
ナメコ	<i>Pholiota nameko</i>	21.0	0.9	72.1	0.2	++	0.73	-
ヌメリササタケ	<i>Cortinarius pseudosolor</i>	3.4	1.4	1.5	-	-	0.81	-
アミタケ	<i>Suillus bovinus</i>	1.8	1.4	280.1	-	+	0.58	-
アカハツ	<i>Lactarius akahatsu</i>	4.8	2.6	26.9	1.1	-	1.08	-
ハツタケ	<i>Lactarius hatsudake</i>	18.3	3.4	27.9	2.1	+++	0.88	-
ヤマブシタケ	<i>Hericium erinaceum</i>	1.8	1.9	8.5	-	+++	1.23	-
ブナハリタケ	<i>Mycoleptodonoides aitchisonii</i>	7.2	2.4	29.9	3.3	+++	0.60	-
マイタケ	<i>Grifola frondosa</i>	13.9	3.7	204.6	1.1	+	0.80	-

-は検出限界以下

また、ヒラタケ、エノキタケ、ナメコ、ヤマブシタケ、マイタケについては栽培と野生の両方について測定した。各種の酵素活性の強弱について、栽培したものと野生のもので同様の傾向を示した担子菌(ヒラタケ、ナメコ、マイタケ)もあったが、異なる活性を示した菌(エノキタケ、ヤマブシタケ)も存在した。このことから、担子菌の持つ酵素活性は生育条件によって大きく変動することが推測される。担子菌の酵素を食品加工等に用いる場合には、栽培条件の十分な検討が必要であると考えられる。

以上の結果より、秋田県内で生育・栽培されている食習慣のある担子菌類における数種の酵素活性の分布を把握することができた。

【文献】

- 1) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough; *J. Biol. Chem.*, **193**(1), 265-275 (1951).
- 2) M. Shibata, S. Takahashi, R. Sato and K. Oda; *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**(4), 710-715 (1997)
- 3) K. Hiwatashi, K. Hori, K. Takahashi, A. Kagaya, S. Inoue, T. Sugiyama and S. Takahashi; *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(6), 1395-1397 (2004).
- 4) K. Arima, J. Yu and S. Iwasaki; *Methods Enzymol.*, **19**, 446-459 (1979)
- 5) R.H. Hackman and M. Goldberg; *Anal. Biochem.* **8**(3), 397-401 (1964)
- 6) S. Takahashi, M. Kumagai, S. Shindo, K. Saito and Y. Kawamura; *J. Biochem.*, **128**(6), 951-956 (2000).

3. 総説（1編）

- ①「安全、高品質な食品製造に関する研究」・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 61
－秋田県内中小食品製造工場における HACCP 簡易構築の取り組み－
菅原真理、佐々木康子

安全、高品質な食品の製造に関する研究

—秋田県内中小食品製造工場におけるHACCP簡易構築の取り組み—

菅原真理、佐々木康子

(秋田県総合食品研究所応用発酵部門)

Mari SUGAWARA, Koko SASAKI

【要約】

秋田県内の中小食品製造工場（9工場）において、現状の施設で動線、ゾーニング、重要管理点などの考えを取り入れ、HACCPの簡易構築ができないかを検討した。

HACCPを構築するまでには至らなかったが、「5S」（整理、整頓、清掃、清潔、躰）の徹底や、一般的衛生管理および各業種に適したHACCPの手法に基づき5工場（切り餅、小売り業、菓子、弁当製造、水産加工）の製造工程管理を行った結果、製品の品質向上や品質保持期限の延長が可能となった。

【緒言】

産地偽証、異物混入、病原性大腸菌（O-157）、BSE、未指定添加物・農薬使用など、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、食品の安全性確保に様々な対策が講じられている。その大きな柱の一つに、HACCPがある。HACCPとは、食品の原材料の生産、製造、加工、保存、流通を経て消費者が最終的にその食品を摂食するまでのすべての段階で発生する恐れのある危害を分析（Hazard Analysis）し、それらを重要管理点（Critical Control Point）において管理することにより、食品の安全性、信頼性、確実性など、食品に求められる品質を保証する製造工程管理システムである。HACCPを実施することにより、製品の鮮度保持延長、品質向上、作業効率の上昇、コスト低減、トラブル発生時の迅速な対応、消費者への安全な食品の供給、企業イメージや信用度の向上など様々なメリットが生じる。また、EUやアメリカでは、HACCPが義務づけられている食品が多いため、これらの国に輸出するためには、HACCPを実施しなければならないという必要に迫られた事情もあり、HACCPを導入する企業は増加している。

しかし、中小企業の多くが、HACCP導入から本格的に運営できるまで2年の準備期間が必要であり、資金、人材などの面で困難であると考えている。また、どのようにHACCPを導入したらよいか、悩んでいる経営者や担当者も多い。この中小企業向けのHACCP簡易構築を（株）フーズデザインの加藤が提唱¹⁾しており、「一般的衛生管理は、HACCPの前提条件」と考えて、土台を作っていくことが重要であり、また将来のHACCP承認申請にも大幅な効率改善が図れるということである。

そこで、我々は、「安全、高品質な食品の製造に関する研究」というテーマを掲げ、秋田県内の中小食品製造工場において、現状の施設で動線、ゾーニング、重要管理点などの考えを取り入れ、HACCPの簡易構築ができないかを検討してきた。選択した工場は、米麴、いぶり大根漬、きりたんぼ、比内鶏薫製品、切り餅、小売業、菓子、水産加工、弁当製造工場の9業種であり、これまで4工場について報告を行ってきた^{2~5)}。本稿では残りの5工場について、HACCP手法に基づいた製造工程管理と

衛生管理の取り組みを報告する。

【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イポール社⁶⁾の方法により、HACCP手法については、加藤¹⁾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

【切り餅製造工場について】

製品のカビ汚染によるクレームが多いことから、最初に現場の視察及び微生物測定を行った。切り餅製造工程を図1に示す。

工場は、「フードシステム高度化施設整備事業」で設計、新築されており、広く清掃しやすかったが、整理、整頓、清掃、清潔、躰という、製造工場では最も基本である「5S」が徹底していなかった。さらに、洗米工程（汚染区）から餅のし工程（準清潔区）までが一つの部屋で行われているなど、ゾーニングの不徹底、セイロ（蒸し器）の蒸気排出能力が低いこと、壁や冷蔵庫内での結露発生、冷蔵庫内の殺菌灯設備が不備などの問題点が見つかった。また、検出されたカビは、*Aspergillus*、*Penicillium*属など穀類に特有のカビが多かった。

問題点の解決方法として、まず、「5S」の徹底、さらに、1) 重要管理点を蒸し工程と金属探知工程に設定、2) 蒸気排風機の能力アップ、3) 洗米工程とセイロの間にビニールカーテンを設置し空気の流通を遮断、4) 冷蔵庫壁に断熱材を入れて結露の防止、5) 冷蔵庫内の紫外線殺菌灯設置などの改善を行った。

製品のカビ発生に関しては、脱酸素剤の入れ忘れによる人為的ミスもかなり見受けられたため、カビの性質や脱酸素剤の使用法を助言した。

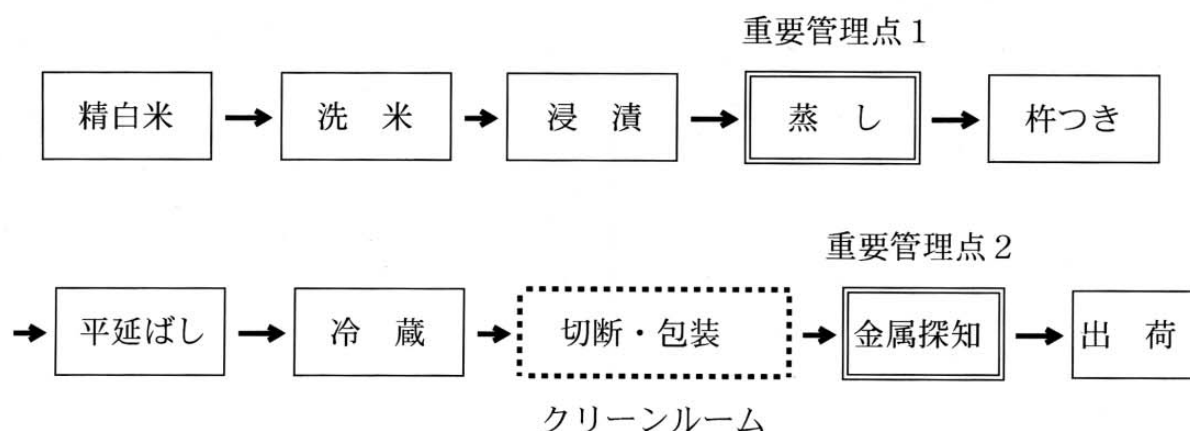


図1 切り餅の製造工程

【大型小売店舗バックヤードにおける食品製造について】

スーパーマーケット、レストラン、コンビニエンス・ストア、ファストフード、弁当・総菜店などの小売（リテール）業は、最終消費者に直接販売するため、HACCPが重要な業種であり、大手スーパーなどではHACCPに基づいた自社ブランドの衛生管理システムを作成し、対応している。県内のスーパーマーケットも対抗するためには、バックヤードでの食品製造や、県内食品製造会社への一般的衛生管理、HACCPの普及をはかり、高品質で安全な食品を消費者に提供しなければならない。

しかし、実際は食品メーカーに比べると対応は非常に遅れている。これは、スーパーマーケットは、大型で、かなり複雑なシステムで成り立つ食品工場であり、扱うアイテム数が多すぎることに原因があり、それぞれの製品に対してHACCPを行うことは不可能である。このためFDA（米食品医薬品局）が1998年に「リテールHACCP」について、全く新しいガイドラインを提案している¹⁾。この手法は、多量の販売アイテムを、1) 加熱調理工程のない食品加工、2) 加熱調理してその日のうちに提供する食品加工、3) 複雑なプロセスの3種類に分けることである。

この手法に基づき、刺身、総菜の2アイテムについて、ゾーニング、動線を重視した施設の改装を行った。刺身加工は、腸炎ビブリオ中毒対策のため鮮魚作業室の中に専用加工室を確保し、汚染区と清潔区の完全な区別を行った結果、微生物制御が可能となった（図2）。

