

平成18年度

# 試験研究成果概要

秋田県農林水産技術センター  
総合食品研究所

平成 18 年度

## 試験研究成果の概要

## 目 次

### 1. 平成18年度試験研究成果概要

#### (1) 食品の生理機能と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究

##### 新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

糖尿病合併症予防及び抗腫瘍性因子の探索と機能解析（完了）	4
発酵食品と農水産物の複合的利用による生理機能性の向上	
味噌と食材を組み合わせた生理機能性の向上	6
味噌と食材を組み合わせた生理機能性の向上（完了）	8
フキノトウ特異セスキテルペン類の分離と化学構造解析	10
高血圧予防因子の機能解析とその応用	12
高血圧予防因子の機能解析とその応用（完了）	14
高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析	
色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解明	
キク科植物に高含有されるルパン型トリテルペンの機能性解析	16
色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解明（完了）	18
香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用	20
香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用（完了）	22
癌細胞転移抑制物質の探索と構造・特性解明（完了）	22
新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発	
コラゲナーゼ活性阻害効果のあるホップポリフェノールを原料とした	
新規アルコール飲料の開発	24
コラゲナーゼ活性阻害効果のあるホップポリフェノールを原料とした	
新規アルコール飲料の開発（完了）	26
アルドースレダクターゼ阻害活性をもつ果実酒の開発	28
アルドースレダクターゼ阻害活性をもつ果実酒の開発（完了）	30
アルコール飲料のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害活性（完了）	32

##### 温度及び圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発

高品位穀類粉末の開発	34
圧力可変ジュール加熱装置の開発	36
デンプンおよび蛋白質の効率的物性改善	38

#### (2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究

##### 県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

ハタハタ卵巣のゼリー状物質解明と凍結保存技術の開発	40
水産発酵食品の高品質化に関する研究	
ハタハタ加工廃棄物食品化技術の開発	42
新しい地域特産加工食品の開発	
ハタハタ及びジュンサイを利用した加工品開発	44
米麹利用食品及び米麹の高品質化	46

<b>県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発</b>	
<b>新形質米を活用した新たな米加工品の開発</b>	
米飯の有効利用に関する研究	48
低グルテリン米の利用に関する研究	50
穀類の活性酸素消去能を活用した製品と加工法の開発	52
大豆品種すずさやかの加工適性および生理機能性評価	52
生澱粉分解酵素利用	54
穀類粉を用いた新商品開発	56
秋田みその品質の高度化に関する研究	
高品質味噌の製造技術の開発に関する研究	58
秋田みそ用醸造微生物の利用技術の開発と普及	60
<b>原料用水の特性解明と食品製造への有効活用</b>	
水質特性データベースの高度解析	62
米飯加工食品の分析調査（完了）	64
水質特性データベースの高度解析（完了）	64
原料用水の採水調査	66
原料用水の採水調査（完了）	68
<b>食品汚染細菌の検出と防御技術に関する基盤研究</b>	70
<b>(3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究</b>	
<b>白神微生物バンクの有効活用に関する研究</b>	
<b>真菌類の有効利用に関する研究</b>	
酵母の有効利用に関する研究	72
北東北産穀類の製麹とその応用	74
乳酸菌を用いた機能性食品の開発	76
放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究	78
<b>米加工副産物の有効利用に関する研究</b>	
無洗米粕からの乳酸発酵による有用物質の生産	80
<b>(4) その他研究</b>	82
<b>2. 平成19年度試験研究計画概要</b>	93

## 完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(1)糖尿病合併症予防及び抗腫瘍性因子の探索と機能解析

担当部署：食品開発グループ

担当者名：戸松 誠、渡辺隆幸、堀 一之

協力分担：東京理科大学総合研究所、基礎工学部、北里大学薬学部

予算区分：県単

研究期間：2003～2006年度

### 1. 目的

糖尿病合併症を予防する因子及び抗腫瘍性因子を探査し、その機能解析を行うことで高齢化社会への対応を図るものである。すなわち、平成12～14年度実施した研究課題「機能性評価技術の開発と食品の開発」等において明らかになった糖尿病合併症予防効果及び抗腫瘍性に関する知見・成果を生かし、県民の福祉向上等を図るものである。両活性の探索を行いつつ、抗腫瘍性因子、特にタラノキから見いだした aralin については機能解析を行う。また他のウコギ科植物やそのカルス等が aralin 様タンパク質の安定した供給源になり得るかを検討した。

### 2. 方法

- ・糖尿病合併症予防活性は、ヒト型 Aldose Reductase (AR) 阻害活性を指標とした酵素系で評価した。
- ・抗腫瘍性は、ヒト正常細胞株（WI-38）と WI-38 を形質転換した細胞株（VA-13）を用いた VA-13 細胞選択的な細胞障害活性の評価系で行った。
- ・aralin 糖組成分析は、TFA 分解後、CarboPac PA1 カラムを用いた Dionex DX-500 システムにて測定した。
- ・糖鎖のタイプ分けは、serial lectin-agarose affinity chromatography にて行った。
- ・糖鎖の意義の検討は、非変性条件で調製した脱糖鎖 aralin と native-aralin との活性を比較することで行った。
- ・タラノキ植物体での組織別の aralin 発現分布解析を Western blot 法により行った。

### 3. 結果の概要

- ・県内企業にて、トチュウ・ホップ等を用いた飲料の試作品（PET ボトル）数種の製造が行われ、それらの AR 阻害活性を確認した。
- ・AR 阻害活性をスクリーニングしたなかには、有望なものはなかった。
- ・抗腫瘍活性では、いくつかのウコギ科植物カルス抽出液が、ガン細胞選択的致死活性を示したことから、この活性はウコギ科に共通したものであることが示唆された。
- ・aralin は、レクチン活性（赤血球凝集能）及び、RNA N-glycosidase 活性を持つことから、type II リボソーム不活化蛋白質 (ribosome-inactivating protein: RIP) ファミリーの一員であることがわかった。
- ・aralin には糖鎖が付加しており、その構成糖分析の結果、グルコサミン、ガラクトース、マンノースが含まれる一方、ガラクトサミン、フコースは検出されなかったことから、aralin 糖鎖は、Asn 結合糖鎖であることが示された。
- ・この Asn 結合糖鎖のタイプ分けを行った結果、ハイ・マンノース・タイプであることがわかった。

- ・ガン細胞株（VA-13）に対する50%致死濃度（IC<sub>50</sub>）値は、脱糖鎖 aralin が native な aralin よりも約 1.4 倍低いこと、すなわち脱糖鎖 aralin の方がガン細胞株に対する傷害活性の選択性が優れていることがわかった。
- ・組織別の aralin 発現量は、新芽～若葉が最も高かった。また、果実成熟時では著しく高発現している時期があった。

#### 4. 成果の活用面と留意点

<公表>

文献発表：7、学会発表：8、学位論文：1

<特許出願>

1 件（特開 2004-75676）

#### 5. 残された問題とその対応

- ・抗腫瘍性因子の機能解析や動物実験等の面では大学との共同研究が必要であるので、別途対応していく予定。
-

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(2) 発酵食品と農水産物の複合的利用による生理機能性の向上

①味噌と食材を組み合わせた生理機能性の向上

担当部署：応用発酵グループ、微生物酵素グループ、食品機能グループ、食品開発グループ

担当者名：渡辺隆幸、堀一之、畠恵司、戸松誠

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・ 2006年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

味噌は主に味噌汁として農水産物と組み合わされて食されるが、その複合的な生理機能性を調べた例は少ない。そこで味噌と食材を組み合わせた場合の生理機能性の研究を抗変異原活性、DPPHラジカル捕捉活性等を指標に行い、最終的に味噌と県産農水産物の需要の喚起および新規食品開発のシードづくりに役立てる。

フキノトウは強いラジカル捕捉活性を有する県産農産物の一つであり、伝統的に調合味噌として食される習慣のある農産物の一つである。

平成18年度はフキノトウを材料とする調合味噌（フキノトウ味噌）の製造方法について検討を実施する。フキノトウ由来のラジカル捕捉活性とその活性成分の変化を調べることによりその評価に役立てる。加えてフキノトウ特有の成分の分画同定を試みる。

### 2. 方法

#### 1) フキノトウ味噌のラジカル捕捉活性

県産フキノトウとAOK139使用製品味噌を混合し、食塩、アルコール添加と加熱処理の有無により3種類試作（試作品 E、F、G）。5°Cで2ヶ月保存試験を行った。

E 食塩濃度 14%

F 食塩濃度 10% 加熱処理 (80°C、3分)

G 食塩濃度 10% エタノール 4%

80%メタノール抽出液をサンプルとしてTroroxを指標にDPPHラジカル捕捉活性を測定した。

#### 2) HPLCによる「フキノトウ味噌」のラジカル捕捉活性成分の定量

80%メタノール抽出液をサンプルとして逆層カラムを用いて測定した。

#### 3) フキノトウの特有成分の分画同定

秋田市雄和から採取したフキノトウを凍結乾燥した。乾燥物500gを熱メタノールにより抽出し濃縮後、水、クロロホルムを加え水層とクロロホルム層に分液した。クロロホルム層を順次、シリカゲルカラム等に通しフキノトウ特有の生理機能性成分の分画を行った。

### 3. 結果の概要

#### 1) フキノトウ味噌のラジカル捕捉活性

より強いラジカル捕捉活性を有しているフキノトウを味噌と合わせることによりラジカル捕捉活性の強い調合味噌が製造できることが明らかになっている。

今年度、製造条件を変えて試作した3点のフキノトウ味噌は2ヶ月の保存試験の結果（図1）、ラジカル捕捉活性に大きな低下は認められなかった。

#### 2) HPLCによるフキノトウ味噌のラジカル捕捉活性成分の定量

昨年度、フキノトウのラジカル捕捉活性成分として1:ルチン、2:ケルセチニアセチルグルコシド、3:ケルセチングルコシド、4:ケンフェノールアセチルグルコシド、5:カフェ酸メチルエステルを分画同定した。

これらの成分のフキノトウ味噌、保存中の変化を調べた結果（図2）、経時的に減少傾向にあるもの大きな減少のないことが認められた。

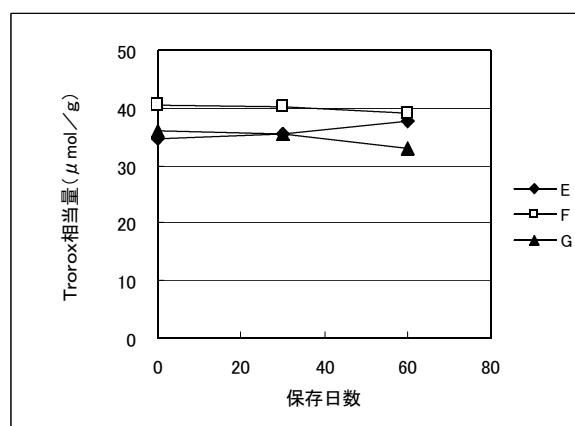


図1 フキノトウ味噌のラジカル捕捉活性

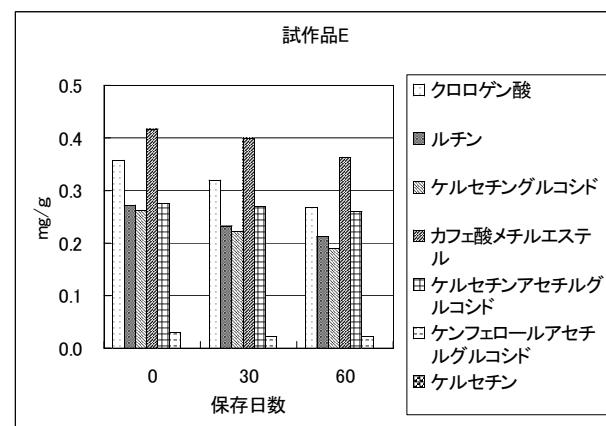


図2 ふきのとう味噌の活性成分の変化

#### 3) フキノトウ特有の生理機能性成分の分画同定

フキノトウ特有の成分であるバッケノリドA、バッケノリドE、フキノン等を分画同定した。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

フキノトウ特有の成分（バッケノリド）の生理機能性について研究が今後期待される。

フキノトウの生産者、加工業者との連携が今後の課題。

フキノトウ以外の農産物の調合味噌の研究も期待できる。

### 5. 結果の発表、活用等

フキノトウ味噌製造技術について食品加工研修等で県内企業へ普及を図る。

## 完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(2) 発酵食品と農水産物の複合的利用による生理機能性の向上

①味噌と食材を組み合わせた生理機能性の向上

担当部署：応用発酵グループ、微生物酵素グループ、食品機能グループ、食品開発グループ

担当者名：渡辺隆幸、堀一之、畠恵司、戸松誠

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

味噌は主に味噌汁として農水産物と組み合わされて食されるが、その複合的な生理機能性を調べた例は少ない。そこで味噌と食材を組み合わせた場合の生理機能性の研究を抗変異原活性、DPPHラジカル捕捉活性等を指標に行い、味噌の需要の喚起および新規食品開発のシードづくりに役立てる。最終的には味噌とのマッチングが有望な農産物を用いた調合味噌製造方法の検討と生理機能性の解明を行う。

### 2. 方法

平成15年度の研究計画概要

味噌と食材を組み合わせた場合の抗変異原活性、DPPHラジカル捕捉活性について調べる。

農水産物、味噌それぞれの熱水抽出物、メタノール抽出物について混合した場合と単独の場合の比較を行う。

#### 1) 味噌と農産物の複合的評価

以下の県産の農産物、34点および味噌を80%メタノールで抽出した。

トマピー、アスパラガス、トマト、セリ、ネギ、ナス、ブロッコリー、カボチャ、サトイモ、クリ、フキノトウ、ハツカダイコン、アザミ、カタクリ、コメノコ、クサソテツ、ワラビ、シドケ、ヤマウド、アイコ、アサツキ、サントウナ、ポンナ、ソラマメ、イシガキ、ズッキーニ、ミニトマト、キュウリ、ニンジン、モロヘイヤ、オオバ、シソ、ミズ、ハヤトウリ。

抗変異原活性は *Salmonella typhimurium* TA98、変異原Trp-P-2を用いてコファクターS9を加えたプレインキュベーション法により、DPPHラジカル捕捉活性は没食子酸を標準としてその相当量を測定した。活性の高い農産物と味噌を混合した場合の活性も同様に測定した。

#### 2) フキノトウのラジカル捕捉活性成分の分画同定

強いラジカル捕捉活性を有すること、調合味噌としての食習慣があることからフキノトウに注目し、そのラジカル捕捉成分の分画同定を行った。

#### 3) フキノトウ味噌の製造方法の検討とその生理機能性の解明

フキノトウ味噌を試作しそのラジカル捕捉活性の評価および活性成分の定量も行った。

#### 4) フキノトウ特有の生理機能性成分の分画同定

様々な生理機能性が報告されているフキノトウ特有の成分の分画同定も試みた。

### 3. 成果の概要

#### 1) 味噌と農産物の生理機能性の測定

DPPHラジカル捕捉活性の高い農作物

ボンナ、アザミ、シソ、クサソテツ、ミズ、フキノトウ、シドケ、オオバ、クリ、ナス、トマト、セリ

#### 抗変異原活性の高い農産物

アザミ、オオバ、シソ、フキノトウ、ヤマウド、クサソテツ、ボンナ、モロヘイヤ、クリ、ナス

#### 味噌と農産物の複合的評価

味噌とアザミ、オオバ、シソ、フキノトウ等の農水産物の抽出液の混合比率を変化させて行った結果、DPPHラジカル捕捉活性、抗変異原活性とも明らかな相乗効果を認めるに至らなかった。

#### 2) フキノトウのラジカル捕捉活性成分の分画同定

フキノトウのラジカル捕捉活性成分として1:ルチン、2:ケルセチンアセチルグルコシド、3:ケルセチングルコシド、4:ケンフェノールアセチルグルコシド、5:カフェ酸メチルエステルを分画、同定した。以上の活性物質とケルセチンのラジカル捕捉活性を測定した結果、重量比では5の活性が最も強いことが認められた。

#### 3) フキノトウ味噌の製造方法の検討とその生理機能性の解明

より強いラジカル捕捉活性を有しているフキノトウを味噌と合わせることによりラジカル捕捉活性の強い調合味噌が製造できることが明らかになった。

製造条件を変えて試作した3点のフキノトウ味噌は2ヶ月の保存試験の結果、ラジカル捕捉活性に大きな低下は認められなかった。

#### 4) フキノトウ特有の生理機能性成分の分画同定

フキノトウ特有の成分であるバッケノリドA、バッケノリドE、フキノン等を分画同定した。

### 4. 成果の活用面と留意点

フキノトウ特有の成分（バッケノリド）の生理機能性について研究が今後期待される。

フキノトウの生産者、加工業者との連携を図る産業支援が今後の課題。

フキノトウ以外の農産物の調合味噌の研究も期待できる。

### 5. 結果の発表、活用等

フキノトウ味噌製造技術について食品加工研修等で県内企業へ普及を図る。

## 単年度試験研究課題(2007年2月作成)

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(2)発酵食品と農水産物の複合的利用による機能性の向上

②フキノトウ特異セスキテルペン類の分離と化学構造解析

担当部署：酵素・微生物グループ、応用発酵グループ

担当者名：堀 一之、渡辺隆幸

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度(2003～2006年度)

### 1. 目的

これまで味噌と組み合わせるべき農水産物素材のスクリーニングを実施し、秋田県花であり”ふきのとう味噌”など組み合わせの実績がある「フキノトウ」に顕著なDPPHラジカル捕捉活性が認められ、その活性に4種のフラボノール誘導体とカフェ酸メチルが関与していることを見いたしました。

フキの葉には抗アレルギー活性が知られエキスは食品素材として商品化されているが、その活性はフキ特異のポリフェノールであるフキノール酸とエレモフィラン型セスキテルペンであるフキノンであるとされている。しかし、フキノトウ特異3環性セスキテルペンラクトンであるバッケノリド類についてはその分離の困難もあり、それらの生理活性評価は不充分な現状といわざろう得ない。

そこで、今年度はバッケノリド類についてその量と種類を確保しながら分離することを目的とした。

### 2. 方法

1)研究材料： 2006年4月、秋田市雄和地区にて採集した食用として適した時期のフキノトウの凍結乾燥粉末450 g (生鮮重量5 kg)を用いた。

2)抽出・分離： 凍結乾燥品は、ミルサー(イワタニ)で細碎の後、熱時メタノールで抽出した。得られたメタノールエキスは、濃縮後クロロホルム：メタノール：水(4:4:3)で分画させ、クロロホルム層(下層)についてシリカゲル、セファデックスLH-20などの各種クロマト(常圧、中圧)を繰り返して下述の化合物を得た。

### 3. 結果の概要

質量分析(MS)・核磁気共鳴(NMR)・赤外吸収(FT-IR)などの各スペクトラルの詳細な解析を実施し、数種類の既知常成分のほかに以下に示したセスキテルペン類の化学構造を明らかにした。これらは、いわゆる精油成分に相当し極性が極めて近接していることから相互の分離は困難であるが、あと数種類については単離・構造決定が可能な化合物が得られる見込みである。

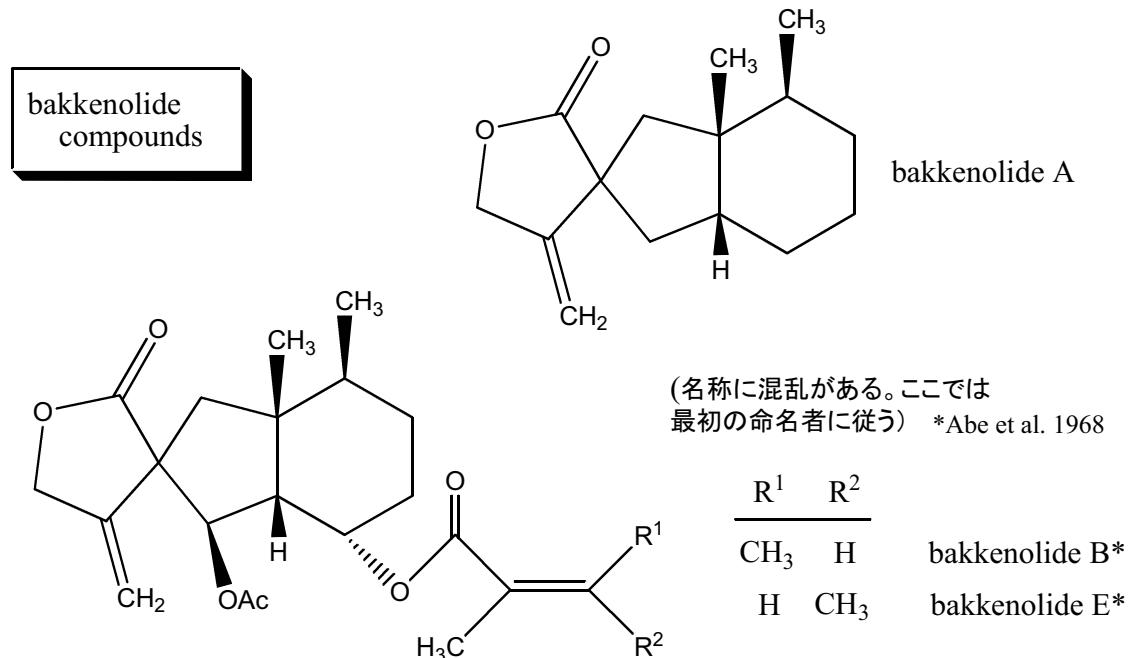
### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本課題は、研究期間を1年短縮して新課題「県産食材の生理機能性を活用した高齢者向け食品の開発」に移行する予定である。フキノトウのセスキテルペン特にバッケノリド類はその特異な化学構造から多岐に亘る生理機能性が期待されており、新課題で確立される各種のメタボリックシンドローム関連の生理機能性評価系への適用により新たな食品開発のシーズとして展開を図る。さらに、得られた化合物については、その含量についてGC/MSあるいはHPLCなどを用いて定量分析する方法を確立することを目指す。

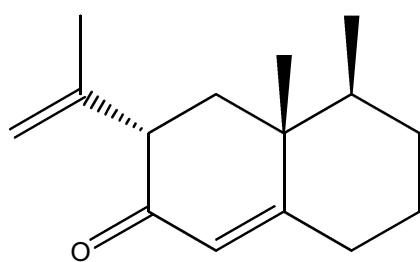
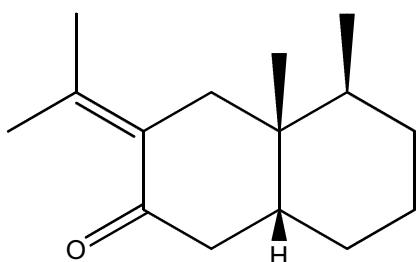
## 5. 結果の発表、活用等

生理機能性評価あるいは定量分析手法開発などの研究展開が進展することで、学会発表・学術論文発表あるいは知的所有権の確保などを図る。

フキノトウから得られ化学構造が明らかになったセスキテルペン化合物



eremophilane compounds



## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

### （3）高血圧予防因子の機能解析とその応用

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：高橋砂織、樋渡一之、堀 一之

協力分担：小笠原博信、渡辺隆幸、熊谷昌則、尾張かおる

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

高齢疾患には様々な病態があり、それぞれに予防法や治療法が異なる。秋田県では、高血圧症の比率が高く大きな問題である。秋田県における高血圧の最大の原因は、食塩の過剰摂取である。これ以外に偏った食事の摂取もあげられる。このように、食事は高血圧に限らず健康維持に極めて重要である。これまで、食品関連血圧調節物質としては、アンギオテンシン変換酵素を標的したもののが主流であり、これに関連した特定保健用食品などの開発も行われている。しかしながら、血圧調節の根幹をなすレニンやレニンの内在性阻害タンパク質であるレニン結合タンパク質(RnBP)関連の食品由来調節物質の研究は行われてこなかった。そこで、本研究では、血圧調節の根幹を担うこれら酵素の特性を明らかにするとともに、食品由来の制御物質を探査し、構造機能相関を明らかとする。さらに、食による血圧制御の観点から、血圧管理と血圧調節機能を付与した食品の開発を目指す。

本年度は、組換え型ヒトレニンとアンギオテンシンⅠのラジオイムノアッセイ法を用いて味噌やその素材である大豆と麹についてレニン阻害能を検討した。また、レニンの阻害タンパク質であるレニン結合タンパク質の機能解析も併せて行った。

### 2. 方法

**レニン活性測定法**：レニンの高感度活性測定法として、アンギオテンシンⅠのラジオイムノアッセイ法を用いた。

**組換え型ヒトレニンの取得**：大腸菌にて発現したチオレドキシン・プロレニン融合タンパク質高濃度のアルギニンと界面活性剤により巻き戻しを行った。また、トリプシン処理により、活性型組換え酵素を取得した。

**レニン阻害物質の探索**：味噌、大豆や麹菌を水で抽出し、Sep-Pak C18 に吸着後、メタノールを用いてペプチド類を溶出した。メタノール抽出液を減圧乾固し、レニンの活性阻害能を検定した。

**RnBP の機能解析**：組換え型レニン結合タンパク質とブタ腎臓から精製したレニンとを用いて、相互作用に及ぼすATPの役割を検討した。

### 3. 成果の概要

**味噌由来レニン阻害物質の検討**：図1に試験に供した味噌を示した。用いた味噌の中で、味噌2と味噌4の抽出液にレニンの阻害活性が認められた（図2）。味噌の中でレニン活性阻害能を持つものと持たないものとがあることから、味噌の熟成過程における阻害物質の挙動を検討した。その結果、味噌の熟成につれて阻害活性の低下が認められた。次に、味噌の原材料である麹と大豆についてその阻害活性を検討した結果、味噌中のレニン阻害物質は、大豆由来であることが判明した。

**RnBP の機能解析**：ATPがレニンとレニン結合タンパク質との相互作用に影響を与えていることが示された。ATP存在下では、レニン結合タンパク質の2量体が安定化し、レニンとの結合が阻害されること、すなわち、ATPが高分子型レニン形成を阻害することが明らかとなった。

#### 4. 今後の問題点

ヒトレニンを用いたスクリーニング系が確立し、味噌に大豆由来のレニン活性阻害能を認めたことから、今後、レニン活性阻害能を保持した味噌の開発が期待される。

#### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 高橋砂織他、2006年度日本農芸化学会大会（2006年3月、京都市）
- 2) Saori Takahashi *et al.* 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (June, Kyoto)
- 3) 高橋砂織他、第20回キチン・キトサンシンポジウム（2006年8月、福井市）
- 4) Saori Takahashi *et al.* 10th International Chitin and Chitosan Conference and 7th European Chitin Society Conference (September, Montpellier, France)
- 5) Saori Takahashi *et al.* *J. Biochem.* **140**(5), 725–730 (2006)
- 6) Saori Takahashi *et al.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**(12), 2913–2918 (2006)

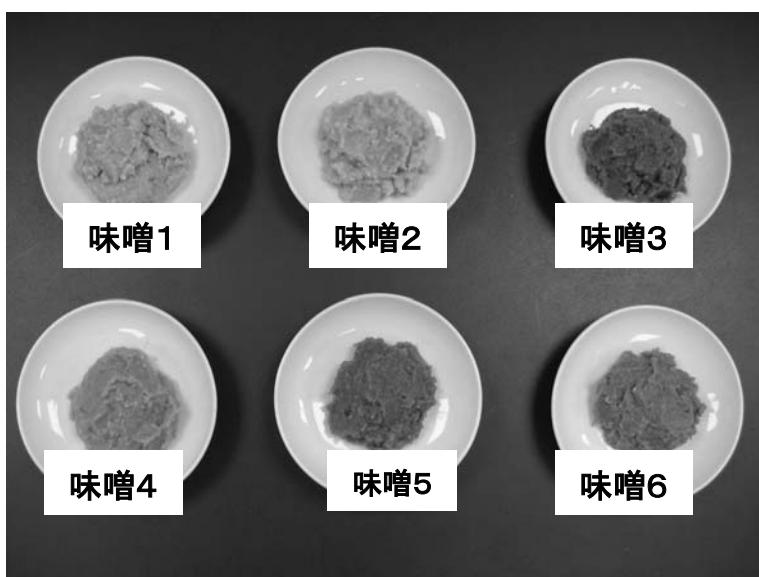


図1. 試料として用いた市販味噌

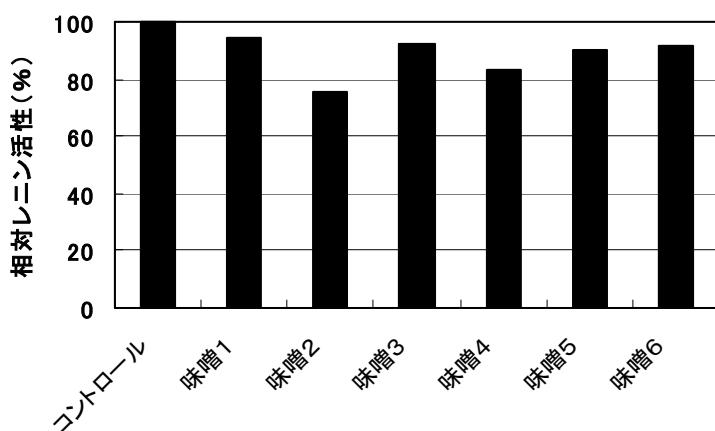


図2. 味噌抽出液によるレニン活性の阻害

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

（3）高血圧予防因子の機能解析とその応用

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：高橋砂織、樋渡一之、堀 一之

協力分担：小笠原博信、畠 恵司、渡辺隆幸、熊谷昌則、尾張かおる

予算区分：県単

研究期間：2003～2006年度

## 1. 目的

高齢疾患には様々な病態があり、それぞれに予防法や治療法が異なる。秋田県では、高血圧症の比率が高く大きな問題である。秋田県における高血圧の最大の原因は、食塩の過剰摂取である。これ以外に偏った食事の摂取もあげられる。このように、食事は高血圧に限らず健康維持に極めて重要である。これまで、食品関連血圧調節物質としては、アンギオテンシン変換酵素を標的したもののが主流であり、これに関連した特定保健用食品などの開発も行われている。しかしながら、血圧調節の根幹をなすレニンやレニンの内在性阻害タンパク質であるレニン結合タンパク質(RnBP)関連の食品由来調節物質の研究は行われてこなかった。そこで、本研究では、血圧調節の根幹を担うこれら酵素の特性を明らかにするとともに、食品由来の制御物質を探査し、構造機能相関を明らかとする。さらに、食による血圧制御の観点から、血圧管理と血圧調節機能を付与した食品の開発を目指した。

## 2. 方法

**レニン活性測定法：**高感度のレニン活性測定法として、アンギオテンシンⅠのラジオイムノアッセイ法を用いた。また、蛍光消光基質も併用した。

**N-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ (GlcNAc 2-EP) の活性測定方法：**RnBP は、GlcNAc 2-EP 活性を持つことが知られている。GlcNAc 2-EP 活性の測定には、N-アセチルマンノサミンを基質として用い、生じた GlcNAc を N-アシルヘキソサミン酸化酵素とペルオキシダーゼとの共役系で測定した。

**RnBP の調製方法：**組換え型各種 RnBP を大腸菌で発現し、各種クロマトグラフィーで精製した。

**組換え型ヒトレニンの調製方法：**大腸菌で発現したチオレドキシン・プロレニン融合タンパク質を 4 M 塩酸グアニジンで可溶化した後、高濃度のアルギニンと界面活性剤を用いて巻き戻し、トリプシンにより活性化した。

**食材由来レニン阻害物質の探索方法：**組換え型ヒトレニンを標的酵素として、農水産物や食材由来のメタノール抽出液などを用いて阻害活性を検定した。

## 3. 結果の概要

・レニンの内在性阻害物質である RnBP の各種変異体を作成し、分子表面に露出している 171 番目のアミノ酸残基が、ヌクレオチドの結合に重要であることを見出した。また、ヌクレオチドの一種類である ATP がレニンと RnBP との相互作用に重要な役割を持つことを明らかとした。

・大腸菌で発現した組換え型ヒトレニンの巻き戻し条件を決定した。また、トリプシンによる活性化にも成功し、食材由来のレニン活性阻害検定法を確立した。

・各種食材由来の抽出液を用いてレニン活性阻害能を検討した結果、味噌のその阻害を認めた。味噌素材の阻害活性を検討した結果、大豆の抽出液にレニン活性阻害能のあることを明らかとした。

#### 4. 成果の活用面と留意点

##### 学会発表等：

- ・日本農芸化学会大会 2004, 2005, 2006 年度 (2004 年 3 月東広島市、2005 年 3 月札幌市、2006 年 3 月京都市)
- ・食品酵素化学研究会学術講演会 第 4 回、第 5 回、第 6 回 (2004 年 9 月東京都、2005 年 9 月福山市、2006 年 9 月奈良市)
- ・The 2nd Korea-Japan Joint symposium of Food and Enzymes: Current Trends in Food Enzymes (July 2004 Seoul, Korea)
- ・6th International Conference of the European Chitin Society (September, 2004, Poznan, Poland)
- ・20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (June 2006, Kyoto)
- ・10th International Chitin and Chitosan Conference and 7th European Chitin Society Conference (September 2006, Montpellier, France) など

##### 論文等：

- ・Amino acid residue conferring nucleotide binding properties of *N*-acetyl-D-glucosamine 2-epimerase (Renin binding protein). (原著論文)  
Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hiwatashi, Keishi Hata, Kazuyuki Hori, Yukio Koizumi, and Toshihiro Sugiyama  
*Biomedical Research* **26**(3), 117-121 (2005)
- ・Effects of nucleotides on the interaction of renin with GlcNAc 2-epimerase (Renin binding protein). (原著論文)  
Saori Takahashi, Kazuyuki Hori, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hiwatashi, and Toshihiro Sugiyama  
*Journal of Biochemistry* **140**(5), 725-730 (2006)
- ・Refolding and activation of human prorenin expressed in *Escherichia coli*: Application of recombinant human renin for inhibitor screening. (原著論文)  
Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Takayuki Watanabe, Masanori Kumagai, Hiroyasu Inoue, and Kazuyuki Hori  
*Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **70**(12), 2913-2918 (2006)
- ・Identification of nucleotide binding residue for *N*-acetyl-D-glucosamine 2-epimerase.  
Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Keishi Hata, Kazuyuki Hiwatashi, and Kazuyuki Hori  
In *Advance in Chitin Science Vol. 8* (H. Struszcyk, A. Domard, M. G. Peter, and H. Pospieszny eds.) pp325-328 Institute of Plant Protection, Poznan (2005) ISBN 83-8976-25-7
- ・*N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ (レニン結合タンパク質) (著書)  
高橋砂織  
「キチン・キトサンの応用と開発」平野茂博監修 pp143-152, シーエムシー出版 (2004)
- ・*N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼの構造と機能 (総説)  
高橋砂織  
キチン・キトサン研究 **10**(1), 1-7 (2004)

#### 5. 残された問題とその対応

本研究において、レニンの内在性阻害タンパク質である RnBP とレニンとの相互作用が ATP で制御されている可能性が示唆されたことから、今後細胞レベルでの検討が必要である。一方、ヒトレニンを用いた食材由来阻害物質の探索により、味噌中の大豆由来のレニン阻害物質の存在することが明らかになったことから、その機能性を保持した食材の開発が望まれる。さらに、機能性物質の精製と構造解析を行うことで、特許化が期待される。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

### (4)高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

#### ①色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解明

キク科植物に高含有されるルパン型トリテルペンの機能性解明

担当部署：食品機能グループ

担当者名：畠恵司

協力分担：鳥取大学・農学部、秋田県立大学 生物資源科学部、理化学研究所、株式会社坂本バイオ

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2006年度）

### 1. 目的

前年度まで、色素細胞分化誘導物質としてキク科植物より、ルパン型トリテルペンを単離し、抗白髪剤やメラノーマ分化誘導治療薬としての産業化にむけて、種々の研究を展開してきた。本年度は、無処理ならびに、ルパン型トリテルペン処理したマウスマラノーマ細胞株（B16 2F2）における遺伝子発現プロファイルを、マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析により調べた（秋田県立大、理研との共同研究）。さらに、これら *in vitro* における知見を、鳥取大学農学部との共同研究であるイヌメラノーマに対する治療効果とともに考察した。

### 2. 方法

B16 2F2 細胞におけるトランスクリプトーム解析は Affymetrix 社 DNA チップを用いた。

### 3. 結果の概要

10  $\mu$ M lupeol 添加で B16 2F2 細胞は 24 時間後からチロシナーゼが発現する。そのため、本年度は分化初期（12 時間まで）における遺伝子発現プロファイルを調べた。Lupeol 処理 12 時間では、チロシナーゼの転写因子である MITF の発現量が、無処理と比較して約 3 倍になるなど、色素細胞分化のパラメーターが上昇し、分化が誘導されていることが確認された。さらに、解析を進めた結果、癌細胞で過剰発現が認められている分子群の発現抑制が確認された。また、イヌメラノーマに対する lupeol の効果としては多くの症例で癌の消失等のレスポンスが認められており、分子レベルでの解析と臨床レベルでの治療効果が一致した。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

トランスクリプトーム解析については、更に処理時間をのばし、分化誘導後期のプロファイルを作成する。

### 5. 結果の発表、活用等

なし。



## 完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

### (4)高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

#### ①色素細胞分化誘導因子の探索と作用機序解明

担当部署：食品機能グループ

担当者名：畠恵司

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2003～2006年度）

## 1. 目的

皮膚のシミ・くすみおよび白髪は、加齢に伴いメラニン産生の異常によるものである。これまでの研究より、幾つかの食材についてメラニン産生を制御することが判明した。そこで、本課題では、それら食材に関して県内企業と共同研究を進め、化粧品産業への応用を図る。

## 2. 方法

### 1)安全性試験（9項目）

経口単回投与、一時刺激、連続刺激、感作性、光刺激、光感作性、突然変異、眼刺激性、ヒトパッチ試験について行った。

### 2)動物試験

褐色モルモットの皮膚に2回/day塗布し、3日間隔で、色差計で明度を測定。同時に、皮膚のあれ具合など所見を観察した。

## 3. 結果の概要

### 1)鹿角霊芝を活用した美白化粧品素材の開発

エキスに関しては、GANO<sup>TM</sup>として開発し、化粧品メーカー等に供給している。また、活性物質である ergosterol peroxide については、安全性試験が終了し、化粧品素材として販売予定。

### 2)アキノノゲシを活用した抗白髪化粧品素材の開発

エキス調製法などの基礎実験は終了。現在、褐色モルモットを用いた in vivo での作用確認および安全性試験を実施中。

### 3)ルパン型トリテルペンの生理機能ならびにその応用

ルパン型トリテルペンの作用機構を、複数の機関との共同研究において分子レベルで解明した。また、その過程で悪性黒色腫に対して選択的な分化誘導治療物質であることが判明した。今後も in vitro ならびに in vivo 両面で研究を続けていく。

## 4. 成果の活用面と留意点

### 1)開発製品

株坂本バイオから鹿角霊芝エキス GANO<sup>TM</sup>が平成18年2月に販売された。現在、化粧品素材メーカー、通販化粧品メーカーおよび化粧品素材メーカーなど5社に対して供給を行っている。

### 2)特許出願

①メラニン産生促進剤及びメラニン産生促進用組成物. 特開 2004-345959 (2004)



②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.

