

【成果情報名】 食品の温度管理不備を簡単に検出する技術の開発

【要 約】 食品の温度管理のための安全・安価な微生物センサーを開発した。センサー自体は、パン酵母と糖（ブドウ糖）などからなる溶液をフィルムに密封した単純なものである。温度管理不備により配送中の温度が上昇すると、炭酸ガスが増えて袋が膨らみ誰にでも肉眼で異常が確認できる。低温（4℃）から常温（25℃）までの温度管理に利用可能である。

【部 署】 食品総合研究所・企画調整部

【連絡先】 食品衛生対策チーム 029-838-8067 taishi@affrc.go.jp

【成果区分】 普及

【キーワード】 冷凍耐性パン酵母、微生物センサー、温度管理、食中毒リスク、フードチェーン

【背景・ねらい】

食品の食感・機能性・栄養性などを重視した生食志向がもてはやされる時代となり、生鮮食品などの非加熱食品の消費が急速に伸びている。このような食品の微生物学的安全性確保には、製造・流通過程における低温での温度管理は有効な手段であるが、温度管理の不備は、食中毒事故等の要因となりうる。最近では、低温でも増殖可能なリステリア菌等の病原菌による食中毒事例が欧米先進国で報告され、我が国でも食品の温度管理の厳密さが求められるようになってきている。そこで温度管理の不備に伴う食中毒リスクの回避を目的として、パン酵母を用いた安価かつ簡便な温度管理用微生物センサーを開発した。

【成果の内容・特徴】

1. 開発した温度管理用微生物センサーは、酵母がパンを膨らます原理、すなわち酵母が糖を発酵して炭酸ガスを放出するが、その発酵は温度が高くなるほど活発になることを利用している。センサー自体は、冷凍耐性パン酵母・糖（ブドウ糖）・酵母エキス・グリセロールよりなる溶液を気密性のラミネートフィルムに密封した単純なものである（図1）。その内容物はすべて安全な食品添加物である。温度管理不備により配送中の温度が上昇すると、炭酸ガスが増えて袋が膨らみ誰にでも肉眼で異常が確認できるセンサーである。
2. このセンサーは、冷凍耐性パン酵母を用いているため、使用まで作製後1週間は安定に凍結保存できる。食品によって低温流通の管理温度は異なるが、パン酵母と糖の量を調整すれば、品目毎に温度や流通時間の設定を変えて、雰囲気温度記録用データロガーと異なり、パック毎の温度管理が可能なオリジナルのセンサーを作ることができる（図2）。
3. 開発した液体粘体高速自動充填機により、センサーを低コスト（1個数円程度）で大量生産（1時間に24,000個以上のセンサー生産能力）できる。個々のパッケージ商品へのセンサーの貼り付けを容易にする自動連続両面テープ貼り合わせカット機も開発した（図3）。
4. 夏期の青果物の低温流通での実証試験でも良好な成績をおさめ、共同研究先の大成ラミック株式会社より実用化された。フードチェーンや家庭での低温管理への利用が期待できる（図4）。

【成果の活用面・留意点】

開発したセンサーは、コンビニ、中食、外食等のコールドチェーンにおいて低温配送される非加熱や加熱食品などの個々のパッケージに製造工場の出荷段階で貼れば、流通段階や家庭での温度管理に不備がないかがつかめ、食中毒の防止などの衛生管理に役立つことが期待される。また生鮮野菜や果実などの低温流通で、適切な積載方法を確認する試験などにも活かすことができる。

[具体的データ]

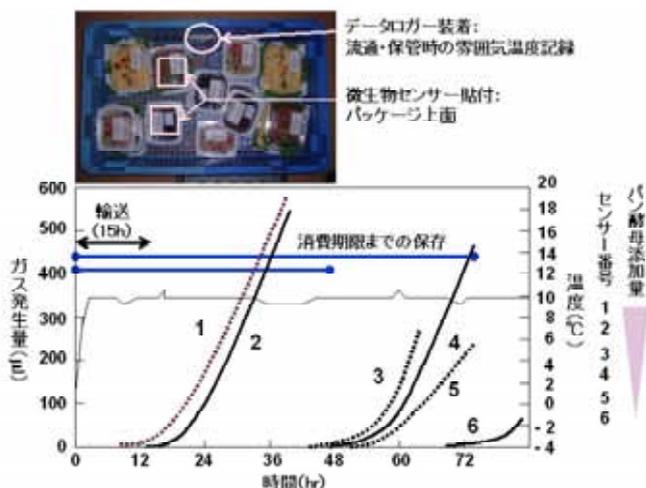


図1 微生物センサーの原理と構成成分

図2 流通管理温度10 の食品に実際に適したセンサーの設計



液体粘体高速自動充填機



自動連続両面テープ貼り合わせ機

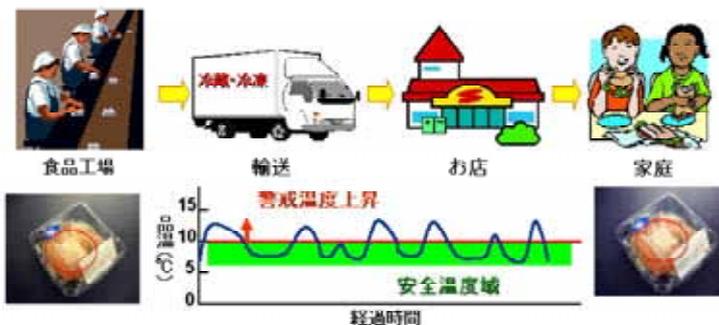


図3 センサー大量生産システム

図4 温度管理用微生物センサーの利用イメージ

[その他]

研究課題名: 温度管理用微生物センサーの性能評価と応用

予算区分: 委託費プロジェクト名 (食品総合)

研究期間: 2002 ~ 2005 年度 (2005 年度)

研究担当者: 川本伸一、稲津康弘、Md. Latiful Bari、川崎晋、一色賢司

発表論文等:

- 1) H. Kogure *et al.*, Development of a novel sensor with baker's yeast cells for monitoring temperature control during cold food chain., *J. Food Prot.*, **68** (1), 182-186 (2005)
- 2) 一色賢司、小川順三: 飲食品の品質判定方法およびそのインジケーター、特願 2002-168049 (2002年6月10日)
- 3) 一色賢司、川本伸一、小川順三: 飲食品等の品質判定手法およびそのインジケーター、特願 2003-322588 (2003年9月16日)

【成果情報名】 糊化特性に基づく米の物性・老化性評価装置の開発

【要 約】 従来の糊化特性測定装置を改良し、最高粘度等の糊化特性値を説明変数とし、粘り等の米飯物性や低温保管後の米飯硬化度等を目的変数として多変量解析を行い、得られた推定式を装置に組み込むことによって、米飯の硬さや低温保管後の老化度などを直接表示できるような装置を開発した。

【部 署】 食品総合研究所・食品素材部・穀類特性研究室

【連絡先】 穀類特性研究室 029-838-8045、kenohtsu@affrc.go.jp

【成果区分】 普及

【キーワード】 米、食味、老化性、糊化特性、評価装置

【背景・ねらい】

消費者の良食味志向に因應するために米の食味を簡易迅速に評価する装置が必要とされている。また、時間経過後に食べる社員食堂、学校給食等の大量炊飯や再加熱する市販弁当などでは、澱粉の老化の遅い原料米が必要とされている。そこで、糊化特性値を統計処理して米飯物性及び老化性を直接表示する評価装置を開発した（図1）。

【成果の内容・特徴】

米の食味には米飯の硬さや粘り等の物性が強く影響する。従来、米飯物性はテンシプレッサーやテクスチュロメーターなどの物性測定装置を用いて測定されてきたが、炊飯して多数点の試料の物性を測定し、統計処理するため、一日に数点しか測定できなかった。さらに、老化性は、炊飯後に米飯試料を低温保管し、数時間～数日かけて食味官能検査や物性測定を行うため、時間と労力を要していた。

本研究では、従来の糊化特性測定方法（ラピッドビスコアライザ[®]、RVA、図2）を改良し、最高粘度や最低粘度などの糊化特性値を説明変数とし、硬さや粘りなどの米飯物性や低温保管後の米飯の硬化度などを目的変数として多変量解析を行い、得られた推定式を装置にソフトウェアとして組み込むことによって、米飯の硬さや低温保管後の老化度などを直接表示できるようにした（図3、表1）。老化性推定式の一例を下記に示す。

$$RI = -0.105 - 0.0081 \times V_{MAX} - 0.0025 \times V_{MIN} + 0.035 \times V_{FIN}$$

ここで、RI：老化性指標、 V_{MAX} ：最高粘度、 V_{MIN} ：最低粘度、 V_{FIN} ：最終粘度

1. 精米試料を用い、糊化特性に基づいて米飯物性や炊飯後の老化度を推定できる装置である。
2. 本装置は、試料は3.5gの精米粉末、測定時間は19分と、少量簡易迅速測定が可能である。
3. 装置は従来より小型で安価であり、普及性が高い。

【成果の活用面・留意点】

1. 本装置は、農家にとっては生産した米の評価に、流通業界や食品産業にとっては対象米の評価や用途の推定に利用することができる。
2. 表示される数値の取り扱いについては、相関性は高いものの、あくまで推定値であり、官能検査や物性測定装置による実測値ではないことに留意する必要がある。

[具体的データ]



図1 開発した物性・老化性評価装置

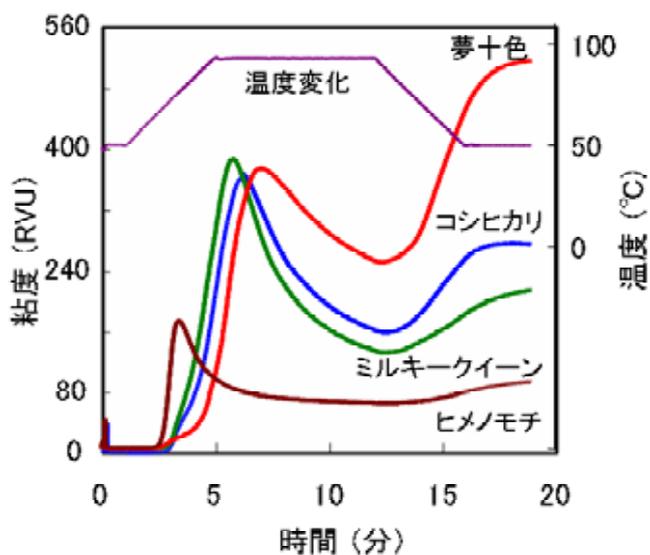


図2 RVAによる糊化特性試験結果

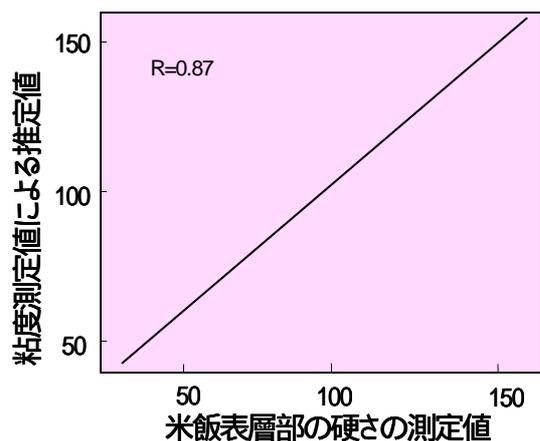


図3 糊化特性による米飯物性の推定式の例

表1 開発した装置による測定例

	A モチ米	B 普通ウルチ米	C 高アミロース米
Retro index 表層老化度	13.25	90.71	193.02
Hardness #1 表層老化硬度	515.6	1847.1	2103.3
L3 test 表層付着量	1.8114	0.8576	-0.4945

[その他]

研究課題名：多様な特性の米の品質評価及び利用特性解明

予算区分：交付金プロジェクト（国際食品）

研究期間：2004～2008年度（平成17年度）

研究担当者：大坪研一、鈴木啓太郎、岡留博司、井上茂（フォス・ジャパン）

発表論文等：

- 1) 大坪研一、岡留博司、井上茂：穀類の食品物性値を表示する糊化特性測定装置、特願 2004-028497 (2004年2月4日)
- 2) 大坪研一：農産物検査とくほん、平成17年9月号、p.65-67

- [成果情報名]** 微細水滴を含む過熱水蒸気(アクアガス)を用いた高品質食材の調製技術の開発
- [要 約]** アクアガスの優れた熱伝達性などの基礎特性を解明し、さらにアクアガス処理を農産物に施すことで、短時間で効率的な加熱処理により生野菜に近い微生物汚染が少ない加工食材や高品質で歩留まりのよい一次加工食材の調製が可能であることを明らかにした。
- [部 署]** 食品総合研究所・食品工学部・製造工学研究室
- [連絡先]** 製造工学研究室 TEL:029-838-8029 E-mail:seiichi@affrc.go.jp
- [成果区分]** 普及
- [キーワード]** 過熱水蒸気、微細水滴、熱伝達性、殺菌、農産物加工、高品質化(歩留まり含む)
-

[背景・ねらい]

国産農産物の利用拡大において、生野菜などの殺菌処理を含めた高品質の農産物一次加工技術の開発が強く求められている。一方、過熱水蒸気加熱処理が、加熱効率が良い、低酸素状態で品質の劣化が少ないなどの特徴から高品質食品加工への応用が進んでいる。本研究開発では、過熱水蒸気を農産物の一次加工に適用し、安心・安全でおいしい素材を調製し、消費者へ長期間安定的に供給するシステムを構築する事を目的としている。その結果、処理チャンパー内に加熱した水を微細化して噴霧して、新規過熱水蒸気の生成方法を検討し、常圧120 程度において微細水滴を含有する過熱水蒸気(この状態をアクアガスと定義している)を安定的に発生できるシステムを開発した。

[成果の内容・特徴]

1. アクアガス(発生システムを図1に示す)における伝熱特性について熱流計を用いて検討し、アクアガス、過熱水蒸気共に熱伝達面(熱流計の表面)の温度が100 以下では凝縮が確認され、凝縮潜熱による高い平均熱伝達率が測定され、特に加熱初期においてはアクアガスの熱伝達効率が優れていることが明らかになった(図2)。
2. 高速度カメラによる測定を実施し、微細水滴の存在及び粒径(50-150 μ m程度)などを明らかにした。
3. 加熱処理時間中の質量変化についてモデル試料(デンプン調整素材:水分80%)を用いて測定をして、過熱水蒸気では調理加工時間が延長されることで乾燥が生じ、歩留まりが低下するが、アクアガスではこの抑制が可能であることが明らかになった(図3)。またアクアガス加熱処理中における酸素濃度は0.2%と低濃度であった(図3)。
4. アクアガスの加熱特性を用いて、生野菜の殺菌処理などに短時間処理で応用したところ、キュウリなどの色や物性があまり生と変わらない状態での効果的な殺菌処理が可能であることが明らかになった(図4)。またジャガイモなどの加熱加工においても迅速で高品質な加工が出来ることが明らかになった。

[成果の活用面・留意点]

この技術について、生研センター(異分野融合)で協力機関と連携して「アクアガスを用いた高品質汎用食材の新規調製技術の開発」を実施している。今回明らかになったアクアガスの基礎特性の解析データは、アクアガス装置の改良に利用することで、実用化の際の用途別の最適条件の調整などに用いる予定である。既に連携機関で1処理200kgの実用機の開発に成功しており、ジャガイモの加熱処理に利用してポテトサラダを作成して、商品化している。今後は、連続処理化、さらに処理目的や処理農産物に応じた最適条件やシステムについて連携機関を協力して確立する予定である。

[具体的データ]

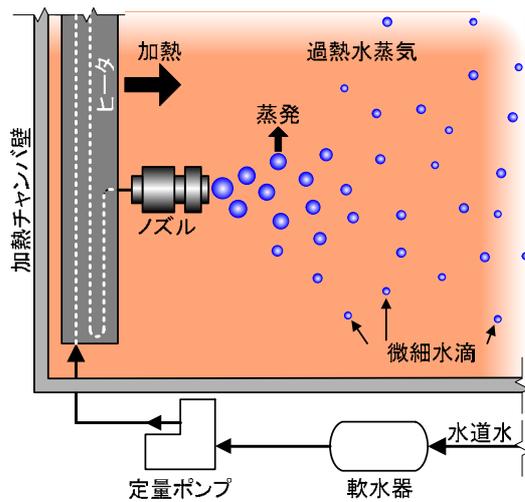


図1 アクアガス発生システムの概略図

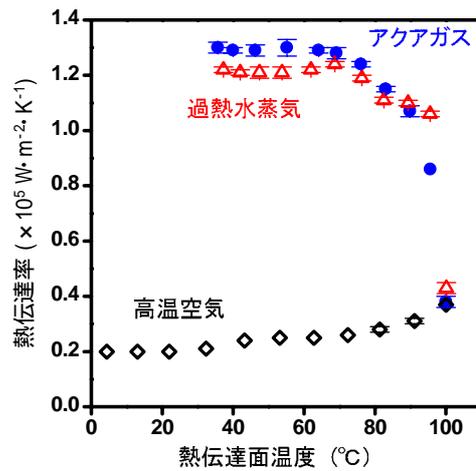


図2 各種加熱媒体の熱伝達率の熱伝達面温度依存性

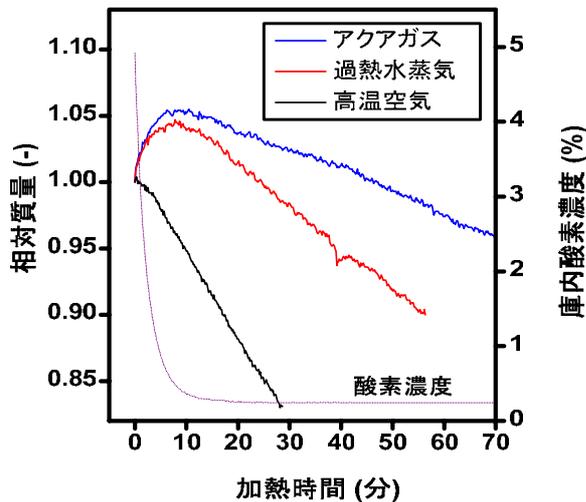


図3 モデル食品試料の相対質量変化

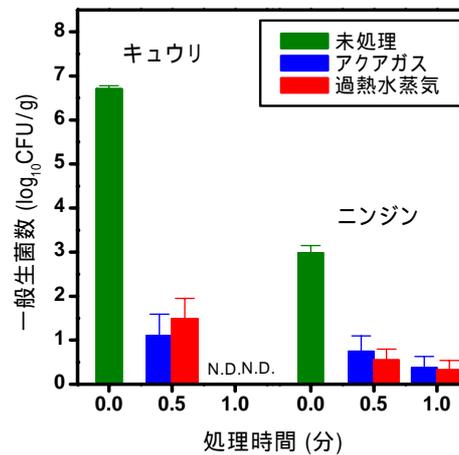


図4 アクアガスならびに過熱水蒸気の生野菜に対する殺菌効果

[その他]

研究課題名：アクアガスの基礎特性の解明

予算区分：生研センター（異分野融合）

研究期間：2003年度～2007年度（2005年度）

研究担当者：五十部誠一郎、竹中真紀子、（五月女格）

協力分担関係：女子栄養大学、タイヨー製作所、梅田事務所、ローズコーポレーション

発表論文等：

- 1) 五月女格、五十部誠一郎他5名、微細水滴を含む過熱水蒸気処理による野菜の高品質殺菌処理、防菌防黴誌、33(10), 523-530 (2005)
- 2) 微細水滴を含む過熱水蒸気の伝熱・乾燥特性、五月女格、五十部誠一郎他4名、日本食品工学会誌、6(4), 229-236(2005)
- 3) 梅田圭司他6名：革新的殺菌方法とその用途および装置、特願 2004-210872 (2004年7月16日)
- 4) 五十部誠一郎他4名：高品質おからの製法、特願 2005-251866 (2005年8月31日)
- 5) 五十部誠一郎他2名：加熱媒体制御型汎用的加熱装置、特願 2005-252775 (2005年8月31日)

【成果情報名】 バガスからのオリゴ糖食品の生産技術

【要 約】 サトウキビ搾り粕であるバガスから蒸煮爆砕処理と酵素・発酵処理を組み合わせた技術によって、オリゴ糖に富んだ食物繊維素材を製造する技術を開発した。蒸煮爆砕、酵素・発酵処理バガスは、キシロオリゴ糖を含み、抗酸化性に富む新規の食物繊維素材として食品への利用が期待される。

【部 署】 食品総合研究所・応用微生物部部・糸状菌研究室

【連絡先】 研究室名 糸状菌研究室、029-838-8077

【成果区分】 普及

【キーワード】 サトウキビ、バガス、食物繊維、抗酸化性、麹菌

【背景・ねらい】

1. サトウキビの搾り粕であるバガスは、製糖工場の副産物として大量に産出する未利用農産資源であるが、産出量の大部分が製糖工場の燃料として焼却されており、さらなる高付加価値化が望まれている。
2. バガスにはキシロースが鎖のように連結したキシランが約30%含まれる。キシランは、キシロオリゴ糖やキシリトールの原料として知られるように、食品素材として価値の高い成分であるが、繊維成分であるセルロースやリグニンと強固にからまっているため、分解することが大変に困難である。また、キシロオリゴ糖は、甘味度は低いが、難消化性の食物繊維、ビフィズス菌の増殖効果、カルシウム吸収促進などの機能性をもつ価値の高い食品素材として知られる。
3. そこで、バガスに対して蒸煮爆砕処理、酵素・発酵処理を応用することによって、食品素材としての価値を創出する技術の開発を目的とした。