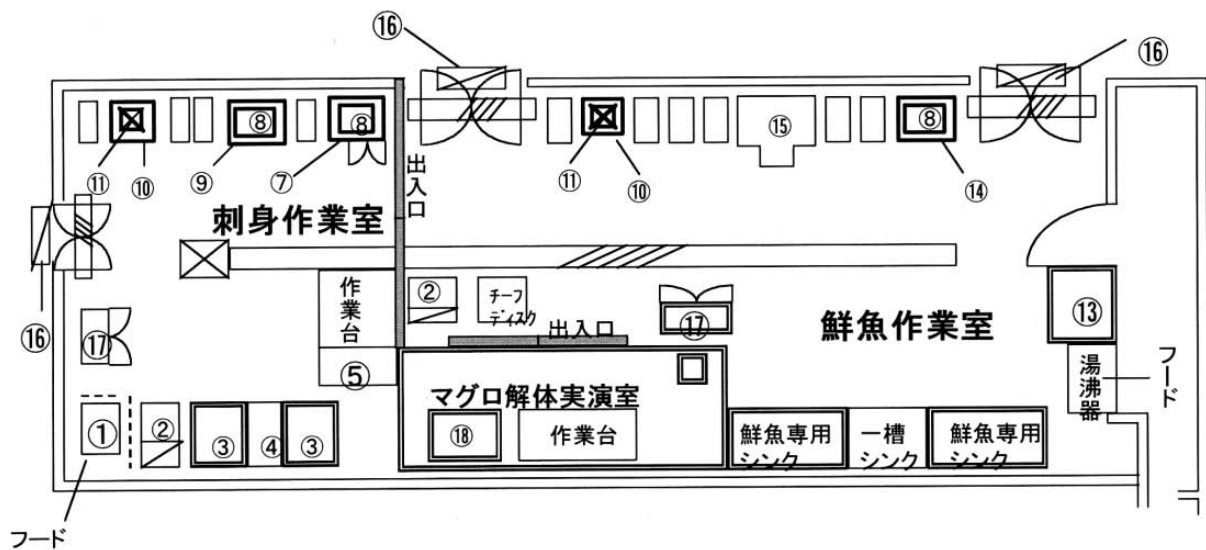


図2 スーパーバックヤードにおける鮮魚作業室見取り図

寿司・総菜については、総菜加熱作業室で動線が交差しており、異物混入などの危険性があるため、加熱調理器を移動し、動線の交差を解消した（図3）。

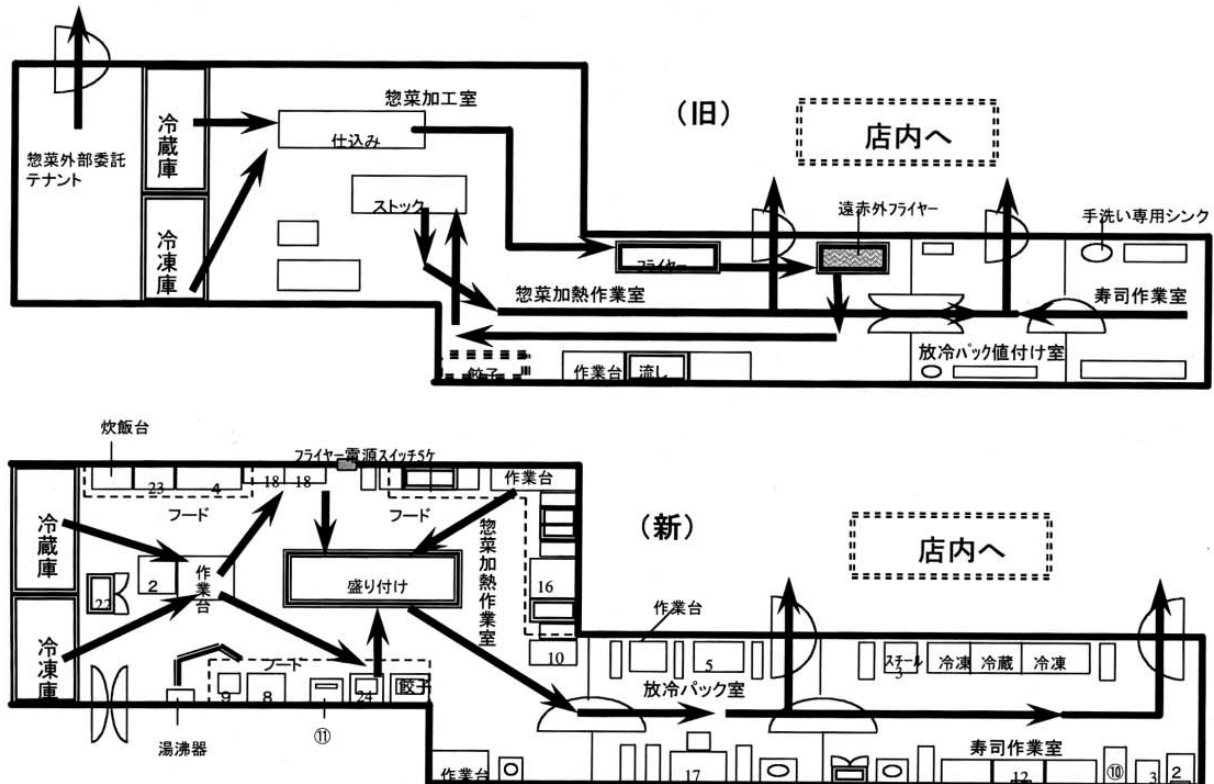


図3 スーパーバックヤードにおける寿司・総菜作業室見取り図

重要管理点は、刺身など加熱調理工程のない食品加工のアイテムにおいては、前処理と盛りつけであり、鶏から揚げ、総菜など加熱調理して提供する食品加工のアイテムにおいては、加熱調理後の温度管理であるが、CCPを設定するまでには至らなかった。微生物管理では、通路や棚の整理・整頓、まな板、包丁など製品と直接触れる器具、機械類の洗浄・殺菌、従業員の手洗いや手袋の着用、原材料と製品の冷蔵庫の区別などを徹底した結果、一般生菌や食中毒菌は減少した。

また、繁忙期に刺身盛り合わせ製品を常温で放置したため、腸炎ビブリオ菌が増殖し食中毒が発生した実例を取り上げ、従業員に微生物の基本的性質を理解して頂いた。

【菓子製造工場について】

菓子は、和菓子、洋菓子、生菓子、干菓子など種類が非常に多く、菓子製造工場においてHACCPを導入するには、総菜製造工場と同じように数種類のパターンに分けた管理が必要とされる。しかし、この工場ではカビ汚染が激しく、また、菓子、製パン、餅、製麺、穀物粉体製造など、穀物粉体を扱う業界に共通の課題であるカビ汚染対策は必須であるため、防カビ対策を主に行った。

現場視察では、整理、整頓、清掃が行き届いており、一般生菌など細菌類の検出は少なかった。しかし、カビに関しては、和菓子作業室、パイ作業室、原料秤量室、製餡室、包装室で、落下カビ数が6～10個（25分間開放）検出され、工場全体に汚染が広がっていた。特に、製餡室壁や空調機のホースなどは、カビ汚染が激しく黒

く変色していた（写真図4および写真図5）。また、空調機フィルターを清掃するために機械内部を開けたところ、フィルター一面にカビが繁殖していた。その写真を図6に示す。これは、製館室の蒸気が排出されず、空調により冷却され結露したことや、浮遊している粉体原料が、空調機に吸い込まれフィルターに付着した部分にカビが繁殖し、胞子が空調により工場全体にまき散らされたためと考えられた。

粉体原料を扱う業種では、浮遊する粉体が空調に吸い込まれ、結露した水分によりカビが繁殖することは、以前から指摘されている問題であるが、この工場では、フィルターの清掃を行っていなかった。床や作業台など手の届くところは清掃がされているが、壁、天井、空調機など高所のものへの清掃がおろそかになる典型的な事例であった。

防カビ対策で最も重視されるのは、気温と湿度をコントロールし、結露を防止することである。この工場では、温度25℃、湿度65%に保持されていたが、製館などの仕込み作業時に多量の蒸気が発生し、高湿度になる状況が見られた。排気能力を高める必要があるが、設備投資の面で困難とのことであった。

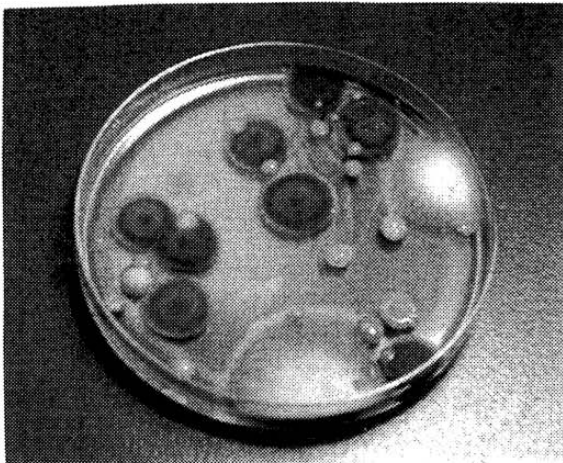


図4

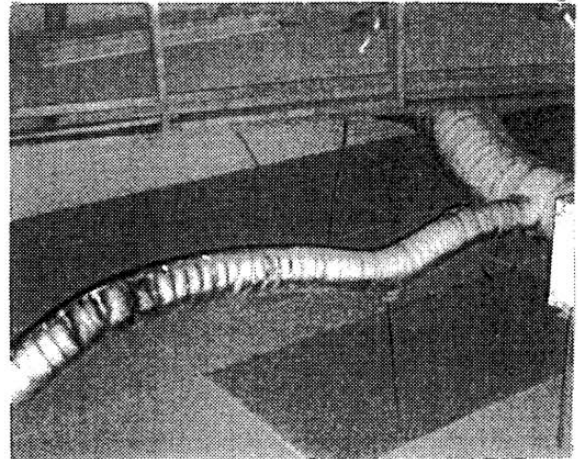


図5

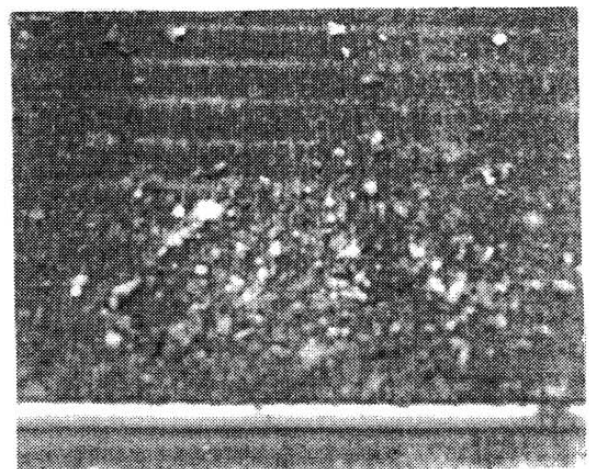
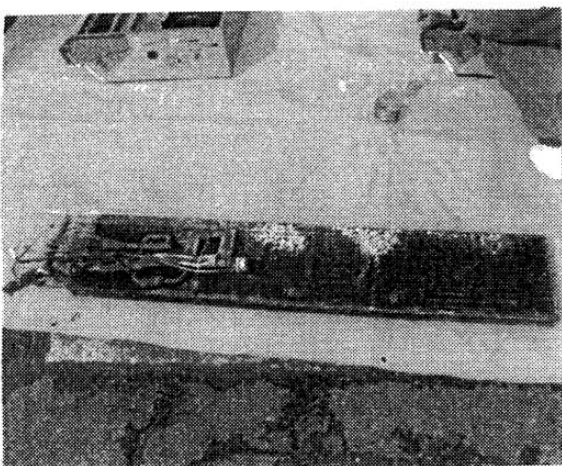


図6

【弁当製造工場について】

弁当・総菜類は、食中毒の原因食品として、非常に高い比率を占めている。特に、黄色ブドウ球菌による食中毒が多く、その他腸炎ビブリオ菌、サルモネラ菌、ウェルシュ菌などによる食中毒の原因食品のひとつとなっている。これは、弁当類が、種々の調理食品を同一容器内に詰め合わせたものを大量に調製、販売し、調理後摂取されるまでに相当の時間経過を必要とする複合調理食品であることに由来する。

これらの微生物が増殖する原因は、原材料の品質、不十分な加熱調理、従業員の不衛生な取り扱い、保管・流通の温度管理の悪さなどが考えられ、食中毒の発生につながる。

このため、厚生労働省は、弁当・総菜類については、製造、調理、販売などにおける自主的な衛生管理指針として衛生規範を設定している。また、各自治体による「食品などの衛生指導基準」があり、弁当・総菜製造においては、すでに厳しい基準が定められている。しかし、これら指針は有害微生物の制御を中心として作られたものであるのに対し、我々は、HACCP手法に基づいた一般的衛生管理及び製造工程管理を行い、製品の品質向上をめざした。弁当類のHACCPは、「リテイルHACCP」の手法に従った。

この工場は、レストランを営業しながら駅弁を製造販売している。弁当の内容は、ご飯（裏ごし卵のふりかけ付き）、鶏肉煮物、野菜煮付け、厚焼き卵、漬け物＋パセリである。各食材の微生物検査を行った結果、ご飯の区分で一般生菌、漬け物＋パセリの区分で大腸菌群が検出された。パセリは、彩りとして使われているため、ビニール製のハランに変更し、裏ごし卵のふりかけを大手食品メーカーで製造した錦糸卵に代替した。

しかし、裏ごし卵のふりかけは、この弁当の主菜であるために使用を中止することができず、衛生的な裏ごし卵のふりかけを製造する方法の確立が急がれた。従来、殻剥きを素手で行っていたものを手袋着用とし、また殻をむいた後に100℃・3分の殺菌工程を追加した。さらに、裏ごし器、へらなど器具の洗浄・殺菌、従業員の手洗いなどを指導した結果、微生物の数は減少した。

現場視察では、炊飯工程の床が洗米・つけ置きの排水により、常に濡れている状態であり、一般細菌、大腸菌群ともに汚染が激しかった。衛生管理は、従来の施設を使用し安全な食品を製造するため、ゾーニングを主体に行った。炊飯、洗い場、煮炊き室、原材料前処理室、盛りつけ室、保管室に区分し、盛りつけ室と保管室を清潔区とした。汚染区入り口での履き物の履き替え、盛りつけ室入り口に長靴消毒槽を設置した。また、ご飯の箱詰め直後の冷却用に、真空冷却装置を導入した。

この工場の場合は、レストラン部分の調理場と共同で使用しているため、床に排水溝を設けていなかった。そのため洗米の廃水処理が不十分であり、完全なゾーニングができなかった。将来、施設の改造を行う場合には、明確な汚染区の区分けが必要である。

【水産冷凍加工品工場について】

冷凍食品は、食品衛生法によって厳しい衛生基準が定められており、製造工程が衛生的に厳しく管理されている。また、急速冷凍したものをマイナス18℃以下の低

温で貯蔵し、微生物の発育を抑制しているため、非常に衛生的な食品である。しかし、微生物は静菌状態にあるので、温度が上昇すると再び活発に増殖を始めるので常にマイナス18℃以下の温度を維持することが重要である。水産冷凍加工品の場合、製品の加熱殺菌工程がないか、または摂食直前に加熱をしないものがほとんどであるため、原料、製造工程中の衛生管理、二次汚染防止対策が厳しく求められる。

当工場は、主力製品が甘エビの刺身であり、他に各種寿司ネタを製造している。現場視察では、ゾーニング、製品や人の動線が配慮されていないため、細菌などの交差汚染が生じ、品質の低下が見られた。

