

# 食品総合研究所研究報告

REPORT OF NATIONAL FOOD RESEARCH INSTITUTE

# 76

平成24年 3 月

March, 2012

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

## 食品総合研究所

NARO Food Research Institute (NFRI)

National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

# 食品総合研究所研究報告

第 76 号

平成 24 年 3 月

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

食品総合研究所

# 食品総合研究所研究報告

第 76 号

所長	林	清					
編集委員会							
委員長	矢部	希見子					
委員	矢野	裕之	稲	津	康	弘	
	八卷	幸	中	村	宣	貴	
	安藤		岡	本		晋	
	逸見	光					
事務局	田丸	政男					

REPORT OF NATIONAL FOOD RESEARCH INSTITUTE

No. 76

President and Director General

HAYASHI Kiyoshi

Editorial Board

Chairman YABE Kimiko

Members YANO Hiroyuki

INATSU Yasuhiro

YAMAKI Kohji

NAKAMURA Nobutaka

ANDO Akira

OKAMOTO Susumu

HEMMI Hikaru

Secretary TAMARU Masao

**NARO Food Research Institute (NFRI)**

National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

## 食品総合研究所報告（第76号）目次

### 報 文

- 澱粉の糊化と酵素処理が米蛋白質の溶解性に与える影響  
矢野 裕之, 竹内 正彦, 加藤 (江森) 澄恵, 我妻 義則,  
田口 計哉, 岡澤 由晃, 西澤 賢一, 黒田 秧……………1
- 苦味マスキング効果の定量的解析  
河合 崇行, 日下部 裕子……………9

### 研究ノート

- Effect of cooking procedure and roasting on the protein composition and *in vitro* digestibility of common bean proteins  
Michiko Momma, Keiko Sasaki, Kiyoshi Ohba, Seiichiro Isobe……………17
- Inulin Fructotransferase (DFA III-producing) From *Arthrobacter nicotinovorans* K-9  
Kazutomo Haraguchi……………23
- Comparison of antiproliferative effects of trichothecene mycotoxins, nivalenol and deoxynivalenol, in cultured cells  
Hitoshi Nagashima, Masayo Kushiro, Hiroyuki Nakagawa and Keiko Iwashita……………29
- 醤油粕の植物細胞壁分解酵素製剤及び糸状菌培養による減量効果  
服部 領太, 楠本 憲一, 鈴木 聡, 北本 則行, 柏木 豊……………33
- 蛋白質の溶液X線散乱測定における2次元データの評価  
渡邊 康, 猪子 洋二……………39
- ダイズ種子エポキシド加水分解酵素変異体の作出及びその性質検討  
荒平 正緒美, Benjamin Sailas, Sam-Pin Lee, Ngoc Minh Nghiem, Van Chi Phan, 深澤 親房……………45

### 技術報告

- 食用油の加熱によって生じる有害アルデヒド4-hydroxy-2E-nonenal  
およびその類縁化合物4-hydroxy-2E-hexenalの定量分析  
箭田 浩士, 亀山 眞由美……………51
- 食品害虫サイトの大幅改訂による訪問者のアクセス行動の変化  
曲山 幸生, 七里 与子, 宮ノ下 明大, 今村 太郎, 和田 有史, 増田 知尋……………59

### 国連大学生研究成果

- In Vitro Screening of Food Functionalities of Commonly Consumed Bangladeshi Vegetables and Rice  
Hossain Uddin Shekhar……………67
- Quality Control of Food Material Using Ultra-Grinding Method  
Ngamjit Lowithun……………69
- Practical Production of Oligosaccharides Employing Multiple-enzymes System  
Li Bingxue……………70
- CFD Analysis of Bubble Distribution in Non-Catalytic Reactor for Production of Biodiesel Fuel  
Dyah Wulandani……………71
- Research Study of Nutritional and Healthy Functional Components of Vegetables  
and Fermented Traditional Foods of Mongolia and Japan  
Dolgorsuren Bayarsaikhan……………72

## 抄 録

## 《食品機能研究領域》

生米における $\alpha$ グルコシダーゼとアミラーゼの層別分布 露久保美夏, 大倉 哲也, 馬橋 由佳, 香西みどり	73
異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与 馬橋 由佳, 三輪有紀枝, 大倉 哲也, 香西みどり	73
搗精度合いの異なる米における米内在性酵素の米飯成分への影響 馬橋 由佳, 矢吹 里美, 大倉 哲也, 香西みどり	73
Effect of Dietary Lipid Type on the Enhancement of Swimming Endurance of Mice by L-Lactic Acid Guihua Zhang, Nobuya Shirai, Hiramitsu Suzuki and Eiji Shimizu	74
Effect of Extruded Polished, Brown, and Germinated Brown Rice on the Behavior and Plasma Parameters of ICR Mice Nobuya Shirai, Hiramitsu Suzuki, Keitaro Suzuki and Ken'ichi Ohtsubo	74
A Comparative Study of the Effects of Erabu Sea Snake ( <i>Laticauda semifasciata</i> ) Lipids, Green Tea Extract and Conjugated Linoleic Acid on the Swimming Endurance of Mice Guihua Zhang, Nobuya Shirai, Tomoyuki Higuchi, Hiramitsu Suzuki, Eiji Shimizu	74
Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activities of Extracts from Commercial Chinese Style Fermented Soypaste Feng-Juan LI, Li-Jun YIN, Yong-Qiang CHENG, Masayoshi SAITO, Kohji YAMAKI and Li-Te LI	75
Purification and identification of 1-deoxynojirimycin (DNJ) in okara fermented by <i>Bacillus subtilis</i> B2 from Chinese traditional food (Meitaoza). Yun-Ping Zhu, Kohji Yamaki, Tadashi Yoshihashi, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Xiu-Ting Li, Yong-Qiang Cheng, Yutaka Mori and Li-Te Li	75
Effects of Drying Method on Physicochemical and Functional Properties of Soy Protein Isolates Xiao-Zhong Hu, Yong-Qiang Cheng, Jun-Feng Fan, Zhan-Hui Lu, Kohji Yamaki and Li-Te Li	75
Simple, Selective, and Rapid Quantification of 1-Deoxynojirimycin in Mulberry Leaf Products by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection Tadashi Yoshihashi, Huong Thi Thu Do, Patcharee Tungtrakul, Sumitra Boonbumrung, Kohji Yamaki	76
Soy protein and fish oil independently decrease serum lipid concentrations but interactively reduce hepatic enzymatic activity and gene expression involved in fatty acid synthesis in rats Yoko Takahashi	76
The Effect of Methanol Extracts of Tsao-ko ( <i>Amomum tsao-ko</i> Crevost et Lemaire) on Digestive Enzyme and Antioxidant Activity In Vitro, and Plasma Lipids and Glucose and Liver Lipids in Mice Longquan YU, Nobuya SHIRAI, Hiramitsu SUZUKI, Nozomi SUGANE, Tsuyoshi HOSONO, Yoshijiro NAKAJIMA, Masahiro KAJIWARA and Kazuhiro TAKATORI	76
凍り豆腐がラット肝臓でのコレステロール代謝に及ぼす影響 高橋 陽子	77
Estimated Average Daily Intake of Antioxidants from Typical Vegetables Consumed in Japan: A Preliminary Study Jun TAKEBAYASHI, Tomoyuki OKI, Jianbin CHEN, Maki SATO, Teruki MATSUMOTO, Kyoko TAKU, Megumi TSUBOTA-UTSUGI, Jun WATANABE, Yoshiko ISHIMI	77
An in Vitro Effect of Coffee on the Antigen-Specific Immune Responses of Naive Splenocytes Masao Goto, Yuko Takano-Ishikawa, Hiroshi Shinmoto	77
Effects of Fructo-Oligosaccharide on DSS-Induced Colitis Differ in Mice Fed Nonpurified and Purified Diets Haruka Goto, Naoki Takemura, Toru Ogasawara, Naho Sasajima, Jun Watanabe, Hiroyuki Ito, Tatsuya Morita, Kei Sonoyama	78

2,4-Dinitrofluorobenzene-Induced Contact Hypersensitivity Response in NC/Nga Mice Fed Fructo-Oligosaccharide Reiko FUJIWARA, Naho SASAJIMA, Naoki TAKEMURA, Keisuke OZAWA, Yuki NAGASAKA, Takuma OKUBO, Yuraporn SAHASAKUL, Jun WATANABE, Kei SONOYAMA .....	78
カフェインの抗原特異的免疫応答への影響のマウス脾臓細胞を用いた評価 後藤 真生, 石川 (高野) 祐子, 新本 洋士 .....	78
群馬県育成スモウメ品種 '紅の舞' の生体調節機能評価, 北爪 雅恵, 渡辺 純, 後藤 真生, 石川 (高野) 祐子 .....	79
抗酸化能測定法である H-ORAC 法の室間共同試験 渡辺 純, 沖 智之, 竹林 純, 山崎 光司, 津志田藤二郎 .....	79
Autophagy impairment stimulates PS1 expression and gamma-secretase activity Kazunori Ohta, Akihito Mizuno, Masashi Ueda, Shimo Li, Yoshihiro Suzuki, Yoko Hida, Yoshika Hayakawa-Yano, Masanori Itoh, Eri Ohta, Masuko Kobori, Toshiyuki Nakagawa .....	80
High-salt diet advances molecular circadian rhythms in mouse peripheral tissues Hideaki Oike, Kanji Nagai, Tatsunobu Fukushima, Norio Ishida, Masuko Kobori .....	80
Evaluation of anti-inflammatory and anti-allergic effects of food components using DNA microarray analysis Masuko Kobori, Kanji Nagai, Yumiko Takahashi, Hideaki Oike .....	80
Interactive effects of carbon footprint information and its accessibility on value and subjective qualities of food products Atsushi Kimura, Yuji Wada, Akiko Kamada, Tomohiro Masuda, Masako Okamoto, Sho-ichi Goto, Daisuke Tsuzuki, Dongsheng Cai, Takashi Oka, Ippeita Dan .....	81
Eating habits in childhood relate to preference for traditional diets among young Japanese Atsushi Kimura, Yuji Wada, Kentaro Ohshima, Yui Yamaguchi, Daisuke Tsuzuki, Takashi Oka, Ippeita Dan .....	81
Package images modulate flavor perception for orange juice Nanami Mizutani, Masako Okamoto, Yui Yamaguchi, Yuko Kusakabe, Ippeita Dan, Toshimasa Yamanaka .....	82
Process-specific prefrontal contributions to episodic encoding and retrieval of tastes: A functional NIRS study. Masako Okamoto, Yuji Wada, Yui Yamaguchi, Yasushi Kyutoku, Lester Clowney, Archana K. Singh, Ippeita Dan .....	82
Hardness perception in visual motion -An experimental investigation in penetration motion- Tomohiro Masuda, Atsushi Kimura, Sho-ichi Goto, Yuji Wada .....	83
Relationship between the rheological properties of thickener solutions and their velocity through the pharynx as measured by the ultrasonic pulse Doppler method Akiko TASHIRO, Atsuko HASEGAWA, Kaoru KOHYAMA, Hitomi KUMAGAI, Hitoshi KUMAGAI .....	83
Effect of non-starch polysaccharides on the in vitro digestibility and rheological properties of rice starch gel Tomoko SASAKI, and Kaoru KOHYAMA .....	83
Phenomenological viscoelasticity of some rice starch gels Navdeep Singh SODHI, Tomoko SASAKI, Zhan-Hui LU, Kaoru Kohyama .....	84
Sensory lexicon of brewed coffee for Japanese consumers, untrained coffee professionals and trained coffee tasters Fumiyo Hayakawa, Yukari Kazami, Hideto Wakayama, Rutsu Oboshi, Hiroyuki Tanaka, Gou Maeda, Chiaki Hoshino, Hidekazu Iwawaki, Tetsuo Miyabayashi .....	84
Fragmentation of a viscoelastic food by human mastication Naoki KOBATASHI, Kaoru KOHYAMA, Kouichi SHIOZAWA .....	85
Chain-length distribution profiles of amylopectin isolated from endosperm starch of waxy and low-amylose bread wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.) lines with common genetic background Takeshi YASUI, Kanae Ashida, and Tomoko SASAKI .....	85