【成果の内容・特徴】

1. バガス中のキシランを可溶化するために蒸煮爆砕処理を行った。粉碎バガスを高圧水蒸気にて約200℃、短時間(1~2分間)加熱し、急激に大気圧に放出して、細胞壁繊維を膨化した。蒸煮爆砕処理によって、バガスの繊維構造がほぐれ、キシランが可溶化し、酵素や微生物で容易にキシロオリゴ糖に分解できる。蒸煮爆砕バガスは褐色で黒糖様の香ばしい香りをもつ。(図1、2)
2. つづいて、蒸煮爆砕バガスに直接キシラナーゼ処理、あるいはキシラナーゼ活性の高い麹菌等による発酵処理を行うことによって、キシロオリゴ糖含量が高く、かつ抗酸化性に富む新規の食物繊維を製造する技術を開発した。
3. 得られた爆砕発酵処理バガスは、キシロピオース、キシロトリオースを主体とするキシロオリゴ糖を乾燥重量の2%以上含み、強い抗酸化性を有するものである。(図3)

【成果の活用面・留意点】

本研究は、独立行政法人食品総合研究所、独立行政法人森林総合研究所、株式会社琉球バイオリソース開発の共同研究の成果であり、独立行政法人科学技術振興機構の独創的シーズ展開事業委託開発として製造技術が確立され、食物繊維等の製品を開発中である。

[具体的データ]

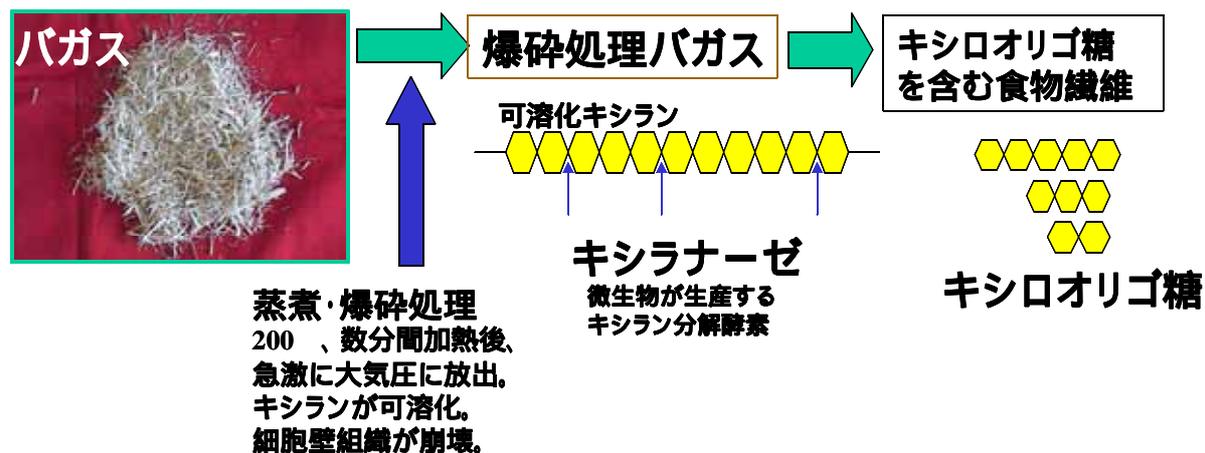


図1 蒸煮爆砕、酵素発酵処理によるバガスからの新規食物繊維の製造技術



図2 バガス粉末と蒸煮爆砕処理バガス

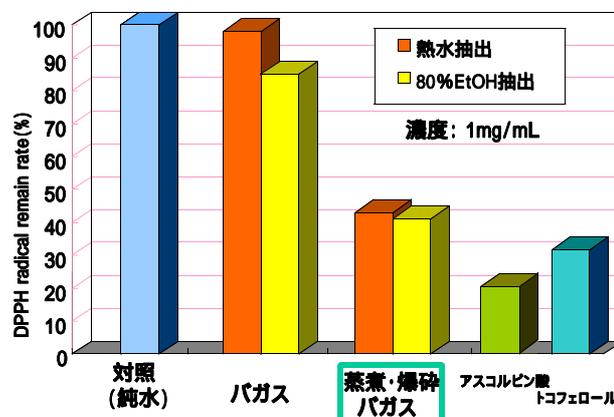


図3 蒸煮爆砕処理バガスの抗酸化性

[その他]

研究課題名：醸造糸状菌の遺伝子の構造と機能の解明に関する研究（経常）

予算区分：経常、受託研究費（株式会社琉球バイオリソース開発）

研究期間：2004～2005年度（2005年度）

研究担当者：柏木豊（食総研）、大原誠資（森林総研）、藤野哲也、稲福盛雄、稲福直（株式会社琉球バイオリソース開発）

発表論文等：

- 1) 柏木豊、大原誠資、藤野哲也、稲福盛雄：抗酸化性食物繊維およびその製造方法並びにそれを用いた加工食品、特願 2001-320553 (2001年10月18日)
- 2) 柏木豊、大原誠資、藤野哲也、稲福盛雄、稲福直：爆砕発酵処理バガスの製造方法、特願 2005-143327 (2005年5月16日)

【成果情報名】 抗う蝕性環状イソマルトオリゴ糖(CI)の実用化技術開発

【要 約】 原料デキストラン高生産菌の探索、CI 生産菌の酵素活性を高めるための育種、CI 生産と精製技術の開発を経て、CI サンプルおよび、CI を添加した実用に供しうる砂糖製品を試作した。試作した CI サンプルは、0.5%の低濃度で、ヒトのう蝕菌である *Streptococcus* 属菌による不溶性グルカンの合成を効果的に阻害することが判明した。

【部 署】 食品総合研究所・生物機能開発部・酵素機能研究室

【連絡先】 酵素機能研究室 029-838-8071 funane@affrc.go.jp

【成果区分】 普及

【キーワード】 サイクロデキストラン、環状イソマルトオリゴ糖、デキストラン、サトウキビ

【背景・ねらい】

サイクロデキストラン(CI)は、食総研らのグループが 1993 年に発見した、グルコースが α -1,6 結合で連結した構造の環状オリゴ糖である。CI は極めて水溶性が高く、抗う蝕性という優れた能力を有し、食品への応用が期待されてきた。本研究開発では、原料デキストランの効率的生産、CI 合成酵素生産菌の改良、CI 精製法の開発、CI の安全性の問題解決など、実用化に向けた技術開発を行った。

【成果の内容・特徴】

1. CI の原料となる良質のデキストランを、代表的実用菌株 *Leuconostoc mesenteroides* B512F 株よりも短時間で大量に生産する *Leuconostoc* sp. S-51 株を得た(図 1)。また、原料糖として安価なサトウキビ汁や廃糖蜜を用いる技術を開発し、デキストラン生産効率を高め、コストを低減した。
2. CITase 生産菌株 *Bacillus circulans* T-3040 株に薬剤等による変異処理を繰り返すことにより、図 2 に示すように、野生型の 100 倍以上の CI 合成酵素活性を生産する変異株を取得した。
3. サトウキビ汁等の砂糖原料から、上記デキストラン生産菌、CI 生産菌を用いて CI を生産し、活性炭処理、膜分離等によって CI を精製し、CI 製品サンプル A、B、C、D を生産した。それぞれの糖組成を分析した結果を表 1 に示す。
4. いずれの CI サンプルも 0.5% の濃度で、ポリフェノールよりも有効にヒト虫歯菌のグルカン合成酵素による不溶性グルカンの合成を抑制した(図 3)。B よりも精製処理を簡略化した A、C、D サンプルは高分子の CI および直鎖イソマルトオリゴ糖が混入しているが(表 1) これらはグルカン合成抑制効果を弱めることはなかった。
5. 黒糖から活性炭カラム等で多糖、単糖、砂糖を除去し、酵素処理によって直鎖オリゴ糖を除去した後に CI-7、CI-8、CI-9 と同じリテンションタイムに溶出するオリゴ糖が検出された(図 4)。これらは酵素分解試験により、グルコースが α -1,6 結合した構造であることも確認された。さらに質量分析計で CI-7、CI-8、CI-9 と全く同じ分子量である事も確認した。以上のことから CI は黒糖中に存在する天然物であることが示唆された。
6. 図 5 に示すように、CI を砂糖の 1.6% 添加して均一に混合し、顆粒状に形成し、CI 添加砂糖製品を試作した。

【成果の活用面・留意点】

本研究で開発したデキストラン生産菌株、CI 生産菌株を用い、砂糖を含む作物や廃棄物から効率よく CI を生産することができ、食品産業等で用いることが可能であると考えられる。今後、CI の価値を高めるためにも特定保健用食品として認可されるよう試験を重ねていく必要がある。

【 具体的データ 】

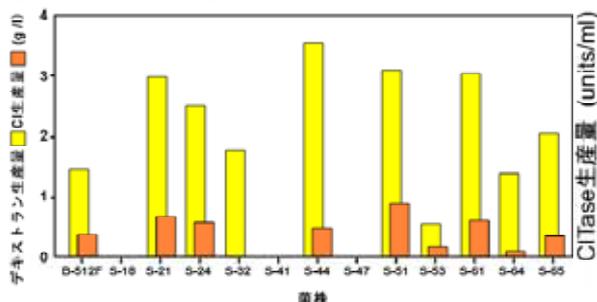


図1 分離した菌株のデキストラン生産とデキストランからCIへの変換量

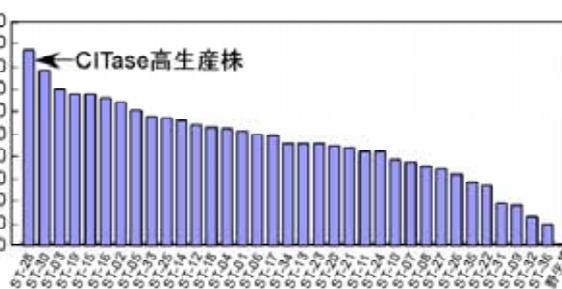


図2 CIase 高生産変異株の取得

表1 . サイクロデキストランサンプルの組成

CI	全糖量に対する割合 (%)			
	CI-7 ~ 9	CI-10 ~ 16	IG2 ~ 20	その他
A	11.9	29.3	10.7	48.1
B	88.8	5.3	5.9	0
C	15.7	36.1	33.2	15.0
D	16.0	28.6	50.9	4.5

(CI:サイクロデキストラン IG:イソマルトオリゴ糖)

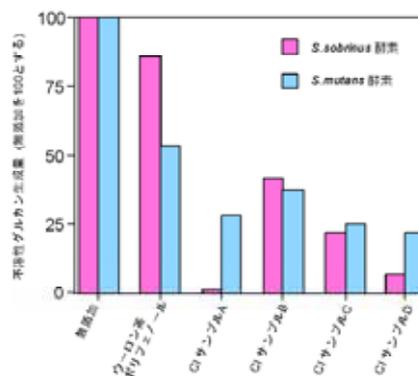


図3 CIによるグルカン合成酵素阻害

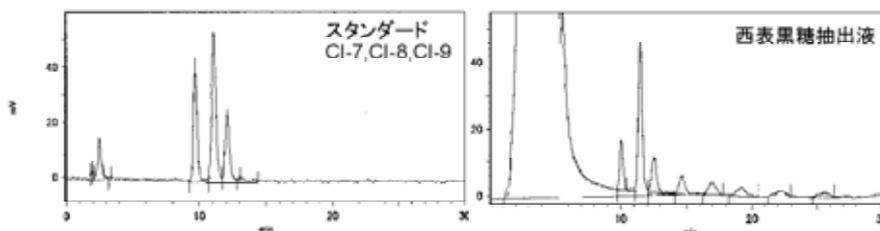


図4 黒糖中におけるCIのHPLCによる検出



図5 CI添加砂糖の試作品

【 その他 】

研究課題名: 抗う蝕性環状イソマルトオリゴ糖(CI)の実用化技術開発

予算区分: 甘蔗汁及び廃糖蜜を利用したサイクロデキストランの製造技術開発業務(沖縄産学官) サイクロデキストラン(CI)添加抗う蝕性砂糖の製造開発技術(地域新生コンソーシアム) サイクロデキストラン合成酵素における環状オリゴ糖生成のメカニズムの解析(サブサイト工学) グルコシルトランスフェラーゼの機能解明と改変(経常)

研究期間: 2002 ~ 2005年度(2005年度)

研究担当者: 舟根和美

発表論文等:

- 1) K. Funane *et al.*, Changes in linkage pattern of glucan products induced by substitution of Lys residues in the dextransucrase, *FEBS Letters*, **579**(21), 4739-4745 (2005)
- 2) 舟根和美ら: 高分子サイクロデキストラン、その製造法及びそれに用いる微生物、特願 2002-337748 (2002年11月21日)
- 3) 舟根和美ら: サイクロデキストラン高生産微生物とこれを用いたサイクロデキストランの製造法、特願 2004-3704 (2004年1月9日)
- 4) 舟根和美ら: 好アルカリ性サイクロデキストラン合成酵素遺伝子を含むDNA、組み換え体DNA、および好アルカリ性サイクロデキストラン合成酵素の製造法、特願 2006-8318 (2006年1月17日)

【成果情報名】 マイクロチャンネル乳化を用いた均一径多相エマルションの作製手法の開発
および CFD を利用した乳化速度の解析

【要 約】 高圧乳化と貫通型マイクロチャンネル乳化を併用することで、均一径マイクロ油滴の中にナノ水滴が封入されている多相エマルションを作製した。またマイクロ貫通孔の内部を流れる分散相（液滴材料）の流速が臨界値より小さい場合に、微小な水中油滴が安定的に作製されることを示した。

【部 署】 食品総合研究所・企画調整部・マイクロチャンネルアレイ工学チーム、食品工学部長

【連絡先】 マイクロチャンネルアレイ工学チーム 029-838-8025 isaok@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 貫通型マイクロチャンネル乳化、多相エマルション、均一径、CFD、乳化速度

【背景・ねらい】

マイクロチャンネル(MC)乳化は、均一径の微小液滴を有するエマルションを作製できる有望技術である。エマルション中の液滴の内部にさらに微小な液滴が分散している二層構造の多相エマルションは、天然物素材を主成分とした高機能なマイクロカプセルなどの製造に有用な基材であり、食品や医薬品等への応用が期待されている。また、乳化速度を含む MC 乳化プロセスの最適化は MC 乳化技術の実用化に向けた重要課題の一つである。本課題では、高圧乳化と貫通型 MC 乳化を併用した均一径の微小油滴の中にさらに小さな水滴が封入されている W/O/W エマルションの作製手法を開発した。また CFD (数値流体力学) を利用して、貫通型 MC の内部における分散相の流速が乳化プロセスや乳化速度に与える影響を明らかにした。

【成果の内容・特徴】

1. グルコース水溶液を連続相、乳化剤を添加した大豆油を分散相として高圧ホモジナイザー(操作圧 140 MPa)による乳化を行い、平均液滴径 150~260 nm 程度のナノ水滴を 10~30 vol%含む油中水滴型(W/O)エマルションを作製した。この W/O エマルションを分散相、乳化剤を添加したグルコース水溶液を連続相として貫通型 MC 乳化(操作圧 1.3 kPa)を行い(図 1)、ナノ水滴を封入した直径 40 μm 程度でバラツキ 5%以下の水中油滴が安定的に作製され、食品グレードの均一径 W/O/W エマルションを得ることができた(図 2)。
2. 楕円形断面の微細チャンネル(長軸 40 μm、短軸 10 μm)の内部における分散相(大豆油)の流速が臨界流速(約 1.3 mm/s)より小さい領域で、直径 30 μm 台の微小油滴が連続相(水)中で安定的に作製されることを示した(図 3、4)。また、乳化速度を示す各々の微細チャンネルからの液滴作製速度は臨界流速付近で最大(約 15 個/秒)になることが明らかになった。以上の成果は、MC 乳化により均一径エマルションを効率的に作製するために有用な知見である。

【成果の活用面・留意点】

貫通型 MC 乳化を利用して均一径の W/O/W エマルションを作製できたが、この W/O/W エマルションの特性について今後検討する必要がある。CFD を利用してチャンネル構造の影響に加えて操作変数の影響も検討可能になり、実験系研究と CFD 研究で得られる知見を活用することで MC 乳化の最適設計を実現できるものと期待される。

[具体的データ]

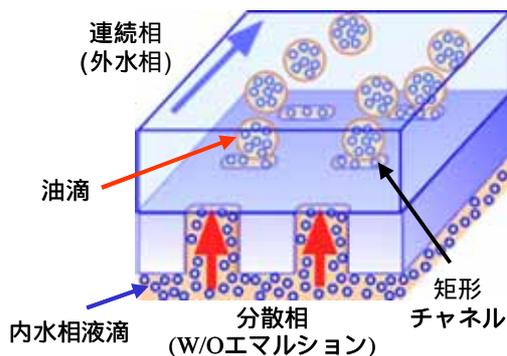


図1 貫通型 MC を用いた W/O/W エマルジョン作製の模式図

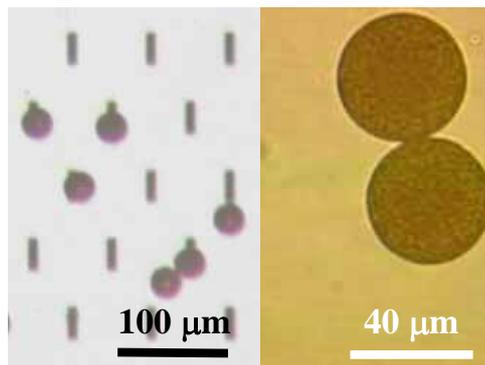


図2 貫通型 MC を用いた 均一径 W/O/W エマルジョンの作製

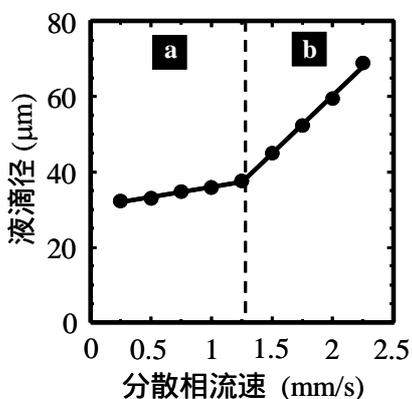


図3 分散相流速が液滴径に与える影響

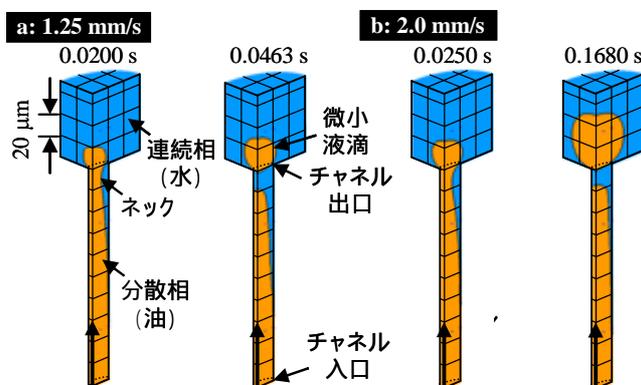


図4 分散相流速が液滴作製プロセスに与える影響

[その他]

研究課題名：単分散ナノ粒子およびマイクロ粒子の作製（ナノテクノロジー）

予算区分：農水省ナノテクノロジープロジェクト

研究期間：2002～2006年度

研究担当者：小林功、中嶋光敏

発表論文等：

- 1) I. Kobayashi *et al.*, Preparation of monodisperse water-in-oil-in-water emulsions using microfluidization and straight-through microchannel emulsification, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **82**, 65-71 (2005)
- 2) I. Kobayashi *et al.*, Effect of type and physical properties of oil phase on oil-in-water emulsion droplet formation in straight-through microchannel emulsification, experimental and CFD studies, *Langmuir*, **21**, 5722-5730 (2005)
- 3) I. Kobayashi *et al.*, Production of monodisperse oil-in-water emulsions using a large silicon straight-through microchannel plate, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **44**, 5852-5856 (2005)
- 4) I. Kobayashi *et al.*, Novel asymmetric through-hole array microfabricated on a silicon plate for formulating monodisperse emulsions, *Langmuir*, **21**, 7629-7632 (2005)

【成果情報名】 各種ゴマリグナンの生理活性と生体内代謝

【要 約】 エピセサミンとセサモリンは肝臓の脂肪酸酸化を増加させたが、セサミンの作用は弱かった。生理作用の強さは各リグナンの体内濃度に依存し、その体内濃度の違いは、腸管吸収及び体内代謝の違いに基づいていた。