製品管理室として使用していた部屋を、原料解凍室と下拵え室に区切り、下拵え室は、作業台を3台設置し製品別に使用することにした。さらに、清潔区入口側に通路を確保した。原料解凍室を汚染区、下拵え作業室を準清潔区、寿司ネタ加工室、甘エビ刺身加工室を清潔区に設定した。資材庫、原料搬入口に靴消毒槽を設置し、クロストリジアの持ち込みを防止した。

包丁、まな板、ピンセットなど、製品に直接触れる器具の洗浄・消毒の徹底、資材庫の棚の整理・整頓、従業員の教育訓練などを行った結果、衛生的な製品を製造することができた。

当工場は、HACCP取得に担当者が熱意を持って取り組み、従業員の意識も向上した。従業員の意識向上の結果、非常に衛生的な工場になり、製品の品質も向上し、HACCP導入に向けて良い事例となった。

【おわりに】

3年にわたり秋田県内の中小食品製造工場の簡易HACCP構築を行ってきた。秋田県の伝統食品を主体に9工場を選択して、製品の安全性や品質向上に貢献した。平成19年には、秋田わか杉国体も開催され、高品質で安全な食品はますます求められることになる。この取り組みが、秋田県内の食品製造工場全体のレベルアップにつながることを確信する。

最後に、定期的に工場に伺い盆・正月などの繁忙期にも、ふき取り検査にご協力下さいました、企業の経営者や従業員の皆々に感謝致します。

【文献】

- 1) 加藤光男：HACCP導入のポイント（日本経済新聞社）、pp. 98-159（1999）
- 2) 柴本憲夫、渡辺隆幸、佐々木康子、菅原真理：秋田県総合食品研究所報告、5、7-13（2003）
- 3) 佐々木康子、菅原真理、柴本憲夫：秋田県総合食品研究所報告、5、14-20（2003）
- 4) 菅原真理、柴本憲夫：秋田県総合食品研究所報告、6、1-7（2004）
- 5) 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報告、6、8-12（2004）
- 6) テイポール社：食品工業、5、75-78（1999）

4. 特許の要約 (7件)

- ① 「 γ -アミノ酪酸含有組成物並びにその製造方法」・・・・・・・・・・・・・・ 69
戸枝一喜、渡邊誠衛、木村貴一、大友理宣、進藤真人、菊池継夫、京野 勉
特開 2005-65691
- ② 「ハタハタ卵巣由来の粘質物、その取得方法および用途」・・・・・・・・・・・・ 69
戸枝一喜、塚本研一、高橋 徹、杉山秀樹、船木 勉
特開 2005-82525
- ③ 「メラニン産生促進剤及びメラニン産生促進用組成物」・・・・・・・・・・・・・・ 70
畠 恵司、堀 一之、高橋砂織、坂本賢二、向山俊之
特開 2004-345959
- ④ 「新規酵母及びそれを用いた清酒の製造法」・・・・・・・・・・・・・・ 70
渡邊誠衛、新野葉子、中田健美、立花忠則
特願 2004-177923
- ⑤ 「新規抗腫瘍性蛋白質」・・・・・・・・・・・・・・ 71
戸松 誠、生田安喜良
特開 2004-75676
- ⑥ 「黒変を除去したジュンサイおよびジュンサイの黒変防除方法並びに
ジュンサイの保存方法」・・・・・・・・・・・・・・ 71
杉本勇人、塚本研一、山田幸樹
特開 2005-21067
- ⑦ 「 γ -アミノ酪酸強化発酵食品の製造方法」・・・・・・・・・・・・・・ 72
塚本研一、戸枝一喜、大久長範、船木 勉
特開 2005-052103

発明の名称： γ -アミノ酪酸含有組成物並びにその製造方法

発明者：戸枝一喜、渡邊誠衛、木村貴一、大友理宣、進藤真人、菊池継夫、京野勉

公開番号（公開日）：特開 2005-65691（平成 17 年 3 月 17 日）

【要約】

〔課題〕 添加するグルタミン酸もしくはその塩の残存量が少なく、且つ GABA を高濃度で含有する組成物並びにその製造法を提供することを目的とする。

〔解決方法〕 発芽玄米糠、米糠、米、脱脂米糠、ふすま、大豆種皮、小豆種皮及び竹小豆種皮よりなる群から選ばれた少なくとも 1 種のものゝグルタミン酸もしくはその塩を含む培地での乳酸菌、例えばラクトバチルス プレビス IFO12005 株の培養物を有する γ -アミノ酪酸含有組成物；発芽玄米糠、米糠、米、脱脂米糠、ふすま、大豆種皮、小豆種皮及び竹小豆種皮よりなる群から選ばれた少なくとも 1 種のものゝグルタミン酸もしくはその塩を含む培地で前記と同じ乳酸菌を培養し、必要に応じて固-液分離することを特徴とする γ -アミノ酪酸含有組成物の製造法；並びに発芽玄米糠、米糠、米、脱脂米糠、ふすま、大豆種皮、小豆種皮及び竹小豆種皮よりなる群から選ばれた少なくとも 1 種のものゝ加水混合液に酸を添加し、pH4.6 以下とし、加熱殺菌後、グルタミン酸もしくはその塩を添加した培地で前記と同じ乳酸菌を培養し、必要に応じて固-液分離することを特徴とする γ -アミノ酪酸含有組成物の製造方法を提供する。

発明の名称：ハタハタ卵巣由来の粘質物、その取得方法および用途

発明者：戸枝一喜、塚本研一、高橋徹、杉山秀樹、船木勉

公開番号（公開日）：特開 2005-82525（平成 17 年 3 月 31 日）

【要約】

〔課題〕 ハタハタ卵巣からの粘質物と卵の分離方法の開発と該粘質物や卵の有効利用法を確立すること。

〔解決方法〕 下記の性質を有するハタハタ卵巣由来の粘質物、並びにハタハタ卵巣の水処理または卵巣コア裁断による該粘質物と卵の分離方法とその利用法。

(1) 分子量：43 kDa（SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法による）

(2) N 末端アミノ酸配列：配列表の配列番号 1 記載の配列を有する。

(3) 粘度：24 mPa·s（濃度：0.8 w/v%、1% SDS 溶液；せん断速度：49.5 [s⁻¹]；温度：25℃）である。

(4) 熱安定性：100℃、40 分加熱で、粘土（Pa·s）が 71% 残存する。

(5) 等電点：5.2 である。

発明の名称: メラニン産生促進剤及びメラニン産生促進用組成物
発明者: 畠 恵司、堀 一之、高橋 砂織 (秋田県総合食品研究所)
坂本 賢二、向山 俊之 (株坂本バイオ)
公開番号 (公開日): 特開 2004-345959 (平成 16 年 12 月 9 日)

【課題】メラニン産生を促進する作用に優れ、白髪予防、改善や皮膚の黒化に有効な物質及び該物質を有効に活用した組成物を提供すること。

【要約】アキノノゲシの抽出物またはルペオール脂肪酸エステル若しくはその異性体からなるメラニン産生促進剤。また、前記アキノノゲシの抽出物或いはルペオール脂肪酸エステル及び／又はその異性体を有効成分として含有するメラニン産生促進剤。さらに、前記メラニン産生促進剤、アキノノゲシの抽出物或いはルペオール脂肪酸エステル及び／又はその異性体を含有するメラニン産生促進用組成物。

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、新野葉子、中田健美、立花忠則
代理人: 久保田藤郎
出願日: 平成16年6月16日
出願番号: 特許願2004-177923
要約:

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

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

発明の名称：新規抗腫瘍性蛋白質
発明者：戸松 誠、生田安喜良（東京理大・総研）
公開日：平成16年3月11日
公開番号：特開2004-75676

要 約

【課題】

安定的に得ることができ、腫瘍細胞選択的活性がさらに高い蛋白質を提供すること。

【解決手段】

うこぎ科植物カルス由来の抗腫瘍性蛋白質、該蛋白質の製造法及び該蛋白質を有効成分として含有する抗腫瘍剤。本発明の抗腫瘍性蛋白質は、植物体由来の蛋白質に比べてガン細胞への選択性が大きい。また、植物体は蛋白質の供給源として季節性があり不安定であるが、本発明の蛋白質はカルス由来なので通年で安定的に該蛋白質を得ることができ、さらに、培養条件の検討により生産性の向上も計れる。

発明の名称：黒変を除去したジュンサイおよびジュンサイの黒変除去方法並びにジュンサイの保存方法

発明者：杉本勇人、塚本研一、山田幸樹

公開番号：特開2005-21067

公開日：平成17年1月27日

【要約】

[課題] この発明は、本体を傷つけることなく、ジュンサイの黒変を除去し、高品質のジュンサイとすることを目的としたものである。

[解決手段] この発明は、黒変したジュンサイを、キレート作用を有する物質や鉱酸で処理したことを特徴とする黒変を除去したジュンサイ及びジュンサイをEDTA、クエン酸、アスコルビン酸、リン酸、メタリン酸、フィチン酸、シュウ酸、コハク酸、フマル酸、ピリジンジカルボン酸、乳酸、リンゴ酸、グルタミン酸、グルクロン酸、グルコン酸、ガラクトロン酸、塩酸、硫酸、硝酸の1又はその組合せにより、酸性から中性で処理することを特徴としたジュンサイの黒変を除去する方法により目的を達成した。

発明の名称： γ -アミノ酪酸強化発酵食品の製造方法

発明者：塚本 研一、戸枝 一喜、大久 長範、船木 勉

公開番号：特開 2005-052103

公開日：平成 17 年 3 月 3 日

【要約】

[課題] これまでに存在しなかった γ -アミノ酪酸を高濃度に含有する発酵食品、つまり γ -アミノ酪酸強化発酵食品を効率よく製造する方法を提供することを目的とする。

[解決手段] 発酵食品を製造するに際し、発酵食品の原料に、発芽玄米米糠及び／又は米糠とグルタミン酸もしくはその塩を含む培地での乳酸菌ラクトバチルス プレビス (*Lactobacillus brevis*) IFO12005 株の培養物を添加し、発酵、熟成させることを特徴とする γ -アミノ酪酸強化発酵食品の製造方法、並びに、前記方法により製造された γ -アミノ酪酸強化発酵食品を提供する。

5. 学会発表 (国際学会、6件 : 国内学会、27件)

【国際学会発表要旨】

- 1) Identification of nucleotide binding sites on *N*-acetylglucosamine 2-epimerase (Renin binding protein, RnBP). 73
Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, and Kazuyuki Hori
The 2nd Korea-Japan Joint Symposium of Food Enzymes (Seoul, Korea)
- 2) Identification of nucleotide binding residues for *N*-acetyl-D-glucosamine 2-epimerase. 73
Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, and Kazuyuki Hori
6th International Conference of the European Chitin Society (Poznan, Poland)
- 3) Continuous production of L-lactic acid using fluidized bed reactor from malt feed, a by-product of beer production. 74
Sho Shindo, Tadanori Tachibana, and Katsumi Mori
International Symposium on Organics Recycling
- 4) Physicochemical properties of heat-treated rice flour and its utilization for processed food. 74
T. Takahashi, M. Miura, N. Ohisa, K. Mori, and S. Kobayashi
American Association Cereal Chemists/TIA Joint Meeting (San Diego, USA)
- 5) Signaling mechanisms involved in B16 2F2 cell differentiation by lupeol. 75
Keishi Hata, Kazuyuki Hori, and Saori Takahashi
2nd World Congress of Board of Pharmaceutical Science of FIP (Kyoto)
- 6) Role of the proteins on textural changes of cooked rice during storages of Rice. 75
Toshihisa Ohno, Takahiro Kaneko, and Naganori Ohisa
World Rice Research Conference 2004 (Tsukuba, Japan)

【国内学会発表要旨】

(秋田応用微生物研究会第5回講演会、秋田市)

- 1) 「多機能タンパク質としてのレニン結合タンパク質について」 76
高橋砂織、樋渡一之、小笠原博信、畠 恵司、堀 一之

(日本食品保蔵科学会第53回大会、大阪府)

- 2) 「キトサン、グリシンによる硝酸還元細菌の生育阻止」 76
菅原久春

(日本素材物性学会第14回大会、秋田市)

- 3) 「加熱処理による米粉の物理化学的特性の改変」・・・ 77
高橋 徹、熊谷昌則、大久長範、三浦 靖、小林昭一
- 4) 「秋田県産地ビールの近赤外スペクトルに基づくケモメトリックス手法による
パターン認識分類」・・・ 77
熊谷昌則、高橋 豊、李 華、進藤 昌、小川信明

(日本食品工学会第4回年次大会、東京都)

- 5) 「改質米粉の配合が膨化食品の食品テクスチャーに与える影響」・・・ 78
高橋 徹、大久長範、三浦 靖、小林昭一

(第18回キチン・キトサンシンポジウム、東京都)

- 6) 「部位特異的変異体作成による GlcNAc 2-エピメラーゼの
ヌクレオチド結合残基の解析」・・・ 78
高橋砂織、小笠原博信、樋渡一之、堀 一之

(食品酵素化学研究会第4回学術講演会、東京都)

