

# 秋田県総合食品研究所報告

第 9 号

平成19年 (2007年)

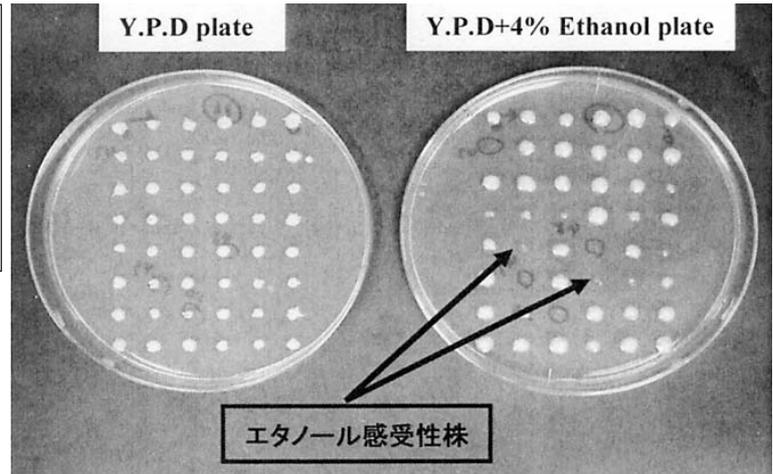
---

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

No.9, 2007

「アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発」

(渡辺誠衛 他)



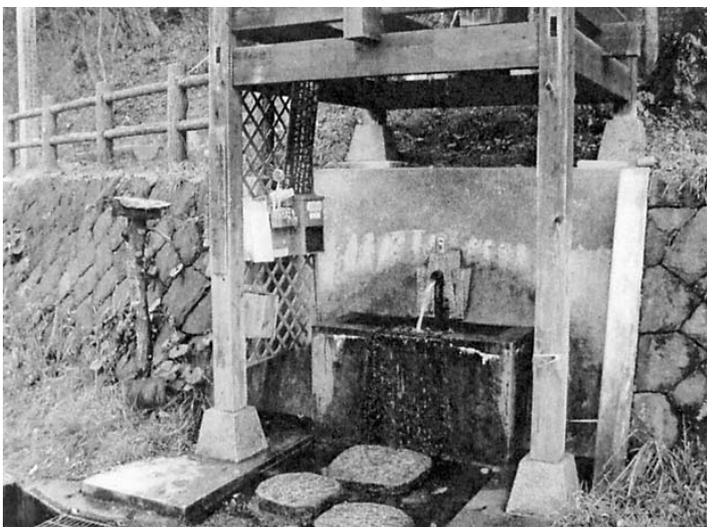
【エタノール感受性酵母の選抜】



「北東北産穀類の利用  
(第1報)雑穀麴パンの  
製造試験」

(畑山 誠 他)

【雑穀麴パン】



「秋田の水のミネラルバランス  
と味覚センサ応答パターン」

(熊谷昌則 他)

【大仙市、雄清水】

# 目次

## 1. 原著論文

- ① 「大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討・・・・・・・・・・・・・・・・ 1  
ー多麴および新規麴菌の利用ー  
尾張かおる、渡辺隆幸
- ② 「秋田の水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン」・・・・・・・・ 5  
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美
- ③ 「北東北産穀類の利用（第1報）・・・・・・・・・・・・・・・・ 10  
ー雑穀麴パンの製造試験ー  
畑山 誠、秋山美展、高橋慶太郎
- ④ 「北東北産穀類の利用（第2報）・・・・・・・・・・・・・・・・ 15  
ー雑穀麴みその製造試験と抗変異原性ー  
畑山 誠、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- ⑤ 「アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発」・・・・・・ 20  
渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信

## 2. 総説

- ① 「清酒業界における密度測定について・・・・・・・・・・・・・・・・ 27  
(浮ひょうと振動式密度計との測定値の比較)  
若林三郎

## 3. 解説

- ① 「特許制度と各種支援制度について」・・・・・・・・・・・・・・・・ 35  
佐々木康子

## 4. 特許の概要・・・・・・・・・・・・・・・・ 41

## 5. 学会発表要旨・・・・・・・・・・・・・・・・ 45

## 6. 外部発表論文再録・・・・・・・・・・・・・・・・ 63

## 7. その他の外部発表論文リスト・・・・・・・・・・・・・・・・ 118

## 1. 原著論文

- ① 「大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討・・・・・・・・・・・・・1  
ー多麴および新規麴菌の利用ー  
尾張かおる、渡辺隆幸
- ② 「秋田の水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン」・・・・・・・・・・・・・5  
熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美
- ③ 「北東北産穀類の利用（第1報）・・・・・・・・・・・・・ 10  
ー雑穀麴パンの製造試験ー  
畑山 誠、秋山美展、高橋慶太郎
- ④ 「北東北産穀類の利用（第2報）・・・・・・・・・・・・・ 15  
ー雑穀麴みその製造試験と抗変異原性ー  
畑山 誠、渡辺隆幸、尾張かおる、高橋慶太郎
- ⑤ 「アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発」・・・・・・・・・・・・・20  
渡辺誠衛、大野 剛、田口隆信

# 大豆リュウホウを用いた高品質味噌製造の検討 —多麹および新規麹菌の利用—

尾張かおる、渡辺隆幸

(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所応用発酵グループ)

Kaoru OWARI and Takayuki WATANABE

## 【要約】

秋田県産大豆リュウホウの味噌加工適性を向上させるために、麹歩合や新規麹菌 AOK139<sup>1)</sup>の使用効果の検討を行った。小仕込試験で得た味噌について官能試験や各種分析を行った結果、よりよい品質になることが確認できた。

## 【緒言】

米の減反政策の影響で作付け量が増加した秋田県産大豆リュウホウであるが、味噌加工適性にやや問題があった。これまで大豆の加熱条件等を検討することで、対照である北海道産大豆使用味噌に匹敵する品質を得ることができた<sup>2)</sup>。今回は麹歩合および新規麹菌 AOK139 の使用を検討し、さらに高品質化をめざした。

## 【実験方法】

### 1. 試料大豆

リュウホウ（平成 16 年産秋田県産）5 種類 (R1~R5) およびユキホマレ（北海道産）、中国産大豆（名称不明）を使用した。

### 2. 蒸煮試験条件

浸漬時間は 15, 20, 24 時間。脱皮大豆の蒸煮時間を 20, 25 分とし、蒸煮圧力は 0.75 または 1.00 kg f/cm<sup>2</sup> とした。

### 3. 小仕込試験

大豆処理を散湯加圧蒸で行った。酵母はゆらら酵母 (AM2) を仕込時にみそ 1g あたり 10<sup>6</sup> 個添加し、食塩濃度 11.5%, 水分 45.0% となるように調整した。発酵熟成期間は 30°C で 45 日間とし、仕込総量は 1 区分当たり約 3.8kg であった。

### 4. 使用麹菌

新規味噌用麹菌 AOK139 を用いた。対照として従来から広く用いられている一般味噌用麹菌を使用した。

### 5. 官能試験

5 点法によりパネル 4 人で行った。点数の小さい方がよい評価である。

### 6. 味噌の硬さ

短軸圧縮レオメーターを用いて測定した。

### 7. 酵素力価

セルラーゼ活性についてはしょうゆ試験法<sup>3)</sup>に準じてカルボキシメチルセルロースを基質にソモギー・ネルソン法で測定した。SBC (Soy Bean Coat) 分解酵素活性は、大豆種子乾燥粉末 1% 懸濁液を基質に、ソモギー・ネルソン法で測定した。

【結果】

1) 蒸煮大豆の硬さと浸漬時間の関係を検討した。図-1 に示したように浸漬時間を長くすると、大豆の品種にかかわらず浸漬大豆水分は増加する傾向にあり、蒸煮大豆水分も同様に増加した。しかし硬さに関しては異なり、浸漬時間の増加は蒸煮大豆を柔らかくすることには関係が見られなかった。

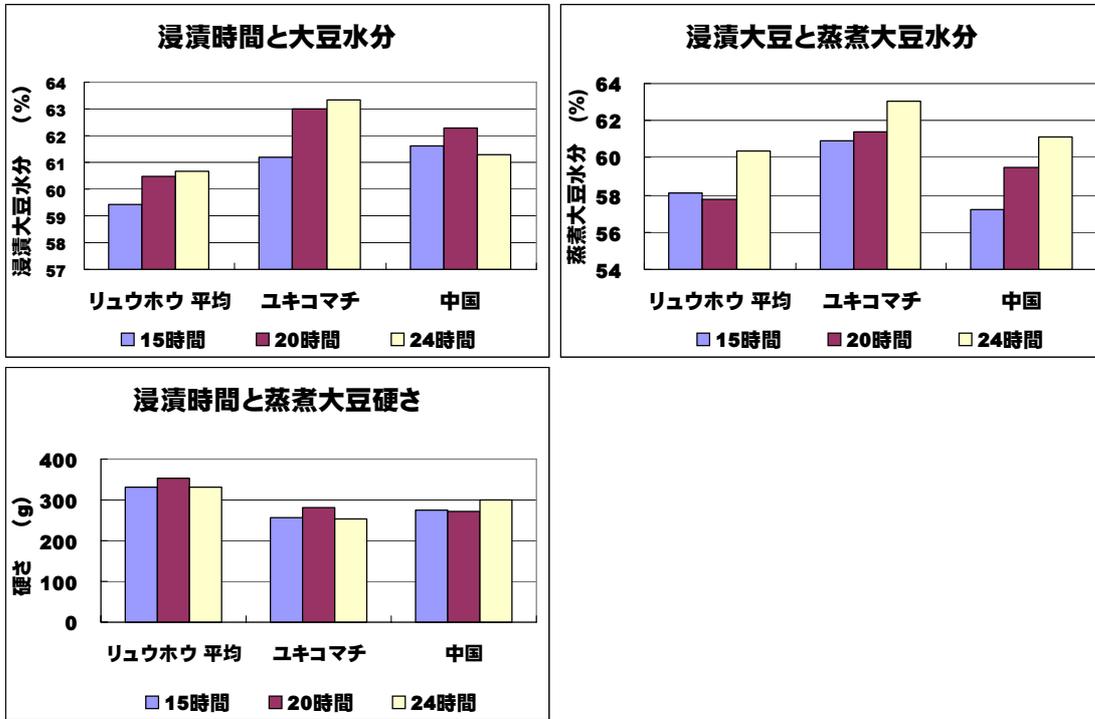


図-1 浸漬時間と蒸煮大豆の水分と硬さ (非脱皮大豆)

2) 脱皮大豆を用いて加圧蒸を行い、蒸煮時間と蒸煮圧力を検討した。図-2 に示したようにユキホマレを  $0.75 \text{ kgf/cm}^2$  で 20 分処理したときの硬さを 1 とし、相対値で結果を表した。蒸煮時間を長くすることや圧力を上げることは大豆を柔らかくする効果の大きいことが確認された。しかし、ほとんど効果が認められなかった大豆も存在した。

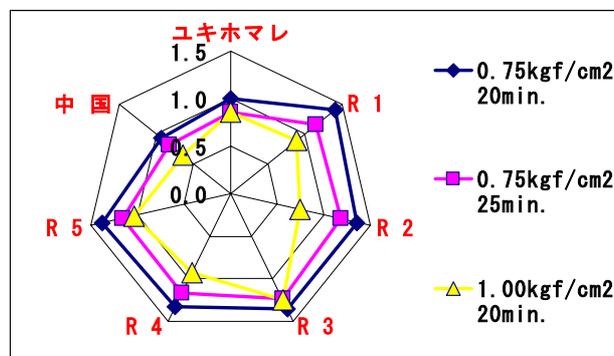


図-2 蒸煮時間と圧力と、蒸煮大豆の硬さ (脱皮大豆)

3) 小仕込試験の官能試験一般味噌用麹菌を用いて麴歩合 10 で仕込んだ味噌を対照とし、麴歩合を 20(以下 20 麴と略する)としたものおよび味噌用新麹菌 AOK139 を用いたもの(麴歩合 10)について、官能試験を行った。5 点法によりパネル 4 人で行った結果を図-3 に示す。20 麴、AOK139 とともに組成の評価が対照に比べ良好であった。総合評価においても同様であったことから、AOK139 を用いること、または麴配合量を増加させることは味噌の組成を良好にする効果があることが確認された。

<b>組成</b>	<b>リュウホウ (平均)</b>	<b>ユキホマレ</b>	<b>中国</b>
<b>対照</b>	3.5	3.3	3.3
<b>20麴</b>	<b>2.7</b>	<b>1.8</b>	<b>2.0</b>
<b>AOK139</b>	<b>2.3</b>	<b>1.8</b>	<b>2.0</b>

<b>総合評価</b>	<b>リュウホウ (平均)</b>	<b>ユキホマレ</b>	<b>中国</b>
<b>対照</b>	3.5	3.3	3.3
<b>20麴</b>	<b>2.5</b>	<b>2.0</b>	<b>2.3</b>
<b>AOK139</b>	<b>2.2</b>	<b>1.8</b>	<b>2.5</b>

表-1 官能試験結果

4) 短軸圧縮レオメーターを用い、味噌の硬さを破断強度で測定した。対照の硬さを 100 とし、平均値を相対値で標準偏差とともに表した結果を図-3 に示す。大豆品種に関わらず AOK139 使用および麴歩合 20 にすることで味噌の硬さが対照より柔らかくなることが確認された。

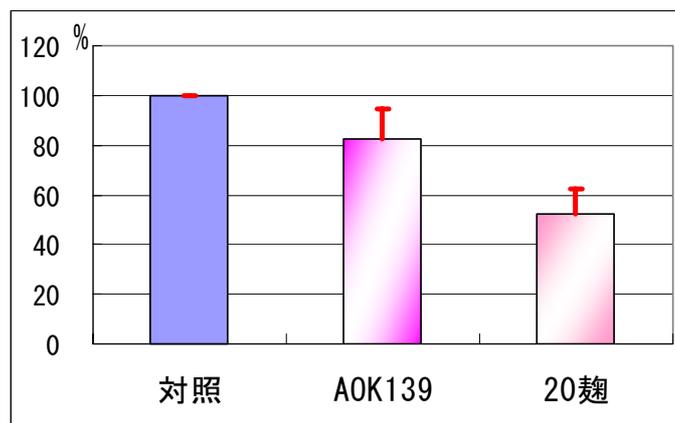


図-3 味噌の硬さ (相対値)

5) 麹菌の細胞壁分解酵素活性を比較するために、セルラーゼ活性と SBC 分解酵素活性を 3 回測定し、平均値と標準偏差の結果を図-4 に示した。セルラーゼ活性、SBC 分解酵素活性ともに味噌用新麹菌 AOK139 は一般味噌用麹菌の約 2 倍の活性を示した。

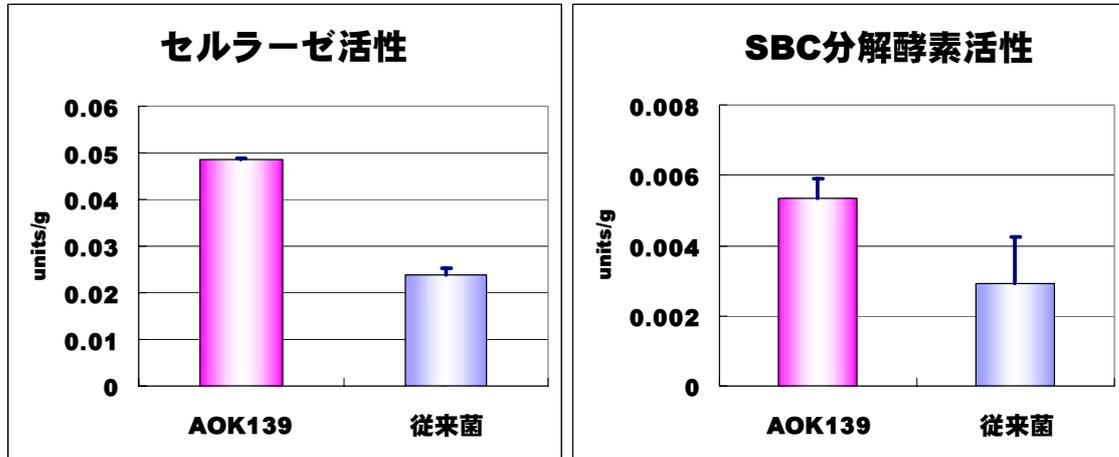


図-4 細胞壁分解酵素活性

#### 【考察】

前報<sup>4)</sup>で、秋田県産大豆を用いて高品質味噌を製造するための蒸煮条件の検討を行い、散湯処理の効果さらには脱皮処理効果が有効であることを報告した。

今回は仕込み条件を検討することによりさらに高品質化を図った。新規味噌用麹菌 AOK139 は抗変異原性を指標として開発された麹菌であり、脂質分解酵素活性が他の麹菌より高いことが報告されている<sup>1)</sup>。今回細胞壁分解酵素活性を 2 種類の方法で測定したところ、従来用いられてきた麹菌の約 2 倍の活性が認められた。この活性の強さが大豆リュウホウの硬い組成に作用し、物理的にも官能的にも柔らかくなったと判断された。

この研究は日本食品科学工学会第 53 回大会で報告したものである<sup>5)</sup>。

#### 【文献】

- 1) 渡辺隆幸・尾張かおる・堀一之、日本食品科学工学会誌、51、698-702 (2004)
- 2) 尾張かおる他、日本食品科学工学会第 52 回大会講演集、123 (2005)
- 3) しょうゆ試験法 (財団法人日本醤油研究所)、299-301 (1985)
- 4) 尾張かおる、渡辺隆幸、秋田県総合食品研究所報告、7、23-30、(2005)
- 5) 尾張かおる、渡辺隆幸、日本食品科学工学会第 53 回大会講演集、76 (2006)

# 秋田の水のミネラルバランスと味覚センサ応答パターン

熊谷昌則、大野 剛、高橋 仁、中田健美

(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所食品機能グループ、酒類グループ)

Masanori KUMAGAI, Tsuyoshi OHNO, Hitoshi TAKAHASHI, Takemi NAKATA

## 【要 約】

本研究では、秋田県内 50 カ所で採取した地下水・湧水試料について、その水質特性を把握するとともに、それらをデータベース化することによって食品製造に活用させることを目的とした。従来から広く用いられている水の硬度による分類に加えて、おいしい水を識別するための指標である O index に基づく評価を行ったところ、50 試料のうち 33 試料がおいしい水と判定された。さらに、味覚センサ応答パターンによる評価を行ったところ、味覚センサによる水の識別は可能であったが、その識別根拠についてはさらなる検討が必要である。今後は、味覚センサの識別結果を利用した新たな水のおいしさ指標の確立を目指す考えである。

## 【緒 言】

秋田の水は、世界遺産の白神山地、名山が連なる奥羽山脈、秀麗無比なる鳥海山を主要な水源とし、おいしいお米や日本酒、そして秋田美人を育ててきた。秋田の水は、水資源そのものがブランド化できる可能性を秘めているといっても過言ではない。県内の食品産業においても、秋田の水にこだわった商品開発の動きが加速している。しかしながら、食品の製造において原料用水は製品の品質に多大な影響を与えるにもかかわらず、県内の水資源に関する水質特性についての系統的な調査、研究はこれまで皆無であった。

そこで本研究では、業界からの要望にも応えるため、県内各地より地下水・湧水を採取し、原料用水としての水質特性を分析評価するとともに、それらをデータベース化することによって食品製造に活用させることを目的とした。

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ている<sup>1)</sup>。また、平成 16 年には厚生労働省令第 101 号により「新水質基準」が施行された。この他、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、我々は大阪大学の橋本らが提案した<sup>2)</sup>、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指標 O index に着目して本研究に取り組んだ。また、マルチチャンネル膜電位計測型味覚センサを用いた評価法<sup>3)</sup>についても検討した。

## 【方 法】

供試試料は、平成 16 年 11 月に秋田県内 50 カ所で採取した地下水・湧水試料である。なお、ここでは便宜的に揚水管から汲み出された水を地下水、地表に湧き出

た水を湧水と区分した。比較のため、容器入りの市販水 10 試料を用いた。成分分析として、電気伝導度検出型イオンクロマトグラフ DX-100 (DIONEX) により主要な陽/陰イオンを定量した。また、モリブデン黄法により溶性ケイ酸を定量した。味覚センサ応答パターンは、図 1 に示す味認識装置 SA-402(インテリジェントセンサーテクノロジー)により、基準液ならびに洗浄液に 10mM KClを用いて測定した<sup>3)</sup>。

### 【結果と考察】

図 1 に秋田の水の硬度を示した。ここでいう硬度は、水 1L 中に含まれるカルシウムとマグネシウムの量を炭酸カルシウム (CaCO<sub>3</sub>) の濃度に換算した重量で表したアメリカ式硬度 (単位 mg/L または ppm) を示す。計算式は  $\text{CaCO}_3 \text{ mg/L} = (\text{Ca 値 mg/L} \times 2.49) + (\text{Mg 値 mg/L} \times 4.11)$  である。ちなみに、以前、日本で用いられたことのあるドイツ式硬度は、水 100ml 中の酸化カルシウム (CaO) の重量に換算 (単位 dH) したもので、ドイツ式硬度とアメリカ式硬度の関係は  $1\text{dH} = 17.8\text{mg/L}$  となる。これらの硬度をもとに、水を軟水と硬水に分類する 경우가多いが、その基準は一様ではない。衛生試験法<sup>4)</sup> では、硬度が 50mg/L 未満を軟水、50~100mg/L を中程度の軟水、100~150mg/L を軽度の硬水、150~250mg/L を中程度の硬水、250~350mg/L を硬水、350mg/L より大を非常に高度の硬水とする Taylor の分類を載せている。本研究で採水した秋田の水の場合、湧水群はすべて 100mg/L 未満であった。地下水群においても 80%は 100mg/L 未満であり、150mg/L を越えるものはなかったが、地下水群と湧水群には硬度の違いが認められ (Welch 検定)、湧水群のほうが軟水であることが示された。



図 1 秋田の水の硬度

次に、橋本らの指標 : O index に基づいて秋田の水を評価した。橋本らは、 $\text{O index} = (\text{Ca 値 mg/L} + \text{K 値 mg/L} + \text{SiO}_2 \text{ 値 mg/L}) / (\text{Mg 値 mg/L} + \text{SO}_4 \text{ 値 mg/L}) \geq 2.0$  の水をおいしい水として分類している<sup>2)</sup>。秋田の水の場合、図 2 に示すように O index  $\geq 2.0$  を満たすミネラルバランスの水は 50 試料中 33 試料であった。比較試料に用いた市販水 10 試料のうち、O index < 2.0 となった 2 試料は、硬度が 1500 以上のナチュラルミネラルウォーター (採水地フランス) と、海洋深層水から作られた水 (採水地高知県) であった。

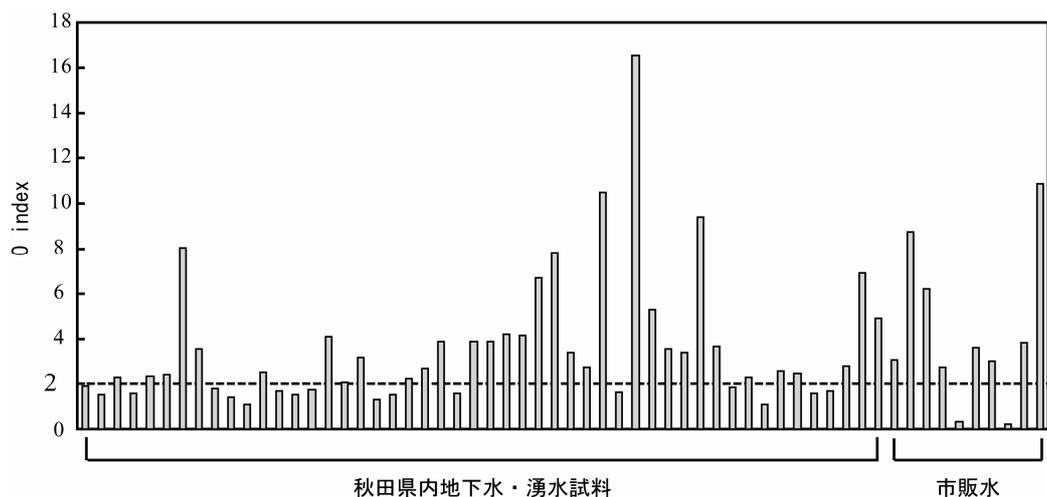


図2 秋田の水ならびに市販水の O index

一般に、軟水のほうがおいしい水とされ、また原料用水としても適しているといわれることがある。先に示したように、水の硬度はカルシウム量とマグネシウム量を炭酸カルシウム量として表したものである。これに対して O index では分子のカルシウム量は水のおいしさを増すのに対して、分母のマグネシウム量は水のおいしさを低下させるということを示している。橋本らによると、これらは官能試験の結果からも支持されているという。したがって、橋本らは水のおいしさにはこのようなミネラルバランスが重要であると述べているのである。図3に秋田の水の硬度と O index の関係を示したが、硬度の低い試料に O index が 2 以上のものが多いものの、全体な傾向としては硬度と O index に基づく水のおいしさとの関係は弱いと判断された。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。