【部 署】 食品総合研究所・食品機能部・栄養化学研究室

【連絡先】 029-838-8083 idetaka@nfri.affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 ゴマリグナン、脂肪酸酸化、遺伝子発現、代謝動態

【背景・ねらい】

ゴマに含まれる主要なリグナンはセサミン、セサモリンおよびセサミノールである(図1)。また、ゴマ油精製の過程で、セサミンの約半分はエピセサミンに転換し、セサモリンは分解される。いわゆる“セサミン”の名前で健康食品として市場に出ているものはセサミンとエピセサミンの混合物であり、強い生理活性を持つ。しかし、個々のリグナンの生理活性の違いに関する知見はほとんどない。本研究では種々のリグナンの生理活性と体内代謝動態の違いを比較した。

【成果の内容・特徴】

1. ラットにリグナン無添加食および0.2%のセサミン、エピセサミンあるいはセサモリンを含む飼料をラットに10日間与えた。エピセサミンとセサモリンは肝臓の脂肪酸酸化系酵素の活性と遺伝子発現を大きく上昇させたが、セサミンの作用は弱かった(図2)。また、リグナンはビタミンE節約作用があるが、肝臓中 α -トコフェロール量はセサモリン群で最も高く、ついでエピセサミン群、セサミン群、リグナン無添加群の順となった。
2. セサミン摂食ラットの血清中セサミン濃度は11.2 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、エピセサミン群でのエピセサミン濃度は49.3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、セサモリン群でのセサモリン濃度132 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。肝臓ではセサミン、エピセサミン、セサモリン摂食群でそれぞれのリグナン量は17.9、43.3および79.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重であり、体内への貯留量はリグナン種により大きく異なっていた。
3. 各リグナンを80 mg/kg 体重の量で単回投与し、経時的な血清濃度変化を追跡し、体内動態を解析した。各リグナンの血清濃度は投与後7~10時間をピークとして上昇し、以後低下した(図3)。各時間の濃度はセサモリン、エピセサミン、セサミンの順となった。
4. この血清リグナン濃度変化をone-compartment modelにより、数学的に解析し、種々代謝パラメーターを算出した(表1)。AUC(曲線下面積)はセサモリン、エピセサミン、セサミンの順となり、体内アベイラビリティの違いは明らかであった。異化パラメーターであるMRT(平均滞留時間)と半減期はセサモリン、エピセサミン、セサミンの順となり、セサミンが最も体内での異化速度が大きいことが分かった。さらに、吸収率パラメーターである F/V_d の値から、吸収率はセサモリンで最も高く、ついでエピセサミン、セサミンの順であることが示された。セサミン、エピセサミンおよびセサモリンの実際の吸収率は最大でそれぞれ、10%、20%および30%と見積もられた。
5. 以上のことから、リグナンの種類により、脂肪酸やビタミンEの代謝に与える影響が大きく異なり、これには吸収率と異化速度の違いによるリグナンの体内アベイラビリティの差異が関与していると考えられた。

【成果の活用面・留意点】

本研究により、リグナンの種類によって生理機能や代謝動態が異なることが明らかになった。ゴマおよびゴマから作られた製品のリグナンの組成がその機能性に大きく影響することが推察され、ゴマを用いた機能性食品の開発に一つの指針を与えるものである。

[具体的データ]

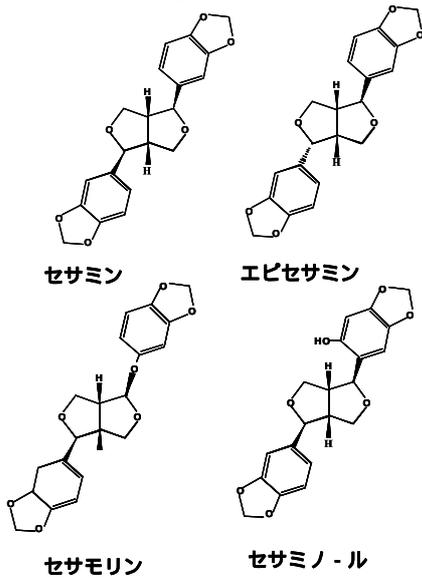


図 1 ゴマリグナンの構造

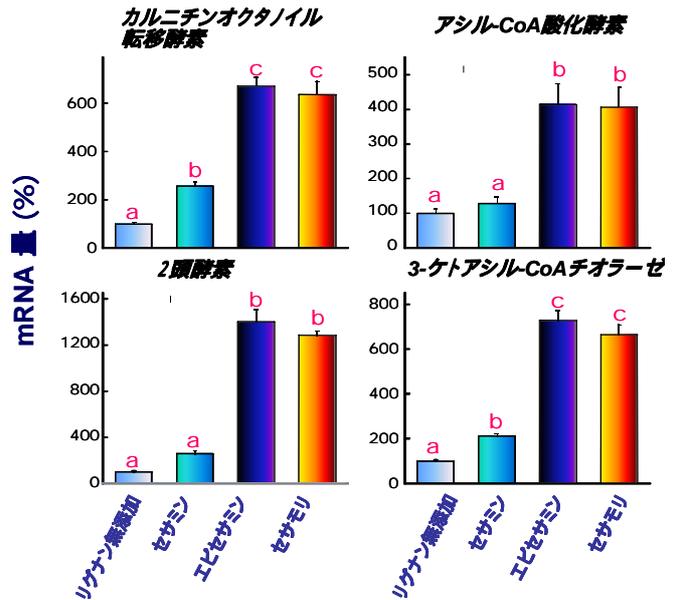


図 2 ゴマリグナンが肝臓ペルオキシゾームの脂肪酸酸化系酵素の遺伝子発現に与える影響。共通の英文字を共有しない値の間には有意差があることを示す ($p < 0.05$)。

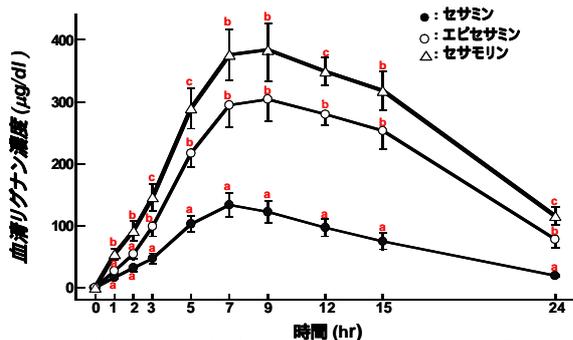


図 3 単回経口投与後の血清リグナン濃度の経時変化。共通の英文字を共有しない値の間には有意差があることを示す ($p < 0.05$)。

表 1. 各種ゴマリグナンの代謝パラメーター

代謝パラメーター	リグナン		
	セサミン	エピセサミン	セサモリン
Tmax (hr)	7.9 ± 0.7	10.0 ± 1.0	10.4 ± 1.1
Cmax (µg/dl)	173 ± 11 ^a	383 ± 16 ^b	466 ± 16 ^c
AUC (0-24 hr) (µg/dl*hr)	1853 ± 108 ^a	4671 ± 193 ^b	6219 ± 271 ^c
AUC (0-) (µg/dl*hr)	1982 ± 121 ^a	5227 ± 218 ^b	7309 ± 352 ^c
MRT (hr)	11.4 ± 0.4 ^a	13.4 ± 0.6 ^b	15.0 ± 0.9 ^b
Half life (hr)	4.72 ± 0.20 ^a	6.06 ± 0.29 ^b	7.08 ± 0.43 ^c
F/Vd (dl)	0.045 ± 0.011 ^a	0.083 ± 0.013 ^{ab}	0.119 ± 0.022 ^b

Tmax : 血清中最高濃度到達時間、Cmax : 血清中最高濃、AUC; Area under curve (曲線下面積)、MRT; Mean residence time(平均滞留時間) F; Absorbability (吸収率) Vd; Pool size (代謝プール量)

[その他]

研究課題名 : 病態モデルによる食品成分の相互作用による脂質代謝調節機能の解明

予算区分 : 委託・食品の安全性及び機能性に関する総合研究

研究期間 : 2000 ~ 2005 年度 (2005 年度)

研究担当者 : 井手隆

発表論文等 :

- 1) T. Ide *et al.*, Interaction of dietary fat types and sesamin on hepatic fatty acid oxidation in rats. *Biochim Biophys Acta.* **1682**(1-3), 80-91, (2004)
- 2) P. G. Arachchige *et al.*, Dietary sesamin, and docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids synergistically increase the gene expression of enzymes involved in hepatic peroxisomal fatty acid oxidation in rats. *Metabolism.* **55**(3), 381-390 (2006)

[成果情報名] 加水量の異なる米飯の咀嚼量

[要約] 加水量1.5~4.0倍の米飯では、加水量の多い軟らかい飯ほど、重量、容量、固形量当たりの咀嚼量が少なく、食べやすいと考えられた。しかしさらに加水量の多い全粥や五分粥は著しく増量し、摂取エネルギー当たりの咀嚼量は減らなかった。

[部署] 食品総合研究所・食品機能部・食品物理機能研究室

[連絡先] 029-838-8031

[成果区分] 参考

[キーワード] 米飯、咀嚼、テクスチャー、筋電図

[背景・ねらい]

米飯は日本人の主食であり、嗜好性が高いだけでなく、パンよりも咀嚼しやすいため、高齢者に向く食品である。普通のかたさの飯よりも高齢者に嗜好される軟飯や、介護食として多用される粥について、加水量と咀嚼量との関係を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 無洗米に対し、加水量を重量比で1.5、2.0、3.0、4.0倍と変えて飯を調製し、各試料飯の水分量及びテクスチャーを等速直線運動の2バイト測定により調べた。表1のように、加水量が増す程、飯の水分量は多く、かたさやガム性は減少し、付着性と凝集性は高くなった。
2. 重量(5g)、容量(8cm³)、固形量(2g)すなわちエネルギー量で合わせた試料飯を、スプーンで健常若年女性10名に与え、自由に咀嚼・嚥下させた。この際、閉口筋である左右の側頭筋(LT、RT)と咬筋(LM、RM)、及び開口筋である顎二腹筋(LD、RD)から表面電極を用いて、筋電図を得た(図1)。
3. 加水量の少ない飯ほど、筋電図から見積もった咀嚼回数、咀嚼時間、また機器測定のかたさに対応する閉口筋活動が大きく、機器測定におけるバランス度に相当する直前の閉口筋活動量に対する開口筋活動の比が低かった(表2)。一方、咀嚼周期や筋活動時間、開口筋の活動量に有意な試料差は認められなかった。これらの筋電位パラメータにおける試料差は、重量>容量>固形量当たりの順に小さくなったものの、いずれも同じ傾向が観察された。
4. しかしながら、さらに加水量を多くして調製される全粥や五分粥は、著しく増量するため、普通飯一口大と同一エネルギー量の試料(2g固形量)を一口で摂取することは困難であった。粥の一口量を2倍に増加させても、嚥下までの咀嚼量や咀嚼時間は1.4倍程度の増加に留まり、少量ずつ口に入れて咀嚼した方が、全体の咀嚼量は増加することが示唆された。1/4食分のメニューを自由に試食させ、主食のエネルギー量当たりの咀嚼量を見積もると、普通飯と全粥は有意には変わらなかった。
5. 水分量の多い軟らかい飯は、密度が高いため一口重量を普通飯の2倍程度まで多くすることは難しくはなく、あるエネルギー量当たりの咀嚼時間や閉口筋活動量も減少させた。したがって、普通飯から軟飯の範囲では、加水量を多くするほど飯は食べやすくなることが示唆された。栄養摂取と咀嚼量の関係から、咀嚼能力の低い者に米飯を摂らせるには軟飯が向くが、粥はエネルギー充足を難しくするため、必ずしも好ましくないことが示唆された。

[成果の活用面・留意点]

とくになし

【具体的データ】

表1 加水量の異なる米飯の特性

加水量 (w/w)	1.5	2.0	3.0	4.0
水分量 (w/w)	0.604a	0.642b	0.729c	0.792d
かたさ (kPa)	51.2d	43.9c	28.6b	18.0a
第1ピーク面積 A1 (kJ/m ³)	12.28d	11.13c	8.86b	6.97a
第2ピーク面積 A2 (kJ/m ³)	3.64b	3.36b	2.87a	2.59a
付着性 A3 (kJ/m ³)	0.80a	1.01ab	1.29b	1.81c
凝集性 A2/A1	0.296a	0.303a	0.325a	0.374b
バランス度 A3/A1	0.065a	0.090a	0.147b	0.262c
ガム性、かたさ×凝集性 (kPa)	15.2d	13.3c	9.3b	6.7a

異なるアルファベットをつけた試料は $p < 0.05$ で有意に異なることを示す。

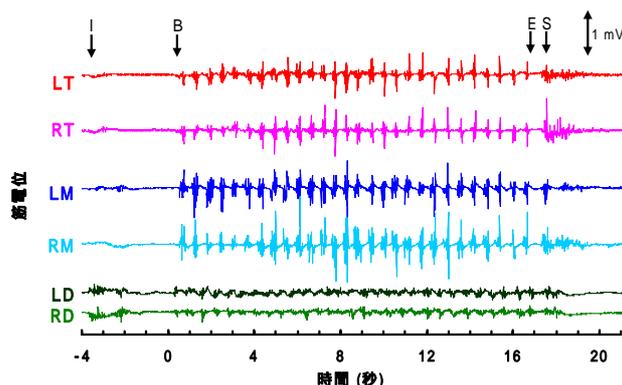


図1 米飯咀嚼時の筋電図波形の例
Iでスプーンから試料を口に入れ、Bで咀嚼開始、Eで咀嚼終了、Sで嚥下している。

表2 同一固形量(2g)咀嚼時の筋電図パラメータ

筋電図パラメータ	加水量 (w/w)					
	F-ratio	p	1.5	2.0	3.0	4.0
咀嚼回数	11.43	***	38.1b	37.9b	25.4a	24.0a
咀嚼時間 (s)	10.86	***	22.3b	22.5b	15.8a	14.9a
閉口筋 振幅 (mV)	11.17	**	1.60b	1.50b	1.43ab	1.29a
筋活動時間 (s)	2.39		0.227	0.235	0.239	0.241
筋活動量 (mV・s)	3.50		0.034	0.032	0.032	0.029
咀嚼周期 (s)	2.73		0.605	0.601	0.613	0.634
開口筋 振幅 (mV)	0.56		0.62	0.63	0.65	0.65
筋活動時間 (s)	2.56		0.367	0.367	0.384	0.404
筋活動量 (mV・s)	2.43		0.028	0.030	0.033	0.034
開口筋 / 閉口筋 振幅比	6.32	*	0.46a	0.54a	0.62a	0.70a
筋活動量比	8.08	**	1.06a	1.28b	1.43b	1.61b

被験者10名の2反復実験の平均。***、**、*は危険率がそれぞれ $p < 0.001$ 、 0.01 、 0.05 で有意な試料差あり。異なるアルファベットをつけた試料は $p < 0.05$ で有意に異なることを示す。

【その他】

研究課題名：日本型食素材組み合わせによる高齢者食の設計

予算区分：委託費プロ（食品総合）

研究期間：2002～2005年度（2005年度）

研究担当者：神山かおる

発表論文等：

- 1) K. Kohyama *et al.*, Mastication effort estimated by electromyography for cooked rice of differing water content. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **69**, 1669-1676 (2005)
- 2) K. Kohyama *et al.*, Electromyography of eating apples: Influences of cooking, cutting, and peeling, *Journal of Food Science*, **70**, S257-261 (2005)
- 3) 神山かおる 他：和食・洋食一食中における主食の咀嚼量. 日本咀嚼学会雑誌, **12**, 75-81 (2003)
- 4) 中山裕子、神山かおる：かたさの異なる米飯の咀嚼筋電図. 日本咀嚼学会雑誌, **14**, 43-49 (2004)

[成果情報名] 脳における味の記憶生成の可視化

[要 約] 機能的近赤外分光分析法 (fNIRS) を用いて、ヒトが味を覚えようとする、意図的記録時に、大脳の前頭前野領域が働くことを見出した。この領域は、他の感覚情報の意図的記録にも関与しており、味覚にも、他の感覚と共通の情報処理機構の関与が示唆された。

[部 署] 食品総合研究所・食品機能部・食品物理機能研究室

[連絡先] 029-838-7357

[成果区分] 参考

[キーワード] 機能的近赤外分光分析法、脳機能、味、味覚、意図的記録、食育、前頭前野

[背景・ねらい]

脳が様々な感覚からの情報入力を受けてから、その情報を記憶として貯蔵するまでの認知処理過程、すなわち、「覚える」過程を「記録」という。fMRI (機能的核磁気共鳴法) や PET (陽電子放出断層撮像法) など、ヒトの脳の働きを観察するイメージング技術の発展により、これまで、視覚、聴覚、触覚といった感覚情報を、意図的に記録する際、つまり覚えようとして覚える際に、脳の前頭前野という領域が関与していることが分かってきた。しかし、味覚の意図的記録にも前頭前野が働くのかどうかは謎だった。味覚の記録に関する脳機能研究が遅れている理由は、fMRI や PET の測定環境下では、被験者が自由に味を味わうことが困難であるためである(図 1)。一方、近年、開発の進んだ機能的近赤外分光分析法 (fNIRS) は、ヒトの脳活動に伴う血流の変化を、近赤外光を用いて非侵襲に計測する方法である。測定装置はコンパクトで、日常環境に近い状態で、被験者が自由に味を味わうことが可能である。しかし、fNIRS 単独では、脳の空間解析が困難であるという問題もあった(図 2)。そこで、fNIRS にコンピュータシミュレーションを導入した新たな空間解析法を適用することによって、味覚の意図的記録にも、他の感覚と同様、前頭前野が関与しているかどうかを検討した。

[成果の内容・特徴]

1. 頭の上に置かれた fNIRS の計測プローブの位置を、仮想レジストレーションという、コンピュータシミュレーションを用いた新規の空間解析法によって、標準脳座標空間に表現した。これによって、fNIRS データを fMRI や PET の研究結果と容易に比較できるようになった。
2. 2種類の溶液を連続して味わい、両者が同じかどうか比べるには、最初の味を覚える必要がある(意図的記録条件)。この意図的記録条件時の脳活動を fNIRS で計測した。また、同様の溶液を、味を覚えようとしない条件でも味わってもらった(対照条件)。意図的記録条件から対照条件の脳活動を差し引いて、意図的記録に関わる脳活動を抽出したところ、左右両側の前頭前野に有意な脳活性が認められた(図 3)。
3. 味を意図的に記録する際の脳活動パターンは、言語化しにくい情報の意図的記録としては典型的なものであった。味覚の意図的記録にも、視覚、聴覚、触覚の意図的記録と同様の前頭前野領域が関与することが明らかになった。
4. 前頭前野領域は、様々な認知処理過程に働くことが知られているが、その働きが、感覚間で共通かどうかはまだ分かっていない。今回の結果は、前頭前野領域の認知処理機能は、感覚入力に拠らず共通であるという説を支持するものである。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究は、味覚の記憶生成に関わる脳領域の可視化に初めて成功したものである。
2. 将来的には、食品開発に必須の技術である官能評価中に、評価者が脳をどのように使うかをモニタリングすることが可能となる。評価者の認知特性を詳細に調べることで、効果的な食品開発を行う可能性が広がる。
3. 今回の発見によって、いわゆる「ながら食べ」では料理の味がよく分からないといった体験の一因は、味覚の認知処理と他の感覚の場合とで共通の前頭前野領域が使われ、情報処理に必要なリソースが競合する

ためではないか、という説明ができる。「食育」的な観点からも有用な参考情報を提供する成果である。

[具体的データ]



図 1 : fMRI による
味覚実験風景



図 2 : fNIRS による
味覚実験風景

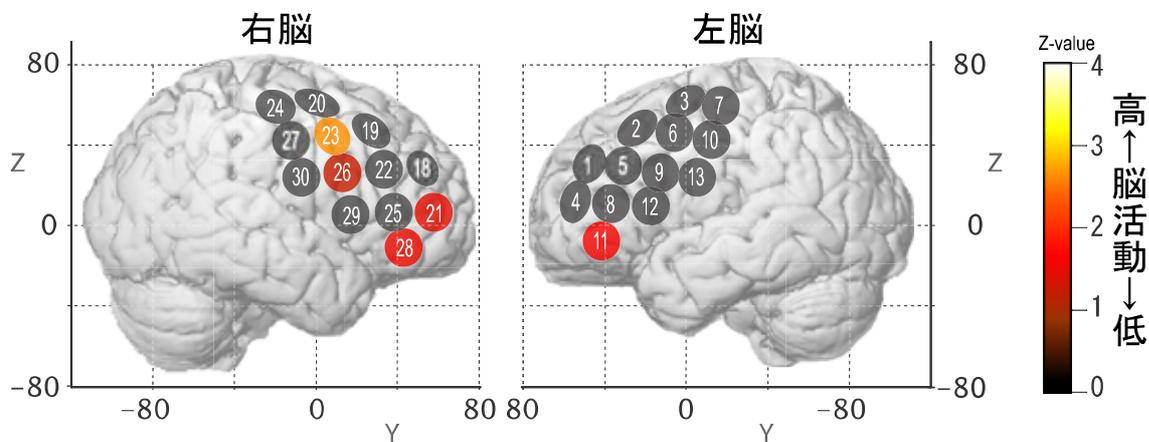


図 3 : 味の意図的記録に関する脳領域

fNIRS で計測された、味の意図的記録に関する、脳活動。右脳の前頭前野腹側部を中心とした領域 (21, 23, 26, 28) と左脳の前頭前野腹側部の先端 (11) に有意な脳活動がみられた。黄色～赤色は有意な脳活動を、灰色は有意ではなかった脳活動を表わしている。縦軸と横軸は、標準脳座標系の座標を表している。