- 7) 「*N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼのヌクレオチド結合に関与する
アミノ酸残基について」・・・ 79
高橋砂織、樋渡一之、小笠原博信、畠 恵司、堀 一之

(日本生薬学会第51年会、神戸市)

- 8) 「ニカラグア民間薬"Taray"に含まれる抗菌性イソフラバン化合物」・・・ 79
堀 一之、向山俊之、木村真紀子、坂本賢二、高橋砂織

(日本食品科学工学会第51回大会、盛岡市)

- 9) 「温度および溶質によるフタル酸エステル溶液揮発性の検討」・・・ 80
堀 一之、高橋砂織
- 10) 「味覚センサによる市販食用塩の味質評価」・・・ 80
熊谷昌則、三浦幸子、石川匡子、松永隆司
- 11) 「加熱処理米粉の配合がライスプディングの食品テクスチャーに与える影響」・・・ 81
高橋 徹、大久長範、三浦 靖、小林昭一
- 12) 「古米化による米飯テクスチャー変化の原因に関する研究」・・・ 81
大能俊久、金子隆宏、大久長範

(日本食品科学工学会東北支部会、秋田市)

- 13) 「稲庭うどんと他の茹で麺の破断強度比較」・・・・・・・・・・ 82
大久長範、堀金明美、吉元 茜、大能俊久、吉田 充
- 14) 「*Streptomyces* 属の生産する生澱粉分解酵素について」・・・・・・・・ 82
金子隆宏、大能俊久、大久長範

(平成16年度日本水産学会東北支部大会、八戸市)

- 15) 「伝統的ハタハタ加工品の特徴と新しいハタハタ加工品開発の可能性」・・・・ 83
塚本研一、戸枝一喜、船木 勉

(第77回日本生化学会大会、横浜市)

- 16) 「Analysis of cell death induced by a novel lectin, aralin」・・・・・・・・ 83
Takashi Komeno, Makoto Tomatsu, Yasushi Kawasaki, Naomi Adachi, Akinori Sugiyama, Akira Ikuta, and Fumio Tashiro

(日本応用糖質科学会平成16年度大会、鹿児島市)

- 17) 「*Streptomyces* 属の生産する生澱粉分解酵素について」・・・・・・・・ 84
金子隆宏、大能俊久、大久長範

(日本土壌肥料学会平成16年度大会)

- 18) 「カドミウム含有バイオマスの乳酸発酵とカドミウムの分離
(1) カドミウム含有バイオマスからの乳酸発酵」・・・・・・・・ 84
佐藤秀樹、進藤 昌、服部浩之、茅野充男
- 19) 「カドミウム含有バイオマスの乳酸発酵とカドミウムの分離
(2) 乳酸によるソルガムからのカドミウムの分離」・・・・・・・・ 85
佐藤秀樹、進藤 昌、服部浩之、茅野充男

(第22回日本植物細胞分子生物学会秋田大会、秋田市)

- 20) 「ウコギ科植物カルスからの aralin 類似抗腫瘍性タンパク質の生産」・・・・ 85
戸松 誠、田代文夫、生田安喜良

(第63回日本癌学会学術総会、福岡市)

- 21) 「タラノキから抽出した新規の細胞毒性タンパク質 aralin による
アポトーシス誘導機構の解析」・・・・・・・・ 86
川崎 靖、戸松 誠、杉山晶規、田代文夫

(平成16年度化学系学協会東北大会、盛岡市)

- 22) 「水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン」・・・・・・・・・・ 86
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美
- 23) 「味覚センサによる市販食用塩の判別分析」・・・・・・・・・・ 87
杉本真帆、三浦幸子、石川匡子、松永隆司、熊谷昌則

(日本薬学会第125年会、東京都)

- 24) 「ミョウガ地上部に含まれるグリセロ糖脂質化合物」・・・・・・・・・・ 87
堀 一之、畠 恵司、樋渡一之、高橋砂織
- 25) 「Lupeol によるメラノーマ細胞に対する転移抑制作用」・・・・・・・・・・ 88
畠 恵司、堀 一之、高橋砂織

(日本農芸化学会2005年度大会、札幌市)

- 26) 「麹菌 (*Aspergillus oryzae*) の *impala* 様 DNA トランスポゾンの
菌株間多様性」・・・・・・・・・・ 88
小笠原博信、小畑 浩、泰 洋二、高橋砂織、五味勝也
- 27) 「マイタケを用いた魚醤油速醸法の開発」・・・・・・・・・・ 89
樋渡一之、塚本研一、熊谷昌則、大能俊久、高橋砂織

The 2nd Korea-Japan Joint Symposium of Food Enzymes (Seoul, Korea)

Identification of nucleotide binding sites on *N*-acetylglucosamine 2-epimerase

(Renin binding protein, RnBP)

Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, and

Kazuyuki Hori

Recently, we reported the expression, purification, and characterization of the human RnBP and demonstrated that the human RnBP was the enzyme *N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) 2-epimerase. Our recent studies demonstrated that rat GlcNAc 2-epimerase has a ten times higher affinity for ATP, dATP, and ddATP than human enzyme. To identify the domain conferring nucleotide binding to GlcNAc 2-epimerase, we constructed a series of chimeric enzymes successively replacing three domains of the human enzyme. Moreover, to identify the nucleotide binding residue(s), we constructed several mutants in the middle domain of human and rat GlcNAc 2-epimerases. The recombinant enzymes expressed in *Escherichia coli* JM109 cells and the nucleotide specificities of the mutants were determined in order to identify the amino acid residue(s) conferring nucleotide binding.

6th International Conference of the European Chitin Society (Poznan, Poland)

Identification of nucleotide binding residues for *N*-acetyl-D-glucosamine 2-epimerase.

Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, and

Kazuyuki Hori

Renin binding protein (RnBP) is an endogenous renin inhibitor originally isolated from porcine kidney. Recently, we reported the expression, purification, and characterization of the human RnBP and demonstrated that the human RnBP was the enzyme *N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) 2-epimerase. Our recent studies demonstrated that nucleotides such as ATP, dATP, ddATP, ADP, and GTP enhance human, rat, and porcine GlcNAc 2-epimerase activity. Moreover, nucleotides that enhance the activity of GlcNAc 2-epimerase protect these enzymes from degradation by thermolysin. The nucleotide binding residue(s) has not been identified, although the three dimensional structure of porcine enzyme has been determined. In the present study, we constructed several mutants of human and rat GlcNAc 2-epimerases. The recombinant enzymes expressed in *Escherichia coli* cells and the nucleotide specificities of the mutants were determined in order to identify the amino acid residue(s) conferring nucleotide binding.

発表学会 : International Symposium on Organics Recycling

演 題 : Continuous production of L-lactic acid using fluidized bed reactor from malt feed, a by-product of beer production

発表者 : Sho Shindo, Tadanori Tachibana and katsumi Mori

Akita Research Institute of Food and Brewing, 4-26 Arayasanuki, (Akita-city), Akita, 010-1623, Japan

Key words: L-lactic acid, biodegradable plastic, malt-feed

ABSTRACT

L-lactic acid production from malt feed with immobilized lactic acid bacteria was investigated. Malt feed was liquefied by steam explosion treatment in order to obtain liquefied sugar. When 1kg of wet malt feed was treated under the 30kg/cm² pressure for 1 min using a 5-L steam explosion reactor, 60 g of total sugar was obtained in the liquefied malt feed. Furthermore, 1.3% of glucose, 0.4% of xylose, and 0.1% of arabinose were produced when the liquefied malt feed was treated with glucoamylase, cellulase, and hemicellulase. When batch L-lactic acid production was done by *Lactobacillus rhamnosus* NBRC14710, L-lactic acid was produced 19.0 g/l in the additional Tween 80 liquefied malt feed after 5 days. Furthermore, during repeated batch production with immobilized *Lactobacillus rhamnosus* NBRC14710 from additional Tween 80 liquefied malt feed at 37°C, the productivity of L-lactic acid was maintained higher 10 times over a period of 40 days.

発表学会 : American Association Cereal Chemists/TIA Joint Meeting (San Diego, 2004.9)

演題 : Physicochemical properties of heat-treated rice flour and its utilization for processed food.

演者 : T. TAKAHASHI (1), M. MIURA (2), N. OHISA (1), K. MORI (1) and S. KOBAYASHI (2).

(1) Akita Research Institute of Food and Brewing, Akita, Japan, and (2) Iwate University, Morioka, Japan

Effects of heat-moisture treatment (HMT) and heat-dry treatment (HDT) on physicochemical properties were studied by gelatinization properties, and characterized to cooking and processing properties of the physically modified rice flour. HMT and HDT of milled rice were prepared with an air oven and an autoclave. The gelatinization properties of untreated rice flour (UTR), heat-moisture treated rice flour (HMR) and heat-dry treated rice flour (HDR) was measured by RVA and DSC. Physicochemical properties and food texture of extrudates and rice pudding made from modified rice flour were determined to characterize the cooking and processing properties for HMR and HDR. Pasting temperature of HMR and HDR had higher than that of UTR. The alteration of the gelatinization properties of HMR could be attributed to a change to more stable structures in starch granules by annealing under HMT. Crispness of the extrudates made from HMR and HDR were greater than that of UTR analyzing the force-deformation curves by discrete wavelet transfer (DWT). The rice pudding made from HMR and HDT were harder, more brittle and less pastiness than those of UTR, similar to those of sweet bean paste evaluated by sensory evaluation. Therefore, HMT and HDT were expected to alter the food texture and applications of rice flour products.

発表学会:2nd World Congress of Board of Pharmaceutical Science of FIP (Kyoto)

演題:Signaling mechanisms involved in B16 2F2 cell differentiation by lupeol

発表者:○ Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi (Department of Bioengineering, Akita Research Institute of Food & Brewing)

We previously isolated lupeol, a lupane triterpene, from Chinese dandelion roots, and it was found to induce the differentiation of mouse melanoma cells (B16 2F2). In a study on the structure-activity relationship of lupane triterpenes, we showed that the keto function at C-3 of lupane triterpenes enhanced their differentiation-inducing activities toward B16 2F2 cells. In the present study, we examined the effects of lupeol on the signaling mechanisms involved in B16 2F2 cell differentiation.

Activators of protein kinase A (PKA) such as forskolin, enhanced the up-regulation of B16 2F2 cell melanogenesis induced by lupeol. However, H89 (PKA inhibitor) and SB203580, a selective inhibitor of p38 MAPK, abolished the lupeol-induced B16 2F2 cell differentiation. Western blot analysis revealed that 10 μ M lupeol transiently elevated the level of phosphorylation of p38 MAPK in B16 2F2 cells, and the activation of p38 MAPK was completely blocked by H89. Furthermore, 1 μ M lupeone, another lupane triterpene, stimulated p38 MAPK pathway, whereas the same concentration of lupeol did not activate p38 MAPK.

World Rice Research Conference 2004 (Tsukuba, Japan)

Role of the Proteins on Textural Changes of Cooked Rice during Storage of Rice

Toshihisa Ohno, Takahiro Kaneko, and Naganori Ohisa

This study aims to explain the reason why the texture of cooked rice changed during storage of rice. By comparing the aged rice grains (brown rice and polished rice) with non-aged rice grains, the following results were obtained. : 1) The texture of cooked rice from aged grains became hard and non-sticky, so the valance value (stickiness/hardness) became low in the aged rice. 2) When the aged rice was grinded out the external layer, the valance value of cooked rice of them became high. In this case the valance value of the aged and cooked rice was almost equal to that of non-aged rice. 3) Addition of 8mM sodium sulfite to cooking water increased the valance value. On the contrary, addition of 5 or 50mM potassium iodate decreased the valance value. 4) By adding sodium sulfite, cleavage of disulfide linkage of proteins was observed by means of native-PAGE using SDS. On the contrary, adding potassium iodate formed disulfide linkage of proteins.

According to these facts, we supposed that the proteins were polymerized by disulfide linkage in the external layer of aged rice grains. And some of these proteins influenced the texture of cooked rice.