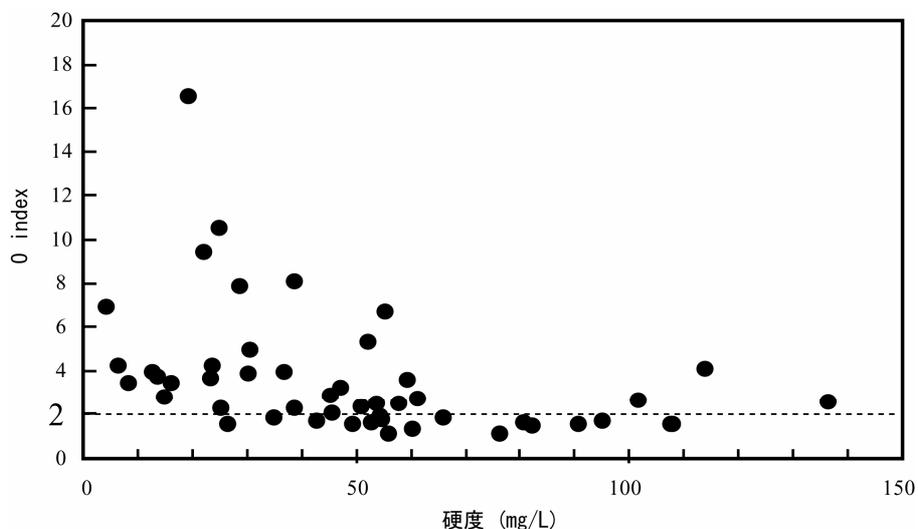


図3 秋田の水の硬度と O index の関係

次に、試料の味覚センサ応答パターンについて示す。図4は、秋田の水50試料の味覚センサ応答パターンによる主成分分析スコア散布図である。主成分1軸と主成分2軸で全変動の82.3%が説明可能であった。因子負荷量により、主成分1軸はセンサ1~8に対する全体的な応答強度を示したことから、センサの違いによる主成分1軸の意味づけは困難であった。一方、主成分2は正方向にセンサ5~8の正電荷膜が応答し、負方向にはセンサ1~4の負電荷膜が応答したことが示された。したがって、主成分2軸はセンサ電荷膜の正負の違い、すなわち試料中の成分の電荷の違いによって識別されたものと意味づけられる。しかしながら、いずれの主成分軸とも、個々のイオン成分との直接的な相関関係は認められなかった。

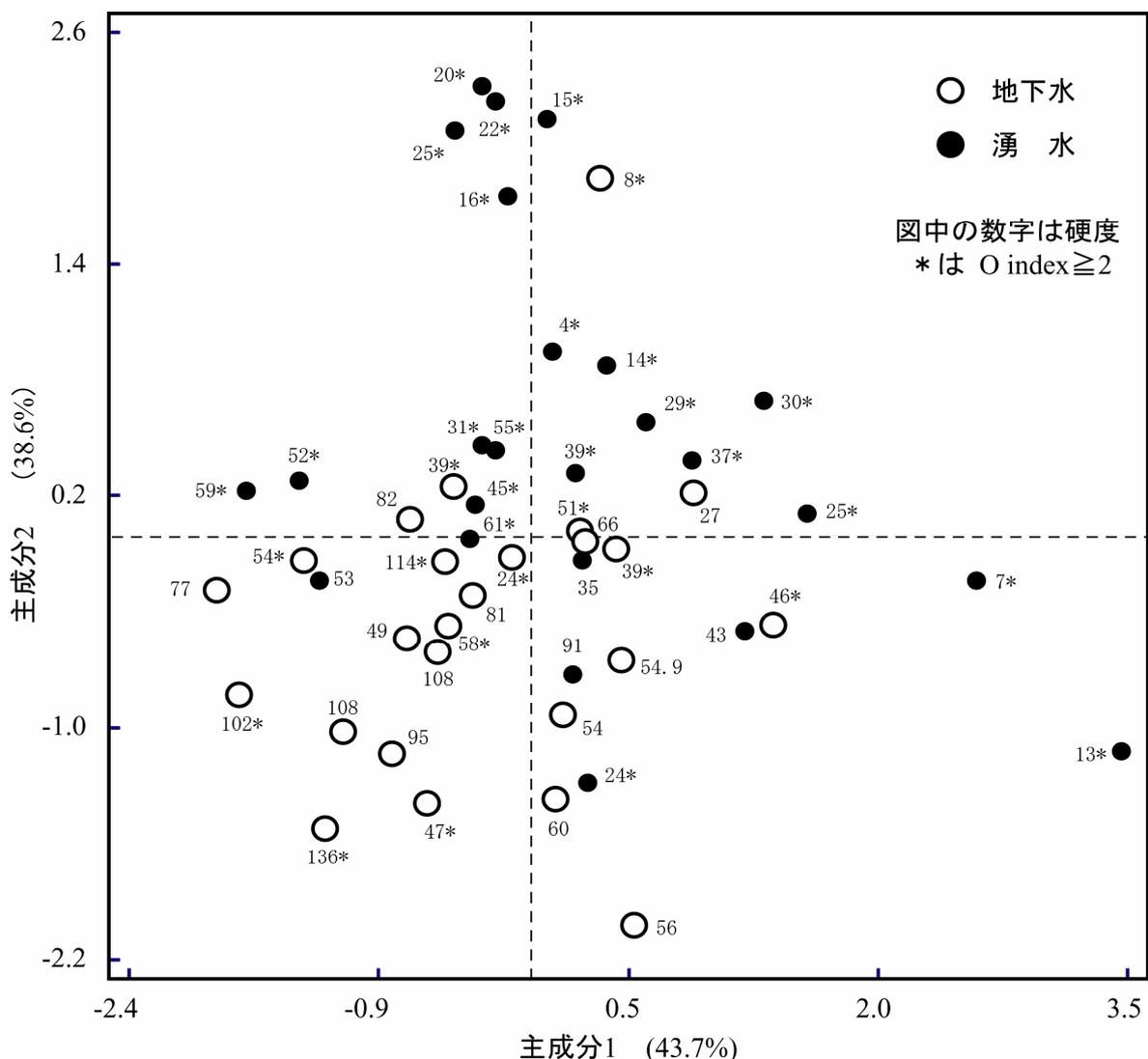


図4 秋田の水の味覚センサ応答パターンによる主成分分析スコア散布図

O index との関係を見ると (図 5)、主成分 2 軸と O index の間には弱いながらも正の相関関係が認められたことから、味覚センサはイオンバランスのような複合的な指標に基づいて試料を識別している可能性がある。この点については今後さらなる検討が必要であるが、味覚センサの識別結果を利用した、新たな水のおいしさ指標の確立を今後の課題とする。

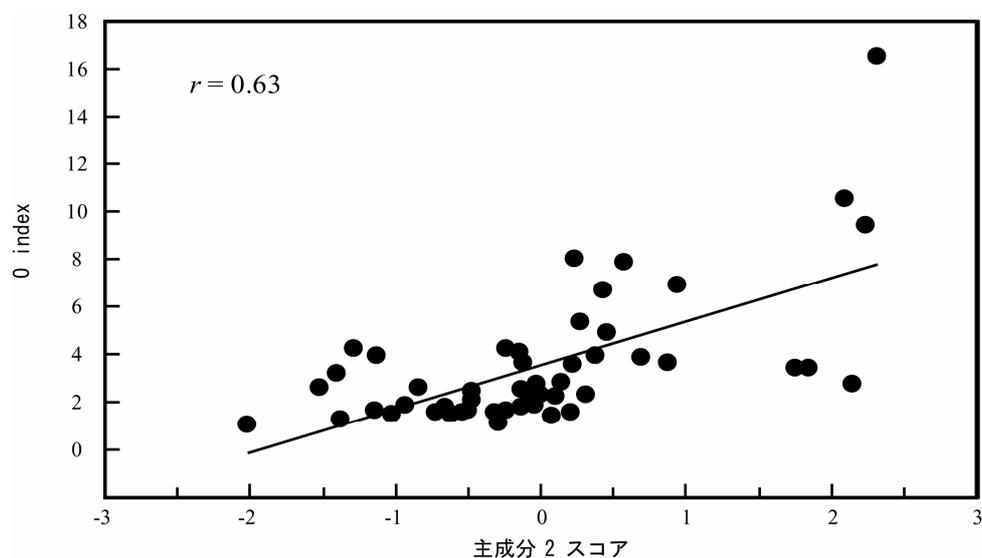


図 5 主成分 2 スコアと O index の関係

【文 献】

- [1] 厚生省おいしい水研究会：水道協会雑誌, 54, 76-83 (1985).
- [2] 橋本奨：用水と廃水, 29, 3-16 (1987).
- [3] S. Iiyama, M. Yahiro and K. Toko, *Sensors and Materials*, 7, 191-201 (1995).
- [4] 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2000, p.699. (2000), (金原出版).

# 北東北産穀類の利用（第1報）

## — 雑穀麴パンの製造試験 —

畑山 誠<sup>1</sup>、秋山 美展<sup>2</sup>、高橋 慶太郎<sup>2</sup>

(岩手県工業技術センター<sup>1</sup>、秋田県農林水産技術センター総合食品研究所<sup>2</sup>)

Makoto HATAKEYAMA, Yoshinobu AKIYAMA, Keitaro TAKAHASHI

### 【緒言】

雑穀は健康によい機能を持つ穀類として認知されている。西沢らはキビ蛋白質画分がラットおよびマウス血中の善玉コレステロールである HDL コレステロールを上昇させ<sup>1) 2)</sup>、血中の GOT, GPT および LDH 酵素を低下させること<sup>3)</sup>を報告している。Choi らはアワ蛋白質画分をマウスに摂取させると、血中の HDL コレステロールとアディポネクチンが上昇し、インスリンが低下することを報告し<sup>4)</sup>、また佐藤らはヒエ蛋白質画分が悪玉コレステロールを低下させることを報告している<sup>5)</sup>。これら雑穀は飯米に混ぜて食するのが一般的であるが、雑穀の加工食品も色々開発されている。本報では、雑穀類を製麴し、砂糖の代わりとして用いたパンの製造法について報告する。

### 【実験方法】

#### 1) 雑穀の製麴と酵素力価測定

雑穀は岩手県軽米町産の精白されたうるち種のヒエともち種のアワ、キビを用いた。対照として 90%精白の飯米を用いた。原料処理は 1 バッチを 500~600 g とし、洗穀、浸漬、水切り、蒸し、放冷の順で行った。浸漬時の目標吸水率は 28%、甑（こしき）吸水率は 10%とし、アワ、キビは 8~10 分程度の限定吸水、ヒエ、飯米は一晚浸漬して吸水させた。

種麴として秋田今野商店製「高級醗立用」を準備し、指定使用量の 2 倍量を等量のコーンスターチに混合して用いた。蒸し後、放冷した雑穀に種麴を混合し、枯らし布、ネル、ビニール袋の順で包み、ピシヤット（深型角カゴ）に載せて ADVANTEC 製恒温恒湿機 AGX-224 に引込んだ。製麴の品温経過・作業は清酒麴のそれに従い、3 日麴として出麴した。品温は、引込み 30~31℃、盛り 31~32℃、仲仕事 33~34℃、仕舞仕事 37~38℃、出麴 40~42℃を目標にし、恒温恒湿機の槽温度を調整した。槽内湿度は仲仕事までは 60%RH に、仲仕事以降は 85%RH に設定した。仲仕事まではビニール袋を閉じて、仲仕事以降はビニール袋の底を切り、両口を開けて麴物料の周辺湿度を調整した。ただし槽内の風が麴物料に直接吹きつけないように配慮した。

麴の酵素力価はキッコーマンの酵素力価測定キットで測定し、麴水分は国税庁所定分析法注解固体こうじの項に従って分析した。

#### 2) 雑穀麴の糖化・酵素失活試験

糖化試験は麴と水の1：2混合物を湯煎50℃、55℃、60℃で糖化し、Brixを測定した。酵素失活試験はジュール加熱器を用い、60℃スタートから達温85℃、90℃、95℃で酸性カルボキシペプチダーゼ（以下酸性CAPと略）を指標としてタンパク分解酵素力価の経時的变化を調べた。

### 3) パン生地発酵試験

ATTO製Fermographを用いて、パン生地の発酵試験を行った。小麦100、食塩1.5、白神こだま酵母（生）4を固定配合とし、糖供給源として酵素失活処理したアワ麴糖化液30、またはアワ麴ないし砂糖6.4を配合、糖化液に対しては水50、麴と砂糖に対しては水70の配合とし、捏ねた生地を発酵試験に供した。

### 4) パン製造試験

表1の配合で、丸パンの試作を行った。生地はパン生地用ミキサーKM-230で弱目盛り1分、目盛り2で2分半、目盛り4で30秒の計4分捏ねた。生地を丸め、一次発酵（30℃85%RHで1時間～1時間10分）、ガス抜き、4分割して再丸め、二次発酵（一次発酵に同じ）した後、170℃で25分間焼成した。

原料	ヒエ麴パン	アワ麴パン	キビ麴パン
小麦粉（強力）	250	←	←
麴糖化液（麴：水=1：2）	60	60	60
食塩	3.8	←	←
白神こだま酵母（生）	10	←	←
油脂（ショートニング）	10	←	←
水（10℃）	140	120	120

\* 麴糖化液は糖化・酵素失活処理して使用した。

## 【結果と考察】

### 1) 雑穀麴の酵素力価

雑穀麴の酵素力価を表2に示した。糖化系酵素力価に大きな違いはなく、糖化に十分な力価となった。アワ麴の $\alpha$ -アミラーゼ力価が高いのは、出麴水分が高いことから製麴中の水分の抜けが遅かったためと思われる。酸性CAPが15,000U/g麴を超えた麴の品温経過（図2）は、盛り（製麴18～21時間目）までの品温上昇が早く、盛りから仕舞仕事（製麴18～33時間目）までプロテアーゼが生成し易いと云われる35～38℃の温度帯時間が長くなったためと考えられる。パン用麴としては図1の品温経過の方が望ましい。

### 2) 雑穀麴の糖化と酵素失活処理

麴の糖化試験結果を図3に示した。50～60℃の間では温度が高いほどBrix上昇の立ち上がり早い。しかし6時間目にはほぼ同程度となった。50℃で糖化すると何らかの微生物が増殖するためか糖化液の香りが悪くなった。そのた

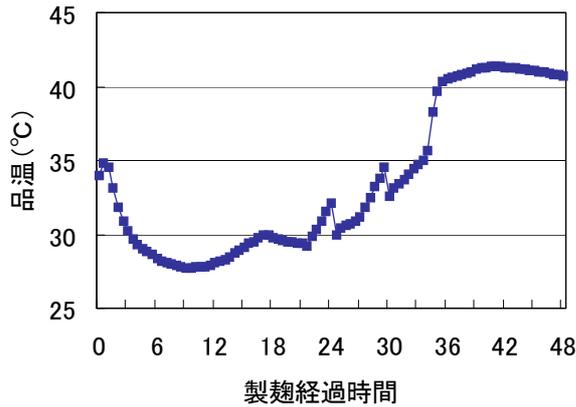


図 1. キビの製麴品温経過

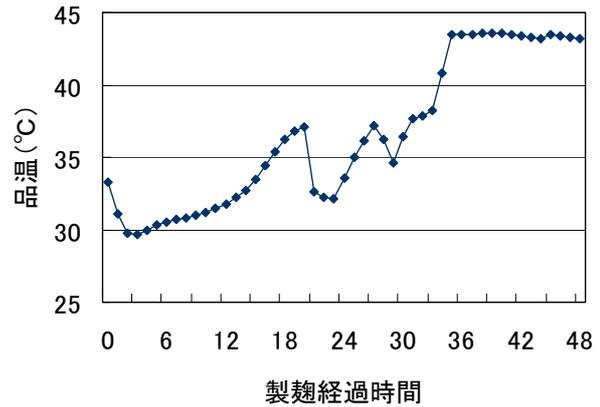


図 2. ヒエの製麴品温経過

表 2. 雑穀麴の酵素力価と水分

原 料	酵素力価 (U/g 麴)			水分 (%)
	$\alpha$ -アミラーゼ	糖化力	酸性 CAP	
ヒ エ	1800	300	16000	18.8
ア ワ	2400	340	18000	22.6
キ ビ	1800	330	5000	17.8
米(対照)	1700	320	7400	21.0

\*酵素力価は国税庁所定分析法に準じ、乾物換算値として表した。

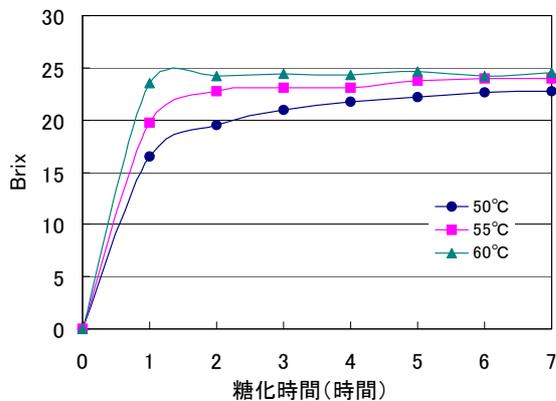


図 3. 麴糖化温度と Brix

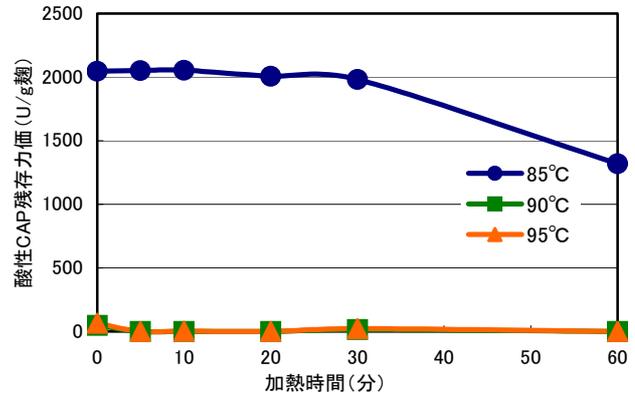


図 4. ジュール加熱による酵素失活

め糖化は 55～60℃で行うのが望ましい。

ジュール加熱法で加熱処理した糖化液中の酸性 CAP 力価失活の経時的変化を図 4 に示した。85℃では 1 時間経過しても力価が残った。90℃以上では達温時点でほぼ酸性 CAP は消滅し、5 分後には力価 0 となった。

### 3) パン生地発酵試験結果

糖源の異なるパン生地の発酵試験結果を図 5 に示す。砂糖が糖源であるパン生地は発酵のピークを迎えたあと徐々に発酵が弱くなるのに対して、アワ麴糖化液を糖源とする生地は発酵のピーク後、急激に発酵が弱くなる。これは糖化液中の糖の大

部分が溶解した状態のグルコースであり、酵母にとって最資化し易い状態にあるため、一気に糖が消費されることによると思われる。アワ麴そのものを糖源とすると発酵のはじめに低いピークが現れ、一度発酵が弱まったのち再発酵が始まる。この現象は麴中の糖化酵素が遅れて糖を供給することによると考えられる。しかし麴を糖源とするとパン生地は膨らまない。これはグルテンがタンパク分解酵素によって分解されるためと考えられる。

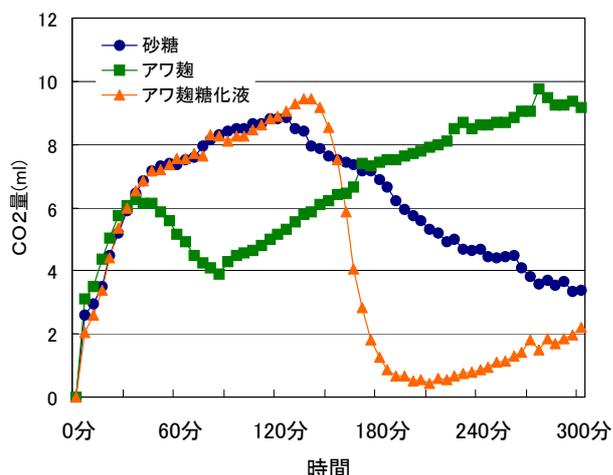


図5. 糖源の異なるパン生地発酵試験

表3. 雑穀麴パンの比容積 (ml/g)

ヒエ麴パン	アワ麴パン	キビ麴パン
3.6	3.8	4.0

#### 4) パン製造試験結果

表3に雑穀麴パン（丸パン）の比容積を示す。十分膨らんだとは云えないが、パンとして違和感のない程度には膨らんだ。味は砂糖パンのさっぱり味とは異なり、深みのある旨味と甘味に特徴があるものとなった。

#### 【まとめ】

雑穀麴糖化液を砂糖の代替えとしたパン製造法について検討した。清酒麴の製麴を範として造った雑穀麴の糖化酵素力価は十分なものであった。麴の糖化は 55～60℃で2時間以上、ジュール加熱での酵素失活は達温 90℃で5分以上行う必要があった。麴糖化液を糖源とするパン生地では発酵ピーク後急激な発酵低下を起こした。雑穀麴パンは深みのある旨味と甘味に特徴があった。

#### 【謝辞】

種麴を御提供下さった(株)秋田今野商店に深く感謝いたします。

#### 【引用文献】

- 1) Naoyuki Nishizawa, Mihoko Oikawa and Shin-ichi Hareyama, *Agric. Biol. Chem.*, **54**(1), 229-230 (1990)
- 2) Naoyuki Nishizawa and Yoshiharu Fudamoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**(2), 333-335 (1995)
- 3) Naoyuki Nishizawa, Daiki Sato, Yoshiaki Ito, Takashi Nagasawa, Yasuko Hatakeyama, Myeong-Rak Choi, You-Young Choi and Yi Min Wei, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**(1), 92-96 (2002)
- 4) You-Young Choi, Kyouichi Osada, Yoshiaki Ito, Takashi Nagasawa,

Myeong-Rak Choi and Naoyuki Nishizawa,  
*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(1), 31-37 (2005)

- 5) 佐藤大輝、宮越洋、伊藤芳明、長澤孝志、崔明洛、魏益民、西沢直行、  
日本農芸化学会 2003 年度大会講演要旨集 p52 (2003)

# 北東北産穀類の利用（第2報） — 雑穀麴みその製造試験と抗変異原性 —

畑山 誠<sup>1</sup>、渡辺 隆幸<sup>2</sup>、尾張 かおる<sup>2</sup>、高橋 慶太郎<sup>2</sup>

(岩手県工業技術センター<sup>1</sup>、秋田県農林水産技術センター総合食品研究所<sup>2</sup>)

Makoto HATAKEYAMA, Takayuki WATANABE, Kaoru OWARI,  
Keitaro TAKAHASHI

## 【緒言】

近年転作作物として生産量が増えている雑穀は、健康によい機能を持つ穀類として認知されており、岩手大学の西沢らがキビの機能性<sup>1) 2) 3)</sup>、Choi らがアワの機能性<sup>4)</sup>、そして佐藤らがヒエの機能性<sup>5)</sup> について報告している。雑穀は北東北で多く生産されているが、雑穀を原料とするみそは西日本で多く造られている。これらは麦みそに原料処理した雑穀を配合したものが多く、雑穀を製麴したみそはあまりない。岩手県軽米町大黒醤油(株)のヒエみそは麴全てをヒエで造った珍しいみそである<sup>6)</sup>。本報では北東北の農産物活用を目的に、雑穀麴を使って試験製造したみそとその抗変異原性について報告する。

## 【実験方法】

### 1) 雑穀の製麴と酵素力価測定

雑穀は H17 年岩手県軽米町産の精白されたうるち種のヒエともち種のアワ、キビを用いた。対照として 90%精白の飯米を用いた。種麴として秋田今野商店製「味噌用」と「AOK139」を準備し、指定使用量の 2 倍量を等量のコーンスターチに混合して用いた。原料処理から出麴までの作業は畑山らの方法<sup>7)</sup> に従って行った。ただし製麴の品温経過・手入れ作業はみそ麴のそれに従い、3 日麴として出麴した。品温は、引込み 32~33℃、一番手入れ 39~40℃、二番手入れ 37~39℃、出麴 36~38℃ を目標にし、恒温恒湿機の槽温度を調整した。