[その他]

研究課題名 : 健康長寿社会に向けた食品開発のための食品物性・感性科学的研究 (生研センター)、NIRS データの確率的脳表投影法開発 (NEDO)、重点領域調理工学 (食総研重点領域研究)

予算区分 : 生研センター・新技術新分野創出のための基礎研究推進事業、NEDO・産業技術研究助成事業、食総研・重点領域調理工学

研究期間 : 2002 ~ 2006 年度 (2005 年度)

研究担当者 : 檀一平太、岡本雅子、檀はるか、神山かおる (食総研)、松波万理、木幡知子 (日本水産株式会社)

発表論文等 :

- 1) M. Okamoto *et al.*, Prefrontal activity during taste encoding: an fNIRS study. *NeuroImage* (2006) (in press)

【成果情報名】 肝障害に伴って変動する血中タンパク質

【要 約】 マウスでは肝毒性を示す物質の投与によって TIMP-1 の分泌量が顕著に増加した。TIMP-1 は他のハザードによる肝障害でも分泌量が増加することから、肝障害の有用なバイオマーカーであると考えられる。

【部 署】 食品総合研究所・流通安全部・安全性評価研究室

【連絡先】 安全性評価研究室 029-838-8085

【成果区分】 参考

【キーワード】 バイオマーカー、TIMP-1、肝障害

【背景・ねらい】

肝臓は、毒性物質の主な標的臓器である。これまでの多くの研究成果から、肝障害の重篤さや発症メカニズムによって、血中に分泌されるタンパク質の種類や量が異なることがわかってきている。本研究では、ハザードの影響を評価することを目的として、血中の多種のタンパク質の量を測定し、肝障害を反映するタンパク質（バイオマーカー）を探索した。

まず、肝障害に伴って変動する血中の分泌タンパク質を探索するため、ヒト肝癌細胞を用いた実験や文献・データベースによって、9種の肝毒性物質処理によって量が変わる分泌タンパク質を検索した。次に候補タンパク質を絞り込むため、強い肝毒性を示す毒性物質と肝毒性をほとんど示さない毒性物質を動物（マウス）に投与し、種々の分泌タンパク質の量を測定した。多くの種類の肝毒性物質によって分泌量が変わるものを中心に、12種の分泌タンパク質の量を測定した。

【成果の内容・特徴】

1. 肝障害に伴って変動する血中の分泌タンパク質を探索した結果、9種の毒性物質（ルプラトキシンB、エチルアルコール、アセトアミノフェン、四塩化炭素、リポ多糖、コンカナバリンA、アフラトキシンB1、サイクロピアゾン酸、シトリニン）によって分泌量が変わる28種の分泌タンパク質を候補物質としてリストアップした（表1）。ほとんどすべての毒性物質によって分泌量が変わるTNF- α から、1種の毒性物質での分泌量変化しか知られていないTGFやM-CSFまで、分泌制御機構は多岐にわたると考えられた。
2. 分泌タンパク質の量を測定した結果、IL-5、IL-6、IL-10、GM-CSF、MCP-1、TIMP-1の6種の分泌が確認できた。そのうち、強い肝毒性を示すルプラトキシンBやアセトアミノフェンで分泌量が顕著に増加し、肝毒性をほとんど示さないソラニンやニバレノールではほとんど増加しないタンパク質は、金属プロテアーゼの阻害因子として知られているTIMP-1（tissue inhibitor of metalloproteinases-1）であった（表2）。TIMP-1はB型及びC型肝炎ウイルス、四塩化炭素、エチルアルコールによる肝障害でも分泌量が増加することから、肝障害を反映するバイオマーカーとして有用であると考えられる。

【成果の活用面・留意点】

肝障害で分泌量が変わる分泌タンパク質の多くは、肝障害以外の疾病でも変動することが多い。現状では、ある試験物質が肝毒性を持つことを示すには、TIMP-1だけでなくトランスアミナーゼなどの肝機能検査も併用する必要がある。今後肝障害の重篤さや発症メカニズムを反映するシステムを構築するために、肝障害のバイオマーカーとなる分泌タンパク質の種類を増やすことが必要である。

[具体的データ]

表 1 肝毒性物質によって分泌量が変化するタンパク質

分泌タンパク質
TNF- α , IL-1, 4, 6, 8, 10, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 α , 2, IGFBP1, 3, TIMP-1 PGE ₂ , cathepsin-D, G, TGF- α , β , M-CSF, GM-CSF, Mig, eotaxin, RANTES IP-10, IGF-I, CD14, Gc-globulin, elastase

表 2 毒性物質によって実際に分泌が確認できたタンパク質

	ルブラトキシシン B	アセトアミノフェン	ソラニン	ニバレノール	
IL-1 β	-	-	-	-	
IL-2	-	-	-	-	
IL-4	-	-	-	-	
IL-5	-	-	++	-	
IL-6	++	-	±	-	毒性物質処理による分泌量の増加が、
IL-10	-	-	-	++	コントロールに比べて
IL-12	-	-	-	-	
IFN- γ	-	-	-	-	
TNF- α	-	-	-	-	< 1.5 倍 -
GM-CSF	-	-	-	+	1.5 ~ 2 倍 ±
MCP-1	++	-	+	N.D.	2 ~ 5 倍 +
TIMP-1	++	++	±	+	> 5 倍 ++

[その他]

研究課題名：肝障害に伴って変動する血中タンパク質の網羅的測定法の開発

予算区分：委託費プロジェクト（食品総合）

研究期間：2003 ~ 2004 年度（2004 年度）

研究担当者：長嶋等、岩下恵子

発表論文等：

- 1) H. Nagashima *et al.*, Rubratoxin B induced the secretion of hepatic injury-related colony stimulating factors in human hepatoma cells. *Toxicology Letters*, **145**, 153-159 (2003)
- 2) K. Iwashita *et al.*, Effects of genetics, sex, and age on the toxicity of rubratoxin B in mice. *Mycotoxins*, **55**, 35-42 (2005)
- 3) H. Nagashima *et al.*, Induced secretion of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) *in vivo* and *in vitro* by hepatotoxin rubratoxin B. *Food and Chemical Toxicology*, (2006) (in press)

【成果情報名】 ソフトエレクトロンを用いた貯蔵食品害虫の防除

【要 約】 ソフトエレクトロンは低エネルギーの電子線であり、これとホスフィンくん蒸を組み合わせるにより、貯蔵食品害虫に対して高い殺虫率を得ることができる。

【部 署】 食品総合研究所・流通安全部・食品害虫研究室、食品工学部・電磁波情報工学研究室

【連絡先】 食品害虫研究室 029-838-8081 taroi@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 ソフトエレクトロン、貯蔵食品害虫、防除、臭化メチル代替技術

【背景・ねらい】

貯蔵食品害虫の防除は今まで大部分を臭化メチルクん蒸に依存してきた。しかしながら臭化メチルはオゾン層を破壊するおそれがあることから、モントリオール議定書に基づき2005年までに先進国では検疫用、不可欠用途などを除いて廃止された。その代替手法として使用されているホスフィン（リン化水素）くん蒸では耐性害虫が出やすいという難点がある。こうした背景を受け、臭化メチルクん蒸の代替技術として、低エネルギー電子線（ソフトエレクトロン）照射を食品害虫防除へ応用を検討した。加速電圧 170kV のソフトエレクトロンを照射に用いた。コクゾウムシ、アズキゾウムシ、ノシメダラメイガの加害した米、小豆にソフトエレクトロンを穀物表面の線量が 10kGy になるように照射し、生存数を調査した。

【成果の内容・特徴】

1. 穀物の内部を食べる害虫（コクゾウムシ：図 1-a、アズキゾウムシ：図 1-b）は一部生存したが、外部を食べる害虫（ノシメダラメイガ：図 1-c）は完全に殺虫が可能である（図 2）。
2. コクゾウムシ、アズキゾウムシではホスフィンくん蒸と組み合わせることにより、極めて高い殺虫率を達成できた（図 3）。その際、ホスフィンくん蒸は通常のくん蒸（2mg/L、4～6日間）より低い濃度（0.5 と 1mg/L）短い処理時間（コクゾウムシでは 48 時間、アズキゾウムシでは 24 時間）で行った。
3. ソフトエレクトロンは低エネルギーの電子線であり、透過力が極めて小さいため、ガンマ線などと比べて大きな遮蔽を必要とせず、また穀物の内部の性質を変えない。
4. 物理的な防除法であるため、薬剤耐性のリスクがない。

【成果の活用面・留意点】

ソフトエレクトロン照射により、穀物の外部を食べる害虫に対しては完全殺虫が可能である。穀物の内部を食べる害虫はソフトエレクトロン照射のみでは生き残る場合があるが、ホスフィンくん蒸と組み合わせることにより、ホスフィンくん蒸単独処理の場合よりも低い薬剤濃度、短い処理時間でほぼ完全に殺虫できた。今後はより低価格な照射システムを開発する必要がある。

[具体的データ]

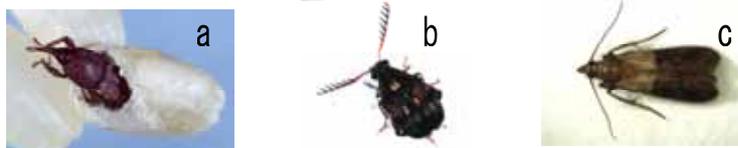


図1 左からコクゾウムシ (a)、アズキゾウムシ (b)、ノシメマダラメイガ (c)

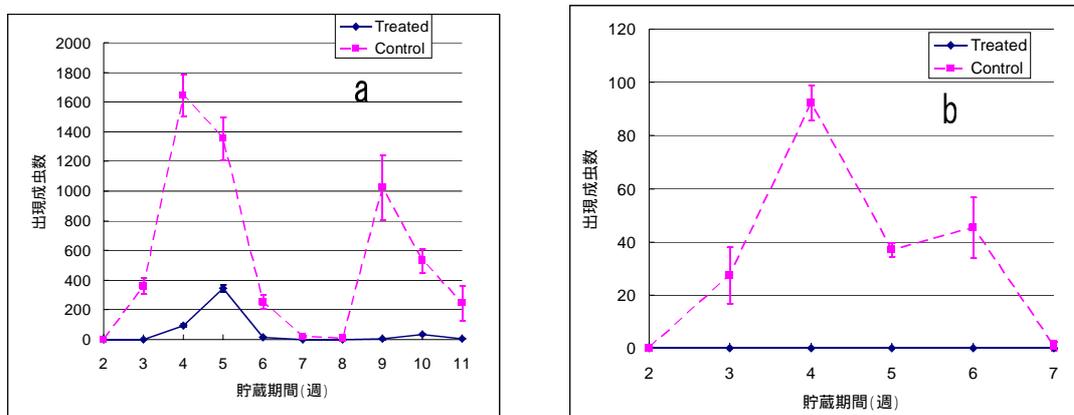


図2 コクゾウムシ (a) とノシメマダラメイガ (b) のいろいろな発育段階 (卵 ~ 蛹) の混在系を含んだ 3kg の玄米にソフトエレクトロンを照射したときの出現成虫数。ソフトエレクトロンを照射後、毎週出現してくる成虫を数えた。

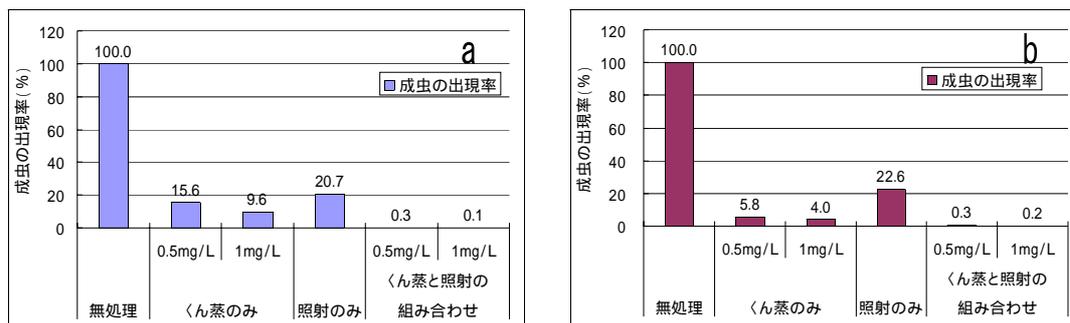


図3 コクゾウムシ (a) とアズキゾウムシ (b) にソフトエレクトロンを照射後、ホスフィンくん蒸を行ったときの生存率。コクゾウムシ、アズキゾウムシはそれぞれ玄米、小豆中のものを使用した。

[その他]

研究課題名：低エネルギー電子ビーム利用による臭化メチルくん蒸代替食品貯蔵害虫防除技術の開発

予算区分：原子力試験研究費

研究期間：2002 ~ 2006 年度 (2005 年度)

研究担当者：今村太郎、等々力節子、宮ノ下明大、林徹

くん蒸協力：小川昇、内藤浩光 (横浜植物防疫所) 照射協力：株式会社NHVコーポレーション

発表論文等：

- 1) T. Imamura *et al.*, Usability of a soft-electron (low-energy electron) machine for disinfection of grains contaminated with insect pests. *Radiation Physics and Chemistry*, **71** (1-2), 211-213 (2004)
- 2) T. Imamura *et al.*, Effect of "soft-electron" (low-energy electron) treatment on three stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, **40** (2), 169-177 (2004)

【成果情報名】 食品素材・食品中のキチン質分解酵素活性とその GlcNAc 増強への利用

【要 約】 食品素材・食品の抽出物中に存在するキチン質分解酵素活性を調べた結果、唐辛子が高い値を示したほか、トマト、キノコ、魚介類内臓、キムチ、カツオ塩辛、麴等にも活性が見いだされた。本知見を生かし、機能性糖質 *N*-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)の食品熟成・加工過程における増強が可能となる。

【部 署】 食品総合研究所・食品素材部・糖質素材研究室

【連絡先】 糖質素材研究室 029-838-8053 tokuyasu@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 キチン、キチンオリゴ糖、*N*-アセチル-D-グルコサミン、糖質加水分解酵素、唐辛子、キムチ、キノコ類、麴、魚介類内臓

【背景・ねらい】

N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)の変形関節炎の改善効果がヒト試験により確認されている(新薬と臨床、Vol.52、No3、p71-82、2003)。また、GlcNAcは良質の甘味を有しており、現在、GlcNAcの安定的摂取を目的とした乳製品やタブレット等の製品が開発・市販されている。このような状況から、本研究では、食品素材や食品に存在するアミノ糖加水分解酵素の活性や相互作用を利用し、食品の熟成・加工過程等において機能性糖質を増強する新技術を開発するため、キチンやその部分分解物から GlcNAc を生産する酵素活性を中心にスクリーニングを行った。

【成果の内容・特徴】

1. 酸加水分解によるアミノ糖の低分子化工程では、副生成物の脱アセチル化物が着色、えぐ味等の原因となることから、穏和な方法として酵素変換技術の開発が求められてきた。そこで、通常の食生活において摂取されると考えられる食品素材や食品約 130 種類について、その抽出物中に存在する GlcNAc 遊離活性を調べた結果、唐辛子やその種に極めて高い活性が見いだされた(図1)。また、トマト、レタスなどの野菜抽出液や、コショウ、キノコ、魚介類内臓、市販キムチ、カツオ塩辛、麴等に比較的高い活性が見いだされた。
2. 唐辛子の水抽出液を用いてキチンオリゴ糖と反応させたところ、5糖および6糖を基質とした方が4糖以下を基質とした場合よりも単糖(GlcNAc)の生産量が増しており、*N*-アセチル-D-ヘキソサミニダーゼ活性およびキチナーゼ活性の低分子化への関与が示唆された(表1)。
3. キムチの汁を粗酵素液としてキチンオリゴ糖と混合した場合、4で静置した場合でも GlcNAc が増強されたことから、食品の低温熟成により機能性糖質を増強できる可能性が示された(表2)。
4. 魚介類内臓、キノコ菌床近傍等、一般的に廃棄されることの多い可食性部分にも活性が認められた。

【成果の活用面・留意点】

様々な食品素材や食品の抽出液中に存在する GlcNAc 生成酵素活性を利用して、多岐にわたる食品の開発が可能となり、未利用資源の有効利用にも道が拓けるものと期待される。トマト、香辛料、キノコ、魚介類内臓などは、抽出液自体に呈味成分が存在することから、キチンの部分分解物等の反応基質を加えて熟成させることにより、新食味食品、調味液等の開発が可能となる。その際には、適宜、酵素抽出後に膜濾過工程等を利用して雑菌の汚染・繁殖を抑えたり、生食を想定していない食品素材からの抽出成分等を最終段階において加熱処理工程等により失活させる必要がある。

[具体的データ]

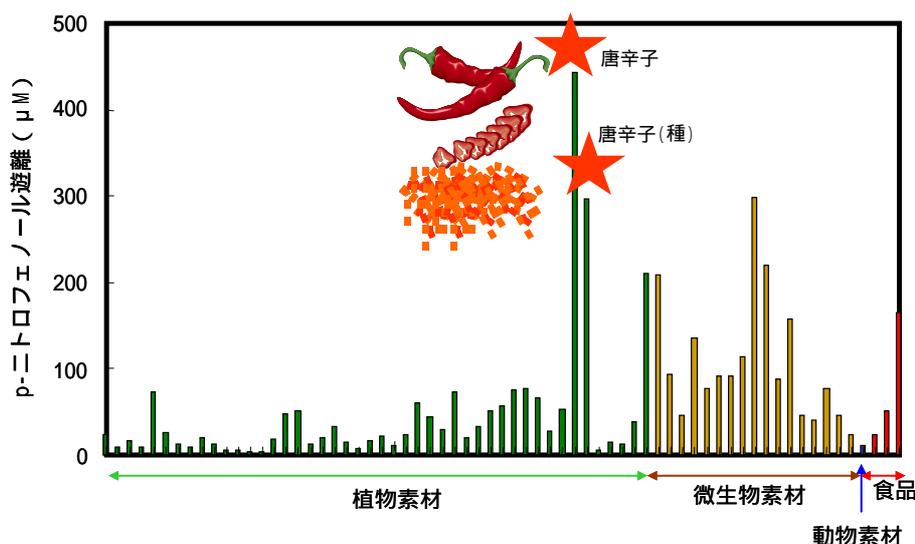


図 1 食品素材・食品中に存在する *N*-アセチル-*D*-ヘキソサミニダーゼ活性の測定 (*p*-ニトロフェニル *N*-アセチル-*D*-グルコサミニドを基質として測定)

表 1 市販一味唐辛子の水抽出液に存在するキチンオリゴ糖分解活性

反応基質	反応生成物 (%)					
	単糖	2糖	3糖	4糖	5糖	6糖
2糖	57.6	42.4				
3糖	33.4	23.6	43.0			
4糖	33.3	20.0	17.7	29.0		
5糖	41.9	25.6	21.4	8.3	2.8	
6糖	39.8	25.6	24.5	10.2	-	-

(0.2%基質を pH5.5 緩衝液中、30℃ で 12 時間分解した後の分解物を HPLC で分析)

表 2 市販キムチの汁に存在するキチンオリゴ糖混合物 (単糖 - 8糖) の加水分解

	単糖	2糖	3糖	4糖	5 - 8糖
反応基質	8.5	26.1	26.9	19.2	19.3
4 熟成後	35.4	39.8	17.8	1.8	5.2
30 熟成後	92.3	0	2.2	0	5.2

(基質 (0.5%) を直接、キムチの汁に加え、24 時間熟成させた後の分解物を HPLC で分析)

[その他]

研究課題名：糖質系機能性成分とその活性化酵素との相互作用の解析

予算区分：農林水産省委託プロジェクト「食品の安全性および機能性に関する総合研究」

研究期間：2005 年度

研究担当者：徳安健

発表論文等：

- 1) 徳安健：オリゴ糖又は単糖の増強された食品又は食品素材と、その製造方法、特願 2006-11059 (2006 年 1 月 19 日)

【成果情報名】 脂溶性栄養・機能成分の消化・吸収における脂質の機能

【要 約】 ホウレン草に含まれる β -カロテンの消化性は油脂の添加によって促進されること、腸管混合ミセル可溶化 β -カロテンの腸管上皮細胞への吸収はミセルの組成に大きく依存し、リゾホスファチジルコリンによって促進されることを見出した。