特開 2006-151902 (2006)

3)国際学会発表

- ①○Hata K. et al., Pharmaceutical Science World Congress 2004, May 30-June 3 2004 (Kyoto)
- ②○Hata K. et al., 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOMB Congress, June 18-23 2006 (Kyoto)
- ③○Mukaiyama T. et al., The 19<sup>th</sup> Annual and International Meetings of the Japanese Association for Animal Cell Technology, September 25-28 2006 (Kyoto)
- ④○Hata K. et al., The 19<sup>th</sup> Annual and International Meetings of the Japanese Association for Animal Cell Technology, September 25-28 2006 (Kyoto)

4)誌上発表

- ①Hata K. et al., Anti-Leukemia Activities of Lup-28-al-20(29)-en-3-one, a Lupane Triterpene. *Toxicol. Lett.*, **143**, 1-7 (2003)
- ②Hata K. et al., Role of p38 MAPK in Lupeol-Induced B16 2F2 Mouse Melanoma Cell Differentiation. *J. Biochem.*, **134**, 441-445 (2003)
- ③畠 他, 食用キノコに含まれる骨粗鬆症予防因子-キンタケから見いだされたステロイド化合物の生理活性-. 化学と生物, **41**, 776-777 (2003)
- ④畠 他, アキノノゲシ (*Lactuca Indica*)由来メラニン合成促進物質. *Natural Medicines*, **57**, 304-307 (2003)
- ⑤坂本 他, 鹿角霊芝の機能性の検討. *New Food Industry*, **46**, 6-11 (2004)
- ⑥畠 他, カバノアナタケ (*Fuscoripia obliqua*)メタノールエキスのヒト纖維芽細胞株 HT1080 細胞増殖抑制活性. *Natural Medicines*, **59**, 28-35 (2005)
- ⑦ Hata K. et al., Remodeling of Actin Cytoskeleton in Lupeol-Induced B16 2F2 Cell Differentiation. *J. Biochem.*, **138**, 467-472 (2005)
- ⑧畠 他, Lupane型トリテルペンによる色素細胞分化誘導. 生薬学雑誌, **60**, 9-14 (2006)
- ⑨畠 他, 天然成分でメラニン產生制御. 産業技術連携推進会議 東北・北海道地域部会 研究論文集 **5**, 113-116 (2006)
- ⑩畠 他, マンネンタケ由来メラニン產生抑制物質の美白効果. 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, 279-288 (2006)
- ⑪秋山 他, 秋田県の機能性食品に対する取り組み. 食品と開発, **42**, 60-61 (2007)
- ⑫Mukaiyama T. et al., Anti-melanogenic Activity of Ergosterol Peroxide from *Ganoderma Lucidum* on a Mouse Melanoma Cell Line., *The Proceedings of the JAACT Kyoto*, in press
- ⑬Hata K. et al., Differentiation-Inducing Activities of Lupane Triterpenes from *Lactuca Indica* on a Mouse Melanoma Cell Line., *The Proceedings of the JAACT Kyoto*, in press

5. 残された問題とその対応

今後も産業化を前提に、関係機関と連携を強化する。

## 単年度試験研究課題(2007年2月作成)

研究課題: 新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

### (4) 高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

#### ② 香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用

担当部署: 酵素・微生物グループ

担当者名: 堀 一之

協力分担:

予算区分: 県単

研究期間: 完 2006年度(2003~2006年度)

## 1. 目的

本研究は、いわゆる生活習慣病(糖尿病合併症、高血圧症、メラノーマ細胞による抗白髪など)に評価を絞り、秋田にある食材の中から新たなる高齢疾患の予防・抑止につながる知見を得ようとするものである。当該小課題では、秋田に特徴的な香味系野菜の未利用部位を含み未だ詳細な成分検討がなされていないものについて大量抽出による含有成分検討を実施し、各種評価系に供し検討することを目的とする。

すでに2005年度までミョウガ間引き地上部および食用部位(花蕾)について含有成分検討を行ったが、当該年度は、秋田で特異に食用としているセリの地下部分について詳細な含有成分を検討する。

## 2. 方法

1) 研究材料: セリはこまち農協(湯沢営農センター・湯沢市三関産)より入手(2006・1月、10 kg)した。そのうち地下の根部は3.8 kgであった。

2) 抽出分離: 根部3.8 kgを新鮮な状態で細切し液体窒素を用いて急速凍結後凍結乾燥させた(310 g)。これを粉碎しメタノールで加熱還流抽出を行い熱メタノールエキス(58 g)を得、クロロホルム-メタノール-水(4:4:3)で振り分けした下層(43 g)について、シリカゲル、セファデックスLH-20の常圧、中圧クロマトおよび遠心液々クロマトを組み合わせて分離実験を行い12種の含有成分の化学構造を確認した。また比較実験として湯沢三関産セリの地上部と根部ならびに秋田市場品のセリ(宮城県産、千葉県産)それぞれの凍結乾燥品について粗脂質含量をクロロホルム:メタノール混液抽出法により測定した。

## 3. 結果の概要

本研究で明らかとなったA~M(Iは誤解を避けるため除いた、低極性~高極性順)12種含有成分の化学構造あるいは一般名称を図2に示した。主成分Aはいわゆる脂肪油であるTAG(トリアシルグリセロール、6.6 g)であり、凍結乾燥品の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。そのほか脂肪酸関連化合物であるB、H、L、Mを合わせれば11g近くの含量となる。実際、三関産根部の粗脂質は12.2 g/100 gに対して、各地の地上部は1.2~1.8 g/100 gとなった。以上の結果からセリの根のおいしさは圧倒的な脂肪酸関連化合物が寄与していることが示唆された。

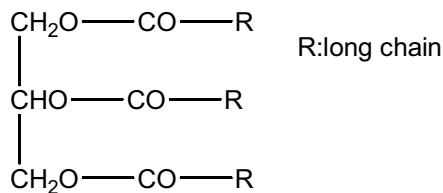
## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今回、マイナー成分として得られたポリアセチレン化合物D、Eおよびクマリン化合物F、Gは特異な化合物である。引き継ぐ新テーマ「県産食材の生理機能性を活用した高齢者向け食品の開発」の中で各種機能性評価に供し、付加価値向上につなげたい。

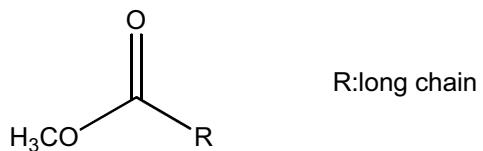
## 5. 結果の発表、活用等

本内容については日本薬学会第127年会(富山、2007年3月)にて発表予定。

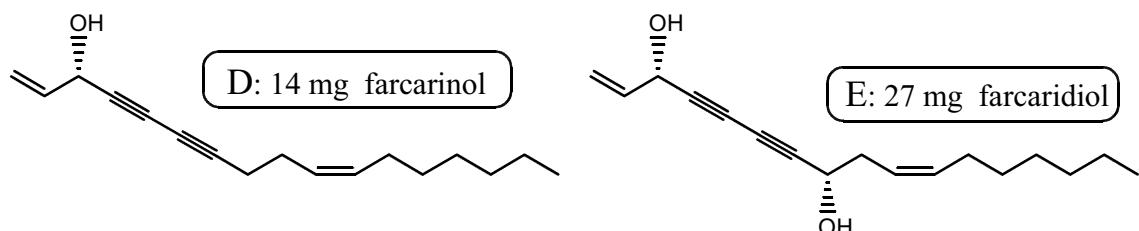
**A: 6.6 g TAG triacylglycerol (fatty oil)**



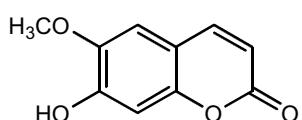
**B: 0.72 g fattyacid methyl ester**



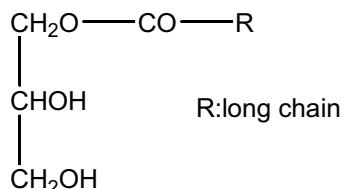
**C: 1.8 g sterol**



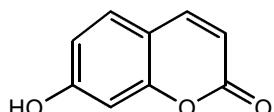
**F: 145 mg scopoletin**



**H: 1.1 g MAG monoacylglycerol**



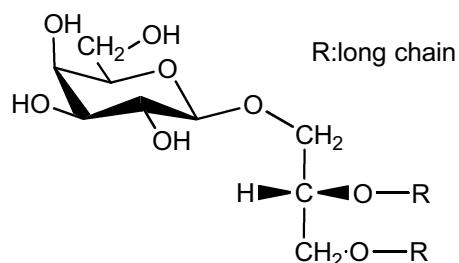
**G: 122 mg umbelliferone**



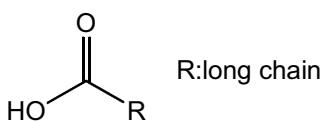
**J: 0.77 g sterol glucoside-6-Me ester**

**K: 0.42 g DEHP**

**L: 0.55 g MGDG**



**M: 1.40 g free fattyacid**



  fatty acid deriv.  
 polyacetylene compd.  
  coumarin compd.

完了試験研究課題(2007年2月作成)

研究課題:新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(4)高齢疾患予防因子の探索と構造機能相関解析

②香味を有する地域特徴野菜の機能性成分探索と応用

③癌細胞転移抑制物質の探索と構造・特性解明

担当部署:酵素・微生物グループ、食品機能グループ

担当者名:堀 一之、樋渡一之、畠 恵司

協力分担:

予算区分:県単

研究期間: 2003~2006年度

## 1. 目的

本研究はいわゆる生活習慣病に係わる評価系を用い、地域特有の食材資源から新たなる高齢疾患の予防・抑止につながる知見を得ようとするものである。当該小課題のうち②としては、秋田に特産あるいは大規模栽培がされているが、未だその含有成分について詳細が検討がなされていないものとしてミョウガ(間引きされる地上部と食用とされる花蕾部分)およびセリの根部分について、比較的低極性の含有成分の精査を行う。また小課題③としては癌の転移・浸潤に関係があるとされているマトリクスメタロプロテアーゼを阻害する評価系としてゼラチンザイモグラフィーによる感度の高い活性測定法を利用し、迅速かつ評価処理数の効率化を図るべく蛍光消光型合成ペプチド基質による評価系の確立を目指した。

## 2. 方法

②ミョウガ間引き地上部は能代市農業技術センター、ミョウガ花蕾(食用)部はあきた白神農協、セリについてはこまち農協湯沢営農センターからそれぞれ入手した。適宜の抽出分離を経て含有化合物を単離し、核磁気共鳴(NMR)や質量分析(MS)などの各種スペクトルの解析と化学誘導を駆使してこれらの化学構造を解析した。

③蛍光消光型合成ペプチド基質としてはMoC<sub>Ac</sub>-Pro-Leu-Gly-Leu-Gly-A2pr(Dnp)-Ala-Arg-NH<sub>2</sub>(ペプチド研究所)を用い 4-aminophenylmercuric acetate (AMPA)で活性化したMMP-2を添加し、一定時間反応させ、分解された基質の蛍光強度の測定方法を確立し、食材エキスライブラリーならびに③の実験をはじめとして当研究所で保有する食材由来の含有成分のいくつかについてMMP-2阻害を測定、評価した。

## 3. 結果の概要

②ミョウガ間引き部から、 $\alpha$ リノレン酸のみをエステル部分とする4種をはじめとする11種の化合物の化学構造を明らかにした。さらに、ミョウガ花蕾部の含有成分としては、比較的高含量で植物由来としては珍しく保湿作用が知られているセレブロシド(グルコシルセラミド)類2種を含む12種の化合物が得られた。さらに、セリ根部には乾燥重量の2%強の脂肪油をはじめとする脂肪酸関連物質の存在が確認され根のおいしさへの関与が示唆されるとともに、ポリアセチレンやクマリンなどセリ特有の化合物が得られた。

③蛍光消光基質による本測定法は、手法的には再現性も含め充分な実用性が認められた。しかし、食材エキスライブラリーメタノールエキスの多くに評価に係わる波長域に吸収あるいは蛍光が認められ活性測定上妨害を受けることが判明した。また、食材由来の含有成分評価としてはゼラチンザイモグラフィーでMMP阻害が現れたミョウガ間引き部由来のグリセロ糖脂質類は、蛍光消光基質測定法での活性がなく、他に試験に供した化合物に有為な活性を示すものは無かった。

#### 4. 成果の活用面と留意点

小課題②に関して学会発表3件を行った。

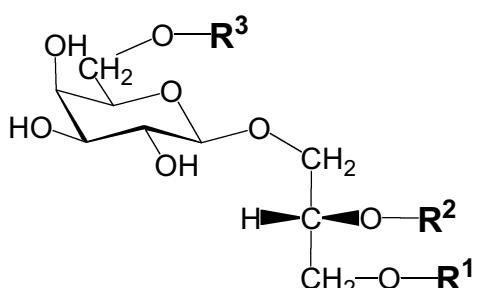
本課題は研究所全体のテーマ重点化・見直しに伴い研究期間を1年短縮して新テーマ「県産食材の生理機能性を活用した高齢者向け食品の開発」に移行する。MMP阻害だけでなく、アディポネクチン増加因子などの新たな生理機能評価系によるこれら保有化合物の生理機能評価によるメタボリックシンドローム予防などに寄与できる食品開発の基盤としてこれらの研究結果を活用する。

なお小課題③主担当者は北東北人事交流の為最終年度(2006年度)青森県に派遣された。

#### 5. 残された問題とその対応

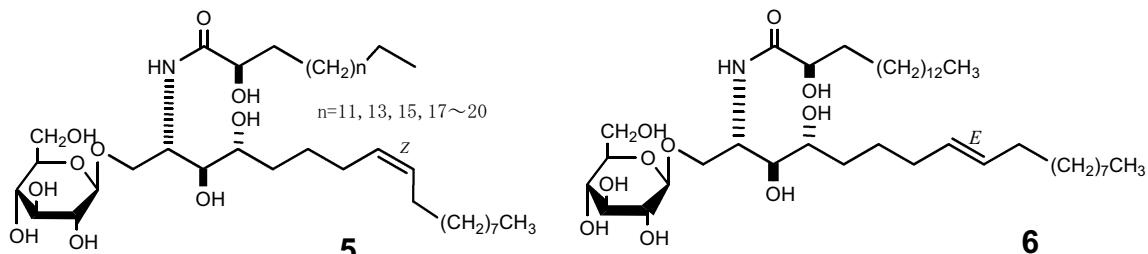
特になし。

#### ミョウガ間引き地上部由来グリセロ糖脂質

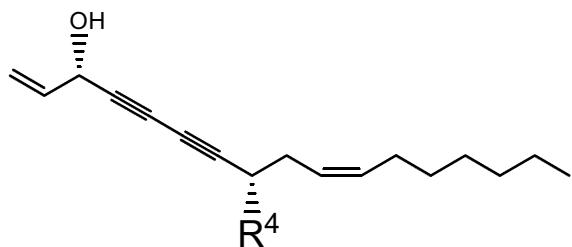


- 1**  $R^1, R^2, R^3: \alpha\text{-Lnn}$
- 2**  $R^1: \alpha\text{-Lnn}; R^2: H; R^3: \alpha\text{-Lnn}$
- 3**  $R^1, R^2: \alpha\text{-Lnn}; R^3: H$
- 4**  $R^1, R^2: \alpha\text{-Lnn}; R^3: \alpha\text{-D-Gal}$

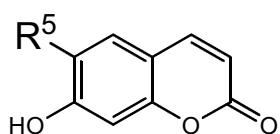
#### ミョウガ花蕾由来セレブロシド



#### セリ根由来ポリアセチレン・クマリン



- 7**  $R^4: H$  (farcarinol)
- 8**  $R^4: OH$  (farcaridiol)



- 9**  $R^5: H$  (umbelliferone)
- 10**  $R^5: OCH_3$  (scopoletin)

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(5) 新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

①コラゲナーゼ活性阻害効果のあるホップポリフェノールを原料とした新規アルコール飲料の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：進藤 昌

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

国産果実酒の現状は、農業の構造問題、国産果実酒の低価格化、低価格輸入果実酒の増大、流通の激変、国産果実酒文化の変遷や形成不全等の問題を抱え、非常に厳しい状況にある。これは県内産果実酒も例外ではない。一方で近年の健康ブームにより、果実酒中に存在するポリフェノールの機能性が注目されており、消費者の需要も伸びつつある。そこで機能性を持つポリフェノールの含有量が、果実酒の熟成年数によりどのように変化するかを解析し、高い機能性を付与した果実酒を開発することで、県内産果実酒の品質の高度化と市場の拡大に大きく貢献できると期待される。また、ポリフェノール以外の新規な機能性成分を秋田県産ワインから見つけだし、その成分を増強したワインを開発することにより県外メーカーワインとの差別化を達成できる。

平成18年度は、コラゲナーゼ阻害活性を持つ新規アルコール飲料の開発を行なった。

### 2. 方法

コラゲナーゼ阻害活性の測定は蛍光標識ゼラチン (*pig skin*) を基質としてコラゲナーゼタイプIV ((*Clostridium histolyticum*)を用いて反応を行い、反応終了液の上清を蛍光マイクロプレートリーダーを用いて励起波長485nm、蛍光波長520nmで蛍光強度の測定を行い活性を調べた。

リキュールの製造は、吟醸酒または焼酎にホップを0.0125g～0.1g入れ、室温で2時間静置した後ホップを取り除いた。エキスは砂糖を用いて2%に調製した。また、リキュールの加熱処理は、60℃で10分間保持した。

### 3. 結果の概要

#### 前年度までの結果

- ・県内産果実酒12種類のマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）阻害活性を調べたところ、プラムおよび山葡萄を原料にして醸造したワインに高い阻害活性が見られた。その他の果実を原料にした果実酒では阻害活性が見られなかった。
- ・MMP阻害活性とポリフェノール含量の相関を調べた結果、ポリフェノール含量が高いほどMMP阻害活性が高いことが示唆された。しかし、同じポリフェノール濃度でも阻害活性に差が見られたことより、ポリフェノール以外の物質も関与していると考えられる。
- ・MMP阻害活性の高かった果実酒を中心に、ヒトI型コラゲナーゼの阻害活性を調べた。その結果、プラムの赤ワインとブルーベリーワインの阻害活性が高かった。ヒトI型コラゲナーゼはポリフェノールにより強く阻害されることが判っており、プラムとブルーベリーのポリフェノールが阻害に関与したと推察される。

#### 本年度の結果

##### ホップを添加した日本酒ベースのリキュールの試作

日本酒100mlにホップを0.0125g～0.1g入れホップ成分を抽出させた後、ホップを取り除き、一つの試験区はそのまま常温で、もう一方の試験区は60℃で10分間加熱した後MMP阻害活

性の測定と官能検査を行なった。その結果、図1に示したようにホップを0.05g以上添加すると高いMM P阻害活性を示すことが判明した。しかし、加熱処理を行なうとその阻害活性が低下した。これは、加熱によりポリフェノールとタンパクが反応することにより効果が低減したものと推察される。また、官能検査では、ホップ含量0.025gが最も評価が高く、また加熱処理することによりえぐ味が発生した。このえぐ味は、ホップに含まれるアルファー酸がイソ化することにより生じたものと推察される。以上の結果より、MM P阻害効果と香味の評価のバランスよりホップを0.05g添加した非加熱製造法が最適であると判断された。

#### ホップを添加した焼酎ベースのリキュールの試作

焼酎100mlにホップを0.0125g～0.1g入れホップ成分を抽出させた後、ホップを取り除き、一つの試験区はそのまま常温で、もう一方の試験区は60°Cで10分間加熱した後MM P阻害活性の測定と官能検査を行なった。その結果、図2に示したようにホップを0.05g以上添加すると高いMM P阻害活性を示すことが判明した。しかし、この阻害値は日本酒をベースとした場合に比較して低いものであった。また、焼酎では、加熱処理による阻害活性の低下は起こらなかった。官能検査では、ホップ含量0.025gが最も良かった。

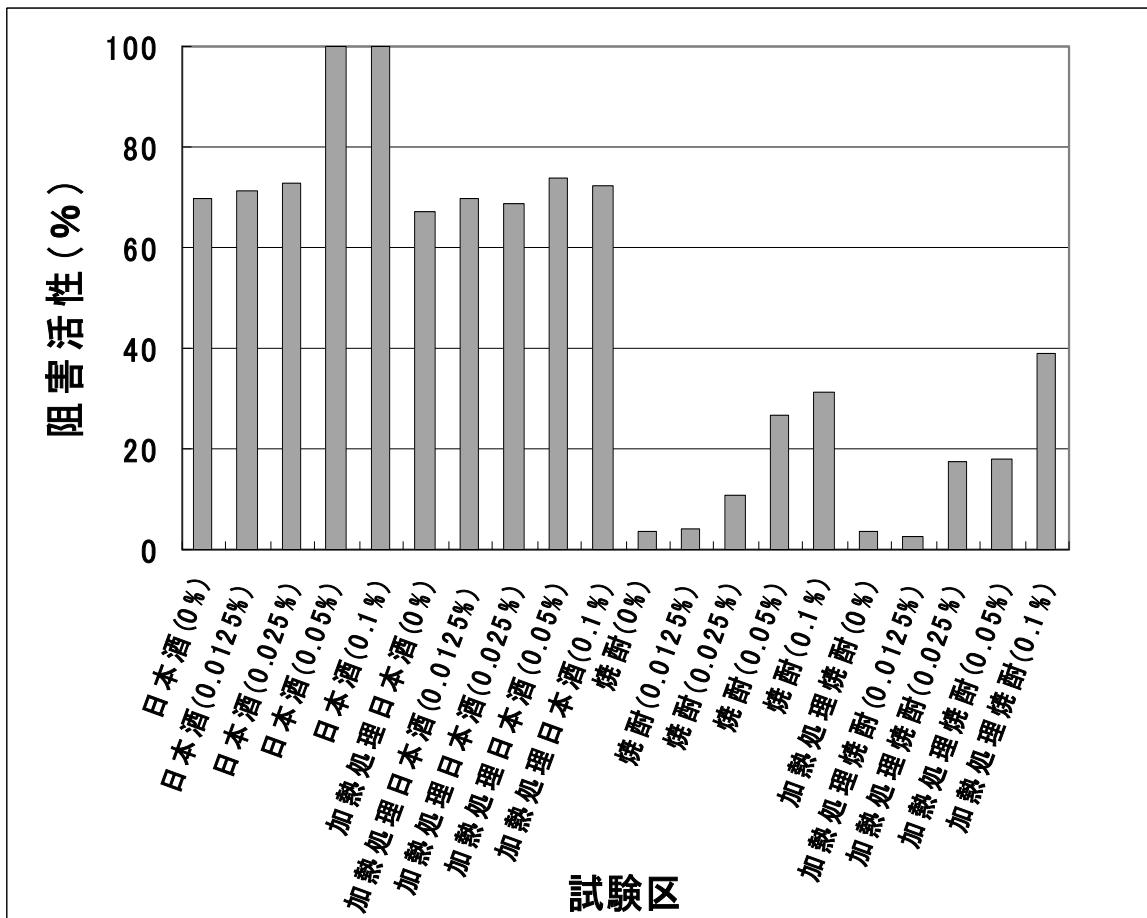


図1 ホップを添加したアルコール飲料のMM P阻害活性

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

普及に向けて県内企業への技術移転を行なう。

#### 5. 結果の発表、活用等

特になし

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(5) 新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

①コラゲナーゼ活性阻害効果のあるホップポリフェノールを原料とした新規アルコール飲料の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：進藤 昌

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：完 2004～2006年度

## 1. 目的

国産果実酒の現状は、農業の構造問題、国産果実酒の低価格化、低価格輸入果実酒の増大、流通の激変、国産果実酒文化の変遷や形成不全等の問題を抱え、非常に厳しい状況にある。これは県内産果実酒も例外ではない。一方で近年の健康ブームにより、果実酒中に存在するポリフェノールの機能性が注目されており、消費者の需要も伸びつつある。そこで機能性を持つポリフェノールの含有量が、果実酒の熟成年数によりどのように変化するかを解析し、高い機能性を付与した果実酒を開発することで、県内産果実酒の品質の高度化と市場の拡大に大きく貢献できると期待される。また、ポリフェノール以外の新規な機能性成分を秋田県産ワインから見つけだし、その成分を増強したワインを開発することにより県外メーカーワインとの差別化を達成できる。

## 2. 方法

ヒトI型コラゲナーゼの阻害活性は、蛍光標識されたI型コラーゲンを基質としてI型コラゲナーゼを用いて反応を行い、反応終了液の上清を蛍光光度分光光度計を用いて励起波長495nm、蛍光波長520nmで蛍光強度の測定を行い活性を調べた。マトリックスメタロプロテアーゼ（ MMP）阻害活性の測定は蛍光標識ゼラチン（pig skin）を基質としてコラゲナーゼタイプIV (*Clostridium histolyticum*)を用いて反応を行い、反応終了液の上清を蛍光マイクロプレートリーダーを用いて励起波長485nm、蛍光波長520nmで蛍光強度の測定を行い活性を調べた。

## 3. 結果の概要

- ・県内産果実酒12種類のMMP阻害活性を調べたところ、プラムおよび山葡萄を原料にして醸造したワインに高い阻害活性が見られた。その他の果実を原料にした果実酒では阻害活性が見られなかった。
- ・MMP阻害活性とポリフェノール含量の相関を調べた結果、ポリフェノール含量が高いほどMMP阻害活性が高いことが示唆された。しかし、同じポリフェノール濃度でも阻害活性に差が見られたことより、ポリフェノール以外の物質も関与していると考えられる。
- ・MMP阻害活性の高かった果実酒を中心に、ヒトI型コラゲナーゼの阻害活性を調べた。その結果、表1に示したように、プラムの赤ワインとブルーベリーワインの阻害活性が高かった。ヒトI型コラゲナーゼはポリフェノールにより強く阻害されることが判っており、プラムとブルーベリーのポリフェノールが阻害に関与したと推察される。
- ・ホップには強い糖尿病合併症阻害効果があることが判っている。そこで、ホップを原料としたリキュールの可能性について検討を行った。

### ホップを添加した日本酒ベースのリキュールの試作

日本酒100mlにホップを0.0125g～0.1g入れホップ成分を抽出させた後、ホップを取り除き、一つの試験区はそのまま常温で、もう一方の試験区は60℃で10分間加熱した後MMP阻害活性の測定と官能検査を行なった。その結果、図1に示したようにホップを0.05g以上添加すると

高いMMP阻害活性を示すことが判明した。しかし、加熱処理を行なうとその阻害活性が低下した。これは、加熱によりポリフェノールとタンパクが反応することにより効果が低減したものと推察される。また、官能検査では、ホップ含量 0.025g が最も評価が高く、また加熱処理することによりえぐ味が発生した。以上の結果より、MMP阻害効果と香味の評価のバランスよりホップを 0.05g 添加した非加熱製造法が最適であると判断された。

### ホップを添加した焼酎ベースのリキュールの試作

焼酎 100ml にホップを 0.0125g～0.1g 入れホップ成分を抽出させた後、ホップを取り除き、一つの試験区はそのまま常温で、もう一方の試験区は 60℃で 10 分間加熱した後 MMP 阻害活性の測定と官能検査を行なった。その結果、図 1 に示したようにホップを 0.05g 以上添加すると高いMMP 阻害活性を示すことが判明した。しかし、この阻害値は日本酒をベースとした場合に比較して低いものであった。また、焼酎では、加熱処理による阻害活性の低下は起らなかった。官能検査では、ホップ含量 0.025g が最も良かった。

表1 県内産果実酒の I 型コラゲナーゼ阻害活性

果実酒	原料	I 型コラゲナーゼ 阻害活性(%)
葛巻ロゼ	ぶどう	45
ブルーベリーワイン	ブルーベリー	74
薰風	リンゴ	58
かまくらワイン	ぶどう	61
プラムの舞	プラム	61
高城プラムワイン	プラム(白ワイン)	ND
太陽の華	プラム(赤ワイン)	71
十和田湖高原ワイン	山葡萄	61

ND:not detected

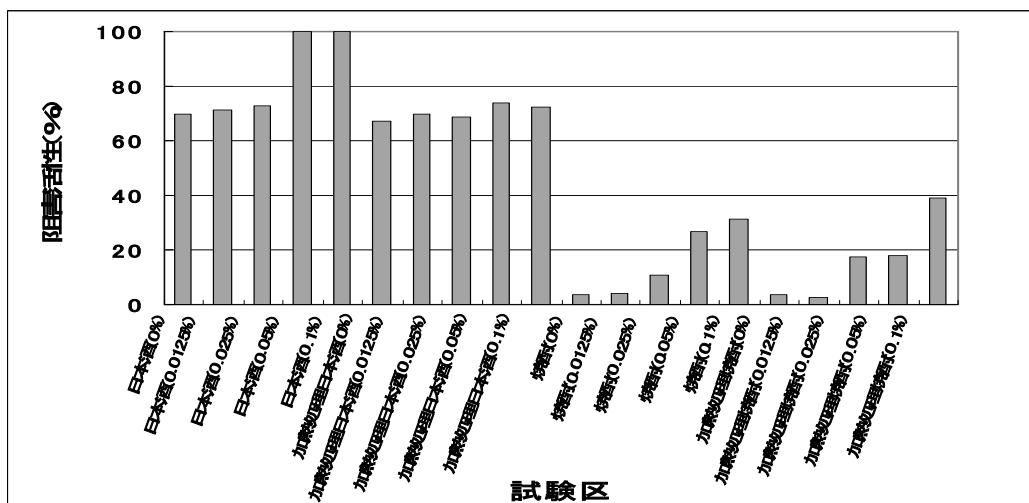


図1 ホップを添加したアルコール飲料のMMP阻害活性

### 4. 成果の活用面と留意点

県内企業への技術移転を行なう。

### 5. 残された問題とその対応

県内産ホップの入手方法について検討する。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能の解析とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(5) 新規機能性を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