麴の酵素力価はキッコーマンの酵素力価測定キットで測定し、水分は国税庁所定分析法注解固体こうじの項に従って分析した。

### 2) みそ製造試験

原料として大豆は H16 年産ユキホマレ、前述の麴、並塩を用いた。秋田流麴みそ製造の定法に従い仕込み、色 (Y 値=10) を目安に 4~6 ヶ月間 30℃で熟成した。麴歩合 10 割、食塩分 11.5%、ゆらら酵母 AM2 初発菌数  $2 \times 10^5$  cfu/g みそを固定条件とし、仕込み水分を 3 水準 (45、47.5、50%) とした。

### 3) みその色の測定

みその色 (Y 値) は基準みそ分析法<sup>8)</sup> に従って測定した。

#### 4) 官能試験

熟成後の雑穀麹みそを官能評価に供し、色、香り、味、組成を 5 点法で採点し、その平均値を求めた。パネラーは 4 名、点数の小さい方が良いみそである。

#### 5) みその抗変異原性

抗変異原性の測定は Ames 試験のプレインキュベーション法<sup>9)</sup>に基づいた渡辺らの方法<sup>10)</sup>に従って行った。

### 【結果と考察】

#### 1) 雑穀麹の酵素力価

雑穀麹の酵素力価を表 1 に示した。種麹「AOK139」で造った麹は、種麹「味噌用」と比べ、糖化力が極めて強いものとなった。雑穀の中ではアワ麹の糖化系酵素力価が高くなる傾向にあった。酸性カルボキシペプチダーゼ（表中酸性 CAP と略）は種麹「味噌用」で造ったヒエ麹の力価が低めではあったが、米麹よりは高く、雑穀麹の酵素力価はみそ仕込み用として十分なものであった。

表 1. 雑穀麹の酵素力価と水分

種 麹	原 料	酵素力価 (U/g 麹)			水分 (%)
		$\alpha$ -アミラーゼ	糖化力	酸性 CAP	
味噌用	ヒ エ	1300	170	7000	20.8
	ア ワ	1600	190	13000	19.3
	キ ビ	1100	140	14000	21.4
	米	1400	180	5800	24.4
AOK139	ヒ エ	1100	520	12000	22.7
	ア ワ	1500	620	13000	23.7
	キ ビ	780	440	14000	24.2
	米	1700	700	6500	23.9

\*酵素力価は国税庁所定分析法に準じ、乾物換算値として表した。

#### 2) みその色

表 2 にみその熟成中の色 (Y 値) の変化を示した。雑穀麹みそは米みそと比べて着色が明らかに遅かった。みその色変化は糖とアミノ酸がカルボニル反応して着色が進むことが主要因であるから、色が薄いのは蛋白質、澱粉の分解が遅いことに起因し、つまりは熟成が遅い為と考えられた。酵素力価は十分でも分解が遅いのは、酵素が麹粒から出難いこと、雑穀粒自体が酵素作用を受け難い事などが考えられる。

雑穀麹みその中ではアワ麹みその着色が早かった。これは糖化系酵素力価が高く、糖の供給が早いためと考えられた。また仕込み時水分含量が高いみその方が着色は遅かった。米みそは種麹「AOK139」を用いたみその方が着色が早かった。これに対して雑穀麹みそでは種麹間で明らかな差は認められなかった。

表2. 雑穀麴みその色 (Y 値)

製麴原料	種 麴	仕込水分 (%)	熟成期間 (月)		
			2	4	6
米	味噌用	45.0	16.48	6.48	---
	AOK139	45.0	15.21	6.10	---
ヒ エ	味噌用	45.0	21.55	10.77	---
	〃	47.5	21.76	12.98	8.94
	〃	50.0	22.24	14.38	11.17
	AOK139	47.5	21.40	12.33	9.58
ア ワ	味噌用	45.0	17.69	8.51	---
	〃	47.5	19.53	9.17	---
	〃	50.0	20.18	11.36	10.22 (5)
	AOK139	47.5	18.50	9.43	---
キ ビ	味噌用	45.0	19.79	9.72	---
	〃	47.5	20.80	11.24	9.72 (5)
	〃	50.0	20.96	11.63	8.95
	AOK139	47.5	22.99	13.97	8.93

\*表中 (5) とは熟成5ヶ月目のデータであることを示す

表3. 雑穀麴みその官能評価

製麴原料	種 麴	仕込水分 (%)	評価点
ヒ エ	味噌用	45.0	3.00
	〃	47.5	<b>2.83</b>
	〃	50.0	3.08
	AOK139	47.5	2.75
ア ワ	味噌用	45.0	3.00
	〃	47.5	<b>2.83</b>
	〃	50.0	3.08
	AOK139	47.5	2.75
キ ビ	味噌用	45.0	3.00
	〃	47.5	2.92
	〃	50.0	<b>2.75</b>
	AOK139	47.5	3.08

### 3) みその官能試験結果

表3に雑穀みその官能評価結果を示した。予備試験で仕込水分45%ではボソボソ感があり滑らかさに欠けるといふ指摘があり、その改善のために本製造試験を行った。その結果、ヒエ・アワ麴みそでは水分47.5%が、キビ麴みそでは水分50%のみその評価が高かった。しかし組成の悪さが完全には払拭されず、雑穀麴みそで滑らかな組成を実現するためには他の方策を講じる必要があることが示唆された。種麴「味噌用」と「AOK139」では評価に差がなかった。

### 4) みその抗変異原性試験結果

図1に雑穀みその抗変異原性の経時的変化を示した。種麴「味噌用」を用いたみそより「AOK139」を用いたみその方が抗変異原性は全体に高かった。渡辺らの報告<sup>10)</sup>にあるように「AOK139」を用いた米みそは特異的に高く、経時的安定性もあった。米みそは熟成に伴い抗変異原性が横ばいもしくは高くなる傾向にあったが、雑穀麴みそは低くなる傾向にあった。

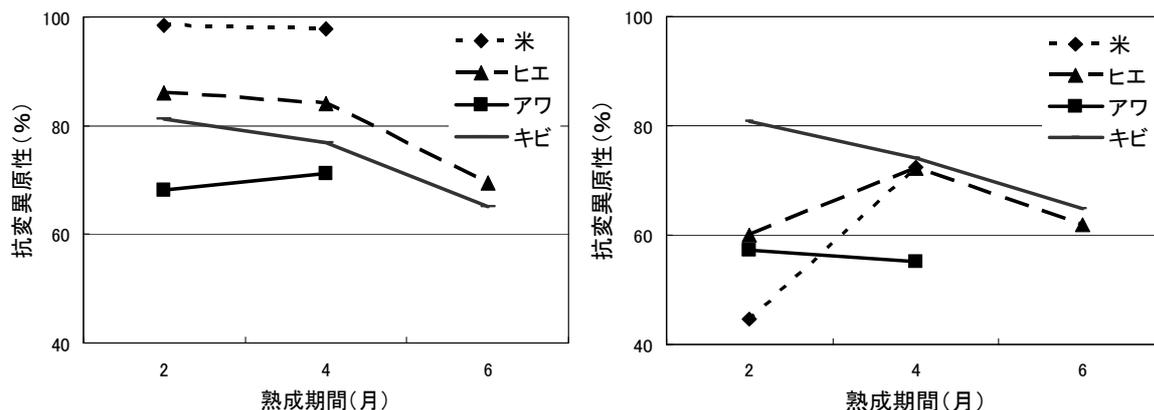


図1. 雑穀麹みそ抗変異原性の経時的変化 (左: AOK139、右: 味噌用)

### 【まとめ】

雑穀麹と雑穀麹みそを試醸し、その抗変異原性を調べた。種麹「AOK139」の麹は糖化力が極めて強かった。雑穀麹はみそ仕込み用として十分な酵素力価を持つが、みその着色は遅く、熟成が遅いと考えられる。また仕込み時水分含量が高いみそは着色が遅かった。官能試験の結果、水分47.5～50%のみその評価が高かった。しかし滑らかな組成実現のためには水分含量を高くするだけでは不十分で、品質の良い雑穀麹みそ製造のために他の方策が必要である。雑穀麹みその抗変異原性は熟成に伴い低くなる傾向にあった。

### 【引用文献】

- 1) Naoyuki Nishizawa, Mihoko Oikawa and Shin-ichi Hareyama, *Agric. Biol. Chem.*, **54**(1), 229-230 (1990)
- 2) Naoyuki Nishizawa and Yoshiharu Fudamoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**(2), 333-335 (1995)
- 3) Naoyuki Nishizawa, Daiki Sato, Yoshiaki Ito, Takashi Nagasawa, Yasuko Hatakeyama, Myeong-Rak Choi, You-Young Choi and Yi Min Wei, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**(1), 92-96 (2002)
- 4) You-Young Choi, Kyouichi Osada, Yoshiaki Ito, Takashi Nagasawa, Myeong-Rak Choi and Naoyuki Nishizawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(1), 31-37 (2005)
- 5) 佐藤大輝、宮越洋、伊藤芳明、長澤孝志、崔明洛、魏益民、西沢直行、日本農芸化学会 2003 年度大会講演要旨集 p52 (2003)
- 6) <http://www.karumai.com/daikoku/>
- 7) 畑山誠、秋山美展、高橋慶太郎、秋田県総合食品研究所報告, **9**, 12-16 (2007)
- 8) 全国みそ技術会, 基準みそ分析法 (1995)

- 9) 早津彦哉, 微生物を用いた検出法「変異原物質試験法」  
(廣川書店), 15-35 (1990)
- 10) 渡辺隆幸、尾張かおる、堀一之、高橋光一, 日食工誌, 51 (12), 698-702 (2004)

# アルコール感受性酵母を用いた新しいタイプの清酒の開発

渡辺誠衛・大野 剛・田口隆信

(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所 酒類グループ)

Seiei WATANABE, Tsuyoshi OHNO, Takanobu TAGUCHI

## 【 要 約 】

「色は琥珀色、香りは果実・花様で、さわやかな酸味のファッションブルでリーズナブルな日本酒」をコンセプトに、アルコール4~5%の新タイプの清酒の開発を目的とした。

果実・花様の香りは、 $\rho$ フルオロフェニルアラニン (FPA) 耐性株から $\beta$ フェネチルアルコール・酢酸 $\beta$ フェネチル高生産株を分離し、ほのかなバラ様の香りを付与した。さらに、その酵母からレプリカ法により、アルコール感受性酵母から低アルコール生成酵母を分離した。さわやかな酸味は、清酒製造場から分離した優良乳酸菌を利用し、琥珀色は85°Cで処理した焙煎麴を用いた。また、トランスグルコシターゼ酵素を用いることにより、非発酵性オリゴ糖の含有量を高め、味にふくらみを付与することができた。

試作品は、ほぼ目標の成分と酒質となり、新しいタイプの清酒の1つの製造方法として提示することができた。

## 【 諸 言 】

近年、アルコール飲料の消費動向がライト化に向かっている中、市販されている清酒はアルコール度数が通常15%から20%であり、他の酒類に比べアルコール度数が高く、ビール・発泡酒を主とする低アルコール飲料や、焼酎、ワインにシェアを奪われてこれが清酒需要の拡大を阻んでいる一つの原因と考えられる。低アルコールの日本酒については、種々取り組まれているが、アルコール濃度が10%とまだ高く、商品としての定着も少なく、品質を重視するあまり、コスト低減化にいたっていない。

低アルコール清酒の製造方法の1つは、原酒を目的のアルコール度数まで水で希釈する方法であるが、通常の仕込み配合では味が薄くなる問題点があった。そのため、補酸や補糖、炭酸ガスにより味の薄さを補う研究が試みられてきた。他の1つは、アルコール度数の低い原酒を製造する方法であるが、仕込み配合を変えた製造方法ではダイアセチル生成による「つわり香」の問題点もあり、製造面からの研究も**精力的**に行われてきた<sup>1)~6)</sup>。

そこで我々は、水っぽくなく、かつ、香味に特徴を持ったアルコール度数4~5%の清酒の製造を目的とし、酵母と乳酸菌の選抜・育種を行い、新しいタイプの清酒

使用への可能性を見いだした。さらに、麴利用の一つとして焙煎麴の利用と発酵形式・仕込配合等の製造法を検討し、新しいタイプの清酒の1つの製造方法として提示することができた。

## 【 実 験 方 法 】

### 1. 優良酵母の分離

新しいタイプの日本酒に用いる果実・花様の香りを有する酵母として、 $\beta$ フェネチルアルコール・酢酸 $\beta$ フェネチル高生産株を $\rho$ -フルオロフェニルアラニン ( $\rho$ FPA) 耐性株から取得を試みた。協会 901 号酵母 (K-901) と秋田流・花酵母 (AK-1) とこまち酵母を供試株とし、Y. P. D (1% Yeast extract、2% Poly peptone、2% Dxtrose)、3ml で 30°C、2 日間培養し、0.85% NaCl 生理食塩水で 3 回洗浄し、適当に希釈後に選抜分離平板培地 (0.67% Y. N. B w/o Amino Acid、2% Glucose、 $\rho$ -Fluoro Phenyl Alanin 0.2mg/ml、0.4mg/ml、0.6mg/ml、2% Agar) に 100 $\mu$  塗末した。30°C、3 日間培養し、増殖したコロニーを FPA 耐性株とした。発酵試験は、アルコール脱水麴培地<sup>7)</sup> (アルコール脱水麴 8g、麴エキス (Be' 6.5) 20ml、培養酵母 1ml) で 15°C、2 週間発酵後、一般成分と香気成分を測定した。

### 2. アルコール感受性酵母のスクリーニング

低アルコール生産性酵母を目的として、アルコール感受性酵母の分離を試みた。上記で選抜した FPA 耐性株 1 株からシングルコロニー 768 株を分離し、2%~5% エタノールを含む Y. P. D 平板培地を用いてネガティブセレクションによるレプリカ法で行い、アルコール含有培地で増殖出来ない株を選抜した。分離したアルコール感受性酵母について、上記同様にアルコール脱水麴培地を用いた発酵試験を行った。

### 3. 優良乳酸菌の分離

爽やかな酸味を付与するための乳酸菌の分離を県内清酒製造場 10 社の仕込水から行った。各清酒製造場の仕込み用原水を 0.2 $\mu$ m メンブランフィルターにてろ過、ろ過残渣を滅菌水にて懸濁し、アジ化ナトリウム 50ppm を含む MRS 培地にて前培養後、同平板培地に塗布、ソフトアガー重層法を用いて培養し、乳酸菌のコロニーを得た。

分離した乳酸菌 3 株について有機酸組成とアミノ酸組成を調べ、新しいタイプの日本酒利用への可能性を検討した。

### 4. 焙煎麴

琥珀色~黄金色と香りの付与を目的として、ビール製造の麦芽の焙煎法を応用して焙煎麴を作成した。

精米歩合 60%の酒母用麴を用いて焙煎条件を検討した。乾燥機中で 50°C、5 時間乾燥後、75°C、85°C、100°C の 3 区分で適度な色と香ばしさが出るまで焙煎した。作成した 3 種類の焙煎麴の酵素力価の測定と糖化試験を行い、新規タイプの日本酒利用への可能性を検討した。

### 5. 発酵形式・仕込配合の検討と製造方法の確立

高温糖化後に乳酸発酵を行い、その後酵母によるアルコール発酵を基本発酵形式

とした。高温糖化の際に非発酵性オリゴ糖の高生産を目的として、天野エンザイム（株）のトランスグルコシターゼ酵素（TG-B）の利用を検討した。酵素の使用量と糖化時間、非発酵性オリゴ糖の生成量を検討し、蒸米と麴米と焙煎麴の比率を変えた仕込配合を検討した。

## 【 実験結果及び考察 】

### 1. 優良酵母のスクリーニング

K-901 と AK-1 とこまち酵母から  $\rho$  FPA 耐性株 3 株（FPA-3、FPA-4、FPA-6）を分離し、さらに FPA-6 株について再度  $\rho$  FPA プレートで生育した 44 株を選抜し、アルコール脱水麴を用いた培地で発酵試験を行った。官能的に良好な 15 株について  $\beta$  フェネチルアルコールと酢酸  $\beta$  フェネチルを定量した結果、FPA-18 株は、AK-1 酵母に比較して  $\beta$  フェネチルアルコール生成量は最大で 5 倍以上、酢酸  $\beta$  フェネチル生成量は最大で 3 倍以上となった。（図 1）

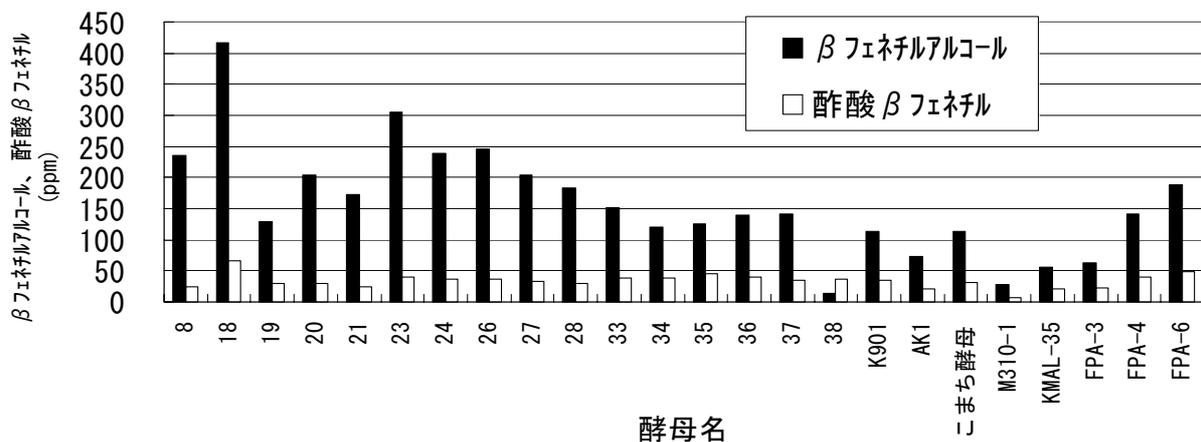


図 1. 分離株の  $\beta$  フェネチルアルコールと酢酸  $\beta$  フェネチル生成量

対照株 3 株と、選抜株 3 株（FPA-6-18、FPA-6-23、FPA-6-24）について、総米 1Kg の小仕込試験を行い、清酒製造における  $\beta$  フェネチルアルコールと酢酸  $\beta$  フェネチル生成能を検討した。その結果、FPA-6-18 株は、清酒製造においても従来の清酒酵母と比べ、 $\beta$  フェネチルアルコールと酢酸  $\beta$  フェネチルが約 2 倍生成されることを確認した。（表 1）

表 1. 小仕込試験の  $\beta$  フェネチルアルコールと酢酸  $\beta$  フェネチル生成量

	酵母名	$\beta$ フェネチルアルコール	酢酸 $\beta$ フェネチル
対照株	K-901	123.4	26.0
	AK-1	123.8	25.2
	こまち酵母	140.7	27.3
分離株	FPA-6-18	217.5	40.1
	FPA-6-23	185.1	26.5
	FPA-6-24	178.2	30.6

(ppm)

## 2. アルコール感受性酵母のスクリーニング

FPA-6-18 株からシングルコロニー768 株を釣菌し、レプリカ法で2~5%エタノール含有Y.P.D寒天培地で増殖できなかつたアルコール感受性株を10株分離することができた。(表2)

10 株について、アルコール脱水麴を用いた培地で15℃、14 日間完全発酵させた結果、対照の協会9号酵母(アルコール18.7%、日本酒度-1)に比べ、FPA-6-18-21株はアルコール12.7%、日本酒度-30.2%台で発酵が停止することが確認された。

表2. アルコール感受性酵母の取得結果

エタノール濃度(%)	増殖しない株数
0%	0
2%	0
3%	0
4%	7
5%	3

## 3. 優良乳酸菌のスクリーニング

県内清酒製造場10社の仕込水から乳酸菌の分離を行った結果、3株の乳酸菌を分離することができた。ヨーグルトから分離した乳酸菌を対照に分離乳酸菌2株(No.46株、No.35株)について諸性質を調べた。もろみ中での酸生成試験の分析・官能評価の結果、いずれの株も使用可能と判断された。No.46株と対照株の2種類乳酸菌の発酵試験(もろみ並行発酵形式、30℃、48時間乳酸発酵)では、アミノ酸代謝に特徴があり、No.46株ではチロシン、アルギニンが減少し、オルニチンが増加した。対照株ではオルニチンが減少し、アルギニン、フェニルアラニンが増加した。(図2)

糖代謝に関しては処理後にイソマルトースを中心としたオリゴ糖が増加した。(図3)

小仕込試験の結果からNo.46株が官能的に優れており、最終的に選抜した。

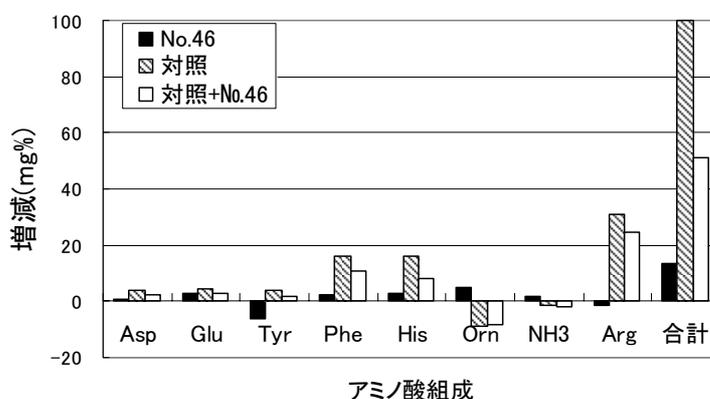


図2. 発酵液のアミノ酸組成

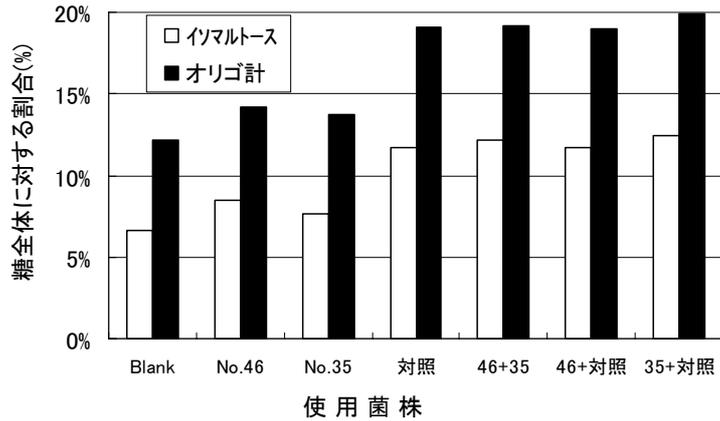


図 3. 乳酸菌による糖組成の変化

#### 4. 焙煎麴

70℃、85℃、100℃の3種類の焙煎麴を作成し、酵素力価を測定し、糖化試験を行った。乾燥機を用いて50℃で5時間乾燥させた後、1.5時間かけて85℃まで上昇させた85℃焙煎麴が良好と思われた。85℃焙煎麴は、酵素力価が乾燥麴の60%程度で、原料利用面からも有効で、新タイプの日本酒製造に色調と香ばしさを付与できる可能性を見いだした。

表 3. 焙煎麴の酵素力価と糖化試験

	酵素力価 (U/dry)		糖化試験*	
	グルコアミラーゼ <sup>α</sup>	αアミラーゼ <sup>α</sup>	Brix度	グルコース%
乾燥麴	296.5	1569.5	14.7	10.0
70℃焙煎	268.3	1420.4	14.3	9.1
85℃焙煎	172.0	910.3	13.1	5.8
100℃焙煎	27.1	48.3	9.1	3.9

\*: 麴100g+水400ml、55℃16hr

#### 5. 発酵形式・仕込配合と製造方法の検討

##### 1) 糖化による非発酵性オリゴ糖の生産条件の検討

高温糖化酒母を基本とし、蒸米50gと仕込水75mlを一定にしてTG-B酵素量を変えた糖化試験を検討した。TG-B使用量を50mg(白米: TG-B=1000:1)、100mg、200mg、400mg、800mgに増やすことにより、非発酵性オリゴ糖のIsomaltose、Isomaltotrioseの生成が明らかに増加した。(図4)

総合的に判断して、蒸米のみで非発酵性オリゴ糖(Isomaltose、Isomaltotriose)を高生産させるTG-B量は白米1000:10(白米100g当たり1g)に決定した。