ジャムのテクスチャー用語リストの作成 早川 文代, 長縄 省吾, 干野 隆芳, 風見由香利, 神山かおる	85
皮を加工したたくあんの力学および咀嚼特性解析 大山 高裕, 阿久津智美, 伊藤 和子, 渡邊 恒夫, 山崎 公位, 神山かおる	86
《食品安全研究領域》	
Identification of Irradiated Prawn ( <i>Penaeus monodon</i> ) Using Thermoluminescence and 2-Alkylcyclobutanone Analyses Susu Chen, Yuka Morita, Kimie Saito, Hiromi Kameya, Mitsutoshi Nakajima, Setsuko Todoriki	86
X線照射を用いた熱ルミネッセンス法による照射食品検知法の開発と単一試験室における妥当性確認 坂部 寛, 森 良 種, 齊藤希巳江, 等々力節子	86
射線照射によるニンニクの萌芽発根抑制効果 小林 泰彦, 菊地 正博, 等々力節子, 齊藤希巳江, 桂 洋子, 亀谷 宏美, 市川まりこ, 飯塚 友子, 千葉 悦子, 鶴飼 光子	87
Nuclear factor-kappaB inhibitors alleviate nivalenol-induced cytotoxicity in HL60 cells Hitoshi NAGASHIMA, Masayo KUSHIRO, Hiroyuki NAKAGAWA	87
Distribution of deoxynivalenol and nivalenol in milling fractions from <i>Fusarium</i> -infected Japanese wheat cultivars Manasikan THAMMAWONG, Mayuko OKABE, Tomomi KAWASAKI, Hiroyuki NAKAGAWA, Hitoshi NAGASHIMA, Hiroshi OKADOME, Takashi NAKAJIMA, AND Masayo KUSHIRO	87
Relaxation behavior and dose dependence of radiation induced radicals in irradiated mango Hiromi Kameya, Daisuke Kakita, Yoshihiko Kaimori, Masahiro Kikuchi, Yasuhiko Kobayashi, Mitsuko Ukai, Yuhei Shimoyama	88
Analysis of radicals of irradiated garlic Hiromi KAMEYA, Yoshihiko KAIMORI and Mitsuko UKAI	88
ESR によるグルコースポリマー中の照射誘導ラジカルの解析 亀谷 宏美, 中村 秀夫, 鶴飼 光子, 下山 雄平	88
放射線照射漢方薬 (エキス剤) の照射誘導ラジカルの緩和挙動 中村 秀夫, 高橋 司, 本多 由依, 貝森 良彦, 亀谷 宏美, 鶴飼 光子	89
照射ニンニクの ESR, PSL, TL による検知 亀谷 宏美, 齊藤希巳江, 菊地 正博, 小林 泰彦, 鶴飼 光子, 等々力節子	89
乳児用成型ミルクの ESR による分析 鶴飼 光子, 亀谷 宏美	89
殺菌処理された香辛料の成分変化の ESR による解析 亀谷 宏美, 鶴飼 光子	90
次亜塩素酸ナトリウムに繰り返し曝露した大腸菌 O157:H7 の塩素耐性への影響 稲津 康弘, Md. Latiful Bari, 北川 智子, 川崎 晋, Vijay K. Junera, 川本 伸一	90
Combined effect of low-dose irradiation and acidified sodium chlorite washing on <i>Escherichia coli</i> O157/H7 inoculated on mung bean seeds Daisuke Nei, Md. Latiful Bari, Yasuhiro Inatsu, Susumu Kawasaki, and Setsuko Todoriki, Shinichi Kawamoto	90
酸性化亜塩素酸水と次亜塩素酸ナトリウムによる大腸菌殺菌効果の比較 Rachel Ramos Elano, 北川 智子, Md. Latiful Bari, 川崎 晋, 川本 伸一, 稲津 康弘	91
Effectiveness of superheated steam and gas catalytic infrared heat treatments to inactivate <i>Salmonella</i> on raw almonds Md. Latiful Bari, Daisuke Nei, Itaru Sotome, Ikuo Nishina, Fumiyo Hayakawa, Seiichiro Isobe and Shinichi Kawamoto	91
多重リアルタイム PCR 法を用いた豚挽肉中でのサルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 の同時検出と定量について 川崎 晋, Pina M. Fratamico, 堀越菜穂子, 岡田 幸男, 竹下 和子, 鮫島 隆, 川本 伸一	91

サルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 の多重 PCR 検出キットの開発 川崎 晋, Pina M. Fratamico, 堀越菜穂子, 岡田 幸男, 竹下 和子, 鮫島 隆, 川本 伸一	92
Practical evaluation of mung bean seed pasteurization method in Japan Md. Latiful Bari, Katsuyoshi Enomoto, Daisuke Nei and Shinichi Kawamoto	92
Detection and identification of Wolbachia endosymbionts from laboratory stock of stored-product insect pests and their parasitoids Daisuke Kageyama, Satoko Narita, Taro Imamura, Akihiro Miyanoshta	92
スチール製倉庫内でのコクゾウムシの越冬実験－シェルターと水分の効果－ 今村 太郎, 宮ノ下明大, 松阪 守, 峯岸 利充, 石向 稔, 中北 宏	93
堅果類で発育するコクゾウムシ 宮ノ下明大, 小畑 弘己, 真邊 彩, 今村 太郎	93
《食品分析研究領域》 NMR characterization of acidic xylo-oligosaccharides containing two methylglucuronic acid residues from Japanese cedar and Hinoki cypress Tadashi ISHII, Tomoyuki KONISHI, Takashi YAMASAKI, Ayumi ENOMOTO, Mitsuru YOSHIDA, Ikuko MAEDA, Kazumasa SHIMIZU	93
Oryzamuraic acids H-J, new alkaloids from an <i>Oryza sativa</i> mutant with yellow endosperm Hiroshi NAKANO, Seiji KOSEMURA, Mitsuru YOSHIDA, Rika IWAURA, Toshisada SUZUKI, Ryota KAJI, Makoto SAKAI	94
熱分解型元素分析／同位体比質量分析計 (TCEA/IRMS) を用いた 有機物の水素・酸素安定同位体比の測定方法における留意点とその応用 鈴木彌生子, 佐藤 里恵	94
オオバギボウシ ( <i>Hosta sieboldiana</i> ) の新規ステロイドサポニン 箭田 浩士, 木村 俊之, 鈴木 雅博, 亀山 (大西) 眞由美, 新本 洋士	94
Six New Acylated Anthocyanins from Red Radish ( <i>Raphanus sativus</i> ) Satoru Tamura, Kouji Tsuji, Piao Yongzhen, Mayumi Ohnishi-Kameyama and Nobutoshi Murakami	95
1, 18-ヌクレオチド双頭型資質による多様な自己集合体：核酸塩基と相補的オリゴヌクレオチドの影響 岩浦 里愛, 飯澤 智彦, 南川 博之, 亀山眞由美, 清水 敏美	95
タラヨウの当年葉および古葉中のカフェ酸誘導体含量の季節変動 翠川 美穂, 亀山眞由美, 永田 忠博	95
Sampling variability and uncertainty in total diet studies Yoshiki Tsukakoshi	96
Evaluation of a Semipolar Solvent System as a Step toward Heteronuclear Multidimensional NMR-Based Metabolomics for <sup>13</sup> C-Labeled Bacteria, Plants, and Animals Yasuyo Sekiyama, Eisuke Chikayama and Jun Kikuchi	96
Mapping the {eta}-value and the test results on the hyper-Gutenberg-Richter relation for microseismicity around the Japanese Islands Yoshiki Tsukakoshi	96
Far-ultraviolet spectra of n-alkanes and branched alkanes in the liquid phase observed by an attenuated total reflectance-far ultraviolet spectrometer Shin Tachibana, Yusuke Morisawa, Akifumi Ikehata, Harumi Sato, Noboru Higashi, Yukihiro Ozaki	97
Applying near infrared spectroscopy to the detection of fruit fly eggs and larvae in intact fruit Sirinnapa Saranwong, Warunee Thanapase, Nattaporn Suttijitpukdee, Ronnarit Rittiron, Sumaporn Kasemsumran, Sumio Kawano	97

Factors affecting the accuracy of non-invasive blood glucose measurement by short-wavelength near infrared spectroscopy in the determination of the glycaemic index of foods Yasuhiro Uwadaira, Norihiko Adachi, Akifumi Ikehata, Sumio Kawano .....	97
Effect of cations on absorption bands of first electronic transition of liquid water Akifumi Ikehata, Motoki Mitsuoka, Yusuke Morisawa, Naomi Kariyama, Noboru Higashi, Yukihiko Ozaki .....	98
Tendency for interlaboratory precision in the GMO analysis method based on real-Time PCR Takashi Kodama, Yasunori Kurosawa, Kazumi Kitta, Shigehiro Naito .....	98
Possibilities of salinity stress as a variation factor of sodium content in rice Kumiko SHINDOH, Akemi YASUI .....	98
A novel detection system for the genetically modified canola ( <i>Brassica rapa</i> ) line RT73 Hiroshi AKIYAMA, Daiki MAKIYAMA, Kosuke NAKAMURA, Nobuhiro SASAKI, Yasutaka MINEGISHI, Junichi MANO, Kazumi KITTA, Yoshihiro OZEKI, Reiko TESHIMA .....	99
A novel L-isoleucine metabolism in <i>Bacillus thuringiensis</i> generating (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine, a potential insulinotropic and anti-obesity amino acid Jun OGAWA, Tomohiro KODERA, Sergey V. SMIRNOV, Makoto HIBI, Natalia N. SAMSONOVA, Ryoukichi KOYAMA, Hiroyuki YAMANAKA, Junichi MANO, Takashi KAWASHIMA, Kenzo YOKOZEKI, Sakayu SHIMIZU .....	99
Evaluation of quantitative PCR methods for genetically modified maize (MON863, NK603, TC1507 and T25) Reona TAKABATAKE, Satoshi FUTO, Yasutaka MINEGISHI, Masatoshi WATAI, Chihiro SAWADA, Kosuke NAKAMURA, Hiroshi AKIYAMA, Reiko TESHIMA, Satoshi FURUI, Akihiro HINO, Kazumi KITTA .....	100
Immunological characterization of polyclonal antisera prepared against recombinant rice RAG2 and its application in detection of 14-16 kDa $\alpha$ -amylase/trypsin inhibitors from processed foods Gang-hua LANG, Mika OHBA, Shinichi KAWAMOTO Koichi YOZA, Tatsuya MORIYAMA, Kazumi KITTA .....	100
Qualitative PCR method for Roundup Ready soybean: interlaboratory study Takashi KODAMA, Masaki KASAHARA, Yasutaka MINEGISHI, Satoshi FUTO, Chihiro SAWADA, Masatoshi WATAI, Hiroshi AKIYAMA, Reiko TESHIMA, Yasunori KUROSAWA, Satoshi FURUI, Akihiro HINO, Kazumi KITTA .....	101
Extracts from <i>Ralstonia Solanacearum</i> induce effective resistance to the pathogen in both <i>Arabidopsis</i> and solanaceous plants Reona TAKABATAKE, Takafumi MUKAIHARA .....	101
Analyses of the cis-regulatory regions responsible for the transcriptional activation of the N resistance gene by Tobacco mosaic virus Michie KOBAYASHI, Nobuaki ISHIHAMA, Hirofumi YOSHIOKA, Reona TAKABATAKE, Shinya TSUDA, Shigemi SEO, Yuko OHASHI, Ichiro MITSUHARA .....	102
Development of multiplex PCR method for simultaneous detection of four events of genetically modified maize: DAS-59122-7, MIR604, MON863 and MON88017 Taichi OGUCHI, Mari ONISHI, Junichi MANO, Hiroshi AKIYAMA, Reiko TESHIMA, Satoshi FUTO, Satoshi FURUI, Kazumi KITTA .....	102
Establishment and evaluation of event-specific quantitative PCR method for genetically modified soybean MON89788 Reona TAKABATAKE, Mari ONISHI, Tomohiro KOIWA, Satoshi FUTO, Yasutaka MINEGISHI, Hiroshi AKIYAMA, Reiko TESHIMA, Satoshi FURUI, Kazumi KITTA .....	103
Interlaboratory validation of an event-specific real time polymerase chain reaction detection method for genetically modified DAS59132 maize Hiroshi AKIYAMA, Kozue SAKATA, Frank Spigelhalter, Satoshi FURUI, Akie NAKASHIMA, Kazumi KITTA, Reiko TESHIMA .....	103

コンニャク製粉含有コメ粉からのコメDNA抽出精製法の検討 峰松 和彦, 中村 公亮, 穂山 浩, 張替 直樹, 中島 治, 橋田 和美, 手島 玲子, 飯塚 太由 .....	104
A novel chromogenic method for determining the genetically modified soybean content in soybean powder with primer extension Naoki HARIKAI, Hiroshi AKIYAMA, Kazunari KONDO, Kazumi KITTA, Reiko TESHIMA, Yuzo YOSHIDA .....	104
Evaluation of tomato DNA fragmentation and PCR amplicon size for detection of tomato DNA in processed products Kosuke NAKAMURA, Chihiro YAMADA, Hiroshi AKIYAMA, Reona TAKABATAKE, Mamiko KITAGAWA, Kazumi KITTA, Hiroshi KAWAKAMI, Reiko TESHIMA .....	104
《食品素材科学研究領域》 cis-trans Isomerization of carbon double bonds in monounsaturated triacylglycerols via generation of free radicals Wakako Tsuzuki .....	105
Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process Wakako Tsuzuki, Akiko Matsuoka, Kaori Ushida .....	105
DNA マーカーによる糯米検出法 岸根 雅宏, 奥西 智哉 .....	105
米粉パンの加工適性評価と宮崎県産米粉間の比較 高橋 克嘉, 奥西 智哉, 鈴木啓太郎, 柚木崎千鶴子 .....	106
Cellulase production on glucose-based media by the UV-irradiated mutants of <i>Trichoderma reesei</i> Masakazu Ike, Jeung-yil Park, Mine Tabuse, Ken Tokuyasu .....	106
Alkali-aided enzymatic viscosity reduction of sugar beet mash for novel bioethanol production process Sathaporn Srichuwong, Mitsuhiro Arakane, Maki Fujiwara, Zilian Zhang, Hiroyuki Takahashi, Ken Tokuyasu .....	106
A novel lime pretreatment for subsequent bioethanol production from rice straw-calcium capturing by carbonation (CaCCO) process Jeung-yil Park, Riki Shiroma, Muhammad Imran Al-Haq, Ying Zhang, Masakazu Ike, Yumiko Arai-Sanoh, Atsuhisa Ida, Motohiko Kondo, Ken Tokuyasu .....	107
Bioconversion of L-arabinose and other carbohydrates from plant cell walls to alpha-glucan by a soil bacterium, <i>Sporosarcina</i> sp. N52 Zilian Zhang, Sathaporn Srichuwong, Tooru, Kobayashi, Mitsuhiro Arakane, Jeung-yil Park, Ken Tokuyasu .....	107
RT-CaCCO process: An improved CaCCO process for rice straw by its incorporation with a step of lime pretreatment at room temperature Riki Shiroma, Jeung-yil Park, Muhammad Imran AL-HAQ, Mitsuhiro Arakane, Masakazu Ike, Ken Tokuyasu .....	107
An improved CARV process for bioethanol production from a mixture of sugar beet mash and potato mash. Min-Soo Yun, Jeung-yil Park, Mitsuhiro Arakane, Riki Shiroma, Masakazu Ike, Seiji Tamiya, Hiroyuki Takahashi, Ken Tokuyasu .....	108
Characterization of starch granules in rice culms for application of rice straw as a feedstock for saccharification Junko Matsuki, Jeung-yil Park, Riki Shiroma, Yumiko Arai-Sanoh, Masashi Ida, Motohiko Kondo, Kota Motobayashi, Ken Tokuyasu .....	108
ミキサーの消費電力測定による米粉パン生地のミキシング特性の解析 與座 宏一, 松木 順子, 岡留 博司, 徳安 健 .....	108
Immunoproteomic and two-dimensional difference gel electrophoresis analysis of <i>Arabidopsis</i> dehydration response element-binding protein 1A (DREB1A)-transgenic potato Rika Nakamura, Rie Satoh, Ryosuke Nakamura, Takayoshi Shimazaki, Mie Kasuga, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki, Akira Kikuchi, Kazuo N. Watanabe, Reiko Teshima .....	109
Identification of an IgE-Binding Epitope of a Major Buckwheat Allergen, BWp16, by SPOTs Assay and Mimotope Screening Rie Satoh, Satoru Koyano, Kayoko Takagi, Rika Nakamura, Reiko Teshima .....	109