【部 署】 食品総合研究所・食品素材部・脂質素材研究室

【連絡先】 脂質素材研究室 029-838-8039 nagao@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 カロテノイド、in vitro消化、油脂、混合ミセル、消化・吸収、リン脂質

【背景・ねらい】

野菜や果実に含まれるビタミンKやカロテノイド等の生活習慣病予防に関わる脂溶性栄養機能成分の吸収性は油脂等に比べ著しく低い。そのため、加工、調理、食べ合わせ、サプリメント等を改善することによって、生体利用性を高めることが望まれている。食品からのこれらの脂溶性栄養・機能成分の消化・吸収は、食品からの遊離、消化管内での分散、混合ミセルへの可溶化までの消化過程と、小腸上皮細胞への取り込みとリンパ液への移行までの腸管吸収過程からなる複雑なプロセスである（図 1）。従来より油脂の摂取が吸収を高めると言われてきたがその詳細な機構は明らかにされていない。本研究では、消化及び吸収過程における脂質の役割を解析し、脂溶性栄養機能成分の吸収を調節する脂質素材開発のための基礎的知見を得ることを目的とした。

【成果の内容・特徴】

1. ホウレン草に含まれるカロテノイド（ β -カロテンとルテイン）の消化性に対する油脂の影響を in vitro 消化系を用いて解析した。ホウレン草を2倍容の脱イオン水中でホモジナイザーを用いて破碎した。このホモジネートに各種脂質を加え in vitro 消化を行った。消化後の可溶化カロテノイド量を分析することによって消化性を評価した。その結果、油脂がほぼ完全に加水分解される条件下においては、 β -カロテンの消化性は添加油脂量に依存して増大した。その消化性の増大は油脂の種類によって異なっていた（図-2）。脂肪酸メチルエステルを添加した場合、消化性増大効果は見出されなかった。油脂による β -カロテンの消化性の促進には、モノアシルグリセロールなどの油脂加水分解物が β -カロテンの可溶化に関与していることが示唆された。
2. 腸管上皮細胞への吸収における脂質の機能を解析するため、Caco-2 ヒト結腸がん由来腸管モデル細胞への腸管混合ミセル可溶化 β -カロテンの取り込みに対するリン脂質の影響を調べた。その結果、腸管混合ミセルを構成するリン脂質が β -カロテンの細胞への取り込みに大きく影響することを見出した。リゾホスファチジルコリンは取り込みを顕著に促進し、ホスファチジルコリンは抑制することを見出した（図-3）。同様な現象がマウスへの経口投与実験においても観察された。さらに、リン脂質の極性基やアシル基の鎖長によって、取り込みに対する影響が大きく異なることを見出している。その作用機構には、リン脂質の界面化学的性質、 β -カロテンとミセルの親和性、リン脂質の細胞内代謝が関与していることが示唆された。

【成果の活用面・留意点】

野菜・果実に含まれる脂溶性栄養・機能成分の消化・吸収性過程において、脂質成分が重要な働きをしていることが示された。特異な効果を示す脂質成分を活用することによって、栄養・機能成分の消化・吸収を調節する技術の開発が期待される。In vitro消化試験は、食品に含まれる脂溶性栄養・機能成分の消化性の推定に利用することができる。

[具体的データ]

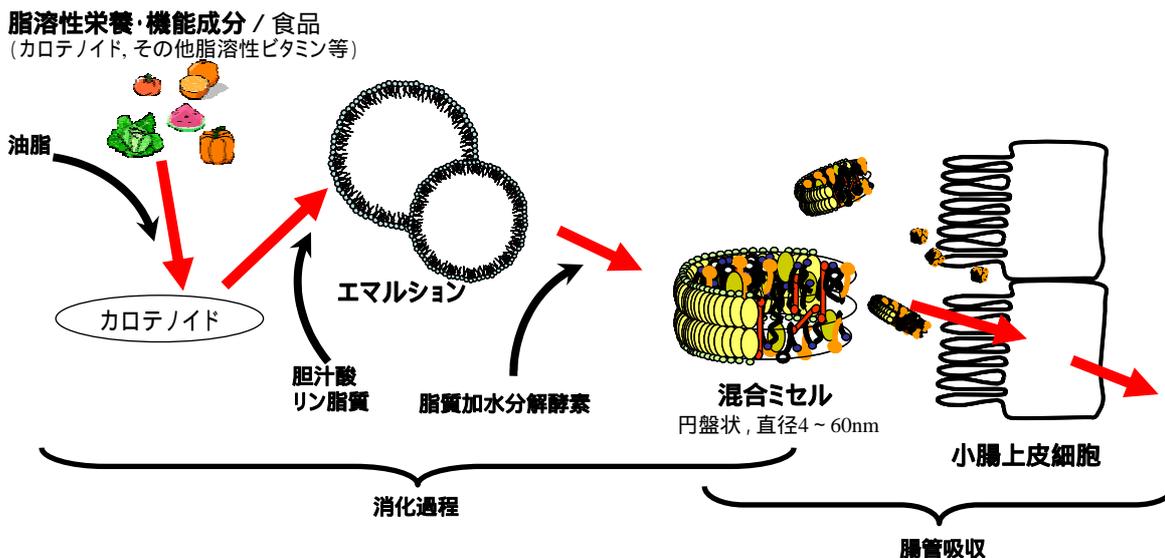


図1 食品に含まれる脂溶性栄養・機能成分の消化・吸収の概念図

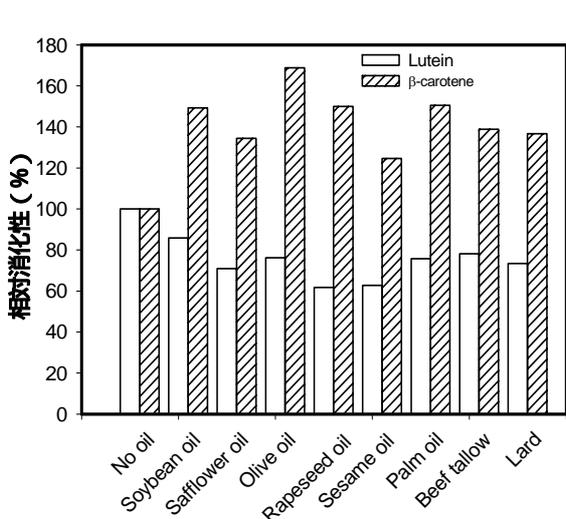


図2 ホウレン草カロテノイドの消化性を与える各種油脂の影響

相対消化性: 油脂無添加の場合の消化性を100%として計算した値

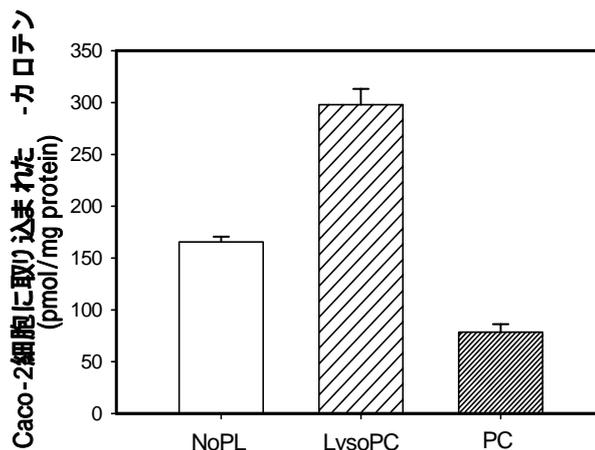


図3 混合ミセル可溶性 - カロテンのCaco-2細胞への取り込みに対するリン脂質の影響

NoPL, リン脂質を含まないミセル; LysoPC, リゾホスファチジルコリン含有ミセル; PC, ホスファチジルコリン含有ミセル

[その他]

研究課題名: 脂溶性栄養機能成分の生体利用性に関わる分子集合体構造の解明 (ナノテクノロジー)、食品成分による脂溶性栄養機能成分の腸管吸収調節に関する研究 (科研費)

予算区分: 農水省ナノテクノロジープロジェクト、科研費

研究期間: 2002~2005年度 (2005年度)

研究担当者: 長尾昭彦

発表論文等:

- 1) V. Baskaran *et al.*, Phospholipids affect the intestinal absorption of carotenoids in mice. *Lipids*, **38**(7), 705-711 (2003)

【成果情報名】 原子間力顕微鏡を応用した新規な抗原抗体反応測定システムの構築

【要 約】 原子間力顕微鏡技術を応用し、抗原を固定した基板と抗体を固定した探針との間に働く微弱な力を、物理吸着等の非特異的な力と区別して明確に検出する手法を確立した。本手法は、アレルゲン等の食品中に含まれる微量成分を迅速検出するための基礎技術となり得る。

【部 署】 食品総合研究所・食品工学部・計測工学研究室

【連絡先】 計測工学研究室 029-838-8054

【成果区分】 参考

【キーワード】 原子間力顕微鏡 (AFM)、抗原抗体、アレルゲン

【背景・ねらい】

ピコニュートン (pN) レベルの非常に微弱な力計測が可能な原子間力顕微鏡 (AFM) 技術を応用した、生体分子間相互作用の有無を迅速に検出する新規技術の構築をめざしている。本技術が実用化されれば、1～数分子のタンパク質間相互作用計測の実現による生命科学や基礎医学への貢献に加え、食品中のアレルゲンや細菌等の危険因子の検出、糖鎖やペプチドの機能解析等への応用の可能性も大きく、食品産業における応用が期待できる。

【成果の内容・特徴】

1. 金被覆 AFM 探針上にアルカンチオールを介して活性(抗原への結合能)を損なうことなく抗体(抗フェリチン抗体)を固定する技術、マイカ基板をナノレベルの平滑を保ったまま、APTES (3-aminopropyltrimethoxysilane)により修飾し、その基板の上にタンパク質試料(抗原:フェリチン; 参照試料:BSA、アビジン)を固定する技術を確立した。
2. AFMにより探針と基板の間に働く吸着力を計測し、抗体と抗原間の相互作用力計測を行った。また、測定溶液条件を検討し、生理緩衝液(PBS)の場合には非特異的吸着が大きく、抗原と参照試料の間に違いを検出することが困難であるが、測定溶液中への界面活性剤及びタンパク質加水分解物の添加により、探針と基板間の非特異的吸着が大幅に減少することを見出した。
3. 上記に加えて、探針の移動速度を制御することにより、従来の手法では困難であった抗原と抗体の間の特異的相互作用力を、物理吸着等の非特異的な相互作用力と明確に区別して検出することに成功した(図1、図2)。この結果に基づき、抗原抗体反応の検出方法に関する特許出願を行った。
4. 将来的に、複数の探針を持つアレイ化プローブを使用して、基板の上に配列した複数の試料に対して抗原抗体反応の検出を行うことを想定し、タンパク質を基板の上に複数の微小スポットとしてパターン化して固定する方法の検討を行い、マイクロコンタクトプリント(μ CP)法により、10～20 μ mのタンパク質スポットを50 μ m間隔で配置したタンパク質アレイを作製した(図3)。

【成果の活用面・留意点】

現在、本技術のアレルゲン検知への適用をめざして、卵アレルギーの主要アレルゲンであるオボムコイドを試料としたモデル実験に着手しており、その後、食品由来の実試料への展開を想定している。本技術が完成すれば、新しい原理に基づくアレルゲン検査装置やアレルゲンチップ等への展開の可能性も考えられる。

[具体的データ]

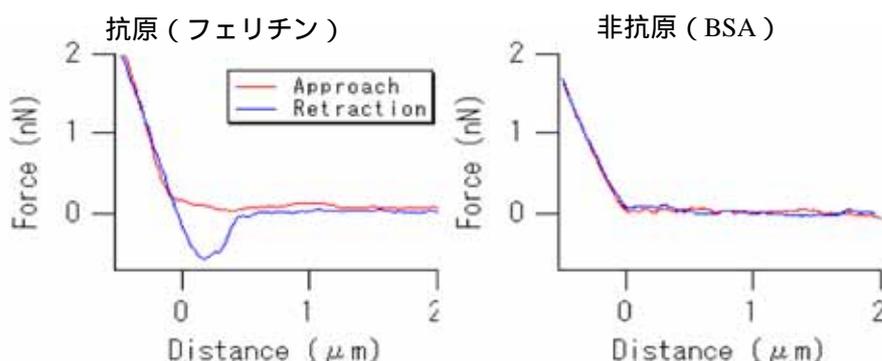


図 1 AFM による抗原抗体相互作用の検出
抗原固定探針と抗体固定基板の間には、抗原抗体反応に由来する吸着力（左図下向きのピーク）が観察されるが、非抗原固定基板との間には観察されない。

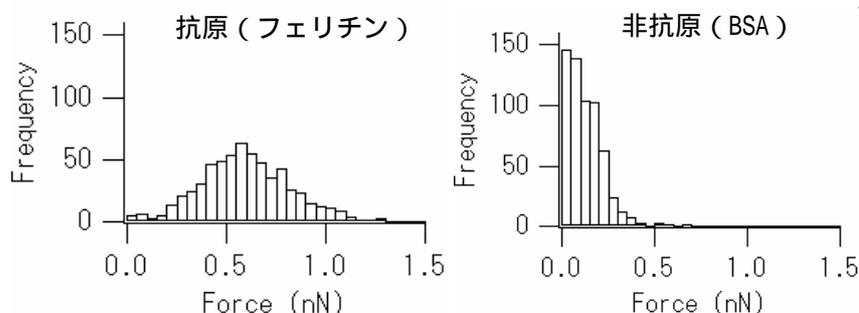


図 2 AFM により計測された抗原抗体間の相互作用力のヒストグラム
抗原に対しては、抗体固定探針との間に約 0.6nN を分布のピークとする相互作用力が計測されたが、非抗原との間の相互作用力は弱く、ピークも観察されない。

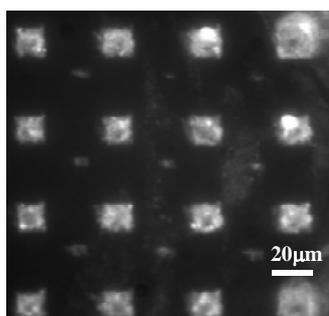


図 3 μCP によるタンパク質アレイの作製
APTES 修飾マイカ基板に μCP 法によりフェリチン（蛍光標識）を転写し、タンパク質アレイを作製した。図の白い部分にタンパク質が固定されている。パターンは約 15 μm 角の方形、間隔は 50 μm である。

[その他]

研究課題名：液中用プローブの評価およびバイオチップシステム評価実験

予算区分：NEDO 基盤技術

研究期間：2003～2006 年度

研究担当者：杉山滋、若山純一、小堀俊郎、大谷敏郎

発表論文等：

- 1) 若山純一、赤沼哲史、関口博史、大谷敏郎、杉山滋：原子間力顕微鏡による抗体抗原反応測定のための新しい方法、ブレインテクノニュース、No.133、26～31 (2006)
- 2) 杉山滋、若山純一、関口博史、佐宗めぐみ、大谷敏郎：抗原抗体反応の検出方法と抗原抗体反応検出用キット、特願 2005-336594(2005 年 11 月 22 日)

【成果情報名】 極微弱発光を利用した油脂の酸化安定性の評価法の開発

【要 約】 酸化安定性の非常に高い油脂（焙煎ゴマ油等）の加熱劣化時の自発極微弱発光量変化に基づく熱酸化安定性の迅速な評価法を開発した。本法による焙煎ゴマ油の計測では、従来の CDM 試験（電気伝導度変化）の約 1/4 の時間で評価できる。

【部 署】 食品総合研究所・食品工学部・計測工学研究室

【連絡先】 計測工学研究室 029-838-8054、shoji@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 極微弱発光計測、焙煎ゴマ油、熱酸化安定性、AOM 試験、CDM 試験

【背景・ねらい】

「焙煎ゴマ油」はセサモールなどのリグナン類の影響で非常に高い酸化安定性を示す。一般的に油脂の熱酸化安定性の評価には、97.8 劣化時に過氧化物価（POV）が 100 に達するまでの時間（AOM 試験）や、120 劣化時に生成する揮発性分解物を水中に捕集し水の電気伝導度が急激に変化する時間（CDM 試験）が用いられている。大豆油などの食用油はほぼ 1 日以内で AOM 試験により評価できるにもかかわらず、焙煎ゴマ油の評価には 7 ~ 10 日を要しており、簡便かつ迅速な酸化安定性評価法の開発が望まれている。本課題では、油脂から生じる極微弱発光現象を検討し、劣化中の発光量変化により迅速に熱酸化安定性を評価できることを明らかにした。

【成果の内容・特徴】

1. 焙煎ゴマ油を 120 で熱劣化させた試料を常温で自発極微弱発光計測および品質分析を行ったところ、発光量は初期劣化時に減衰し一定時間後急激に増加すること、POV の増加は初期は少ないが一定時間後急激に増加する（図 1）。
2. 初期劣化時の発光量の減少は焙煎ゴマ油中に含まれるリグナン類のセサモリン、セサモール等が影響する（図 2）。すなわち、セサモリンが熱分解によりセサモールに変化し、油脂に対する抗酸化性の高いセサモールとなり、油脂の抗酸化のためセサモールは酸化する。
3. 油脂抗酸化成分のセサモールは、極微弱発光量を発光量を増加させる物質の一つであることをモデル実験により確認した。
4. 加熱劣化時の発光量変化を連続的に計測するため図 3 に示す酸化安定性評価システムを作製した。劣化促進は 100 通気で行い、発光量変化を経時的に計測した。さらに劣化処理後の排気を純水に捕集しその電気伝導度変化も同時に計測した。
5. 本システムにより焙煎ゴマ油の劣化時の発光量変化および電気伝導度変化を計測したところ、発光量は約 4 時間、電気伝導度変化では 18 時間にそれぞれ変曲点が確認でき、発光計測は所要時間が約 1/4 の迅速な評価法である（図 4）。

【成果の活用面・留意点】

本評価法は焙煎ゴマ油だけでなく、他の食用油および抗酸化剤の評価にも応用可能である。多数の検体の評価を迅速に行うには、発光計測装置の多検体処理の対応が必要である。

[具体的データ]

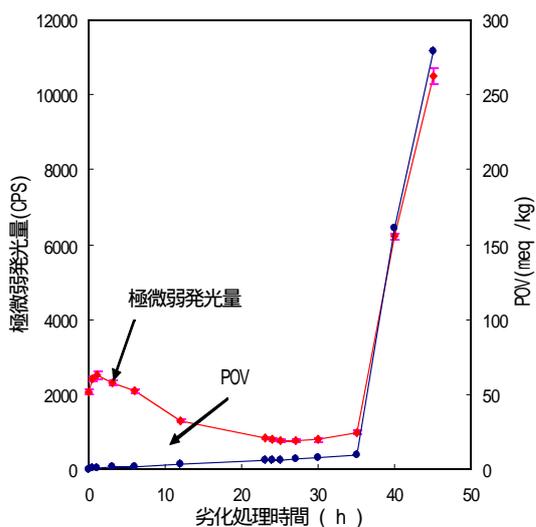


図 1 油脂劣化時の極微弱発光と品質の関係

焙煎ゴマ油を120 で劣化させ、発光は常温で評価
劣化初期に発光量は減少する

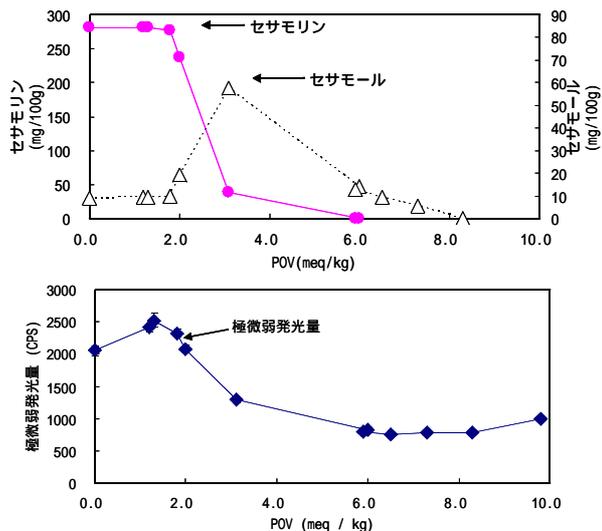


図 2 焙煎ゴマ油劣化時の抗酸化成分（セサモリン、セサモール）の変化

セサモリンはセサモールに変化し、セサモールは油脂の抗酸化に利用される

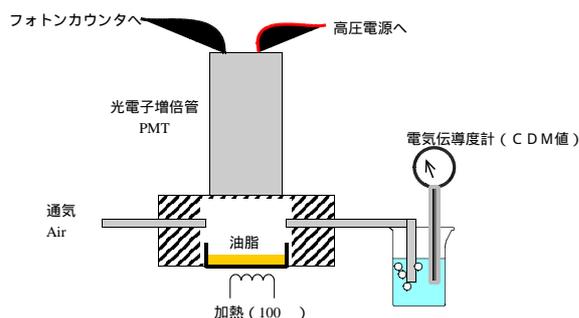


図 3 酸化安定性計測システムの模式図

劣化加速試験中の発光量変化とCDM試験を同時計測可能、発光量の変曲点を明瞭に判別

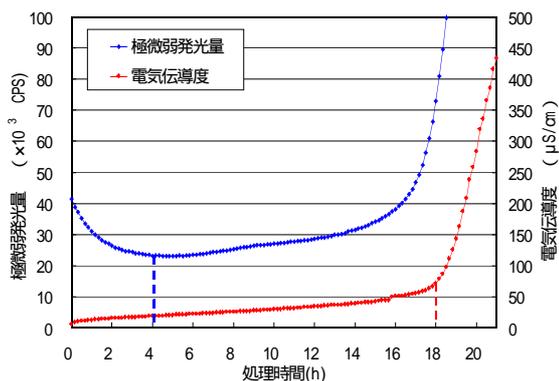


図 4 連続計測システムによる焙煎ゴマ油の発光計測と電気伝導度の変化

劣化条件（油脂 1 g、温度100、通気500ml/min）
発光量4時間、電導度率18時間に変曲点を確認

[その他]