②アルドースレダクターゼ阻害活性をもつ果実酒の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：戸松 さやか

協力分担：University of Economic science and Public Administration (Hungary)

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2004～2006年度）

### 1. 目的

県産果実酒は、低価格化、低価格輸入果実酒の増大等の問題を抱え、厳しい状況にある。秋田県ワイン協議会を設立してから、県内の果実酒業界から当研究所に対し、果実酒への機能性を中心とした付加価値を付与するための研究を行って欲しいとの要望が出されていた。そこで新規な機能性成分の探索とその成分を増強した果実酒等の開発をし、県内産果実酒等の品質の高度化と、差別化による市場拡大を目指す。

昨年度までに糖尿病合併症治療への有効性が注目されているアルドースレダクターゼ(AR)阻害について調べ、ワイン酵母の発酵代謝産物に AR 阻害活性があることが示唆された。今年度はこの AR 活性阻害成分について調べ、阻害活性の強いワインの醸造方法を検討した。

### 2. 方法

(1) AR 阻害活性の測定：ヒト筋肉細胞起源の組み換え体 AR を用い、グリセルアルデヒドとの反応により消費される NADPH の吸光度変化を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。

(2) 供試菌株：LALLEMAND 社 乾燥酵母 16 種、日本醸造協会ぶどう酒用酵母 3 種の計 19 種類。

(3) 小仕込み試験：酵母を YPD 液体培地で 25°C、2 日間静置培養し、さらに果汁で拡大培養した後、2006 年度秋田県横手市産のリースリング果汁 1L（糖度 22% に補糖）に 5% 添加した。仕込み温度は 25°C、16°C とし発酵状態を見ながらもろみ管理をした。

(4) 成分分析：総フェノール量の測定はフォーリン・シオカルト法で行い、没食子酸の標準液で検量線を作成し、算出した。また、有機酸は東京理化カルボン酸分析 S-3000 で測定し、ワインの一般分析は国税庁所定分析法に従い行った。

### 3. 結果の概要

#### 前年度までの結果

(1) 秋田県産果実酒の AR 阻害活性

プラムやブルーベリーを原料にした果実酒及び赤ワインで AR 阻害活性が高く、総フェノール量との相関関係が見られた。また果汁とそれを発酵してできたワインを比較したところワインの阻害活性が高く、ワイン酵母の発酵代謝産物による阻害が示唆された。

(2) 機能性成分の検討

果汁およびそれを発酵してできたワインを分画したところ、アントシアニンやフラボノール等が含まれていると思われる画分 C とワインのフェノール酸を含む画分 B に強い AR 阻害活性が認められた。

#### 本年度の結果

(1) 機能性成分の検討

ワインの画分 B をシリカゲルで分画したところ、コハク酸と数種類の物質が含まれている事が HPLC、NMR、GC 等の結果から明らかになった。コハク酸は発酵により生じる有機酸で、強い AR 阻

害剤ではないが、生成されたコハク酸量では阻害活性が認められる。また、この画分に共存する他の物質との相乗効果による、阻害活性の増強が推察された。

## (2) AR 阻害活性に及ぼすワイン醸造条件の影響

果汁及び合成培地 5ml で発酵を行い検討した結果、酵母の種類により AR 阻害活性に差が認められた(図 1)。また、発酵温度は 25°C 前後、窒素量は 200mg/l で阻害活性が高く、酵母が健全な発酵を行う条件であった。さらに、スキンコンタクトによる影響を調べたところ、時間が長いほど阻害活性が強くなり、総フェノール量と相関が見られた。

## (3) 1L スケールでの AR 阻害活性に及ぼすワイン醸造条件の影響 (小仕込み試験)

スキンコンタクトはワインの品質を考慮して 3 時間とし、リン酸アンモニウムで窒素量を調整し、酵母を比較的阻害活性の高い LALVIN 71B、uvaferm 43、ENOFERM BDX 用いて 25°C と、対照として一般的な白ワインの発酵温度 16°C で発酵を行ったところ、対照と比べて AR 阻害活性の高いワインが醸造できた(表 1)。官能試験の結果は、重厚感があり爽快感にかけたことで、ブドウ品種の特徴が出なかったことから、16°C で発酵を行った方が好まれる傾向にあった。AR 阻害活性の高いワインを作るためにはブドウ品種の選抜も必要であると思われた。

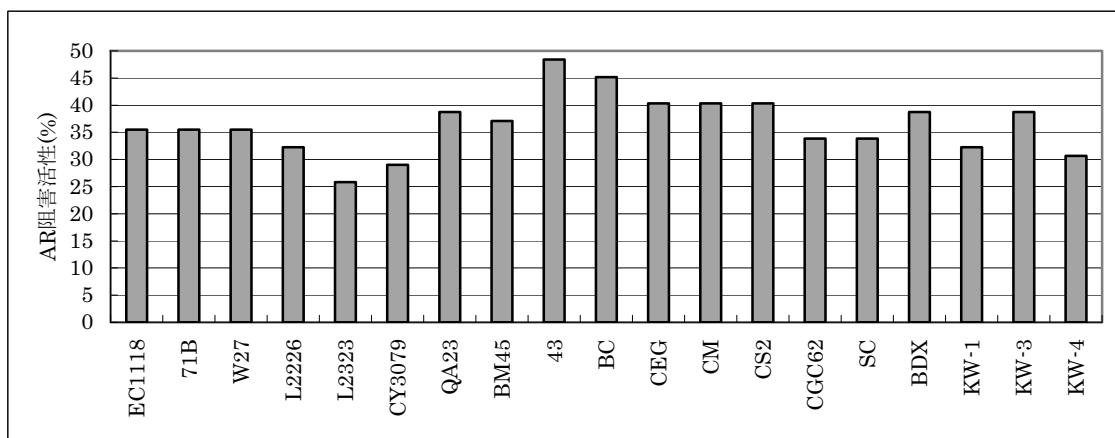


図 1. 酵母による AR 阻害活性への影響

表 1. 小仕込み試験ワインの成分

発酵温度	酵母	pH	アルコール(%)	酸度(ml)	エキス (g/100ml)	コハク酸 (mg/100ml)	総フェノール (ppm)	AR阻害 活性(%)
16°C	71B	2.78	10.05	15.718	6.47	71.86	396.50	39.53
	43	2.68	10.50	17.354	6.30	76.16	439.39	37.21
	BDX	2.66	10.35	18.514	6.23	73.78	408.52	34.88
25°C	71B	2.66	10.70	15.805	5.74	101.28	436.79	45.73
	43	2.65	10.75	18.070	5.96	124.00	471.89	46.34
	BDX	2.64	10.70	17.642	5.69	88.10	416.65	45.73

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究上の残された問題点：ワインの強い AR 阻害活性は果汁と共にポリフェノールを多く含む画分にみられ、その成分の検討は必要と思われる。

必要な協力関係 : University of Economic science and Public Administration (Hungary)

## 5. 結果の発表、活用等

日本農芸化学会 2005 年度大会にて発表

2005 年 7 月 特許出願：特許公開 2007-031326

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能の解析とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

（5）新規機能性を付与した果実酒・蒸留酒の開発

②アルドースレダクターゼ阻害活性をもつ果実酒の開発

担当部署：環境・食品安全グループ

担当者名：戸松 さやか、

協力分担：University of Economic science and Public Administration (Hungary)

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度

## 1. 目的

県産果実酒は、低価格化、低価格輸入果実酒の増大等の問題を抱え、厳しい状況にある。秋田県ワイン協議会を設立してから、県内の果実酒業界から当研究所に対し、果実酒への機能性を中心とした付加価値を付与するための研究を行って欲しいとの要望が出されていた。そこで新規な機能性成分の探索とその成分を増強した果実酒等の開発をし、県内産果実酒等の品質の高度化と、差別化による市場拡大を目指す。

一方、生活習慣病の代表ともいえる糖尿病のもっとも恐ろしいことは合併症の発症であるといわれている。合併症は細胞内の高濃度グルコースがアルドースレダクターゼ(AR)によって変換されたソルビトールに因って発症すると考えられており、AR阻害剤の合併症治療への有効性が注目されている。

そこで、本研究では県産果実酒の機能性検索を目的に AR 阻害活性を調べ、AR 阻害活性の高いワインの醸造方法を検討した。

## 2. 方法

(1) AR 阻害活性の測定：ヒト筋肉細胞起源の組み換え体 AR を用い、グリセルアルデヒドとの反応により消費される NADPH の吸光度変化を測定し、コントロールとの比較から阻害率を算出した。

(2) 果汁およびワインの分画：前報<sup>1)</sup>に従い行った。

(3) 供試菌株：LALLEMAND 社 乾燥酵母 16 種、日本醸造協会ぶどう酒用酵母 3 種の計 19 種類。

(4) 小仕込み試験：酵母を YPD 液体培地で 25°C、2 日間静置培養し、さらに果汁で拡大培養した後、2006 年度秋田県横手市産のリースリング果汁 1L (糖度 22% に補糖) に 5% 添加した。仕込み温度は 25°C、16°C とし発酵状態を見ながらもろみ管理をした。

(5) 成分分析：総フェノール量の測定はフォーリン・シオカルト法で行い、没食子酸の標準液で検量線を作成し、算出した。また、有機酸は東京理化カルボン酸分析 S-3000 で測定し、ワインの一般分析は国税庁所定分析法に従い行った。

## 3. 結果の概要

(1) 秋田県産果実酒の AR 阻害活性

プラムやブルーベリーを原料にした果実酒及び赤ワインで AR 阻害活性が高く、総フェノール量との相関関係が見られた(図 1)。また果汁とそれを発酵してできたワインを比較したところワインの阻害活性が高く、ワイン酵母の発酵代謝産物による阻害が示唆された。

(2) 機能性成分の検討

果汁およびそれを発酵してできたワインを分画したところ、アントシアニンやフラボノール等が含まれていると思われる画分 C が AR 阻害活性が高く、発酵前後では大きな差が見られなかった。またフェノール酸を含む画分 B で発酵後に阻害活性が高まることが分かった(図 2)。この活性画分をシリカゲルで分画したところ、コハク酸と数種類の物質が含まれていることが HPLC、NMR、

GC 等の結果から明らかになった。コハク酸は発酵により生じる有機酸で、強い AR 阻害剤ではないが、生成されたコハク酸量では阻害活性が認められる。また、この画分に共存する他の物質との相乗効果による、阻害活性の増強が推察された。

#### (3) AR 阻害活性に及ぼすワイン醸造条件の影響

果汁及び合成培地 5ml で発酵を行い検討した結果、酵母の種類により AR 阻害活性に差が認められた。また、発酵温度は 25°C 前後、窒素量は 200mg/l で阻害活性が高くなり、酵母が健全な発酵を行う条件であった。スキンコンタクトは時間が長いほど阻害活性が高まり、総フェノール量と相関が見られた。

#### (4) 1L スケールでの AR 阻害活性に及ぼすワイン醸造条件の影響（小仕込み試験）

スキンコンタクトはワインの品質を考慮して 3 時間とし、リン酸アンモニウムで窒素量を調整し、酵母を比較的の阻害活性の高い LALVIN 71B、uvaferm 43、ENOFERM BDX を用いて 25°C と、対照として一般的な白ワインの発酵温度 16°C で発酵を行ったところ、対照と比べて AR 阻害活性の高いワインが醸造できた（表 1）。官能試験の結果は、重厚感があり爽快感にかけたことで、ブドウ品種の特徴が出なかったことから、16°C で発酵を行った方が好まれる傾向にあった。AR 阻害活性の高いワインを作るためにはブドウ品種の選抜も必要であると思われた。

1) 試験研究成果概要 秋田県農林水産技術センター 総合食品研究所, p22-23 (2007).

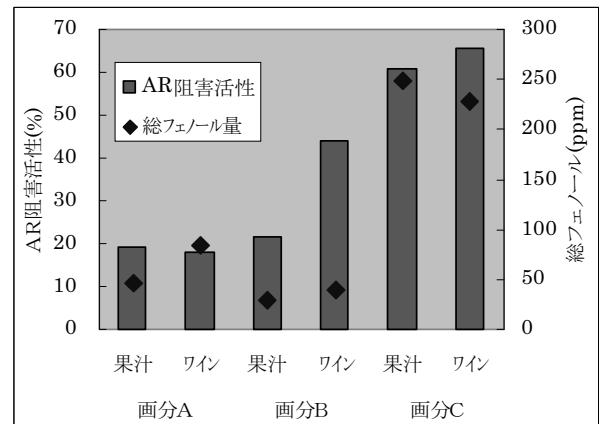
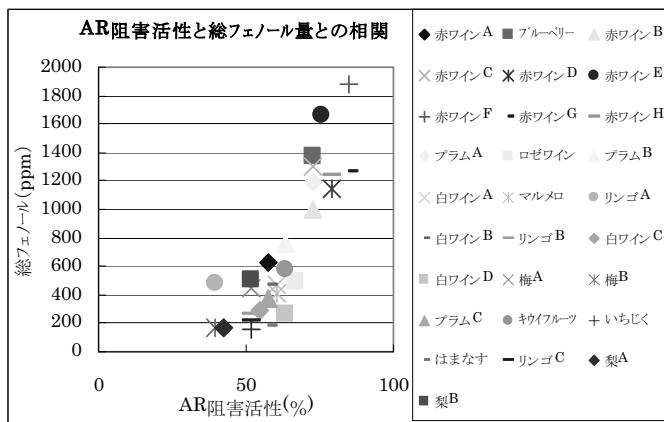


図 1. 県産果実酒の AR 阻害活性と総フェノール量との関係

図 2. フェノール画分の発酵による変化と AR 阻害活性への影響

表 1. 小仕込み試験ワインの成分

発酵温度	酵母	pH	アルコール(%)	酸度(ml)	エキス(g/100ml)	コハク酸(mg/100ml)	総フェノール(ppm)	AR 阻害活性(%)
16°C	71B	2.78	10.05	15.718	6.47	71.86	396.50	39.53
	43	2.68	10.50	17.354	6.30	76.16	439.39	37.21
	BDX	2.66	10.35	18.514	6.23	73.78	408.52	34.88
25°C	71B	2.66	10.70	15.805	5.74	101.28	436.79	45.73
	43	2.65	10.75	18.070	5.96	124.00	471.89	46.34
	BDX	2.64	10.70	17.642	5.69	88.10	416.65	45.73

#### 4. 成果の活用面と留意点

- 日本農芸化学会 2005 年度大会にて発表
- 2005 年 7 月特許出願：特許公開 2007-031326
- 今後、AR 阻害活性を増強する醸造技術を県内企業に技術指導する。

#### 5. 残された問題とその対応

ワインの強い AR 阻害活性は果汁と共にポリフェノールを多く含む画分にみられ、その成分の検討は必要と思われる。現在、検討中。

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：新たな生理機能性の解明とそれを応用した食品及びアルコール飲料の開発

(5) 新規機能性成分を付与した県産果実酒・蒸留酒の開発

③アルコール飲料のマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）阻害活性

担当部署：酒類グループ

担当者名：杉本勇人

協力分担：CORVINUS UNIVERSITY of BUDAPEST Faculty of Food Science (Hungary)

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2004～2006年度）

## 1. 目的

県産果実酒は、低価格化、低価格輸入果実酒の増大等の問題を抱え、厳しい状況にある。秋田県ワイン協議会を設立してから、県内の果実酒業界から当研究所に対し、果実酒への機能性を中心とした付加価値を付与するための研究を行って欲しいとの要望が出されていた。そこで新規な機能性成分の探索とその成分を増強した果実酒・蒸留酒等の開発をし、県内産果実酒・蒸留酒等の品質の高度化と差別化による市場拡大を目指した。

## 2. 方法

ブランデー、ホワイトブランデーは当所製造品および市販品を用いた。マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）活性の一次測定は、蛍光標識ブタ由来コラーゲンを基質としてバクテリア由来コラゲナーゼ (*Clostridium histolyticum*) を用いて反応を行い、これを蛍光光度分光光度計にて、励起波長 495 nm、蛍光波長 515 nm の蛍光強度を測定し、活性を調べた。二次測定は、蛍光標識 I 型または IV 型コラーゲンを基質としてヒト皮膚線維芽細胞由来コラゲナーゼ MMP-1 およびヒト腫瘍細胞由来コラゲナーゼ MMP-2 を用いて反応を行い、反応終了後の上澄みを蛍光光度分光光度計にて、励起波長 495 nm、蛍光波長 520 nm の蛍光強度を測定し、活性を調べた。その他、酒類の一般分析は、国税庁所定分析法注解に従って行った。

## 3. 結果の概要

### 1) ウイスキー・ブランデー類の MMPs 阻害活性

市販のブランデーに強い MMP 阻害活性が見つかった（図 1）。ホワイトブランデー自体に阻害活性はないが、樽貯蔵したものには強い MMP 阻害活性が認められた（図 2）。焦がした樽、焦がしていない樽、それに貯蔵したブランデーは、異なる MMP 阻害活性を示し、樽の種類によっても MMP 阻害活性の違いが見られた（図 2）。

図1 市販ブランデーのコラゲナーゼ阻害活性

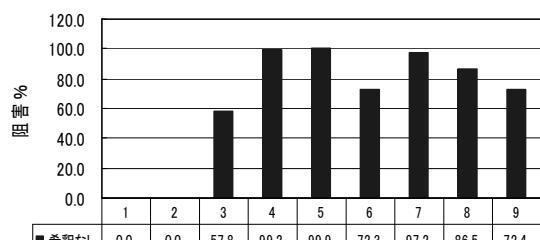
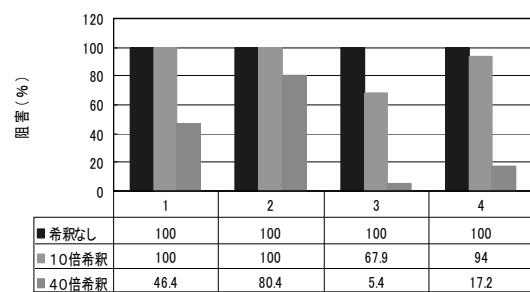


図2 樽詰め後のコラゲナーゼ阻害活性



1～2 ホワイトブランデー、3～9 ブランデー

1 : F. Oak M. T. 2 : F. Oak No T.

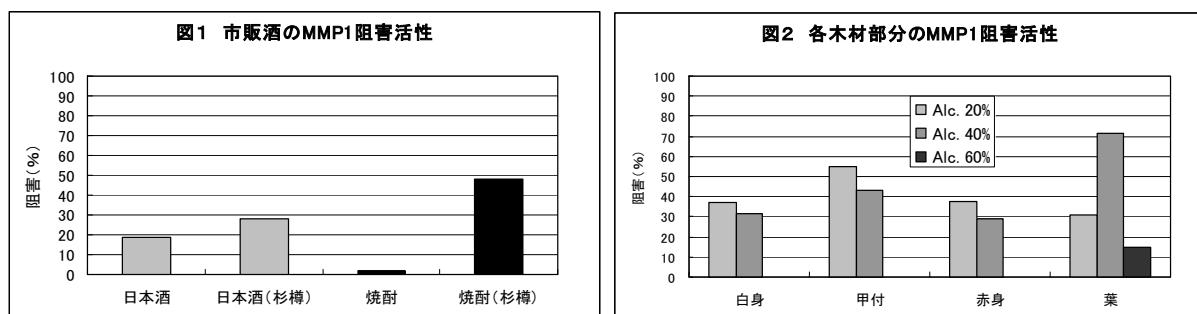
3 : A. Oak M. T. 4 : A. Oak No T.

また樽抽出成分を分画し、MMP 活性阻害成分を探査したところ、リグニンを含む画分に強い

MMP 阻害活性が見られた。一方、リグニン由来の低分子成分であるグアヤコールなどは、MMP 阻害活性が低いか、全く阻害しなかった。同様に、MMP-1 および MMP-2 においても強い阻害活性が見つかった。

## 2) 杉樽貯蔵酒の MMPs 阻害活性

日本酒、焼酎の一部の製品には、杉樽に貯蔵して風味付けした製品がある。そこで、杉樽に貯蔵した日本酒、焼酎の MMP1 阻害活性を測定することにした。市販の杉樽貯蔵した日本酒、焼酎は、貯蔵していないものに比べ、高い MMP1 阻害活性を示すことが解った（図1）。次に、杉樽の特性を調べてみた。杉の内部は外側から「白身」「甲付」「赤身」と、性質の異なる木材部分に分かれているため、それぞれをアルコールで抽出し、MMP1 阻害活性を測定してみた。サンプルは、杉樽貯蔵と同じ条件を杉材チップで再現し、3ヶ月間、15°Cで貯蔵して作成した。実用領域のアルコール度数では、「甲付」が最も高い MMP1 阻害活性を示した（図2）。また、実際には酒類製造に使用されてはいないが、杉の葉で同様のサンプルを作成して MMP1 阻害活性を測定したところ、強い阻害活性が認められた（図2）。



## 3) 蒸留酒添加物の MMPs 阻害活性

蒸留酒、特にウイスキーやブランデーなどのブラウンスピリッツは、樽貯蔵時の色のバラつきを調整するため、カラメル色素が使用されている。カラメルには、食用油の酸化を抑えるなどの抗酸化作用が知られていたが、それ以外の機能性はあまり知られていない。そこで今回、ブラウンスピリッツ唯一の添加物であるカラメルの MMP1 阻害活性を調べてみた。結果、カラメル色素自体に高い MMP1 阻害活性があることがわかった。

このように、蒸留酒中の新たな機能性成分を見出すことができ、これまでの樽貯蔵技術に加えて、更なる機能性付与が可能となった。

## 4. 成果の活用面と留意点

- ・第125回 日本薬学会
- ・特願2005-208887
- ・第126回 日本薬学会

## 5. 残された問題とその対応

この技術を使用した商品開発や市場参入の検討。

单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：温度及び圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発

1)高品位穀類粉末の開発

担当部署：食品機能グループ

担当者名：高橋徹、熊谷昌則、秋山美展

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2006～2008年度）

## 1. 目的

穀類等の焙煎は消化性の向上、殺菌、風味改善等の効果が知られている。主な例としては、焙煎した米を用いた清酒の風味改善、種実の抗酸化性の増強やトリプシンインヒビター等の消化阻害酵素の失活である。また、加熱処理後の穀類は糊化温度の上昇や粘度の低下などの調理・加工特性が変化する。本研究ではこれらを同時に制御した穀類の開発やその有効性について明らかにすることを目的とした。本年度は、焙煎玄米粉の物理化学特性に及ぼす加熱処理方法及び条件の差異について調べた。

## 2. 方法

玄米（あきたこまち）をオーブンにて乾燥空気および過熱水蒸気中でそれぞれ160°C、180°C、200°Cで焙煎処理した。粉碎した粉の粒度分布、X線回折、色特性、糊化特性、脂肪酸度ならびに活性酸素消去能について測定した。

## 3. 結果の概要

焙煎処理中の玄米表面近傍の温度計測から、過熱水蒸気による処理が乾燥空気よりも設定温度に到達するまでの時間が短かった。このことは、水蒸気は乾燥空気に比べて顯熱や潜熱が大きく、加熱効率が高いことに起因する。焙煎処理玄米粉の平均粒子径は未処理玄米粉の78～92%であり、処理温度の上昇に伴い平均粒子径が小さくなる傾向が見られ、乾燥による米粒組織の脆性化が考えられた。色特性測定から、過熱蒸気処理玄米粉のb\*値の増加が抑制される傾向にあった。過熱蒸気処理区は、加熱時間が乾燥空気処理区と比較して短いためにb\*値が低下したと推察される。

表1 玄米粉の平均粒子系および色特性

	平均粒子径[μm]	L*	a*	b*	ΔE
無処理	165	87.1	-0.5	9.3	
SHS160°C	152	83.4	1.1	14.2	
SHS180°C	147	76.7	3.6	16.5	
SHS200°C	132	76.7	3.6	16.5	
OVN160°C	141	84.1	0.8	14.2	0.9
OVN180°C	150	79.7	2.6	17.9	2.3
OVN200°C	128	75.7	3.8	19.0	2.7

SHS：過熱水蒸気処理区、OVN：乾燥空気処理区

焙煎温度の上昇によって、X線回折ピークが低下あるいは不明瞭となることから、焙煎中のでん粉の部分的な糊化を示唆した。DSC曲線およびRVA測定による粘度曲線からも焙煎処理温度の高い試料ほど糊化の度合いが高くなることが確認された。しかしながら、過熱水蒸気処理した玄米粉の糊化温度の高温側への移行は小さく、湿熱処理の効果は大きくなないと考えられた。

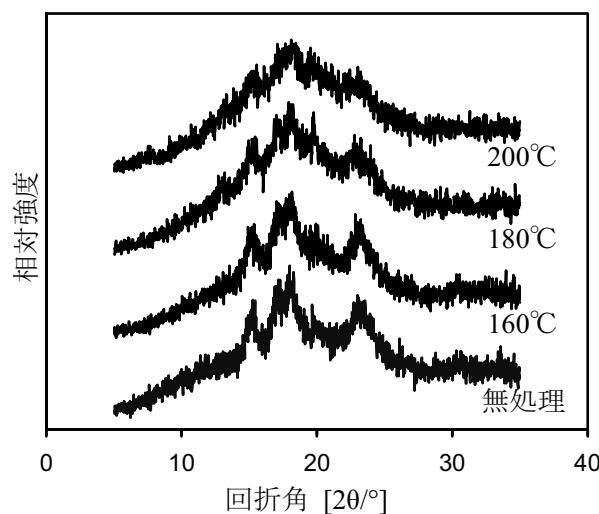


図1 過熱水蒸気焙煎玄米粉のX線回折パターン

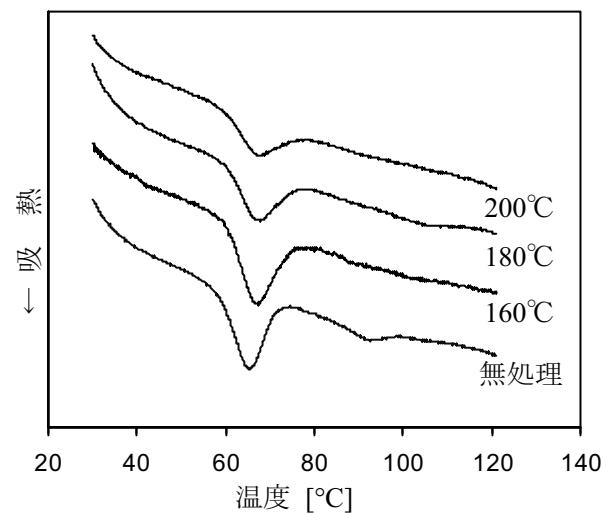


図2 過熱水蒸気焙煎玄米粉のDSC曲線

25°Cにおける保存120日後の無処理玄米粉の脂肪酸度は、保存前の約7倍に增加了。一方、焙煎玄米粉の脂肪酸度は緩やかに減少した。このため、焙煎処理は常温での玄米粉の保存性を高める上で有効な処理であるといえる。焙煎玄米粉の活性酸素消去能は、無処理米粉の3~3.5倍に增加しており、処理温度の上昇により増加傾向にあった。焙煎によって生じたメラノイジンが主な抗酸化物質であると考えられる。

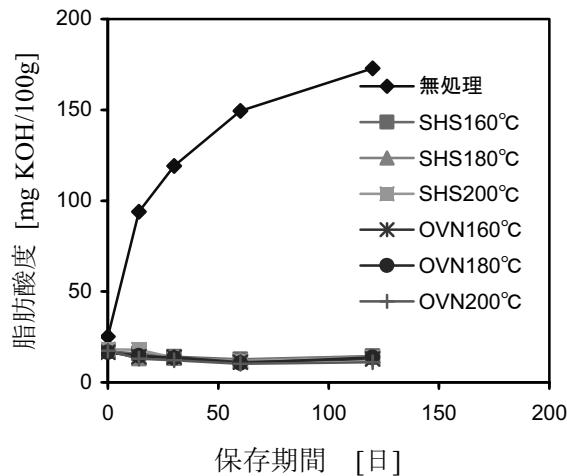


図3 保存中の玄米粉の脂肪酸度の変化

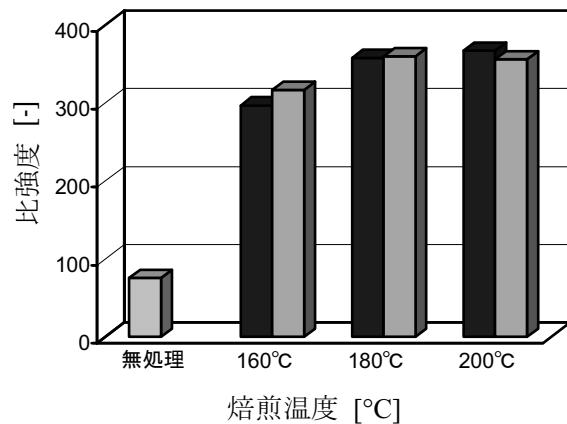


図4 玄米粉の活性酸素消去能

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

過熱水蒸気による焙煎は焦げ臭を緩和することを主観的に判断したため、客観的な判別について検討する。湿熱処理効果の増大のため、他の研究機関に設置されている過熱水蒸気発生装置による加熱処理を試みたい。

#### 5. 結果の発表、活用等

日本食品科学工学会53回年次大会にて発表

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：温度および圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発

中課題 2) 圧力可変ジュール加熱装置の開発

担当部署：食品機能グループ

担当者名：秋山美展、高橋徹

協力分担：秋田大学工学資源学部

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2006～2008年度）

### 1. 目的

従来の食品加工技術や装置は、県内食品企業にとって高価格で大型であるために新規導入が困難な状況であった。これらの問題解決には、県内企業の実情に合わせた製造技術および装置の開発が不可欠である。本課題では、従来の食品加工では子細に検討されることのほとんどなかつた加工工程別の温度および圧力の最適処理条件を探査し、食品添加物や化学的処理に依存しない新しい加工技術を開発することを目指す。

ジュール加熱法は温度制御精度の高さや熱効率の良さなどの多くの利点を有しており、装置が小型、安価で汎用性にも富むことから、中小零細の食品メーカーの製造技術革新に大きく貢献することが期待されている。本委託事業で製作するジュール加熱用加減圧装置は、これまで大気下で行っていたジュール加熱加工を減圧または加圧下で行うことを可能にするための装置である。

ジュール加熱を加減圧下で行うことにより、各種食品の更なる高品質化が可能になる。具体的には、穀類（玄米、大豆、雑穀など）の品質保持期限延長や物性改良、更には機能性の付加などを加熱や加圧等の物理処理のみで達成する。

#### 【2006年度の目的】

圧力可変プログラムジュール加熱装置の開発

### 2. 方法

圧力可変プログラムジュール加熱装置の開発

これまでに開発してきたプログラムジュール加熱システムに圧力制御機能を付加し、更なる高機能化と汎用性の獲得を目指す。ジュール加熱容器を収容できる加圧・減圧の両方に使用可能な耐圧チャンバと加減圧のための機能を有する試験用加減圧装置を設計・製作する。

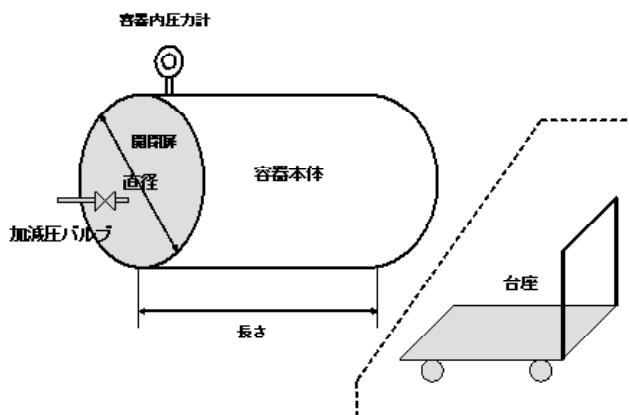
### 3. 結果の概要

圧力可変プログラムジュール加熱装置の開発

装置の仕様を以下に定め、製作を㈱日本精機に委託した。

### ジュール加熱用加減圧装置の仕様

1. 構成	加減圧容器、真空ポンプ、運搬台車、圧力計、加減圧バルブ、配管継手より構成されること
2. 加減圧容器設計圧力	減圧 -0.05 MPa まで 加圧 0.2 MPa まで
3. 設計温度	130 °Cに耐えること
4. 加減圧容器寸法	内径 $\phi$ 400mm 以上 410mm 以下 有効長さ 500 mm
5. 加減圧容器内容積	0.0600 m <sup>3</sup> 以上 0.0625 m <sup>3</sup> 以下
6. 機能	ジュール加熱容器（別途調達）が加減圧容器内に収納可能で減圧または加圧状態でジュール加熱加工が行えること
7. 材質	炭素鋼（外面白色塗装）
8. 安全機構	容器設計圧力を超えた場合に圧力安全弁が作動し、ただちに設計圧力範囲内に容器圧力を制御できること。
9. 重量	120kg 以内



ジュール加熱用の圧力加減圧装置の製作を完了した。設計とおりの機能を有していた。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本装置を活用して、減圧・加圧下でのジュール加熱試験を行う。

#### 5. 結果の発表、活用等

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：温度及び圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発

3)デンプンおよび蛋白質の効率的物性改善

担当部署：食品機能グループ

担当者名：高橋徹、秋山美展

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2006～2008年度）

### 1. 目的

プログラム加熱法は加熱昇温工程における加熱保持温度と時間を任意に複数回設定可能な加熱法である。ジュール加熱（通電加熱）にプログラム加熱法を適用することで、物質移動、酵素反応、たん白変性等のより精密な制御が可能であると考えられている。豆腐製造における凝固工程の制御は、消費者の嗜好に合致した食感（硬さ、なめらかさ、のどごし等）だけでなく、製品の歩留まりにも影響を与える。本研究の目的は、豆腐の力学特性と離水率に与えるプログラム加熱法の効果を明らかにすることである。