Improvements in the bread-making quality of gluten-free rice batter by glutathione Hiroyuki Yano .....	109
Proteomic analysis of known and candidate rice allergens between non-transgenic and transgenic plants Rie Satoh, Rika Nakamura, Akira Komatsu, Masahiro Oshima, Reiko Teshima .....	110
2D-DIGE analysis of rice proteins from different cultivars Reiko Teshima, Rika Nakamura, Rie Satoh, Ryosuke Nakamura .....	110
米澱粉の糊化における蛋白質の溶解性変化に関する解析 矢野 裕之, 竹内 正彦, 加藤 (江森) 澄恵, 我妻 義則, 佐藤 里絵, 田口 計哉, 岡澤 由晃, 西澤 賢一, 黒田 稔 .....	110
Keto-carotenoids are the major metabolites of dietary lutein and fucoxanthin in mouse tissues. Lina YONEKURA, Miyuki KOBAYASHI, Masaru TERASAKI, Akihiko NAGAO .....	111
《食品工学研究領域》 ウェブアンケートによる食品害虫サイト利用状況調査 曲山 幸生, 七里 与子, 宮ノ下明大, 今村 太郎, 和田 有史, 増田 知尋, 木村 敦 .....	111
食品ナノテクノロジープロジェクトのウェブサイトの開設 曲山 幸生, 七里 与子, 杉山 滋 .....	111
アクセス解析から推定した食品害虫の注目度と浸透度 曲山 幸生, 七里 与子, 宮ノ下明大, 今村 太郎 .....	112
Starch Damage and Pasting Properties of Rice Flours Produced by Dry Jet Grinding Md. Sharif Hossen, Itaru Sotome, Makiko Takenaka1, Seiichiro Isobe, Mitsutoshi Nakajima and Hiroshi Okadome .....	112
Effective recovery of polymethoxyflavonoids by mulch-stage extraction of Citrus depressa Makiko Takenaka, Hiroshi Ono, Hiroshi Okadome, Itaru Sotome, Kazuko Nanayama Hidekazu Sumi, Seiichiro Isobe .....	112
Food processing and cooking with new heating system combining superheated steam and hot water spray Itaru SOTOME, Seiichiro ISOBE .....	113
青果物の呼吸速度計測法に関する研究 (第2報) - 通気法における従来式の誤差と利用可能条件および定常通気モデル式の提案 - 川越 義則, 五月女 格, 大下 誠一, 瀬尾 康久 .....	113
Flux behavior in a hydrophobic dense membrane with undiluted and hexane-diluted vegetable oils S. Manjula, H. Nabetani, R. Subramanian .....	113
Purification of crude fatty acids using a PDMS-based composite membrane Atsushi Miyagi, Hiroshi Nabetani, Rangaswamy Subramanian .....	114
Detection of Deoxynivalenol Using Fluorescence Excitation-Emission Matrix Kaori Fujita, Mizuki Tsuta, Mito Kokawa, Junichi Sugiyama .....	114
NIR spectral imaging with discriminant analysis for detecting foreign materials among blueberries Takehiro Sugiyama, Junichi Sugiyama, Mizuki Tsuta, Kaori Fujita, Mario Shibata, Mito Kokawa, Tetsuya Araki, Hiroshi Nabetani, Yasuyuki Sagara .....	114
スキャナを用いたパン気泡構造の計測手法の開発 柴田真理朗, 杉山 純一, 蔦 瑞樹, 藤田かおり, 杉山 武裕, 粉川 美踏, 荒木 徹也, 鍋谷 浩志, 相良 泰行 .....	115
パンの粘弾性と気泡構造 (すだち) との関係の定量化手法の開発 柴田真理朗, 杉山 純一, 蔦 瑞樹, 藤田かおり, 杉山 武裕, 粉川 美踏, 荒木 徹也, 鍋谷 浩志, 相良 泰行 .....	115

励起蛍光マトリクスによるそば粉と小麦粉の混合割合の推定 杉山 武裕, 藤田かおり, 葛 瑞樹, 杉山 純一, 柴田真理朗, 粉川 美踏, 荒木 徹也, 鍋谷 浩志, 相良 泰行 .....	116
Direct detection of green fluorescent protein messenger RNA expressed in Escherichia coli by rolling circle amplification Hirokazu Takahashi, Atsuko Matsumoto, Shigeru Sugiyama, Toshiro Kobori .....	116
A Simple DNA Characterization Method Using Fiber-Fluorescence in situ Hybridization Performed without DNA Fragmentation Tamaki HIROSE, Shigeru SUGIYAMA .....	116
A silanized mica substrate suitable for high-resolution fiber FISH analysis by scanning near-field optical/atomic force microscopy Shigeru SUGIYAMA, Megumi FIKUTA, Tamaki HIROSE, Toshio OHTANI, Tomoyuki YOSHINO .....	117
Changes in sugar and total oxalic acid contents in different sections of bamboo shoots harvested at different maturity Manasikan Thammawong, Daisuke Nei, Poritosh Roy, Nobutaka Nakamura, Yuichi Inoue, Hidenobu Hamachi, Shigeyuki Nonaka, Takeo Shiina .....	117
Evaluation of high electric field chamber for shelf life extension of food and agricultural commodities Takeo Shiina, Daisuke Nei, Nobutaka Nakamura, Manasikan Thammawong .....	117
Cooking properties of different forms of rice cooked with an automatic induction heating system rice cooker Poritosh Roy, Daisuke Nei, Takahiro Orikasa, Hiroshi Okadome, Manasikan Thammawong, Nobutaka Nakamura and Takeo Shiina .....	118
Characterization of a soybean oil-based biosurfactant and evaluation of its ability to form microbubbles Qingyi Xu, Zengshe Liu, Mitsutoshi Nakajima, Sosaku Ichikawa, Nobutaka Nakamura, Poritosh Roy, Hiroshi Okadome, Takeo Shiina .....	118
Hot Air Drying Characteristics of Sweet Potato Using Moisture Sorption Isotherm Analysis and Its Quality Changes During Drying Takahiro Orikasa, Long Wu, Yasumasa Andou, Yoshiki Muramatsu, Poritosh Roy, Toshikazu Yano, Takeo Shiina, Akio Tagawa .....	118
Biosurfactants for microbubble preparation and application Qingyi Xu, Mitsutoshi Nakajima, Zengshe Liu, Takeo Shiina .....	119
調理用トマトの乾燥およびブランチングへのマイクロ波の適用 安藤 泰雅, 折笠 貴寛, 椎名 武夫, 五月女 格, 五十部誠一郎, 村松 良樹, 田川 彰男 .....	119
成熟遺伝子型の異なるトマト緑熟果実の果皮色変動予測モデル 中村 宣貴, タンマウオン マナシカン, 金原 淳司, 伊藤 博孝, 北川麻美子, 稲熊 隆博, 伊藤 康博, 北澤 裕明, 石川 豊, 春見 隆文, 椎名 武夫 .....	119
食品分野における環境負荷の見える化 椎名 武夫 .....	120
Impact damage to apple fruits in commercial corrugated fiberboard box packaging evaluated by the pressure-sensitive film technique Fei Lu, Yutaka Ishikawa, Hiroaki Kitazawa, Takaaki Satake .....	120
Effects of storage temperature on the postharvest quality of three asparagus cultivars harvested in spring Hiroaki Kitazawa, Satoru Motoki, Tomoo Maeda, Yutaka Ishikawa, Ken-ichi Matsushima, Yasunori Hamauzu, Hiroaki Sakai, Takeo Shiina and Yasushi Kyutoku .....	120
イチゴ輸送中の衝撃解析と損傷発生予測 北澤 裕明, 石川 豊, 路 飛, 胡 耀 華, 中村 宣貴, 椎名 武夫 .....	121
収穫後の衝撃がレモン果実貯蔵中の腐敗の発生に及ぼす影響 池田 裕朗, 石川 豊, 赤阪 信二, 塩田 俊, 北澤 裕明, 路 飛 .....	121

密植栽培がムラサキアスパラガス‘パープルパッション’の収量および生育に及ぼす影響 元木 悟, 北澤 裕明, 前田 智雄, 久徳 康史 .....	121
オウトウ輸出における荷傷み防止方法 高橋 和博, 仲條誉志幸, 小野寺玲子, 伊東 良久, 石川 豊, 中村 ゆり, 羽山 裕子 .....	122
モモ輸出における荷傷み防止方法 今野 勉, 小野寺玲子, 工藤 信, 伊東 良久, 石川 豊, 中村 ゆり, 羽山 裕子 .....	122
ソフトパックにより包装されたイチゴの損傷発生に及ぼす衝撃の影響 北澤 裕明, 佐藤 達雄, 石川 豊, 中村 宣貴, 椎名 武夫 .....	123
パーシャルシール包装による青ネギの鮮度保持技術 鈴木 芳孝, 宮崎 清宏, 石川 豊, 鶴永 陽子, 今堀 義洋 .....	123
Effects of sampling intervals on truck transport vibration levels Fei Lu, Yutaka Ishikawa, Hiroaki Kitazawa, Takaaki Satake .....	123
Analysis of Flow Phenomena in Gastric Contents Induced by Human Gastric Peristalsis Using CFD Hiroyuki Koze, Isao Kobayashi, Mitsutoshi Nakajima, Kunihiko Uemura, Seigo Sago, Sosaku Ichikawa .....	124
Temperature Effect on Microchannel Oil-in-Water Emulsification Katerina Burton Fujiu, Isao Kobayashi, Kunihiko Uemura, Mitsutoshi Nakajima .....	124
Effect of Dispersed Phase Viscosity on Maximum Droplet Generation Frequency in Microchannel Emulsification Using Asymmetric Straight-Through Channels Goran T. Vladislavljevic, Isao Kobayashi, Mitsutoshi Nakajima .....	124
《応用微生物研究領域》 Inulin fructotransferase DFA III-producing from <i>Arthrobacter ureafaciens</i> D13-3 Kazutomo Haraguchi .....	125
A UV-induced mutant of <i>Pichia stipitis</i> with increased ethanol production from xylose and selection of a spontaneous mutant with increased ethanol tolerance Takashi WATANABE, Itsuki WATANABE, Mami YAMAMOTO, Akira ANDO, AND Toshihide NAKAMURA .....	125
Selection of stress-tolerant yeasts for simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash to ethanol Takashi WATANABE, Sathaporn SRICHUWONG, Mitsuhiro ARAKANE, Seiji TAMIYA, Masaru YOSHINAGA, Itsuki WATANABE, Mami YAMAMOTO, Akira ANDO, Ken TOKUYASU, AND Toshihide NAKAMURA .....	125
Strategy for simultaneous saccharification and fermentation using a respiratory-deficient mutant of <i>Candida glabrata</i> for bioethanol production Itsuki WATANABE, Toshihide NAKAMURA, AND Jun SHIMA .....	126
バチルス・サーキュランス T-3040株由来環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼの C末端領域の欠失変異による解析 舟根 和美, 川端 康之, 鈴木龍一郎, キム・ヨンミン, カン・ヒゴン, 鈴木 喜大, 藤本 瑞, 木村 淳夫, 小林 幹彦 .....	126
Determination of true absorption and fecal endogenous loss of zinc in goats Ryota Hattori, Shin-ichiro Torii, Masayuki Funaba, Tohru Matsui .....	127
Characterization of an <i>Aspergillus oryzae</i> cysteinyl dipeptidase expressed in <i>Escherichia coli</i> Ryota Hattori, Mayumi Matsushita-Morita, Junichiro Marui, Sawaki Tada, Satoshi Suzuki, Ikuyo Furukawa, Youhei Yamagata, Hitoshi Amano, Hiroki Ishida, Michio Takeuchi, Ken-ichi Kusumoto .....	127
Molecular cloning of <i>ocpO</i> encoding carboxypeptidase O of <i>Aspergillus oryzae</i> IAM2640 Hiroto Morita, Ken-Ichi Kuriyama, Noritaka Akiyama, Ayako Okamoto, Youhei Yamagata, Ken-Ichi Kusumoto, Yoshinao Koide, Hiroki Ishida, Michio Takeuchi .....	127