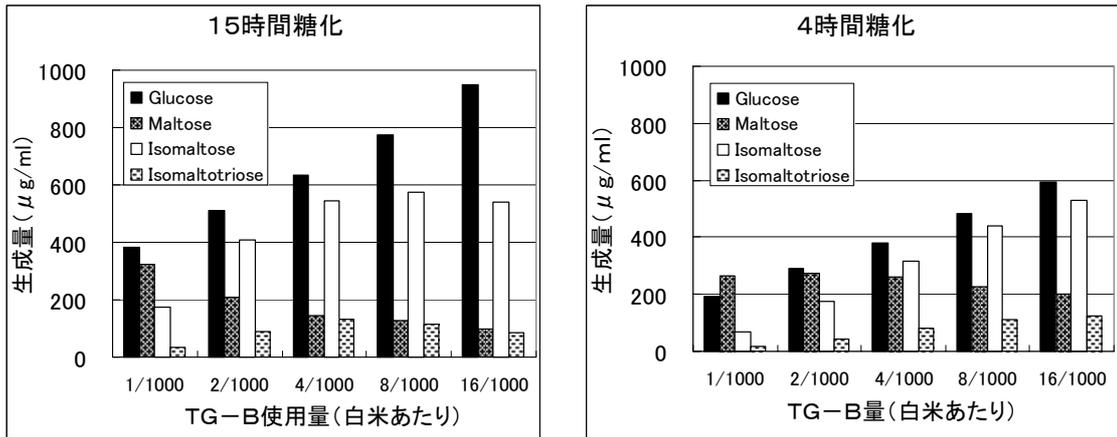


図 4. 酵素使用量とオリゴ糖類の生成量

## 2) 仕込配合の検討

蒸米と麴で 50g とし、蒸米と麴の比率を 50g:0g、40g:10g、30g:20g、20g:30g、10g:40g の 5 区分で、水 75g、TG-B 500mg (10/1000)、53℃、4 時間糖化し、非発酵性オリゴ糖の生成量を比較した。その結果、Isomaltose、Isomaltotriose 生成量と官能試験の結果から蒸米 30g+焙煎麴 20g、または、蒸米 20g+焙煎麴 30g が良好だった。(図 5)

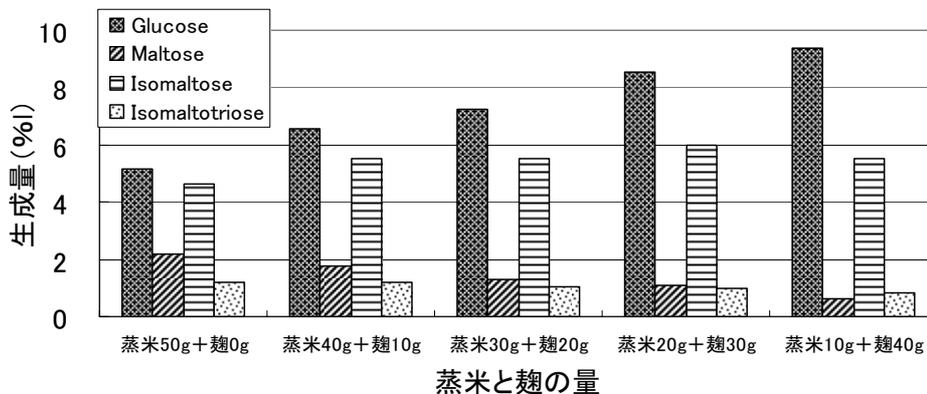


図 5. 蒸米と麴の比率を変えた仕込みの非発酵性オリゴ糖の生成量

## 3) 製造方法の検討

発酵形式と仕込配合を検討した結果、糖化→乳酸発酵→酵母による発酵を基本発酵形式として、製造方法を以下のように設定した。

①香り：βフェネチルアルコール・酢酸βフェネチル高生産かつ、低アルコール生成酵母 (FPA-6-18-21 酵母)、②味・酸：No. 46 乳酸菌、③色：85℃の焙煎麴、④糖化条件：蒸米と麴の比率が 80：20、汲水歩合 150%、TG-B 量は 10/1000 (白米 100g 当たり 1g)、53℃、4 時間糖化、⑤乳酸発酵条件：37℃、2 日間、⑥酵母による発酵条件：15℃～20℃で約 10 日間発酵。

表 4. 仕込配合

	蒸米(g)	麴(g)	焙煎麴(g)	仕込水(ml)	TG-B量
仕込1	1000	0	150	1500	10/1000
仕込2	800	200	150	1500	10/1000
仕込3	600	400	150	1500	10/1000
仕込4	400	600	150	1500	10/1000
仕込5	200	800	150	1500	10/1000

表 5. 小仕込分析結果

							仕込2の仕込配合
	酵母	乳酸菌	日本酒度	アルコール(%)	酸度	アミノ酸度	官能
対照区	AK-1	無し	-30	10.2	2.4	1.3	良、やや甘うく
試験区	FPA-6-16-21	No.46	-40	6.5	3.7	1.5	適度な酸、バラ様の香り、調和良

表 4 の仕込配合で総米 1Kg の小仕込試験を行った結果、仕込 2 の配合が成分・官能ともに良好な結果を得ることができた。仕込 2 の配合で前記の製造方法に従い、2 種類の小仕込試験を行った。11 日目で上槽した結果、日本酒度-40 の甘口で、アルコール 6.5%とややアルコール度数が高いながら、適度な酸とおだやかなバラ様の香りと香ばしさがミックスしたフレッシュな香りを有する新しいタイプの清酒製造の可能性を見いだした。

## 引用文献

- 1) 日本酒造組合中央会東京支部：醸協, 74(1), 61-63(1979)
- 2) 大塚謙一、戸塚 昭、伊藤政光：醸協, 68(12), 938-939(1973)
- 3) 大塚謙一：醸協, 71(8), 600-602(1976)
- 4) 岩野君夫、佐藤俊一、水野昭博、高原康生、木崎康浩、佐野英二、辻 邦司、梅田紀彦、戸塚 昭、川島 宏：醸協, 76(11), 768-772(1981)
- 5) 高橋康次郎、国分伸二、泉 健、里見弘司、佐川浩昭、白石常夫、田丸二三人、井上 博：醸協, 76(7), 482-486(1981)
- 6) 渡辺誠衛、高橋仁、田口隆信、中田健美、立花忠則、斎藤久一：秋田県総合食品研究所報告, 2, 36-44(2000)
- 7) 斎藤久一、渡辺誠衛、田口隆信、高橋 仁：醸協, 87(12), 915-921(1992)

## 2. 総説

- ① 「清酒業界における密度測定について・・・・・・・・・・・・・・・・・・27  
（浮ひょうと振動式密度計との測定値の比較）」  
若林三郎

# 清酒業界における密度の測定について

## (浮ひょうと振動式密度計との測定値の比較)

若林三郎

(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)

Saburo WAKABAYASHI

### 【要約】

酒精度浮ひょうと振動式密度計を用いて同一試料のアルコール濃度測定を行い、測定値の差を比較・検討した。両測定値の差の平均値や分布から推測すると、両測定方法の結果は完全に一致しており国家標準までのトレーサビリティは完璧に確保されていると考えられる。用いた試料は、清酒以外に果実酒及びしょうちゅうであるが、これらの酒類では蒸留により得られる留液は、密度測定においては純粋なアルコール水溶液と同じ挙動を取るものと考えられる

一方、日本酒度については、2つの測定方法による測定値は理論的に一致しないと考えられる。日本酒度計の校正には、伝統的に校正用液体として食塩水、純水及び低濃度アルコール水溶液が使用され、代表的な被測定液体である市販清酒と比べその表面張力が著しく高く、日本酒度計による測定値は、器差を介し校正液と被測定液の表面張力の差に大きく影響され振動式密度計と比較すると理論的に1.0~1.6低い値を示すことが予測された。すなわち、日本酒度計法での測定値は、甘い方向に偏っていると推測され、実験結果もこれを支持していた。

なお、両測定法の測定値を比較する際には、それぞれの測定における拡張不確かさを算出し、それを考慮して結論を導いた。

### 【緒言】

近年の分析技術の発展により、比較的安価に振動式密度計を入手できるようになり、清酒業界への導入が進んでおりアルコール濃度や日本酒度の測定に用いられている。振動式密度計は浮ひょうと比較すると、測定の不確かさが小さい、表面張力の影響を受けない及び測定に要する試料が少量である等の利点を持っている。しかし、現在は普及が始まった直後であることから、測定値について浮ひょうとの偏りを指摘する意見もある。2つの測定方法は、国家標準までのトレーサビリティが確保されており矛盾が生じる余地はないと思えるが、アルコール濃度測定に関しては測定液が純粋なアルコール水溶液とは言えず、また、日本酒度についても校正時に校正用液体の表面張力を無視しているなど検討すべき点があるのでこれらを踏まえ測定値間の差異を検討することとした。

## 【アルコール濃度測定】

### 1 浮ひょうによる測定

#### (1) 原理

浮ひょうが、液体を満したシリンダーの中で静止し浮かんでいる状態であると仮定する。この時、 $M$ は浮ひょうの重量、 $g$ は重力定数、 $\pi$ は円周率、 $D$ は浮ひょう頸部の直径、 $T$ は液体の表面張力、 $\theta$ は浮ひょう頸部と表面張力により頸部に濡れあがった液体が成す接触角で、(通常、ゼロ度と仮定することができるので  $\cos \theta = 1$  と考えて良い。)  $V$ は液中の浮ひょう体積、 $d$ は浮ひょうが浮いている液体の密度、 $v$ は空気中の浮ひょう体積、 $\rho$ は空気密度である、とすれば(1)式が成り立つ。

$$Mg + \pi DT \cos \theta = Vdg + v\rho g \quad (1)$$

(1)式の右辺は、浮ひょうが空気及び被測定液体から受ける上向きの力、すなわち浮力であり、左辺は浮ひょうが受けている重力及び表面張力による下向きの力である。浮ひょうは、 $V$ と $v$ の境界線に $d$ が表示されるように作成されている。酒精度浮ひょうの場合は、 $d$ のかわりに対応するアルコール濃度が、また、日本酒度計の場合は、日本酒度が表示されている。

#### (2) アルコール水溶液の表面張力

表面張力は、アルコール水溶液の場合、温度にも影響を受けるが濃度に強く依存し、15℃におけるアルコール水溶液の表面張力は図-1のとおりである。ゼロ付近は70 mN/mを超えているが、濃度の上昇に伴い急激に減少し15%付近では45 mN/m程度に低下している。

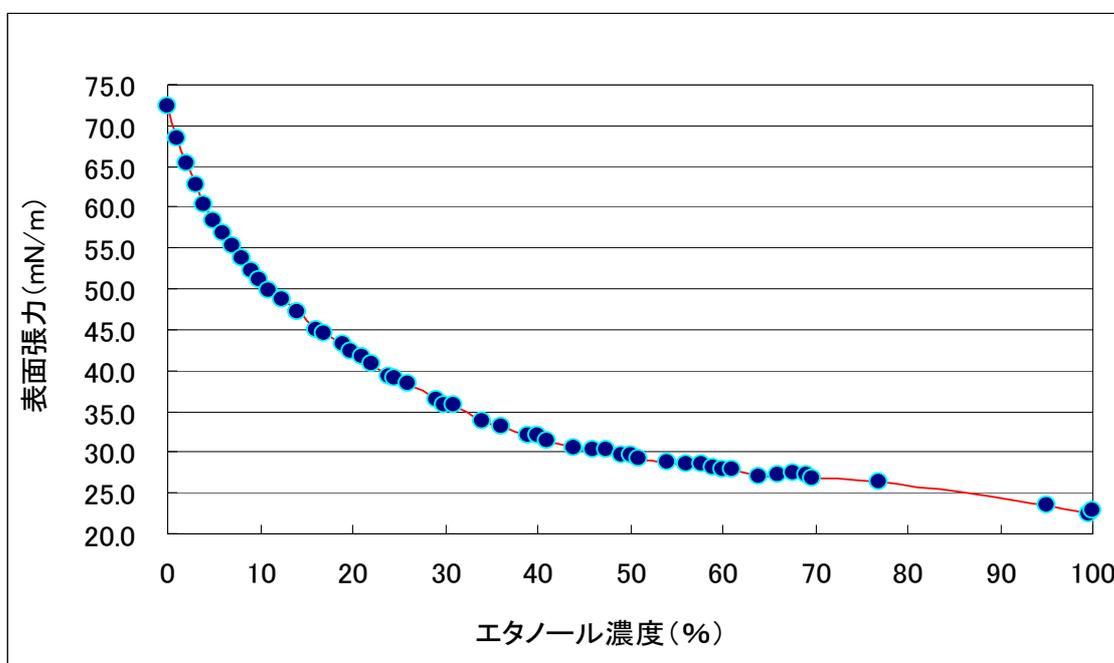


図-1 アルコール度数と表面張力

#### (3) 密度からアルコール濃度への換算

酒精度浮ひょうが、実際に測定しているのは密度であるが、その密度に対応したアルコール濃度が浮ひょうに表示されているのでアルコール濃度を読み取ることが

できる。密度から対応するアルコール濃度に換算するためには換算表が用いられるが、日本においては、少なくとも3種類の密度-アルコール濃度換算表が存在する。国税庁が公開しているゲイルサックの表、独立行政法人産業技術総合研究所（以後、産総研と略す。）が公開しているゲイルサックの表及び国際アルコール表である。筆者は、最初に日本に導入されたのは国税庁のゲイルサックの表であり、産総研のゲイルサックの表は、この表を常用していた産総研の研究者が、ゲイルサック以後のこの分野の発展を取り入れ改良を重ねてこられた、その結果ではないかと推測している。国際アルコール表は、世界中のアルコールに関連する研究者によって作成されたものでいわば世界標準と言えるものである。国税庁もゲイルサックの表から国際アルコール表に移行する予定があるように聞いている。その時は、産総研も国際アルコール表に移行するはずである。

国内では、産総研が浮ひょう校正事業を主管してきたので現存する日本の浮ひょうは、産総研の表を下に密度からアルコール濃度に変換された値を表示する。国税庁のゲイルサックの表は酒類のエキス分をアルコール濃度とその比重から算出する時のみ使用される。

2つのゲイルサック及び国際アルコール表は、細部で若干異なっており、特に20%付近での偏りが顕著である。しかし、産総研の表と国際アルコール表との違いは小さいので、将来、国際アルコール表へ移行しても混乱は起こらないと思われる。参考までに3つの表の偏差が大きい17~22%付近を表-1に示す。

表-1 国税庁版及び産総研版ゲイルサックと国際アルコール表

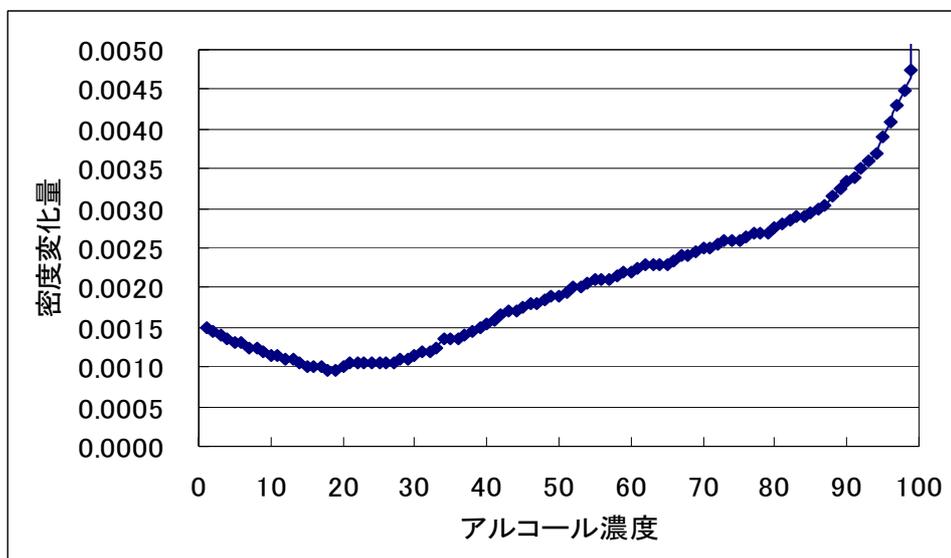
密度	国税庁版ゲイルサック	産総研版ゲイルサック	国際アルコール表
0.97832	17.00	16.90	16.86
0.97732	18.00	17.90	17.85
0.97642	19.00	18.80	18.74
0.97542	20.00	19.73	19.74
0.97442	21.00	20.70	20.74
0.97332	22.00	21.80	21.84

#### (4) 密度変化に対するアルコール濃度変化

密度変化に対するアルコール濃度変化は一定ではなく図-2のように変化している。図-2から、20%付近がアルコール濃度当たりの密度変化量が最小になっていることがわかる。この事実は、20%付近で使用される浮ひょうの頸部が、他の範囲のものよりも細いことでも理解できる。液面を上下する頸部の体積が直接密度変化に関与しているため、アルコール濃度当たりの密度変化量が小さい区分では、読み取り精度を上げるため目盛り幅を大きく取れば必然的に頸部の直径を細くせざるを得ないのである。したがって、20%付近の濃度が最も測定が難しく、先に示した3種類の密度-アルコール濃度換算表もこの付近で乖離幅が大きくなっているのである。いかにゲイルサック氏が実験技術に秀でていてもこの範囲では、誤差

が大きくなってしまったのである。国際アルコール表と国税庁のゲイールサックの表は、150年を越えるアルコール濃度測定精度のあゆみを示しているとも言える。

清酒は15~20%の範囲の測定を行う機会が多く、酒類の中で最も難しいアルコール濃度測定を強いられているのである。



図一 2 アルコール濃度と密度変化量

## 2 振動式密度計の原理

密度  $\rho$ 、振動周期を  $T$ 、 $A$  及び  $B$  を定数とすれば(2)式が成り立つので2種類の密度既知の物質、例えば水及び空気の  $T$  を測定することにより  $A$  及び  $B$  を決定し、他の物質の密度を測定することができる。

$$\rho = A \times T^2 + B \quad (2)$$

## 3 実測による浮ひょう法と振動式密度計法の比較

### (1) 分析に供した試料

試料の総点数は115点で内訳は、清酒63点、果実酒33点及びしょうちゅう乙類19点である。

### (2) 実験方法及びトレーサビリティの確保

国税庁所定分析法に則り浮ひょう法によりアルコール濃度を測定した。その後、その試料の密度を振動式密度計で測定し産総研のゲイールサックの表を用いてアルコール濃度に変換した。

当該振動式密度計は、JCSS 認定の密度標準液で校正した<sup>2)</sup>。また、酒精度浮ひょうは、独立行政法人酒類総合研究所で JCSS 校正されたものを使用した。

## 4 不確かさの見積もり

### (1) 浮ひょう法

国税庁所定分析法による浮ひょう法でのアルコール濃度測定の不確かさ<sup>3)</sup> は概ね表一2のとおりであると推測できる。したがって、浮ひょう法によるアルコール濃度測定に関しては、測定値 $\pm 0.4\%$ の範囲に真の値が存在すると考えるべきである。

不確かさの要因		アルコール度数			
不確かさの要因	不確かさの要因の詳細	10%	15%	20%	25%
試料採取時	試料採取時の液温	0.010	0.017	0.030	0.048
	シリンダー標線の太さ	0.013	0.020	0.027	0.033
蒸留時	シリンダーからフラスコへの試料の移動	0.000	0.000	0.000	0.000
	蒸留中の欠減	-	-	-	-
	留液のフィルアップ時の液温	0.010	0.017	0.030	0.048
	シリンダー標線の太さ	0.013	0.020	0.027	0.033
浮ひょう関連事項	校正時の不確かさ	0.150	0.150	0.150	0.150
	浮ひょうの汚れ	0.077	0.083	0.073	0.066
	浮ひょうの経年変化	-	-	-	-
	校正点以外での測定	-	-	-	-
測定時	測定液体の表面張力	-	-	-	-
	測定時の空気密度の影響	0.002	0.002	0.002	0.002
	浮ひょうの目盛り読取り	0.029	0.029	0.029	0.029
	測定液温の15°Cからの乖離(最大0.2°C)	0.040	0.040	0.040	0.040
	浮ひょうに付着している直前の試料の影響	0.007	0.007	0.007	0.007
	繰り返しの標準不確かさ	0.060	0.060	0.060	0.060
合成標準不確かさ		0.187	0.192	0.193	0.199
拡張不確かさ		0.37	0.38	0.39	0.40

表-2 浮ひょう法によるアルコール濃度測定の不確かさ

## (2) 振動式密度計法

京都電子工業株式会社のホームページで公開されている密度計測における拡張不確かさはブロモベンゼンの場合  $2.9 \times 10^{-5} \text{ cm}^3/\text{g}$  である。この数値を利用し、アルコール濃度測定の場合、1%当たりの密度変化量を  $0.001 \text{ cm}^3/\text{g}$  とすればアルコール濃度測定における拡張不確かさは0.029%である。これに蒸留液を得るまでの不確かさを加えるとアルコール濃度15%では表-2から  $(\sqrt{0.017^2 \times 2 + 0.020^2 \times 2 + 0.0145^2}) \times 2 = 0.08\%$  の拡張不確かさになる。したがって、振動式密度計法によるアルコール濃度測定は、15%付近では測定値 $\pm 0.08\%$ の範囲に真の値が存在すると考えるべきである。

## 5 実験結果と考察

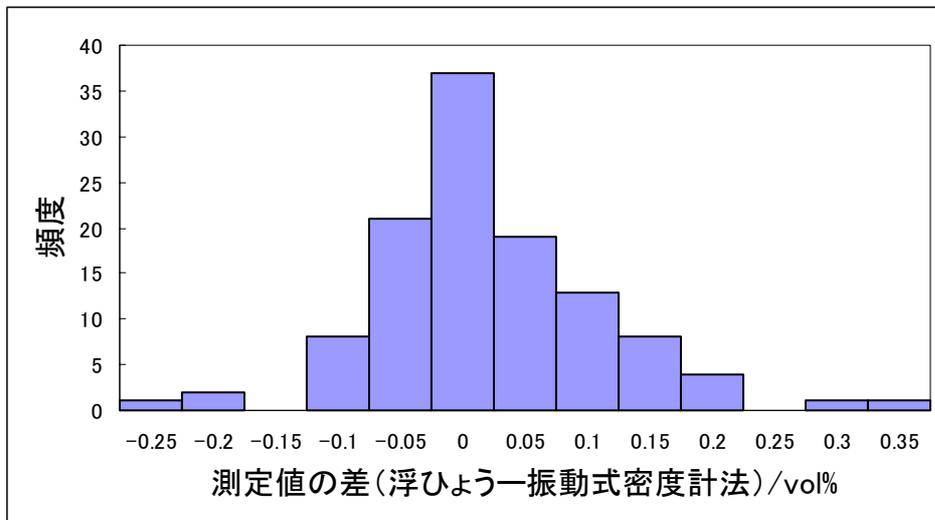
2つの測定方法の差の平均値及び差の分布は表-3及び図-3のとおり。差の平均値が0.01%であり、差の分布も多少ゆがんではいるが正規分布曲線に近い形状となっている。

平均値	-0.01%
最大乖離値	0.35
標準偏差	0.09
試料数	115点

表-3 両測定値の差（浮ひょうの測定値から振動式密度計の測定値を差し引く。）

また、浮ひょう法の測定の不確かさは0.3~0.4%、振動式密度計では0.08%であ

るため、不確かさを考慮しなくとも、両測定方法の結果は完全に一致しており国家標準までのトレーサビリティは完璧に確保されていると考えられる。



図一 3 浮ひょう法と振動式密度計法の差

### 【日本酒度測定】

#### 1 校正液体と被測定液体の表面張力の差の影響の検討

##### (1) 校正用液体及び市販清酒の表面張力の推定

食塩水は純水より若干表面張力が高い<sup>4)</sup>が、様々な濃度で校正に使われているので 20 °C の純水の表面張力である 73 mN/m と仮定する。プラス側の校正液は、3.8 % のアルコール水溶液 (+9.0) とし、表面張力 61.8 mN/m とする。

シヨ糖水溶液の表面張力は 20 % までは純水の表面張力とほぼ等しい<sup>4)</sup>から、清酒の表面張力はエキス分に影響されずそのアルコール濃度のみで決定され则认为られる。したがって、市販清酒の表面張力を 15 % アルコール水溶液の表面張力である 44 mN/m とする。