発表学会：秋田応用微生物研究会第5回講演会（秋田市）

演題名：多機能タンパク質としてのレニン結合タンパク質について

発表者：○高橋砂織、樋渡一之、小笠原博信、畠 恵司、堀 一之

【目的】最近、レニン結合タンパク質 (RnBP)が、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)と N-アセチルマンノサミン(ManNAc)との相互変換を触媒する GlcNAc 2-エピメラーゼ活性を持つことが判明し、多機能タンパク質として注目されている。本研究会では、これまでの RnBP 研究の流れを解説するとともに、GlcNAc 2-エピメラーゼ活性の発現に重要であるヌクレオチドに注目し、その結合領域の同定について最近の知見を紹介する。【方法】RnBP の各種部位変異体は、変異プライマーを用いた PCR 法により作成した。野性型や変異体類は大腸菌 JM109 細胞にて発現し、必要に応じて精製した。【結果と考察】組換え型各種酵素類は、ブタ腎臓由来の RnBP と同様に、それぞれ2量体で存在しており、レニン活性を強く阻害した。ManNAc を基質とした場合の反応動力学定数 (k_{cat}/K_m) に大きな相違は認められなかった。一方、ヌクレオチドに対する挙動には違いが認められ、ラット型酵素は、ヒト型やブタ型酵素に比べ各種ヌクレオチドに対して、一桁ほど高い親和性を示した。また、ヒト型酵素とラット型酵素の親和性を利用してヌクレオチド結合領域を同定した。

学会発表：日本食品保蔵科学会第53回大会(平成16年6月、大阪府)

演 題：キトサン、グリシンによる硝酸還元細菌の生育阻止

発表者：菅原久春（秋田県総合食品研究所）

キーワード：キトサン、グリシン、硝酸還元細菌、生育阻止

【目的】硝酸還元細菌(大腸菌群)が優勢に推移し乳酸菌の増殖が遅れると亜硝酸塩の異常蓄積が起こり、漬け物の風味や健康上の観点からも好ましくない。従って硝酸還元細菌の除去や生育阻止は漬け物製造上重要な因子とされている。そこで、硝酸還元細菌の生育阻止を試みたところキトサンやグリシン等に有効性が認められたので報告する。

【方法】*Klebsiella pneumoniae* 等9菌株の硝酸還元細菌を用いた。標準培地(酵母エキス、ペプトン、グルコース)、EMB培地を用意し、L型培養管(液体培地10ml)に初発菌数が 10^5 cells/mlになるように調整し、キトサン、グリシン、ナイシン、ビタミンB₁・ラウリル硫酸塩、ソルビン酸カリウム、アリルイソチオシアネート、ユッカ抽出物などを添加し30℃で振とう培養した。培養中の生育曲線はADVANTEC製TN-112D温度勾配バイオフィトレコーダを使用した(0.D.660nm)。

【結果】休眠期間は微生物が増殖を始めるまでの時間とし、660nmにおける0.D.値が0.025以上になった時間を増殖期の開始として、それぞれについての微生物増殖抑制効果を総合的に判断、評価した。

食塩3%存在下では、*Pseudomonas fluorescens* は生育ができなかった。キトサン25mg%の添加では硝酸還元細菌として供試したすべての微生物(*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*)の成育を阻止していた。また、グリシン1%では*Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* 2%では*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*の生育を完全に阻止していた。完全に阻止ができなくても対照と比較して、増殖度係数bは低下していた。さらに、ビタミンB₁・ラウリル硫酸塩25mg%の添加で*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*の生育を完全に阻止していた。しかしながら*Bacillus licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* の阻止はできず増殖度係数bもさほど低下していなかった。ナイシン(625~2,500 IU)は、供試した硝酸還元細菌の増殖の阻止には至らなかった。一部、生育抑制効果が認められたものにグルコン酸亜鉛、ソルビン酸カリウム、アリルイソチオシアネートがあった。

発表学会：日本素材物性学会第14回大会 2004年6月（秋田市）

演題：加熱処理による米粉の物理化学的特性の改変

演者：（秋田県総食研）○高橋徹，熊谷昌則，大久長範，（岩手大学農学部）三浦靖，小林昭一

【目的】米粉の加熱糊化時における物性変化は主にデンプンが関与しているため，米デンプンの物理化学的特性の改変が米粉の調理・加工適性を向上させる鍵であると考えられる。そこで，本研究では米粉への乾熱処理および湿熱処理がその物理化学的特性に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】乾熱処理米粉(HDR)および湿熱処理米粉(HMR)を調製して，これらの粉体特性，糊化特性，内部構造観察を行った。

【結果と考察】加熱処理によってPVに減少が見られ，HMRはUTRの約1/3となった。HDRおよびHMRのBDはUTRと比較して減少した。このことから，HDRおよびHMRは加熱糊化-攪拌時におけるデンプン粒の崩壊が抑制されることを示唆した。加熱処理によってその形状は丸みを帯び，HDRではデンプン粒の表面が熔融したような部分も観察された。また，HMRも丸みを帯びており，近接する粒同士が合一した部分も観察された。加熱処理によって結晶性高分子であるデンプン粒に固相における再組織化，不完全結晶の融解と再結晶化を意味するアニーリングを生じさせると理解されている。本実験における湿熱処理もデンプン粒内部の構造を変化させ，それによる膨潤力の低下，糊化温度の上昇や最高粘度の低下をもたらしたと推察した。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。

発表学会：日本素材物性学会平成16年度年会（秋田市）

演題：秋田県産地ビールの近赤外スペクトルに基づくケモメトリックス手法によるパターン認識分類

発表者：○熊谷昌則¹、高橋 豊²、李 華²、進藤 昌¹、小川信明²

（¹秋田総食研、²秋田大工学資源）

【目的】近赤外（*Near Infrared*：NIR）スペクトルは、試料をそのまま非破壊で、簡便にかつ迅速に成分が定量できる分析法としてのNIR分光法が確立され、広範囲の用途に利用されるようになった。ビール製造への応用例としては、アルコールの定量やビール麦の発酵能に関連してβ-グルカンや麦芽エキス分ならびにホップのα酸⁴などの定量分析にNIR分光法が利用されている。本研究では、秋田県産地ビールのNIRスペクトルに対してケモメトリックス手法を用いたパターン認識分類による検査を行った。

【実験】供試サンプルは、秋田の地ビール15検体ならびに国産ビール、発泡酒23検体の計38検体である。サンプルのNIRスペクトルは携帯可搬型近赤外分光光度計PlaScan-SH（オプト技研）を用いて、0.5mmの石英セル（藤原製作所）と白色セラミック板を用いた透過反射法により1200nm～2400nmの領域を1nmの分解能でスキャンした。サンプルの理化学成分として、苦味価、総ポリフェノール、全窒素、pH、色度、外観エキス、エタノールの項目についてビール酒造組合のビール分析注¹⁰によりそれぞれ測定した。データ解析にはケモメトリックス用ソフトウェア*Pirouette® Versior 3.11*（InfoMetrix社）を用いた。

【結果と考察】ビールのNIRスペクトルに対して、ケモメトリックス手法のひとつであるSIMCAを適用してパターン認識分類を行ったところ、地ビール群が他のビールおよび発泡酒群と明確に判別できることが分かった。しかしながら、ビールと発泡酒の判別は不十分であった。一方、理化学分析値を用いた場合には、発泡酒のみが他の群と明確に判別され、地ビールと他のビールでは重なりが見られた。これらの判別結果においては、NIRスペクトルならびに理化学分析値とも、全窒素と外観エキスの違いによる影響が大きいことが分かり、秋田県産地ビールは、全窒素、外観エキスが他のビールや発泡酒に比べて高い傾向にあることが明らかとなった。また、NIRスペクトルに基づいたポジショニングマップにより秋田県産地ビールのメーカーごとの特徴なども明らかになった。

発表学会：日本食品工学会第4回年次大会，2004年8月（東京都）

演題：改質米粉の配合が膨化食品の食品テクスチャーに与える影響

演者：（秋田総食研）○高橋 徹，大久長範，（岩手大農）三浦 靖，小林昭一

【緒言】米の更なる利用拡大に資するために，改質米粉の製造に取り組み，米粒への物理的処理として湿熱処理および乾熱処理を施して調製した米粉の物理化学的特性，中でも糊化特性が改質されることを報告した。本研究の目的は，改質米粉の配合がエクストルージョンクッキングにより調製した膨化食品の物理化学的特性および食品テクスチャーに与える影響を解明することである。

【実験方法】湿熱処理米粉（HMR）と乾熱処理米粉（HDR）および無処理米粉（UTR）を小麦粉に適宜配合して，2軸エクストルーダによる膨化食品を調製した。処理中の生地 of X線回折測定，膨化物の色特性，膨化率，密度を測定した。単軸圧縮試験による膨化物の硬さおよび離散ウエーブレット変換（DWT）法による時間スケール解析からクリスプネスを評価した。

【結果と考察】膨化過程における SME（比機械エネルギー）は HMR 配合系が米粉配合系の中では最大となった。これは，HMR が膨潤・糊化により多くのエネルギーを必要とするためと考えられ，湿熱処理は米粉に高温・せん断耐性を付与する加熱処理であると判断された。膨化過程の穀粉生地の X線回折測定から，HMR および HDR の回折ピークの消失は UTR よりも遅延しており，HMR が顕著であった。HMR および HDR の配合は膨化率を増加させた。改質米粉の配合は膨化物の硬さと破砕点（破断に要する時間）を増大させたが，中でも HDR はその傾向が強かった。DWT 法による時間スケール解析の結果，HDR および HMR 配合系は UTR 配合系よりもクリスプネスを増加させ，破断特性の結果を加味すると HDR 配合系は「硬くてサクサク」，HMR 配合系は「軟らかくてサクサク」した食品テクスチャーを有することを示唆した。

発表学会：第18回 キッチン・キトサンシンポジウム（東京都）

演題名：部位特異的変異体作成による GlcNAc 2-エピメラーゼのヌクレオチド結合残基の解析

発表者：○高橋砂織，小笠原博信，樋渡一之，堀 一之

【目的】ヒト型酵素とラット型酵素との各種キメラ酵素の作成と大腸菌での発現系を用いた解析から，酵素分子の中央領域がヌクレオチド結合に重要であることが示されている。今回，ヒト型酵素とラット型酵素の分子中央領域で異なるアミノ酸残基に注目してそれらのヒト型からラット型およびその反対のラット型からヒト型残基への部位特異的変異体を作成し，ヌクレオチドの親和性について検討した。【実験及び結果】ヒト型及びラット型 GlcNAc 2-エピメラーゼの部位特異的変異体は，変異プライマーを用いた PCR 法にて作成した。組換え型各種酵素類の発現ベクターは，高発現ベクター pUK223-3 を用いて構築し，大腸菌 JM109 細胞にて発現した。GlcNAc 2-エピメラーゼ活性は，ManNAc を基質として用い，生じた GlcNAc を N-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼとの供役系にて測定した。構築した全ての部位特異的変異体の発現は，ヒト型酵素抗体とラット型酵素抗体との混合抗体を用いた Western Blotting で確認された。また，全ての変異体で GlcNAc 2-エピメラーゼ活性が確認された。ヌクレオチドの親和性に関しては，ヒト型酵素の変異体では野性型酵素と大きな相違は認められなかったが，ラット型酵素では Arg145Thr 及び Ser171Gln で親和性の低下が観察された。

発表学会：食品酵素化学研究会第4回学術講演会（東京都）

演題名：*N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼのヌクレオチド結合に
関与するアミノ酸残基について

発表者：高橋砂織、○樋渡一之、小笠原博信、畠 恵司、堀 一之

レニンの内在性阻害タンパク質として腎臓から最初に精製されたレニン結合タンパク質は、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) と *N*-アセチルマンノサミン (ManNAc) との相互変換を触媒する GlcNAc 2-エピメラーゼであることが判明し、多機能タンパク質として注目されている。今回、ヌクレオチド結合残基の同定を目指して、GlcNAc 2-エピメラーゼの中央領域のヒト型酵素とラット型酵素間で相違するアミノ酸残基の相互置換変異体を作成し、大腸菌での発現系を用いて解析した。GlcNAc 2-エピメラーゼ分子の中央領域においては、ヒト型酵素とラット型酵素で6残基に明らかな違いが認められた。そこで、これらの残基に注目してヒト型酵素の残基をラット型酵素に、また、ラット型酵素の残基をヒト型酵素に置換した計12種類の変異体を作成した。結果、ラット型酵素では171残基目の Ser→Gln 変異体でヌクレオチドに対する親和性低下が認められた。一方、ヒト型酵素の同残基の Gln→Ser 変異体では親和性の向上が認められた。以上のことから、GlcNAc 2-エピメラーゼの分子中央部分の α ヘリックス中に存在する171番目のアミノ酸がヌクレオチド結合に重要であることが示唆された。

発表学会：2004年9月 日本生薬学会第51年会（神戸市）

演 題：ニカラグア民間薬”Taray”に含まれる抗菌性イソフラバン化合物

発表者：○堀 一之¹、向山俊之²、木村真紀子²、坂本賢二²、高橋砂織¹
(秋田県総食研¹、坂本バイオ²)

要 旨：

【目的】中米ニカラグアにおいて”Taray”と呼ばれる *Eysenhardtia adenostylis* 樹皮は民間薬的に腎臓病治療に用いられている。一方、食品・化粧品の殺菌剤や防腐剤には、抗菌活性が大きくかつ安全な抗菌剤の開発が望まれている。今回、天然由来の抗菌性物質探索研究の一環として、ニカラグア産”Taray”木部含有成分について検討し4種の抗菌化合物の存在を明らかにした。