Overexpression and characterization of an extracellular leucine aminopeptidase from <i>Aspergillus oryzae</i> Mayumi Matsushita-Morita, Sawaki Tada, Satoshi Suzuki, Ryota Hattori, Junichiro Marui, Ikuyo Furukawa, Youhei Yamagata, Hitoshi Amano, Hiroki Ishida, Michio Takeuchi, Yutaka Kashiwagi, Ken-Ichi Kusumoto .....	128
Production of polygalacturonase by recombinant <i>Aspergillus oryzae</i> in solid-state fermentation using potato pulp Satoshi Suzuki, Mari Fukuoka, Sawaki Tada, Mayumi Matsushita-Morita, Ryota Hattori, Noriyuki Kitamoto, Ken-Ichi Kusumoto .....	128
Characterization of recombinant prolyl aminopeptidase from <i>Aspergillus oryzae</i> Mayumi Matsushita-Morita, Ikuyo Furukawa, Satoshi Suzuki, Youhei Yamagata, Yoshinao Koide, Hiroki Ishida, Michio Takeuchi, Kashiwagi Yutaka, Ken-Ichi Kusumoto .....	129
DNA microarray analysis suggests that zinc pyrithione causes iron starvation to the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D. Yasokawa, S. Murata, Y. Iwahashi, E. Kitagawa, K. Kishi, Y. Okumura, H. Iwahashi .....	129
《食品バイオテクノロジー研究領域》	
Conversion of 11-hydroxy-O-methylsterigmatocystin to aflatoxin G1 in <i>Aspergillus parasiticus</i> Hongmei Zeng, Hidemi Hatabayashi, Hiroyuki Nakagawa, Jingjing Cai, Ryoya Suzuki, mi Sakuno, EToshitsugu Tanaka, Yasuhiro Ito, Kenneth C. Ehrlich (USDA), Hiromitsu Nakajima, Kimiko Yabe .....	130
Structural and biochemical analyses of <i>Kluyveromyces marxianus</i> $\beta$ -glucosidase: an intracellular GH3 enzyme with PA14 domain insertion Erina Yoshida, Masafumi Hidaka, Shinya Fushinobu, Takashi Koyanagi, Hiromichi Minami, Hisanori Tamaki, Motomitsu Kitaoka, Takane Katayama, Hidehiko Kumagai .....	130
Practical preparation of D-galactosyl- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4-L-rhamnose employing the combined action of phosphorylases Masahiro NAKAJIMA, Mamoru NISHIMOTO, and Motomitsu KITAOKA .....	130
Effect of growth temperature, induction, and molecular chaperones on the solubilization of over-expressed cellobiose phosphorylase from <i>Cellvibrio gilvus</i> under in vivo conditions Satya P. SINGH, M. K. PUROHIT, Chika AOYAGI, Motomitsu KITAOKA, and Kiyoshi HAYASHI .....	131
Thermal decomposition of $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-2-deoxy-D-hexopyranoses under neutral conditions Kazuhiro Chiku, Mamoru NISHIMOTO, and Motomitsu KITAOKA .....	131
Cooperation of $\beta$ -galactosidase and $\beta$ -N-acetylhexosaminidase from bifidobacteria in assimilation of human milk oligosaccharides with type 2 structure Mika MIWA, Tomohiro HORIMOTO, Masashi KIYOHARA, Takane KATAYAMA, Motomitsu KITAOKA, Hisashi ASHIDA, Kenji YAMAMOTO .....	131
A region- and stereo-selective parallel synthesis of five types of trigalactoses on a solid support as a model of a combinatorial oligosaccharide library Shiro Komba, Takeshi Terauchi, Sachiko Machida .....	132
Further application of size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics for characterization of biological macromolecules Yasushi WATANABE, Yoji INOKO .....	132
Five carboxin-resistant mutants exhibited various responses to carboxin and related fungicides Yoko Shima, Yasuhiro Ito, Hidemi Hatabayashi, Akemi Koma, Kimiko Yabe .....	132
Crystallization and preliminary crystallographic analysis of the glycoside hydrolase family 115 $\alpha$ -glucuronidase from <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> Zui Fujimoto, Hitomi Ichinose, Peter Biely, Satoshi Kaneko .....	133
Development of a gene transfer system for the mycelia of <i>Flammulina velutipes</i> Fv-1 strain Tomoko Maehara, Makoto Yoshida, Yasuhiro Ito, Shizuko Tomita, Koji Takabatake, Hitomi Ichinose, Satoshi Kaneko .....	133
Extracellular carbohydrate esterase from the basidiomycete <i>Coprinopsis cinerea</i> released ferulic and acetic acids from xylan Kohsuke Hashimoto, Satoshi Kaneko, Makoto Yoshida .....	133

Improvement of the transformation efficiency of <i>Flammulina velutipes</i> Fv-1 using the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene promoter Tomoko Maehara, Shizuko Tomita, Koji Takabatake, Satoshi Kaneko .....	134
Carbohydrate structural analysis of wheat flour arabinogalactan protein Theodora Tryfona, Hui-Chung Liang, Toshihisa Kotake, Satoshi Kaneko, Justin Marsh, Hitomi Ichinose, Alison Lovegrove, Yoichi Tsumuraya, Peter R. Shewry, Elaine Stephens, Paul Dupree .....	134
Degradation of carbohydrate moieties of arabinogalactan-proteins by glycoside hydrolases from <i>Neurospora crassa</i> Ryohei Takata, Keita Tokita, Satoko Mori, Ryohei Shimoda, Naoki Harada, Hitomi Ichinose, Satoshi Kaneko, Kiyohiko Igarashi, Masahiro Samejima, Yoichi Tsumuraya, Toshihisa Kotake .....	135
Crystal structure of an exo-1,5- $\alpha$ -L-arabinofuranosidase from <i>Streptomyces avermitilis</i> provides insights into the mechanism of substrate discrimination between exo- and endo-type enzymes in glycoside hydrolase family 43 Zui Fujimoto, Hitomi Ichinose, Tomoko Maehara, Mariko Honda, Motomitsu Kitaoka, Satoshi Kaneko .....	135
Recognition of the helical structure of $\beta$ -1,4-galactan by a new family of carbohydrate-binding modules Melissa Cid, Henriette Lodberg Pedersen, Satoshi Kaneko, Pedro M. Coutinho, Bernard Henrissat, William G.T. Willats, Alisdair B. Boraston .....	136
Characterization of $\alpha$ -L-arabinofuranosidase related to the secondary cell walls formation in <i>Arabidopsis thaliana</i> Hitomi Ichinose, Nobuyuki Nishikubo, Taku Demura, Satoshi Kaneko .....	136
Molecular cloning of cDNAs encoding two glycoside hydrolase family 7 cellobiohydrolases from the basidiomycete <i>Flammulina velutipes</i> Maki Ishiguro, Tomonobu Hori, Takuya Ishida, Makoto Yoshida, Koji Takabatake, Satoshi Kaneko, Kiyohiko Igarashi, Masahiro Samejima .....	136
エノキタケのトランスクリプトーム配列情報を用いた全分泌タンパク質解析 石黒 真希, 堀 千明, 片山 映, 五十嵐圭日子, 高島 幸司, 金子 哲, 鮫島 正浩 .....	137
セルロース培養系においてエノキタケが生産する糖質加水分解酵素ファミリー7セロビオヒドロラーゼの解析 石黒 真希, 堀友 宣, 吉田 誠, 高島 幸司, 金子 哲, 五十嵐圭日子, 鮫島 正浩 .....	137

## 付 録

「食品総合研究所研究報告」の編集について.....	138
「日本食品科学工学会誌」投稿論文記載要項（第50巻第1号より転載）.....	140

報 文

澱粉の糊化と酵素処理が米蛋白質の溶解性に与える影響

矢野 裕之<sup>1,2§</sup>, 竹内 正彦<sup>3</sup>, 加藤 (江森) 澄恵<sup>4</sup>, 我妻 義則<sup>5</sup>,  
田口 計哉<sup>6</sup>, 岡澤 由晃<sup>6</sup>, 西澤 賢一<sup>3</sup>, 黒田 秧<sup>2,7</sup>

1) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所, 2) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所, 3) 社団法人長野県農村工業研究所, 4) トキタ種苗株式会社, 5) わがつまこどもクリニック, 6) 長野興農株式会社, 7) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター

**Influence of starch gelatinization and the following enzymatic treatments  
on the solubility of rice protein**

Hiroyuki Yano<sup>1,2§</sup>, Masahiko Takeuchi<sup>3</sup>, Sumie Kato-Emori<sup>4</sup>, Yoshinori Wagatsuma<sup>5</sup>,  
Keiya Taguchi<sup>6</sup>, Yoshiaki Okazawa<sup>6</sup>, Kenichi Nishizawa<sup>3</sup>, Shigeru Kuroda<sup>2,7</sup>

<sup>1</sup> National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization, Tsukuba, Ibaraki 305-8642 Japan; <sup>2</sup> National Institute of Crop Science, National Agriculture and Food Research Organization, Tsukuba, Ibaraki 305-8518, Japan; <sup>3</sup> Agriculture and Technology Institute of Nagano Farmers, Suzaka, Nagano 382-0084, Japan; <sup>4</sup> Research Station, Tokita Seed Co., Ltd., Kazo, Saitama 349-1144, Japan; <sup>5</sup> Wagatsuma Pediatric and Allergy Clinic, Sapporo, Hokkaido 005-0804, Japan; <sup>6</sup> Nagano Kono Co., Ltd., Nagano 380-0948, Japan; <sup>7</sup> Bio-oriented Technology Research Advancement Institution (BRAIN), Minato-Ku, Tokyo105-0001, Japan

**Abstract**

Effect of starch gelatinization and the following amylase/protease treatments on the recovery of amino acids as well as on the solubility of rice protein was investigated. In our previous study, the supernatant obtained by a centrifugation of gelatinized and liquefied (i.e., amylase-treated) rice slurry contained almost no protein. In this study, the slurry was further treated with protease before centrifugation. Analyses on SDS-PAGE have shown that after centrifugation, the supernatant contained almost no protein. Moreover, 36% of total protein was recovered in the supernatant as free amino acids. The recovery of total amount of amino acids and peptides was estimated to 63%. This report is a pilot study to develop less-allergenic or low protein food material which is rich in amino acids and sugars.

Keywords : アミノ酸, 糊化, 米, 蛋白質, 糖化液

## 緒言

米は国内で自給可能な数少ない重要な穀物の一つである。一方、食生活の多様化により、炊飯米としての需要は年々減少傾向にあり、国民1人当たりの年間消費量も昭和37年をピークに半減している。米の消費量は食料自給率に大きく影響を与えるため、パンなどの加工品や飲料など、米の多様な利用法の開発が求められている。米や米粉を原料とした加工品は安価に製造できる利点があるが、米は五大アレルゲンの一つであり、アトピー性皮膚炎との関連性についても従来から指摘されている<sup>1)</sup>ことから、アレルゲン蛋白質の加工食品への混入が懸念される。また、特に飲料では、微量に混入した蛋白質が滓や濁りの原因になることがあるため、液状食品から蛋白質を除去する技術の開発が進められている<sup>2),3)</sup>。そこで、糖類やアミノ酸・ペプチドなどの栄養成分に富み、同時に蛋白質やアレルゲンなどの混入が著しく低減された加工原料を米から製造することができれば、飲料を含めた様々な加工食品への利用が期待できる。

米に水を加えて加熱して糊化させ、これにアミラーゼを添加して液化させると糖化液ができる<sup>4)</sup>。前報では、この糖化液を遠心すると、その上清にはブドウ糖や麦芽糖が回収されるが、蛋白質はほとんど含まれないことを報告した<sup>5)</sup>。本報では、この糖化液にさらにプロテアーゼを添加し、遠心後の上清にアミノ酸を効率的に回収することができるか、また、その際に蛋白質の混入を抑えることができるかを調べた。極低蛋白質・低アレルゲンで、同時にアミノ酸や糖などの栄養成分に富んだ食品原料を開発するための予備研究に位置づけられる。

## 実験材料及び方法

### 1. 米糖化液の作成とプロテアーゼ処理

糖化液の作製は前報<sup>5)</sup>に従った。精白米に3倍量(w/w)の水を加え、多管式第一種圧力容器(有限会社アトラスエンジニアリング製、型式BEM)中で121℃、6分間加熱して糊化させた後、その糊化物を45℃まで冷却した。これにアミラーゼN-K T2(協和化成株式会社製)を0.2% (w/w) 添加し、45℃に保温したままホモジナイザー処理を10分間行って十分に攪拌・混合して液化した。液温を96℃に上昇させて酵素を失活させ、振動篩い(80メッシュ)で処理して米の糖化液を

得た。

この糖化液50mLに、エンドプロテアーゼおよびエキソペプチダーゼ活性の両方を含む食品用酵素フレーバザイム<sup>6)</sup>(ノボザイムズ社製)を250 $\mu$ L(250LAPU; 1LAPUは1分間に1 $\mu$ molのL-ロイシン-pニトロアニリドを加水分解する酵素量)添加し、50℃で1時間保温した。