##### (2) 表面張力の差による密度への影響

空気から受ける浮力を無視して前述の浮ひょうの釣り合いの(1)式を変形して(3)式とし、これに校正液体と被測定液体との表面張力の差を代入して密度の変化  $\Delta d$  を算出する。

$$\Delta d \cong -\frac{\pi D d}{Mg} \Delta T \quad (3)$$

$\Delta d$  は表面張力の変化に対するみかけの密度変化、 $\pi$  は円周率、 $D$  は浮ひょう頸部の直径 (3.0 mm とする)、 $d$  は浮ひょうが浮いている液体の密度 (1.00 とする)、 $M$  は浮ひょうの重量 (25.22 g とする)、 $g$  は重力定数、 $\Delta T$  は校正用液体と市販清酒の表面張力の差である。

イ 食塩水及び純水を校正液として使用する場合

食塩水及び純水の表面張力は 73 mN/m としたので校正用液体と被測定液体との表面張力の差は 73-44=29 mN/m である。 $\Delta T=29$  mN/m を(3)式に代入すると  $\Delta d = -3.14 \times 1 \times 0.3 \times (73-44)/980/25.22 \cong -0.00111$  g/cm<sup>3</sup> これを日本酒度に換算

すると-1.6になる。符号がマイナスであるから、見かけの密度が大きくなり日本酒度計は本来表示すべき値より浮き上がり、すなわち、プラス側では値が小さくなりマイナス側では値が大きくなることが予想される。

ロ 3.8%のアルコール水溶液(+9.0)を校正液として使用する場合

表面張力 61.8 mN/m を(3)式に代入して  $\Delta d \approx -0.000678 \text{ g/cm}^3$  これを日本酒度に換算すると-1.0になる。

### (3) 検討結果

(2)のイ及びロから、校正液体の表面張力が市販清酒のそれと大きく乖離するマイナス側から+1の近傍までは、日本酒度計の値は、振動式密度計との相違が大きく、理論的には1.6程度、日本酒度計法が「甘い」方向に偏り、日本酒度が+9付近では1.0程度、「甘い」方向に偏っていると推定される。

## 2 実測による浮ひょう法と振動式密度計法の比較

57点の清酒を用い、日本酒度計による計測は国税庁所定分析法に則って行い、振動式密度計による計測は、密度を測定し(密度 $\approx$ 比重であるから)(4)の換算式によりて日本酒度に換算した。

$$\text{日本酒度} = 1443 / \text{密度} - 1443 \quad (4)$$

なお、日本酒度計は、伝統に従い、食塩水、純水及び希薄アルコール水溶液を校正液として校正した。これらの密度(日本酒度)は、JCSSの密度標準液で校正された振動式密度計を用い測定し、トレーサビリティを確保した。

## 3 不確かさの見積もり

### (1) 浮ひょう法

国税庁所定分析法による浮ひょう法での日本酒度測定の不確かさは概ね表-4のとおりであると推測できる。したがって、浮ひょう法による日本酒度測定に関しては、測定値 $\pm 0.9$ の範囲に真の値が存在すると考えるべきである。

不確かさの要因	不確かさ
日本酒度計の校正時の不確かさ	0.32
清酒の品温の読み取りに対する不確かさ	0.08
計測時の清酒の表面張力劣化による不確かさ	-
読み取り時の不確かさ	0.29
繰り返し測定における不確かさ	0.09
日本酒度計の頸部直径に由来する不確かさ	-
空気密度による不確かさ	0.002
合成標準不確かさ	0.45
拡張不確かさ	0.90

表-4 浮ひょう法による日本酒度測定の不確かさ

### (2) 振動式密度計法

アルコール濃度測定と同様に、プロモベンゼンの  $2.9 \times 10^{-5} \text{ cm}^3/\text{g}$  を利用すれば、日本酒度測定の場合は、日本酒度1.0当たりの密度変化量を  $0.00069 \text{ cm}^3/\text{g}$  とし日本酒度計測における拡張不確かさは0.04となる。したがって、振動式密度計法による日本酒度測定に関しては、測定値 $\pm 0.04$ の範囲に真の値が存在すると考えるべきである。

#### 4 両測定方法の差の検討

表一5に示したように、日本酒度計と振動式密度計で測定した日本酒度の差の平均値が1.5であるから、日本酒度計及び振動式密度計の拡張不確かさの和より大きく、両測定方法による測定値の間に差異が存在することは明白である。

また、校正液体と清酒の表面張力の差異から予測した乖離幅1.0~1.6と実測値は、測定の不確かさを考慮すれば一致していると考えられる。

表一5 日本酒度測定値の平均値とその差

	日本酒度計	振動式密度計	差
平均値	3.5	5.1	-1.5

#### 【終わりに】

国税庁所定分析法に準拠したアルコール濃度測定を行えば、浮ひょう法も振動式密度計も同一の結果を得ることができる。

しかし、日本酒度に関しては、従来の校正方法に問題があり、浮ひょうより振動式密度計の方がより真実の値に近く、理論的には振動式密度計が1.0~1.6高い値を示すことが予測された。また、比較試験結果もこれを支持している。したがって、振動式密度計の導入によりこれまでの分析値との間に齟齬が生ずる可能性があるが、真の値に近く、不確かさが小さいことを考えれば、振動式密度計の値を採用すべきであろう。

#### 【引用文献】

- 1) 藤井賢一, 醸協, 97, 114-123(2002)
- 2) 若林三郎, 醸協, 100, 873-876(2005)
- 3) 若林三郎, 醸協, 102, 155-159(2007)
- 4) 化学工学便覧 5版 1・11 表面張力 図 1・32 水溶液の表面張力, 丸善(1988)

### 3. 解説

- ① 「特許制度と各種支援制度について」・・・・・・・・・・・・・・・・・・35  
佐々木康子

# 特許制度と各種支援制度について

佐々木康子

(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所 環境・食品安全グループ)

Koko SASAKI

日本の国際的な競争力を高め、経済・社会全体を活性化するため、国家戦略としての「知的財産立国」実現に向けた政府の基本的な構想である知的財産戦略大綱が2002年7月3日、知的財産戦略会議で策定された。知的財産戦略大綱では、具体的行動計画として、知的財産権の創造の推進・保護の強化・活用の促進、知的財産関連の人材の育成と国民意識の向上が示されている。2002年12月4日、知的財産戦略大綱に基づき、知的財産基本法（平成14年法律第122号）が制定され、それに伴い、各種支援制度が創設された。ここでは、特許制度とこれらの支援制度について概説する。

## 1. 知的財産権とは

知的財産権は、知的創造物についての権利と営業標識についての権利に大きく分けられる。知的創造物についての権利は、特許権、実用新案権、意匠権、著作権、回路配置利用権、育成者権、営業秘密に分けられる。営業標識についての権利は、商標権、商号、商品等表示・商品形態に分けられる。

## 2. 特許権の存続期間

出願日から20年。薬事法・農薬取締法に基づく製造承認を受けるために実施できない期間がある場合は、5年を限度として存続期間が延長される場合がある。

## 3. 国内出願における特許権取得のための手続の流れ

特許庁に特許出願をすると、必要な様式が整っているか等について方式審査が行われる。出願日から1年6月経過すると、特許が公開される。出願日から3年以内（平成13年10月1日以降の特許出願の場合）に審査請求を行うと、審査が始まる。審査請求は、審査請求料を払えば誰でもできる。3年以内に審査請求を行わないと、取り下げたものと見なされる。実体審査が行われた結果、拒絶理由が発見されたときは拒絶理由通知書を送付され、拒絶理由が発見されなかったときは特許査定となる。拒絶理由に対して、意見書や補正書を提出して拒絶理由が解消される場合には特許査定となり、解消されない場合には拒絶査定となる。拒絶査定に対しては、30日以内に拒絶査定不服審判を請求することができ、審理の結果、特許審決または拒

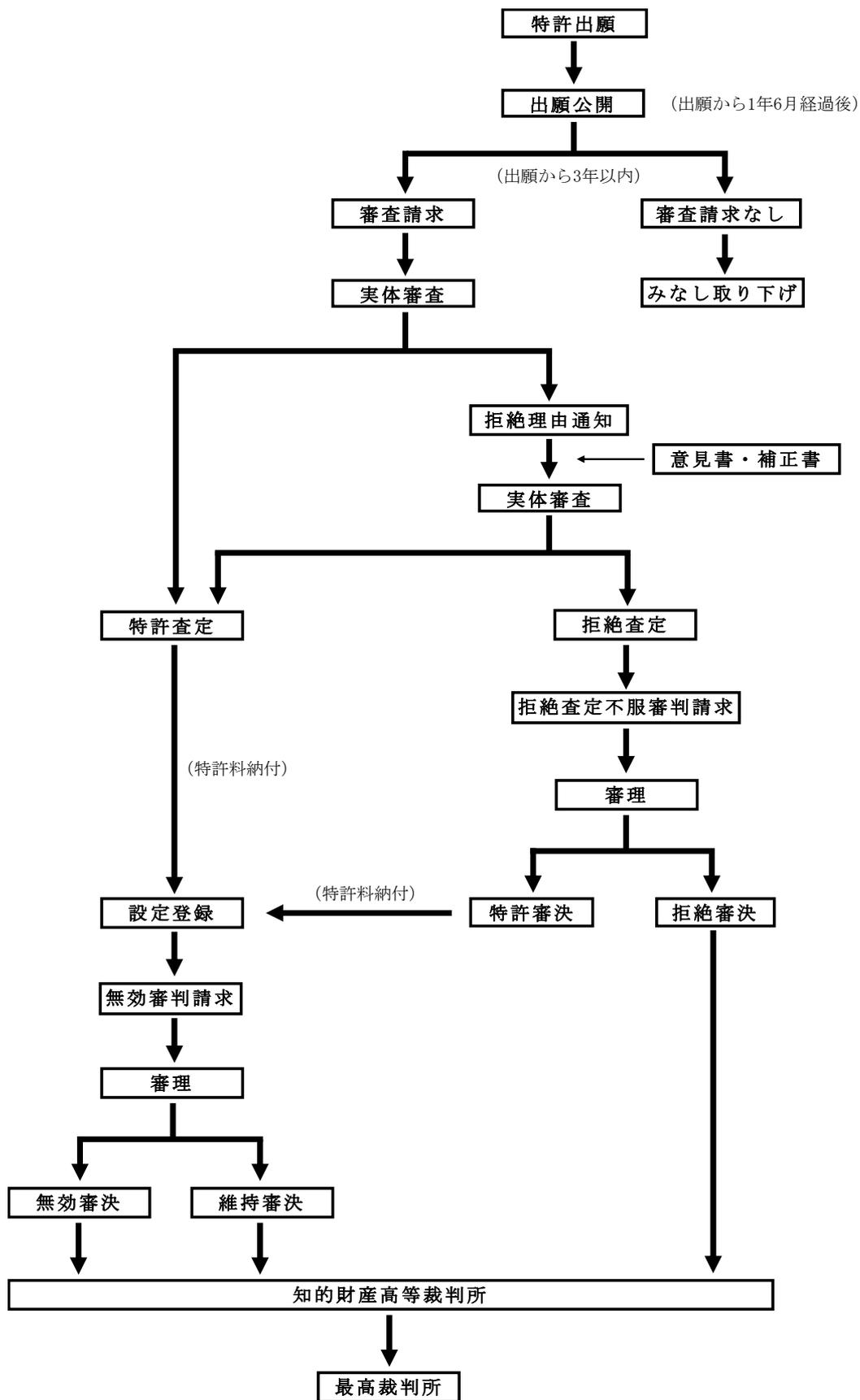


図1 特許権取得のための手続きの流れ

絶審査となる。拒絶審査に不服がある場合には、知的財産高等裁判所に出訴することができる。特許査定や特許審査になった場合には、特許料を納付してはじめて、特許権が発生する。特許権が設定登録されたのちでも、無効理由がある場合には誰でも無効審査を請求できる。無効審査では、特許維持の審査または特許無効の審査が出される。特許無効審査の審査に不服がある場合には、知的財産高等裁判所に出訴することができる。知的財産高等裁判所の審査に不服があるときは、最高裁判所に出訴できる。

#### 4. 外国出願

##### (1) パリ・ルート出願

各国の特許庁に直接出願する方法である。一般的な使用法は、既になされた出願を基礎として、パリ条約による優先権を主張し、海外に直接出願するものである。優先権主張のためには、先の出願から 12 月以内に後の出願を外国に行わなければならない。

##### (2) PCT 国際出願

PCT 国際出願制度とは、特許協力条約（PCT：Patent Cooperation Treaty）に基づく国際出願という意味である。ひとつの出願願書を条約に従って提出することによって、PCT 加盟国であるすべての国に同時に申請したことと同じ効果を与える出願制度であり、この制度を利用すれば、各国に別々に出願する煩雑さを回避できる。PCT 国際出願日は、各国の出願日となる。PCT 国際出願では、国際的に統一された出願願書を PCT 加盟国である自国の特許庁に対して特許庁が定めた言語（日本国特許庁の場合は日本語若しくは英語）で作成し、1 通だけ提出すれば、その時点で有効なすべての PCT 加盟国に対して「国内出願」を出願することと同じ扱いを得ることができる。国際出願後は、30 ヶ月以内に各国の国内手続きに移行させる手続きが必要である。PCT 加盟国は、世界 137 ヶ国に及んでいる。特許を付与するかどうかの判断は、各国特許庁での実体審査により行われる。

#### 5. 国内優先権

国内優先権制度とは、1 年以内にした先の出願の発明の内容を含めて、同一の出願人が後の出願を行い、後の出願と同時に国内優先権を主張する書面を提出すると、後の出願が先の出願日に遡及するとみなされる制度。ただし、存続期間、審査請求期間については、後の出願日を基準に起算する。国内優先権の主張をすることで、新たな実施例や発明の効果の追加等、新規事項の追加ができる。国内優先権の利用例を以下に述べる。

##### ① 実施例補充型

実験に時間がかかる場合、それまでに判明している実施例を記載して出願をしておき、後で実施例を追加して出願をする。

## ② 上位概念抽出型

その都度出願をしておき、これらを含めた広い範囲で後の出願をする。

## ③ 出願の単一性利用型

その都度出願をしておき、これらが相互に「物とその生産方法」という出願の単一性を満たす際に、まとめて後の出願をする。

## 6. 審査請求

審査請求をしないと審査は始まらない。出願審査の請求をすることができる期間は、平成13年10月1日以降の特許出願から、出願日から3年以内になる。平成13年9月30日以前の出願については、出願日から7年以内である。ただし、分割又は変更の特許出願、国内優先出願、パリ条約による優先権の主張を伴う特許出願、国際特許出願については、個別に定められているので注意が必要である。

## 7. 料金

特許庁のホームページには、手数料自動計算システムがあり、条件を入力すると、手数料が示される。手数料の支払い方法には、特許印紙による納付（予納を含む）及び国庫金納付書を使用した現金納付に加えて、インターネットバンキング等を利用した電子納付がある。通常の場合、出願、審査請求、登録時にそれぞれ手数料が発生するが、手続きによっては、それ以外にも手数料（審判（再審）請求手数料、その他の手数料（名義変更、閲覧請求等））がかかることがある。

(1) 特許出願時にかかる手数料（特許出願料）16,000円

(2) 審査請求時にかかる手数料（出願審査請求料）

平成16年4月1日以降の出願

168,600円＋（請求項の数×4,000円）（例外あり）

昭和63年1月1日から平成16年3月31日の出願

84,300円＋（請求項の数×2,000円）（例外あり）

(3) 登録時にかかる手数料（特許料・登録料）

出願日（平成62年12月31日以前と昭和63年1月1日以降）・審査請求日（平成16年3月31日以前と平成16年4月1日以降）によって特許料は異なる。また、年数の経過により、特許料は段階的に高くなっていく。例えば、出願日が昭和63年1月1日以後で、平成16年4月1日以後に審査請求を行う出願では、第1年から第3年まで毎年2,600円に1請求項につき200円を加えた額、第4年から第6年まで毎年8,100円に1請求項につき600円を加えた額、第7年から第9年まで毎年24,300円に1請求項につき1,900円を加えた額、第10年から第25年まで毎年81,200円に1請求項につき6,400円を加えた額となる。

(注) 弁理士を使う場合には、別途、弁理士報酬（手数料、謝金、実費等）がかかる。

## 8. 審査請求料や特許料の減免

資力に乏しい個人・法人、開発研究型中小企業、大学等の研究者、技術移転機関（TLO）、公設試験研究機関等を対象に、審査請求料の免除又は半額軽減、特許料（第1年分から第3年分）の免除又は半額軽減又は3年間猶予の措置が適用される。

## 9. 審査請求料返還制度

審査請求を行った特許出願について、審査開始前の出願を取下げ又は放棄した場合、取下げ又は放棄から6ヶ月以内に返還請求すると、納付した審査請求料の1/2が返還される。なお、平成18年8月9日から1年以内に審査開始前の出願を取下げ又は放棄した場合に限り、納付した審査請求料の全額が返還される。

## 10. 中小企業等特許先行技術調査支援事業

中小企業・個人出願人からの依頼（その出願代理人からの依頼を含む。）により、特許庁から委託された調査事業者が無料で先行技術調査を行い、約3週間後に調査の結果が送付される。審査請求を行うか否かの判断に利用できる。平成16年4月以降の出願で出願番号が付与されており、まだ審査請求を行っていない出願が対象となる。

### 11. 早期審査制度

早期審査の申請を行うことにより、他の出願に優先して審査が行われる。2005年には、申請から審査着手まで約2.4ヶ月であった。対象となる特許出願は、次の通りである。

- (1) 出願人が中小企業又は個人であるもの
- (2) 出願人又はそれらの実施許諾を受けた者が、その発明を実施しているもの（例：製品を実際に製造販売している場合）
- (3) 日本国特許庁以外の特許庁又は政府間機関へも特許出願している特許出願、又は国際出願している特許出願であるもの
- (4) 出願人が大学、短期大学、高等専門学校、公的研究機関、承認もしくは認定を受けた技術移転機関（承認ILO又は認定TLO）であるもの

### 12. 先行技術調査の方法

先行技術調査には、特許庁のホームページの特許電子図書館や、工業所有権情報・研修館のCD-ROM公報を利用して自分で調べる方法がある。検索に不慣れな場合には、全国に設置されている知的所有権センターの特許情報活用アドバイザー制度、発明協会の検索アドバイザー制度を利用すれば、アドバイザーが検索方法

を指導してくれる。また、民間調査会社に調査を依頼する方法もある。

### 1 3. 出願に関する情報提供制度

特許出願で審査が終了していないものについては、公開公報や刊行物等を提出することにより、その出願が新規性を有しない、又は、進歩性を有しない等の旨の情報を特許庁に提供できる。情報提供は、誰でもでき、匿名でもできる。情報提供は、書面(インターネット等の電子的技術情報を含む)による。提供者の希望により、提供された情報が拒絶理由通知に利用されたかどうか等のフィードバックが行われる。

### 参考文献

特許庁ホームページ <http://www.jpo.go.jp/indexj.htm>

首相官邸・知的財産戦略会議ホームページ

<http://www.kantei.go.jp/jp/singi/titeki/index.html>

#### 4. 特許の概要

- ① 「アルコール発酵によるアルドースレダクターゼ阻害作用を増強する  
製造方法並びに果実酒中のアルドースレダクターゼ阻害作用」・・・・・・・・・・41  
戸松さやか、杉本勇人、進藤 昌  
特開 2007-31326
  
- ② 「コラゲナーゼ阻害剤およびこれを含有する食品」・・・・・・・・・・41  
杉本勇人、戸松さやか、進藤 昌  
特開 2007-22969
  
- ③ 「D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ及びその生産菌」・・・・・・・・42  
高橋砂織、小笠原博信、畠 恵司、樋渡一之、堀 一之  
特開 2006-271275
  
- ④ 「癌転移抑制用トリテルペン誘導体及びトリテルペン誘導体を用いた癌転移  
抑制用組成物」・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・42  
畠 恵司、堀 一之、高橋砂織、向山俊之、坂本賢二  
特開 2006-151902
  
- ⑤ 「 $\gamma$ -アミノ酪酸に富む穀類及び／又は種子の製造方法」・・・・・・・・・・43  
高橋 徹、戸枝一喜  
特願 2005-96794

**発明の名称：アルコール発酵によるアルドースレダクターゼ阻害作用を増強する製造方法並びに果実酒中のアルドースレダクターゼ阻害作用**

発明者：戸松さやか、杉本勇人、進藤昌

公開番号：特開 2007-031326

公開日：平成19年2月8日

**【要約】**

**[課題]**

従来より食品もしくは食品素材として利用されており、安全性に問題がなく、糖尿病をはじめとする各種疾患に対して副作用の心配が殆どない農水産物に由来する成分を有効成分とするアルドースレダクターゼ阻害作用剤を提供すること。

**[解決手段]**

アルコール発酵によるアルドースレダクターゼ阻害作用を増強する方法、並びに果実酒の抽出物を有効成分として含有してなるアルドースレダクターゼ阻害剤および当該アルドースレダクターゼ阻害作用剤を含有する食品もしくは食品素材。

**発明の名称：コラゲナーゼ阻害剤およびこれを含有する食品**

発明者：杉本勇人、戸松さやか、進藤昌

公開番号：特開2007-22969

公開日：平成19年2月1日

**【要約】**

**[課題]**

従来より食品の貯蔵もしくは容器として利用されており、安全性に問題がない木材に由来する成分を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤を開発し、その利用法を確立すること。

**[解決手段]**

木材の抽出物を有効成分として含有してなる、コラゲナーゼ阻害剤、該コラゲナーゼ阻害剤を含有することを特徴とする食品もしくは食品素材、並びに蒸留酒（ブランデー、ウイスキー、焼酎など）、果実酒、ビール、清酒、リキュールを製造するにあたり、小さな樽および樽のチップや木材片を加えて貯蔵することや、アルコール度数をコントロールして貯蔵することや、樽や木材チップに貯蔵した水を割水とすることを特徴とする、コラゲナーゼ阻害活性を有する蒸留酒、果実酒、ビール、清酒、リキュールの製造法を提供する。

発明の名称：D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ及びその生産菌

発明者：高橋砂織、小笠原博信、畠恵司、樋渡一之、堀一之

出願番号：特願 2005-096326、特開 2006-271275

出願日：平成 17 年 3 月 29 日

【要約】

[課題]

ペプチド鎖内の D-アスパラギン酸を認識しその C 末端側を特異的に切断する新規な微生物由来酵素を提供する。また、そのような酵素を生産し得る微生物を提供する。

[解決方法]

特異的基質であるサクシニル-D-アスパラギン酸 p-ニトロアニリド (Suc-D-Asp-pNA) を考案し、これを用いて土壌由来菌類のスクリーニングを行い、目的とする酵素生産菌の分離に成功した。すなわち、本発明により D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼを生産する微生物が提供される。該微生物は、16s rRNA 遺伝子の塩基配列から、パエニバチラス (Paenibacillus) sp. B38 株と同定され、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託されている。該酵素は、Paenibacillus sp. B38 株由来であることから、Paenidase (パエニダーゼ) と命名された。

発明の名称：癌転移抑制用トリテルペン誘導体及び該トリテルペン誘導体を用いた癌転移抑制用組成物。

発表者：畠恵司、堀一之、高橋砂織、  
向山俊之、坂本賢二 (株式会社坂本バイオ)

公開番号 (公開日)：特開 2006-151902 (平成 18 年 6 月 15 日)

【要約】

[課題]

悪性黒色腫はごく初期であれば外科手術による切除で治癒する例も多いが、病状の進行に伴い、放射線療法や化学療法が併用されることになる。悪性黒色腫は転移を起し易く、癌のなかでもこれらの治療の効果が低いとされている。抗癌剤としては、ダカルバジン等があり、免疫療法も期待され試みられているが、未だ確立した治療法とはなっていないのが実情である。

[解決法]

本発明者において、癌細胞内におけるアクチンポリマーの脱重合が促進されると癌細胞の運動能が抑制され、これにより極めて高い癌転移抑制効果が奏されることを見出すと同時に、特定のトリテルペン誘導体がかかる機能に基づく癌転移抑制能を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

発明の名称： $\gamma$ -アミノ酪酸に富む穀類及び／又は種子の製造方法

発明者：高橋徹、戸枝一喜

出願番号：特願 2005-96794

出願日：平成 17 年 3 月 30 日

**【要約】**

[課題]  $\gamma$ -アミノ酪酸を多量に含む  $\gamma$ -アミノ酪酸高含有穀類及び種子、その効率的製造方法を開発し、併せて食品素材として幅広い利用が可能な  $\gamma$ -アミノ酪酸を多量に含有する食品素材を提供すること。