### 2. 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碎したのちに濾別して生豆乳を得た。これを加熱、冷却して豆乳とした。豆乳（約10°C）に凝固剤（MgCl<sub>2</sub>またはGDL）を豆乳重量の0.4%（w/w）加えて、プログラムジュール加熱装置（日本精機㈱）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レオメータにて圧縮速度1mm/s、圧縮ひずみ0.85、温度25°Cで測定した。また、豆腐の離水率は測定後に滲出した水の重量を試料の重量で除して求めた。

### 3. 結果の概要

豆乳の加熱曲線は入力したプログラムに従って、凝固剤の種類に関係なく直線的な軌跡を描いた（図1）。プログラム加熱（70°C10分間保持+80°C20分間保持）によって、MgCl<sub>2</sub>系の破断応力および破断エネルギーが増加した。GDL系の破断特性値はプログラム加熱に影響されなかった（表1）。

MgCl<sub>2</sub>系の離水率は加熱保持温度にはほとんど影響されなかつたが、離水量は多かつた（図2）。GDL系の離水率はMgCl<sub>2</sub>系よりも著しく小さく、加熱保持温度の上昇によって増加する傾向にあつた。プログラム加熱法は豆腐の力学特性を制御することが可能であり、GDL系よりもMgCl<sub>2</sub>系での効果が期待された。

表1 プログラムジュール加熱法が豆腐の力学特性に与える影響

		単純加熱			プログラム加熱	
		60°C	70°C	80°C	60-80°C	70-80°C
破断応力 [kPa]	MgCl <sub>2</sub>	5.2±0.4 a	5.8±0.3 a	5.5±0.3 a	5.6±0.3 a	6.2±0.2 b
	GDL	6.4±0.4 c	10.8±1.4 d	13.4±1.2 f	13.1±1.6 f	12.9±1.0 f
破断ひずみ [m/m]	MgCl <sub>2</sub>	0.48±0.01 g	0.48±0.01 h	0.45±0.01 i	0.46±0.01 i	0.48±0.01 gh
	GDL	0.55±0.01 j	0.58±0.02 k	0.59±0.01 k	0.58±0.02 k	0.58±0.01 k
破断エネルギー [kJ/m <sup>3</sup> ]	MgCl <sub>2</sub>	1.00±0.07 l	0.99±0.06 l	0.94±0.06 l	0.95±0.05 l	1.09±0.03 m
	GDL	1.19±0.09 n	1.96±0.29 o	2.44±0.27 p	2.38±0.34 p	2.39±0.22 p

同じアルファベット間には有意差（p<0.05）なし（Tukey-KramerのHSD検定）。

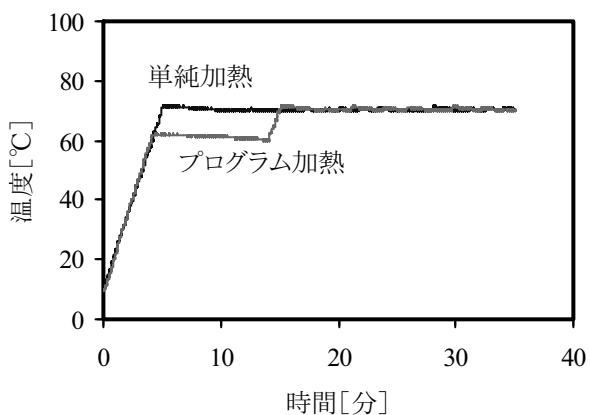


図1 豆乳のゲル化過程における温度履歴

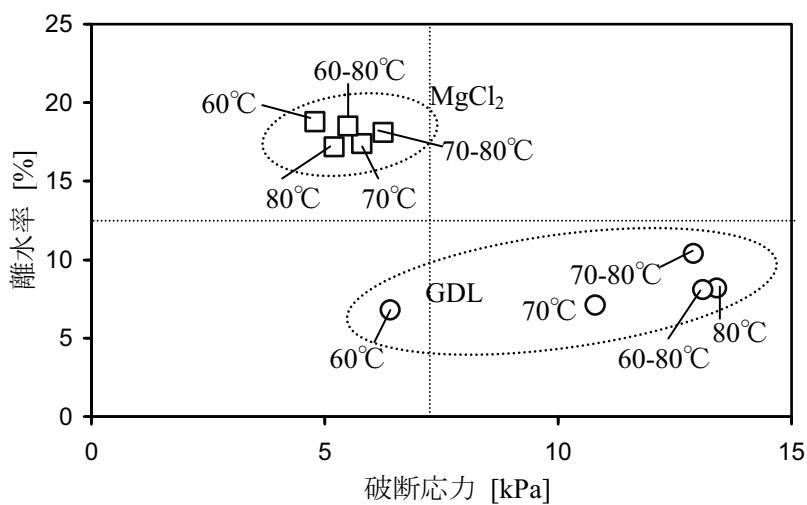


図2 豆腐の破断応力と離水率に与える凝固剤ならびに凝固温度の影響

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

圧力可変型プログラムジュール装置による食材の処理ならびにゲル化、糊化等に代表される調理・加工特性の改変について検討する。

#### 5. 結果の発表、活用等

日本食品工学会7回年次大会にて発表

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術

　　ハタハタ卵巣のゼリー状物質解明と凍結保存技術の開発

担当部署：食品開発グループ

担当者名：戸枝一喜、塚本研一、高橋徹

協力分担：水産振興センター

予算区分：県単

研究期間：新・継・中・断 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

鮮魚ハタハタやハタハタ卵の粘りを失わない品質保持技術の開発とハタハタ等の県産水産物を利用した発酵食品や製造技術を開発し、実用化と普及を図る。

また、廃棄となる黒変ジュンサイの原因を解明し防止法等の品質向上技術の開発と新しいジュンサイ加工品の開発のための貯蔵方法を検討する

今年度はハタハタ卵の粘りを失わない品質保持技術の開発のために、ハタハタ卵巣メカニズム解明および塩凝固による卵膜の変化及びゼリー状物質の理化学的特性の解明を目的とした。

### 2. 方法

1) コア裁断法による生コアの塩溶液（海水組成）への溶解の経時変化をUV吸収とSDS-PAGEにより検討した。

2) コア裁断法により得たばらした卵膜の8M尿素溶液溶解性の経時変化をUV吸収とSDS-PAGEにより検討した。

3) コア裁断法により得たばらした卵に阻害剤の塩溶液を加え卵同士の接着を観察した。

### 3. 結果の概要

1) 採卵直後のハタハタ卵巣の生コア（未加熱ゼリー状タンパク質）のSDS-PAGEから加熱抽出のゼリー状タンパク質と同じ单一のタンパク質であることがわかった。

2) 生コアは海水組成の塩溶液に徐々に溶解することがUV吸収（図1）とSDS-PAGEから確認された。

3) 採卵直後のハタハタ卵の生卵膜のタンパク質は海水組成溶液と0.9%CaCl<sub>2</sub>溶液中で経時に8M尿素溶液への溶解性が減少したが、0.9%NaCl溶液では溶解性は維持されていた（図2）。このことはSDS-PAGEからも確認された。また海水組成溶液中の溶解性の減少はヒスタミン、ダンシリカダベリン等のポリアミンで強く阻害された。

4) EDTA、MIAは20mM以上で卵の接着を阻害した。ヒスタミンは5mMで阻害した（表1）。

5) 以上からゼリー状タンパク質は産卵後の海水中では卵塊を維持するが、卵が互いに接着した後は溶解すると考えられる。

6) 卵膜は海水中では徐々に硬化し、その反応には主にCa塩が関与と考えられる。

5) 卵の硬化と接着は阻害剤の効果からトランスグルタミナーゼにより惹起されることが示唆された。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

1) トランスグルタミナーゼによる卵接着および卵膜硬化の直接的証明が必要である。

2) 魚卵加工やゼリー状タンパク質の利用のため、卵接着および卵膜硬化のメカニズムとゼリー状タンパク質の関与などの解明を行う

### 5. 結果の発表、活用等

1) 戸枝一喜、高橋徹、塚本研一、船木勉、日本食品科学工学会第53回大会（2006）

2) 塚本研一、戸枝一喜、高橋徹、船木勉、特願2006-266698

3) 塚本研一、戸枝一喜、高橋徹、船木勉、日本水産学会東北支部大会（2006）

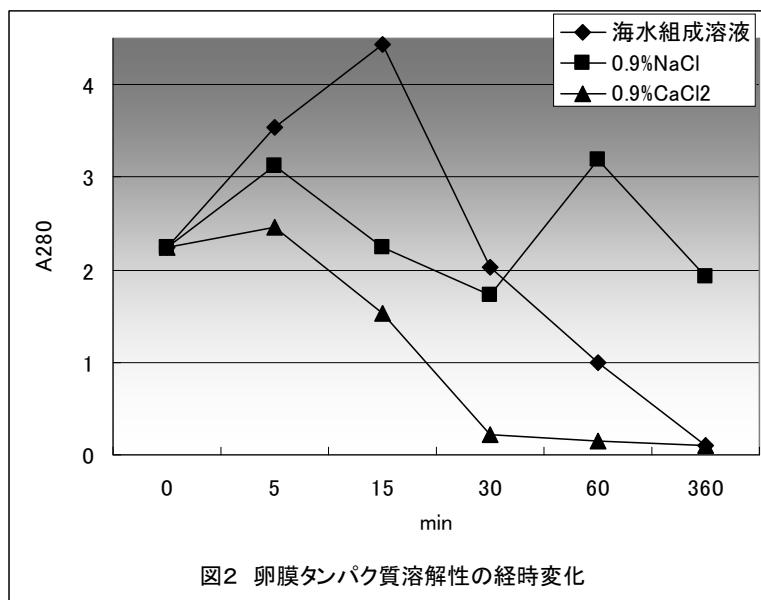
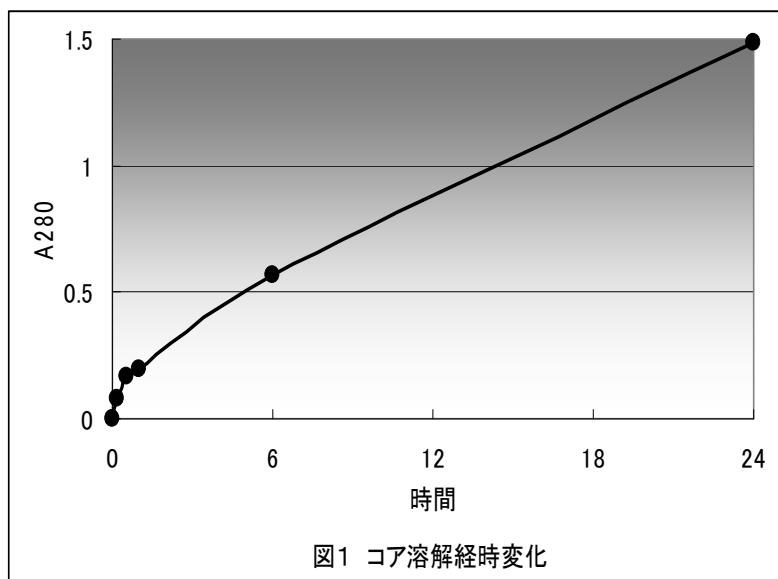


表1 阻害剤による卵接着の阻害

**凝固**

min	cont	EDTA		MIA		ヒスタミン		ダ・ンシルカタベリン	
		20mM	40mM	20mM	40mM	2mM	5mM	2mM	10mM
0	+	-	-	-	-	+	-	+	-
5	++	-	-	-	-	++	-	++	-
15	+++	-	-	-	-	+++	-	+++	-
30	+++	-	-	-	-	+++	-	+++	-

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

水産発酵食品の高品質化に関する研究

ハタハタ加工廃棄物食品化技術の開発

担当部署：食品開発グループ

担当者名：塚本研一

協力分担：水産振興センター

予算区分：県単

研究期間：継 2006 年度（2003～2007 年度）

### 1. 目的

近年、県産農水産物資源の有効利用技術開発により農水産業および農水産加工業を振興し、県産農水産物や加工品を消費者に供給していくことが重要である。ハタハタ資源は順調に回復し、流通量の増大に伴いハタハタを主とした加工用原料として利用が多くなってきた。秋田県において主要な水産発酵食品のハタハタは、製造工程で頭部、内臓を除去するため加工廃棄物が多量に発生する。また、その他の加工においても内臓は必ず除去している。したがって加工廃棄物減量と有効利用のため、その食品化技術を開発し付加価値の向上を図ることを目的とした。今年度はハタハタの主な加工廃棄物であるシラコ（精巢）についてしおつる製造技術を利用して食品化を目指す。また、しおつるの高品質化のため、新たな製造方法についても検討した。

### 2. 方法

- 1) シラコを原料としたしおつるの試作 秋田県漁協製の冷凍シラコ（精巢）を原料として、酵素法によるしおつる製造方法に準じて試作を行った。シラコ 500g に対して 150g (30%) の食塩とプロテアーゼアマノ A2.5g (0.5%) を添加し室温で 12 ヶ月分解した。
- 2) しおつるの原料の検討 ハタハタしおつるの高品質化のためのハタハタの処理方法としおつるの品質について検討した。原料としてハタハタ雌のドレス（頭部、内臓を除去したもの）とそれ 10% 食塩で脱水処理したものについて対照と比較した。しおつるの試作は原料の 30% の食塩を添加し、酵素法により室温、12 ヶ月で行った。
- 3) 分析項目 各処理によるしおつる試作品について pH (pH メーター)、塩分 (硝酸銀滴定法) および遊離アミノ酸組成 (自動アミノ酸分析計) の分析を行った。

### 3. 結果の概要

- 1) 試作したシラコしおつるは pH 7.6、食塩分 25.7% であり、ハタハタ全体（ラウンド）を原料とするしおつると比較して pH が高い傾向であった。
- 2) 遊離アミノ酸組成はアルギニンが 25.8% であり遊離アミノ酸の中で最も多かった（表 1）。試作したしおつるはやや苦味が感じられたが、アルギニンは苦味を有するアミノ酸であるため、シラコしおつるの苦味には主にアルギニンよると考えられる。
- 3) しおつるの状態はペースト状で あったが、遠心分離で清澄なしおつるが得られた。
- 4) グルタミン酸と遊離アミノ酸の総量はハタハタラウンドを原料とするしおつると比較してやや少なかった。
- 5) ハタハタ雌ドレスおよびそれ 10% 食塩を添加して脱水処理した原料から試作したしおつるはそれぞれ pH 5.9 および 5.8、食塩分 27.1 および 27.0 % であった。
- 6) 各アミノ酸の組成に大きな違いは見られなかつたが、遊離アミノ酸の総量は 10% 食塩処理が多かつた（表 1）。
- 7) 旨味系、甘味系および苦味系の比率に大きな違いは見られなかつたが、遊離アミノ酸の総量は 10% 食塩処理 > ドレス > ラウンド > ラウンド酵素なしの順となった（図 1）。

8) 食塩分はほぼ同じであることから、ハタハタドレスを 10%食塩処理したものは食塩に対するアミノ酸量が最も多くなった。従って官能試験と合わせた評価が必要であるが、塩カドの少ないしょっつるになると推定される。

9) シラコを原料とするしょっつるは栄養的に有益なアミノ酸であるアルギニンを特に多く含み、肝機能強化、強壮作用など機能性が期待されるしょっつるである。

10) ハタハタドレスを使用し、10%食塩処理を行うことにより遊離アミノ酸濃度を高め、従来のしょっつるより味の濃いしょっつるを製造することが可能であることがわかった。

表1 試作しょっつるの遊離アミノ酸組成

アミノ酸	ハタハタメスストレス		10%食塩処理		シラコ+酵素	
	(mg/100ml)	組成(%)	(mg/100ml)	組成(%)	(mg/100ml)	組成(%)
タウリン	39.6	0.4	47.7	0.5	62.3	1.3
アスパラギン酸	460.9	5.2	529.6	5.2	287.5	6.1
スレオニン	563.5	6.4	648.1	6.4	237.6	5.0
セリン	557.4	6.3	636.3	6.3	306.9	6.5
アスパラギン	190.5	2.1	218.2	2.2	31.5	0.7
グルタミン酸	1167.8	13.2	1351.4	13.3	364.4	7.7
グリシン	391.2	4.4	467.3	4.6	109.6	2.3
アラニン	826.8	9.3	1058.5	10.4	291.9	6.2
バリン	595.7	6.7	675.9	6.7	274.9	5.8
メチオニン	241.1	2.7	255.4	2.5	113.7	2.4
システイン	48.1	0.5	50.6	0.5	11.2	0.2
イソロイシン	368.7	4.2	374.5	3.7	230.2	4.9
ロイシン	548.5	6.2	532.5	5.2	395.2	8.4
チロシン	92.2	1.0	88.8	0.9	56.1	1.2
フェニルアラニン	353.9	4.0	385.1	3.8	203.4	4.3
ヒスチジン	162.3	1.8	191.7	1.9	65.5	1.4
リジン	1080.8	12.2	1257.5	12.4	308.3	6.5
アルギニン	859.4	9.7	1009.5	9.9	1215.8	25.8
プロリン	320.8	3.6	368.9	3.6	141.9	3.0
Total	8869.1	100.0	10147.5	100.0	4707.7	100.0

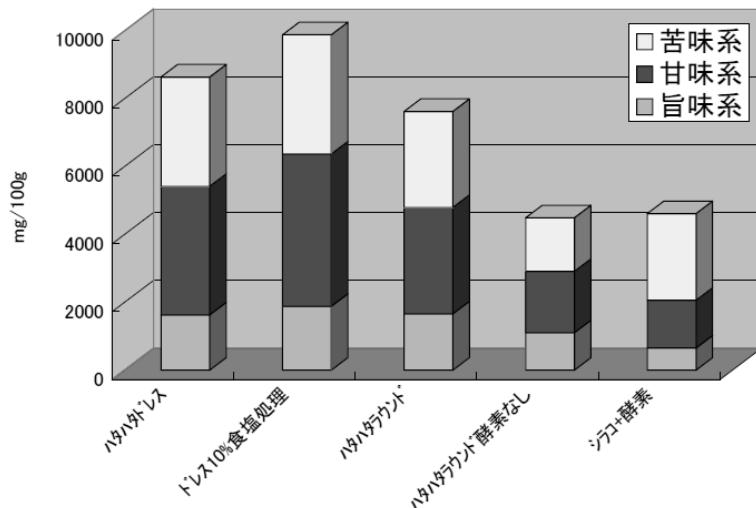


図1 しょっつる遊離アミノ酸の比較

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

今年度の成果を応用し、シラコしょっつると高品質しょっつるの最終的な製造方法を確立する。

#### 5. 結果の発表、活用等

秋田県内の製造業者等に成果報告会や食品加工研修等で技術の普及を進めていく。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

新しい地域特産加工食品の開発

ハタハタ及びジュンサイを利用した加工品開発

担当部署：食品開発グループ、他

担当者名：塚本研一、水畜産加工担当

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006 年度（2003～2007 年度）

### 1. 目的

近年、県産農水産物資源の有効利用技術開発により農水産業および農水産加工業を振興し、県産農水産物や加工品を消費者に供給していくことが重要である。ハタハタおよびジュンサイは秋田県の特産食品として全国的に有名である。特産食品として今後も生き残っていくためには品質向上と新しい加工品の開発が必要である。これまでに得られた本研究課題の研究成果を応用しながら主にハタハタとジュンサイに関して高品質で新たな加工品を製造する方法について検討した。

### 2. 方法

- 1) ジュンサイの黒変防止技術で使用したクエン酸浸漬法により処理したジュンサイについてフルーツとの配合を検討した。
- 2) ハタハタ卵加工品製造用のブリコ採取の際にメスハタハタドレスが同時にできるが、その有効な加工方法について検討した。
- 3) ハタハタずしの原料処理方法を基本として、ドレス中央部はハタハタずし用とし先端と尾部の利用を検討した。

### 3. 結果の概要

- 1) 試作したフルーツジュンサイ（写真1）について食品加工研修（写真2）で評価を行った。
- 2) ジュンサイは酢醤油など塩味系で食べるのが一般的であり、特に加工ジュンサイは酢酸で処理されているため甘味との相性がこれまで薄かった。
- 3) 今回の試作品はクエン酸のみで処理されているためフルーツとの違和感はなかった。
- 4) 加工研修参加者の評価もフルーツとの違和感はないとのことであるが、さらに葉の大きいジュンサイでも試験をする必要があるという意見があった。
- 5) 水洗→塩漬け→クエン酸処理→水洗の処理で生臭みが除去できた。
- 6) さらに調理（写真3～5）するとほとんどハタハタ独特の生臭みは感じられなかった

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

主にジュンサイおよびハタハタについて新しい加工方法について検討する。

### 5. 結果の発表、活用等

秋田県内の製造業者等に成果報告会や食品加工研修等で技術の普及を進めていく。



写真1 フルーツジュンサイ



写真2 ジュンサイ加工研修 2006



写真3 ハタハタ先端部唐揚げ



写真4 ハタハタ尾部唐揚げ



写真5 ハタハタ串焼き（B B Q）

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発

米麹利用食品及び米麹の高品質化

担当部署：環境・食品安全グループ、食品開発グループ

担当者名：佐々木康子、塚本研一

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2006～2007年度）

### 1. 目的

米麹は、漬物、味噌、水産加工品などの伝統食品の原料となっており、県内では、米麹を多く使用する食品が好まれている。しかし、嗜好の変化によりハタハタずしの売れ行きが伸び悩んでいることから、新しいタイプのハタハタずしが求められていることを受け、今年度は、ハタハタずしに合う種麹の選択と新規な製造方法についての検討を行った。

### 2. 方法

- 1) 米麹の製造： 米麹は、 $\alpha$ 米 100g に 0.035g の種麹を入れた水 50g を加え、常法により製造した。種麹は、白麹 1号菌、焼酎白麹菌（秋田今野商店）を使用した。
- 2) ハタハタずしの製造
  - a) 従来法： 米麹（麹菌：白麹 1号菌、焼酎白麹菌）を使用し、以下の方法でハタハタずしを漬け込んだ。ハタハタドレスの尾を除去し、そぎ切りにして流水でさらし、ハタハタの 15%重量の食塩を混ぜて、一晩漬けた。塩漬後、水切りしたハタハタに同量の 3.5%酢酸を入れ、一晩漬けた。酢漬けしたハタハタを水切りしたもの 1kg、ご飯と米麹を 4:1 に混合したもの 1kg を量り取った。これらを数回に分けて、漬物容器に交互に重ね、2kg の重石をして、5°Cで 3 週間熟成させた。
  - b) 新規法： 米麹：ご飯：水 = 1 : 1 : 2 の重量比で混合し、60°Cで 3 時間糖化させ甘酒を作成した。従来法と同様に下処理した酢漬けハタハタ 1kg に甘酒 1kg を加え、2kg の重石をして、5°Cで 3 週間熟成させた。
- 3) 米麹の分析： $\alpha$ -アミラーゼ、糖化力（グルコアミラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ）、酸性カルボキシペプチダーゼは、キッコーマン社製のキットを用いて活性測定を行った。水分含量は、常圧 135 °C乾燥法（135°C、3 時間）で測定した。
- 4) ハタハタずしの分析： 熟成させたハタハタずしの魚肉部分をサンプリングし、有機酸は HPLC、全糖はフェノール硫酸法、グルコースは酵素法（J. K. インターナショナル社製）で分析し、pH、Brix の分析も行った。

### 3. 結果の概要

- 1) 焼酎白麹菌の米麹は、白麹 1号菌より  $\alpha$ -アミラーゼ活性が低く、糖化力が高いことがわかった（表 1）。
- 2) ハタハタずしの全糖と Brix の値は、新規法に比べて従来法の方が高く、麹菌の違いによる差はあまりなかった。グルコース濃度については、従来法において白麹 1号菌の方がやや高かったが、新規法においては、焼酎白こうじ菌の方が約 2 倍高くなった（表 2）。
- 3) 焼酎白こうじ菌の米麹は、白麹 1号菌の米麹の 2 倍以上のクエン酸を生産していた（図 1）。
- 4) ハタハタずしに含まれる有機酸の中で圧倒的に多かったのが、米麹由来の有機酸ではなく、ハタハタの下処理で使用した酢酸だった。クエン酸については、製法に関わらず、白麹 1号菌を使用したハタハタずしでは検出されず、焼酎白こうじ菌を使用したもののみで検出された。よって、焼酎白こうじ菌は、ハタハタずし熟成中にも、クエン酸を生産していると考えられる（図 2）。
- 5) ハタハタずしについて官能試験を行った結果、従来法で焼酎白麹菌を使用したものが、さわやかな風味を有しており、最も評価がよかった。

表1 米麹の酵素活性及び水分含量

	$\alpha$ -アミラーゼ (U/g・麹)	糖化力 (U/g・麹)	酸性カルボキシ ペプチダーゼ (U/g・麹)	水分 (%)
白麹1号菌	51.33	3.09	3.91	36.8
焼酎白麹菌	1.98	4.90	2.41	35.0

表2 ハタハタずしの全糖、グルコース濃度、Brix

	Brix (%)	全糖 (mg/g)	グルコース濃度 (mg/g)
従来法(白麹1号菌)	23	83.3	69.9
従来法(焼酎白麹菌)	22	74.2	59.3
新規法(白麹1号菌)	15	47.3	26.9
新規法(焼酎白麹菌)	15	47.9	50.2

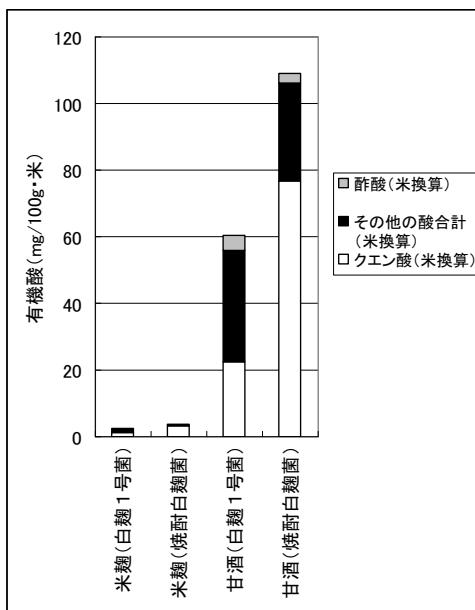


図1 米麹と甘酒の有機酸濃度 (米換算)

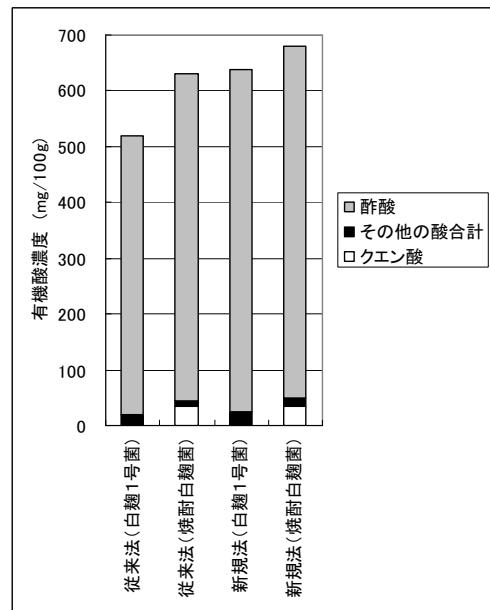


図2 ハタハタずし(魚肉部分) の有機酸濃度

(注) 図1と図2において、その他の酸合計とは、リン酸、ビルビン酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、フマル酸、プロピオン酸、イソ酪酸の量を合計したものを示す。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

焼酎麹由来のクエン酸による、これまでにない特徴ある風味のハタハタずしが製造できたので、さらに、特徴を際だたせるために、酢酸に加えてクエン酸でハタハタを下処理したり、異なる米麹を混合するなど、特徴ある風味のハタハタずしの製造方法と、クエン酸を用いた衛生的な製造方法についても検討する。米の品種・精米歩合・種麹の差による米麹とハタハタずしの関係も明らかにする。

#### 5. 結果の発表、活用等

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

新形質米を活用した新たな米加工食品の開発

米飯の有効利用に関する研究

担当部署：食品加工グループ

担当者名：大久長範

協力分担：農業試験場 小玉郁子

予算区分：県単（県競争的資金）

研究期間：新・継・中・断 2006年度（2005～2006年度）

### 1. 目的

梗米と糯米の中間的な性質を有する低アミロース米は、スーパーライス計画プロジェクトで作出された品種である。低アミロース米は、低温流通可能な寿司飯や硬質米炊飯時の米飯改善の目的でブレンド米として利用されている。低アミロース米は粘りが強く、梗米を炊くときと同じ水加減では柔らかくなりすぎる傾向があった。そのために梗米よりも10～15%ほど加水を抑えた炊飯が推奨されている。これは低アミロース米を通常の方法で炊飯した場合のことであり、無浸漬あるいは洗米処理しない場合の適度な加水量については不明な点があった。低アミロース米である「淡雪こまち」の浸漬工程を省略した状態で炊飯し、良好なバランス度の米飯を得るために最適加水量を決定することを目的とした。

### 2. 方法

(1) 試料：低アミロース米（「淡雪こまち」18種類）と「秋田酒こまち」（酒造好適米）は秋田県農業試験場及び鹿角市の協力農家で栽培したものを使用した。低アミロース米「たきたて」と糯米「コガネモチ」、「ミヤコガネ」はこまち農業協同組合から提供を受けた。「あきたこまち」、「めんこいな」、「ササニシキ」は市販品を用いた。

(2) アミロースの定量方法：精米約10gをミルサー（岩谷産業株式会社、300DG）で20秒間粉碎した。Julianoの方法に従って粉碎物を処理し見掛けのアミロース含量を求めた。

(3) 吸水試験（粒、米分）：米粒の飽和吸水量：精米した米粒約2.5gに3倍程度の蒸留水加え25℃で24時間浸漬した。浸漬後、桐山ロートで吸引濾過した米粒を135℃で2時間常圧通風乾燥し、精米の重量変化から吸水量を求めた。

(4) 米粒の切断面の観察：精米をビーカーにとり、赤インキ（Platinum pure-red、コチニール色素）を蒸留水で5倍に薄めた溶液に浸し、30分間静置した。静置後、米を軽く洗い、余分な赤インキを落としてから常温で乾燥させた。十分乾燥した米粒を瞬間接着剤で固定し胚側から約1/3地点をカッターで切断し、切断面を実体顕微鏡（オリンパス製SZH-10）で観察した。

(5) 炊飯と米飯の粘弾性測定：「淡雪こまち」（鹿角産、見掛けのアミロース含量15.9%）10.0gをアルミカップに秤量し、蒸留水を加え軽く3回洗米した後、蒸留水を加え全体で23g、24g、25g、26gになるように4段階で加水した（1.3から1.6倍加水）。電気炊飯器（松下電器製SR-W100）に先の洗米入りアルミカップを移し、釜内に蒸留水を75mlを入れ炊飯した（約12分間）。

### 3. 結果の概要

1) 低アミロース米（19種）、糯米（2種）、梗米（4種）の米粒の飽和水分率とアミロース含量の間に負の相関（ $r=-0.931$ ,  $n=25$ ）が認められた（図1）。低アミロース米は梗米より吸水量が

多いという関係は、新潟食品研究所の吉井らも得ていた。

2) 低アミロース米である「淡雪こまち」の加水量を変化させ、浸漬工程を省略し、電気炊飯器で12分間の炊飯をした。米飯のバランス度(粘り/硬さ)は加水量を1.5倍にしたところ0.31-0.34となった(図2)。加水量を多くすれば浸漬工程を省略し炊飯が可能である。

3) コチニール色素は「淡雪こまち」及びあきたこまち精米の表面から浸透した。淡雪こまちの場合それに加え、胚から胚乳へ水の移動を示唆するスポットを見出した。このスポットはアミロース含量が少ないもの程顕著である傾向があった。

4) 「淡雪こまち」は、加水量を1.5倍に設定することにより、早炊き米として使用できる可能性があると推定された。

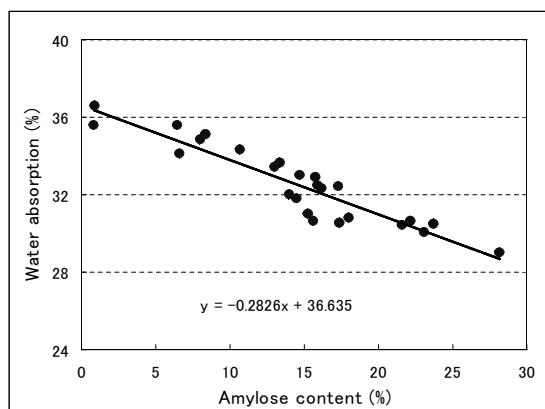


図1 アミロース含量と飽和水分率

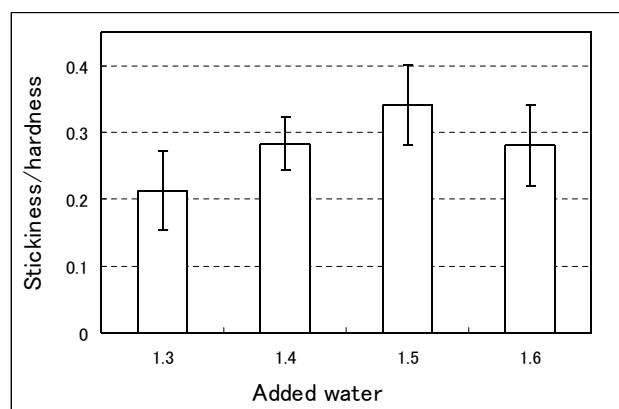


図2 淡雪こまち(鹿角産)の加水量を変化させた時のバランス度

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

淡雪こまちを利用し、たはたはた寿司や味付けご飯セットが開発中である(四季菜)。早炊き米として利用するための仕組み(試験使用、販売ルール、宣伝等)を関係者で構築しなければならない。

#### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 淡雪こまち地産地消確立にむけた研修会(鹿角地域振興局農林部、2/9、当研究所)、早炊き米の生産技術と淡雪こまちの特徴を紹介した。
- 2) 秋田の特産品販売促進会議(東京事務所、2/22、渋谷シダックスホール)、淡雪こまちを早炊き米として利用できることをデータで示した。
- 3) 魁新報(2/23)
- 4) 食品科学工学会に投稿

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

新形質米を活用した新たな米加工食品の開発

低グルテリン米の利用に関する研究

担当部署：食品開発G

担当者名：大能俊久

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

新形質米として育成された低グルテリン米は、易消化性のグルテリンが少なく難消化性のプロラミンが多く、腎臓疾患患者に向いていると考えられている。

しかし、低グルテリン米は米飯として硬くなり、食味に問題があった。昨年度までの研究でマイタケを浸漬時に添加することで低グルテリン米の米飯が軟化することが分かった。この現象は、タンパク質がプロテアーゼで分解することが原因であろうと推測された。そこで、今年度はマイタケにより米タンパク質が分解するのか等を明らかにするべく検討を行った。