### 2. SDS-PAGEによる蛋白質解析

糖化液に等量(w/w)の2倍濃縮SDSサンプルバッファー(4%SDS, 20%グリセロールを含む125mMトリス/塩酸, pH6.8)を加えて混合し、一晚室温で保存した(サンプルバッファーは還元剤として100mM DTTを含むものと含まないものを用いた)。これを5,000 x gで10分間遠心し、上清をSDS-PAGEに供した。SDS-PAGEはLaemmli<sup>7)</sup>の手法に従った。泳動にはアクリルアミド濃度が4-20%のプレキャストゲル(Bio-Rad社製)を用い、30mAの定電流で45分~1時間程度泳動した。泳動後のゲルは0.1%のCBB-250, 20%メタノール, 5%酢酸を含む染色液中にて室温で一晩浸漬した後、20%メタノール, 5%酢酸を含む脱色液中で浸漬し、染色像が明らかになった時点で脱色を終了した。

### 3. アミノ酸および糖分析

アミノ酸および麦芽糖、ブドウ糖の定量分析は財団法人日本食品分析センターで実施した。糖化液全液およびプロテアーゼ処理後の糖化液を遠心した後の上清画分について、20種類の遊離アミノ酸の定量分析および加水分解後の18種のアミノ酸の定量分析を実施した(アスパラギン、グルタミンは加水分解時に側鎖のアミノ基が脱落するため、それぞれアスパラギン酸、グルタミン酸として回収される。)アミノ酸の分析にはアミノ酸自動分析計JLC-500/V(日本電子株式会社製)を用い、カラムにはLCR-6(日本電子)を使用した。定量はニンヒドリン法で行い、アミノ酸標準試料と供試試料の面積比から遊離アミノ酸量を計測した。また、糖分析には高速液体クロマトグラフを用い、ブドウ糖、麦芽糖の標準試料と比較し、定量した。

## 実験結果および考察

### 1. プロテアーゼを添加した米糖化液の蛋白質解析

まず、エキソプロテアーゼおよびエンドペプチダーゼ活性の両方を含む食品用酵素フレーバザイム(以降、

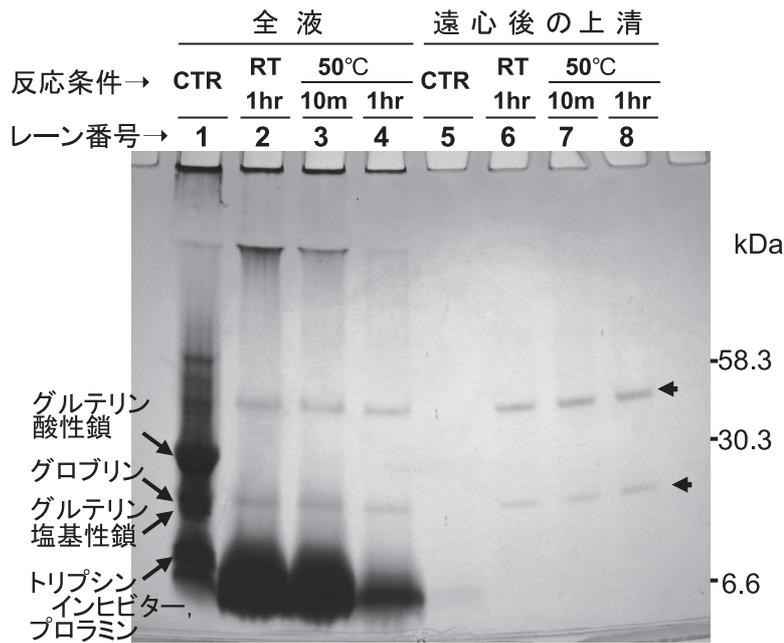


図1. 各条件でプロテアーゼ処理した糖化液の全液および遠心後の上清に含まれる蛋白質

CTR, プロテアーゼ処理しない標準サンプル. ◀, プロテアーゼ由来のバンド

「プロテアーゼ」と略)で米糖化液を処理した。図1のレーン1-4は糖化液あるいはそのプロテアーゼ処理液から一部をサンプリングし、還元剤ジチオスレイトール (DTT) を含むサンプルバッファーと混合してSDS-PAGEで分析したものである。プロテアーゼを添加する前の糖化液には、グルテリンやグロブリン、トリプシンインヒビターやプロラミン等の蛋白質が含まれる (レーン1) が、プロテアーゼを添加して室温で1時間、あるいは50°Cで10分~1時間処理すると (レーン2-4)、いずれの場合もこれらの蛋白質は分解を受け、分子量が数千程度の蛋白質断片が生成した。50°C、1時間以上処理しても、分解の程度は変わらなかった (データ略)。

また、レーン5-8は、それぞれレーン1-4で解析した糖化液やそのプロテアーゼ処理液を遠心し、各上清をサンプルバッファーで処理して泳動したものである。前報<sup>5)</sup>で報告したように、糖化液を遠心すると、上清には蛋白質がほとんど観察されなかった (レーン5)。また、プロテアーゼ処理後の糖化液においても、遠心後の上清から蛋白質はほとんど検出されなかった (レーン6-8)。

前報では、糖化液から蛋白質を抽出する際、還元剤DTTを含む通常のサンプルバッファーを使用すると蛋白質が抽出されるが、DTTを含まないサンプルバッファーを用いた場合には、抽出される蛋白質の量が

低減することを報告した<sup>5)</sup>。また、こうした蛋白質の溶解性の違いには、ジスルフィド結合が関係する可能性があることを推察した。そこで、プロテアーゼで処理した糖化液でも、DTTの有無で蛋白質の溶解性に違いがあるかを調べた。図2は糖化液のプロテアーゼ処理液と、それを遠心して得られた上清画分について、抽出バッファーに含まれるDTTの有無で蛋白質の溶解性に差が生じるかを調べたものである。プロテアーゼにより低分子化された蛋白質断片は、もとの蛋白質と同様に、還元剤DTTを含むSDSバッファーを用いた際には抽出できる (レーン5) が、DTTを含まないSDSバッファーでは抽出量が低減した (レーン2)。DTTはジスルフィド結合を切断する機能を有するため、低分子化された蛋白質がDTTを含まないバッファーではその抽出量が低減するのは、ジスルフィド結合がその不溶化に寄与するためであることが推定された。また、遠心後の上清からは、DTTの有無にかかわらず、蛋白質はほとんど抽出されなかった (レーン3および6)。

2. プロテアーゼ処理した糖化液のアミノ酸分析

次に、プロテアーゼで50°C、1時間処理した糖化液を遠心した際、上清画分にどの程度アミノ酸が回収されるかを調べた。表1に、糖化液100g当たりから回収される各アミノ酸の回収量 (g) を示した。蛋白質

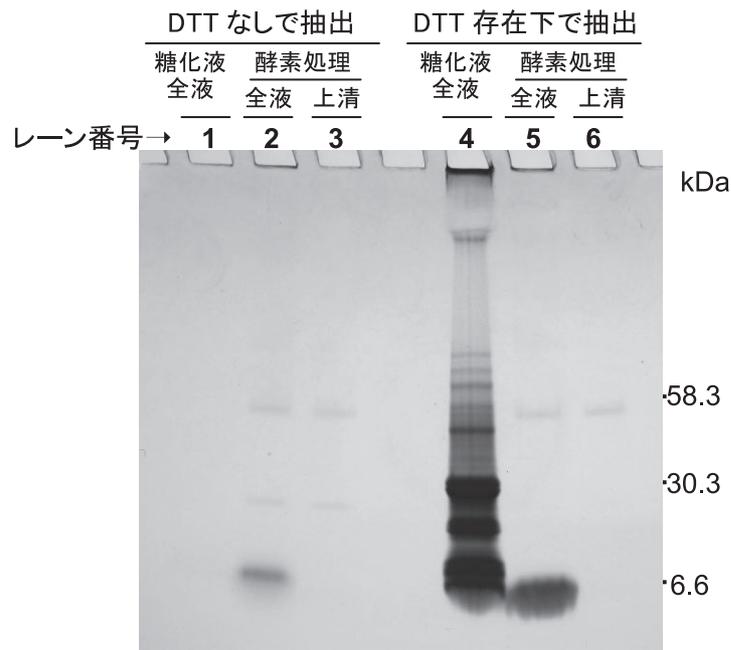


図2. 糖化液およびプロテアーゼで処理した糖化液から抽出される蛋白質の電気泳動図  
抽出バッファーに含まれる還元剤ジチオスレイトール (DTT) の有無で抽出される蛋白質を比較

表1. 糖化液のアミノ酸分析

アミノ酸	全液		遠心後の上清	
	加水分解		遊離アミノ酸	加水分解
アルギニン	153		83 (54)	104 (68)
リジン	66		30 (40)	48 (73)
ヒスチジン	47		17 (36)	30 (64)
フェニルアラニン	97		44 (45)	58 (60)
チロシン	85		43 (51)	52 (61)
ロイシン	147		65 (44)	82 (56)
イソロイシン	71		35 (49)	47 (66)
メチオニン	47		16 (34)	19 (40)
バリン	104		47 (45)	68 (65)
アラニン	101		33 (31)	63 (62)
グリシン	87		16 (18)	58 (67)
プロリン	86		6 (7)	53 (62)
グルタミン酸	310	}	38	201
グルタミン	0		61	
セリン	96		33 (34)	64 (67)
スレオニン	67		24 (36)	44 (66)
アスパラギン酸	173	}	27	117
アスパラギン	0		25	
トリプトファン	25		8 (32)	12 (48)
シスチン	43		0 (0)	20 (47)
合計	1805 (100)		652 (36)	1140 (63)

N = 3 の平均値.

mg/100g 糖化液で表示.

( ) 内は各アミノ酸の%回収率.

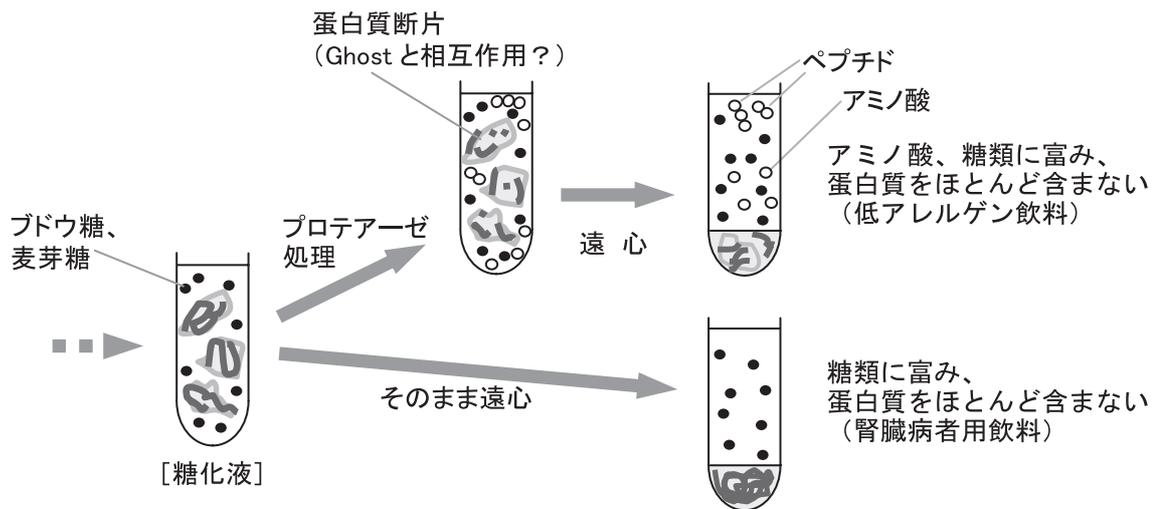


図3. 模式図：糖化液からのアミノ酸，糖類の回収

を塩酸加水分解すると，グルタミンとアスパラギンはそれぞれグルタミン酸，アスパラギン酸として回収されるため（{|に合計表示），加水分解した際のデータはグルタミン，アスパラギンを除いた18種類のアミノ酸で表示されている．糖化液全液を加水分解すると，18種類のアミノ酸を併せて1805mgが回収された．これを100%とすると，遠心後の上清に含まれる遊離アミノ酸の合計（652mg）は36%であった．プロテアーゼ処理前の糖化液や，同じ時間処理したプロテアーゼ単体からは遊離のアミノ酸がほとんど検出されなかった（データ略）．

図3の模式図に示すように，糖化液をプロテアーゼで処理し，遠心して得られた上清画分には遊離のアミノ酸以外に，アミノ酸が数個～数十個つながったペプチドも含まれるはずである．これらペプチドはアミノ酸分析のクロマト上で同定することはできない．そこで，上清画分に含まれる低分子ペプチドを遊離アミノ酸と併せて定量するため，上清を加水分解した後にアミノ酸分析を行った．上清には蛋白質がほとんど含まれないことがSDS-PAGEにより確かめられている（図1）ため，ここでは遊離のアミノ酸とともに，電気泳動では検出されない低分子ペプチドが定量されるはずである．分析の結果，糖化液全体を加水分解したときに得られるアミノ酸総量の63%がアミノ酸およびペプチドとして上清に回収されることがわかった（表1）．

次に，表1に示される個々のアミノ酸の回収について検討すると，まず，上清にはシスチンがほとんど回収されないことがわかる．これは，図1の結果から考察したようにジスルフィド結合が蛋白質の不溶化に関

与していること，また，ジスルフィド結合はプロテアーゼ耐性を有する場合があること<sup>8,9,10</sup>から，プロテアーゼで処理してもシスチンが遊離しなかったためと考えられる．また，プロリンの回収率が他のアミノ酸に比べて低いが，これはプロリンがイミノ酸であるため，プロリンのアミノ末端側のペプチド結合が一般的にプロテアーゼで切断されにくい傾向にある<sup>11,12</sup>ことに起因すると考えられる．