[解決手段] 出願番号 2003-287678（特願 2004-226423）で製造した米糠発酵エキスを穀類及び種子に作用させることを特徴とする  $\gamma$ -アミノ酪酸を富化した食品素材の製造方法。

5. 学会発表要旨 (35件) . . . . . 45~62

- 1) 発表学会 : The 13th International Conference on Near Infrared Spectroscopy  
(Auckland, New Zealand)  
演題名 : CHEMICAL COMPOSITION ANALYSIS OF CALCIUM SULFATE HYDRATES  
USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY  
発表者 : Masanori Kumagai<sup>1</sup>, Toru Takahashi<sup>1</sup>, Nobuaki Ogawa<sup>2</sup>, and Naganori Ohisa<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Akita Research Institute of Food and Brewing, Akita, Japan, <sup>2</sup>Faculty of  
Engineering and Resource Science, Akita University, Akita, Japan
  
- 2) 発表学会 : The Fifth International Conference on Materials Engineering for Resources  
(Akita, Japan)  
演題名 : NIR Analysis of Rice Bran Depending on Different Percentages of Rice Polishing  
発表者 : Masanori Kumagai\*, Toru Takahashi\*, Hitoshi Takahashi\*, Nobuaki Ogawa\*\*, and  
Kazuki Toeda\*  
\*Akita Research Institute of Food and Brewing, Arayamachi, Akita 010-1623,  
Japan,  
\*\* Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University,  
Tegata Gakuencho, Akita 010-8502, Japan
  
- 3) 発表学会 : 第 66 回分析化学討論会 (北見市)  
演題名 : コメの搗精段階別試料の近赤外スペクトルの解析  
発表者 : ○熊谷昌則、高橋徹、高橋仁、小川信明、戸枝一喜 (秋田総食研)
  
- 4) 発表学会 : 日本素材物性学会平成 17 年度年会 (秋田市)  
演題名 : 秋田の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)
  
- 5) 発表学会 : 日本素材物性学会平成 18 年度年会 (秋田市)  
演題名 : 近赤外スペクトルによる玄米中の水分子の構造解析  
発表者 : ○熊谷昌則、高橋 徹、高橋 仁、小川信明 (秋田総食研、秋田大工)
  
- 6) 発表学会 : 日本分析化学会第 55 年会 (豊中市)  
演題名 : ポータブル近赤外分光分析装置を用いた電解製錬液中の膠の分析化学的研究  
発表者 : ○熊谷昌則 (秋田総食研)、武石啓子 (秋田大学)、天野敏男 (オプト技研)、  
藤原一彦、菊地良栄、小川信明 (秋田大学)

- 7) 発表学会：平成18年度化学系学協会東北大会（秋田市）  
演題名：米の老化に伴う近赤外スペクトルの挙動  
発表者：○熊谷昌則、高橋徹、高橋仁、秋山美展（秋田総食研）、小川信明（秋田大学）
- 8) 発表学会：20th IUSMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress（京都市）  
演題名：Lupane triterpenes induce mouse melanoma cell differentiation.  
発表者：○Keishi Hata, Kazuyuki Hori and Saori Takahashi
- 9) 発表学会：The 19th Annual and International Meeting of the JAACT（京都市）  
演題名：Anti-melanogenic activity of ergosterol peroxide from *Ganoderma lucidum*, on a mouse melanoma cell line.  
発表者：○Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Shoko Otaka, Yasuyuki Kosaka, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Kenji Sakamoto
- 10) 発表学会：The 19th Annual and International Meeting of the JAACT（京都市）  
演題名：Differentiation-inducing activities by lupane triterpenes from *Lactuca indica*, on a mouse melanoma cell line.  
発表者：Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Yusuke Sato, Yasuyuki Kosaka, ○Kenji Sakamoto, Kazuyuki Hori
- 11) 発表学会：日本生薬学会第53回年会（さいたま市）  
演題名：アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 由来色素細胞分化誘導物質.  
発表者：○ 畠恵司、堀一之、向山俊之
- 12) 発表学会：2006年度日本食品工学会第7回大会（2006年 つくば市）  
演題名：プログラム加熱による豆乳のゲル化と豆腐の力学特性  
発表者：○高橋 徹<sup>1</sup>、秋山美展<sup>1</sup>、長縄明大<sup>2</sup>（<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田大工資源）
- 13) 発表学会：22<sup>nd</sup> Annual Meeting of The Polymer Processing Society（2006年 山形市）  
演題名：Physicochemical properties of extrudates from modified rice flour  
発表者：Toru Takahashi (a), Makoto Miura (b), Yoshinobu Akiyama (a), Naganori Ohisa (a), and Shoichi Kobayashi (b)  
(a) Akita Research Institute for Food and Brewing, (b) Iwate University
- 14) 発表学会：2006年度日本食品科学工学会（2006年 藤沢市）  
演題名：焙煎した玄米の物理化学特性  
発表者：○高橋徹、堀一之、熊谷昌則、秋山美展（秋田総食研）
- 15) 発表学会：日本農芸化学会2006年度大会（2006年 京都市）  
演題名：カドミウム含有米を原料としたバイオエタノール生産とカドミウムの挙動  
発表者：進藤 昌、佐藤洋子<sup>1</sup>、茅野充男<sup>1</sup>（秋田総食研、秋田県立大）

- 16) 発表学会：平成18年度日本水産学会東北支部大会（男鹿、2006年11月）  
演題名：ハタハタ *Arctoscopus japonicus* 卵巣ゼリー状物質の性質と卵巣の塩溶液による凝固・硬化について  
発表者：○塚本研一・戸枝一喜・高橋徹（秋田農林水セ・総食研）・船木勉・杉山秀樹（秋田農林水セ・水振セ）
- 17) 発表学会：第8回日本感性工学会大会2006  
演題名：地域特産品と経験価値  
発表者：○高畠 聡（秋田県総合食品研究所 食品開発グループ）
- 18) 発表学会：2006年8月 日本食品科学工学会第53回大会（2006年藤沢市）  
演題名：精米貯蔵した古米に関する研究  
発表者：大能俊久，戸枝一喜，大久長範（秋田県農林水産技術センター総合食品研）
- 19) 発表学会：第6回糸状菌分子生物学コンファレンス（大阪）  
演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)のDNAトランスポゾン *Crawler*の転移活性とmRNAレベルでの発現制御機構  
発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>  
（<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成）
- 20) 発表学会：日本分子生物学会2006フォーラム（名古屋市）  
演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)のDNAトランスポゾン *Crawler*の transposase 遺伝子の転写産物解析  
発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>  
（<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成）
- 21) 発表学会：4<sup>th</sup> *Aspergillus* Meeting & 24<sup>th</sup> Fungal Genetics Conference (Asilomar, CA)  
演題名：Expression and transposition of DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*.  
発表者：Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Hiroshi Obata<sup>2</sup>, Yoji Hata<sup>2</sup>, Saori Takahashi<sup>1</sup>, and Katsuya Gomi<sup>3</sup>. <sup>1</sup> Akita Research Institute for Food and Brewing, Akita, Japan. <sup>2</sup> Research Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd., Kyoto, Japan. <sup>3</sup> Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan.
- 22) 発表学会：日本農芸化学会2007年度大会（東京）  
演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)のDNAトランスポゾン *Crawler*の転移活性と transposase 遺伝子の転写産物解析  
発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>  
（<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成）

- 23) 発表学会：2007年3月 日本薬学会第127年会 (富山市)  
演題名：地域食材の含有成分と機能：セリ根の脂肪酸関連化合物  
発表者：○堀 一之、畠 恵司、高橋砂織 (秋田県農林水産技術セ総食研)
- 24) 発表学会：2007年度日本農芸化学会大会(2007年 東京)  
演題名：*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 (秋田総食研)
- 25) 発表学会：20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology  
and 11th FAOBMB (June, 2006 Kyoto)  
演題名：Role of nucleotides on the formation of a renin binding protein (RnBP)  
homodimer and an RnBP-renin heterodimer.  
発表者：Saori Takahashi<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, and Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food and Brewing, <sup>2</sup>Akita University School of  
Medicine)
- 26) 発表学会：7th International Conference of the Europe Chitin Chitosan and 10th  
International Conference of Chitin and Chitosan  
(September 2006, Montpellier, France)  
演題名：Role of nucleotides on the formation of a renin binding protein (RnBP)  
homodimer and an RnBP-renin heterodimer.  
発表者：Saori Takahashi<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food and Brewing, <sup>2</sup>Akita University School of  
Medicine)
- 27) 発表学会：第20回キチン・キトサン・シンポジウム (2007年8月 福井市)  
演題名：GlcNAc 2-エピメラーゼ (レニン結合タンパク質) とレニンとの  
相互作用に及ぼすヌクレオチドの役割  
発表者：○高橋砂織<sup>1</sup>、堀 一之<sup>1</sup>、樋渡一之<sup>1</sup>、小笠原博信<sup>1</sup>、杉山俊博<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>秋田県総食研、<sup>2</sup>秋田大・医)
- 28) 発表学会：食品酵素化学研究会第6回学術講演会 (2006年9月 奈良市)  
演題名：D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ  
ー新規酵素 Paenidase の性質についてー  
発表者：○高橋 砂織、小笠原 博信、堀 一之  
(秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)

- 29) 発表学会：第2回産業用酵素シンポジウム（2007年3月 大阪府）  
演題名：Characterization of D-aspartyl endopeptidase from bacterium.  
発表者：Saori Takahashi<sup>1</sup>, Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, and  
Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry,  
and Fisheries Research Center, <sup>2</sup> Akita University School of Medicine)
- 30) 発表学会：日本農芸化学会大会（2007年3月 東京都）  
演題名：味噌及び大豆由来レニン阻害物質について  
発表者：○高橋砂織、小笠原博信、渡辺隆幸、熊谷昌則、尾張かおる、堀 一之  
(秋田農林水産技セ・総食研)
- 31) 発表学会：日本食品科学工学会第53回大会（2006年 藤沢市）  
演題名：ハタハタ (*Arctoscopus japonicus*) 卵巣の塩溶液による凝固・硬化について  
発表者：○戸枝一喜<sup>1</sup>、高橋徹<sup>1</sup>、塚本研一<sup>1</sup>、船木勉<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田水振セ)
- 32) 発表学会：第58回日本生物工学会（2006年 豊中市）  
演題名：無洗米粕を用いたγ-アミノ酪酸 (GABA) 生産法の開発  
発表者：○戸枝一喜<sup>1</sup>、大友理宣<sup>2</sup>、押部明德<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田銘醸㈱、<sup>3</sup>東北農業研究センター)
- 33) 発表学会：2006 FOOMA JAPAN（2006年 東京都）  
演題名：ジュール加熱食品加工における電極板配置と発熱効果  
発表者：○鈴木克征<sup>1</sup>、伊藤博基<sup>1</sup>、秋山美展<sup>2</sup>、長縄明大<sup>1</sup>、山田悦郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部、<sup>2</sup>秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)
- 34) 発表学会：第27回日本熱物性シンポジウム（2006年 京都市）  
演題名：電位分布を考慮したジュール加熱食品加工における発熱解析  
発表者：○鈴木克征<sup>1</sup>、伊藤博基<sup>2</sup>、秋山美展<sup>3</sup>、長縄明大<sup>1</sup>、山田悦郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部、<sup>2</sup>三井造船㈱、<sup>3</sup>秋田県農林水産技術センター  
総合食品研究所)
- 35) 発表学会：日本食品工学会2006年度大会（2006年 つくば市）  
演題名：ジュール加熱における電極配置と発熱挙動  
発表者：○秋山美展<sup>1</sup>、伊藤博基<sup>2</sup>、長縄明大<sup>3</sup>、山田悦郎<sup>3</sup>、高橋徹<sup>1</sup>、熊谷昌則<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、<sup>2</sup>三井造船㈱、  
<sup>3</sup>秋田大学工学資源学部、)

**発表学会 : The 13th International Conference on Near Infrared Spectroscopy  
(Auckland, New Zealand)**

**演題名 :** CHEMICAL COMPOSITION ANALYSIS OF CALCIUM SULFATE HYDRATES USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY

**発表者 :** Masanori Kumagai<sup>1</sup>, Toru Takahashi<sup>1</sup>, Nobuaki Ogawa<sup>2</sup>, and Naganori Ohisa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akita Research Institute of Food and Brewing, Akita, Japan, <sup>2</sup>Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University, Akita, Japan

In the sea salt production process, the first deposited component is mainly gypsum (calcium sulfate with water). Gypsum has several hydrate forms: anhydrous ( $\text{CaSO}_4$ ), hemihydrate ( $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ ), and dihydrate ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). The sedimenting hydrate forms of gypsum are affected by the composition of the concentrated brine, temperature conditions, and other factors.

The present study presents near-infrared spectroscopy (NIRS) along with principal component analysis (PCA) as a convenient methodology for chemical composition analysis of calcium sulfate hydrates. X-ray diffraction (XRD) methodology has also been suggested as an analytical tool for their chemical composition analysis, but NIRS affords simpler and easier operation. Samples for examination were obtained by the following methods. The product, which was precipitated by mixing equal volumes of equimolar solutions of sodium sulfate and calcium chloride aqueous solutions at room temperature, was maintained at 40°C for 24 h to yield calcium sulfate dihydrate. The calcium sulfate dihydrate was converted into calcium sulfate hemihydrate by treatment at 150°C for 8 h. Calcium anhydride was obtained by heating calcium sulfate dihydrate at 600°C for 8 h. We prepared 21 powdered mixtures of 0–100% w/w of calcium sulfate dihydrate, calcium sulfate hemihydrate, and calcium sulfate anhydride in different compositions to obtain a set of standard mixtures. The NIR spectra were recorded from 1200–2400 nm, measuring at every 2 nm, using NIRS 6500 scanning instrument. Each pure compound was readily distinguishable from the others by its NIR spectrum, even though the mixtures of the three compounds became more complicated because of band overlapping and band shift. Three different spectral groups were discernible using the PCs scores plot. The PCs scores plot are useful as a method to specify the chemical composition of sample compounds. The work reported here requires further development with the use of more samples to improve calibration accuracy and precision. However, results of this feasibility study might benefit the salt industry.

**発表学会 : The Fifth International Conference on Materials Engineering for Resources  
(Akita, Japan)**

**演題名 :** NIR Analysis of Rice Bran Depending on Different Percentages of Rice Polishing

**発表者 :** Masanori Kumagai<sup>\*</sup>, Toru Takahashi<sup>\*</sup>, Hitoshi Takahashi<sup>\*</sup>, Nobuaki Ogawa<sup>\*\*</sup>, and Kazuki Toeda<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Akita Research Institute of Food and Brewing, Arayamachi, Akita 010-1623, Japan

<sup>\*\*</sup> Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University, Tegata Gakuencho, Akita 010-8502, Japan

Near infrared (NIR) absorption bands are produced when NIR radiation at specific frequencies vibrates at the same frequency as a molecular bond in a sample. However, in the case of agricultural products, some difficulties arise in relation to specific functionalities of those spectra. Those difficulties stem from the broad peak intensity and extensive overlapping of NIR absorption bands derived from complex chemical components that exist in the sample.

This study specified the NIR spectra of rice bran depending on different percentages of rice polishing. Sample sets were prepared by polishing and grinding away 5% increments of the original mass of grains to leave 95%–45% of the kernels in successive sets. These samples showed a stepwise increase or decrease of localized chemical constituents: moisture, protein, carbohydrates, etc. Using this approach on a rice bran sample set, we elucidated basic vibrational information for assignment of absorption bands of agricultural products.

## 発表学会：第 66 回分析化学討論会（北見市）

演 題 名：コメの搗精段階別試料の近赤外スペクトルの解析

発 表 者：○熊谷昌則、高橋徹、高橋仁、小川信明、戸枝一喜（秋田総食研）

【目的】近赤外スペクトルから試料の成分予測を行う場合、その多くは経験的に得られた検量線が用いられる。農産物試料などの多成分不均一試料において、その近赤外スペクトルの吸収バンドは、複数の官能基の分子振動情報がオーバーラップしてブロードな形状を与えるため、事前にスペクトルを特定の官能基に関連づけて検量するのは困難である。そこで本研究では、コメを構成する成分が粒内部に局在していることに着目し、外皮から胚乳内部へと段階的に搗精された外層粉を用いて、その近赤外スペクトルを測定し、その成分の違いが吸収バンドに与える影響について詳細に検討することを目的とした。

【実験】供試試料は、大吟醸酒の製造工程で、酒造好適米「秋田酒こまち」の搗精時に発生する外層粉を重量比で 5%毎に排出させて得られた 14 区分（最終精米歩合 40%）の搗精段階別試料である。近赤外スペクトルは、NIRS6500（NIRSystems）を用いて標準カップにより 1100–2500nm の領域を拡散反射法で測定した。比較のため、試料を 135℃で 1 時間乾燥させて水分を除去した試料についても同様に近赤外スペクトルを測定した。理化学分析項目として、試料の水分量、たんぱく質量、脂質量、灰分量、アミロース量、でんぷん損傷度、平均粒子径などをそれぞれ常法により測定した。

【結果】オフライン処理後の近赤外原スペクトルに対して、それぞれの波長における吸光度と理化学分析値の相関関係を調べたところ、でんぷん損傷度と水分は全波長領域において強い相関が認められたが、たんぱく質など、その他の分析項目については弱い相関しか得られなかった。一方、原スペクトルを正規標準化処理することによって、分析項目に応じてそれぞれ特徴的な波長領域で強い相関関係が認められるようになり、吸収バンドの化学的帰属において有益な情報が得られた。さらに他のスペクトル前処理についても検討したところ、成分予測の際に寄与する波長領域について明らかにすることができた。

## 発表学会：日本素材物性学会平成 17 年度年会（秋田市）

演 題：秋田の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】食品製造において原料用水は製品の品質に多大な影響を与えることから、県内の原料用水ならびに水資源に関する水質特性の把握が業界から求められている。本研究は、原料用水の水質特性を分析評価し、それをデータベース化することによって食品製造に有効活用することを目的としている。今回はマルチチャンネル膜電位計測型味覚センサを用いて、秋田県内の原料用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について調べた。

【方法】供試試料は、平成 16 年 11 月に秋田県内 50 カ所で採取した地下水・湧水試料である。成分分析として、主要な陽／陰イオンの定量を行った。味覚センサ応答パターンは、味認識装置 SA-402（インセント）により、基準液ならびに洗浄液に 10mM KC1 を用いて測定した。

【結果】秋田県内の地下水・湧水 50 試料のうち、硬度が 100mg/L 未満の「軟水」は 45 試料で、残り 5 試料は 100–200mg/L の範囲にある「中間の水」であり、200mg/L を超える「硬水」は今回の試料中には認められなかった。橋本らの指標によるおいしい水とされる 0 index  $\geq 2.0$  を満たすミネラルバランスの水は 50 試料中 33 試料であった。味覚センサ応答パターンによる評価を行ったところ、味覚センサによる水の識別は可能であったが、その識別根拠についてはさらなる検討が必要である。

**発表学会：日本素材物性学会平成18年度年会（秋田市）**

演題名：近赤外スペクトルによる玄米中の水分子の構造解析

発表者：○熊谷昌則、高橋 徹、高橋 仁、小川信明（秋田総食研、秋田大工）

【目的】食品中の水は、保存性や加工性、物性などに多大な影響を与えるが、重要なのは単なる総水分量ではなく、水分子の構造（存在状態）である。本研究では、玄米中の水分子の構造を解析するために、乾燥処理により段階的に含水量を変化させた玄米の NIR スペクトルについて OH 吸収バンドの挙動を中心に解析した。

【方法】試料は平成17年産あきたこまち玄米を用いた。試料の乾燥処理は、粒状のまま、真空減圧下 50℃ならびに常圧下 105℃で行った。試料の近赤外スペクトルは、近赤外分光装置 NIRS6500 (NIRSystems) により、標準サンプルカップを用いて、粒状のまま、1200-2400nm の領域を拡散反射法で測定した。比較のため 1mm 厚の石英セルを用いて純水の測定も行った。

【結果】乾燥処理により段階的に含水量を変化させた玄米の NIR スペクトルについて、OH 伸縮の一次倍音に帰属される 1420nm 近傍のバンド挙動、ならびに OH 伸縮と OH 変角の結合音に帰属される 1910nm 近傍のバンド挙動を中心に解析した。その結果、水分活性の高い、自由水が主体と思われる玄米に比べて水分活性の低い、結合水が主体と思われる玄米は、OH 吸収バンドが長波長側へシフトすることが観察された。特に 1420nm 近傍のスペクトル形状の違いは、自由水に近い水と水素結合した水の分子構造、存在状態の違いを示していると考えられる。

**発表学会：日本分析化学会第55年会（豊中市）**

演題名：ポータブル近赤外分光分析装置を用いた電解製錬液中の膠の分析化学的研究

発表者：○熊谷昌則（秋田総食研）、武石啓子（秋田大学）、天野敏男（オプト技研）、藤原一彦、菊地良栄、小川信明（秋田大学）

【目的】通常、銅や亜鉛の電解精錬に用いられる電解液中には、膠（にかわ）などの少量の有機物が添加されることが多い。これらの添加剤は、カソード上への金属の析出状態を緻密にし、平滑な電着面を得るための保護コロイドとして作用しているものと考えられている。しかしながら、電解液中での膠の挙動については不明な点が多く、現在でもなお、添加剤の添加量や補給量については試行錯誤により求められた経験的な値が用いられている。そこで本研究では、電解液中での膠の経時変化を調べ、それにより膠の補給時期を適切に判断することを目的として、ポータブル近赤外分光装置を用いた膠の簡易分析法について検討した。

【方法】2M 硫酸液または 3M 硫酸液 40mL に、実際の亜鉛精錬で用いられている膠 10g を添加したモデル電解液を調製し、40℃で加温したときの近赤外スペクトルの変化を経時的に追跡した。近赤外スペクトルはオプト技研社製のポータブル近赤外分光装置 PlaScan-SH を用いて測定した。測定試料は溶液 100 μL をカバーガラスでサンドイッチしたプレパラート、ならびに溶液 100 μL を 40℃のホットプレート上で乾燥させたものをそれぞれ用いた。比較のため、膠の構成成分であるコラーゲン、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリンについても近赤外スペクトルを測定した。

【結果】近赤外スペクトルの解析には、乾燥法が適しており、その二次微分スペクトルを用いることによってピークの化学構造への帰属も容易になることが示された。電解液中での膠の経時変化は、アミド結合の分解によるものと考えられることから、2050nm におけるアミドに帰属される結合音と 2290nm におけるアミノ酸に帰属される結合音に関する二次微分スペクトル強度比の推移から予測できるのではないかと考えた。その結果、モデル電解液中では 9 時間目以降にアミド結合の分解が顕著となる傾向が認められたので、8 時間程度で膠を補給するのが妥当であると判断された。

発表学会：平成18年度化学系学協会東北大会（秋田市）

演題名：米の老化に伴う近赤外スペクトルの挙動

発表者：○熊谷昌則、高橋徹、高橋仁、秋山美展（秋田総食研）、小川信明（秋田大学）

【目的】炊いた米が冷えると食味が悪くなるのはデンプンの老化によるところが大きい。デンプンの老化は糊化によって規則配列を失ったデンプンの分子鎖が再配列して規則性を回復する現象であると考えられている。しかしながら老化機構については不明確な点も多い。老化度の評価法としては、酵素法、熱分析法、X線回折法などがあるが、これらは一般に操作が煩雑である。そこで本研究では、デンプンの老化に伴う化学構造の変化を分光学的に追跡するために、近赤外スペクトルの挙動について解析することを目的とした。

【方法】粉碎米粉 20g に対して水 30g を加えたサスペンション（水分 65%）を容器内に密閉し、105℃30分で糊化处理させたのち冷却し、5℃で保持して0日から5日までの24時間毎の6試料を調製した。続いて脱水処理を施して近赤外スペクトル測定用試料を調製した。比較のため、通常の炊飯方法で調製された米飯をシャーレに密閉し、5℃で保持して24時間毎に5日間、近赤外スペクトルの測定を行った。近赤外スペクトルの測定は、フーリエ変換型近赤外分光分析計 NIRFlex N-500 (Buchi 社) を用いて拡散反射法で行った。

【結果】粉碎米粉試料ならびに米飯試料の近赤外スペクトルは、試料表面上の物理的影響を受けてベースライン変動などの系統的誤差を生じていることから、二次微分スペクトルによる解析を行った。粉碎米粉試料では老化にともなって、水のOH基に由来する  $5200\text{cm}^{-1}$  近傍の吸収ピーク、そしてデンプンのOH基に由来する  $7000$ 、 $5900$ 、 $4880$ 、 $4400\text{cm}^{-1}$  近傍の吸収ピークに大きな変動が認められた。同様に、米飯試料においても水のOH基に由来する  $5200\text{cm}^{-1}$  近傍の吸収ピーク、そしてデンプンのOH基に由来する  $4500$ – $4000\text{cm}^{-1}$  の領域で変動が認められた。したがって、米の老化に伴う近赤外スペクトルの挙動は、水素結合の変化やデンプン分子のOH基の化学構造の変化を反映したものであると考えられる。

発表学会：20th IUSMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress（京都市）

演題名：Lupane triterpenes induce mouse melanoma cell differentiation.