### 2. 方法

#### 1) 浸漬中のタンパク質の減少

低グルテリン米春陽10gをマイタケとともに1時間、または15時間浸漬処理した後、浸漬液と脱離した固形分を回収してケルダール法により浸漬中に減少するタンパク質量を求めた。

#### 2) タンパク質のマイタケによる分解

米粉を蒸留水、またはマイタケ抽出液に1晩浸漬した。その米粉を蒸留水で洗浄した後タンパク質を10mM水酸化ナトリウム、10mMSDSからなる溶液で抽出した。遠心した上澄をA溶液（0.1Mトリスバッファー、pH6.8, 0.02%プロモフェノールブルー、40%グリセロール）と混合して電気泳動にかけた。還元剤としてメルカプトエタノールを添加した場合と添加しない場合について検討した。

### 3. 結果の概要

#### 1) 前年度までの結果

低グルテリン米は米飯テクスチャーが硬くなる傾向があった。浸漬の際にマイタケを加えることで米飯テクスチャーの改良が行えた。春陽では0.35%、LGCソフトは0.1%のマイタケ添加（室温15時間浸漬）で良好なテクスチャーを示した。また、米粉をマイタケで処理した場合には、糊化特性値の粘度変化が小さくなり、団子も軟らかくなるという結果を得た。

#### 2) 今年度の結果

浸漬中に脱離するタンパク質は15時間浸漬したマイタケ添加で多くなり（表1）、マイタケ浸漬によるテクスチャー改良は、プロテアーゼによってタンパク質が除去されたことによるものであると推測された。そこで、米粉にマイタケ抽出液を作用させて米粉のタンパク質の変化を調べた（図1）。マイタケを作用させることで一部のタンパク質の消失、難溶性とされるグルテリンの減少、そしてタンパク質の低分子化、等を確認することができた。

表1 浸漬処理とタンパク質の脱離量

マイタケ添加量 (mg)	浸漬時間	脱離タンパク質 (mg/100g米)
0	1 h r	1 5 5
1 0 0	1 h r	1 3 5
0	1 5 h r	2 2 0
3 5	1 5 h r	3 6 0
1 0 0	1 5 h r	4 4 0

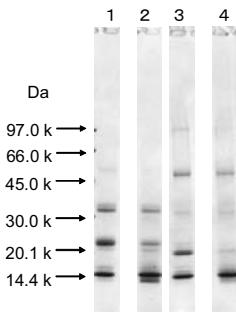


図1 マイタケを作用させた米粉から抽出したタンパク質

1レーン:蒸留水(還元剤あり)、2レーン:マイタケ抽出液(還元剤あり)、  
3レーン:蒸留水(還元剤なし)、4レーン:マイタケ抽出液(還元剤なし)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

マイタケの改良法を現場に下ろすための研究を行うとともに、マイタケ以外の改良方法についても検討する。また、低グルテリン米の米飯が硬化する機構についても検討する。

#### 5. 結果の発表、活用等

今後学会誌への投稿を予定している。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

1) 穀類の活性酸素消去能を活用した製品と加工法の開発

2) 大豆品種すずさやかの加工適性および生理機能性評価（県競争資金課題）

担当部署：食品機能グループ

担当者名：秋山美展、大久長範

協力分担：秋田県農林水産技術センター農業試験場

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

食に対する社会の期待と懸念は、それぞれ、生理機能成分による疾病予防と危険成分の混入による健康被害の両面に代表されるものといえる。食品の生理機能性や健康被害要因の科学的な分析と評価手法の確立は、公設研究機関の重要な使命であると考えられる。本研究課題では、アレルゲンフリー食品の開発に着手する。米を原料とし、小麦を使用しない麺、パンなどの製品開発を行う。アレルゲンの定量分析法としてELISA法(酵素免疫測定法)の導入を行う。

#### 1) アレルゲンフリー食品の開発

米を原料とし、小麦を使用しない麺、パンなどの製品開発を行う。アレルゲンの定量分析法としてELISA法(酵素免疫測定法)の導入を行う。

#### 2) 大豆品種すずさやかの加工適性及び生理機能性評価

すずさやかの無臭性を最大限に活かした製品開発を行う。栽培環境による加工適性や生理機能性の変動に関する調査を行う。

### 2. 方法

研究項目／年度	16	17	18	19	20
1) アレルゲンフリー食品の開発					
①ELISA法によるアレルゲン分析法の導入			→		
②アレルゲンフリー製品の開発			→		
2) 大豆品種すずさやかの加工適性及び生理機能性評価					
①すずさやかの加工適性評価			→		
②活性酸素消去相乗効果の評価			→		

### 3. 結果の概要

#### 1) アレルゲンフリー食品の開発

##### ①ELISA法によるアレルゲン分析法の導入

アレルゲンフリー食品の開発にあたっては、厚生労働省の通達を遵守する必要があることから、同省が認定したアレルゲン物質の分析法（モリナガFASPEK特定原材料測定法及び、日本ハム省令特定原材料検査法）の導入を行い、㈱秋田こまち生産者協会に対して分析法の指導を行った。

## ②アレルゲンフリー食品の開発

㈱秋田こまち生産者協会より米をベースとしたアレルゲンフリーの開発を支援し、同社より『お米パン』および『お米クッキー』の2商品が開発・発売された（図1）。



図1 ㈱秋田こまち生産者協会より発売された米をベースとしたアレルゲンフリー食品

## 2) 豆品種すずさやかの加工適性及び生理機能性評価

県農業試験場より提供された、産地、播種期、粒径の異なる『すずさやか』12試料の活性酸素消去能を測定した。結果を表1に示す。

表1 18年度産すずさやかの活性酸素消去能\*

試料名	比消去能	試料名	比消去能
標準播種小粒	35	標準播種中粒	27
晚期播種小粒	42	晚期播種中粒	36
比内産小粒	27	比内産中粒	38
大仙太田産小粒	41	大仙太田産中粒	36
能代産小粒	33	能代産中粒	24
大仙協和産小粒	36	大仙協和産中粒	42

\*1mM 没食子酸 200μL の活性酸素消去能を 100 とした場合の相対値

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本中課題は今年度で終了とする。

## 5. 結果の発表、活用等

単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

——生澱粉分解酵素利用——

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：金子隆宏

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継続 2006年度（2003～2007年度）

## 1. 目的

生澱粉分解酵素(RSA)を用いて、米粉などを $\alpha$ 化することなく酵素処理をすることで、澱粉粒本来の特徴を残しつつ糊化及び老化特性などの改変が可能である。また RSA は澱粉粒に穿孔し有孔化澱粉を形成するが、この有孔化澱粉は包接能があり、味、香り、など有効成分の保持安定化が期待される。この RSA の活用により県産穀類等の澱粉質の新規需要開発に寄与する。

本年度は県内酵素メーカーと接触し、RSA の応用面での可能性、酵素製剤としての量産性など検討した。

## 2. 方法及び結果の概要

前年度までに：県内製粉工場より見出した高度生澱粉資化性菌三株を、その 16s 塩基配列よりそれぞれ *B. cereus*、*Aeromonas* 属、*Streptomyces* 属と同定した。このうち *Streptomyces* 属の生成する生澱粉分解酵素を精製し、特性解析した。また、二段階 PCR 法で本酵素遺伝子をクローニングし、その構造解析を行った。それらの結果から、触媒作用に係わる 4 つの保存領域の確認、タカアミラーゼとの比較による立体構造の推定、アミノ酸置換による生澱粉吸着能の獲得の可能性、他の放線菌アミラーゼとの比較による C-末端ドメインの意義などに言及した。さらに本遺伝子を *S. cerevisiae* で発現させ、酵素の安定生産を可能とした。

本年度は：県内酵素メーカーと接触したところ、先方は *Streptomyces* 属のみならず *B. cereus*、*Aeromonas* 属由来の RSA にも興味を示し、これらの酵素の精製及びクローニングも望んでいるかと思われた。

## 3. 今後の問題点と次年度以降の計画

酵素処理澱粉の調製、特性解析などの応用研究と並行し、酵素製剤としての市場での有用性などの検討も行いたい。

## 4. 結果の発表、活用等

・結果の文献発表：*Biosci.Biotechnol.Biochem.*, **69**(6), 1073-1081(2005)

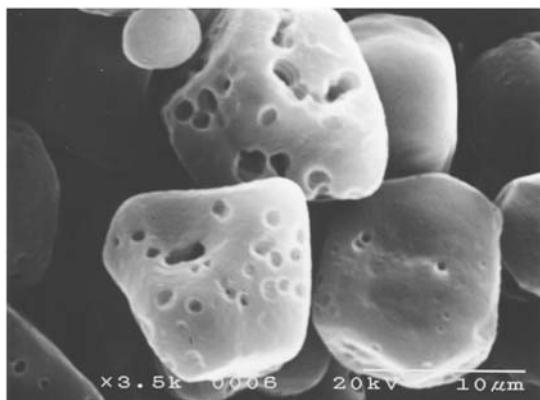
・研究会への報告：本年度農芸化学会大会(東京農大)発表予定。

・マスコミ等への発表：なし

・知的所有権の取得：

特許出願(特開 2005-143440)「新規アミラーゼ、該アミラーゼ生産能を有する  
微生物及びその製造方法」

特許出願(特願 2005-208480)「新規遺伝子、それを用いた形質転換体及びその利用」  
(秋田県での電子出願第 1 号)



RAS 处理コーンスターク粒

### RSA の精製

	全活性 (U)	比活性 (U/mg)	純度 (fold)	回収率 (%)
培養上清	330	$5.5 \times 10^{-3}$	1.0	100
澱粉吸着	291	0.18	32.7	88.0
DEAE-	248	2.09	380	75.2
ゲル濾過	198	11.7	2127	60.1

### 各種澱粉粒に対する RSA 相対活性

1%各澱粉(10mM 酢酸 pH5.0、5mM 塩化カルシウム)で 37°C, 1h 反応

Wheat	100	Potato	56.1
Rice	96.6	Sweet potato	40.8
Waxy rice	86.1	Tapioca	49.9
Corn	52.7	—	—
Waxy corn	49.1	S. starch*)	238.7

\*) Soluble starch

### 【RSA の特徴】

○生澱粉を強力に糖化 ⇒  $\alpha$  化など澱粉の加熱処理が不要

○糖化産物はマルトースリッチなオリゴ糖シロップ。

○生澱粉糖化の際、澱粉粒に穿孔し、有孔化澱粉を形成。

○穿孔の程度により、澱粉粒の糊化特性、老化特性を種々変えることが出来る。

○有孔化澱粉には包接能があり、味、香りなど保持する。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

穀類粉を用いた新商品開発

担当部署：食品開発グループ

担当者名：高畠 聰

協力分担：あきた米加工食品研究会連絡協議会

（淡路製粉、ホテルサンルーラル大潟、はまなす製パン、秋田十條化成 他）

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2005～2008年）

### 1. 目的

稲庭うどん等の県内地域特産麺類の高品質化により県産麺類の販売促進をはかり、業界の発展に寄与するために県産米粉および小麦等の加工技術の開発を行う。

米粉の利用拡大をするため、新規米粉パンおよび米粉パン用製パン用米粉ミックスを開発し、それを利用する商品開発システムを開発する。また、さらなる米の消費拡大を目指し、米粉洋菓子の開発と米粉洋菓子ブランドの構築を検討する。

### 2. 方法

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討

昨年、加速試験後、常温保存している県内稲庭うどんおよび大手製麺メーカーの乾麺について、6か月、12か月後について、定法により調理し、試食検討を行う。

- ・新規米粉パンおよび米粉パン用製パン用米粉ミックス等の開発

あきた米加工食品研究会連絡協議会において、新規冷凍米粉パンおよび米粉パン用製パン用米粉ミックスの開発の開発をおこない、ミックスを利用する商品製造システムを開発する。

- ・米粉洋菓子の開発と米粉洋菓子ブランドを構築する。

さらなる米の消費拡大を目指し、米粉洋菓子の開発と米粉洋菓子ブランドの構築を検討する。

### 3. 結果の概要

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討

加速試験6か月後および加速試験12か月後の稲庭うどんの食味に大きな劣化は認められなかった。

- ・新規米粉パンおよび米粉パン用製パン用米粉ミックス等の開発

玄米粉をブレンドした新規冷凍米粉パン（3種）と玄米粉入り製パン用米粉ミックスについて開発し、リテールベーカリー向けの商品製造システムの開発を行った。

- ・米粉洋菓子の開発と米粉洋菓子ブランドの構築

「大人の米洋菓子」をコンセプトとした、米洋菓子を開発し、ブランドの構築を行った。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・稲庭うどんの高品質化をはかるための稲庭うどんの保存条件の検討

今後、18か月、24か月保存を引き続き行い、試食検討により、保存条件を検討する。

- ・新規米粉パンおよび米粉パン用製パン用米粉ミックス等の開発

新規米粉パンおよび冷凍米粉パンの開発を継続するとともに、製パン用米粉ミックスが一体となった商品製造システムのカスタマイズ化と首都圏企業への導入の支援を行う。

- ・米粉洋菓子の開発と米粉洋菓子ブランドの構築

企業における米粉洋菓子ブランドの確立と米粉洋菓子の開発の支援を行う。

### 5. 結果の発表、活用等

米粉パンおよび米粉洋菓子・・・県内ホテルおよび首都圏デパート、高級食材スーパーにて販売中

米粉パン商品製造システム・・・首都圏高級食材スーパーにて採用検討中

米粉パンブランドイメージ



米粉洋菓子の例（2006クリスマスケーキ）



## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

秋田みその品質の高度化に関する研究

① 高品質味噌の製造技術の開発に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：尾張かおる、渡辺隆幸

協力分担：県・水田総合利用課、JA全農秋田、秋田県味噌醤油工業協同組合、県内味噌製造企業11社

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

近年、全国各地で農産物およびその加工食品の差別化、ブランド化が試みられており、当県においても産地ブランドの強化、独自性のある商品開発支援が緊急かつ重要となっている。

県産大豆は、ここ数年の米の減反政策の影響で作付け量が増加し、価格も手ごろになってきていた。そのため業界からの要望に応じて味噌加工のための蒸煮特性を明らかにし、独自性のある商品開発支援することを目的とした。

今年度は、平成18年産大豆について味噌加工特性を把握すること、また、これまでの成果を業界に普及し、県産大豆を用いる高付加価値味噌製造および商品化支援を目的とする。

### 2. 方法

#### 1. 平成18年産大豆味噌加工特性

1-1. 試料大豆 県内4か所のJA（北央・鷹巣・山本・湖東）産リュウホウ

1-2. 小仕込試験

大豆蒸煮方法：加圧散湯蒸（0.75kg f/cm<sup>2</sup>・45分→散湯→加圧5分）

酵母：AM2 および 新酵母菌No.4

1-3. 官能評価 パネラー4人。5点法

#### 2. 成果の普及

2003年から行っている【秋田みその品質の高度化】研究を業界に普及させるため『まるごと秋田みそ研究会』を設立し、全国展開型の新商品の開発及び商品化支援を行った。

2-1. 消費者モニタリングテスト

農業試験場経営・マーケティング担当の協力を得て、主に新商品のラベルについて、首都圏在住モニター約100名によるアンケート調査を行った。

2-2. ホームユーステスト(HYT)

2-1のモニターの中から抽出した約30人を対象にHYTを行った。

### 3. 結果の概要

#### 1. 平成18年産大豆味噌加工特性

J A北央産は味噌にした場合、色、香りが特に優れ、高い加工適性を持っていた。

山本および湖東産は、味や組成の評価が低く加工適性が劣っていた。

#### 2. 新商品開発

2-1. 消費者モニタリングテスト

3種類のラベル案を提示し選択してもらった結果、モニターの58%がC案を選んだ。C案は高い年代の支持が多かった。

2-2. ホームユーステスト(HYT)

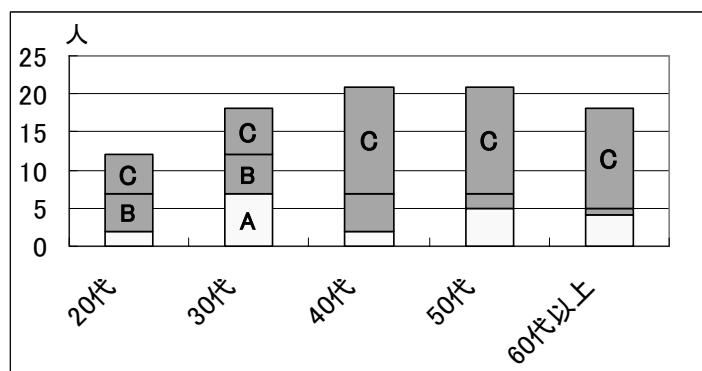
麹歩合の異なる2種類の味噌（麹歩合10および15）を2週間試食してもらい、味や価格について調査した。普段使っている味噌と異なるタイプのまるごと秋田みそが、多くのモニターに好評だった。設定価格（500円）は適正価格内であったが高価とみなされるボーダーラインに非常に近かったので、販売時には高付加価値をアピールする必要があると思われる。

	色	香り	味	組成	総合
JA北央	<b>2.0</b>	<b>2.0</b>	2.3	2.3	<b>2.0</b>
JA鷹巣	2.5	2.3	2.3	2.3	2.3
JA山本	2.3	2.3	2.8	<b>3.0</b>	<b>2.5</b>
JA湖東	2.5	2.3	2.3	<b>3.5</b>	<b>2.8</b>

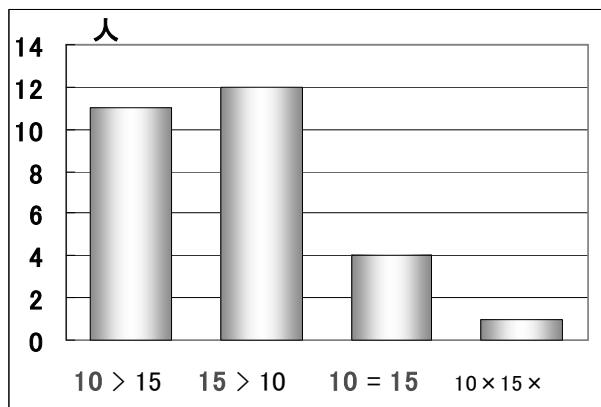
図－1 平成18年産大豆味噌官能評価結果



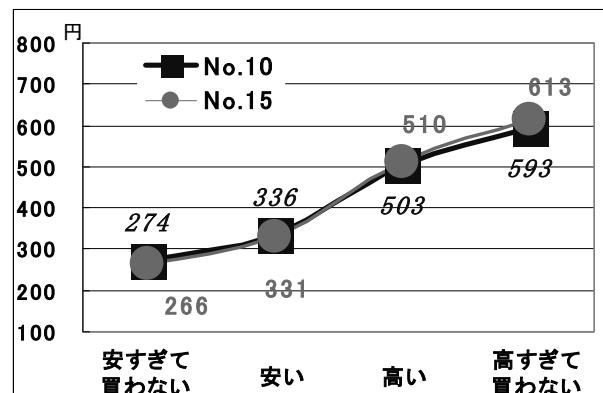
図－2 ラベル案 3種



図－3 年代別ラベルの好み



図－4 どちらの麹歩合の味噌が好みか



図－5 適正だと思われる値段

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

4月先行販売および秋の一斉発売の商品のフォローをする。

#### 5. 結果の発表、活用等

「まるごと秋田味噌研究会」において活用を図る。

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：農産物の新規需要を開拓するための加工技術の開発

秋田みその品質高度化に関する研究

②秋田みそ用醸造微生物の利用技術の開発と普及

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：渡辺隆幸、尾張かおる

協力分担：秋田今野商店、秋田県味噌醤油工業協同組合、県内味噌製造企業11社

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

近年、全国各地で農産物およびその加工食品の差別化、ブランド化が試みられており、当県においても産地ブランドの強化、独自性のある商品開発支援が緊急かつ重要となっている。

当研究所で開発した味噌用新麹菌AOK139は味噌醸造中に脂質を高効率で分解、遊離脂肪酸を大量に生産する性質を有している。

昨年度までの研究により新麹菌AOK139は秋田香酵母・ゆららと併用することで抗変異原性を有する香気成分、脂肪酸エチルエステル（EFA）を高濃度に含む味噌の製造が可能であることが明らかになっている。

平成18年度は県産農水産物の需要拡大と秋田味噌の品質高度化による産地ブランド強化を図るために県産農水産物と新麹菌のマッチングした新規発酵食品の開発を積極的に支援する。

そのため県産大豆、県産米、AOK139を用いるEFA高含有味噌の製造方法について検討を行う。

さらに新規発酵商品の開発支援のため業界団体と連携して、商品化を進める上での製造現場における技術的問題解決を図る。

### 2. 方法

#### 1) 県産材料を用いるEFA高含有味噌の製造方法の検討

県産大豆と産地の異なる県産大豆7種類を用い、製造した味噌中の脂質を分析した。

#### 2) EFA生成に与えるエタノールの影響の検討

エタノールはEFA生成のための基質の一つであり高濃度に存在することによりEFA生成が促進される可能性がある。そこで味噌仕込み時にエタノールを多量に添加してそのEFA生成に与える影響を調べた。

#### 3) 県産農水産物と新麹菌をマッチングした新規発酵食品（まるごと秋田味噌）の開発の支援

県産大豆、県産米、新麹菌、ゆらら酵母、乳酸菌AL-1を用いた味噌の新商品開発を目的とした研究会が平成18年、5月に県内味噌製造業者11社、JA秋田などが会員となって設立された。

この研究会のコンセプトが本課題の目的と合致することから研究会の味噌製造企業に対しての技術的支援を実施した。具体的には昨年度までに明らかになった製造現場での新麹菌利用上の技術的課題があり、その解決を図った。

製麹時の問題点

- ・製麹が遅れる場合がある
- ・麹が着色する場合がある

味噌熟成時の問題点

- ・着色が進む場合がある
- ・味噌が柔らかくなる場合がある。

これらの課題の解決のために各企業に対して個々に指導を実施した。

今年度3社で製造された新商品のサンプルの脂質成分を分析した。

### 3. 結果の概要

#### 1) 県産材料を用いるEFA高含有味噌の製造方法の検討

昨年度までに味噌の香気成分でもある抗変異原成分、EFAを高含有する味噌の製造を目的として新麹菌AOK139、ゆらら酵母、乳酸菌を併用技術について研究を実施済みである。

県産大豆と新麹菌を用いた小仕込み味噌の脂質を調べた結果、7産地で収穫された県産大豆、いずれを用いた場合も従来の種麹を用いた味噌と比べてEFAを高含有する味噌であることが認められた。(図1)

#### 2) EFA生成に与えるエタノールの影響の検討

仕込み時にエタノールを高濃度添加してもEFA生成が促進されることは認められなかった。

#### 3) 県産農水産物と新麹菌をマッチングした新規発酵食品（まるごと秋田味噌）の開発の支援

「まるごと秋田味噌」試作品の脂質を分析した結果(図2)、従来の種麹使用味噌と比較して明らかにEFAの濃度が高いことが認められた。

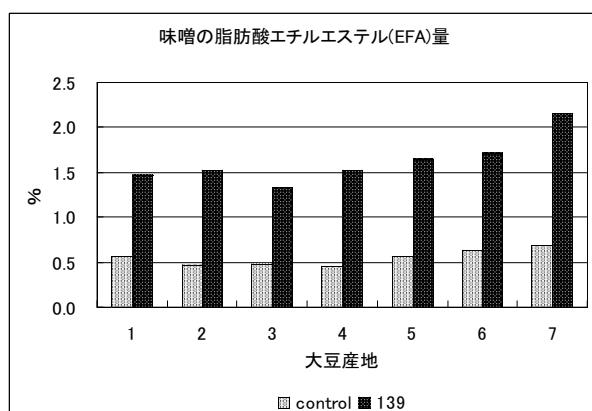


図1 県産大豆、新麹菌を併用した味噌のEFA

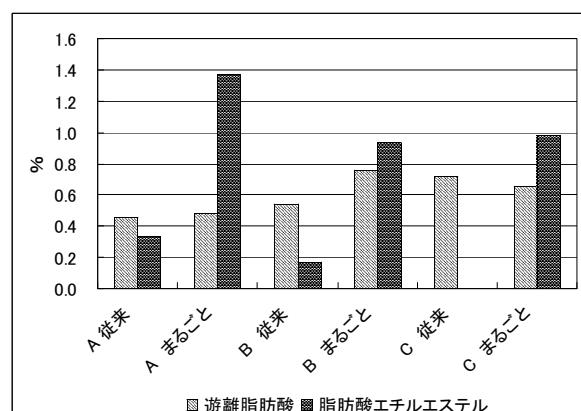


図2 3企業(A、B、C) 試作商品の脂質

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

県産農水産物と新麹菌をマッチングした新規発酵食品（まるごと秋田味噌）の製造企業について技術的な支援を継続する。

秋田味噌の新規機能性について研究する。(秋田大学との連携の可能性有)

### 5. 結果の発表、活用等

「まるごと秋田味噌研究会」において活用を図る

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：原料用水の特性解明と食品製造への有効利用

　　水質特性データベースの高度解析

担当部署：食品機能グループ、酒類グループ

担当者名：熊谷昌則、大野剛、高橋仁

協力分担：徳島文理大学

予算区分：県単

研究期間：継2006年度（2004～2006年度）

### 1. 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評価が業界から求められている。本研究は、食品製造への有効活用を目的として、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ための検討を行うものである。今年度は水質特性の分析評価ならびにそのデータベースの高度解析を行った。

### 2. 方法

県内16地点で平成17年2月、5月、8月、11月に採取された地下水・湧水試料について、主要な陽／陰イオンについては電気伝導度検出型イオンクロマトグラフ DX-100(DIONEX)を用い、また、主要な元素については誘導結合プラズマ発光分析装置 IRIS-AP(日本ジャーレル・アッシュ)を用いて、それぞれ定量した。化学的酸素消費量(COD)については過マンガン酸カリウム酸性法により定量した。また、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として大阪大の橋本らによって提案された「 $O\ index = (Ca+K+SiO_2) / (Mg+SO_4) \geq 2.0$ 」にもとづく評価を行った。一方、味覚センサ応答パターンによる識別は味認識装置 SA-402 (インテリジェントセンサー・テクノロジー) を用いた。

### 3. 結果の概要

図1にトリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析結果を示した。領域I、IIIに分類される水はなかった。領域IIのアルカリ土類炭酸塩型には7地点が、領域IVのアルカリ非炭酸塩型には5地点が、そして領域Vの中間型には4地点の水がそれぞれ分類された。一般に地下水・湧水は水質が年間を通じてほぼ一定であるといわれているが、同一地点における季節間変動も認められた。図2には味覚センサ応答パターンの主成分分析スコア散布図を示した。主成分1軸には硬度が関連していることが示された。また、O indexとの明確な関係は見いだせなかつたものの、トリリニアダイアグラムによる分類との関連が示唆される結果を得た。化学的酸素消費量(COD)については、最高値が8.69 mg/L、平均値が0.78mg/Lであった。したがって、水道法第4条に基づく水質基準における10mg/Lを越える地点はなかつたものの、昭和60年に旧厚生省が発表した「おいしい水の条件」である3mg/Lを越えた地点が3ヶ所あった。O indexにもとづくおいしい水としては16地点中14地点が基準を満たしていた。

### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

本研究で得られた、原料用水の水質特性に関わるデータベースを活用し、新たな県産加工品の開発を目指す。

### 5. 結果の発表、活用等

＜学会発表＞吉田知司、谷川浩司、池田早苗（徳島文理大工）、大野剛、高橋仁、熊谷昌則（秋田総食研），秋田県における名水の水質解析評価、第68回分析化学討論会

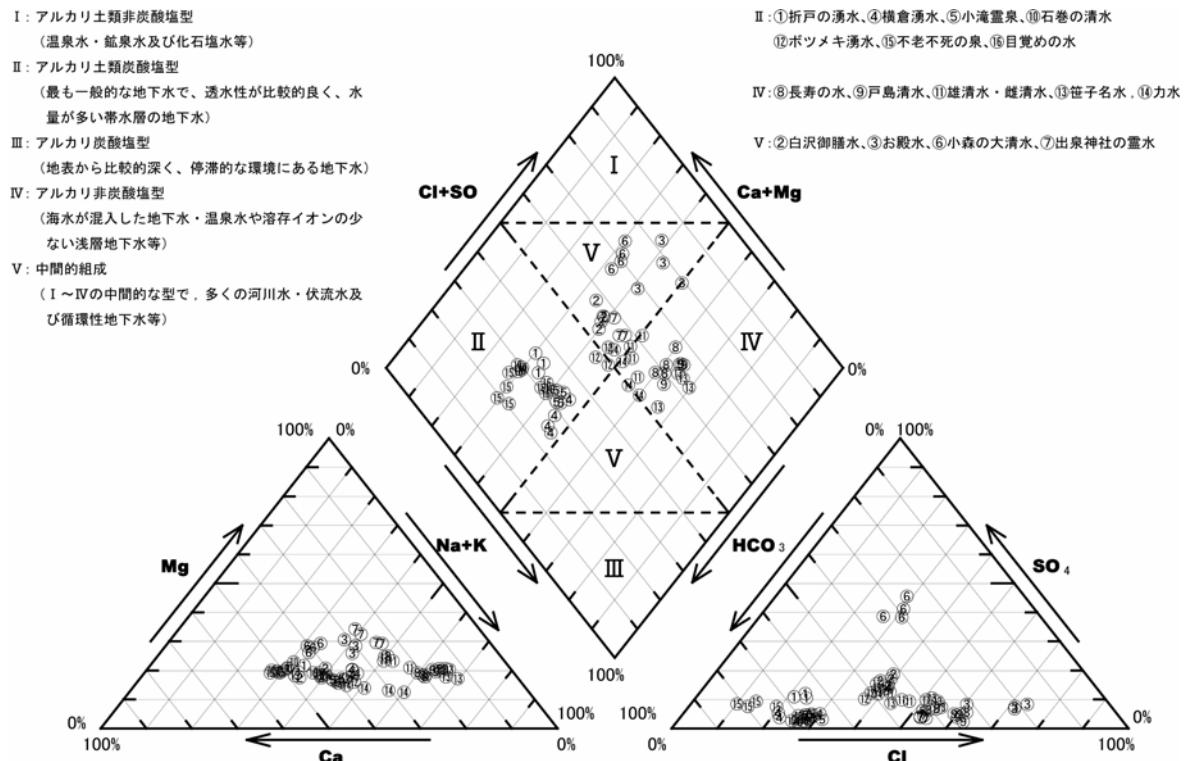


図1 トリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析

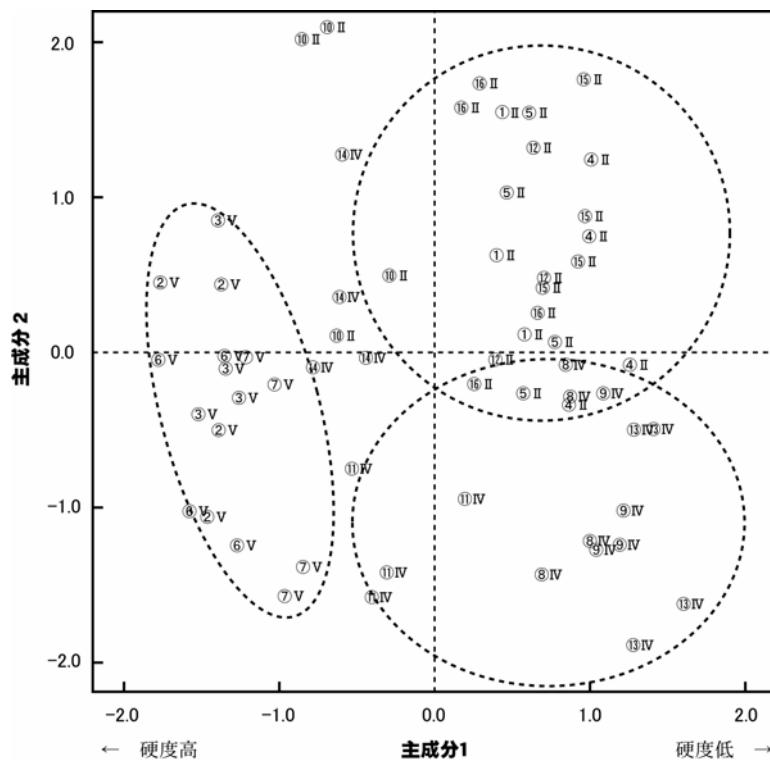


図2 味覚センサ応答パターンの主成分分析スコア散布図

(図中の丸抜き数字およびローマ数字は図1を参照)

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：原料用水の特性解明と食品製造への有効利用

米飯加工食品の分析調査・データベースの高度解析

担当部署：食品機能グループ、酒類グループ

担当者名：熊谷昌則、大野剛、高橋仁

協力分担：徳島文理大学

予算区分：県単

研究期間：完 2006年度（2004～2006年度）

## 1. 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評価が業界から求められている。本研究は、食品製造への有効活用を目的として、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ための検討を行うものである。

## 2. 方法

1) 県内 16 地点で平成 17 年 2 月、5 月、8 月、11 月に採取された地下水・湧水試料について、主要な陽／陰イオンと元素、化学的酸素消費量(COD)について定量した。また、おいしい水を識別するための指標として大阪大の橋本らによって提案された「 $O\ index = (Ca+K+SiO_2)/(Mg+SO_4) \geq 2.0$ 」にもとづく評価を行った。一方、味覚センサ応答パターンによる識別についても検討した。

2) 原料用水の水質特性が特に重要な米飯加工食品として「おかゆ」に着目し、県産品市販おかゆの収集を行い、その水分ならびに主要な陽／陰イオンを定量した。

## 3. 結果の概要

1) 図 1 にトリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析結果を示した。領域 I 、 III に分類される水はなかった。領域 II のアルカリ土類炭酸塩型には 7 地点が、領域 IV のアルカリ非炭酸塩型には 5 地点が、そして領域 V の中間型には 4 地点の水がそれぞれ分類された。一般に地下水・湧水は水質が年間を通じてほぼ一定であるといわれているが、同一地点における季節間変動も認められた。図 2 に味覚センサ応答パターンの主成分分析スコア散布図を示した。主成分 1 軸には硬度が関連していることが示された。また、 $O\ index$  との明確な関係は見いだせなかたものの、トリリニアダイアグラムによる分類との関連が示唆される結果を得た。