【結果および考察】4種類の抗菌性化合物を単離出来た。これらの化合物について各種スペクトルおよび物理データの測定を行い、2種のisoflvaquinone化合物であるamorphoquinone、peduloneおよび2種のisoflavan化合物mucronulatol、lonchocarpinであると化学構造を確認した。なおこれら4種の化合物は、いずれも旋光度を示さず、またCDスペクトルも現れなかったことからラセミ化合物(C-3位)であると結論付けた。得られた化合物のMICは特に *Staphylococcus aureus* で強く現れ(エタノールエキス: 200、1: 50、2: 50、3: 1,000、4: 25、メチルパラベン: 800[単位 $\mu\text{g/ml}$])、また *Candida albicans*、*Aspergillus niger* でもこれら化合物はメチルパラベンとほぼ同等の抗菌力を示した。

発表学会：2004年9月 日本食品科学工学会第51回大会（盛岡市）

演 題：温度および溶質によるフタル酸エステル溶液揮発性の検討

発表者：○堀 一之、高橋砂織(秋田県総食研)

要 旨：

【目的】環境ホルモンのうち、食品では包材由来フタル酸エステル類汚染実態の把握およびその低減・除去方法の検討が求められている。今回、開放系ブランディング類似条件においてフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (以下DEHP) の低減・除去が可能かモデル系で検討した。

【結果】加温すべき温度としては、達温10分の同一条件下50℃まではDEHPの減少が認められないが、60℃以上で減少が認められ、80℃以上に加温されれば一定量の残存平衡に達したDEHP減少が認められた。食塩・重曹・クエン酸などの溶質を加えた場合には、液性が塩基性に傾くかあるいは食塩を加えるとDEHPはより減少し、逆に酸が共存するとDEHPが蒸留水より残留した。すなわち、山菜のあく抜きに使用する重曹や灰、野菜のおひたしなどを作成する際に加える食塩の存在はDEHP低減(揮発)を促進することが示唆された。

発表学会：日本食品科学工学会第51回大会（盛岡市）

演 題：味覚センサによる市販食用塩の味質評価

発表者：○熊谷昌則、三浦幸子*、石川匡子*、松永隆司*
(秋田総食研、秋田県立大・生物資源科学*)

【目的】1997年に塩専売法が廃止され、2002年からは塩の製造販売が完全自由化されたのに伴って多種多様の食用塩が市販されるようになった。しかしながら消費選択の判断材料としては自然塩(天然塩)やミネラル塩といった定義の曖昧な表示や、健康維持・増進を訴求したキャッチフレーズなどばかりが目立ち、科学的な根拠に基づいた情報は非常に少ないといわざるを得ない。本研究では、市販食用塩の理化学特性を明らかにするために、味覚センサによる味質評価について検討した。

【方法】製造法の異なる4群の市販食用塩20種を105℃で4時間乾燥後、その1.2%溶液を調製し、味認識装置SA402(インセント社)を用いて8種類の味覚センサ応答値を測定した。物性値(形状、粒度、白色度、溶解性など)、主要無機成分値(Na, K, Ca, Mg, Cl, SO₄, Feなどの各イオン)ならびに官能評価値(塩味、苦味、渋味、くどさ、まろやかさの強度)との関係を、PCAやSIMCAなどのケモメトリックス手法を用いたパターン認識分類によって明らかにし、市販食用塩の味質を総合的に評価した。

【結果】市販食用塩は味覚センサ応答値によってそれぞれ識別することができ、製造法の違いによる判別も可能であった。一方、物性値、主要無機成分値、官能評価値を用いた場合には、製造法の違いを明確にすることはできなかった。センサ応答値の変動はセンサ1~4のマイナス電極において顕著に現れ、CaイオンやSO₄イオンとの相関関係が認められた。パターン認識分類によって市販食用塩の味質マップを作成し、その位置関係に対して味覚センサ応答値、ならびに物性値、主要無機成分値、官能評価値に基づいた方向軸の意味づけを行った。

発表学会：日本食品科学工学会第51回大会，2004年9月（盛岡市）

演題：加熱処理米粉の配合がライスプディングの食品テクスチャーに与える影響

演者：（秋田総食研）○高橋 徹，大久長範，（岩手大・農）三浦 靖，小林昭一

【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レオロジー特性測定，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食品に加工されることが多い。そこで，本研究では加熱処理米粉を配合して調製したデザート風菓子（ライスプディング）の物理化学的特性および内部構造に与える米粉への加熱処理の影響を明らかにして，加熱処理による米粉の調理・加工適性の向上に資することを目的とした。

【方法】無処理米粉（UTR），160℃で60分間の乾熱処理した米粉（HDR）および120℃で60分間の湿熱処理した米粉（HMR）を用いた。米粉，寒天，グラニュー糖，水を配合してライスプディングを調製した。ライスプディングの色特性，力学特性，官能評価および内部構造観察を行った。

【結果】米粉，寒天，グラニュー糖，水を配合したライスプディングの調製時においては，HMR配合系の流動性が高く，調理器具への付着も少なかったためにUTR配合系やHDR配合系と比較して作業性に優れ，製品の歩留りも高くなることが期待できた。HMR配合系はUTR配合系よりも脆く，硬い力学特性を有しており，HDR配合系はUTR配合系よりもしなやかで，硬い力学特性を示した。また，HMRおよびHDR配合系は，べたつきや付着性がUTR配合系よりも少なく，餡と似た食品テクスチャーを示すことが明らかとなった。HDR配合系，HMR配合系の内部構造はUTR配合系とは異なっており，力学特性や官能評価の違いに寄与すると推察された。

発表学会：2004年9月 日本食品科学工学会（盛岡市）

演題：古米化による米飯テクスチャー変化の原因に関する研究

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】米を貯蔵すると，炊飯した際の米飯の硬さや粘りが変化する。古米は一般的に好まれないが，それは古米米飯が硬くて粘らないためである。古米の米飯テクスチャーを改良するため，まず古米の米飯テクスチャー変化に関する原因について検討を行った。

【方法】古米は無洗米を30℃60日貯蔵したものと玄米貯蔵3年のものの2種類とし，米飯のテクスチャーをテンシプレッサーで測定した。また，これらの外層を5～7%削ったものについても同様にテクスチャーを測定した。酸化剤として KIO_3 水溶液，還元剤として Na_2SO_3 またはシステイン水溶液を使用して新米，古米のテクスチャーがどう変化するのかについても測定した。次に精米外層粉を酸化剤還元剤水溶液に浸漬して，酸化剤還元剤でタンパク質がどのように変化するのかをnative-PAGEで検討した。

【結果】いずれの古米も新米に比べて米飯は硬くて粘らないものとなり，バランス度（粘り／硬さ）は低下した。外層を5～7%削った古米はバランス度が高くなり，新米との差が小さくなった。還元剤水溶液で炊飯した場合に，特に古米米飯で軟らかくなりバランス度が改良されて高くなった。酸化剤水溶液では逆にバランス度が低下した。精米外層粉に酸化剤を作用させるとタンパク質がSS結合を形成して高分子になること，還元剤を作用させるとSS結合が切れて低分子になることがnative-PAGEで確かめられた。以上のことから，貯蔵により米粒外層のタンパク質が酸化重合し，そのタンパク質の一部が米飯のバランス度を低下させると推測している。また，澱粉粒に対する結合力が強いタンパク質については，現在検討中である。

発表学会：日本食品科学工学会東北支部会、2004年11月（秋田市）

演 題：稲庭うどんと他の茹で麺の破断強度比較

発表者：大久長範・堀金明美*・吉元 茜**・大能俊久・吉田 充*

秋田県総合食品研究所、*（独）食品総合研究所、**聖霊女子短大

手延べ麺や手打ち麺は、連続性の高い繊維状のグルテンの網目構造を有しており、これが美味しい麺の一つの条件と考えられている。稲庭うどんでもグルテン繊維が一方に伸びていることが、表面の画像処理により確認されている。グルテンに加えて稲庭うどんは縦方向に10 μ mから90 μ mの気泡があり縦方向に伸びていることを、先に報告した。

1. 実験方法 1) 試料：稲庭うどん9品目、その他の麺10品目を使用した。2) 破断強度測定：コンピュータ制御による改良型テンシプレッサー（タケトモト電機製TTP-50BX2）を用いた。3) MRI：イメージング用のアクセサリを標準装備した7T-NMRスペクトロメーター（Bruker, DRX300WB）によりプロトン用のRadio Frequency coil（内径10mm）を用いて測定した。2. 実験結果 1) ナンバーワンひやむぎ、稲庭うどん、讃岐うどんその他の破断強度（低圧縮H1、高圧縮H2）を求めた。茹で30後のH2は、No1ひやむぎで20N、讃岐うどんで25N、稲庭うどんが40N~70Nであった。稲庭うどん（8種類）と他の茹で麺類（10種類）の破断強度（H2）には差異が認められた。2) 3~6時間の保存によりH1とH2は変化したが、H2/H1比はほぼ一定の値となった。3) 茹でた稲庭うどんをMRIにより観察したところ、空隙のある構造が10数時間に渡り維持されていた。4) 稲庭うどんの強い腰を説明する為に、空隙の存在を加味した稲庭うどん圧縮モデルを提案する。

発表学会：平成16年度日本食品科学工学会東北支部大会（秋田市）

演 題：*Streptomyces* 属の生産する生澱粉分解酵素について

発表者：○金子隆宏、大能俊久、大久長範（秋田県総食研）

【目的】澱粉を α 化させることなく加工すること、及び産業廃棄物としての澱粉処理、などを目的として生澱粉資化性菌をスクリーニングしたところ、コーンスターチに対して異なる分解形状を示す3菌株を検出した。今回はこれらのうち1菌株が生産する生澱粉分解酵素について報告する。【方法】秋田県内の製粉工場排水汚泥をスクリーニングサンプルとした。培養上清を粗酵素液とし、生じたコーンスターチ部分分解物を走査型電顕で観察した。酵素活性はコーンスターチ懸濁液を基質とし、生じた還元力をソモギーネルソン法で測定した。【結果】本菌株は16S-rDNA相同性より *Streptomyces* 属と思われた。培養上清を澱粉吸着、DEAE-及びゲル濾過処理し、SDS-PAGE 的に単一蛋白（比活性 11.7U/mg）を得た。分子量 47kDa、反応至適温度 50~60 $^{\circ}$ C、至適 pH6.0。50 $^{\circ}$ C 以下、pH6.0 付近で最も安定であった。本酵素は Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} などで活性が促進され、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} などで阻害された。本酵素は澱粉、グリコーゲン、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)などの生澱粉に良く作用したが、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))。

学会発表：平成16年度日本水産学会東北支部大会（八戸、2004年11月）ミニシンポジウム

演題：伝統的ハタハタ加工品の特徴と新しいハタハタ加工品開発の可能性

発表者：○塚本 研一・戸枝 一喜（秋田県総合食品研究所）・船木 勉（秋田県水産振興センター）

キーワード：ハタハタ、加工品

秋田県の漁業関係者等の努力により平成4年から3年間の自主禁漁の後ハタハタ資源は現在まで順調に回復してきた。現在のハタハタ流通実態を調査、分析した結果ハタハタの漁獲は産卵時期の数週間と短期集中型であり、漁獲量の増加に伴い価格も非常に低くなる傾向があった。したがって、適切な品質保持を行うことで市場供給体制を整備することができれば極端な安値となることは回避できると考えられる。また、加工用原料として利用増大も予想されるため、高品質な加工品を生産する上でも品質保持は重要となると考えられる。

秋田県での主要ハタハタ加工品の市販ハタハタずし製品の成分等を分析した結果、製品の状態、成分、製造方法は沿岸北部、中央部、南部で異なり3タイプに類型化された。また、ハタハタずし製品の成分が風味や嗜好にどのように影響するかを調べるため官能評価を行い検討した結果、ハタハタずしの魚肉部分では生臭、酢臭、麴臭、甘味、苦味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量が少なく、適当な塩分と硬さを有するもの、また米飯部分では生麴臭、甘味と核酸塩基成分、苦味系アミノ酸量、塩分が少ないものが総合的に好まれると考えられた。今後これらの官能評価項目や分析値を指標として製造技術の開発を行う必要があると考えられた。

秋田県ではハタハタは鮮魚として食するのが主となっており特に産卵のため接岸する通称季節ハタハタのメスは腹部いっぱい卵を抱き、これを食するのも楽しみとなっている。産卵期の成熟したハタハタ卵のゼリー状物質は加熱調理の過程で熱凝固することなく独特の粘りを保持しており、その食感が好まれている。この粘りは凍結や塩蔵では消失するため、その保持技術の開発が課題の一つとなっている。またさらには新しいハタハタ加工品開発が課題である。従来加工品の新技術導入による高品質化の方向、もうひとつは卵の粘りを保持した冷凍ハタハタや魚卵加工品など新規な加工品の方向がある。現在、この2つの方向で検討を進めているところである。

発表学会：第77回 日本生化学会大会（2004, 横浜）

演題：Analysis of cell death induced by a novel lectin, aralin

発表者：○Takashi Komeno¹, Makoto Tomatsu², Yasushi Kawasaki¹, Naomi Adachi¹, Akinori Sugiyama¹, Akira Ikuta³, Fumio Tashiro¹

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

要旨

Recently Tomatsu et al. found that aralin, a novel lectin from *Aralia elate*, selectively induces apoptosis in transformed cells compared with normal cells (Cancer Lett., 2003). To elucidate the cell death mechanism evoked by aralin, we analyzed the intracellular localization of aralin using tetramethyl rhodamine (TAMRA)-conjugated aralin. TAMRA-aralin bound to the cell membrane and then migrated into the cytosol in a time-dependent manner. Furthermore, the binding of TAMRA-aralin to cell membrane was significantly inhibited by the addition of galactose (Gal), which also repressed the cytotoxic effect of aralin. To further examine whether aralin possesses a ribosome-inactivating activity, rRNA from aralin-treated cells was analyzed by rRNA depurination assay. The result indicated that 28S rRNA was inactivated within 3h of the aralin treatment, showing that aralin possesses a N-glycosidase activity. In accordance with 28S rRNA inactivation, severe inhibition of protein synthesis was observed. These data suggest that aralin is incorporated into cells through its Gal-containing cell surface receptor, and exhibits its N-glycosidase activity against 28S rRNA. As a consequence of inhibition of protein synthesis, cell death may be evoked.