発表者：○Keishi Hata, Kazuyuki Hori and Saori Takahashi

Lupane triterpenes were found to promote melanogenesis, a hallmark of B16 2F2 mouse melanoma cell differentiation. The studies of the structure-activity relationships demonstrated that the keto function at C-3 moiety of lupane triterpenes played important roles in their differentiation-inducing activities on B16 2F2 cells. Furthermore, we investigated the signaling mechanisms involved in the stimulative effects of lupane triterpenes on the melanogenesis of B16 2F2 cells. In the experiments using some selective inhibitors against various signal transduction molecules and western blotting, it was suggested that p38 mitogen activated protein kinase was involved in the melanoma cell differentiation as the downstream effector of protein kinase A. Lupane triterpenes induced the dendrite outgrowths of B16 2F2 cells, indicating that they induced not only the functional differentiation (melanogenesis) but also the morphological differentiation of B16 2F2 cells. Microscopic observations revealed that the disruption of stress fiber assembly by lupane triterpenes resulted in the formation of dendrites in B16 2F2 cells. The inactivation of Rho cascade caused the rearrangement of actin cytoskeleton in the cells. These findings suggest that the different signaling mechanisms separately control the induction of melanogenesis and the dendrite formation of B16 2F2 cells by lupane triterpenes.

発表学会 : **The 19th Annual and International Meeting of the JAACT** (京都市)

演題名 : Anti-melanogenic activity of ergosterol peroxide from *Ganoderma lucidum*, on a mouse melanoma cell line.

発表者 : ○Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Shoko Otaka, Yasuyuki Kosaka, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Kenji Sakamoto

Melanin pigments, produced by melanocytes in epidermis are responsible for the guarding of skin tissues from UV beams, but abnormal pigmentation causes the skin strains, freckles and sunburn. Melanin biosynthesis is regulated by three melanogenic enzymes, tyrosinase, tyrosinase-related protein (TRP)-1 and TRP-2. Therefore, intensive search for naturally occurring inhibitory substances against these melanogenic enzymes has been performed. We screened the food materials for the anti-melanogenic activity toward B16 10F7 mouse melanoma cells. As the alcoholic extract of *Ganoderma lucidum* found to down-regulate the melanogenesis, we isolated the anti-melanogenic compound from the methanol extract of *G. lucidum*. Chemical and physical data for the active compound were identical with those for ergosterol peroxide. Ergosterol peroxide markedly suppressed the melanogenesis of B16 10F7 cells at more than 1  $\mu$ g/ml. In the study on the structure-activity relationships, the peroxy moiety between C-5 and C-8 of the compound was very important in the anti-melanogenic activity. Using anti-TRP-1 antibody, we examined the effect of ergosterol peroxide on the expression of TRP-1. Fluorescence microscopic observation demonstrated that ergosterol peroxide markedly decreased the levels of TRP-1 in B16 10F7 cells, in comparison to the untreated cells. The data showed that ergosterol peroxide inhibited the melanogenesis of B16 10F7 cells by suppressing the expressions of melanogenic enzymes.

発表学会 : **The 19th Annual and International Meeting of the JAACT** (京都市)

演題名 : Differentiation-inducing activities by lupane triterpenes from *Lactuca indica*, on a mouse melanoma cell line.

発表者 : Keishi Hata, Toshiyuki Mukaiyama, Noriyuki Tsujimura, Yusuke Sato, Yasuyuki Kosaka, ○Kenji Sakamoto, Kazuyuki Hori

We isolated lupane triterpenes as the melanogens by bioassay fractionation of the methanol extract from *L. indica*. In a study to investigate the relationship between the chemical structure and the up-regulation of the melanogenesis by lupane triterpenes, the structural differences of these compounds at C-3 influenced their activities. We studied the signaling mechanisms involved in the melanogenesis of B16 2F2 mouse melanoma cells induced by lupeol, a lupane triterpene. SB203580, a selective inhibitor of p38 MAPK completely blocked the melanogenic activity of lupeol. Western blot analysis revealed that lupeol transiently activated p38 MAPK, and the activation of p38 MAPK might play an important role in the melanogenic activity of lupeol. Furthermore, lupeol was found to induce the dendritic formation, the morphological indicator of B16 2F2 cell differentiation. Lupeol attenuated the actin fiber assembly in B16 2F2 cells, and the attenuation caused the dendrite outgrowths of the cells. SB203580 did not block the remodeling of actin cytoskeleton in B16 2F2 cells stimulated with lupeol. These findings suggested that lupane triterpenes separately regulated the induction of melanogenesis and dendritic formation of B16 2F2 cells.

発表学会：日本生薬学会第53回年会(さいたま市)

演題名：アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 由来色素細胞分化誘導物質.

発表者：○ 畠恵司、堀一之、向山俊之

【目的】メラニン産生能は、色素細胞の分化誘導の指標とされており、加齢にともなう白髪は、毛根部に存在する色素細胞におけるメラニン色素産生衰弱が一因であると考えられている。我々は、マウスメラノーマ細胞株 (B16 2F2) を用いて、秋田県内に自生する植物、キノコ類に含まれるメラニン産生促進物質の探索研究を行ってきた。その過程で、タンポポ類が顕著な活性を示したため、タンポポ根生薬 (蒲公英根) を材料に、活性物質として lupeol (1) を単離した。本研究では、同じタンポポ類であるアキノノゲシ (*Lactuca indica*) より、数種類の活性物質を単離し、活性に関与する部位の特定およびメラニン産生に関与する分子メカニズムの解明を行った。

【方法】アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 凍結乾燥粉末からメタノールによる抽出後、各種クロマトグラフィーを行い、活性物質として 1、lupenyl acetate (2) ならびに lupenyl palmitate (3) といった 3種の lupane 型トリテルペンを単離した。

【結果および考察】1-3の lupane 型トリテルペンは、いずれも B16 2F2 細胞のメラニン産生を促進した。しかしながら、lupane 骨格 C-3 位に長鎖の脂肪酸が付加した 3は、1と2と比較して、メラニン産生促進能は弱かった。この結果より、lupane 型トリテルペンのメラニン産生促進能については、C-3 位の構造の違いが重要であると推察された。1のメラニン産生促進能に対する種々のシグナル伝達阻害物質の影響を検討した結果、p38 MAPK 阻害剤である SB203580 が顕著な抑制効果を示した。また、western blotting により、1を処理した B16 2F2 細胞では p38 MAPK の活性化が認められた。以上のことから、アキノノゲシは、メラニン産生促進物質である lupane 型トリテルペンを多量に含み、抗白髪化粧品素材として有望であることが推察された。

発表学会：2006年度日本食品工学会第7回大会(2006年 つくば市)

演題名：プログラム加熱による豆乳のゲル化と豆腐の力学特性

発表者：○高橋 徹<sup>1</sup>、秋山美展<sup>1</sup>、長縄明大<sup>2</sup> (<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田大工資源)

【目的】ジュール加熱による豆乳の凝固工程は、通常、冷却した豆腐に凝固剤を添加し、設定した加熱温度まで一気に昇温する。豆腐製造におけるジュール加熱とプログラム加熱法は豆腐の破断強度に影響を及ぼすことが知られている。そこで、豆乳のゲル化過程にプログラム加熱法を適用した場合の豆腐の力学特性に与える影響を調べた。

【方法】浸漬大豆に原料大豆重量の6倍となるように脱塩水を加えて磨砕したのちに濾別して生豆乳を得た。これを約96℃に達温後、5分間保持、冷却して豆乳とした。豆乳(約10℃)に凝固剤(MgCl<sub>2</sub>またはGDL)を加えて、プログラムジュール加熱装置(日本精機株)を用いて豆腐を調製した。得られた豆腐を直径28mm、高さ15mmの円柱状に成形した。豆腐の破断特性は直径75mmの円板治具を装着した単軸・引張り型レオメータ(TA-XT2, SMS社)にて圧縮速度1mm/s、圧縮ひずみ0.85、温度25℃で測定した。

【結果と考察】加熱曲線は凝固剤の種類に関係なく同じ軌跡を描いた。豆腐の破断特性値を表1に示した。GDLを添加した豆腐の破断ひずみおよび応力は、プログラム加熱の場合に小さくなる傾向であった。一方、MgCl<sub>2</sub>を凝固剤に用いた豆腐の破断特性値はGDLと逆の傾向であった。以上の結果から、プログラム加熱によって豆腐の食感を制御することが可能であると考えられる。

発表学会：22<sup>nd</sup> Annual Meeting of The Polymer Processing Society (2006年 山形市)

演題名：Physicochemical properties of extrudates from modified rice flour

発表者：Toru Takahashi (a), Makoto Miura (b), Yoshinobu Akiyama (a), Naganori Ohisa (a), and Shoichi Kobayashi (b)  
(a) Akita Research Institute for Food and Brewing, (b) Iwate University

Effect of modified rice flour by autoclave and oven treatments on expansion and mechanical properties of extrudates was investigated. Flours from autoclave-treated rice (ATR) and oven-treated (OTR) were prepared by heating at 120 °C for 60 min and 160 °C for 60 min, respectively. The modification of rice flour with heat-treatment contributed to expansion of extrudates. The highest degree of expansion was obtained for ATR. Analysis of dough using X-ray diffraction indicated that modified rice flour heated for 150 °C during extrusion cooking had undergone integrity melting of crystalline structure and amylose-lipid complexes were formed. This indicates that the internal structures of the starch granules in ATR became more stable to heat and shear, even though the damaged starch content was 23% compare with 16 and 7%, respectively, for UTR (untreated rice flour) and OTR. Crispness of the extrudates made from ATR and OTR were greater than that of UTR analyzing the force-deformation curves by discrete wavelet transfer. Therefore, it is possible that ATR and OTR are more suitable for manufacturing of extruded products rather than that of UTR resulted in the expansion index and food texture of the products.

発表学会：2006年度日本食品科学工学会 (2006年 藤沢市)

演題名：焙煎した玄米の物理化学特性

発表者：○高橋徹，堀一之，熊谷昌則，秋山美展 (秋田総食研)

【目的】穀類の焙煎は消化性の向上，殺菌，風味改善などの効果が知られている。各穀類に適した焙煎方法や条件があると考えられるが，不明な点が多い。そこで，乾燥空気および過熱水蒸気中で焙煎した玄米の脂肪酸度や糊化特性などの調理・加工適性を指標にして最適な焙煎条件の構築を目的とした。

【実験方法】ウルチ玄米(あきたこまち)をオープン(AX-HC1, シャープ(株))にて，160~200°Cの乾燥空気中および過熱水蒸気中で焙煎した。玄米粉の脂肪酸度，粒度分布，糊化特性，色特性，X線回折などを測定した。

【結果】過熱水蒸気は設定温度までに達する時間が短かった。焙煎温度が高くなるにつれて，玄米粉の白度は低下した。過熱水蒸気による焙煎玄米粉は焦げ臭とは異なる香ばしい臭いを呈した。焙煎玄米粉の脂肪酸度は加熱方法を問わず，無処理玄米粉よりも低い値であった。過熱水蒸気は低酸素雰囲気での加熱操作が可能であるために，過熱水蒸気で焙煎した玄米粉の脂肪酸度の低下が予想されたが，過熱水蒸気と乾燥空気焙煎した玄米粉との脂肪酸度は同程度であった。焙煎玄米粉の糊化特性測定におけるピーク粘度は，無処理玄米粉よりも低下あるいは発現せず，焙煎によるでん粉粒の膨潤・糊化の抑制または遅延を示唆した。

発表学会：日本農芸化学会 2006 年度大会（2006 年 京都市）

演題名：カドミウム含有米を原料としたバイオエタノール生産とカドミウムの挙動

発表者：進藤 昌、佐藤洋子<sup>1</sup>、茅野充男<sup>1</sup>（秋田総食研、秋田県立大）

【目的】 土壌中のカドミウム (Cd) を除去する方法として植物を利用したファイトレメディエーションが有効である。我々は、バイオマス利用のために Cd 含有米からの乳酸発酵による Cd の選択的分離に成功している。今回 Cd 含有米からのバイオエタノール生産について検討を行ったので報告する。

【方法】 供試米として 1.1ppm の Cd を含有した玄米を用いた。エタノール発酵は、Cd 米 50g に脱イオン水を入れ 121°C で 15 分加熱・冷却後、酵素と酵母を用いて発酵を行わせた。Cd の分析は、ICP 発光分析で定量した。

【結果】 加熱処理後の Cd 含有米に糖化酵素とプロテアーゼを添加し、さらに同時に酵母を植菌して並行複発酵を行わせたところ、12.06g のエタノールを得ることが出来た。発酵終了時の上清には米に含有していた Cd 量の 28% が遊離していた。また発酵終了後の遠沈残渣を pH2.8 の 0.1% 乳酸溶液で処理したところ 40% の Cd を遊離させることができた。Cd の遊離は酵母の種類により差があり、さらに Cd を取り込んだ酵母は、乳酸溶液の処理だけでは Cd を遊離しないことが判明した。このことより乳酸処理により遊離する Cd は米の発酵残渣由来であることおよび米の Cd の 85% がこの実験過程で回収されることが示唆された。

発表学会：平成 18 年度日本水産学会東北支部大会（男鹿、2006 年 11 月）

演題名：ハタハタ *Arctoscopus japonicus* 卵巣ゼリー状物質の性質と卵巣の塩溶液による凝固・硬化について

発表者：○塚本研一・戸枝一喜・高橋徹（秋田農林水セ・総食研）・船木勉・杉山秀樹（秋田農林水セ・水振セ）

【目的】 秋田県特産であるハタハタ *Arctoscopus japonicus* は、特に産卵期の成熟した魚体中の卵巣にゼリー状物質が多く、その加熱・調理時の食感が好まれている。成熟したハタハタの卵巣は、500~1500 粒の卵とゼリー状物質の皮膜に包まれ、各卵の皮膜糸状部の先端が絡まりゼリー状の塊を形成する。一方、ゼリー状物質を含む卵巣の粘性は熱には比較的安定なもの、冷凍、塩蔵によって凝固するとともに卵の硬さも増加することが知られている。そこで食品加工、特に魚卵加工の観点からゼリー状物質の性質、成分と卵巣の塩溶液による凝固、硬化のメカニズムについて検討した。

【方法】 秋田県男鹿市北浦地先の定置網で漁獲された 3~4 歳の完熟メス親魚から採卵した卵巣を用いた。ゼリー状物質はアミノ酸組成分析、SDS-PAGE による分析、N 末端アミノ酸配列分析、熱安定性分析等を行った。卵の凝固は卵巣から個々に分離した卵を塩溶液に浸漬し、凝固を経時的に観察した。卵の硬化は TEXTURE ANALYSER TA-XT2 を用い、破断力を指標として分析した。

【結果と考察】 ハタハタ卵巣ゼリー状物質の主成分は蛋白質であることが判明した。分子量は 43 kDa の 1 種類の蛋白質から成り新規な蛋白質であることが示唆された。卵の凝固因子と硬化因子の主体は Na<sup>+</sup>であり Ca<sup>2+</sup>により相乗的に増加した。また、硬化時の卵膜の厚さを測定したところ、硬さと卵膜厚は相関しないことから、硬さは卵膜の質的な変化によるものと考えられる。これらのゼリー状物質の性質や卵の凝固・硬化の特性を利用しながら魚卵加工を検討する必要がある。

発表学会：第8回日本感性工学会大会2006

演題名：地域特産品と経験価

発表者：○高畠 聡（秋田県総合食品研究所 食品開発グループ）

地域特産品は、食品、生活用品としての側面を当然有するが、それを消費する者にとっては、ただ単なる食品や生活商品でない。地域特産品は、その土地の自然やそこに住んでいる人々やその生活をもイメージさせる商品である。

**地域特産品＝物品＋地域イメージ（自然など）**

「心地よい経験（価値）」を経験価値とし、さまざま「心地よい経験（価値）」＝経験価値を生む仕掛けやシステムを作り出していくことがより付加価値のある地域特産品づくりにつながる。

特産品例・・・「秋田清酒と稲庭うどんのギフトセット」

**「秋田清酒」＋「稲庭うどん」のコラボレーション**



**秋田の「食」体験（経験価値）**

発表学会：2006年8月 日本食品科学工学会第53回大会（2006年藤沢市）

演題名：精米貯蔵した古米に関する研究

発表者：大能俊久，戸枝一喜，大久長範（秋田県農林水産技術センター総合食品研）

【目的】古米米飯は硬くて粘りが小さいため敬遠される。これまで演者らは古米に関する研究を行い、古米を還元剤溶液で炊飯した場合にテクスチャーが改良されること、酸化剤溶液では変化がないこと、古米米粒表層は酸化していること等を明らかにしてきた<sup>1)</sup>。今年度は脱気貯蔵した精米を調整して古米の米飯テクスチャー劣化機構の詳細について検討した。

【方法】試料は無洗米を使用し、貯蔵前のものを新米A、30℃5ヶ月含気貯蔵したものを古米B、30℃5ヶ月脱気貯蔵したものを古米Cとした。米飯テクスチャーの測定は既報<sup>1)</sup>の方法によった。浸漬時に脱離するタンパク質は、浸漬液と脱離した固形分を減圧下で乾燥させ、A溶液（55mM トリスバッファー、5%メルカプトエタノール、1%SDS、pH7.0）に溶かして既報<sup>1)</sup>の方法でSDS-PAGEにかけて検出した。加熱時に溶出する固形分は試料を1時間浸漬した後80℃の湯浴中で5分間加熱処理し、浸漬液を回収して乾燥して求めた。

【結果】古米Cも古米Bと同様に米飯が硬化した。また、古米は浸漬時に脱離するタンパク質と加熱時の溶出固形分が減少した。還元剤溶液ではこれらが改良されていた。このことから、古米は脱離できないで米粒表層に残るタンパク質が多く、これらの残存したタンパク質がデンプンの吸水や糊化を抑制して米飯を硬くしていると推測した。

1) Ohno, T. and Ohisa, N. Food Sci. Technol. Res. 11, 385-389(2005).

発表学会：第6回糸状菌分子生物学コンファレンス（大阪）

演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)のDNAトランスポゾン *Crawler*の転移活性とmRNAレベルでの発現制御機構

発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成)

【目的】 実用麴菌 *Aspergillus oryzae* OSI1013 株から見出されたトランスポゾン *Crawler* は *Tc1/mariner* superfamily に属する活性型の DNA トランスポゾンである。分生子の Cu 処理や高温処理などのストレス条件下における *niaD* や *crnA* 遺伝子への転移挿入および転移脱離活性が麴菌で初めて示された<sup>1)</sup>。一方、ノーザン解析では転移活性が認められるか否かにかかわらず、スメアな2本のシグナルが認められたことから、OSI1013株では transposase 遺伝子から2種以上の mRNA が生成されていることが推定された。そこで、麴菌におけるトランスポゾン転移活性に対する制御機構の解析とその利用を目的に、*Crawler* の転写様式について検討を行った。

【方法と結果】 長さの異なる *Crawler* 転写産物を解析するため、CuSO<sub>4</sub> 添加培養区の total RNA を用いた 3'-RACE を行った。3'-RACE 産物の PCR の結果、ノーザン・プロットと同様のスメアな2本のバンドが得られ、塩基配列決定により transposase ORF 内部でも poly(A) 付加が起きていることが明らかとなった。さらに、その上流域では 118bp のスプライシングも認められ、様々な長さの RACE クローンも多く得られている。一方、インタクトな全長 RACE クローンは少なかった。以上のことから、転移活性を示すトランスポゾン *Crawler* では、ORF 内での poly(A) 付加やスプライシングにより不完全な mRNA が生成され、non-stop mRNA decay 経路などによる分解やプロセッシングによって *Crawler* の転移活性が制御されている可能性が示唆された。 1) 小笠原ら、日本農芸化学会 2006 年度大会要旨、p 92

発表学会：日本分子生物学会 2006 フォーラム（名古屋市）

演題名：麴菌(*Aspergillus oryzae*)のDNAトランスポゾン *Crawler* の transposase 遺伝子の転写産物解析

発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成)

【目的】 実用麴菌 *Aspergillus oryzae* OSI1013 株から見出されたトランスポゾン *Crawler* は *Tc1/mariner* superfamily に属する活性型の DNA トランスポゾンである。RIB40 株などの低 Cu 株において *Crawler* 配列は DNA レベルでの不活性化である RIP 様変異を高度に受けている。インタクトな *Crawler* を多量に保有している OSI1013 株では、分生子の Cu や高温などの強ストレス処理が *niaD* や *crnA* 遺伝子への転移挿入および脱離を引き起こすことを麴菌で初めて示した<sup>1)</sup>。一方、ノーザン解析では転移活性化の有無によらず、スメアな2本のシグナルが認められ、OSI1013株では transposase 遺伝子の多様な転写産物の生成と分解が起きていることが推定された。そこで、麴菌におけるトランスポゾンの転移活性制御機構の解析を目的として、*Crawler* の転写様式について検討を行った。

【方法と結果】 長さの異なる転写産物を解析するため、CuSO<sub>4</sub> 添加培養区の total RNA を用いて 5'-及び 3'-RACE を行った。3'-RACE 産物の PCR の結果、ノーザン・プロットと同様のスメアな2本のバンドが得られ、塩基配列決定により transposase ORF 内部で poly(A) 付加が起きていることが明らかとなった。さらに、その上流域では 118bp のスプライシングも認められ、RACE クローンの解析から ORF 上流や下流域での poly(A) 付加およびスプライシングされたクローンも多く得られている。一方、インタクトな全長 RACE クローンは少なかった。以上のことから、転移活性を示すトランスポゾン *Crawler* では、transposase ORF 内での poly(A) 付加やイントロン様配列のスプライシングによる不完全な mRNA が生成され、non stop mRNA decay 経路などでの分解によって細胞内での転移活性が制御されている可能性が示唆された。 1) 小笠原ら、日本農芸化学会 2006 年度大会要旨、p 92

発表学会：4<sup>th</sup> *Aspergillus* Meeting & 24<sup>th</sup> Fungal Genetics Conference (Asilomar, CA)

演題名：Expression and transposition of DNA transposon *Crawler* in *Aspergillus oryzae*.

発表者：Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Hiroshi Obata<sup>2</sup>, Yoji Hata<sup>2</sup>, Saori Takahashi<sup>1</sup>, and Katsuya Gomi<sup>3</sup>. <sup>1</sup> Akita Research Institute for Food and Brewing, Akita, Japan. <sup>2</sup> Research Institute, Gekkeikan Sake Co. Ltd., Kyoto, Japan. <sup>3</sup> Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan.

An active DNA transposon *Crawler* has been isolated and characterized from the industrially important fungus *Aspergillus oryzae*. The transposition events of *Crawler* were induced by various stress treatments such as CuSO<sub>4</sub> or heat shock. The existence of two or more transcripts in different size of *Crawler* was shown under standard culture conditions. In the present study, we analyzed the transcripts of different size by 3'-RACE analysis. Moreover, relationship between the transposition activity and the proportions of *Crawler* mRNA molecules was also studied to clarify the control mechanism for transcription of exogenous gene *Crawler*. The smaller transcribed fragments were resulted from premature polyadenylation and in some cases erroneous intron splicing within the transposase. The erroneous splicing tends to be inhibited by stress treatment of CuSO<sub>4</sub>, which stimulated the transposition events in conidia allowing the full-length and active transposase to be produced. These results indicate that *A. oryzae* has a defense system against the exogenous active genes like transposons by mRNA quality control system such as undesirable splicing or polyadenylation resulted in nonstop mRNA decay.