研究課題名：ゴマ機能性二次代謝産物リグナン類のプロフィール解析および最適加工・調理法の開発（食品総合） 新規酸化安定性評価法の開発（経常）

予算区分：委託・バイテク先端技術（食品総合） 経常

研究期間：食品総合：2004～2005年度（2005年度） 経常：2003～2005年度（2005年度）

研究担当者：蘆原昌司、大谷敏郎

発表論文等：

- 1) 蘆原昌司他 5 名：焙煎ゴマ油の焙煎温度及び品質変化が極微弱発光現象に及ぼす影響、日本食品科学工学会誌、50 (7)、303-309 (2003)

【成果情報名】 サワーブレッドに特異的に検出されるペプチド

【要 約】 乳酸菌と酵母の共発酵により製造され、酸味を有するサワーブレッドであるパネトーネのパン生地に、特異的に検出されるペプチドが存在することを見いだした。そのペプチドは、小麦低分子量グルテニンのC末端近傍から切り出された Val-Pro-Phe-Gly-Val-Gly で、アンジオテンシンⅠ変換酵素阻害ペプチドと部分的に類似していた。

【部 署】 食品総合研究所・応用微生物部・酵母研究室

【連絡先】 酵母研究室 029-838-8066

【成果区分】 参考

【キーワード】 サワーブレッド、ペプチド、乳酸菌、パン酵母

【背景・ねらい】

パン類は、我が国の食生活においても重要な位置を占める発酵加工食品である。サワーブレッドにはドウ乳酸菌と呼ばれる乳酸菌群が高い割合で存在している。主なドウ乳酸菌は *Lactobacillus* 属に分類され、生理活性ペプチド等の機能性成分の生産・変換能を有している可能性がある。そこで、本研究では、サワーブレッドの製造過程において、ドウ乳酸菌とパン酵母の機能により生成する特異的なペプチドの同定を行った。

【成果の内容・特徴】

1. 凍結乾燥したサワーブレッド生地から、水による抽出及び限外ろ過による分画により、ペプチド画分を取得した。サワーブレッドのペプチド画分を逆相クロマトグラフィーにより解析したところ、発酵種を添加していないコントロールと比較して、SDP1-4 と名付けた特異的な4つのピークが観察された(図1)。
2. 特異的なピークのうち、SDP1 と名付けたピークに含まれるペプチドを LC-MS/MS により分析したところ、Val-Pro-Phe-Gly-Val-Gly の構造を有するペプチドであることが推定された。
3. SDP1 の配列を基にデータベース検索を行ったところ、SDP1 は小麦の低分子量グルテニンのC末端近傍から派生したペプチドであることが推定された(図2)。
4. 機能性ペプチドとの相同性解析を行ったところ、SDP1 は血圧上昇防止効果が知られているアンジオテンシンⅠ変換酵素阻害ペプチドと部分的に類似していることが示唆された(表1)。

【成果の活用面・留意点】

本研究で得られた成果は、サワーブレッドの機能性を示唆する知見であるが、今後、同定したサワーブレッド特異的なペプチドの生理機能に関する解析を進める必要がある。

[具体的データ]

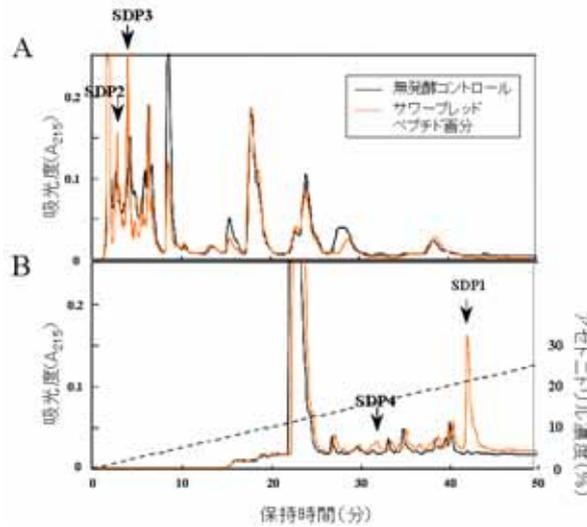


図1 サワー生地より調製したペプチド画分の逆相クロマトグラフィーによる分離
 0.01g 生地相当の水抽出サンプルを逆相 HPLC で分離した。
 A: 0.05%TFA/H₂O で分離 B: 0.05%TFA を含む Acetonitrile を 0%から 25%の
 グラジエントで分離した。サワーブレッドで増加するピークを矢印で示した。

1 MKTFLV FALLAVVATSAIAQMETSCIPGLERPWQQQLQKETFPPQPPS
 51 SQQQQPFPQQPPFLQQQPSFSQQPLFSQKQQPVLPQQPAFSQQQQTIVLPQ
 101 QPAFSQQQHQQLLQQQIPIVHPSILQQLNPKVFLQQQCSVPAMPQHLAR
 151 SQMWQQSSCNVMQQCCQQLPRIPEQSRYEAIRAIIFSIILQEQQQGFVQ
 201 PQQQQPQQSVQGVYQPQQQSQQQLGQCSFQQPQQQLGQQPQQQQVQKGT
 251 LQPHQIARLEVMTSIALRTLPTMCSVNVPLYSSSTTSVPFGVGTQVGAY

図2 小麦低分子量グルテニンのアミノ酸配列と推定される SDP1 の位置
 推定される SDP1 の位置を赤文字で示した。

表1 SDP1 とアンジオテンシン I 関連ペプチドとの構造比較

アミノ酸配列	機能	由来
DRVYIHPFHL	アンジオテンシン	アンジオテンシノーゲン
IVY	アンジオテンシン 変換酵素阻害ペプチド	大豆タンパク質
SVY	アンジオテンシン 変換酵素阻害ペプチド	大豆タンパク質
VPP	アンジオテンシン 変換酵素阻害ペプチド	牛乳カゼイン
FVAPFPEVFGK	アンジオテンシン 変換酵素阻害ペプチド	牛乳カゼイン
VPFGVG	機能未知	小麦グルテニン

[その他]

研究課題名：パン類の製造・流過程におけるドウ乳酸菌の生産する機能性成分の挙動解明

予算区分：農水省食品の安全性及び機能性に関する総合研究

研究期間：2004～2005年度（2005年度）

研究担当者：島純、安藤聡、中村敏英

発表論文等：

【成果情報名】 変性LDL受容体はオリゴマーを形成して機能する

【要 約】 変性LDL（悪玉コレステロール）受容体(LOX-1)は、分子間S-S結合によるダイマーを基本単位として存在しているが、酸化LDLの認識には受容体濃度に依存したオリゴマー化が必須である。またLOX-1は、ビオチン化受容体としての認識能の再構築が可能である。

【部 署】 食品総合研究所・応用微生物部・生物変換研究室

【連絡先】 研究室名 029-838-8061

【成果区分】 参考

【キーワード】 受容体機能制御、認識能の活用、酸化 LDL 受容体、ビオチン化受容体、受容体チップ

【背景・ねらい】

受容体は、特異的かつ高感度に様々な分子を認識することから、その分子認識能の評価技術への利用、評価用素材としての活用が期待されるが、機能制御、安定性、安定供給などに問題があり活用に至っていない。食品産業における活用のためには、安定性の向上、機能制御などを可能にする基盤技術の開発に直結する受容体分子の機能発現制御機構に関する知見の蓄積が求められている。そのために必要な機能発現機構を明らかにすると同時に、機能の再構築を可能にする技術開発を推進する。

【成果の内容・特徴】

1. 変性LDL受容体(LOX-1)は、分子間S-S結合によるダイマーを基本単位としているが、細胞における存在形態を解析すると、LOX-1はオリゴマーを形成することによりリガンド(変性LDL)認識能を発現する(図1、2)。
2. 蛍光タンパク質(CFP)との融合タンパク質として発現させたLOX-1(CFP/LOX-1)の発現量と蛍光(DiD)標識したリガンド(DiD-AcLDL)の取り込み量を、各々の蛍光強度により定量化した(図3)。LOX-1発現量が閾値以下の細胞集団(緑の集団)では、リガンドの取り込みが観察されず、閾値以上の細胞集団においてLOX-1発現量に依存した取り込みが観察され(青の集団)、LOX-1の機能発現に必須のオリゴマー化は、受容体の密度に依存して生じる。
3. 1、2から再構築LOX-1の認識能の活用において、受容体の高密度集積が重要である。
4. LOX-1のリガンド認識に必須な領域は、N末端ビオチン化受容体として大腸菌を宿主として簡単に大量調製することが可能であり、調製されたビオチン化受容体はストレプトアビジンを介して、基板に方向性を維持した状態で固定化される。固定化された再構築LOX-1とリガンドとの相互作用を測定した所、リガンド濃度に依存した結合(図4.縦軸のRU値が結合量を示す)を示し、再構築LOX-1は、特異的認識能を維持していた。

【成果の活用面・留意点】

既に特許出願などを完了している受容体認識能の再構築を進展させ、受容体チップとしての活用を目指した研究への展開が可能である。チップ化においては、認識能の向上、安定化は極めて重要な課題であるが、LOX-1が生体内ではオリゴマーとして機能しているという知見は、再構築受容体の改変に積極的に活かすべき情報である。

[具体的データ]

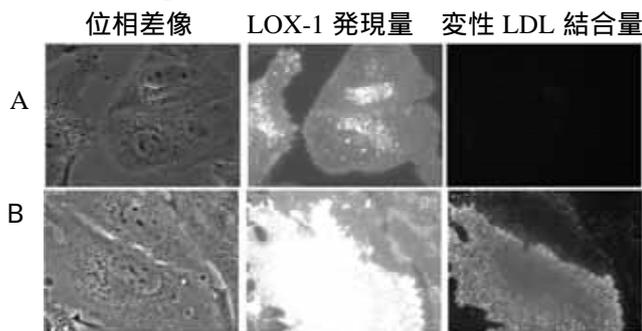


図 1 LOX-1 発現量が一定の値に達しないグループ A においては、変性 LDL の結合が観察されない。

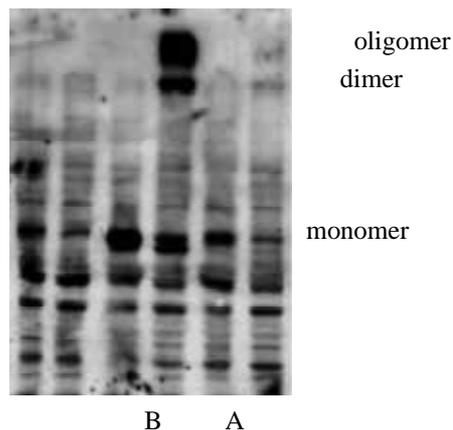


図 2 変性 LDL の結合能が検出されるレベルの細胞において相当量のオリゴマーが検出される。

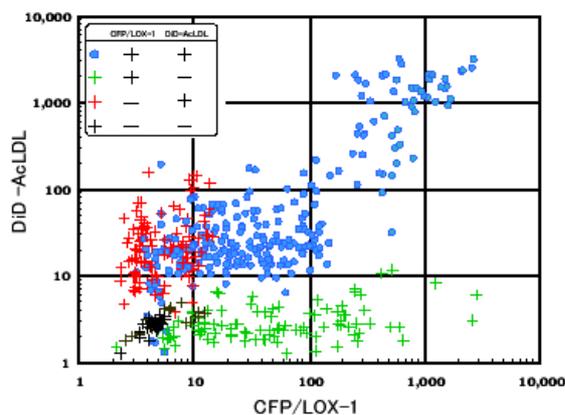


図 3 . 蛍光タンパク質融合 LOX-1(CFP/LOX-1)の発現量と蛍光標識リガンド(DiDAcLDL)の取り込み量の相関図。発現量が閾値以上の細胞集団 (青) においてのみ、発現量に応じた取り込みが観察され、閾値以下の集団 (緑) では取り込みが観察されない。

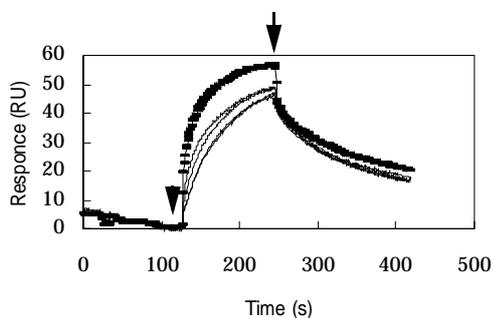


図 4 . 固定化 LOX-1 とリガンドとの相互作用。120 秒 ▼ で AcLDL を添加、250 秒 ▼ で洗浄を開始。AcLDL の結合に伴う RU 値の上昇と解離に伴う減少が観測される。

[その他]

研究課題名：スカベンジャー受容体会合体形成と機能発現機構の解析

予算区分：交付金「形態生理」、委託費「食品総合」

研究期間：2001～2005年度

研究担当者：町田幸子

発表論文等：

- 1) I. Ohki *et al.*, Crystal structure of human lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 ligand binding domain and its ligand recognition mode to OxLDL, *Structure*, **13**(4), 905-917 (2005)
- 2) Q. Xie *et al.*, Human Lectin-like Oxidized Low-density Lipoprotein Receptor-1 Functions As a Dimer in Living Cells. *DNA and Cell Biology*, **23**, 111-117 (2004)
- 3) Q. Xie *et al.*, Refolding and Characterization of Functional Ligand-binding Domain of Human Lectin-like Oxidized LDL Receptor. *Protein Expression and Purification*, **32**, 68-74 (2003)
- 4) S. Machida *et al.*, A Methods to produce a receptor chip using biotinylated protein, USA 10-651,563、2003年8月28日
- 5) 町田幸子他：ピオチン化タンパク質を用いる受容体チップおよびその作製方法、特願 2003-304624 (2003年8月28日)

【成果情報名】 オリゴ糖ライブラリーの調製と利用

【要 約】 糖質関連酵素の基質認識を解明することを目的としてオリゴ糖ライブラリー調製、ライブラリーを利用した糖質関連酵素の機能解析、および新規なライブラリー調製法の開発を行った。まず、 β 1,4 結合と β 1,3 結合が混在したヘテログルコオリゴ三～五糖完全ライブラリーを構築した。機能解析では、グルコ/キシロオリゴ糖ライブラリーを用いて見いだした新規酵素である還元末端特異性エキソオリゴキシラナーゼ(REX)の構造解析を行い、反応特性を示す構造基盤を明らかにした。調製法の開発では、四種類の GH10 キシラナーゼを α -キシロピオシルフルオリドをドナーとしキシロオリゴ糖をアクセプターとした合成反応を触媒するグライコシターゼに変換した。

【部 署】 食品総合研究所・生物機能開発部・酵素機能研究室

【連絡先】 酵素機能研究室 029-838-8071

【成果区分】 参考

【キーワード】 キシラナーゼ、糖鎖合成、グライコシターゼ

【背景・ねらい】

酵素反応の高い基質特異性は、酵素が基質を特異的に認識・結合して反応を行うことにより得られる。特に糖質関連酵素は基質中に多数存在する水酸基の内の一部あるいは全部が対応するアミノ酸残基と相互作用することにより基質認識を行っている。これらの基質認識は、酵素の基質特異性情報と X 線結晶解析の結果を参照することにより、明確に理解することが可能である。しかしながらオリゴ糖並びに多糖に作用する酵素に関しては、天然に得られるオリゴ糖の種類が極めて限られることから、詳細な基質認識情報を得る方法が難しかった。本研究では基本骨格からわずかに異なる構造を持つオリゴ糖を個々に調製することによりオリゴ糖ライブラリーを構築し、それらに対する酵素の作用を網羅的に調べることにより基質認識の基質側の情報を詳細に得ることを目的とする。

【成果の内容・特徴】

1. セロデキストリンホスホリラーゼおよびラミナリピオースホスホリラーゼを用いることにより、1,4 結合と 1,3 結合が混在したヘテログルコオリゴ糖の三～五糖の完全ライブラリーを構築した(図 1)。
2. グルコ-キシロオリゴ糖ライブラリーにより特性の解明された還元末端キシロース遊離エキソキシラナーゼ(REX)の構造を解析し、還元末端特異性機構を与える構造基盤を解明した(図 2)。
3. 糖加水分解酵素ファミリー 10 に属する四種類のキシラナーゼをグライコシターゼに変換した。得られた変異酵素は α -キシロピオシルフルオリド(X_2F)をドナーとし、キシロオリゴ糖をアクセプターとした合成反応を触媒した。 X_2F のみを基質としたときはキシロースが 1,4 結合したホモポリマーを生成した(図 3)。アクセプター特異性は酵素により異なり重合度 2 以上のキシロオリゴ糖に作用する酵素(図 4: 酵素 1, 4)と重合度 3 以上でないとは作用しない酵素(図 4: 酵素 2, 3)に分類された。

【成果の活用面・留意点】

本研究で作成したオリゴ糖ライブラリーは生理活性研究に転用することが可能である。ライブラリーの中から生理活性の高い特定のオリゴ糖を見いだすことができれば大量調製も可能である。

[具体的データ]

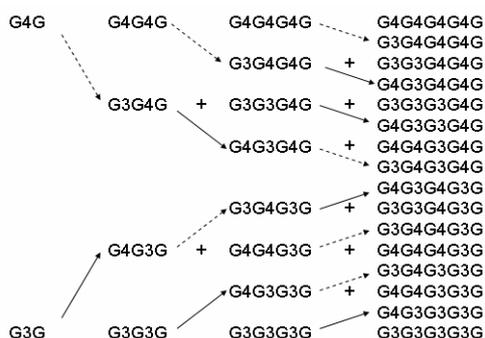


図 1 . 1,4 結合と 1,3 結合が混在したヘテロ
グルコオリゴ糖の合成

実線 : セロデキストリンホスホリラーゼ

破線 : ラミナリビオースホスホリラーゼ

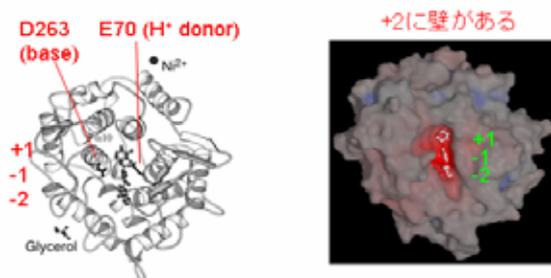


図 2 . 還元末端キシロース遊離エキソキシラ
ナーゼ(REX)の立体構造

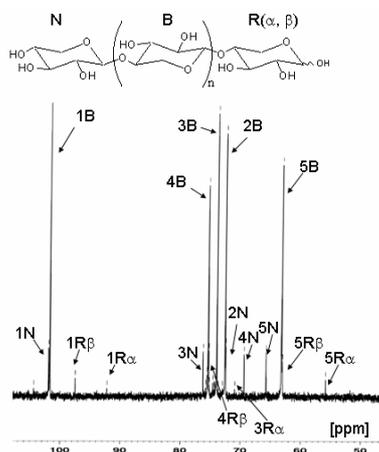


図 3 . GH10 グライコシターゼにより生成
したポリマーの ¹³C-NMR スペクトル

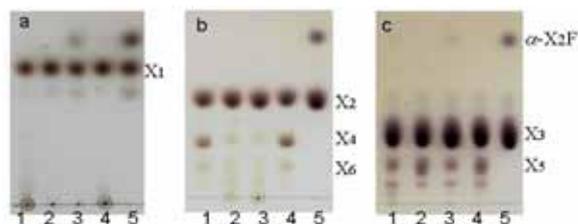


図 4 . アクセプター存在下での 4 種の GH10 グ
ライコシターゼの反応

a, X₁; b, X₂; c, X₃

1, *Thermotoga maritima* XynB

2, *Clostridium thermocellum* XynB

3, *Bacillus halodurans* XynA

4, *Cellulomonas fimi* Cex

[その他]

研究課題名 : オリゴ糖ライブラリーを活用した酵素-糖質の分子間相互作用機構の解明

予 算 区 分 : 運営交付金プロジェクト・形態生理

研究 期 間 : 2004 ~ 2005 年度 (2005 年度)

研究担当者 : 北岡本光

発表論文等 :