発表学会：日本応用糖質科学会平成16年度大会(鹿児島市)

演 題：*Streptomyces* 属の生産する生澱粉分解酵素について

発表者：○金子隆宏、大能俊久、大久長範（秋田県総食研）

【目的】澱粉を α 化させることなく加工すること、及び産業廃棄物としての澱粉処理、などを目的として生澱粉資化性菌をスクリーニングしたところ、コーンスターチに対して異なる分解形状を示す3菌株を検出した。今回はこれらのうち1菌株が生産する生澱粉分解酵素について報告する。【方法】秋田県内の製粉工場排水汚泥をスクリーニングサンプルとした。培養上清を粗酵素液とし、生じたコーンスターチ部分分解物を走査型電顕で観察した。酵素活性はコーンスターチ懸濁液を基質とし、生じた還元力をソモギーネルソン法で測定した。【結果】本菌株は16S-rDNA相同性より *Streptomyces* 属と思われた。培養上清を澱粉吸着、DEAE-及びゲル濾過処理し、SDS-PAGE 的に単一蛋白(比活性 11.7U/mg)を得た。分子量 47kDa、反応至適温度 50~60°C、至適 pH6.0。50°C 以下、pH6.0 付近で最も安定であった。本酵素は Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mg^{2+} などで活性が促進され、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} などで阻害された。本酵素は澱粉、グリコーゲン、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)などの生澱粉に良く作用したが、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：日本土壌肥料学会 平成16年度大会

演 題：カドミウム含有バイオマスの乳酸発酵とカドミウムの分離

(1) カドミウム含有バイオマスからの乳酸発酵

発表者：佐藤秀樹、進藤 昌¹、服部浩之、茅野充男

(秋田県立大学、¹秋田県総合食品研究所)

【目的】土壌中のカドミウム(Cd)を除去する手段として、植物を利用するファイトレメディエーション法が検討されている。その Cd を吸収した植物を有効利用するため、Cd を吸収した植物の乳酸発酵を試みた。

【方法および結果】バイオマスの乳酸発酵は以下のように行った。収穫されたソルガムを乾燥後、粉末とし、蒸留水に懸濁させ、これに炭酸カルシウムを1%添加し pH6.0 としヘミセルラーゼと乳酸を加えて 37°C で静地培養を行うと、20g/l の L-乳酸が得られ発酵液中には粉末中の 66% が溶出された。

得られたバイオマスは繊維質が主体でカドミウムが少なく、そのまま焼却できる。また、堆肥の副資材にも利用されると想定するが、農業利用を考慮して炭素率、窒素、リン酸、カリ含量などについて検討する必要がある。この手法をカドミウム汚染米へ適応することも検討しているが、バイオマスの種類によって乳酸生産効率、カドミウム溶出効率に差が見られる。

発表学会：日本土壌肥料学会 平成 16 年度大会

演 題：カドミウム含有バイオマスの乳酸発酵とカドミウムの分離

(2) 乳酸によるソルガムからのカドミウムの分離

発表者：佐藤秀樹、進藤 昌¹、服部浩之、茅野充男

(秋田県立大学、¹秋田県総合食品研究所)

【目的】土壌中のカドミウム(Cd)を除去する手段として、植物を利用するファイトレメディエーション法が検討されている。その Cd を吸収した植物を有効利用するため、Cd を吸収した植物の乳酸発酵を行い、植物中の Cd をできるだけ溶出させる事を試みた。

【方法および結果】ソルガムの栽培は、沖積土を充填したライシメーター(2m x 2m)の Cd1.2g を散布し、約 15cm の深さに混合した土で行った。そのソルガムを収穫後、地上部を粉碎し以下の実験に用いた。

蒸留水、乳酸 1%,2%,5% 溶液で振とう後のソルガム中の Cd 濃度はそれぞれ 3.2,1.1,0.5,0.2mg/kg と乳酸濃度が高くなるほど減少した。振とう 30 分後と 1 日後の Cd 濃度はほぼ同じ値であった。乳酸濃度が高くなるほど抽出液の pH は低くなり、乳酸 2%液で約 2.6 であった。ソルガムに乳酸菌を添加して乳酸発酵を行った結果、2 日目から乳酸濃度が上昇し約 2%に達した。ソルガムからの Cd 溶出量は乳酸発酵が進むにつれて増加したが 7 日目でもソルガム中に 1.8mg/kg の Cd が留まっていた。

発表学会：第 22 回 日本植物細胞分子生物学会 秋田大会 (2004)

演 題：ウコギ科植物カルスからの aralin 類似抗腫瘍性タンパク質の生産

発表者：○戸松 誠¹、田代文夫²、生田安喜良³

(¹秋田総食研、²東京理科大・基礎工、³東京理科大・総研)

【目的】 タラノキ (*Aralia elata*, Araliaceae) の新芽は代表的な春の山菜として知られている。我々は、この新芽から得られたヒト正常繊維芽細胞 (WI-38) の増殖に影響を与えず、SV40 形質転換細胞 (VA-13) に選択的致死作用を示すタンパク質 (aralin) を精製し、aralin はアポトーシス誘導により、細胞死を引き起こすこと、またタラノキカルスは、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。今回、タラノキ以外のウコギ科カルスについて、aralin と同様な形質転換細胞選択的致死作用を示すタンパク質を生産するかを検討した。

【方法】コシアブラ (*Acanthopanax scidophylloides*)、チョウセンニンジン (*Panax ginseng*)、カクレミノ (*Dendropanax trifidus*)、カミヤツデ (*Tetrapanax papyriferum*)、およびフカノキ (*Schefflera octophylla*) の茎より M & S 培地に 2,4-dichlorophenoxyacetic acid と kinetin または、 α -naphthaleneacetic acid (NAA) と 6-benzylaminopurine (BAP) を添加してカルスを誘導した。更に、材料の培養組織は同じ M & S 培地に NAA と BAP を添加して培養を行った。カルスの粗抽出液を還元条件下で SDS-PAGE に供し、PVDF 膜に転写後、抗 aralin 抗体、次いで HRP 標識 2 次抗体と反応させた。これを ECL による化学発光検出系で、aralin 類似タンパク質を検出した。

【結果】 いずれのカルス粗抽出液でも細胞致死活性を示し、特にチョウセンニンジン、カミヤツデが、強い選択的致死活性を示した。Western blotting でも、aralin A-chain (29 kDa) および B-chain (32 kDa) 付近の位置に 2 本のバンドが検出された。以上より、ウコギ科カルスは共通の性質として、aralin 類似の抗腫瘍性タンパク質を生産することが示唆された。

発表学会：第63回 日本癌学会学術総会（2004, 福岡）

演 題：タラノキから抽出した新規の細胞毒性タンパク質 aralin によるアポトーシス誘導機構の解析

発表者：○川崎 靖¹、戸松 誠²、杉山 晶規¹、田代 文夫¹

（¹東京理大・基礎工、²秋田総食研）

要 旨

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。本研究では aralin により諸種の細胞に誘導されるアポトーシスの詳細なメカニズムについて解析を行った。aralin 誘導アポトーシスにゴルジ体が関与しているか、ゴルジ体の機能を抑制する brefeldin A を用いて調べたところ、brefeldin A により aralin 誘導アポトーシスは有意に抑制された。次に、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、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 誘導アポトーシスに caspase が関与しているか調べたところ、caspase-3、-8 の活性化が認められた。また、ヒストン H1 に由来にする 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。現在、caspase の下流で 17-kDa DNase の産生に関与しているプロテアーゼの解析を行っている。

発表学会：平成 16 年度 化学系学協会東北大会（盛岡市）

演 題：水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン

発表者：○熊谷昌則、大野剛、高橋仁、中田健美

（秋田総食研）

【目 的】 近年、おいしい水に対する関心はますます高まっており、ミネラルウォーター類の市場はこの 10 年で約 10 倍にまで拡大したといわれている。食品製造に用いられる製造用水もまた同様に、その食品に望ましい水質を求めるなどの傾向がますます強まっている。おいしい水の定義に関連して、旧厚生省は昭和 59 年に「おいしい水の要件」を定め、さらに昭和 60 年には「おいしい水の条件」を定めるなどしておいしい水のガイドラインを示した。おいしい水の評価法についてはいくつかの報告がみられるが、橋本らは水に含まれるミネラルバランスからおいしい水を識別するための O index を提案した。本研究では、味覚の新しい評価法として注目されているマルチチャンネル膜電位計測型味覚センサを用いて、水のミネラルバランスとその味覚センサ応答パターンの関係を調べた。

【方 法】 供試試料として秋田県内の 20 カ所より採水した製造用水と、市販のミネラルウォーター類 10 商品の計 30 検体を用いた。味覚センサ応答パターンは味認識装置 SA-402（アンリツ、現在はインセントが製造販売）を用いて測定した。主要イオンの定量は電気伝導度検出型イオンクロマトグラフ DX-100（DIONEX）を用いた。溶性ケイ酸についてはモリブデン黄法により定量した。

【結果と考察】 橋本らが提案したおいしい水の指標、すなわち $O\ index = (Ca+K+SiO_2) / (Mg+SO_4) \geq 2.0$ を満たす検体数は、製造用水では 20 検体中 7 検体、またミネラルウォーター類では 10 検体中 8 検体であった。ミネラルウォーター類のうち、条件に満たなかった検体は、海洋深層水を使用したものと、非常に硬度が高い輸入品の 2 検体であった。O index の信頼性や妥当性についてはさらなる検討の余地があるにせよ、単にミネラルの含有量や硬度といった指標に加え、ミネラルバランスのような評価指標は今後ますます重要度が高まるものと思われる。味覚センサ応答パターンと O index の間には相関が認められるなど、味覚センサによってミネラルバランスが評価できるのではないかと考えられる。

発表学会：平成16年度 化学系学協会東北大会（盛岡市）

演 題：味覚センサによる市販食用塩の判別分析

発表者：○杉本真帆¹、三浦幸子¹、石川匡子¹、松永隆司¹、熊谷昌則²

(¹秋田県立大学生物資源科学部、²秋田県総合食品研究所)

【目的】 味覚や嗅覚といった化学的感覚を数値化し、再現し得るセンサに対する要望が高まっているなかで、脂質/高分子ブレンド膜を呈味物質の受容部とするマルチチャンネル膜電位計測型味覚センサによる味覚センシングシステムの実用化に期待が持たれている。この味覚センサは、ガラス膜 pH センサやイオンセンサと同様に、複数の脂質/高分子ブレンド膜における膜電位の変化を検出し、出力するものである。我々の研究グループでは味覚センサ適用の場に関して種々の検討を重ねているが、本研究では、市販食用塩の味質を評価するための新規分析法として、味覚センサによる判別分析法について検討したので報告する。

【方法】 市販食用塩 20 検体ならびにすまし汁モデル溶液について、味認識装置 SA-402（アンリツ、現在はインセントが製造販売）を用いて味覚センサ応答パターンを測定した。市販食用塩の主要イオンについてはキャピラリー電気泳動 CAPI-3300（大塚電子）により定量した。また、官能検査法により市販食用塩ならびにすまし汁モデル溶液の味質についてそれぞれ評価した。

【結果と考察】 市販食用塩は、製造法の違い（輸入塩再加工塩、平釜法塩、イオン交換膜法塩にがり添加塩、添加物塩、精製塩）によって味覚センサ応答パターンがそれぞれ異なって出力されることが分かった。主成分分析の結果、主成分スコアプロットによる市販食用塩の味質マップが作成され、これにより検体ごとの味の違いが明らかになった。また、すまし汁モデル溶液に関して、製造法の異なる4種類の市販食用塩がそれぞれ1% (as-is) 添加されたものと、NaCl 濃度がそれぞれ1%となるように添加されたものについて、味覚センサはこれらの味の違いを定量的に評価することができた。味覚センサは市販食用塩の味質評価において、単に構成成分を定量評価するのではなく、味の違いを定性、定量的に判別できる新規分析評価法として実用化できるのではないかと考えられる。