また，糖分析により糖化液上清にブドウ糖，麦芽糖がそれぞれ糖化液100gあたり12.2g，7.5g（n=2の平均値）含まれることがわかった．

### 3. 推定されるメカニズムについて

前報で考察したように，遠心後の上清に蛋白質がほとんど回収されない原因についてバリア説<sup>13</sup>で説明される可能性がある．米蛋白質と米澱粉が相互作用すること<sup>14</sup>や，蛋白質が強固な網目構造を作り，澱粉粒を取り囲んでいること<sup>15</sup>はよく知られていた．Hamakerらは，ジスルフィド結合で高分子化した蛋白質が米の澱粉粒を取り囲み，澱粉の吸水を妨げるバリアの役割を果たす可能性があることを報告した<sup>13</sup>．また，Delcourらにより，このバリアは加熱により強化される可能性があることも報告されている<sup>16</sup>．糖化液を作製する際には白米に水を添加して加熱し糊化させるが，この際に，ジスルフィド結合により高分子化した蛋白質が澱粉粒と相互作用し，また，アミラーゼ処理した後も脱落せず，Ghost<sup>17</sup>と呼ばれる澱粉粒の外膜に吸着した可能性がある．DTTを含まないSDSバッファーでは糖化液から蛋白質がほとんど抽出されないが，DTT

を添加したバッファーからは抽出されることがこの推察を支持すると考えられる。また、糖化液にプロテアーゼを添加した際には、Ghost に蛋白質が吸着したままアミノ酸やペプチドが可溶化し、分子間ジスルフィド結合でつながったプロテアーゼ耐性フラグメントが不溶状態のまま Ghost に残留し、遠心した際には Ghost への吸着を維持したまま沈殿した可能性がある。DTT 存在下で抽出されるこれらフラグメントが、DTT なしでは抽出されないことがこの推察を支持する。あるいは、プロテアーゼ耐性フラグメントの不溶化はバリア説や澱粉粒への吸着とは全く関係なく生じた可能性も否定できない。メカニズムの解明にはさらなる検証を要するが、いずれの場合も上清は蛋白質やアレルゲンをほとんど含まない。

最近、グルタチオンを米粉生地に添加することで、グルテンを要せずにパンを発酵・焼成できることが報告されているが、ここでも還元剤としての機能をもつグルタチオンがバリアを破壊し、デンプンの吸水を促進したことが生地の粘性や発酵ガスの閉じこめ機能を高めたと推定されている<sup>18)</sup>。Hamaker らは、デンプン粒を取り囲む、ジスルフィドで架橋したポリマーの研究により、米製品のテクスチャーの制御が可能になるかもしれないと述べている<sup>13)</sup>。バリア機能とデンプンの吸水、粘度特性との関連性について理化学分析や分子解析など、さまざまな面から明らかにすることで、新しい特性をもった米粉食品を開発するための知見が得られるであろう。

本報により、白米に水を加え、加熱して糊化させた後、アミラーゼ、プロテアーゼで処理すると、遠心後の上清画分に単糖やアミノ酸・ペプチドを回収できること、そこに蛋白質がほとんど含まれないことが明らかになった。蛋白質がアレルゲン性を発現するには脂肪細胞と架橋するために2箇所のエピトープを要する。ひとつの分子内に2つの架橋部位が必要であるため、アレルゲン蛋白質はある程度以上(3.5~5kDa)の大きさが必要であるといわれており、電気泳動で検出されないほどの低分子ペプチドはアレルゲン性を有する可能性が低い<sup>9)</sup>。

前報の成果と併せ、本研究で得られた糖化液上清画分は、腎臓病者用の飲料や、低アレルゲン飲料の開発に応用できる可能性がある(図3)。医学研究者との共同研究によるアレルゲン性の評価や、食品としての品質向上研究を実施し、実用化を進める予定である。

## 謝 辞

本稿の作成に当たり重要な助言をいただいた作物研究所・青木法明博士に感謝する。本研究は農林水産省アグリバイオ実用化・産業化研究および科研費(22500752)の助成を受けたものである。

## 要 約

米デンプンの糊化と、その後のアミラーゼおよびプロテアーゼ処理が蛋白質の挙動に与える効果を解析した。前報では、米粉に加水・加熱し糊化させた後、アミラーゼ処理で液化した糖化液を遠心すると、上清には蛋白質がほとんど含まれないことを報告した。本研究では、糖化液をさらにプロテアーゼ処理し、遠心後の上清にやはり蛋白質がほとんど含まれないことを SDS-PAGE で確認した。また、糖化液に含まれる蛋白質の36%がアミノ酸として、アミノ酸とペプチドを併せると63%が上清に回収されることがわかった。本報は極低蛋白質・低アレルゲンでアミノ酸、糖類に富む食品原料を開発するための予備研究に位置づけられる。

## 参考文献

- 1) Ikezawa, Z., Miyakawa, K., Komatsu, H., Suga, C., Miyakawa, J., Sugiyama, A., Sasaki, T., Nakajima, H., Hirai, Y., Suzuki, Y. A probable involvement of rice allergy in severe type of atopic dermatitis in Japan. *Acta Derm. Venereol. Suppl.* **176**, 103-107 (1992)
- 2) 山口敏弘, 中尾俊章, 西田淑男. 蛋白質吸着メソポーラス材料の開発. *生物工学会誌*, **87**, 314-318 (2009)
- 3) 森真基, 山内隆寛, 神谷久弥, 松永将義, 松下桂子, 和田渚, 岡田秀也, 市橋誠. 清澄化液状食品の製造方法. 公開特許公報. 特開2010-252670.
- 4) 竹内正彦. 米由来天然甘味の特性と食品への応用. *食品と科学*, **44**, 73-75 (2002)
- 5) 矢野裕之, 竹内正彦, 加藤(江森)澄恵, 我妻義則, 佐藤里絵, 田口計哉, 岡澤由晃, 西澤賢一, 黒田秧. 米澱粉の糊化における蛋白質の溶解性変化に関する解析. *食品総合研究所研究報告*, **75**, 1-8 (2011)

- 6) Tsou, M. J., Kao, F. J., Tseng, C. K., Chiang, W. D. Enhancing the anti-adipogenic activity of soy protein by limited hydrolysis with flavourzyme and ultrafiltration. *Food Chem.* **122**, 243–248 (2010)
- 7) Laemmli, U. K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680–685 (1970)
- 8) Yano, H., Kusada, O., Kuroda, S., Kato-Emori S. Disulfide proteome analysis of buckwheat seeds to screen putative allergens. *Cereal Chem.*, **83**, 132–135 (2006)
- 9) Yano, H. Disulfide-related proteomic studies on food allergens. *Expert Rev. Proteomics*, **6**, 563–571 (2009)
- 10) Buchanan, B. B., Adamidi, C., Lozano, R. M., Yee, B. C., Momma, M., Kobrehel, K., Ermel, R., Frick, O. L. Thioredoxin-linked mitigation of allergic responses to wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **94**, 5372–5377 (1997)
- 11) Vanhoof, G., Goossens, F., De Meester, I., Hendriks, D., Scharpé, S. Proline motifs in peptides and their biological processing. *FASEB J.* **9**, 736–744 (1995)
- 12) Rodriguez, J., Gupta, N., Smith, R. D., Pevzner, P. A. Does trypsin cut before proline? *J. Proteome Res.*, **7**, 300–305 (2008)
- 13) Hamaker, B. R., Griffin, V. K. Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinization and pasting. *Cereal Chem.* **70**, 377–380 (1993)
- 14) 竹内五男, 島田潔, 中村清二. 清酒酒母の窒素成分の生因: (第2報) 米蛋白質と米澱粉の相互作用および澱粉ゲルによる溶解蛋白質の収着について. 日本醱酵工学会大会講演要旨集. **41**, 63–66 (1966)
- 15) 森高真太郎, 安松克治. 精白米のSH基と貯蔵中の品質劣化との関係. 栄養と食糧 **25**, 59–62 (1972)
- 16) Derycke, V., Veraverbeke, W. S., Vandeputte, G. E., De Man, W., Hosney, R.C., Delcour, J. A. Impact of proteins on pasting and cooking properties of nonparboiled and parboiled rice. *Cereal Chem.* **82**, 468–474 (2005)
- 17) Atkin, N. J., Abeysekera, R. M., Robards, A. W. The events leading to the formation of ghost remnants from the starch granule surface and the contribution of the granule surface to the gelatinization endotherm. *Carbohydr. Polym.* **36**, 193–204 (1998)
- 18) Yano, H. Improvements in the bread-making quality of gluten-free rice batter by glutathione. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 7949–7954 (2010)

報 文

苦味マスキング効果の定量的解析

河合 崇行, 日下部 裕子

農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Quantitative analysis for the masking effects to bitter taste

Takayuki Kawai and Yuko Kusakabe

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

Abstract

On behavior tests for taste evaluation with mice, lick number to the test solutions depends on their favorability. So, we analyzed the favorability of various concentration of denatonium benzoate bitter solution based on animal behavior. We also analyzed and quantified the favorability changes when sodium saccharin as sweet compound, mono-sodium glutamate as umami compound, or sodium chloride as salty compound was added to the bitter test solutions. As a result, the addition of 2.5 mM of sodium saccharin, 500 mM of mono-sodium glutamate, and 100 mM of sodium chloride showed the ability to suppress bitter taste as 40%, 69%, 46%, respectively. These results suggest that the bitter masking effects could be evaluated objectively by animal behavior, without having human sensory evaluation by well-trained panelists.

Keywords: 安息香酸デナトニウム, マスキング, マウス, 行動学, うま味

緒 言

苦味は動物にとって元来忌避する味質である。苦味は対照物中に毒の存在を示す情報の一つであるため忌避しても良い味である。少量のエネルギー摂取で済む小動物は敢えて苦味を含む食餌を摂る必要はないが、ヒトを始めとする大動物では多種多様な食品から栄養

素を摂取しなくてはならない。根菜や新鮮な葉物野菜はビタミン類やミネラル類の供給源である。また、分岐鎖アミノ酸やポリフェノール類の多くも苦味を呈しており、健康維持のためにこれらの機能性成分を含む食品を積極的に摂ることが推奨されている。苦味を上手にマスキングすることができれば、苦味に敏感な幼児期から多くの食経験をを得ることが可能である。苦味のマスキングについては、古くより多くの研究がなさ

れており、大別すると物理的、化学的、生化学的及び官能的手法が進められている。物理的手法とは苦味成分を小さな分子カプセルに閉じ込める<sup>1)</sup>、フィルム状にして口の中で溶けないようにする<sup>2)</sup>、表面積を小さくする<sup>3)</sup>などの方法で、化学的手法とは対イオンや官能基の種類を置き換えたり、架橋剤を利用して複合体にしたりする方法で、いずれも製剤分野で著しい研究進展が認められる。一方、生化学的手法とはリポ蛋白質<sup>4)</sup>や酸性ジペプチド<sup>5)</sup>などの添加剤を苦味受容部位に反応させ苦味の応答を抑える方法で、食品一般に利用が可能である。苦味受容体の遺伝子 T2Rs<sup>6)</sup>が見つかった以来、受容体を強制発現させた細胞でマスキング効果を測定する手法も開発されている<sup>5)</sup>。官能的手法とは苦味そのものを抑えるのではなく、甘味<sup>7)</sup>や塩味<sup>8,9)</sup>、香料などを用いて苦味を感じさせにくくさせる方法である。苦味を食べると脳内で DBI (Diazepam Binding Inhibitor) 様物質が放出され不快な感覚を覚える<sup>10)</sup>が、甘味や脂肪分などの好ましい味を食べると脳内で  $\beta$ -エンドルフェインが放出され快感が生み出される<sup>11)</sup>。この2種類の脳内物質のバランスにより、苦味の軽減が起きているものと考えられている。 $\beta$ -エンドルフェインは脳内麻薬用物質の一つであり、苦味だけでなく痛みまでの軽減するほど強烈な快感物質である。苦味そのものの溶出を抑えたり苦味受容体へ直接作用させたりして得られる苦味抑制効果は、市販の味覚センサーや細胞応答を利用して評価することができるが、脳内物質のバランスによる抑制効果は生体を利用しなければ評価できない。熟練した官能パネリストを用いて評価する方法が一般的である。

そこで筆者らは、より客観性の増した生体利用評価を行うために、マウスを用いた味覚評価法を開発した。動物は提示された食べ物が好まなければ好ましいほど多く食べ、まずければまずいほど食べなくなる。短時間に限定すると、好ましいければ単位時間あたりにアクセスする(かじる、舐める等)回数が増え、その嗜好に依存して回数が増えることが知られている<sup>12)</sup>。筆者らはマウスの習性を利用し、マウスが溶液を舐める回数を自動的に測定するリック自動計測装置を作製した<sup>13)</sup>。本研究では、遺伝子背景、食経験の揃ったマウスを用いて種々濃度の苦味溶液の嗜好、及びマスキング物質を添加したときの嗜好変化を解析し、マスキング効果の数値化を試みた。

## 実験材料及び方法

### 1. 動物及び飼育法

本実験は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物実験等実施規定に従って実験を行った。自家繁殖によって得た C57BL/6 系統マウス 8~12 週齢(雄 7 匹、雌 4 匹)を用いた。遺伝子多様性によるデータのばらつきを最小限にとどめるため、近郊系マウス種を用いた。アルミニウム製ケージ(15×25×10cm)の中にパルプ製の床敷を敷き 3~4 匹ずつの群飼育とした。室温 22±2℃、湿度 45±2%、12 時間明期-12 時間暗期サイクルを維持できるチャンバー内で飼育した。特に記載がない限り餌にはオリエンタルバイオ社製 CMF、水には脱イオン水を使い自由摂取可能とした。リックトレーニング及びリック計測は、マウス活動期にあたる暗期時間帯内に実施した。