2) 表 1 に示すように、収集されたおかゆ製品は 18 検体(10 業者)であり、商品アピールとしては、使用した米（あきたこまちなどの品種や玄米、発芽玄米など）や具（比内地鶏、トンブリなど）をとりあげた商品がほとんどで、一部の商品に白神の水を使用していることを表示しているものも見られたが、原料用水で差別化した商品は少なかった。

## 4. 成果の活用面と留意点

本研究で得られた、原料用水の水質特性に関わるデータベースを活用し、新たな県産加工品の開発を目指す。

## 5. 残された問題とその対応

原料用水の水質が食品の製造において最終製品に及ぼす影響については未解明の部分が多いので、本データベースを活用しての検討が引き続き必要である。

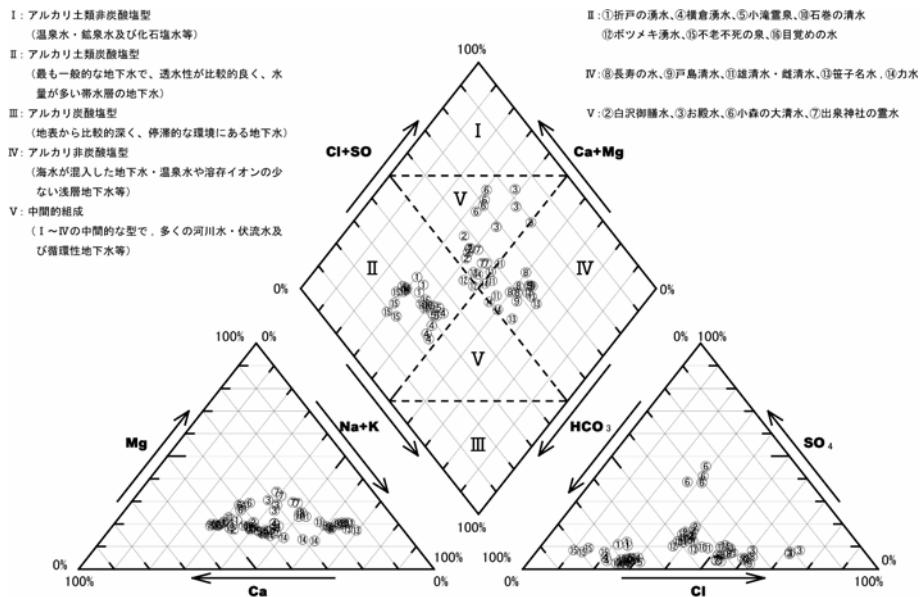


図1 トリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析

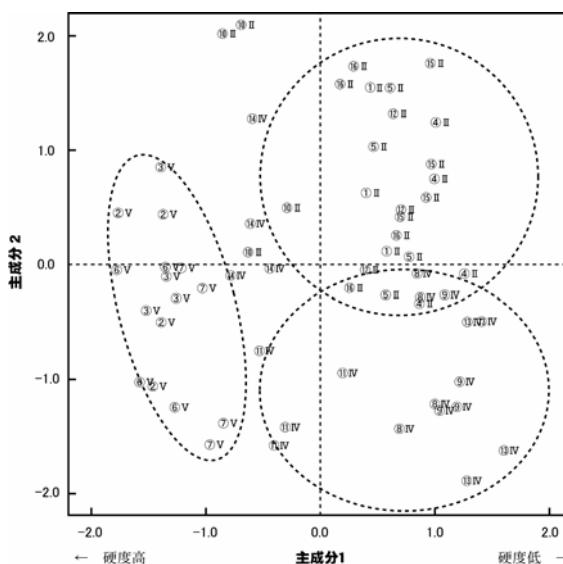


図2 味覚センサ応答パターンの主成分分析スコア散布図

(図中の丸抜き数字およびローマ数字は図1を参照)

表1 県産品市販おかゆの分析結果

No.	分類(商品形態)	製造者	内容量	購入価	単価	水分	Na				K				Mg				Ca				F				Cl				NO <sub>3</sub>				PO <sub>4</sub>				SO <sub>4</sub>			
							g	円/個	円/100g	g/100g	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L						
1	白がゆ(缶)	A	280	230	82.1	88.9	1.5	12.0	2.2	0.4	0.0	3.6	0.4	3.3	1.5																											
2	白がゆ(缶)	B	280	250	89.3	87.1	2.0	4.1	1.1	0.9	0.0	4.8	1.3	1.8	2.2																											
3	玄米がゆ(缶)	B	280	250	89.3	86.8	2.0	26.9	6.5	0.5	0.4	5.7	0.9	7.0	2.5																											
4	雑穀玄米がゆ(缶)	B	280	300	107.1	88.6	2.0	13.7	6.6	0.6	1.4	3.5	1.0	17.8	2.5																											
5	白がゆ(缶)	C	280	237	84.6	91.0	1.1	1.3	0.4	0.6	0.0	1.8	0.2	0.9	1.7																											
6	白がゆ(レトルト)	B	280	250	89.3	88.1	5.2	4.9	0.6	0.4	0.1	5.1	1.0	2.7	2.5																											
7	白がゆ(レトルト)	D	250	189	75.6	89.4	2.5	10.7	2.9	1.0	2.2	6.4	0.2	3.7	1.9																											
8	白がゆ(レトルト)	E	180	189	105.0	88.8	62.3	6.0	1.1	1.0	0.1	119.3	0.6	2.8	1.4																											
9	白がゆ(レトルト)	F	250	250	100.0	89.2	1.3	3.9	0.4	0.4	0.0	3.3	0.2	2.6	1.3																											
10	白がゆ(レトルト)	G	250	210	84.0	88.7	2.1	7.4	0.9	1.2	1.8	5.6	0.3	3.9	1.2																											
11	玄米がゆ(レトルト)	G	250	241	96.4	86.2	2.1	29.3	10.3	0.6	2.0	5.7	0.3	12.1	3.1																											
12	おかゆ、他(レトルト)	E	180	189	105.0	89.4	66.9	9.8	2.6	1.9	0.2	127.1	1.3	9.0	3.0																											
13	おかゆ、他(レトルト)	E	180	189	105.0	89.2	70.9	8.5	1.5	1.5	0.9	134.8	0.9	8.7	1.1																											
14	おかゆ、他(レトルト)	H	250	263	105.2	86.9	254.5	12.1	1.7	1.9	2.3	392.4	1.7	13.8	2.9																											
15	おかゆ、他(レトルト)	H	250	294	117.6	87.7	184.8	12.0	1.3	1.2	2.2	275.5	1.2	13.7	2.7																											
16	おかゆ、他(レトルト)	H	280	368	131.4	87.6	175.2	24.5	1.9	1.5	6.4	240.3	1.1	40.2	3.9																											
17	おかゆ、他(レトルト)	I	250	250	100.0	90.8	187.0	19.2	1.4	1.6	6.5	338.7	0.0	23.5	5.2																											
18	おかゆ、他(レトルト)	J	250	189	75.6	90.5	198.9	19.4	1.3	1.9	5.5	320.0	0.9	20.9	5.5																											

单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：原料用水の特性解明と食品製造への有効利用

原料用水の採水調査

担当部署：酒類グループ 食品機能グループ

担当者名：大野剛、高橋仁、熊谷昌則

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：完了 2006年度（2004～2006年度）

## 1. 目的

原料用水は食品の品質に多大な影響を与えることから、県内の水資源に関する特性の評価が求められている。本研究は、食品製造への有効活用を目的として、原料用水の水質特性を分析評価し、データベース化の検討をおこなうものである。本年度は用水の採取とその分析調査を実施・解析し、他のデータベースと連結する作業を行った。

## 2. 方法

使用データベース

県内定点39箇所の採水・採水試料分析

県清酒鑑評会の出品もろみ製造経過と製成酒の鑑評会評価と分析成分解析

計36項目

1. 成分値 精米歩合、アルコール分、日本酒度、酸度、アミノ酸度  
グルコース、ヘッドスペース法による香気成分

2. 審査結果 評点 プロファイル法による短評

3. 製造経過 ab曲線近似式など

酵母に対する活性測定結果

酒造用水が酵母のATP生産に及ぼす影響（県単H13～15）で検討した方法による

## 3. 結果の概要

原料用水適性基礎調査（定点39点、他）を行った。

県内用水の採取とその分析調査を実施し、定点の周年変化、経年変化の把握と県内外関連サンプル（県外用水、海外を含む特徴的ミネラルウォーター）の分析調査もあわせて行った。

トリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析結果は、領域I、IIIに分類される水はなかった。領域IIのアルカリ土類炭酸塩型には7地点が、領域IVのアルカリ非炭酸塩型には5地点が、そして領域Vの中間型には4地点の水がそれぞれ分類された。一般に地下水・湧水は水質が年間を通じてほぼ一定であるといわれているが、同一地点における季節間変動も認められた。（図1）

原料用水の水質と実際の清酒製造場におけるもろみ経過と製成酒の成分値、鑑評会での評価内容並びに水質が清酒酵母に及ぼす簡易活性測定結果に関して解析を行った。

原料用水と酵母活性、秋田県清酒鑑評会出品酒の成分値、製造経過等との相関は以下の通りであり、酵母活性と原料用水の硬度に高い相関を持つことが確認されたほか、清酒成分との相関が見られ、製造管理上有用な情報が得られた。（表1）

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

関連データベースとの連結、高度解析結果を適切な方法で公開する。水質変動が一部成分についてみられるため、数年毎の水質監視がもとめられる。

図1 トリリニアダイアグラムによる秋田の水の水質解析

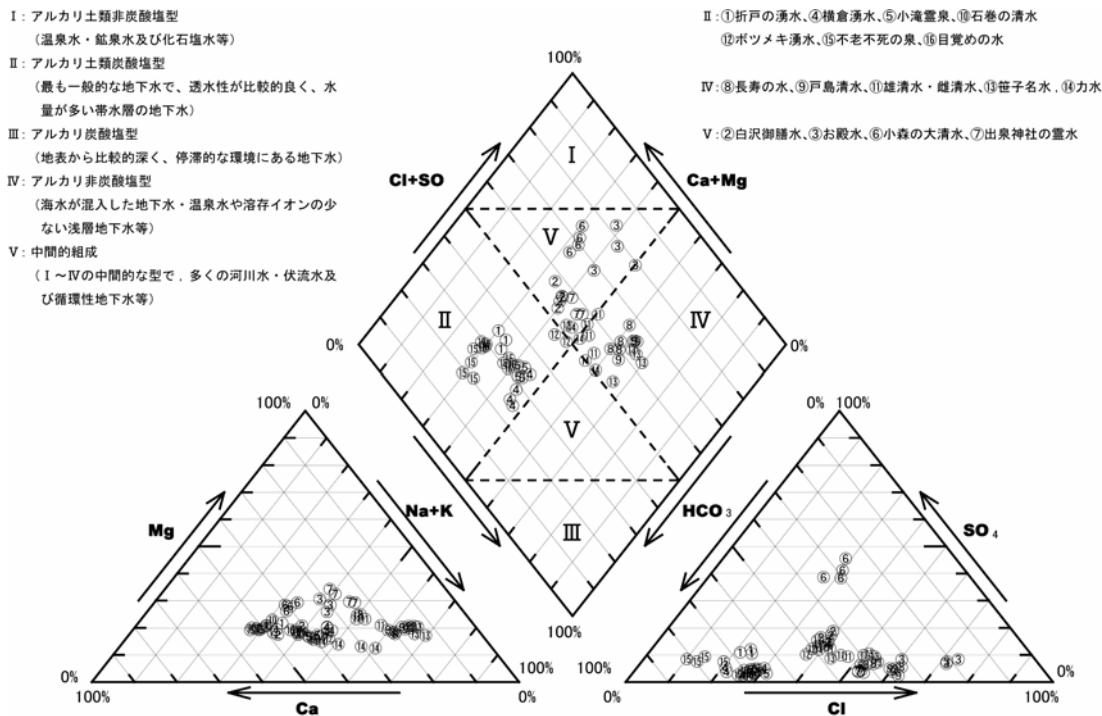


表1 原料用水と酵母活性、製成酒の主要成分の相関

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
要素1	酵母活性	1.00																				
要素2	計算硬度	0.84	1.00																			
要素3	Ca	0.84	0.90	1.00																		
要素4	Mg	0.72	0.94	0.69	1.00																	
要素5	Ca/Mg	-0.05	-0.22	0.17	-0.51	1.00																
要素6	Na	0.58	0.60	0.68	0.45	0.33	1.00															
要素7	K	0.47	0.62	0.48	0.64	-0.31	0.54	1.00														
要素8	P	0.42	0.47	0.48	0.39	-0.15	0.28	0.54	1.00													
要素9	Si	0.41	0.51	0.29	0.62	-0.42	0.25	0.38	0.05	1.00												
要素10	Fe	0.11	0.17	0.15	0.17	-0.14	0.05	0.19	0.73	0.02	1.00											
要素11	Cu	-0.01	-0.01	-0.03	0.01	-0.17	-0.11	0.06	0.64	-0.15	0.90	1.00										
要素12	a	0.35	0.22	0.27	0.15	0.09	0.18	-0.12	-0.34	0.02	-0.32	-0.39	1.00									
要素13	b	0.05	0.06	0.11	0.02	0.10	0.21	0.01	-0.14	-0.15	-0.09	-0.16	0.43	1.00								
要素14	b/a	-0.35	-0.24	-0.28	-0.17	-0.09	-0.17	0.12	0.35	-0.06	0.37	0.43	-0.96	-0.24	1.00							
要素15	グルコース	0.03	-0.25	-0.19	-0.26	0.16	-0.04	-0.34	-0.36	-0.23	-0.20	-0.11	0.33	0.03	-0.30	1.00						
要素16	EtOAc	0.16	0.05	0.00	0.09	-0.18	0.00	0.06	-0.11	0.13	0.03	0.18	0.05	0.19	0.03	0.15	1.00					
要素17	n-PrOH	-0.02	-0.26	-0.30	-0.19	-0.07	-0.08	-0.21	-0.35	-0.16	-0.26	-0.05	0.31	0.07	-0.28	0.48	0.44	1.00				
要素18	l-BuOH	0.33	0.20	0.18	0.19	0.00	0.14	0.48	0.18	0.07	0.00	0.05	-0.06	0.02	0.09	-0.07	0.38	0.26	1.00			
要素19	l-AmOAc	0.32	0.31	0.25	0.31	-0.24	0.11	0.13	0.06	0.33	0.16	0.12	0.13	0.14	-0.11	-0.05	0.68	0.19	0.07	1.00		
要素20	l-AmOH	0.06	0.29	0.29	0.25	-0.12	0.03	0.18	0.23	0.24	0.09	-0.12	-0.09	0.09	0.08	-0.58	-0.10	-0.55	-0.21	0.41	1.00	
要素21	EtOCap	-0.04	-0.08	0.01	-0.15	0.23	0.09	-0.15	0.02	-0.21	-0.16	-0.16	0.10	-0.20	-0.16	0.07	-0.42	0.14	-0.16	-0.18	0.01	1.00
要素22	評点	0.02	0.00	-0.14	0.11	-0.26	-0.04	0.15	0.04	0.27	0.05	0.02	-0.21	0.11	0.24	-0.16	0.26	-0.10	0.17	0.25	-0.48	1.00

## 5. 結果の発表、活用等

<学会発表>吉田知司、谷川浩司、池田早苗（徳島文理大工）、大野剛、高橋仁、熊谷昌則（秋田総食研），秋田県における名水の水質解析評価，第68回分析化学討論会  
清酒製造工場に対する酒造講習会で活用 山内杜氏組合製造技術研究会、職責別講習会ほか

完了試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：原料用水の特性解明と食品製造への有効利用

原料用水の採水調査

担当部署：酒類グループ 食品機能グループ

担当者名：大野剛、高橋仁、熊谷昌則

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：完了 2006年度（2004～2006年度）

## 1. 目的

本県の水の特徴は三大河川の分水嶺がほぼ県境となって他県と独立しており、食品への利用についても本県の独自性を出しやすい環境にある。しかし商品および原料の成分に関わるデータベースは原料用水を含め、不十分で商品製造・開発への活用が難しい状況にあり、データベースによる技術指導・情報提供の迅速な対応が求められている。

本研究は、食品製造への有効活用を目的として、県内各地の地下水・湧水を中心とした原料用水の採取とその分析調査を実施し、定点の周年変化、経年変化の把握とデータベース化の検討をおこなった。

## 2. 方法

県内定点39箇所の採水 定期採水 計五回

県内用水定点外の採水、県外サンプル、特徴的ミネラルウォーター等 サンプル採集

採水試料分析 一般分析 pH 採水温度 など

微生物 一般好気細菌、大腸菌群 ペトリフィルム法（3M）

重金属、リン、ケイ素、ミネラル ICP法 I R I S（ジャーレルアッシュ）

主要陽／陰イオン イオンクロマトグラフ法 DX-100 (DIONEX)

## 3. 結果の概要

原料用水適性基礎調査 定点39点 他

県内用水の採取とその分析調査を実施 定点の周年変化、経年変化の把握

県内外関連サンプル（県外用水、海外を含む特徴的ミネラルウォーター）の分析調査（表1）

これにより県内水面の通年の水質の把握、データベース用資料となる分析データが蓄積された。

これより夏季の微生物汚染増加とpHの経時的低下が見られた。（表2）

秋田県内の水資源の水質には海岸、内陸の地域差と採水地間でのバラエティがあったが、概ね軟水から中硬水であり、水道法基準に照らして良好な水質を維持していた。県外用水サンプルは海外ミネラルウォーター、海洋深層水を含むため、県内用水に比べて非常にバラエティに富んだデータを得ることができ、データ解析の巾の拡大に役立てた。温泉水や外国産ミネラルウォーターには極端な水質のものもあった。（表3）

定点観測地の成分の相関についてはミネラル成分とリン、ケイ素、陰イオン成分の間に相関が見られ、pHと硫酸、硝酸イオンに負の相関がみられた。（表4）

## 4. 成果の活用面と留意点

<学会発表>秋田県における名水の水質解析評価、第68回分析化学討論会

吉田知司、谷川浩司、池田早苗（徳島文理大工）、大野剛、高橋仁、熊谷昌則（秋田総食研）、清酒製造工場に対する酒造講習会で活用 山内杜氏組合製造技術研究会、職責別講習会ほか

<留意点> 水質成分は採水工場の企業秘密が含まれ、統計結果の利用は差し支えないと思われるが、個別データの公開と利用には慎重さが必要である。

表1 観測実施地点数量

地域	定点	その他
北秋鹿角	7	6
能代山本	7	6
南秋男鹿	2	2
秋田河辺	6	2
由利	5	3
仙北平鹿	8	18
湯沢雄勝	4	0
県外	0	20
温泉	0	14
合計	39	71

表2 定点観測地の微生物検出量とpH

原料用水 採取サンプル数	11月	2月	5月	8月	11月
微生物検出数					
一般細菌(用水数)	22	18	22	25	21
一般細菌(コロニー数)	282	125	124	532	204
大腸菌群(用水数)	2	1	2	4	2
大腸菌群(コロニー数)	2	1	2	11	3
pH	11月	2月	5月	8月	11月
6.0未満	0	1	0	0	0
6.0以上6.2未満	0	3	0	1	5
6.2以上6.4未満	2	5	1	4	10
6.4以上6.6未満	6	7	7	8	15
6.6以上6.8未満	6	7	15	17	6
6.8以上7.0未満	14	4	14	7	1
7.0以上	11	8	1	0	0

表3 原料用水の主要成分分析値

県内定点	カルシウム	カリウム	マグネシウム	ナトリウム	鉄	ストロンチウム	リン	ケイ素	クロール	硝酸	硫酸	pH	
	平均	9.35	3.45	4.25	15.27	7.50	64.30	27.53	11.09	20.74	8.65	11.75	6.85
H16 11月	標準偏差	4.69	4.90	2.91	10.00	12.58	35.45	83.23	5.46	12.26	8.42	10.00	0.26
	最大	18.90	27.58	10.92	59.16	64.90	140.00	490.45	27.53	54.57	29.97	43.21	7.30
	最小	1.25	0.11	1.03	4.66	0.08	11.87	0.00	2.85	4.46	0.10	0.90	6.32
	平均	10.01	3.78	4.59	16.17	7.81	70.58	30.59	11.56	24.80	7.92	11.26	6.64
H17 2月	標準偏差	5.61	4.93	2.84	11.17	12.36	36.62	78.02	5.93	19.35	6.70	8.69	0.37
	最大	30.74	26.10	10.13	58.16	50.02	149.10	413.70	30.23	84.69	24.14	38.81	7.17
	最小	1.39	0.14	1.08	4.94	0.04	12.14	0.00	3.92	3.12	0.15	1.85	5.86
	平均	9.63	3.27	4.37	15.38	8.60	57.03	34.27	10.97	25.24	7.79	11.35	6.73
H17 5月	標準偏差	5.18	4.21	2.82	9.24	14.10	30.28	77.04	5.80	22.22	7.12	9.40	0.17
	最大	24.66	23.46	10.68	42.50	70.65	119.60	441.75	29.80	100.14	23.90	42.08	7.03
	最小	1.40	0.10	1.08	5.19	0.30	10.83	0.00	3.93	1.24	0.10	1.32	6.36
	平均	7.97	3.03	4.01	11.26	8.52	58.77	42.05	11.90	24.62	9.25	11.53	6.62
H17 8月	標準偏差	3.43	3.32	2.86	4.86	14.77	31.29	91.78	5.64	20.23	9.03	9.55	0.19
	最大	13.90	15.86	10.35	26.62	72.58	127.20	517.00	27.99	94.59	44.63	45.20	6.89
	最小	1.25	0.12	1.07	4.25	0.56	11.54	0.00	4.82	3.42	0.12	1.37	6.19
	平均	8.78	3.34	4.30	11.89	10.75	65.28	37.42	11.59	24.79	7.86	11.91	6.44
H17 11月	標準偏差	3.63	4.02	2.90	5.06	13.28	35.38	87.65	6.34	19.91	7.18	11.09	0.18
	最大	15.17	20.34	10.88	28.81	45.73	150.00	497.00	29.49	87.28	22.11	56.60	6.80
	最小	1.40	0.13	1.06	4.14	0.13	12.58	0.00	4.10	4.65	0.00	0.95	6.05
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppb	ppb	ppb	ppm	ppm	ppm	ppm	pH	
県外含む 全採水 サンプル	カルシウム	カリウム	マグネシウム	ナトリウム	鉄	ストロンチウム	リン	ケイ素	クロール	硝酸	硫酸	pH	
	最大	674.40	107.50	192.00	1179.50	72.58	150.00	517.00	30.23	674.11	44.63	1268.34	7.30
	最小	1.25	0.10	1.03	4.14	nd	10.83	nd	2.85	3.12	nd	0.90	5.86

表4 主要18成分の相関係数

要素1	要素2	要素3	要素4	要素5	要素6	要素7	要素8	要素9	要素10	要素11	要素12	要素13	要素14	要素15	要素16	要素17	要素18
要素1 カルシウム	1.00																
要素2 カリウム	0.46	1.00															
要素3 マグネシウム	0.70	0.53	1.00														
要素4 ナトリウム	0.54	0.61	0.68	1.00													
要素5 アルミニウム	-0.12	-0.02	0.03	-0.07	1.00												
要素6 ハリウム	0.14	0.37	0.14	0.22	-0.03	1.00											
要素7 カドミウム	0.29	0.31	0.23	0.02	-0.13	0.28	1.00										
要素8 銅	0.17	-0.01	-0.04	-0.14	-0.08	0.12	-0.03	1.00									
要素9 鉄	0.11	0.15	0.33	0.55	0.35	-0.09	-0.23	-0.13	1.00								
要素10 マンガン	0.34	0.59	0.42	0.42	0.07	0.10	0.04	0.53	0.27	1.00							
要素11 ストロンチウム	0.83	0.52	0.72	0.70	-0.08	0.31	0.26	0.17	0.28	0.40	1.00						
要素12 亜鉛	0.06	0.00	0.33	0.01	0.26	-0.07	-0.03	0.07	0.43	0.35	0.08	1.00					
要素13 リン	0.42	0.53	0.33	0.32	-0.02	0.26	0.21	-0.04	0.01	0.20	0.33	-0.01	1.00				
要素14 ケイ素	0.51	0.44	0.39	0.53	-0.16	-0.04	0.16	-0.09	0.28	0.17	0.61	-0.01	0.22	1.00			
要素15 塩素イオン	0.50	0.57	0.75	0.88	-0.07	0.26	0.05	-0.19	0.34	0.33	0.70	-0.03	0.23	0.48	1.00		
要素16 硝酸イオン	0.35	0.36	0.46	0.29	0.05	0.35	0.22	0.24	0.20	0.35	0.59	0.21	-0.01	0.31	0.36	1.00	
要素17 硫酸イオン	0.56	0.50	0.57	0.67	-0.02	0.35	0.08	0.26	0.45	0.47	0.70	0.21	-0.01	0.36	0.58	0.54	1.00
要素18 pH	-0.01	-0.21	-0.06	-0.11	0.02	-0.41	-0.07	-0.33	-0.14	-0.27	-0.22	-0.17	0.00	0.04	-0.12	-0.44	-0.40

## 5. 残された問題とその対応

秋田県全域の水を中心としたデータベースと関連商品との広範多項目の解析結果が商品製造上の新規評価基準への利用や新ブランド商品構築につながる可能性を持つため、高度解析結果を適切な方法で公開する。

## 单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：食品汚染菌の検出と防御技術に関する基盤研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：木村貴一、高橋慶太郎、大野剛

協力分担：なし

予算区分：県単

研究期間：新規 2006年度（2006～2008年度）

### 1. 目的

食品安全性確保を目的に食品腐敗菌の somni cell(休眠細胞)状態の生理特性を解明する。清酒腐敗菌（火落菌）や食品腐敗菌の多くは加熱処理の困難な原材料に付着して混入する可能性があるが、混入経路や増殖のプロセスは不明な場合が多い。腐敗菌をはじめとする自然界に存在する微生物は、環境中の様々なストレスに対抗するため somni cell と呼ばれる状態にあり、そのほとんどが培養できない VBNC (Viable but nonculturable) 細胞である。本研究では、食品腐敗菌の混入経路、増殖、消滅などを解明するため、somni cell の生理特性の解明を行う。本研究によって清酒や食品の微生物汚染防止や食品安全性を確保に不可欠な基礎的なデータが得られる。

本年度は 1. Somni cell 判別法の開発を行った。

### 2. 方法

検定菌として *Lactobacillus sakei* KLB 3138aC 株を用いた。

#### a. 蛍光マイクロプレートリーダーの活用

生菌の検出法として、エステラーゼ基質である Calcein-AM を用い、蛍光マイクロプレートリーダー SpectraMax M5 (モルキュラーデバイス社製) にて検討した。

##### a-1. Calcein-AM 測定条件の検討

フルオロセインを蛍光物質として含む Calcein-AM の測定条件の設定を行った。

##### a-2. 低温保存期間の異なる検定菌のエステラーゼ活性測定

十分に生育した検定菌を 4°C で 2 日間または 8 日間保存したものと、30°C で培養した直後の検定菌体の濁度をそろえ、菌体懸濁液 50 μl に 100 μg/ml Calcein-AM 溶液 50 μl を加え、0.1M リン酸バッファー pH 7.0 にて 1 ウェルあたり 200 μl に調整し、37°C で一定時間ごとに蛍光強度を測定した。

##### b. リアルタイム PCR の活用

検定菌及び作々楽 (KLC 1527D) の 16S rDNA を用いて 300bp, 340bp, 1500bp におけるリアルタイム PCR の活用をサイバーグリーンにて検討した。Chromo 4 リアルタイム PCR システム (バイオ・ラド社製) と iQ SYBR Green Super Mix (バイオ・ラド社製) を用いた。

### 3. 結果の概要

以前、試験醸造中のもろみに含まれる清酒用酵母にて、Calcein-AM および PI をもちいて蛍光顕微鏡による観察を行った際、生菌（エステラーゼ活性を有するもの）、死菌、そしてエステラーゼ活性の低下した画分に分類できることを見いだし、フローサイトメーターの利用を検討した経緯がある。また、メチレンブルー染色と、トリパンブルー染色、PI 染色間で相同性を見いだしている。

#### a. 蛍光マイクロプレートリーダーの活用

##### a-1. Calcein-AM 測定条件の決定

連続波長スキャンを行った結果を図 1 (カットオフ設定無し) と図 2 (カットオフ 495nm) に示す。その結果、励起光が測定波長に影響を与えるため、カットオフ波長の選択が必要だと判断した。また、Ex 492nm に固定し、Em を 515nm または 525nm に、カットオフ波長を設定無し、495nm、515nm に設定し、測定した結果を表 1 に示す。通常 ± 5nm は誤差が生じることから Calcein-AM を用いた測定には、Ex 492nm, Em 525nm, カットオフ 515nm が適切だと決定した。

## a-2. 低温保存期間の異なる検定菌のエステラーゼ活性測定

その結果を図3に示す。検定菌 Lb. sakei KLB 3138aC 株は、pH 3.8、4°Cの環境下で2週間以上保存しても、コロニー形成能を有する事がわかっているが、その影響か、8日保存したものでもエステラーゼ活性の低下は少なく、検定菌として不適切だと判断された。

## b. リアルタイムPCRの活用

結果を図4に示す。メーカーはリアルタイムPCRに用いるDNA断片に200bp程度を推奨している。今回、5'末端側約340bp(10Fまたは12F-350R)、3'末端側約300bp(1100F-1400R)、そして全長約1530bpの断片を増幅したところ、200bpの領域を増幅していないが、340bp程度であれば問題なく使用できる感触を得た。

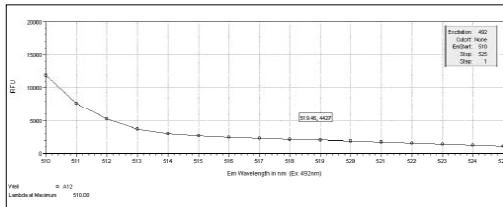


図1 カットオフ設定無し

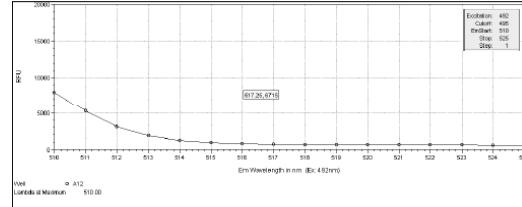


図2 カットオフ 495nm

表1 測定値 (RFU)

Ex	Em	Cutoff	30分後	1時間後	3時間後
492	515	None	2840	2388	3225
↓	↓	495	867	875	1078
↓	↓	515	135	154	292
↓	525	None	1102	1143	1333
↓	↓	495	513	546	737
↓	↓	515	141	168	345

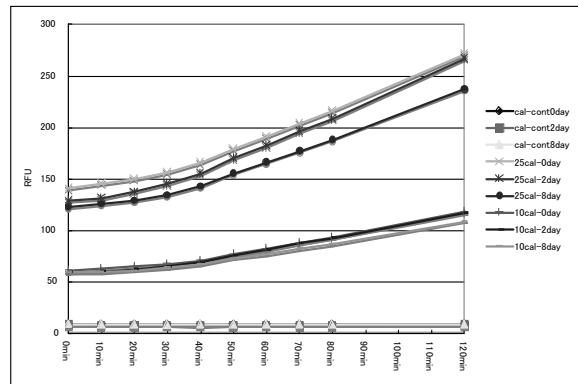


図3 エステラーゼ活性測定

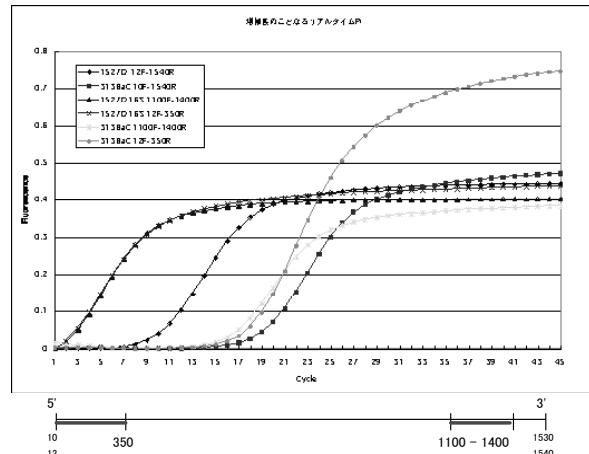


図4 上 増幅曲線  
下 增幅部位(全長と赤線部分)

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

### a. 蛍光マイクロプレートリーダーの活用

- 死菌測定法の検討、市販キットの活用を検討する。
- 検定菌を検討する。

### b. リアルタイムPCRの活用

RNA抽出キットの乳酸菌への最適化、得られたRNAを用いたRT-PCR、リアルタイムPCRを行うためプライマーの検討

## 5. 結果の発表、活用等

学会など

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効利用に関する研究

　　真菌類の有効利用に関する研究

　　酵母の有効利用に関する研究

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：高橋慶太郎

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

白神山地の土壤等より野生酵母を分離し、その特性を解明するとともに、有用酵母の選抜を行い、これら酵母を使用した製品開発を目的とする。

18年度は分離した酵母の基礎的な特性分析を進めるとともに特性分析の終了した酵母について有効利用の検討を行う。また、白神こだま酵母の各種特性を十分に引き出した製パン法を確立する。

### 2. 方法

供試菌株；当研究所で白神山地の土壤より分離・保存している真菌類4405株（本年度新規保存278株）

培地；YPD液体培地（グルコース3%、ポリペプトン1%、酵母エキス0.5%，固体培地は寒天1.8%をプラス）およびCer最小培地（ガラクトシルセレブロシド1.0%，寒天1.8%）・Gal-Cer最小培地（ガラクトシルセレブロシド1.0%，ガラクトース0.1%，寒天1.8%）