発表学会：2005年3月 日本薬学会第125年会（東京都江東区）

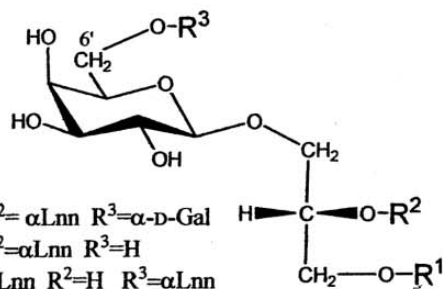
演 題：ミョウガ地上部に含まれるグリセロ糖脂質化合物

発表者：○堀 一之、畠 恵司、樋渡一之、高橋砂織(秋田県総食研)

要 旨：

【目的】 秋田県産農水産物の生理機能性成分探索研究の一環としてミョウガの発芽後7週間前後で間引きされる地上部について精油成分以外の高極性含有物質を精査する。

【方法及び結果】 ミョウガ間引き地上部を温風乾燥後熱メタノールで抽出し、その抽出液を活性炭カラムに吸着させメタノール、クロロホルム-メタノール(3:7)、クロロホルムで順次溶出させた。クロロホルム-メタノール溶出画分について、数回のシリカゲルカラムクロマトを行い、digalactosyldiacylglycerol (DGDG)化合物1を得た。さらに、常成分であるステロールモノグルコシドと極めて近い極性を有する2種類のmonogalactosyldiacylglycerol (MGDG)化合物(2, 3)を、繰り返し遠心液々クロマトに付し単離した。得られた3種の糖脂質は、アルカリ分解反応および各種スペクトルデータの検討により、いずれも構成脂肪酸が α リノレン酸のみである以下の化学構造であることが判明した。



発表学会:日本薬学会第 125 年会 (東京)

演題:Lupeol によるメラノーマ細胞に対する転移抑制作用

発表者:○畠 恵司、堀 一之、高橋 砂織 (秋田県総食研)

メラニン色素は、色素細胞に局在するメラノソーム内で産生され、メラノソーム単位で、樹状突起先端より、周辺のケラチノサイト等に分泌されることが知られている。本研究では、lupeol による B16 2F2 細胞分化の形態上の指標である、樹状突起伸長誘導機構を検討した。さらに、腫瘍細胞に対する形態変化誘導は、細胞の運動性の低下による腫瘍細胞の転移抑制に繋がることが知られている。そこで、B16 2F2 細胞を始めとした種々の腫瘍細胞の運動性に対する lupeol の影響についても報告する。Lupeol 処理した B16 2F2 細胞では、アクチン束であるストレスファイバーの消失が観察された。これに対して、lupeol は B16 2F2 細胞の微小管形成には影響を与えなかった。ストレスファイバー消失には cofilin などのアクチン脱重合タンパク質の関与が知られている。Western blotting の結果より、lupeol 処理 B16 2F2 細胞では cofilin の活性化が確認された。また、lupeol により樹状突起が伸長した B16 2F2 細胞は、未処理の細胞と比較して、著しい運動性の低下がみられた。数種のヒト腫瘍細胞を用いた結果、lupeol による腫瘍細胞の運動性の抑制は、メラノーマや神経芽腫細胞に対して選択的なもので、他の腫瘍細胞については、lupeol 処理後も細胞骨格の変動あるいは運動性の低下は認められなかった。

発表学会:日本農芸化学会 2005 年度大会 (札幌コンベンションセンター)

タイトル:麹菌(*Aspergillus oryzae*)の *impala* 様 DNA トランスポゾンの菌株間多様性

発表者:○小笠原 博信^{1, 2}, 小畑 浩³, 秦 洋二³, 高橋 砂織¹, 五味 勝也²

(¹秋田県総食研・生物機能, ²東北大院農・生物産業創成, ³月桂冠総研)

【目的】実用麹菌 *Aspergillus oryzae* OSI1013 株から見出された新規トランスポゼース遺伝子 *aotA*(AB078787) は、転移活性が高い *Fusarium* 属の *impala* とアミノ酸レベルで高い相同性を有し、麹菌における転移活性が期待される。そこで、トランスポゾンを用いた優良株の育種やタギング法の開発を目的として、菌株間における *aotA* 配列の分布を明らかにし、本遺伝子の構造と機能解析を試みた。

【方法と結果】TIR 部分をプライマーに用いた PCR により、RIB40 株を含む *A. oryzae* や *A. sojae* 供試株の多くから OSI1013 株と同様の DNA (1.3 kb) が増幅された。また、サザン解析の結果、コピー数の違いにより麹菌供試株は 3 グループに分類された。*aotA* の塩基配列を決定したところ、OSI1013 等の多コピー株ではアミノ酸配列が一致しているのに対し、RIB209 株 (3 コピー) では 2 個のアミノ酸変異、RIB40 等の 1 コピー株では高頻度の GC→AT 変異が認められた。DNA 配列やコピー数の違いと転移活性との間に関連性が予想され、それらの発現と転移活性について解析を行っている。

Key word: *Aspergillus oryzae*, transposon, pseudogene

発表学会：2005年度 日本農芸化学会大会(札幌市)

演 題：マイタケを用いた魚醤油速醸法の開発

発表者：○樋渡一之、塚本研一、熊谷昌則、大能俊久、高橋砂織
(秋田県総食研)

要旨:[目的]魚醤油は魚を原料とした醤油状の調味料であるが、熟成までに長期間を要することが問題となっている。一方、マイタケ(*Grifola frondosa*)は非常に強いプロテアーゼ活性を持つことが知られており、我々も新規プロリルアミノペプチダーゼを見出した¹⁾。そこでマイタケ添加による魚醤油の速醸方法について検討した。[方法]魚醤油はハタハタ(*Arctoscopus japonicus*)に食塩を30%加えたもの(1)、これにさらに加熱処理乾燥マイタケ(2)/生マイタケ(3)/乾燥マイタケ(4)を添加したもの、以上4種を製造した。数週間ごとにpH、塩化ナトリウム、全窒素、遊離アミノ酸、核酸、有機酸、プロテアーゼ活性をそれぞれ測定した。[結果]1,2に比べて3,4は外見上でも明らかに熟成が進んでいることが確認され、全窒素、遊離アミノ酸量も高かった。3,4におけるマイタケ由来のプロテアーゼ活性は実験期間中ほとんど低下がみられないことから、魚体のタンパク質の分解に寄与しているものと考えられた。以上のことから、マイタケによる魚醤油の速醸が可能であることが示された。1) K. Hiwatashi *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**(6), 1395-1397 (2004)

7. その他の外部発表論文リスト (6件)

- ① 「Inhibitory peptides of nonapeptide derived from porcine troponin C against angiotensin I converting enzyme」
K. Katayama, M. Tomatsu, S. Kawahara, K. Yamauchi, H. Fuchu, Y. Kodama, Y. Kawamura, and M. Muguruma
J. Agric. Food Chem. **52**, 771-775 (2004)
- ② 「Production of *N*-acetylneuraminic acid from *N*-acetylglucosamine and pyruvate using recombinant human renin binding protein and sialic acid aldolase in one pot」
Jeong-Oh Lee, Jung-Kyu Yi, Sun-Gu Lee, Saori Takahashi, and Byung-Gee Kim
Enzyme Microb. Technol. **35**, 121-125 (2004)
- ③ 「*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)」
高橋砂織
キチン・キトサンの応用と開発 平野茂博監修 pp143-152, シーエムシー出版 (2004)
- ④ 「ポリフェノールオキシダーゼ ーチロシナーゼとラッカーゼー」
小笠原博信、高橋砂織
食品酵素化学の最新技術と応用 ーフードプロテオミクスへの展望ー
井上國世監修 pp192-198, シーエムシー出版 (2004)
- ⑤ 「鹿角霊芝の機能性の検討」
坂本賢二、辻村範行、後藤考宏、畠 恵司、高橋砂織、堀 一之
New Food Industry **46**, 6-11 (2004)
- ⑥ 「3分つき米における GABA 生成の条件検討」
大久長範、大能俊久、秋山美展
東北農業研究 **57**, 256-266 (2004)
- ⑦ 「トチュウ」
戸松 誠
地域特産物の生理機能・活用便覧
津志田藤二郎編 pp48-51, サイエンスフォーラム (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原著論文（報文及び研究ノート）、総説、特許の要約、学会発表要旨及び既報論文再録等を掲載する。原著論文（報文及び研究ノート）は独創的なものであり、価値ある新事実や結論を含むものでなければならない。
2. 投稿者は、原則として秋田県総合食品研究所の職員とする。
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（報文及び研究ノート）と総説の2種類とする。原著論文は、論文として未発表のものに限る。ただし、講演要旨、会議議事録などに発表した内容を投稿することは妨げない。

【掲載論文等のページ数と注意事項】

（報文及び総説）論文自身が独立しており、完結した内容でなければならない。論文の長さは特に限定しないが、10ページ程度であることが望ましい。

（研究ノート）限られた部分の発見や、新しい実験方法など、報文としてはまとまらないものであっても、報告する価値のあるもの。論文は、4ページ以内にまとめること。

（特許の要約と学会発表要旨）どちらの項目も1/2ページにまとめること。

（外部発表論文再掲載）原則として、秋田県総合食品研究所の職員が主体となり作成した論文に限り再掲載することが出来る。外部発表論文を再掲載する際には、執筆者が論文発表元の了解を得るとともに、編集委員に了解を得た旨を連絡すること。

（その他の外部発表論文リスト）論文題名、著者名、雑誌もしくは著書名、巻、最初と最後のページ及び発表年を記載する。

【審査】

1. 原著（報文及び研究ノート）及び総説に関しては、複数の編集委員によりその論文の価値判断がなされ、掲載の可否が決定される。
2. 編集委員は、論文の内容、文章などについて著者に改正を助言し、あるいは疑義の解明を求めることが出来る。
3. 編集委員の質問や意見に対して明確な回答がなされた場合には、速やかに修正原稿を提出しなければならない。

【原稿の書き方】

1. 一般的注意事項：論文の記述は正確を期し、全編にわたり簡潔明瞭であること。
2. 原稿は、ワープロソフト（「Word」もしくは「一太郎」）を用いて作成し、A4版縦長に印刷して提出すること。
3. 原稿の書体は、原則として明朝体を用い、表題は18ポイント、本文は12ポイントとし、読みやすいように明瞭に印字すること。

4. 原稿は、オフセット印刷となるので、上下、左右には 2.5 cm の余白を設ける。

【論文の形式】

1. 報文は、次の形式をとる。

(1) 要約、(2) 緒言、(3) 実験方法、(4) 結果、(5) 考察、(6) 引用文献の順とする。謝辞は、文献の前に入れる。

2. 研究ノートは、次の形式をとる。

(1) 緒言、(2) 実験方法、(3) 結果と考察、(4) 引用文献とする。

3. 総説は、特に形式にこだわらないが、最初に要約を付ける。

4. 図表は、本文中では図 1 あるいは表 1 などと表記する。

5. 引用文献は、本文中の該当人名や事項の後に上付き小文字で、秋田県¹⁾、や総食研²⁻⁴⁾などのように番号を付し、そのリストを一括して引用文献の項に記載する。

6. 投稿中の論文、私信、未発表結果は、引用文献に入れず本文中に括弧で示し引用する。

7. 本文中に他の論文の著者名を引用する場合には、混乱の起こらない限り姓のみとする。著者が 2 名の論文は、両者の姓を併記し、3 名以上の場合は、筆頭著者以外を「他」と略記する。

8. 定義を必要とする略号や記号の使用は最小限にとどめる。使用するときには、初出の箇所に正式名を書き、続けて括弧内に略号をいれる。用いた略号は文末（引用文献のあと）に一括して表示する。また、表題には略号を用いない。

【引用文献】

1. 引用文献には、本文中での引用順に番号を付けて記載する。

2. 引用文献は、著者名、雑誌名もしくは著書名、巻、号、最初と最後のページ、発行年の順に記載する。

3. 著者名は、姓名とも記し、全著者名を記載する。

4. 欧文雑誌は、イタリック、巻はボールドとする。

5. 和文誌名は、科学技術文献速報、また、欧文誌名は、*Chemical Abstract* や *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 投稿規定等を参照のこと。

【単位と物質の名称】種々の物質単位及びその用語や記号は、国際単位系・SI (metric system) を基本とする。常用的に用いられている物質名のうち、極めて使用頻度が高く、使い方が国際的に統一されている物質名は、定義なしで使用できる。

【学名】学名にはイタリックを用いる。

秋田県総合食品研究所報告 第7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		大久	長範
同		菅原	久春
編集幹事		高橋	砂織
		伊藤	恒徳
		福田	正文

発行 平成17年5月31日

発行者 秋田県総合食品研究所

〒010-1623

秋田市新屋町字砂奴寄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。