- 1) M. Sugimura *et al.*, Characterization of glycosynthase mutants derived from glycoside hydrolase family 10 xylanases, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (2006) (in press)
- 2) S. Fushinobu *et al.*, Structural basis for the specificity of the reducing-end-xylose releasing exo-oligoxylanase from *Bacillus halodurans* C-125, *J. Biol. Chem.*, **280** (17), 17180-17186 (2005)

【成果情報名】 アレルゲンタンパク質含有量の低いトマト育種への *rin* 遺伝子の利用

【要 約】 成熟制御遺伝子 *LeMADS-RIN* 遺伝子の *rin* 変異をヘテロに持つトマトは生食に適した成熟を示しながら優れた高日持ち性を示す。このトマトはトマトアレルゲンとして知られるβ-fructofuranosidase 及び PG-2A の発現が少なく、その抽出液は正常型と比較してトマトアレルギー患者血清に対する反応性が低下していた。従って *rin* 変異遺伝子は低アレルゲントマトの育種において有望な素材と言える。

【部 署】 食品総合研究所・生物機能開発部・細胞機能研究室

【連絡先】 029-838-8050 yasuito@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 トマト、アレルゲンタンパク質、*rin* 変異遺伝子、高日持ち性

【背景・ねらい】

日持ち性を改善する目的でカゴメ（株）において育種された *rin* 変異遺伝子をヘテロに持つトマトは生食に適した成熟を示しながら優れた高日持ち性を示す（図1）。このトマトの特性を解析をする過程で、トマトアレルギーの原因タンパク質となる遺伝子の転写量が減少していることを見出した。一般にトマトアレルギーの症状として、患者が生果実を食したときに口腔周辺部にかゆみや刺激感等が生じる（Oral allergy syndrome; OAS）ことが知られている。そこで *RIN/rin* ヘテロ型トマトにおいてアレルゲンタンパク質の蓄積が低下していることを実証し、低アレルゲントマト育種における *rin* 変異遺伝子の利用の可能性を調査する。

【成果の内容・特徴】

1. *RIN/rin* ヘテロ型トマトのマイクロアレイ解析によりトマトアレルゲンタンパク質として知られるβ-fructofuranosidase 及び PG-2A の mRNA 転写量が低下していることを見出した。この結果についてはリアルタイムPCR法で再現性を確認した（図2）。
2. 両タンパク質について果実成熟過程における蓄積量を検討した結果、両タンパク質ともヘテロ型トマトにおいて蓄積量が大きく減少していることが明らかとなった（図3）。
3. 正常型及びヘテロ型トマトから抽出したタンパク質のIgE反応性を、患者血清を用いてウェスタンブロット法により調べたところ、正常型トマトにおいて反応するタンパク質のうち、ヘテロ型トマトではβ-fructofuranosidase と思われるバンド以外にもいくつかのバンドについてシグナルが弱くなったり、消失したりするものがあった（図4）。
4. 以上の結果より、*RIN* 遺伝子はアレルゲンとなるタンパク質の発現に関与しており、*rin* 変異遺伝子の利用によりその発現が低下することが示された。従って低アレルゲントマトの育種においては、本遺伝子の利用、例えばここで示した *RIN/rin* ヘテロ型トマトが利用できる可能性がある。

【成果の活用面・留意点】

正常型のトマトに比べると、IgE 反応性を示すタンパク質の量は明白に減少しているが、完全に消失するわけではないので、ヘテロ型果実を実際に患者が食べられるのかどうかは、十分その反応性を医学的に検討していく必要がある。

[具体的データ]

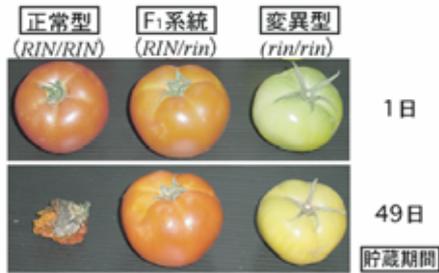


図1 トマト果実におけるrin変異遺伝子の影響
 正常型果実は収穫して49日後には劣化し萎びているが、F1系統果実は変異型果実と同様に、外観を維持していた。

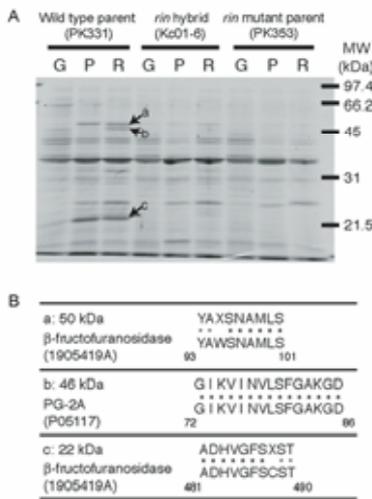


図3 トマト果実のタンパク質蓄積における変異rin遺伝子の影響
 A. トマト粗抽出タンパク質のSDS-PAGE解析
 正常型のPとRステージで検出された50 kDa(a)と22 kDa(c)のバンドはF1系統果実ではごくわずかに検出されなかった。正常型のRステージで検出された46 kDaのバンド(b)もF1系統果実ではごくわずかに検出されなかった。
 B. 既知のタンパク質配列とのN末端アミノ酸配列の比較
 上記Aでa, b, cと示された3つのバンドのN末端アミノ酸配列を決定した。各タンパク質名の下にDDBJ Accession Numberを記した。
 *は一致したアミノ酸を表す。

[その他]

研究課題名：低アレルギートマトの開発に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2004～2005年度（2005年度）

研究担当者：伊藤康博、森山達哉（近畿大学） 北川麻美子（カゴメ（株））

発表論文等：

- 1) M. Kitagawa *et al.*, Characterization of tomato fruit ripening and analysis of gene expression in F₁ hybrid of the ripening inhibitor (*rin*) mutant. *Physiologia Plantarum*, **123**(3), 331-338 (2005)
- 2) M. Kitagawa *et al.*, Reduction of allergenic proteins by the effect of the ripening inhibitor (*rin*) mutant gene in F₁ hybrid of the *rin* mutant tomato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (2006) (in press)

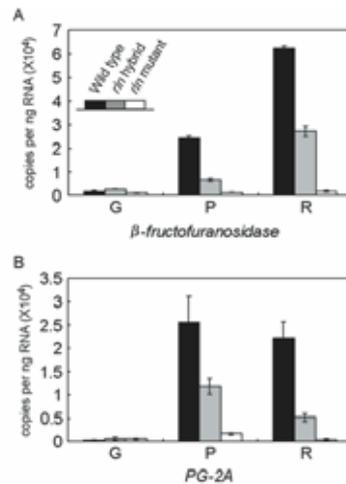


図2. β-fructofuranosidase及びPG-2AのmRNAの定量

A β-fructofuranosidase 遺伝子の発現量
 正常型とF₁系統果実では果実の成熟に伴い発現量は増加したが、F₁系統のRステージにおける発現量は正常型の半分以下であった。
 B PG-2A 遺伝子の発現量
 正常型とF₁系統果実ではPステージで一気に増加し、Rステージでやや減少したが、Pステージにおける発現量は正常型の半分以下であった。

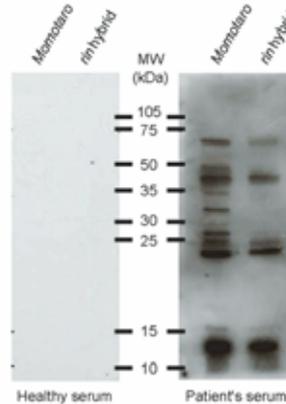


図4 トマトアレルギー患者血清を用いた完熟果実のイムノブロット解析

F₁系統果実のIgE反応性は桃太郎（正常型）と比べ明らかに低下していた。正常型果実で反応性を示したおよそ50 kDaのバンドがF₁系統果実でははっきりと消えていた(▲)。その他のバンドも薄くなったりなくなったりした(△)。

【成果情報名】 米中の全窒素は、燃焼法によって再現性良く定量できる

【要 約】 燃焼法(改良デュマ法)による米の全窒素測定のための16試験室による室間共同試験を行い、室間再現標準偏差(S_R)は0.10~0.19%、室間再現相対標準偏差(RSD_R)は1.03~3.03%、HorRatは0.39~0.75の結果が得られ、燃焼法は米の全窒素定量法として十分な測定精度と再現性を持つ測定法であることが示された。燃焼法とケルダール法の測定値は各試料でほぼ一致し、試験室間の変動は燃焼法よりもケルダール法の方が小さかった。

【部 署】 食品総合研究所・分析科学部・分析研究室

【連絡先】 分析研究室 029-838-8059 horita@affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 燃焼法、全窒素、ケルダール法、室間共同試験

【背景・ねらい】

食品の全窒素測定法として広く使われているケルダール分解法は、分析操作に濃硫酸や濃アルカリを使用、設備としてドラフトが必要、銅含有廃液が出る、測定に最低3時間を要する、などの短所がある。その代替法である燃焼法による全窒素測定は、通常の実験室内に設置した装置により数分間で測定でき、AOAC インターナショナルの小麦や肉類の公定分析法となっている。そこで、燃焼法による全窒素測定を食品の公定分析法として日本でも普及・採用されることを目的に、AOAC インターナショナルの「穀類」の公定法では取り上げられていない米を試料として室間共同試験を実施し、燃焼法がケルダール分析法と同等の測定精度や再現性を有していることを確認する。

【成果の内容・特徴】

1. 均質性を統計的に確認した6点の米粉砕試料を、明示反復で2回、非明示反復で1回、試料の測定方法などを記したプロトコール[同じ機器で測定。同一バッチの標準物質で校正。試料は100mg以上使う。3点繰返して測定し、室内再現性試験は3回、異なる日に行う(明示反復の場合)。1回のみ測定(非明示反復の場合)。]を添付して16試験室に配付した。試験室間共同試験のHarmonized protocolに基づき、回収した全窒素測定値を、Cochran検定、Grubbs検定により外れ値を棄却後、統計解析し、併行標準偏差(S_r ; repeatability)や室間再現標準偏差(S_R ; reproducibility)、RSD_R、HorRatなどを算出した。なお、Youdenペア(測定対象物質の含量の差が5%以内の試料対)の S_r は反復試料と別の計算式で求めた。
2. 燃焼法の3回の室間共同試験で得られた、検定で棄却済のデータによる解析値の含量範囲は、 S_r が0.02~0.06%、 S_R が0.10~0.19%、RSD_Rが1.03~3.03%、HorRatは0.39~0.75であった(表1)。これらの結果は燃焼法が米の全窒素定量法としても十分な測定精度と再現性を有する妥当な測定法であることを示していた。
3. 室間再現精度(S_R の2乗、分析誤差)の由来を、試験室間、試験室内(日間変動)及びその他の試験室内(日内変動)の誤差に分けると、その80%以上が試験室間によるものであった。
4. 燃焼法とケルダール法による全窒素測定値を比較すると、各試料の測定平均値は±1%以内になり、試験室間の変動は燃焼法よりもケルダール法の方が小さかった。
5. ある試験室のz-scoreは、試料が異なっても相関が高く、ほぼ同じ値となった(図1、2)。例示以外の試料・試験室でも同じ傾向であり、これは、各試験室の測定値には一定の偏りがあることを示していた(図2)。

【成果の活用面・留意点】

1. 食品中の全窒素成分(粗たんぱく質)の公定分析法の一つとして燃焼法(改良デュマ法)を採用するための資料として活用される。

2. 現時点で、燃焼法(改良デュマ法)は参考法として全窒素測定に使用できる。

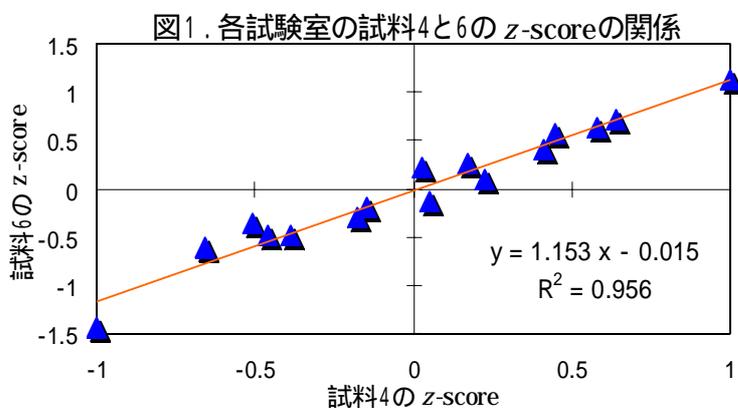
[具体的データ]

表1. 一回目の室間共同試験の燃焼法の結果概要

試料番号	棄却済データ						棄却なし
	1	2	3	4	5	6	
外れ値棄却後の試験室数	13	12	15	15	14	0	
解析測定値数	117	108	135	135	126	144	
窒素含有平均値 (%)	0.98 ~ 1.41						0.98 ~ 1.40
S _r (たんぱく質換算, %)	0.024 ~ 0.053						0.040 ~ 0.068
併行相対標準偏差(RSD _r , %)	0.32 ~ 0.91						0.62 ~ 1.13
S _R (たんぱく質換算, %)	0.113 ~ 0.186						0.144 ~ 0.187
RSD _R (%)	1.73 ~ 2.56						2.21 ~ 2.62
経験的な RSD _R (PRSD _R , %)*	3.80 ~ 4.01						3.80 ~ 4.01
HorRat (RSD _R / PRSD _R)	0.44 ~ 0.66						0.56 ~ 0.66

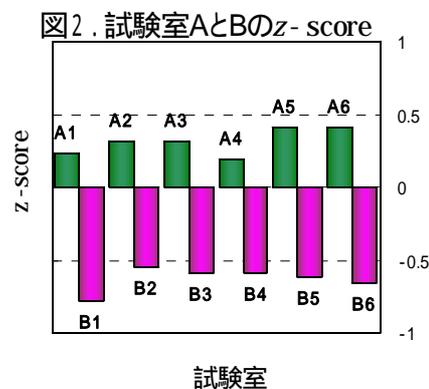
試料番号2と3はYoudenペアとして計算

* ; $0.02\bar{X}^{-0.1505}$ [\bar{X} ; 解析測定値の窒素含有平均値、Horwitz predicted RSD_R]



$$z\text{-score} = (M - \bar{X}) / 0.02\bar{X}^{0.8495}$$

(M ; ある試験室の測定平均値、 \bar{X} ; 表1と同じ)



A(B)1 ~ 6; A(B)試験室の
試料 1 ~ 6 の略

[その他]

研究課題名: 食品中の全窒素測定法の標準化に関する研究

予算区分: 経常

研究期間: 2003 ~ 2005 年度 (2005 年度)

研究担当者: 堀田博、法邑雄司

発表論文等:

- 1) 堀田博、燃焼法による玄米中の全窒素測定の室間共同試験、分析化学、印刷中

【成果情報名】 農産物の還元糖/アスパラギン比率と加熱後のアクリルアミド生成量の制限要因について

【要 約】 農産物中の還元糖とアスパラギンは強い加熱条件によってアクリルアミドを生成するが、これら2つの成分のアクリルアミド生成への寄与が拮抗する比率が存在する。この比率を境にアクリルアミド生成量の制限要因が切り替わるため、低減には農産物中の成分変動範囲を考慮した対策が必要である。

【部 署】 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室

【連絡先】 研究室名 029-838-7148、URL: <http://aa.iacfc.affrc.go.jp/>

【成果区分】 参考

【キーワード】 アクリルアミド、バレイショ、ポテトチップ

【背景・ねらい】

加熱加工食品中に見いだされるアクリルアミドは、主にアスパラギンが還元糖などのカルボニル化合物と反応して生成している。食品の加熱中に起こる反応では、アスパラギンと還元糖のいずれか一方の成分が不足することで生成するアクリルアミド量が制限を受けていると考えられる。そこで、成分変動がアクリルアミド生成量に大きな影響を与えることが知られているバレイショをモデルとして検討を進め、農産物中の成分比率によっては、糖、アスパラギンのいずれもがアクリルアミド生成の制限要因となり得ることを明らかにした。

【成果の内容・特徴】

1. 貯蔵条件や品種の異なるバレイショについて、フライ加工前のアミノ酸含量、還元糖含量、ならびに加工後のアクリルアミド含量を分析した。アクリルアミド生成量と還元糖（フルクトース）量の両者をアスパラギンに対する物質比として規格化してプロットすると（図1）、両者の反応率が共に最大となる領域が変曲点として見いだされた。
2. このときの最大反応率はアスパラギンが約2%、フルクトースが約1%であり、両者の比([Fru]/[Asn])は約2であった。

【成果の活用面・留意点】

1. 低温貯蔵による極端な糖含量の増加によりアミノ酸がアクリルアミド生成の制限要因になったイモは著しい焦げ色を生じ、通常のチップ加工に用いられることはない。
2. 加工用原料、家庭内調理で消費されるバレイショでは、通常の成分変動の範囲は変曲点の左の領域であり、実質的に糖含量がアクリルアミド生成の制限要因である。
3. バレイショ以外の農産物でも同様の成分とアクリルアミド生成量の関係が存在するとみられるが、具体的な反応率等は、加工条件や共存成分の影響によって変化する。
4. バレイショ以外の農産物では、成分変動の範囲が変曲点の左右どちらに分布しているかによって、加熱加工後のアクリルアミド生成量の制限要因がアスパラギンか還元糖のいずれかになることが示唆される。

[具体的データ]

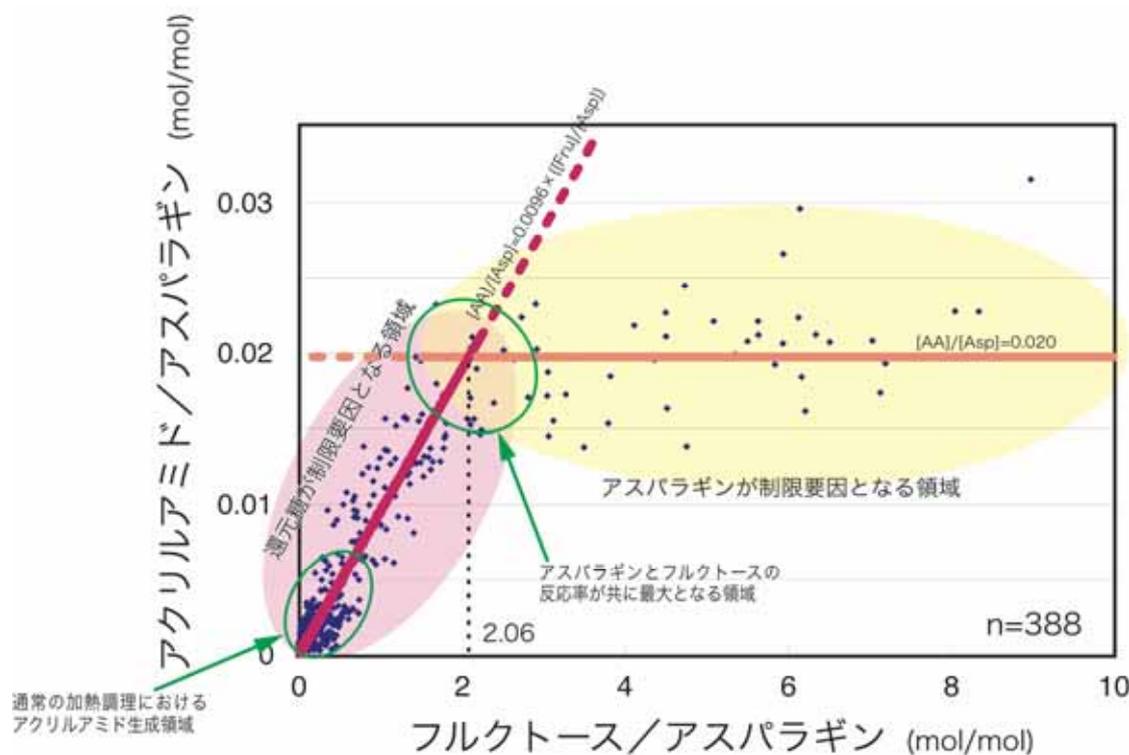


図1 還元糖（フルクトース）/アスパラギンの比率が異なる種々のバレイシヨのフライ加工後のアスパラギンのアクリルアミドへの変換率

[その他]

研究課題名：食品中のアクリルアミド分析法の開発

予算区分：食品総合

研究期間：2003～2005年度（2005年度）

研究担当者：小野裕嗣、箭田浩土、吉田充（食総研）/ 忠田吉弘（消技セ）/ 遠藤千絵、高田明子、森元幸（北農研）

発表論文等：

- 1) Y. Chuda *et al.*, Effect of physiological changes in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) after low temperature storage on the level of acrylamide formed in potato chips. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1188-1190 (2003)
- 2) A. Ohara-Takada *et al.*, Changes in content of sugars and free amino acids in potato tubers under short-term storage at low temperature and the effect on acrylamide level after frying. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1232-1238 (2005)
- 3) C. Matsuura-Endo *et al.*, Effect of the storage temperature on the contents of sugars and free amino acids in tubers from different potato cultivars and acrylamide in chips. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press)