特性解析；増殖性—固体培地上での菌体増殖度を観察、

発酵性—フアーモグラフで測定、

製パン性—自動製パン機により製パンして評価

胃酸耐性；塩酸でpH2.5に調整したYPD液体培地で30°C・6hrs保持後の生存率を測定

糖セレブロシド定性分析；定法により菌体より抽出・分画後、TLCでクロロホルム・メタノール・水（65:25:4）により展開し硫酸噴霧後加熱発色

### 3. 結果の概要

保存真菌類600株を30°Cで40時間培養し、湿菌体量・乾菌体量および培養上清のpHを測定した。図1に示した湿菌体量と乾菌体量との相関では、湿菌体量が多く（1.5g/培養液40ml以上）かつ乾菌体量／湿菌体量が0.7以上の株が7株観察され、物質蓄積が期待される。また図2に示した培養上清のpH分布では、pH3.5以下になる2株が取得され、最も低いpHは3.24であった。これら2株は酸生産酵母として興味深い。

中性糖脂質蓄積株の取得のため293株からの予備選抜試験を行った。その結果、Cer最小培地及び／又はGal-Cer最小培地で生育する8株を取得した。菌体内の中性糖脂質を分析したところ、図3に示したように、8株中6株（No.795, 1227, 4031, 4033, 4053, 4155）で中性糖脂質の蓄積が観察され、スクリーニング手法の有効性が確認された。

白神こだま酵母では、乾燥耐性の高次利用として酵母配合製パン用プレミックスの開発を行い、試験販売中である。また、サプリメントとして健康食品への利用のため胃酸耐性を検討したところ、既存の乾燥酵母では生存率が0.06%であったが、白神こだま酵母は18.3%と高い耐性を保持していることが明らかとなった。

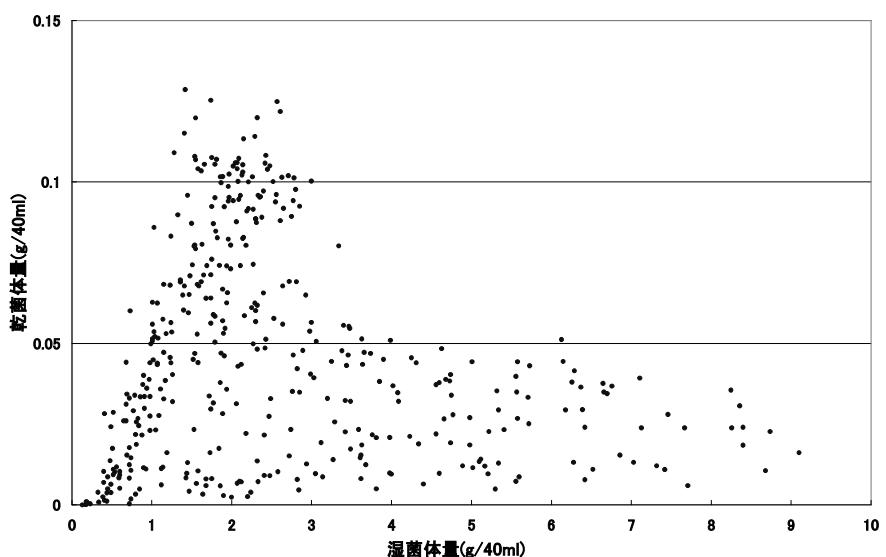


図1. 白神酵母の湿菌体量と乾菌体量相関

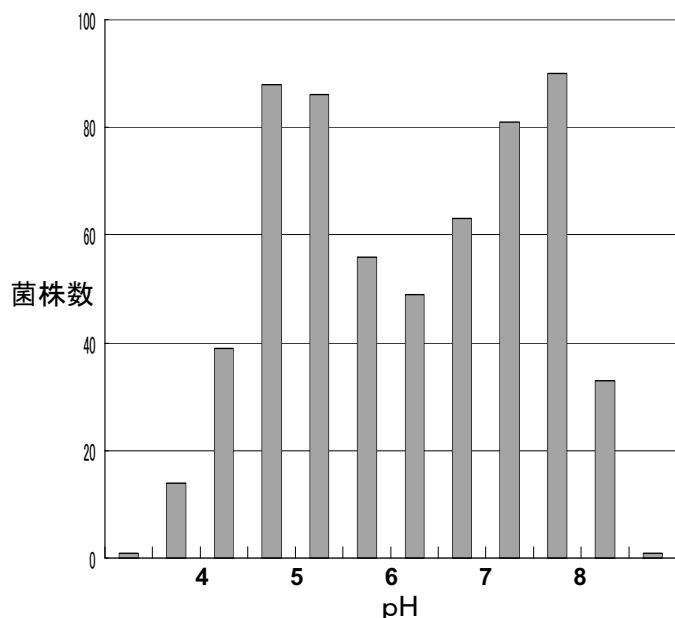


図2. 白神酵母の培養上清pH

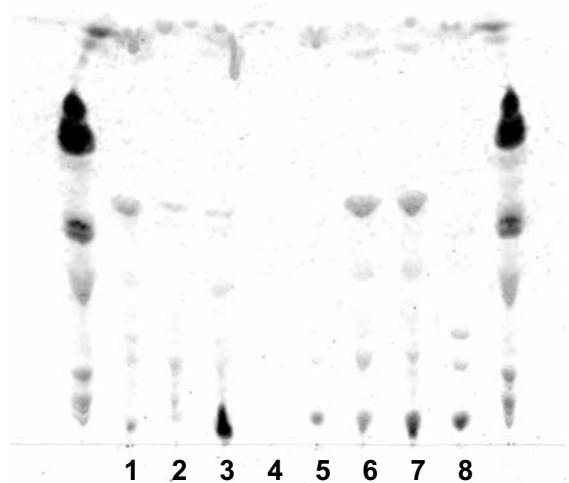


図3. 白神酵母の中性糖脂質蓄積

1:No.795,2:No.1078,3:No.1227,4:No.1590  
5:No.4031,6:No.4033,7:No.4053,8:No.4155

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

有効利用のため、特性解析を行っていない保存株の解析を進める必要がある。

4500株を超える白神真菌類の産業利用を促進するため、県内外の企業と積極的に共同研究を進める予定である。

#### 5. 結果の発表、活用等

- 「白神微生物」を利用したブランド開発 Techno Innovation 62, 24-27(2007)

## 単年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効活用に関する研究（H15～19）

北東北産穀類の製麹とその応用

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：畠山 誠

協力分担：高橋慶太郎、尾張かおる、渡辺隆幸、木村貴一、秋山美展

予算区分：県単

研究期間：継 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

微生物利用の高度化を目指し、その技術で新しい加工食品を開発することを目的とする。

その一つとして、本年度は種々の雑穀を製麹し、その麹糖化物と白神こだま酵母を利用した製パン技術の開発を行い、新規なパンのアイテムを開発する。また、雑穀麹パンの有用性を唱うデータ取得を目的として、雑穀および雑穀麹の機能性についても試験を進めた。

### 2. 方法

- ・製パン向きの雑穀麹製麹技術開発を行った。種麹に酒母用を使用した。
- ・麹の糖化・酵素失活をジュール加熱器を用いたプログラム加熱法で行った。
- ・麹糖化物を糖の代わりに用いてパンの製造試験を行った。
- ・雑穀および雑穀麹の抗変異原性について試験を行った。

### 3. 結果の概要

#### 1) 製麹試験結果

すべての供試原料で麹として利用可能な酵素力価を持つ麹が得られた。

表1、雑穀麹の酵素力価

原 料	種 麹	酵素力価(U/g麹)		
		$\alpha$ アミラーゼ	糖化力	酸性CAP
ひえ	酒母	1800	300	16000
あわ	〃	2400	340	18000
きび	〃	1800	330	5000
米(対照)	〃	1700	320	7400

\*酵素力価は乾物換算値

#### 2) 雜穀麹の糖化と酵素失活

麹の糖化は、麹と水の量比が1：2の混合物の場合、60°Cで6時間行うのが適当である。

ジュール加熱器を用いたプログラム加熱法で麹糖化液中の酵素失活を行う場合、達温90°Cで10分間加熱することによってプロテアーゼは完全に失活した。

#### 3) 雜穀麹パンの製造試験

表2の原料配合で、ミキシング時間3分30秒、1次発酵1時間、2次発酵1～1.5時間で発酵させた丸パン生地を焼成すると、比容積3.6～4.0のパンとなる。ひえ麹パンの水量が他の雑穀麹パンと比較して多いのは、酵素失活時の加熱でひえ麹糖化液がゼリー状となるため、グルテン形成に必要とされる水分が麹糖化液から供給されにくいためである。

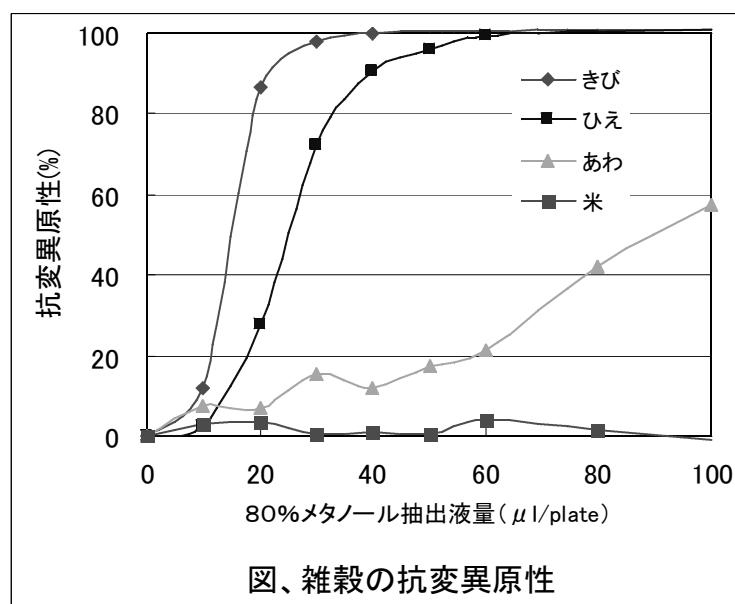
表2、雑穀麹パンの原料配合

原 料	ひえ麹パン	あわ麹パン	きび麹パン	普通のパン	(g)
小 麦	250	←	←	←	
麹糖化液（砂糖）	60	60	60	(15)	
食 塩	3.8	←	←	←	
白神こだま酵母（生）	10	←	←	←	
ショートニング	10	←	←	←	
水	140	120	120	160	

\* 麹糖化液は、麹 20 g に水 40 g を加え、糖化・酵素失活したものを使用

#### 4) 機能性試験結果

Ames 法で行った抗変異原活性試験の結果、雑穀には、きび、ひえ、あわの順で強い抗変異原性があることが判った。雑穀麹糖化液にも抗変異原性があることが示唆された。



#### 4. 成果の活用面と留意点

雑穀麹の製造法、雑穀麹パンの製造法はそれぞれ県内の麹屋、製パン業者に技術移転する

#### 5. 残された問題とその対応

雑穀麹の製麹の県内企業への技術移転がまだである。可能ならば本年度中に行いたい。

## 单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効活用に関する研究

　　乳酸菌を用いた機能性食品の開発

担当部署：応用発酵グループ

担当者名：木村貴一、高橋慶太郎

協力分担：酒類グループ 大野剛、新野葉子

予算区分：県単

研究期間：継続 2006年度（2003～2007年度）

### 1. 目的

乳酸菌 KLC 1527D 株「作々樂(ささら)」のナイシンを利用したバイオプリザベーションによる食品の日持ち向上効果とともに GABA による機能性を付与した他に類を見ない独創性に優れた食品の開発を目指す。また、前年度までに分離された生酛清酒に使用できる白神山地由来 *Lactobacillus sakei* KLB 3138aC 株の実用化を前提とした基礎的性質解明を行う。県内外で人気の高い白神乳酸菌を利用した健康志向・高級志向の消費者にアピールする新規発酵利用食品を開発し、県内食品産業の活性化を支援することを最終目標とする。

本年度は a. KLB 3138aC 株の生酛清酒への応用について検討を行った。従来の生酛酒母の乳酸菌育成期間は約 14 日程度を必要とするが、KLB 3138aC 株を使用することで 7 日以内に短縮することを主な目的とした。

### 2. 方法

#### a. KLB 3138aC 株の清酒への応用について

従来菌として *lactobacillus sakei* NBRC 3541 株との比較を行った。各乳酸菌添加区は 1ml あたり 10 の 5 乗個となるように添加した。

##### a-1. モデル酒母発酵試験

米麹、蒸米、水を混合した水麹を用意し、一般的な品温経過でモデル酒母発酵試験を行った。乳酸菌非添加区、KLB 3138aC 株添加区、NBRC 3541 株添加区を用意し、KLB 3138aC 株添加区の酸度が 2.5 に達した時点で酵母を添加した。

##### a-2. 汚染菌の推定

a-1 より 10°C 以上で雑菌汚染が懸念されたため、酸生産菌を分離し、16S rDNA の塩基配列から汚染菌の推定を行った。

##### a-3. 改良モデル酒母発酵試験

a-1 より 10°C 以上で増殖する雑菌汚染が認められたことから、4°C から増殖できる KLB 3138aC 株の特徴を活かし、酸度 2.5 未満を 8°C で維持するモデル酒母発酵試験を行った。酸度が 2.5 の時点での酵母添加した後 15°C でモデル酒母を作成した。乳酸菌非添加区では、水麹作成時に醸造用乳酸を酸度 2.5 となるように添加した。水麹の作成には通常の米麹の他、より衛生的であるとされるアルコール脱水麹の試験区も用意した。

##### a-4. 改良モデル酒母の成分分析

a-3 より得られたモデル酒母からモデルもろみ発酵試験を行い、それぞれの有機酸を分析した。

### 3. 結果の概要

#### a. KLB 3138aC 株の清酒への応用について

##### a-1. モデル酒母発酵試験

乳酸菌非添加区から品温 10°C 以上で酸度の上昇が認められ、雑菌汚染が懸念された（図 1）。この乳酸菌非添加区を 8°C で保存した場合、酸度 0.2 のまま上昇しなかつたため、10°C 以上から増殖できる酸生産菌と推定された。

##### a-2. 汚染菌の推定

16S rDNA 塩基配列の相同性を比較したところ、*Enterococcus faecium* と推定された。

##### a-3. 改良モデル酒母発酵試験

KLB 3138aC 株は 8°C において 6 日で酸度 2.5 を実現するのに対し、NBRC 3541 株では 11 日程度

必要であったこと、普通麹かつ乳酸菌非添加区において異常な酸度増加が認められなかった。目標とするアルコール度数12%には、KLB 3138aC株は酒母日数15日で実現するのに対し、NBRC 3541株では20日を要した。ただし、酸度は乳酸菌非添加区(醸造用乳酸添加)では5.3、NBRC 3541株が6.2であるのに対しKLB 3138aC株が8.6と高く、より酸味が強く生酛酒母の特徴が出やすいと判断できた。(図2、表1)

#### a-4. 改良モデル酒母の成分分析

NBRC 3541株と比較してKLB 3138aC株は乳酸をより多く作り、酢酸は若干少ない結果となった。(図3、4)

以上より、KLB 3138aC株を用いた8°Cによる乳酸発酵により安全かつ短期間にKLB 3138aC株の特徴を有する酒母が容易に作成できることがわかった。

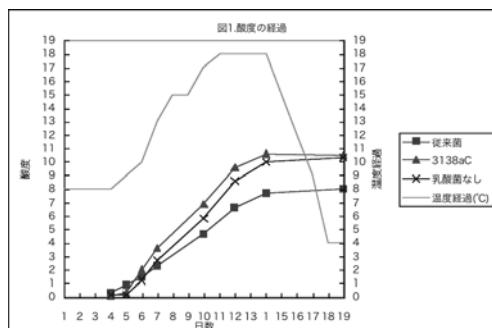


図1 モデル酒母試験

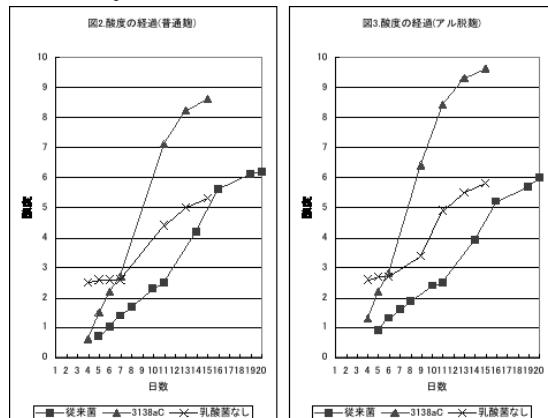


図2 普通麹（左）とアルコール脱水麹（右）

表1 成分

麹	乳酸菌	酵母添加日	酒母日数	日本酒度	アルコール	グルコース	酸度	アミノ酸度
普通	従来菌	11日目	20	-9.3	12.15	2.5	6.2	2.6
普通	3138aC	7日目	15	-16	11.05	3.1	8.6	2.6
普通	なし	7日目	15	-20.8	11.1	3.4	5.3	1.5
アル脱	従来菌	11日目	20	-25.3	13.25	4.6	6	2.6
アル脱	3138aC	6日目	15	-41.8	13.4	3.4	9.6	2.4
アル脱	なし	6日目	15	-30.8	12.45	5.1	5.8	1.4

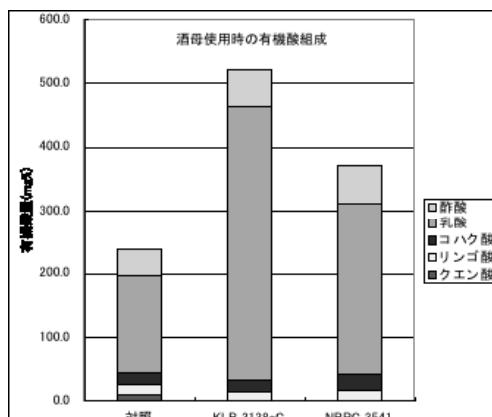


図3 酒母使用時の有機酸組成

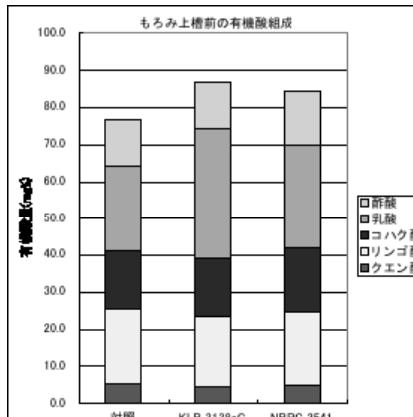


図4 もろみ上槽時の有機酸組成

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

##### KLB 3138aC株の実用化

現場から期待されるのは、ナイシンの効果や人体へ良い影響を与える機能性乳酸菌である。故に、機能性に重点を置いて研究を進める。

##### 白神乳酸菌株の充実

#### 5. 結果の発表、活用等

学会など

单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：白神微生物バンクの有効利用に関する研究

放線菌及び耐熱性菌由来酵素と酵素阻害物質等に関する研究

担当部署：酵素・微生物グループ

担当者名：高橋砂織、小笠原博信、堀 一之、菅原真理

協力分担：

予算区分：県単

研究期間：継・2006年度（2003～2007年度）

## 1. 目的

世界自然遺産に指定されている白神山地は、微生物遺伝子資源の宝庫である。白神山地には多くの可能性を秘めた微生物が生存していると考えられる。そこで、白神山地の森林土壤より出来るだけ多くの微生物を分離・選抜し、その有効活用を図る。今年度は、D-アスパラギン酸特異的エンドペプチダーゼ(DAEP)生産菌及びその阻害物質生産菌のスクリーニングを行った。

## 2. 方法

**耐熱性菌の分離と純粋培養**：土壤を生理食塩水に懸濁し70°C、30分間加熱処理後その一部を普通寒天培地に植菌した。30°Cで24時間培養後、菌を選抜し、ワックスマン斜面培地に植菌し、純粋培養した。

**液体培養**：それぞれの菌をワックスマン液体培地に植菌し30°Cにて振とう培養した。培養後、遠心分離にて上清を回収した。

**DAEP生産菌のスクリーニング**：耐熱性菌や放線菌の非加熱の培養液を用いて、DAEP生産菌のスクリーニングを行った。酵素の基質としては、Suc-[D-Asp]-MCAを用いた。

**Paenidase阻害物質生産菌のスクリーニング**：*Paenibacillus* sp. B38株培養液より各種クロマトグラフィーで酵素を精製したPaenidaseを標的酵素として耐熱性菌や放線菌の培養液を対象して阻害物質生産菌の探索を行った。

## 3. 成果の概要

DAEP生産菌のスクリーニングにおいては、本年度耐熱性菌約400株及び放線菌約3,000株の検定を行ったが、これまでにPaenidase以外生産菌は得られていない。また、阻害物質生産菌のスクリーニングの結果、N9株、F70株、S2262株及びS2502B株計4株の阻害物質生産菌を取得した。これらの中で、F70株の生産する低分子性阻害物質に関しては、部分精製を試みた。F70株由来の阻害物質は、80%飽和硫酸で沈殿した。また、各種クロマトグラフィーで、非特異的な吸着を示し、高濃度の塩酸グアニジンで溶出された。図1に精製過程の濃度依存的阻害パターンを示した。また、有機溶媒抽出や有機溶媒中のゲルfiltrationなどで精製の検討を行った。一方、Paenidase遺伝子のクローニングに向けてゲノム遺伝子の取得やN末端配列の解析等を行った。

## 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

Paenidase以外のDAEP生産菌の取得を目指し、DAEPの構造特性を明らかとする。また、複数の阻害物質生産菌が取得されたことから、今後その精製方法を確立し、阻害物質の構造を明らかとする。さらに、その他の有用新規酵素の取得に向けて新たな基質の設計を行い、スクリーニングを進める。

## 5. 結果の発表、活用等

1) 高橋砂織、小笠原博信、堀 一之

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  
第6回食品酵素化学研究会（近畿大学農学部、奈良市）

2) Saori Takahashi, Hironobu Ogasawara, Kazuyuki Hiwatashi, Kazuyuki Hori, Keishi Hata, Tadanori Tachibana, Yoshifumi Ito, and Toshihiro Sugiyama

Paenidase, a novel D-aspartyl endopeptidase from *Paenibacillus* sp. B38: Purification and substrate specificity. *J. Biochem.* **139**(4), 197–202 (2006)

3) 高橋砂織、小笠原博信、畠 恵司、樋渡一之、堀一之

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  
特開 2006-271275

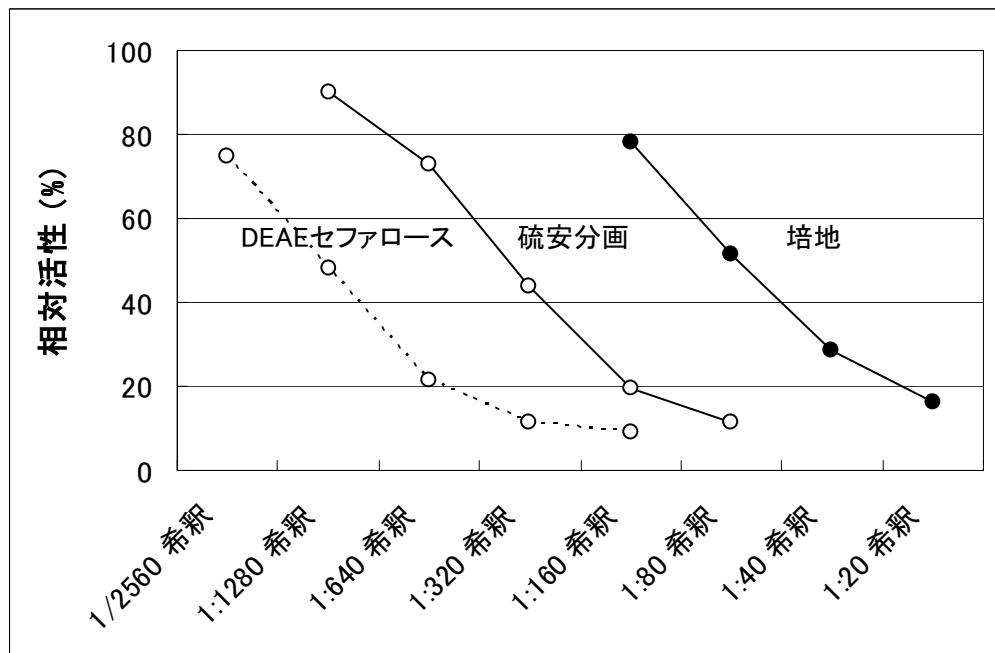


図1. F70 株由来阻害物質の精製段階における Paenidase 阻害曲線

検定用試料としては、F70 株の培地(2,500 ml)、硫安沈殿分画(220 ml)及びDEAE セファロース分画(23 ml)を用いた。阻害活性の回収率は、培地の阻害活性を 100%とした場合、硫安分画が約 41.8%、DEAE セファロース分画が約 16.3%であった。

## 单年度試験研究課題（2007年2月作成）

研究課題：米加工副産物の有効利用に関する研究

無洗米粕からの乳酸発酵による有用物質（ $\gamma$ -アミノ酪酸、乳酸）の生産

担当部署：食品開発グループ

担当者名：戸枝一喜、保苅美佳

協力分担：東北農業研究センター、畜産試験場、秋田銘醸株式会社

予算区分：県単・委託（東北農業研究センター：バイオリサイクル研究事業）

研究期間：新・継・中・断 2006年度（2005～2009年度）

### 1. 目的

秋田県の主力農産物である米は玄米で出荷されるほか、白米でも相当量出荷されている。精米の際に糠が多量に発生する。また、日本酒製造においても精米に伴い、赤糠、白糠が多量に発生する。県内で発生する米糠（白糠を含む）としては21,000トンと推定されている。これらの米副産物の中で白糠はその殆どが県外に低価格で出荷されている。このような背景から、糠を原料として高付加価値化した食品の開発が望まれている。一方、これら糠には種々の栄養成分が含まれているため、GABA、乳酸等の発酵原料として利用可能である。

無洗米の製造の際に多量に発生する無洗米粕には糖質、蛋白、纖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 $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）、乳酸がある。そこで、今年度は無洗米粕から乳酸菌発酵によりGABAまたは乳酸の効率的生産技術開発を目的とする。

### 2. 方法

- ① 無洗米粕からの乳酸の最適生産条件の検討
  - ② 乳酸生産のパイロットスケール実証試験
  - ③ GABA 生産のパイロットスケール試験
  - ④ 大家畜飼料素材用 GABA 製造残渣の試作
- ③の結果を用いて牛などの大型動物用のGABA 製造残渣を秋田銘醸㈱において試作する。

### 3. 結果の概要

- ① 無洗米粕からの乳酸の最適生産条件の検討

グルコースから乳酸を高生産する菌株6株について培養条件の検討を行った。その結果、6株中2株は実験用培地を食品素材である酵母エキスおよび蛋白加水分解物から成る培地に変えてても実験用培地と同程度以上の乳酸を高生産できた（表）。

- ② 乳酸生産のパイロットスケール実証試験

乳酸を高生産する2株を用いて1Lジャーによる選抜試験を行った。その内1株は添加した5%グルコースを15時間で93%の高収率で乳酸に変換した。

- ③ GABA 生産のパイロットスケール試験

30Lジャーによるスケールアップ試験の方法に準じて、無洗米粕として400kgスケールのGABA生産試験を行った。その結果、GABA 1.05%を含む培養液が2890L生産できた（図）。

- ④ 大家畜飼料素材用 GABA 製造残渣の試作

大家畜飼料用として秋田銘醸㈱においてGABA 1.3%を含有する乾燥残渣122kgを試作した。

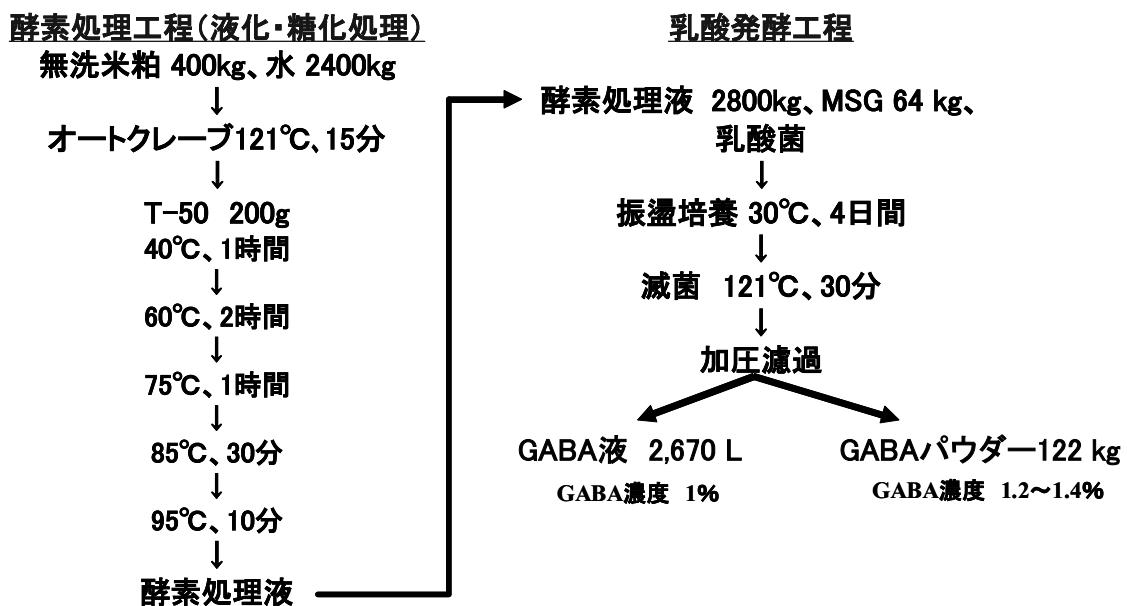
### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

GABA 発酵残渣の水分含有量が高いため残渣の乾燥に時間を要するため、濾過工程の改善が必要である。

### 5. 結果の発表、活用等

- 1) 押部明徳、戸枝一喜、大友理宣、特願 2006-155356
- 2) 戸枝一喜、大友理宣、押部明徳、第58回日本生物工学会大会（2006）
- 3) 大友理宣、木村貴一、渡辺誠衛、戸枝一喜、日本生物工学会誌、84巻、12号、p479-483（2006）

乳酸菌	乳酸(g/L)	
	バクトペプトン 酵母エキス	アミフレックスAL-3 酵母エキスSL-W
209	62.3	46.4
216	69.5	48.8
217	71.0	57.0
220	74.9	70.9
223	57.2	32.1
224	78.2	81.6



## 研究課題以外の試験研究成績

区 分：外部資金（J S T サテライト岩手F S 事業：平成18年度実用化のための可能性試験）  
研 究 名：『電気抵抗発熱による冷凍マグロの高品位解凍技術の開発』に係わる  
          フィージビリティスタディ  
研 究 期 間：平成18年度  
担 当 者：秋山美展  
協力・分担関係：秋田大工学資源学部

### 【概 要】

#### 1. 目的

ジュール加熱法は被加熱物に電流を通じることによって材料自身を加熱する方法であり、温度制御精度が高い、昇温応答が早いなどの特徴を持つ。冷凍ブロック肉や冷凍魚等の解凍においては解凍所要時間と解凍品質は反比例の関係にあり、高品位な解凍品質を得るには多大な解凍時間を要する。本研究はジュール加熱法を冷凍マグロ等の解凍に応用し、迅速かつ高品位な解凍品質を実現する解凍技術及び装置の開発を目的とする。

#### 2. 方法

- 1) 冷凍マグロや冷凍肉と同等の電気伝導率を有するモデル食品を作製する。
- 2) 電極形状や配置が発熱挙動に与える影響を明らかにする。
- 3) 解凍終了点の検出法と通電制御法を開発する。
- 4) 複数のジュール電極対の通電制御法を開発する。
- 5) モデル食品を用いた解凍試験を行う。
- 6) 実食品を用いた解凍試験を行う。

#### 3. 成果

- 1) マグロの市場動向と流通経路に関する調査
  - マグロの需給構造が変化しつつある。世界的需要増と生産量（漁獲量）の減少により、価格は高騰していく見通し。
  - 現状の解凍法には品質、時間、解凍専用スペース等の解決すべき課題が多く、ジュール解凍法の潜在需要が確認された。
- 2) 解凍終了点の検出方法と通電制御法
  - 解凍終了点付近では電気抵抗率が大きく変化することを見いだした。この電気抵抗率の変化を検出することにより解凍終了点を検出する方法を開発した。
- 3) ジュール解凍システムの構築
  - シーケンサプログラムを組み込んだワンチップマイコンにより、10 チャンネルの分割電極への出力制御と電流変化量から解凍終了点を判断するプロトコルを開発した。
- 4) ジュール解凍試験
  - 冷凍マグロブロックを用いたジュール解凍試験では、室温放置解凍に比較して、解凍所要時間は 1/6 に短縮が可能であった。
  - 解凍品質は冷蔵庫解凍とほぼ同等であり、室温解凍よりも優れていた。

区 分：〈新規課題予備的実験〉平成18年度競争的研究資金事業  
 研究名：『地域伝統食材の生理機能を活用した高齢者むけ食品の開発』に係わる  
 フィージビリティスタディ  
 研究期間：平成18年度  
 担当部署：食品機能グループ  
 協力・分担関係：秋田県健康環境センター保健衛生部

### 【概要】

#### 1. 目的

高齢化や生活習慣病の低年齢化に伴い、生活習慣病の予防に対する食餌効果への期待が高まっている。総合食品研究所のこれまでの研究成果から、優れた生理機能性を有する食材がいくつか見いだされている。また、和食の中心素材である米、大豆、緑茶には互いの活性酸素消去能<sup>1)</sup>を相乗的に増強しうる作用のあることが明らかになっている。

本課題では、高齢者の食に対するニーズ、アディポネクチンの分析法、脳波計測法、さらに高齢者向け食品の市場性等について調査を行う

#### 2. 方法

調査項目	調査手法等
①アディポネクチンの定量に関する調査	文献収集、ラボテスト等
②嚥下・咀嚼能力の測定に関する調査	文献収集、アンケート調査
③高齢者の食事の現状に関する調査	文献収集、アンケート調査
④脳波計測に関する調査	文献収集、計測装置メーカーに対する調査
⑤高齢者食品の市場に関する調査	情報収集

#### 3. 成果

- ① アディポネクチンの定量に関する調査  
細胞評価系を用いた活性測定法を導入した。
- ② 嚥下・咀嚼能力の測定に関する調査  
高齢者の求める食品物性に関する情報を取得した。
- ③ 高齢者の食事の現状に関する調査  
高齢者の食事の現状を把握しニーズ及びシーズを探索した。
- ④ 脳波計測に関する調査  
市販脳波計測装置および脳血流（光トポグラフ）の性能および実績調査を行った。
- ⑤ 高齢者食品の市場に関する調査  
高齢者食品の性能、評価、市場に関する情報を取得した。