### 2. 計測機器

本実験には、カスタムメイドのリック計測器を使用した。マウスケージは日本クレア製ポリカーボネートケージ(11×20×11cm)の一側面をくり抜き、後述の仕切り板を取り付けられるように加工した。溶液提示部には直径 24cm のアルミ円盤の外周近くに 80 度の角度で 8.1mm の穴 20 個を均等に割りふって開けたものを用意した。試験溶液はポリプロピレン製 15mL 遠心チューブに金属製の日本クレア製玉付きマウス給水用先管を取り付けたものに入れて円盤の穴に挿し込んだ。溶液の提示は円盤に取り付けたステッピングモータをシーケンスソフトによって制御し、任意の時間、任意の順で行うことができるように設計した。マウスケージと溶液提示部の接続部は幅 3.5mm のスリットがあいたアクリル製仕切り板を設置し、マウスが舌のみを突き出して提示溶液の給水用先管の先端を舐められるようにした。仕切り板の溶液提示部側には、スライド式シャッター、光センサーを取り付け、シャッター解放時のマウス舌の出し入れ回数(リック数)を計測できるようにした。シャッター開閉時間、リック開始信号、リック回数計測も上記シーケンスソフトに組み込んで、一括制御できるよう設計した。リック数計測は室温 22±2℃ で制御している動物飼育室内に設置した。

### 3. リックトレーニング

マウスを群飼状態から個飼ケージに移したり、

不慣れな匂いのする場所に移したりすると、マウスは落ち着きなく探索行動を行う。また、先の見えない穴に鼻を差し込むことはあっても、舌だけを差し込むことには抵抗があるように見える。再現性の良い安定した結果を得るためには、予めリック計測器による実験に慣れさせておく必要がある。トレーニング1～2日目はリック計測器の環境に慣れさせることを目的に行った。リック計測器のマウス用ケージと溶液提示部の接続部に幅5mmのスリットのあいた透明アクリル仕切り板(厚さ2mm)を取り付け、給水用先菅の先端がスリットに接触するように調整し、5%スクロース溶液を提示した。マウスを1匹ずつケージ内に入れ、10分以上舐めたのを確認した。トレーニング3～4日目は舌をスリットから大きく出すこと及びシャッターの開閉に慣れさせることを目的に行った。給水用先菅の先端とスリットの間隔が2mmとなるように調整し、4%スクロース溶液を提示し、リック開始から30秒間シャッターを解放した後に15秒間シャッターを閉じるサイクルを10回繰り返した。トレーニング5日目は不透明な仕切り板のスリットから舌を出すことに抵抗感を慣れさせることを目的に行った。仕切り板を幅3.5mmのスリットのあいた不透明なアクリル板(厚さ2mm)に取り替えて、3～4日目と同様のトレーニングを行った。トレーニング6日目は提示溶液に好ましい味や好ましくない味があることを学ばせるために行った。2%スクロース溶液、10mM キニーネ塩酸塩、水の3種類の溶液を用意し、それぞれ30秒ずつ提示するサイクルを4回繰り返した。トレーニング7～8日目はリック行動が嗜好の強さに対応していることを確認する目的で行った。4%・2%・1%スクロース溶液と水の4種類の溶液を用意し、それぞれ10秒ずつ提示するサイクルを4回行った。高濃度から低濃度、低濃度から高濃度と提示順を入れ替えながら行った。

#### 4. リック計測法

安息香酸デナトニウム溶液及びそれらにサッカリンNa・グルタミン酸Na、塩化ナトリウムを添加した溶液に対するリック計測を行うときには、12時間以上絶水させたマウスを用いた。リック計測実験終了後に絶水を解き、1日以上回復させた後に再び12時間以上絶水させ、次の計測を行った。0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mM 安息香酸デナトニウム溶液を用意し、濃度が高くなる順に提示することを1サイクルとした。各溶液ともリックし始めるまではタイマーは止めたままにし、最初のリックから10秒たってからシャッターを閉じ、

その間のリック数を求めた。60秒たってもリックしない場合は、強制的にシャッターを閉じ、次の試料溶液に進めた。この操作を最低2サイクル以上行い、各試料溶液に対するリック数を記録した。甘味・うま味・塩味を添加してマスキング効果を検討するときには、0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mM 安息香酸デナトニウム溶液を二組作製し、片方にサッカリンNa, グルタミン酸Na, 塩化ナトリウムを添加した。安息香酸デナトニウムのみの溶液を苦味濃度が高くなる順に提示した後、マスキング剤入りの溶液を苦味濃度が高くなる順に提示した。さらに順序を入れ替えて同様の操作を繰り返した。別の日に、もう一度マスキング剤入り溶液とマスキング剤なし溶液の計測順を入れ替えた実験を行った。甘味の持つマスキング特性を検討するには、0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mM 安息香酸デナトニウム溶液と2 mM 安息香酸デナトニウム溶液に0.06, 0.19, 0.56, 1.7, 5, 15mM サッカリンNaを添加した溶液を作製した。安息香酸デナトニウムの濃度が高くなる順に提示した後、サッカリンNa添加溶液は甘味濃度が低くなる順に提示することを1サイクルとした。さらに順序を入れ替えて同様の操作を1サイクル繰り返した。別の日に、もう一度サッカリンNa入り溶液と入っていない溶液の計測順を入れ替えた実験を2サイクル行った。うま味の持つマスキング特性を検討するには、2 mM 安息香酸デナトニウム溶液に1.2, 3.7, 10, 30, 100, 300mM グルタミン酸Naを添加した溶液を作製した。サッカリンNa添加の場合と同様の提示順及び順序を入れ替えた実験を行った。

甘味溶液に対するリック数を計測するときには、絶水処理は行わず6時間以上絶食したマウスを使用した。1.25, 2.5, 5, 10, 20mM サッカリンNa溶液及び4%スクロース溶液を用意し、甘味濃度が高から低、低から高の順になるように提示した。サッカリンNaは甘味物質であるがカロリーが無く、長期間摂取により嗜好性低下が見られることがある。実験中の嗜好性低下を防ぐために、甘味もカロリーもある4%スクロースを提示溶液の中に入れておいた。うま味溶液に対するリック数を計測するときも、絶水処理は行わず6時間以上絶食したマウスを使用した。150, 300, 600, 1200mM グルタミン酸Naに30mM 塩化ナトリウムを添加した溶液及び4%スクロース溶液を用意し、うま味濃度が高から低、低から高の順になるように提示した。グルタミン酸Naだけの溶液ではうま味が弱いため、うま味が認識されやすいよう一定濃度の塩化

ナトリウムを加えた。

いずれの計測も溶液提示順序を入れ替えた実験を必ず行い、極力順番効果の影響を小さくするようにした。

## 5. データ解析

12時間絶水により水への欲求の強さをほぼ同じにすることができるが、全てのマウス、全ての試験で測定開始時から終了時まで同条件を維持することは難しい。水への欲求が過度に強い場合は、濃い苦味溶液であっても積極的に摂取しようとする。一方、水への欲求が過度に弱い場合は、苦味の入っていない溶液であっても摂取しようとしなくなる。10秒間にリックする最大値が80程度であることから、本実験ではその半値40を制限値とし、濃い苦味溶液である4 mM 安息香酸デナトニウム溶液を10秒間に40回以上リックした場合は、水への欲求が過度に強い条件下での測定であったと判断し、その溶液提示サイクルのデータを解析から排除した。また、水あるいは薄い苦味溶液である0.25 mM 安息香酸デナトニウム溶液を10秒間に40回未満しかリックしない場合は、水への欲求が過度に弱い条件下での測定であったとし、その溶液提示サイクルのデータを解析から排除した。好ましい味である甘味及びうま味溶液に対するリック計測では、絶水処理を行っていないので、水を提示してもほとんどリックしようとしなない。マウスの好ましい味を摂取したいというモチベーションが十分に高い条件下でなければ甘味・うま味溶液の評価をすることが難しい。そこで、本実験では濃い甘味溶液である4%スクロース溶液を10秒間に40回未満しかリックしない場合は、好ましい味に対する摂取モチベーションが過度に低い条件下にあるとし、そのサイクルのデータを解析から排除した。さらに、リックをせずに次の提示溶液に移った場合、つまりリック回数が「0」と記録されたデータについては、そのデータのみ解析から排除した。1種類の実験は何度か繰り返して行い、新規恐怖の影響を避けるため、初日のデータは解析に用いなかった。

## 実験結果および考察

### 1. 苦味のリック解析

24時間絶水後に0.125～4 mM 安息香酸デナトニウム溶液を提示し、各溶液10秒間のリック数を計測した結果を図1 aに示す。マウスは元来、苦味は嫌いであるが、飲水欲求とのバランスにより、安息香酸デナトニウム0.5mM程度の苦味までは積極的に摂取行動を

とっていることが示されている。1 mM以上では、濃度依存的にリック数が減少し、2～4 mMでは忌避していると判断した。24時間絶水により安定したリック数が再現されるものの、実験日により多少の変動があるため、以降の苦味マスキング実験の際には、その都度苦味溶液単独の希釈系列を提示し、同一日の同一条件でマスキング効果を検討することにした。

### 2. 甘味・うま味・塩味による苦味のマスキング

苦味マスキング効果を数値化するために種々の濃度の苦味溶液に一定量の甘味・うま味・塩味を添加する実験を行った。0.125～4 mMの安息香酸デナトニウムに2.5mM サッカリン Na を添加した溶液を提示した場合のリック数を図1 bに示す。サッカリン Na 添加により1及び2 mM 安息香酸デナトニウム溶液でリック数の増加が認められ、リックカーブは高苦味濃度側へのシフトが見られた。リック数が最大値の半値を示す苦味濃度を比較することにより、2.5mM サッカリン Na 添加は安息香酸デナトニウムの苦味を約40%弱めていると推算される。0.125～4 mMの安息香酸デナトニウムに500mM グルタミン酸 Na を添加した溶液を提示した場合のリック数を図1 cに示す。グルタミン酸 Na 添加により1～4 mM 安息香酸デナトニウム溶液でリック数の増加が認められ、リックカーブは高苦味濃度側へのシフトが見られた。リック数が最大値の半値を示す苦味濃度を比較することにより、500 mM グルタミン酸 Na 添加は安息香酸デナトニウムの苦味を約69%弱めていると推算される。0.125～4 mMの安息香酸デナトニウムに100mM 塩化ナトリウムを添加した溶液を提示した場合のリック数を図1 dに示す。塩化ナトリウム添加により1及び2 mM 安息香酸デナトニウム溶液でリック数の増加が認められ、リックカーブは高苦味濃度側へのシフトが見られた。リック数が最大値の半値を示す苦味濃度を比較することにより、100mM 塩化ナトリウム添加は安息香酸デナトニウムの苦味を約46%弱めていると推算される。

### 3. 甘味・うま味の苦味マスキング特性

苦味マスキング効果の特性を検討するために一定量の苦味溶液に種々の濃度の甘味・うま味を添加する実験を行った。2 mM 安息香酸デナトニウム溶液に0.06～15mM サッカリン Na を添加した場合のリック数を図2 aに示した。添加量の増加に応じたリック数の増加が認められた。2 mM 安息香酸デナトニウム溶液に1.2～300mM グルタミン酸 Na を添加した場合のリック