- 【成果情報名】** NMR及び分子モデリングによるジベレリン模倣ペプチド-抗体間相互作用の解析
- 【要 約】** NMR 及び分子モデリングによると、ジベレリン模倣ペプチド-抗体間の相互作用が、ジベレリン-抗体間の相互作用と非常に類似している。これは、他の植物ホルモン等の疎水性化合物に対しても模倣ペプチドの作製が可能であることを示している。
- 【部 署】** 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室
- 【連絡先】** 状態分析研究室 029-838-8033 hemmi@affrc.go.jp
- 【成果区分】** 参考
- 【キーワード】** saturation transfer difference (STD)、NMR、分子間相互作用、ジベレリン模倣ペプチド、抗体、分子モデリング
-

【背景・ねらい】

これまで主にワクチンの開発のため、非ペプチド性リガントとして糖質を認識する抗体に対する模倣ペプチドについての報告がなされている。それ以外にはDNA、ビオチンそしてカビ毒のデオキシニバレノールの数種に対する模倣ペプチドが報告されている。しかしながら、疎水性化合物に対しては、これまで我々が知りうる限りその報告例はない。もし、疎水性リガントに対する模倣ペプチドが容易に得られるのであれば、それらは植物ホルモン等の各種有機化合物に対して高い結合能を有する抗体を作製するための有効な抗原として利用出来る可能性がある。最近、共同研究者らにより疎水性化合物である植物ホルモンのジベレリンを認識する抗体に対して、ジベレリンのミミックとして結合するペプチドの取得に成功した。しかし、オオムギ湖粉層プロトプラストを用いた β -アミラーゼ誘導などのアッセイ系においてジベレリンと類似の活性や抑制的效果は認められなかった。そこで、NMR及び分子モデリングにより、ジベレリン模倣ペプチドがジベレリンと同様に抗体と結合しているのかを検討した。

【成果の内容・特徴】

- 2次元NMR法により、溶液中でのジベレリン模倣ペプチドの立体構造を解析した。その結果、Leu3 - Ser6 (L3 - S6) の領域で β -ターン様構造をとることが分かった(図1)。さらに、ジベレリン模倣ペプチドに抗ジベレリン抗体を加えたサンプルを用いて、STD-NMR法によりジベレリン模倣ペプチドの抗体との相互作用部位の検出を行った。その結果、 β -ターン様構造を形成するLeu3 - Trp5 (L3 - W5) の領域において強いシグナル強度を示し、Ser6 - Cys10 (S6 - C10) の領域においては弱いシグナル強度を示した(図1)。このことから、ジベレリン模倣ペプチドは主にLeu3-Trp5の領域で抗体と相互作用することが判明した。
- 今回、2次元NMR法により得られたジベレリン模倣ペプチドの立体構造とすでに報告されている抗ジベレリン抗体の結晶構造を用いて、分子モデリング法によりジベレリン模倣ペプチド-抗ジベレリン抗体の複合体モデルを作製した。この複合体モデルにおけるジベレリン模倣ペプチドの抗体との相互作用部位は、STD-NMR法による相互作用部位と一致した。この結果から、ジベレリン模倣ペプチドは、抗体と主に疎水的な相互作用により結合し、2本の分子間水素結合を形成することが推測された(図2赤点線)。
- 今回の結果より、ジベレリン模倣ペプチドと抗体との結合様式が、すでに結晶構造解析により報告されているジベレリンと抗体との結合様式と非常に類似していることが判明した。このことより、他の植物ホルモン等の疎水性リガントに対して高い結合能を持つ抗体を作製するための有効な抗原としての模倣ペプチドを作製することが可能である。

【成果の活用面・留意点】

今回の結果により、他の植物ホルモン等の疎水性化合物に対しても模倣ペプチドの作製が可能であることが判明したが、実際には疎水性の度合いが疎水性化合物に比べ模倣ペプチドでは十分でない場合が考えられるので検討が必要である。

【具体的データ】

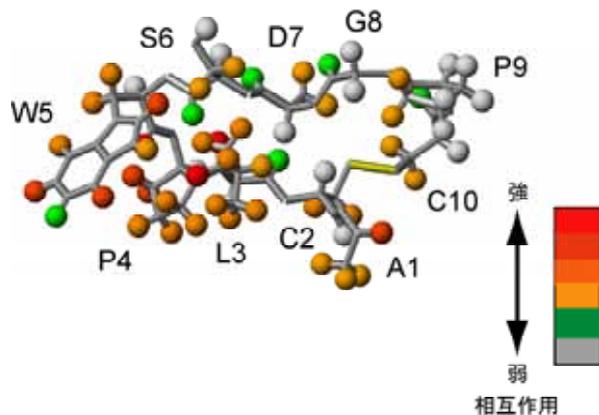


図1 ジベレリン模倣ペプチドの溶液中での立体構造及び STD-NMR 法による各プロトンシグナルのシグナル強度。

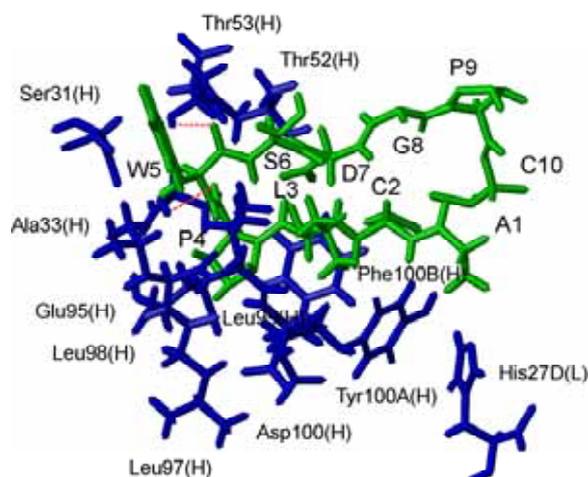


図2 分子モデリング法によるジベレリン模倣ペプチド(緑色) - 抗ジベレリン抗体(青色)複合体モデルにおける分子間相互作用領域の分子モデル。分子間水素結合は赤い点線で図示。

【その他】

研究課題名：核磁気共鳴（NMR）法による有用タンパク質の構造解析及び機能との相関の解明

予算区分：経常

研究期間：2003～2005年度（2005年度）

研究担当者：逸見光、村田貴志、中村周吾（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物情報工学研究室）、清水謙多郎（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物情報工学研究室）、鈴木義人（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物制御化学研究室）、山口五十磨（東京大学大学院農学生命科学研究科・生物制御化学研究室）

発表論文等：

- 1) T. Murata *et al.*, Structure, epitope mapping, and docking simulation of a gibberellin mimic peptide as a peptidyl mimotope for a hydrophobic ligand, *the FEBS Journal (European Journal of Biochemistry)* **272**(19), 4938-4948(2005)

[成果情報名] タンパク質含量にフィチン、カルシウム含量を加えた豆腐加工適性評価

[要 約] 豆腐破断応力は、低カルシウム含量の大豆ではフィチン含量と高い負の相関を示し、カルシウム含量が高くなるとタンパク質含量との相関が高くなる。タンパク質にフィチン、カルシウム2成分の含量を考慮することで、豆腐加工適性評価がより正確に出来る。

[キーワード] ダイズ、豆腐、タンパク質、フィチン、カルシウム、破断応力

[担 当] 農研機構・作物研究所・畑作物研究部・畑作物品質制御研究室

[連絡先] 電話(029)838-8960、電子メール nics-seika@naro.affrc.go.jp

[区 分] 作物・夏畑作物, 食品

[分 類] 科学・参考

[背景・ねらい]

国産大豆は、同一品種でも栽培地や栽培年次で品質が変動し、豆腐の加工適性が安定しないことが問題となっている。よって、豆腐加工適性の高い国産大豆が求められる一方、簡易かつ統一的な豆腐の加工適性評価法の確立が必要とされている。加工適性の中でも特に問題となっているのが豆腐の破断応力（堅さ）であり、これに影響を及ぼす成分、特に非タンパク質成分に関する解明が求められている。そこで本研究では、主要な豆腐用国産大豆品種3品種（フクユタカ、エンレイ、サチユタカ）を用いて、タンパク質含量に加えてフィチン、カルシウム含量と豆腐破断応力との関係について明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. フィチン含量やカルシウム含量はタンパク質含量より品種内での変動が大きく、同一品種における豆腐破断応力の産地や年次変動の要因となる。また、「サチユタカ」のカルシウム含量は、他の2品種に比べて有意に低く、(表1) 全て低含量(10mg/dl 以上 21 mg/dl 以下) に分布する。
2. フィチン含量と豆腐破断応力との相関は、低カルシウム含量の大豆では高く($r=-0.68$, 0.1%水準で有意)、高カルシウム含量の大豆では低くなる($r=-0.08$, 有意性なし, 図1)。高カルシウム含量の場合に両者の相関が低くなる理由として、豆乳の凝固に対する緩衝作用として働くフィチンにカルシウムが結合してその作用を弱めることが考えられる。
3. 種子タンパク質含量と豆腐破断応力との相関は、フィチンの影響が大きい低カルシウム含量の大豆では低い($r=-0.24$, 有意性なし)が、高カルシウム含量の大豆では高くなる(図2、 $r=0.69$, 0.1%水準で有意)。
4. 大豆3品種を、カルシウム含量が低い「サチユタカ」、カルシウム含量が高い「フクユタカ」と「エンレイ」に分類すると、豆腐破断応力に対するタンパク質・フィチン含量の重相関は同程度に高くなる(表2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 大豆をカルシウム含量の高低で分類した上でタンパク質、フィチン含量を考慮することにより、タンパク質含量のみの従来の方法より高い精度で豆腐加工適性を評価できる。
2. 本研究では生絞り法で調製した豆乳を用い、塩化マグネシウム(6水和物)0.25%を凝固剤として使用して豆腐を作製している。
3. 本研究では、農業・生物系特定産業技術研究機構の各研究センターおよび府県の農業試験研究機関から入手した2001年度から2004年度産大豆種子を試料に用いている。

[具体的データ]

表1. タンパク質・フィチン・カルシウム3成分の含量の品種ごとの平均と変動

		フクユタカ (n=15)	エンレイ (n=21)	サチユタカ (n=25)
種子タンパク質含量 (%)	平均	45.2	44.6	46.4
	標準偏差	1.4	1.4	1.1
	変動 (%)	3.2	3.1	2.3
豆乳フィチン含量 (mM)	平均	3.2	3.5	3.5
	標準偏差	0.5	0.3	0.6
	変動 (%)	15.2	9.3	16.3
豆乳カルシウム含量 (mg/dl)	平均	22.3 ^a		16.2 ^b
	標準偏差	3.9	3.1	2.7
	変動 (%)	17.5	14.6	16.8

異なるアルファベットは平均が5%水準で異なることを示す。

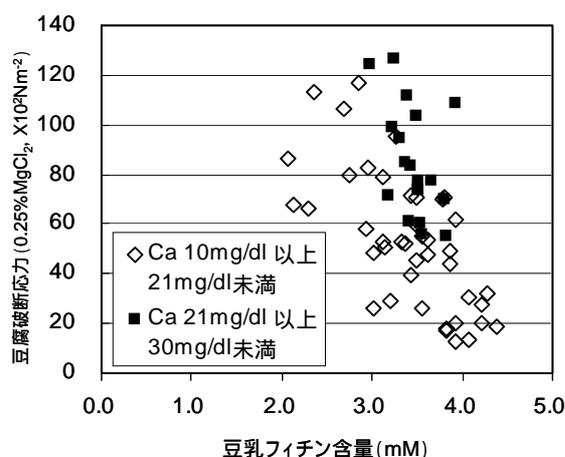


図1. フクユタカ、エンレイ、サチユタカ3品種におけるフィチン含量と豆腐破断応力との相関。

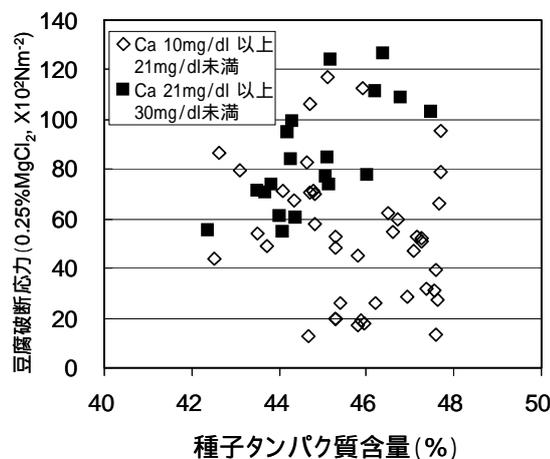


図2. タンパク質含量と豆腐破断応力との相関。

表2. 各成分と豆腐破断応力(0.25%塩化マグネシウム)との相関

		相関 ^a	重相関 ^b
3品種 (n=61)	種子タンパク質	0.16	0.52***
	フィチン	-0.52***	
サチユタカ (低カルシウム、n=25)	種子タンパク質	0.11	0.79***
	フィチン	-0.75***	
エンレイ+フクユタカ (高カルシウム、n=36)	種子タンパク質	0.51**	0.72***
	フィチン	-0.50**	

^a 各成分含量と豆腐破断応力との相関 ^b タンパク質及びフィチン含量と豆腐破断応力との重相関 **0.5%水準で有意 ***0.1%水準で有意。

[その他]

研究課題名: 豆腐加工適性に関与する子実非タンパク質成分の特性解明

課題ID: 08-02-04-01-05-05

予算区分: ブランドニッポン

研究期間: 2003~2005年度

研究担当者: 戸田恭子、中村善行

発表論文:

1) K. Toda et al., *Breeding Sci.* **53**, 217-223 (2003)

2) K. Toda et al., *J. Sci. Food Agric.* **86**, 212-219 (2006)

【成果情報名】 サツマイモ蒸切干の中白障害発生に関わる塊根のでん粉及び水分含量

【要約】 サツマイモ蒸切干塊根片の一部が白色不透明になり硬化する中白障害の原因は、でん粉の蓄積不足、ならびにでん粉の糊化不良である。「タマユタカ」では土壌の乾燥に伴う塊根水分の低下によるでん粉糊化不良が本障害の発生に深く関わっている。

【キーワード】 サツマイモ、蒸切干、中白障害、タマユタカ、水分、でん粉含量、でん粉糊化

【担当】 農研機構・作物研・畑作物研究部・畑作物品質制御研究室、甘しょ育種研究室

【代表連絡先】 電話 029-838-7849 電子メール nics-seika@affrc.go.jp

【区分】 関東東海北陸・流通加工、食品

【分類】 科学・参考

【背景・ねらい】

蒸切干イモの主産地の一つである茨城県では、原料用品種「タマユタカ」の栽培が盛んであるが、近年増大する安価な外国産輸入品に対抗するうえで加工品質の安定や向上が急務となっている。夏の気温が高く、降水量が少ない年に発生しやすい中白（「シロタ」などとも呼ばれる）は、蒸切干塊根片に白色不透明な硬い部分が生じる障害で、商品性喪失の主な原因となるため、その発生機構の解明と防止技術の開発が望まれている。そこで、品種や栽培条件の異なる塊根における障害発生を調査し、中白障害の発生要因を解明する。

【成果の内容・特徴】

1. 中白障害の発生は蒸煮直後の塊根組織に生じる白変によりこれを予測できる。この部分では細胞内外に空隙が多く、MRI(磁気共鳴イメージング)解析により水分含量の低下が認められる(図1)。
2. 塊根組織の中白発生部分では、でん粉の蓄積が不足した細胞やでん粉の糊化が不十分な細胞が観察されるが(図2)、「タマユタカ」では後者によるでん粉ゲルの保水性低下が本障害の発生に関与している。
3. 「タマユタカ」や高でん粉含量品種「ハイスターチ」はでん粉含量が低い品種(「沖縄100号」)に比べて中白障害が発生しやすい(表1)が、両者のでん粉糊化特性に顕著な差異はない。
4. 「タマユタカ」では、塊根肥大期に相当する9月から10月に土壌が過度に乾燥すると、塊根の水分含量の低下およびでん粉含量の増加を生じ、それに伴って障害の発生頻度が高まり、その程度も著しくなる(表2)。

【成果の活用面・留意点】

1. 「タマユタカ」における中白障害の発生を抑止するためには、塊根の水分低下を回避するような圃場管理や収穫調整が有効である。
2. 糊化不良による中白の発生は、加工段階において蒸煮温度や時間を変える等の対策を行うことによりある程度防止できる可能性がある。また、でん粉糊化温度が「タマユタカ」等の通常品種に比べて低い品種・系統の利用も中白発生抑止効果を期待できる。

[具体的なデータ]

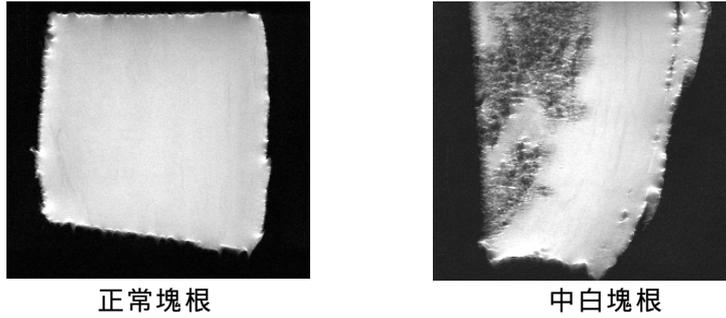


図1 蒸煮塊根の H¹-NMR イメージング画像 (品種:タマユタカ)
 黒い部分は周辺に比べて水分含量が低いことを示す。

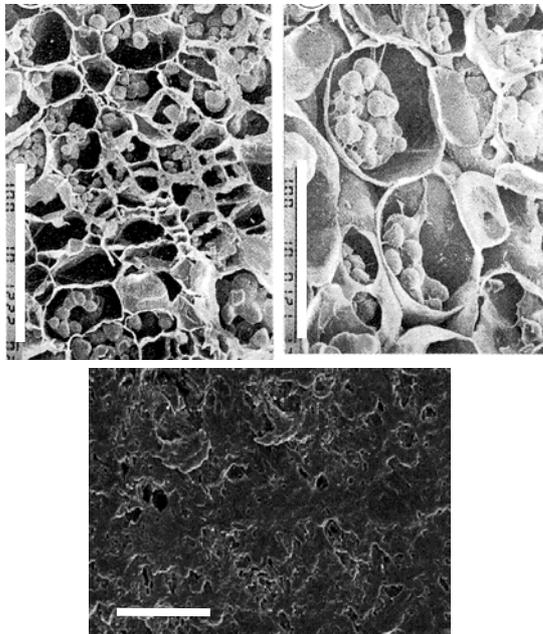


図2 塊根組織の中白部分(×500)および正常部分(×200)の電子顕微鏡画像 白い棒=100 μm
 左:でん粉蓄積の不足した中白発生生塊根組織 (ハイスターチ)
 右:でん粉糊化の不十分な中白発生生塊根組織 (タマユタカ)
 下:糊化でん粉ゲルの充満した蒸煮塊根正常部分 (タマユタカ)

表1 品種別の中白発生率 (発生塊根数 / 全塊根数)

収穫時期	沖縄100号		タマユタカ		ハイスターチ	
	04	05	04	05	04	05
8月前半	0/2	0/2	0/1	1/3	1/2	1/3
8月後半	1/3	1/3	1/3	2/3	3/3	2/4
9月前半	1/3	1/4	3/4	4/5	2/3	5/5
9月後半	2/3	2/5	2/3	3/5	1/3	5/5
10月前半	0/1	2/5	0/2	3/5	0/3	3/4
10月後半	0/2	2/4	0/2	3/4	0/2	4/5
総計	4/14	8/23	6/15	16/25	7/16	20/26
発生率*	29%(36%)	35%	40%(55%)	64%	44%(64%)	77%

*:()は8, 9月のデータに基づく値。10月は長雨で障害発生せず。

表2 タマユタカにおける中白発生に及ぼす土壌水分の影響

	乾燥区	慣行区	湿潤区
土壌水分 ^a (%)	58.5 ± 5.7*	65.7 ± 7.3	78.3 ± 8.5**
塊根水分(%)	56.1 ± 4.7*	63.3 ± 9.3	71.2 ± 6.9
でん粉含有率(%)	23.6 ± 2.6*	20.5 ± 2.1	21.4 ± 4.5
中白発生率 ^b	5 / 6	5 / 8	3 / 8
中白の程度 ^c	6	4	3

各区の塊根数は5~10個 2005年度

*, **は慣行区に対して各々5%, 1%水準で有意差あり。

a: 飽和水分量に対する相対値

b: 発生塊根数 / 全塊根数

c: 0 (無), 1 (発生率~10%), 2 (同~20%), 3 (同~33%), 4 (同~50%), 5 (同~70%), 6 (同~100%)。但し、障害部分の面積に応じて修正。塊根水分との相関係数 $r=0.62^{**}$ ($n=22$)

[その他]

研究課題名: 蒸切干し甘しょの高品質化による国際競争力強化に関する研究

課題 ID: 08-02-04-02-08-05

予算区分: 高度化事業

研究期間: 2003~2005年度

研究担当者: 中村善行、藏之内利和、中谷誠、石田信昭(食総研)、松田智明(茨城大)