発表学会：日本農芸化学会2007年度大会（東京）

演題名：麹菌(*Aspergillus oryzae*)のDNA transposon *Crawler*の転移活性と transposase 遺伝子の転写産物解析

発表者：○小笠原 博信<sup>1</sup>、小畑 浩<sup>2</sup>、秦 洋二<sup>2</sup>、高橋 砂織<sup>1</sup>、五味 勝也<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>秋田県総食研・酵素微生物、<sup>2</sup>月桂冠・総研、<sup>3</sup>東北大院農・生物産業創成)

【目的】我々は *A.oryzae* OSI1013 株より DNA transposase 活性を持つ *Crawler* を見出した<sup>1)</sup>。ノースン解析では、種々のストレス培養条件下でもスマな 2 本のシグナルが恒常的に認められ、transposase 遺伝子から 2 種以上の mRNA 生成が推定された。そこで、麹菌における transposon 転移活性に対する制御機構の解明を目的に、*Crawler* の転写解析を行った。

【方法と結果】長さの異なる *Crawler* 転写産物を同定するため、total RNA を用いた 3'-RACE を行った。その結果、transposase ORF 内部でも poly(A)付加が起きており、その上流域では 118bp の splicing も認められた。また、様々な長さの RACE クローンも得られた。さらに、RT-PCR 解析から、転移活性が認められる 10mM 以上 Cu 処理区の分生子では、splicing された mRNA はほとんど存在しないことが示された。以上より、ORF 内での poly(A)付加や splicing による不完全な mRNA 生成により、*Crawler* の転移活性が制御されている可能性が示唆された。

1)小笠原・他,農化大会要旨,p92(2006)

発表学会：2007年3月 日本薬学会第127年会（富山市）

演題名：地域食材の含有成分と機能：セリ根の脂肪酸関連化合物

発表者：○堀 一之、畠 恵司、高橋砂織（秋田県農林水産技術セ総食研）

【目的】当研究所は地域独特の食文化に根ざした特異な食材あるいは食用部位を研究対象とした研究を展開している。秋田を代表する鍋料理「きりたんぼ」に欠かせない具材にセリがあるが、地元では地上部とともに根を喜んで食する。この部分を食するのは極めて珍しいことから、セリ根部について検討した。

【方法・結果】有名な露地もの産地である秋田県湯沢市三関産セリの根部を細切し凍結乾燥した。これを粉碎し熱時メタノール抽出を行い濃縮後、クロロホルム-メタノール-水(4:4:3)で振り分けした下層についてシリカゲル・Sephadex LH-20 カラムクロマトおよび遠心液々クロマト (CPC) を組み合わせて分離を行った。得られた主成分はいわゆる脂肪油であるトリアシルグリセロール (TAG) で、乾燥品換算 2.1%・メタノールエキスの 11.3% に相当する高含量であった。そのほか1-モノアシルグリセロール(1-MAG)、脂肪酸メチルエステル、遊離脂肪酸、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)を含めると脂肪酸関連化合物はTAGの倍近くとなりセリ根のおいしさにこれら化合物が寄与していることが示唆された。

また、2種のクマリン化合物(scopletin, umbelliferone)と2種のアセチレン化合物(falcarinol, falcaridiol)の存在も確認した。

発表学会：2007年度日本農芸化学会大会（2007年 東京）

演題名：*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（秋田総食研）

秋田県内の製粉工場排水汚泥より高度生澱粉資化性菌を分離した。16S-rDNA 相同性より *Streptomyces* 属と同定。培養上清から SDS-PAGE 的に単一な酵素蛋白(比活性 11.7U/mg)を精製した。分子量約 47kDa、反応至適温度 50~60°C、至適 pH6.0 付近であった。本酵素は pH6.0、50°C 以下で安定、Ca<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>で活性が促進され、Cu<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>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、G2、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)、米(96.6)、餅米(86.1)、corn(52.7)、waxy corn(49.1)、馬鈴薯(56.1)、甘藷(40.8)、tapioca(49.9)、などの生澱粉に良く作用した(括弧内は相対活性、可溶性澱粉(238.7))<sup>1)</sup>。本酵素は構造遺伝子 1374 塩基上にコードされ 458 アミノ酸残基に相当した。うち N-末端側 27 残基はシグナルペプチドで、成熟蛋白は 431 残基、分子量は 46748.51 と算出した。アミノ酸一次配列を既知の放線菌或いは麴菌由来の  $\alpha$ -アミラーゼなどと比較し、種々の知見を得た。塩基配列の解析は秋田県立大学生命科学支援センターに御協力頂いた。

1) Kaneko, et.al, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(6), 1073-1081(2005)

発表学会 : 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB (June, 2006 Kyoto)

演題名 : Role of nucleotides on the formation of a renin binding protein (RnBP) homodimer and an RnBP-renin heterodimer.

発表者 : Saori Takahashi<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, and Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food and Brewing, <sup>2</sup>Akita University School of Medicine)

In the present study, we have purified recombinant human, rat, and porcine GlcNAc 2-epimerase expressed in *E. coli* and characterized some properties, and the effects of nucleotides on the formation of a GlcNAc 2-epimerase (RnBP) homodimer and a renin-RnBP heterodimer were investigated. The purified recombinant GlcNAc 2-epimerases (RnBPs) existed as dimers in the native state. Nucleotides such as ATP, dATP, and ddATP were essential for GlcNAc 2-epimerase activity. Nucleotides stabilized dimeric form of GlcNAc 2-epimerase. On the other hand, nucleotides inhibited the formation of a renin-GlcNAc 2-epimerase heterodimer, HMW renin. Moreover, the ESI TOF/MS analysis of recombinant enzymes indicated that one nucleotide bound per monomer enzyme. These results indicate that nucleotides stabilize a GlcNAc 2-epimerase homodimer to form an active site domain of the enzyme and interrupt the formation of a renin-GlcNAc 2-epimerase (RnBP) heterodimer.

発表学会 : 7th International Conference of the Europe Chitin Chitosan and 10th International Conference of Chitin and Chitosan (September 2006, Montpellier, France)

演題名 : Role of nucleotides on the formation of a renin binding protein (RnBP) homodimer and an RnBP-renin heterodimer.

発表者 : Saori Takahashi<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Akita Research Institute for Food and Brewing, <sup>2</sup>Akita University School of Medicine)

Renin binding protein (RnBP) is a proteinous renin inhibitor firstly isolated from porcine kidney. Recently, RnBP was identified as the enzyme *N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) 2-epimerase. The enzyme catalyzes the conversion between GlcNAc and *N*-acetyl-D-mannosamine. In the present study, we have purified recombinant human, rat, and porcine GlcNAc 2-epimerases expressed in *E. coli* cells and characterized certain properties. The effects of the nucleotide on the formation of a GlcNAc 2-epimerase (RnBP) homodimer and a renin-RnBP heterodimer were also investigated. The purified recombinant GlcNAc 2-epimerases existed as dimers in the native state. Nucleotides such as ATP, dATP, and ddATP were essential for GlcNAc 2-epimerase activity. Nucleotides stabilized the dimeric form of GlcNAc 2-epimerases. However, nucleotides inhibited the formation of a renin-GlcNAc 2-epimerase heterodimer, HMW renin. Moreover, the ESI TOF/MS analysis of recombinant enzymes indicated that one nucleotide bound monomer enzyme. These results indicate that nucleotides stabilize a GlcNAc 2-epimerase homodimer to form an active site domain of the enzyme and interrupt the formation of a renin-GlcNAc 2-epimerase heterodimer.

発表学会：第20回キチン・キトサン・シンポジウム（2007年8月 福井市）

演題名：GlcNAc 2-エピメラーゼ（レニン結合タンパク質）とレニンとの相互作用に及ぼすヌクレオチドの役割

発表者：○高橋砂織<sup>1</sup>、堀一之<sup>1</sup>、樋渡一之<sup>1</sup>、小笠原博信<sup>1</sup>、杉山俊博<sup>2</sup>  
（<sup>1</sup>秋田県総食研、<sup>2</sup>秋田大・医）

【目的】レニン結合タンパク質（RnBP）は、レニンの内在性阻害タンパク質で、レニンと結合し、高分子型レニンとなってレニン活性を強く阻害することが知られている。最近、RnBPがGlcNAcと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、新たな研究段階を迎えている。本研究においては、GlcNAc 2-エピメラーゼの活性発現に必須であるヌクレオチドに注目し、レニンとGlcNAc 2-エピメラーゼの相互作用に及ぼすヌクレオチドの役割を中心に解析を進めた。その結果、ヌクレオチドがGlcNAc 2-エピメラーゼのダイマーを安定化するなどの知見を得た。

【結果】ブタ腎臓から精製したRnBPの場合と同様に、組換え型ブタRnBPも濃度依存的にレニン活性を阻害した。しかしながら、ATPやdATPなどのヌクレオチド存在下ではRnBPによるレニン活性の阻害が抑制された。すなわち、ヌクレオチド存在下では、RnBPによるレニン活性の阻害が認められなかった。以上の結果などから、ヌクレオチドが、GlcNAc 2-エピメラーゼのダイマーを安定化することが明らかとなった。

発表学会：食品酵素化学研究会第6回学術講演会（2006年9月 奈良市）

演題名：D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ  
—新規酵素Paenidaseの性質について—

発表者：○高橋 砂織、小笠原 博信、堀 一之  
（秋田県農林水産技術センター総合食品研究所）

【目的】これまで、D-アスパラギン酸を特異的に認識するエンドペプチダーゼ（D-Aspartyl Endopeptidase, DAEP）に関する研究は行われていない。そこで、我々は微生物にその由来を求め、DAEP生産菌を探索した。その結果、目的に叶う酵素生産菌 *Paenibacillus* sp. B38株を取得した。さらに、その生産するDAEPをPaenidase (*Paenibacillus* sp. B38 D-aspartyl endopeptidase) と命名し、その諸性質を検討した。【結果】放線菌や細菌類約2,000株をスクリーニングし、目的の酵素生産菌B-38株を取得した。本菌は、16s rDNAの解析などから *Paenibacillus* 属と同定された。本菌培養上清より、分子量約34,000のPaenidase Iと分子量約33,000のPaenidase IIの2種類の酵素を精製した (Table)。両酵素のN末端配列解析の結果、Paenidase IIはPaenidase IのN末端5残基切除型酵素であることが判明した。両酵素はともに、Suc-[D-Asp]-pNAやSuc-[D-Asp]-MCAに特性が高く、Ac-[L-Asp]-pNA、D-Asp-pNA、D-Ala-pNA、D-Leu-pNA、L-Asp-pNAなどには反応しなかった。Paenidaseは、中性付近に至適pHを有し、亜鉛イオンで強く阻害されるとともに、ペプスタチンやiDAEPで若干の阻害が認められた。一方、正常型及び異常型Aβペプチドを用いて解析した結果、Paenidaseは、異常型Aβペプチドのみに作用し、[D-Asp]<sup>7</sup>-Ser<sup>8</sup>結合を特異的に切断することが示された。

発表学会：第2回産業用酵素シンポジウム（2007年3月 大阪府）

演題名：Characterization of D-aspartyl endopeptidase from bacterium.

発表者：Saori Takahashi<sup>1</sup>, Hironobu Ogasawara<sup>1</sup>, Kazuyuki Hori<sup>1</sup>, and Toshihiro Sugiyama<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Institute for Food and Brewing, Akita Prefectural Agriculture, Forestry, and Fisheries Research Center, <sup>2</sup> Akita University School of Medicine)

The accumulation of D-Asp in proteins during aging has been implicated in the pathogenesis of several diseases including Alzheimer's disease. The failure to degrade D-Asp containing proteins causes an accumulation of abnormal proteins in the tissues. In mammalian tissues, D-aspartyl endopeptidase (DAEP) may serve as a scavenger of D-Asp containing proteins. To our knowledge, no DAEP from a microorganism has been reported to date. In the present study, we discovered and characterized a novel type DAEP produced by *Paenibacillus* sp. B38 (2). The bacterial DAEP of Mr 34,798 (named **paenidase**) appeared to convert into a smaller form of 34,169 by the proteolytic removal of 5 amino acid residues from the N-terminal. Both enzymes had essentially the same enzymatic properties. The enzymes specifically hydrolyzed Suc-D-Asp-pNA and Suc-D-Asp-MCA, and internally cleaved a synthetic peptide (Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-[D-Asp]-Gly-Ser-Tyr) of the [D-Asp]<sup>7</sup> amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) protein between [D-Asp]<sup>7</sup>-Gly<sup>8</sup>. Either was totally inert to the normal A $\beta$  peptide sequence containing L-Asp, instead D-Asp at the 7th position. Thus, paenidase is the first DAEP from a microorganism that specifically recognize an internal D-Asp residue to cleave [D-Asp]-X peptide bonds.

発表学会：日本農芸化学会大会（2007年3月 東京都）

演題名：味噌及び大豆由来レニン阻害物質について

発表者：○高橋砂織、小笠原博信、渡辺隆幸、熊谷昌則、尾張かおる、堀 一之  
(秋田農林水産技セ・総食研)

【目的】レニンは、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系(RAS)による血圧調節機構において律速酵素として重要な役割を担っている。これまで、RAS系制御に関しては、活性測定の簡便さからアンギオテンシン変換酵素を標的にその阻害物質の検討が行われてきた。しかしながら、レニン阻害物質の探索は酵素の問題や活性測定が煩雑であることなどから殆ど行われていない。今回、大腸菌で発現したヒトプロレニンの巻き戻しとその活性化条件を検討するとともに、組換え型ヒトレニンを用いた阻害物質のスクリーニング系を構築した。

【方法と結果】ヒトプロレニン・チオレドキシン融合タンパク質は、大腸菌で封入体として過剰発現した。得られた封入体を高濃度の塩酸グアニジンで可溶化し、アルギニンと界面活性剤を併用して巻き戻し条件を決定した。得られたプロレニンをトリプシンで活性化し、スクリーニング用酵素として用いた。レニン活性は、アンギオテンシン I 生成能を指標に評価した。本スクリーニング系を用いて食物由来のレニン阻害物質を探索した結果、味噌にその阻害活性を見出した。また、味噌の阻害物質は大豆由来であることが示唆された。

**発表学会：日本食品科学工学会第53回大会（2006年 藤沢市）**

演題名：ハタハタ (*Arctoscopus japonicus*) 卵巣の塩溶液による凝固・硬化について

発表者：○戸枝一喜<sup>1</sup>、高橋徹<sup>1</sup>、塚本研一<sup>1</sup>、船木勉<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田水振セ)

【目的】 産卵期の成熟したハタハタの卵巣は、数百の卵とゼリー状のタンパク質の皮膜に包まれ、各卵の皮膜糸状部の先端が絡まり、ゼリー状の塊を形成する。魚体中の卵巣は、塩焼きや鍋料理にしても固まらず、ゼリー状タンパク質もゼリー状態を保っており、その食感が好まれている。一方、ゼリー状タンパク質を含む卵巣の粘性は熱には比較的安定なもの、冷凍、塩蔵によって凝固するとともに卵の硬さも増加することが知られている。そこで、加工の観点から卵巣の塩溶液による凝固、硬化のメカニズムについて検討した。

【方法】 供試魚は、2004年12月に秋田県男鹿市北浦地先の定置網で漁獲された3~4歳の完熟メス親魚である。試験には、採卵した卵巣を用いた。卵の凝固は卵巣から個々に分離した卵を塩溶液に浸漬し、凝固を経時的に観察した。卵の硬化は TEXTURE ANALYSER TA-XT2 を用いて測定した。

【結果】 卵は海水および海水とほぼ同濃度の3%NaCl溶液中で卵同士が数分で接着し、凝固した。3%NaClと同等張のCaCl<sub>2</sub>、MgCl<sub>2</sub>、KClによっても凝固が起こった。海水と同濃度のカチオン溶液による卵の凝固を調べた結果、海水による凝固因子の主体はNa<sup>+</sup>でありCa<sup>2+</sup>により相乗的に増加した。また、卵は経日的に硬化し、硬化因子も主体はNa<sup>+</sup>でありCa<sup>2+</sup>により相乗的に硬さが増加した。卵膜の厚さを測定したところ、硬さと卵膜厚は相関しないことから、硬さは卵膜の質的な変化によるものと考えられる。

**発表学会：第58回日本生物工学会（2006年 豊中市）**

演題名：無洗米粕を用いたγ-アミノ酪酸（GABA）生産法の開発

発表者：○戸枝一喜<sup>1</sup>、大友理宣<sup>2</sup>、押部明德<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>秋田総食研、<sup>2</sup>秋田銘醸株、<sup>3</sup>東北農業研究センター)

【目的】 無洗米製造の際に精米に付着する肌糠が粕として発生する。この無洗米粕は肥料として一部が利用されている程度であり、その有効利用が望まれている。無洗米粕には糖質、蛋白、繊維が多く含まれているため乳酸菌発酵原料として有望であり、乳酸菌の発酵生産により期待できる有用物質としてはγ-アミノ酪酸（GABA）がある。そこで、無洗米粕から乳酸菌発酵によりGABAの効率的生産法の技術開発を目的とする。

【方法および結果】 無洗米粕を栄養源として *Lactobacillus brevis* IF012005 を用いて乳酸発酵を行ったが、グルタミン酸ナトリウム（MSG）からGABAの高い生産性は認められなかった。しかし、無洗米粕を糖化酵素処理することによりGABA生産性が著しく改善された。無洗米粕の糖化酵素処理により糖類が生成し、この内グルコース、マルトースが乳酸菌の炭素源として利用されることが判明した。GABA生産の最適条件としては無洗米粕に対し水を8倍量、MSGを24%添加し、乳酸発酵することにより添加した全てのMSGが培養3日でGABAに変換され、1.4%(w/v)のGABAが生成した。このGABA生産性は現行の赤糠を用いた実生産を凌ぐ高いものであった。

なお、本研究は農水委託プロジェクト「農林水産バイオリサイクル研究」の一環として行われた。

Key word : Rice bran, GABA, gamma-aminobutyric acid

**発表学会：2006 FOOMA JAPAN (2006年 東京都)**

演題名：ジュール加熱食品加工における電極板配置と発熱効果

発表者：○鈴木克征 1、伊藤博基 1、秋山美展 2、長縄明大 1、山田悦郎 1

(1 秋田大学工学資源学部、2 秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)

【要旨】われわれは、これまでに加熱対象となる食材の形状や電気的特性の違いが発熱挙動に大きな影響を及ぼすことを報告してきた。形状や電気特性の異なる食材を均一かつ正確に加熱処理するためには、食材の内部においてどのような温度変化が起きているのかを正確に知る必要がある。内部温度の変化を二次元的かつ連続的に計測するためには多数の温度センサ（熱電対）を食材中に配置する必要があるが、熱電対を多数配置することは外部から異物を持ち込むことになり発熱・熱移動挙動が変化してしまうという欠点を有していた。われわれは、非破壊的に内部温度分布の変化を観察・記録する手法（感温液晶法）を開発しジュール加熱における発熱挙動の観察や温度分布シミュレーションを行ってきた。本研究は、電極板の形状や配置によって発熱挙動がどのように変化するかを調べるために行った。これまで行ってきたジュール加熱法では電極板は加熱対象に対して常に正対かつ並行に配置されていた。これに対して、電極板面積を大幅に縮小した場合、板状電極ではなく、棒状電極を用いた場合の発熱挙動を明らかにした。内部温度分布の変化は感温液晶法により観察・記録し、有限要素法によって温度分布変化をシミュレーションし比較した結果、感温液晶法による観察画像と有限要素法によるシミュレーション画像はよく一致していた。

**発表学会：第27回日本熱物性シンポジウム (2006年 京都市)**

演題名：電位分布を考慮したジュール加熱食品加工における発熱解析

発表者：○鈴木克征 1、伊藤博基 2、秋山美展 3、長縄明大 1、山田悦郎 1

(1 秋田大学工学資源学部、2 三井造船㈱、3 秋田県農林水産技術センター総合食品研究所)

【要旨】有限要素法および感温液晶を用いた内部温度観察法によって、加熱対象である食材が均一系である場合の発熱挙動や内部温度分布の時間変化はほぼ完璧に予測することが可能となった。しかしながら、多くの食材では脂質、蛋白、電解質等の成分が不均一に分布しており、その結果として部位による電気的特性が大きく異なっている。このような多成分不均一系の食材に対して均一で精度の高いジュール加熱を行うために、電気的特性の異なる成分が混在する系における発熱解析を行った。本研究では、食塩濃度の異なる二種のジェランガムゲルによって異成分混在系モデルを作製し、発熱解析を行った。その結果、実際の発熱挙動と有限要素法によってシミュレーションした温度分布像はよく一致しており、異成分混在系においても発熱挙動の推定が可能であることを確認した。

発表学会：日本食品工学会 2006 年度大会（2006 年 つくば市）

演題名：ジュール加熱における電極配置と発熱挙動

発表者：○秋山美展<sup>1</sup>、伊藤博基<sup>2</sup>、長縄明大<sup>3</sup>、山田悦郎<sup>3</sup>、高橋徹<sup>1</sup>、熊谷昌則<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>秋田県農林水産技術センター総合食品研究所、<sup>2</sup>三井造船㈱、  
<sup>3</sup>秋田大学工学資源学部、)

【目的】ジュール加熱（通電加熱）は食品に直接電流を流して加熱する加熱法で、温度制御精度や昇温応答性が高く、過加熱による弊害がない等の利点を有する。しかしながら、ジュール加熱における電極の形状やその配置が食品の発熱に与える影響については、これまで定量的な報告がなされていない。食品内部の温度分布を可視化する手法を用いて電極形状や配置が被加熱物の発熱挙動にどのように影響するかを調べた。

【方法】電気伝導率を調整したジェランガムゲルによりモデル食品を作製した。ジュール加熱電極の配置や形状を種々変化させ、その発熱パターンを、感温液晶を用いた内部温度観察法により記録した。得られた二次元的データについて、差分法によって数値解析を行い、発熱シミュレーション画像を作成した。

【結果】ジュール加熱電極を上下にずらして配置した場合の可視化画像（Fig.1）とそのシミュレーション像を Fig.2 に示す。可視化像と差分数値解析によるシミュレーション像はよい一致を示した。



picture of thermo distribution

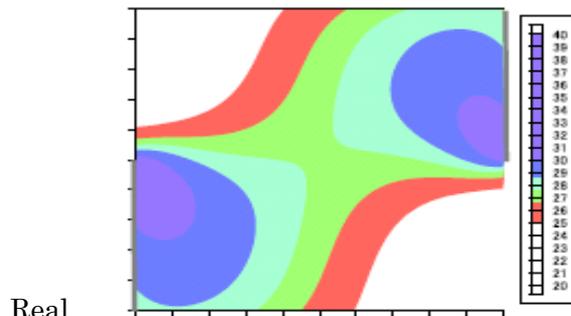


Fig. 2 Simulation of Joule heating.

Fig. 1

## 7. その他の外部発表論文リスト

- ① 「ポータブル近赤外分光装置を用いたプラスチック判別における顔料・形状の影響」  
李 華、熊谷昌則、高橋 豊、天野敏雄、藤原一彦、吉村 昇、小川信明  
素材物質学雑誌 17, 33-38 (2005)
- ② 「Evaluation of taste properties of commercially available salts.」  
Kyoko Ishikawa, Maho Sugimoto, Masanori Kumagai, and Ryuji Matsunaga  
*Int. J. Soc. Eng. Resour.* 13(2), 29-34 (2006)
- ③ 「マンネンタケ由来メラニン産生抑制物質の美白効果」  
畠 恵司、向山俊之  
アンチ・エイジングシリーズ2 皮膚の抗老化最前線  
NTS 出版社 pp279-288 (2006)
- ④ 「食品の脂質を NMR で観てみる -アシルグリセロールの位置異性および味噌脂質の変動解析-」  
堀 一之  
*FFI ジャーナル* 211(11), 922-927 (2006)
- ⑤ 「納豆の機能」  
木村貴一、伊藤義文、堀 一之  
醸造物の機能性 北本勝ひこ編 (日本醸造協会) 86-92 (2007)
- ⑥ 「”すりおろす” には理由 (わけ) がある -ダイコン・ワサビ・ブロッコリ・・・アブラナ科食材の機能成分イソチオシアネート-」  
堀 一之  
薬用食品の開発 -薬用・有用植物の機能性食品素材への応用- 吉川雅之編  
(シーエムシー出版) 127-136 (2007)

## 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2.5cmの余白を設ける。

### 【論文の形式】

1. 報文は、次の形式をとる。
  - (1) 要約、(2) 緒言、(3) 実験方法、(4) 結果、(5) 考察、(6) 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<sup>1)</sup>、や総食研<sup>2-4)</sup>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。

秋田県農林水産技術センター  
総合食品研究所報告 第9号

委員長 若林 三郎  
副委員長 高橋 砂織

委員 大能 俊久  
同 畠 恵司  
同 佐々木康子  
同 田口 隆信  
同 木村 貴一  
同 堀 一之  
同 福田 正文

発行 平成19年5月31日  
発行者 秋田県農林水産技術センター  
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

【無断複製を禁ず】

この印刷物は300部作成し、印刷経費は1部当たり500円です。



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。