区 分	平成18年度競争的研究資金事業
研 究 名	「ヒトによるギャバ含有素材の評価試験」に関するフィージビリティスタディ
分 担 課 題	ストレス評価法に関する調査及び特保に関する調査
研 究 期 間	平成18年度（単年度）
協 力・分担関係	健康環境センター

## 【概要】

### 目的

食品の機能性評価としては動物試験の結果だけではインパクトに欠ける。最近は臨床疫学的手法によるヒトでの機能性評価が増加傾向にある。そこで、共同開発したギャバ含有素材のストレス軽減効果を臨床試験により検証することを目的とする。食品の機能性評価を臨床試験による試みは県内では始めての試みである。幸い、ストレスはヒトの唾液中に分泌されるストレスマーカーの測定により評価できることから実現の可能性は非常に高い。

実施するには臨床試験に用いることができるストレス評価法の調査・試験および市場調査が不可欠であり、フィージビリティスタディが必要である。

### 方法

- ① ストレス評価法に関する調査及び特保に関する調査
- ② ストレス評価法に関する試験
- ③ 臨床試験の調査食品の安全性に関する調査（健康環境センター）
- ④ 市場性調査

### 成果

- ① ストレス評価法に関する調査及び特保に関する調査

ストレス評価法に関する調査および特定保健用食品に関する調査を行なった。

- ② ストレス評価法に関する試験

ヒトでのストレス軽減効果を確認する手法として、生体試料中のストレス関連物質を計測する生化学的手法、なかでも非侵襲的に採取できる唾液中の CgA を EIA で分析する方法が、現在最も適していると考えられる。今回、構築した ELISA 法は、定量範囲、定量直線性及び価格の面で、競合 ELISA 法による Kit 化された市販品と同等以上の性能を示すことがわかった。

区	分：技術支援のための試験研究
研 究	名：すいか糖の製造法
担 当	者：熊谷昌則、堀一之、高橋徹、秋山美展
研 究 期 間	平成18年度
協力・分担関係	おものがわ夢工房、横手市雄物川地域局産業振興課、平鹿地域振興局農林部

### 【目的】

すいか糖は、1990年に旧雄物川町が加工施設を作り、町の特産品として売り出されていた。病後の滋養食などとして全国的に評判となつたが、採算性や作り手の高齢化などの問題から2003年には製造が中止された。2006年になって、旧雄物川町の直売所仲間6人が資金を出し合つて起業化した「おものがわ夢工房」がすいか糖を復活させることになった。そこで、すいか糖の製造技術に関する技術的支援が求められた。

### 【方 法】

製造法を下記に示す。加熱濃縮においては加熱効率を高め、また製品の外観色が褐変するのを防止する方法がとられている。賞味期限の設定においては、微生物試験ならびに食味試験により、当初は6ヶ月と設定したが、その後の追加・確認試験により12ヶ月に延長した。

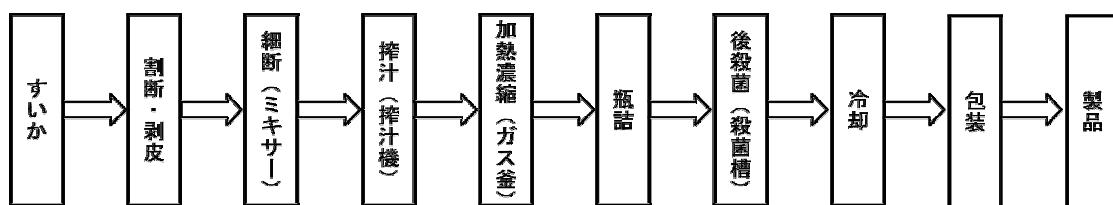


図1 製造フロー

製品表示やパンフレットの内容については、JAS法、食品衛生法、健康増進法等に則って適切に記載するよう指導した。

### 【成 果】

今年度は、7月下旬から8月下旬にかけて約700kgを生産し、8月から販売を開始した（売り上げ目標800万円）。これらにより、新規雇用の創出、地域伝統食文化の継承、主力農産物のブランド化促進において顕著な成果を得ることができた。



平成18年度 第26回 県特産品開発コンクール奨励賞  
平成18年度 第129回 県種苗交換会入賞  
平成18年度 第7回「ふるさと特産品」コンクール審査員特別賞

図2 商品の外観

区 分	共同研究のための予備試験研究
研 究 名	秋田杉桶樽の需要開拓に向けた製品試験
担 当 者	熊谷昌則、高橋徹
研 究 期 間	平成18年度
協 力・分 担 関 係	秋田杉桶樽協同組合、活き活き物産応援チーム

### 【目的】

これまで桶樽は調理や食品製造における需要が見込めたが、近年は主として樹脂等の容器に代替されることが多くなったため、その生産量は激減している。しかしながら、秋田杉桶樽は経済産業大臣認定の伝統工芸品であり、将来にわたってその技術を伝承していくことが重要と考えられる。秋田県では活き活き物産応援チームと秋田杉桶樽協同組合が連携して新規の需要開拓に向けた取り組みを展開している。本研究では、秋田杉桶樽の製品試験を実施して、その性能を科学的に把握することを目的とした。

### 【方 法】

一般に木製品は断熱効果に優れているといわれていることから、今年度は秋田杉桶樽の保温効果について検討した。

### 【成 果】

秋田杉のおひつはセラミック製のものに比べて、ご飯の保温効果が高いことが実証された。図1には外部雰囲気が25°Cで保存したときのご飯の経時的温度変化を示した。同じく、図2は冬期間を想定して外部雰囲気が5°Cの場合について示した。また、秋田杉のマグカップ(図3)、ビアカップ(図4)なども保温性に優れていることが分かった。

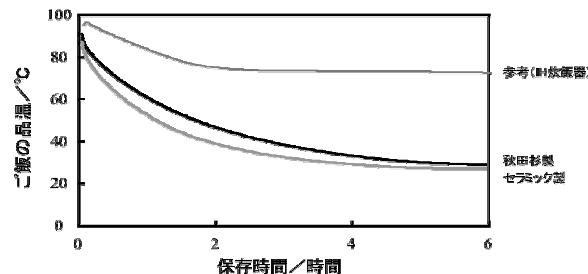


図1 おひつ内のご飯の品温変化(外部雰囲気25°C保存)

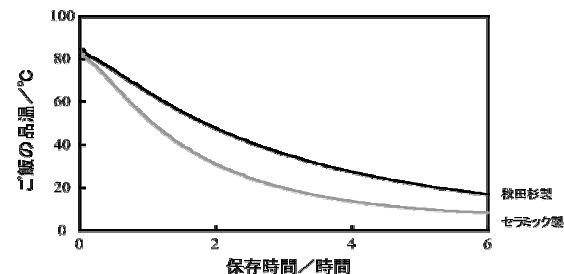


図2 おひつ内のご飯の品温変化(外部雰囲気5°C保存)

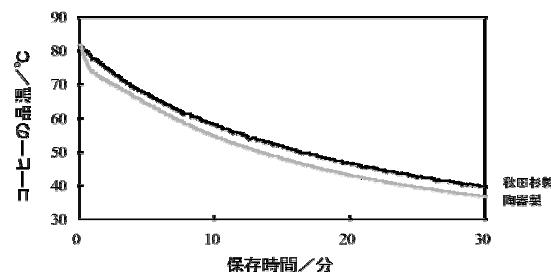


図3 マグカップ内のコーヒーの品温変化(外部雰囲気25°C保存)

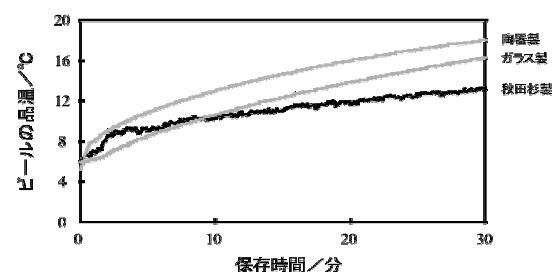


図4 ビアカップ内のビールの品温変化(外部雰囲気25°C保存)

区 分	戦略的共同研究プロジェクト推進事業 (学術国際部 競争的資金)
研 究 名	天然由来の化粧品成分の探索と高品質化粧品素材の開発
研 究 期 間	平成 18年度 (平成 17~ 19年度)
協力・分担関係	株坂本バイオ、株スカイライト・バイオテック、秋田県立大学

### 【目的】

秋田県内企業、大学および公設試によるコンソーシアム形成を通じて、県内における新規産業を創出し、産業振興を図る。本課題では、株坂本バイオの鹿角霊芝や、株スカイライト・バイオテックならびに秋田県立大学による地衣菌エキスに含まれる化粧品成分の探索を行い、それら特徴を前面に押し出した化粧品素材の開発を行う。

### 【成果の概要】

株坂本バイオ社の鹿角霊芝エキス **GANO™** については、現在下記の化粧品を始めとする 5 社に対して販売しており、順調に売り上げを伸ばしている。また、秋田県立大学ならびに株スカイライト・



バイオテック社と共同で行っている培養地衣菌由来の化粧品成分の探索研究に関しては、従来のチロシナーゼ活性阻害物質に加えて、化粧品素材の保存に応用可能な抗菌物質の単離を行っている。

### 【外部発表】

#### 1)新聞記事

①魁新報誌 平成 18 年 12 月 26 日朝刊、②朝日新聞平成 19 年 1 月 5 日朝刊

#### 2)誌上発表

①畠 恵司, 向山 俊之 マンネンタケ由来メラニン合成抑制物質の美白効果, 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, 279-288 (2006)

②秋山 美展, 戸枝 一喜, 畠 恵司, 地域農産物活用のための高機能食品開発プロジェクトを追うシリーズ 9-秋田県の機能性食品に対する取り組み-, 食品と開発, 42, 60-61 (2007)

③Hata K., Mukaiyama T., Tsujimura N., Sato Y., Kosaka Y., Sakamoto K., Hori K., Differentiation-Inducing Activities of Lupane Triterpenes from Lactuca Indica on a Mouse Melanoma Cell Line., The Proceedings of the JAACT Kyoto, in press

④Mukaiyama T., Tsujimura N., Otake S., Kosaka Y., Hata K., Hori K., Sakamoto K., Anti-melanogenic Activity of Ergosterol Peroxide from Ganoderma Lucidum on a Mouse Melanoma Cell Line., The Proceedings of the JAACT Kyoto, in press

区 分	中小企業基盤整備機構 事業化助成金
研 究 名	新規美白成分ペルオキシエルゴステロールの事業化
研 究 期 間	平成 18 年度
関 連 ニ ー ズ	県内バイオ企業
協力・分担関係	株坂本バイオ

### 【概 要】

本事業は、鹿角霊芝由来美白成分 ペルオキシエルゴステロールのヒトでの安全性を評価することが主たる目的で、メラニン産生抑制メカニズムを *in vitro* で解明することが、当研究所の分担課題である。ペルオキシエルゴステロール (=ergosterol peroxide) の安全性やメカニズムのデータを基に、高級化粧品への展開を図ることとする。

**Ergosterol peroxide** の安全性は皮膚の刺激性などの 9 項目について確認した。また、美白効果については、ペルオキシエルゴステロールが、チロシナーゼなどのメラニン産生発現を抑制するなど作用メカニズムを解明した。

区 分	平成 18 年度産学官技術開発促進事業 (あきた企業活性化センター)
研 究 名	米糠発酵液の高度利用化事業－化粧品や美容健康食品素材としての販路拡大を目指して－
研 究 期 間	平成 18 年度
関 連 ニ ー ズ	県内バイオ企業
協 力・分 担 関 係	(株)秋田銘醸

### 【概 要】

秋田銘醸(株)では、総食研と共に開発した米糠発酵液（爛漫ギャバ液）の製造・販売を行っている。本製品は高濃度の GABA を含有し、動物試験の結果、血圧降下作用が確認されたが、これ以外の生理機能性については不明である。本事業では、爛漫ギャバ液等の米糠発酵液を化粧品素材への展開を目的に、種々の生理機能評価を行う。また、新たに見出された生理機能を基に、米糠発酵液の新規販売網を開拓する。

今回の事業で、爛漫ギャバ液の新規生理機能として、活性酸素消去能と美白作用（チロシナーゼ阻害能）を見出した。そこで、活性成分を分離した結果、活性酸素消去能についてはフィチン酸であると推定できた。また、チロシナーゼ阻害物質についても現在、分離を進めている。

区 分	新規課題予備的実験
研 究 名	<i>Paenibacillus</i> YN-1205由来の糖質関連酵素
研 究 期 間	平成18年度
協 力・分 担 関 係	:

### 【概 要】

新規機能性糖質(多糖、オリゴ糖)の生成を目的として、主に糖転移酵素に着目しスクリーニングしたところ、製粉工場由来のサンプルより、平板培地上に水溶性粘性多糖を生成する一菌株を見出した。この多糖はグルコースより構成されており、その生成に澱粉は必須であった。また 16s 塩基配列より本菌株を *Paenibacillus* と同定し、YN-1205 株と命名した。本菌株の培養上清を PAGE 後、ヨード澱粉反応で活性染色したところ、加水分解活性を示すと思われる白色バンド以外に、転移活性と思われる赤紫、及び伸長反応と思われる青紫のバンドなど多数見出された。現在この赤紫バンドに相当する酵素蛋白をマイクロスケールで精製し、その N-末端アミノ酸配列の解析、及び二段階 PCR 法でのクローニングなど進行中である。



YN-1205 培養上清を PAGE 後、ヨード澱粉反応で活性染色

区 分： 平成18年度知的財産付加価値向上モデル事業  
 研究名： 「新規種麹の有効利用技術の開発」  
 研究期間： 平成18年度  
 協力・分担関係： 秋田今野商店、小玉醸造

### 【概要】

本研究開発は味噌、醤油などの発酵商品に用いる新麹菌AOK139の有効利用に技術の開発を目的としている。(AOK139に関して秋田県と秋田今野商店が共同で特許出願中、秋田今野商店からの実施許諾申請を受け秋田県が許諾、17年10月より新麹菌AOK139発売中)

この新麹菌を用いる味噌は遊離脂肪酸及び脂肪酸エチルエステルを高濃度で含むことを特徴とする反面、この菌の高い酵素力価が品質面でマイナスに働く場合があるため、本県においては新規種麹の浸透が充分と言えず、味噌メーカーにおけるその利用技術の開発が必要とされていた。

そこで本研究開発では種麹メーカー、県内味噌メーカーと共同で新規種麹の利用技術の開発を実施した。企業における味噌製造現場で製麹温度、製麹時間、原料処理配合を季節も勘案して、調整することにより、脂肪酸エチルエステルを高濃度で含む、高品質な味噌が県内企業で製造可能となった(図)。新麹菌を用いた味噌の新商品(まるごと秋田味噌)は平成19年4月より発売予定。

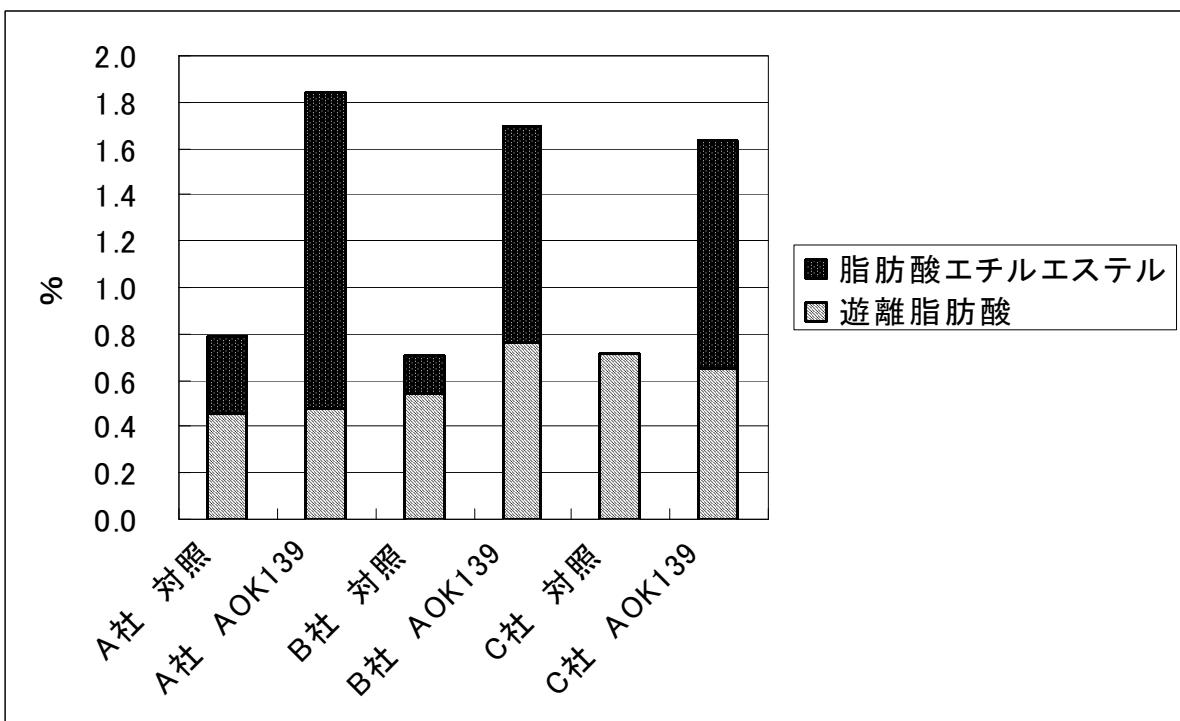


図 製品味噌の脂質

また新麹菌利用範囲の拡大を目的として新規種麹を用いて付加価値の高い醤油製造方法の検討を行なった。研究所の小仕込み試験では新麹菌を用いた醤油諸味は従来の醤油用種麹使用の諸味よりも原料の溶解が早く、良好な風味を有している。

現在、県内企業において新麹菌を用いた小規模の醤油製造試験を継続中、熟成終了時(平成19年秋)に評価を実施予定。

区 分	外部資金（知的財産付加価値向上モデル事業）
研 究 名	課題名：実地仕様麹生産システムの開発
担 当 部 署	酒類グループ
担 当 者 名	田口隆信
研 究 期 間	平成18年度
協 力・分 担 関 係	日の丸醸造(株)、銘醸機械(株)、菱農エンジニアリング(株)

### 【概要】

本研究開発は、当研究所で開発した清酒用麹を自動で製造できる機械「麹生産システム」の仕様を実地仕様に合わせた機械にするための研究開発である。

### 【目的】

本システムは、平成13年に「製麹用蒸米の乾燥冷却処理法及びその乾燥冷却処理装置」という名称で特許を出願している。当初、本システムは当研究所の清酒の試験醸造規模に合わせた麹生産システムとして開発されたが、県内清酒製造企業から本システムを導入したいという技術相談を受けた。しかしながら、当研究所のシステムでは生産規模が小さく実地で使用するにはシステムのスケールアップが必要となる。

### 【方 法】

そこで、スケールアップする場合の課題（①麹製造器の増設に伴う仕事処理時間及び処理機能の確認及び改善②麹製造室の温湿度環境の制御精度の確認及び改善③設置所要空間の算出と製造費用及び販売価格の算定）について検討し、県内企業と麹生産システムの製造企業と共同でスケールアップした実地仕様の「麹生産システム」の開発を図る。

さらに、導入した清酒製造企業から麹生産システムのデータの提供を受け、データ解析を行って実地仕様の「麹生産システム」を完成させ業界への普及を図る。

### 【結 果】

- (1) 麹製造器の増設に伴う仕事処理時間及び処理機能を検討した結果、100kg 白米処理用として18枚の麹製造器で対応することとした。
- (2) 麹製造室の拡張に伴う温湿度制御環境の制御精度を工場させるために、開口部の広いドアの他に狭い補助ドアを設置することとした。
- (3) 設置所要空間をできるだけ効率的に活用するために、二連の麹製造機を並列型に設置し、蒸米の投入を上部開口部から投入することとした。
- (4) 試験導入した清酒製造企業から麹生産システムのデータの提供を受け、データ解析を行った結果、麹の評価並びに清酒の評価は良好であった。
- (5) 今後はさらに実地のデータを解析しながら、導入した酒蔵の要望に応じた麹製造プログラムを決定していく予定である。

区 分：秋田県清酒分析研究会 共同開発  
研 究 名：凍結殺菌法を用いた「微発泡性にごり生酒」の品質安定技術の確立と商品化  
研 究 期 間：平成18年度（平成16～継続）  
協力・分担関係：研究会会員（県内10清酒製造場、4個人会員）

### 【概要】

#### 【目的】

清酒醪を凍結すると酵母が死滅することが知られており、その凍結殺菌法を利用して、平成16年に1社で、平成17年には5社で「微発泡性にごり生酒」を商品化した。本年度は、色々なタイプの商品に対応する効率的な凍結殺菌条件を検討した。

#### 【方法】

会社毎に、にごりの割合や発酵程度の違いによる酵母の状態が異なっていた。

A社とB社：10%程度のにごり割合、アルコール16%台

C社とD社とE社：100%のにごり酒、アルコール15%台

主に、C社・D社・E社のタイプのにごり酒を試料として、凍結温度と酵母の死滅率の関係を検討した。

#### 【成果】

##### （1）試料中の酵母の状態

酵母密度： $2.33 \times 10^8$  cells/ml、メチレンブルー染色率（MB）：5.9%

−20°Cと−80°Cそれぞれの温度で3回まで凍結・解凍を繰り返した

##### （2）メチレンブルー染色率の変化

	スタート	1回目	2回目	3回目
−20°C	5.9%	14.2%	19.2%	90.8%
−80°C	5.9%	63.8%	91.7%	100%

酵母の凍結・解凍後の死滅率は、①凍結スピード・解凍スピードが早いほど死滅効果がある ②凍結している時間には無関係 ③炭酸ガスは凍結までの時間で調整可能であることが解った。



平成 19 年度

## 試験研究計画の概要

## 1 研究計画の基本方針

総合食品研究所では、県内食品企業等からの研究ニーズ、食品産業の動向、県の施策等を踏まえ、食品の加工及び酒類の製造に関する研究開発を推進しています。また、研究成果や技術の普及指導を実施し、これまで、県産農産物に含まれる健康の維持・増進に寄与する機能性成分の解明や新たな酵母、乳酸菌、麹菌の収集と選抜、改良、さらに、味、香り等の風味、鮮度を保持する高度な加工技術の開発を進め、研究成果の県内企業への迅速な技術移転により、多くの「秋田ブランド商品」開発を支援し、産業活性化に寄与してきました。これまで研究所で蓄積してきた研究成果やノウハウを基盤に、更なる産業支援を進めるため、重点研究領域を次の3領域に絞り込み、研究課題への取り組みを進めます。

### 〈重点研究領域〉

- 1) 食品の生理機能と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究
  - ア. 生理機能性の解明と加工技術開発
  - イ. 物理化学特性の解明と加工技術開発
- 2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究
  - ア. 食品の高度加工技術開発
  - イ. 酒類の高度醸造技術開発
  - ウ. 食品の安全性に関する研究
- 3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究
  - ア. 微生物・酵素利用の高度化
  - イ. 環境対応技術開発

消費者は、食の健康維持・増進機能に対する期待と食の安全・安心と信頼性に対する要求を増大させています。一方企業では、特保食品など健康関連商品の市場が拡大し、大企業を中心に商品開発が進められています。本県においては、他県に先駆け高齢化が加速進行しており、研究所では、高齢者やその予備軍を対象とした、食による健康維持・増進機能を付与した機能性食品や素材の開発に取り組みます。また、これまでの高齢者向け加工食品は、栄養面からの評価が主体であったため、味覚機能の面からの評価に取り組み、食品の物性を改善する新たな加工法の開発に取り組みます。

また、本県の主要な農産物である米とハタハタに代表される県特産資源をターゲットとした新規需要を掘り起こす、新たな加工法の開発に取り組みます。酒類については、酒質の個性化とバラエティ化を進めるため、新しい醸造技術の開発に取り組むとともに、酒造好適米「秋田酒こまち」の酒造特性を活かす新たな酒造技術の開発に取り組みます。食品の安全については、微生物的な汚染の感染経路や食品汚染菌の生理特性について、基礎的な研究に取り組み、安全・安心な加工食品の提供と消費者に信頼されるための食品加工技術の開発を進めます。

環境対策については、食品企業や農産物生産現場から発生する残渣等からのエネルギーや有用物質生産に取り組むとともに、食品工場でのゼロエミッション化のための技術開発を行います。さらに、今後取り組む研究対象において、研究所の豊富なシーズである微生物群や酵素の高度利用技術を組み合わせ、多面的に研究を進めます。

## 2 平成19年度 研究課題の概要

### (1) 食品の生理機能と物理化学特性解明及び利用技術に関する研究（2課題）

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
《新規》 県産食材の生理機能性を活用した高齢者むけ食品の開発 【食品機能、応用発酵、酵素・微生物・県単】 (平成19~21年)	県産農林水産物を原料とした、健康効果が期待でき、かつ高齢者の嚥下能力や嗜好性に対応した食品を開発する。原料とする県産農水産物の候補として、米、大豆、山菜、ジュンサイ、海草類、栎の実などが挙げられる。健康効果として、複合生活習慣病（メタボリックシンドローム）の予防、活性酸素の毒性消去、高血圧予防などが期待される。開発目標である高齢者向け食品は、誤嚥防止効果のある粘着性のない餅、ゼリー状みそ汁、肥満予防効果の期待できる五穀粥、海草プリンなどである。	1 県産農水産物中のアディポネクチン増加因子探索 2 咀嚼、嚥下機能、呈味強度の数値評価法の開発 3 食材由来高血圧予防因子の探索 4 アディポネクチン増加因子の機能評価と構造解析 5 高齢者に最適な食品物性を付与する加工技術開発 6 高齢者むけ食品の設計試作と完成
温度及び圧力処理を駆使した高品位な加工技術の開発 【食品機能・県単】 (平成18~20年)	従来の食品加工技術や装置は、県内食品産業にとって高価格で大型であるために新規導入が困難であった。このため、加工工程別の温度および圧力の最適処理条件を探査し、食品添加物や化学的処理に依存しない新しい加工技術を開発する	1 高品位穀類粉末の開発 2 圧力可変ジュール加熱装置の開発 3 デンプンおよび蛋白質の効率的物性改善

### (2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究（5課題）

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
県産水産資源及びジュンサイの有効利用技術の開発 【食品開発、食品機能、環境・食品安全・県単】 (平成15~19年)	鮮魚ハタハタとハタハタ卵の粘りを失わない品質保持技術の開発とハタハタ等の県産水産物を利用した発酵食品や製造技術を開発し、実用化と普及を図る。 また、廃棄される黒変ジュンサイの原因を解明し、防止法等の品質向上技術の開発と新しいジュンサイ加工品の開発のための貯蔵方法を検討する。	1 ハタハタの品質保持技術の開発 2 水産発酵食品の高品質化に関する研究 3 新しい地域特産加工食品の開発 4 米麹利用食品及び米麹の高品質化に関する研究
県産農産物の新規需要を開拓するための加工技術開発 【食品開発、酒類、応用発酵、酵素・微生物・県単】 (平成15~19年)	県産米の需要拡大を図るために、県農試で育成した新形質米、次世代酒米品種等の清酒や腎臓病患者向けの米飯等新しい用途を開発する。 また、穀類需要拡大のため穀類の持つ活性酸素を消去する機能の活用、穀類の超微粉化や米粉の原料コストの低減を目指した搗精粉利用など新規加工法を開発する。 さらに、県産大豆を用い、当研究所で開発した麹菌・酵母・乳酸菌を組み合わせて、色・味・香り・機能性を合わせ持つ高品質秋田みそ製造技術の開発と普及を図る。	1 新形質米を活用した新たな米加工米食品の開発 2 生澱粉分解酵素利用 3 穀類粉を用いた新商品開発 4 秋田酒こまち玄米評価法の確立 5 秋田みその品質高度化に関する研究

(2) 食品及び酒類の安全性と高度加工技術に関する研究（続き）

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
《新規》 新たな消費市場に対応した新規酒類製造法の開発 【酒類・県単】 (平成19~21年)	新酒税法の施行により予想される消費市場の変化に対応するため、市場動向の調査を行うとともに、清酒副原料の効果的な使用法を検討し、新規酒造技術を開発する。また、秋田ブランドとしての差別化をねらい、地域の特徴ある水を使ったアルコール飲料や地域の特徴ある果実類を使用したリキュールの開発にも着手し、新酒税法を最大限に活用した新規酒造技術の開発に関する研究を行う。	1 地域特産を活用した新規酒類の開発 2 地域特産を活用した新規リキュールの開発 3 新たな流通形態を活用した新規酒類の開発
醸造用微生物の高度複合活用技術の開発 【酒類・県単】 (平成18~20年)	酵母の混合発酵中の個々の酵母を判別し、酵母の個々の特性を生かしながらの安定した再現性のある清酒の混合発酵製造法を確立する。また、麹菌に関しては特徴的な麹菌を混合使用して、独自性を維持した高品質の清酒を製造法を確立する。	1 酵母の混合発酵試験 2 酵母・麹菌の混合発酵試験 3 麹菌の混合使用製麹条件の検討
食品汚染細菌の検出と防護技術に関する基盤研究 【応用発酵・県単】 (平成18~20年)	清酒腐敗菌（火落菌）や食品腐敗菌の多くは加熱処理の困難な原材料に付着して混入する可能性があるが、混入経路や増殖のプロセスは不明な場合が多い。食品腐敗菌の somni cell（休眠細胞）状態の生理特性の解明を基に、食品腐敗菌の混入経路、増殖、消滅などを解明する。	1 somni cell 判別法の開発 2 somni cell 化条件の検討 3 somni cell 覚醒条件の検討

(3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究（4課題）

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
白神微生物バンクの有効活用に関する研究 【応用発酵・酵素・微生物・県単】 (平成15~19年)	多くの有用微生物が眠っている白神山地からの微生物分離・選抜手法を確立し、大規模な白神微生物バンクを作る。 分離・選抜された白神微生物を活用し、製パン、酒類、味噌・醤油製造業（酵母）、漬物、酒類・味噌、乳製品製造業（乳酸菌）、各種発酵工業（麹菌）など広く県内産業を振興し、新規製造業の創出にも貢献する。	1 真菌類の有効利用に関する研究 2 乳酸菌を用いた機能性食品の開発 3 放線菌及び耐熱性菌由来有用酵素と酵素阻害物質等に関する研究
《新規》 麹菌等の高度利用化技術の開発 【酵素・微生物、応用発酵・県単】 (平成19~21年)	麹菌の新規DNAトランスポゾンの転移活性を利用した「非組換え」型分子育種法と伝統的選抜育種法を駆使し、実用麹菌株を開発する。有用菌株による褐変しにくい米麹の製造や機能性成分の高い発酵食品の開発等を目指す。また、米麹造り等の伝統技術で培われてきた個体培養技術を応用し、麹菌が得意とする分解活性を高度に引き出すとともに、放線菌や細菌類を活用した食品加工未利用資源および廃棄物の効率的な分解技術を開発する。	1 麹菌トランスポゾン活性による実用麹菌株改変 2 遺伝子改変実用麹菌株の実用化 3 麹菌トランスポゾン変異麹菌株間遺伝子解析 4 麹菌混合培養系の計測 5 放線菌や細菌類との協奏的分解系の検討

### (3) 微生物・酵素の利用技術の高度化と環境対策に関する研究（続き）

試験研究課題	研究目的	本年度研究項目
米加工副産物の有効利用に関する研究 【食品開発・県単】 (平成17~21年)	米加工副産物となる米糠からGABAやビフィズス菌増殖活性因子等の機能性成分の強化技術を開発と、その利用食品の開発を行う。 秋田の気候にあった低温発酵性の乳酸高生産菌を用いた食品用乳酸製造技術を開発する。	1 糜（赤糠、無洗米粕、白糠）からの乳酸発酵による有用物質（γ-アミノ酪酸、乳酸）の生産 2 精神・神経系機能改善因子の探索と機能解析
《新規》 食品廃棄物・農林水産廃棄物のカスケード利用によるゼロエミッション技術の開発 【環境・食品安全・県単】 (平成19~21年)	食品業界および農林水産業界から大量に排出される廃棄物バイオマスを原料にして、機能性物質、新規2次加工食品の製造技術の開発を行う。 また、最終残渣からバイオエタノールへ変換する技術の開発を目指す。	1 食品廃棄物・農林水産廃棄物を効率的にバイオエタノールに変換する技術の開発 2 食品廃棄物・農林水産廃棄物変換プロセスから副生する物質の処理・再利用技術の開発

## 3 秋田県央エリア产学官連携促進事業の概要

### (1) 事業の目的

本事業は、醸造食品、発酵食品などの食品製造に関し、長い伝統と技術蓄積を有する本県「県央エリア」の食品産業の振興・活性化を図り、食品産業クラスターの形成を目指して、中・高齢者の心身両面の健康を支えることのできる米等を活用した長寿社会対応型食品を開発し、全国に向けて発信することを目的とする。

### (2) 課題名

中・高齢者の心身両面の健康を支える米等を活用した食品の開発と食品産業クラスターの形成

### (3) 試験研究の概要

研究テーマ1：脳波等のリアルタイム計測による新規食品評価法の開発と咀嚼行動による

脳機能活性化に関する研究

サブテーマ1：脳波等のリアルタイム計測による新しい食品評価法の開発

サブテーマ2：食成分および咀嚼行動が高齢者の脳機能活性化に与える効果の検証

研究テーマ2：中・高齢者の心身両面の健康維持に効果の期待できる食品・酒類の開発

サブテーマ1：米を主原料とした中・高齢者むけ食品の開発

サブテーマ2：新しい清酒ベース飲料の開発

サブテーマ3：麹および糖化酵素技術を活用した新しい自然甘味素材の開発

研究テーマ3：穀類等をベースとした特定保健用食品の開発

サブテーマ1：抗肥満因子の探索と組み合わせ効果の検証

サブテーマ2：雑穀類、大豆およびその加工品に含まれる抗高血圧成分の探索と効果検証

### (4) 実施期間

平成19年度～21年度（3年間）

## **平成18年度 試験研究成果概要**

発 行 平成19年7月  
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  
tel 018-888-2000代 fax 018-888-2008  
<http://www.arif.pref.akita.jp>

この印刷物は200部作成し、印刷経費は1部当たり336円です。