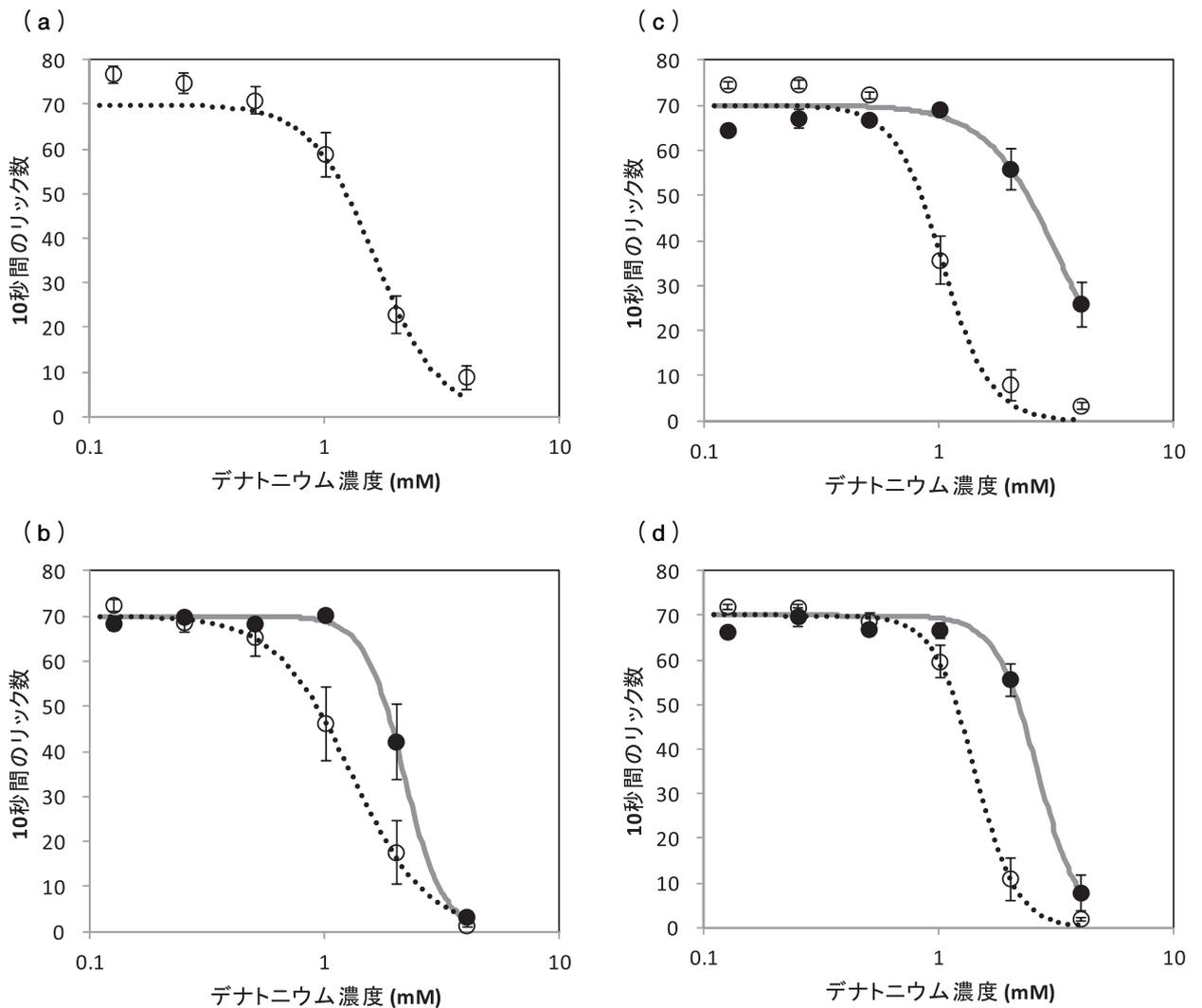


図1. 甘味・うま味・塩味による苦味マスキング効果

○は苦味単独, ●は甘味/うま味/塩味を添加した溶液に対するリック数. a) は濃度の異なる安息香酸デナトニウム溶液に対する嗜好の大きさを示す.  $n = 32-42$ . b) は2.5mM サッカリン Na を添加した時の嗜好変化を示す.  $n = 5-20$ . c) は500mM グルタミン酸 Na を添加した時の嗜好変化を示す.  $n = 16-40$ . d) は100mM 塩化ナトリウムを添加した時の嗜好変化を示す.  $n = 9-40$ . いずれも値は平均 $\pm$ 標準誤差.

ク数を図2 b)に示した. 添加によりリック数の増加が認められたが, 1.2~30mM の間で増加量の変化は見られず, サッカリン Na 添加のような濃度相関は見られなかった. 今回使用した濃度範囲のサッカリン Na やグルタミン酸 Na は単独で苦味を感じるという報告はなく, 苦味受容体への直接作用はないことから, 末梢での阻害ではなく, 苦味, 甘味, うま味の情報が別個に脳まで伝達され, 脳内で $\beta$ -エンドルフィンが放出されることによる嫌悪感の中和処理が行われることで苦味感の低下が起きているものと予想される. マスキング効果における脳内処理の関与の大きさを調べる

には, ナロキソン投与等による $\beta$ -エンドルフィン作用の阻害実験が必要となると考えられる.

#### 4. 甘味・うま味溶液に対する嗜好性試験

甘味・うま味に対する嗜好の濃度依存性を検討するために以下の実験を行った. 1.25~20mM サッカリン Na に対するリック数を図3 a)に, 150~1200mM グルタミン酸 Na に対するリック数を図3 b)に示した. 本実験では絶水処理を施さず, 水単独への欲求が小さくなっている条件下で試験を行った. いずれの場合も濃度増加に応じたリック数の増加が認められ, サッカリ

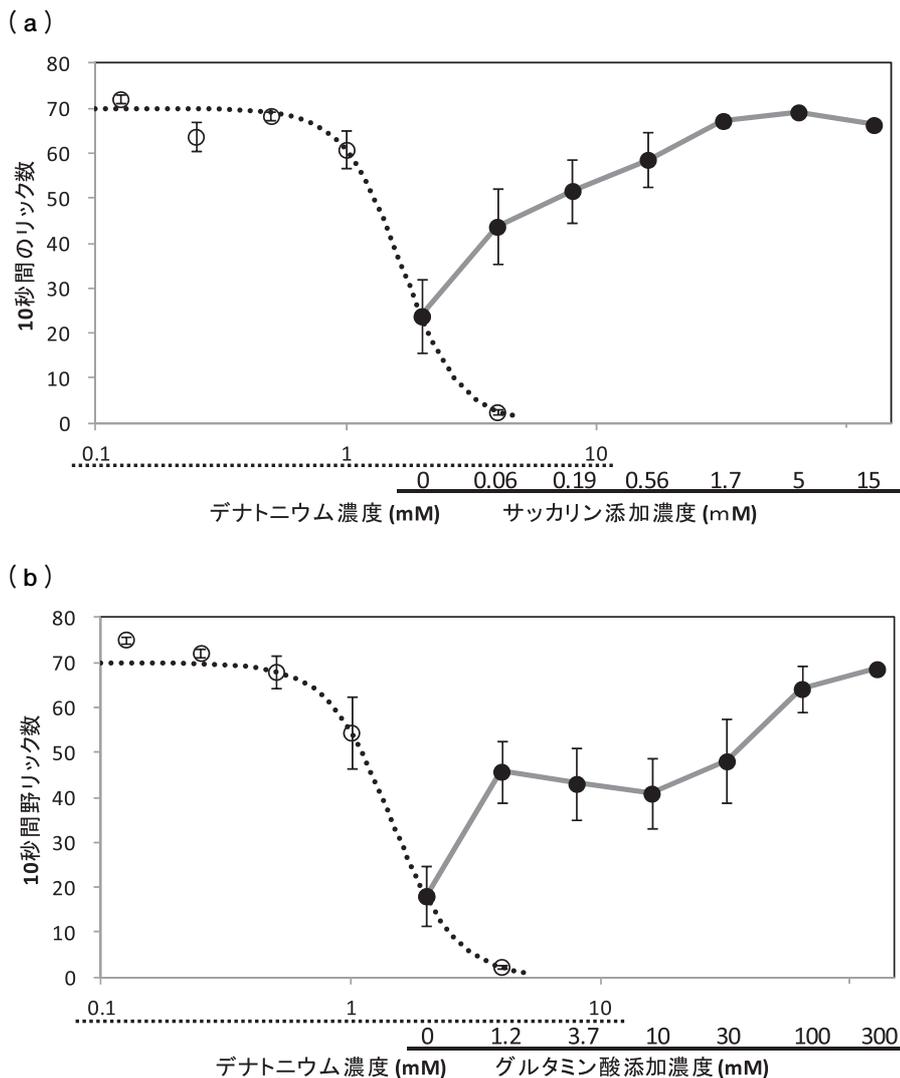


図2. 甘味・うま味の苦味マスキング特性

○は苦味単独, ●は甘味/うま味を添加した溶液に対するリック数. a) は2 mM安息香酸デナトニウム溶液に濃度の異なるサッカリンNaを添加した時の嗜好変化を示す. n=13-20. b) は2 mM安息香酸デナトニウム溶液に濃度の異なるグルタミン酸Naを添加した時の嗜好変化を示す. n=14-20. いずれも値は平均±標準誤差.

ンNa溶液, グルタミン酸Na溶液を好ましい味として認識していることが確認できた. いずれの場合も2倍希釈系列であるが, グルタミン酸Naのリック数増加の方がサッカリンNaに比べて緩やかである傾向が認められた. この行動学実験の結果は, 苦味をマスキングした際のサッカリンNaとグルタミン酸Naの効果特性の違いにつながっている可能性がある. 苦味物質・甘味物質・うま味物質には多種多様なものがあり, 種々の組み合わせによりマスキング特性は異なることが容易に想像できる.

本手法は苦味物質とマスキング剤が直接作用するこ

とによって起こるマスキング効果評価に限らず, 苦味物質と他の味物質からの味覚情報が別個に脳へ伝えられた後の脳内処理によって起こる間接的なマスキング効果評価, あるいはそれらの混合系における効果評価にも応用できる長所がある. しかし, マウスとヒトで脳内処理機構が同じであっても, その大きさや影響力が同じであるとは限らない. ヒト官能試験の前段階として利用可能であるものの, 遺伝的背景・食経験の異なる群であるヒトに外挿するには, いっそうの詳細データ蓄積が必要となるものと考えられる.

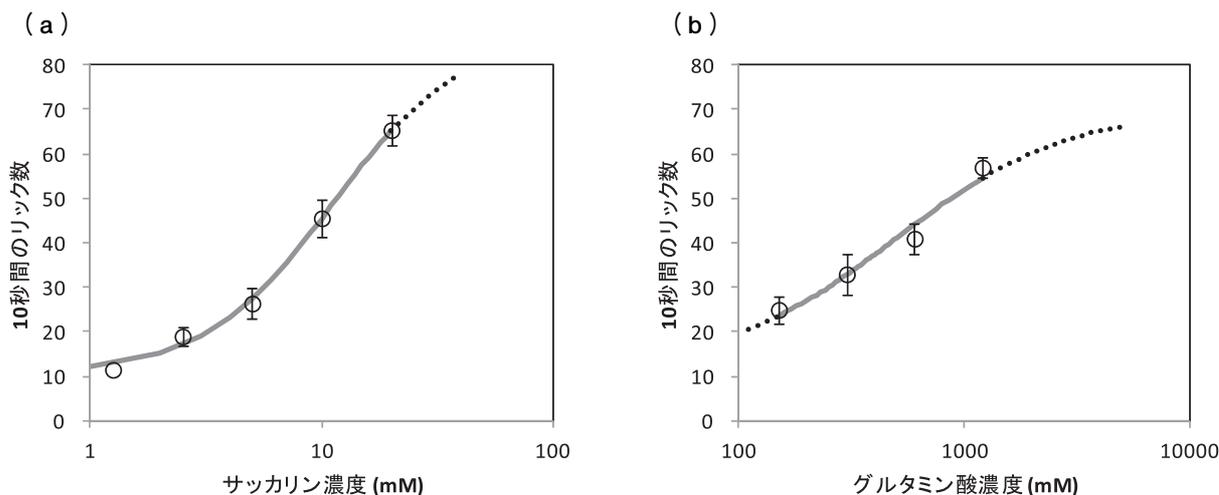


図3. 甘味・うま味の嗜好性試験

a) は濃度の異なるサッカリン Na 溶液に対する嗜好の大きさを示す.  $n = 20-22$ . b) は濃度の異なるグルタミン酸 Na 溶液に対する嗜好の大きさを示す.  $n = 27-50$ . いずれも値は平均 $\pm$ 標準誤差.

## 要約

マウスは提示された試料溶液の嗜好に依存して、その溶液を舐める回数が増える。この習性を利用して、種々の濃度の安息香酸デナトニウム苦味溶液に対する嗜好性を解析した。さらに、甘味素材であるサッカリン Na、うま味素材であるグルタミン酸 Na、塩味素材である塩化ナトリウムを苦味溶液に添加した場合の嗜好性変化を検討し、変化の大きさを数値化した。その結果、2.5mM サッカリン Na では約40%、500mM グルタミン酸 Na では約69%、100mM 塩化ナトリウムでは約46%苦味を弱くさせている可能性が示された。このことは、ヒト官能パネリスト試験の前段階として、実験動物を用いたマスキング効率の客観的評価が有効である可能性を示唆している。

## 参考文献

- 1) 植田真澄. 粒剤の苦味マスキングのための最近の製剤化技術と展望. 岐阜薬科大学紀要, **44**, 18-31 (1995).
- 2) Hamashita T, Matsuzaki M, Ono T, Ono M, Tsunenari Y, Aketo T, Watano S. Granulation of Core Particles Suitable for Film Coating by Agitation Fluidized Bed

II. A Proposal of a Rapid Dissolution Test for Evaluation of Bitter Taste of Ibuprofen. *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 883-887 (2008).

- 3) 湯浅宏. 製剤技術の最新動向 微粒子乾式コーティング法を用いた製剤化技術. 粉体技術, **2**, 48-54 (2010).
- 4) 桂木能久. 苦味阻害剤. 表面科学, **21**, 376-381 (2000).
- 5) Sakurai T, Misaka T, Nagai T, Ishimaru Y, Matsuo S, Asakura T, Abe K. pH-Dependent Inhibition of the Human Bitter Taste Receptor hTAS2R16 by a Variety of Acidic Substances. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 2508-2514 (2009).
- 6) Chandrashekar J, Mueller KL, Hoon MA, Adler E, Feng L, Guo W, Zuker CS, Ryba NJ. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell*. **100**, 703-711 (2000).
- 7) 芳仲幸治, 竹村優子. 高甘味度甘味料スクラロース・ソーマチンの農畜水産加工品への応用. F F I ジャーナル, **215**, 333-337 (2010).
- 8) Breslin PA, Beauchamp GK. Suppression of bitterness by sodium: variation among bitter taste stimuli. *Chem. Senses.*, **20**, 609-623 (1995).
- 9) Keast RS, Canty TM, Breslin PA. The influence of sodium salts on binary mixtures of bitter-tasting compounds. *Chem. Senses.*, **29**, 431-439 (2004).

- 10) Manabe Y, Kuroda K, Imaizumi M, Inoue K, Sako N, Yamamoto T, Fushiki T, Hanai K. Diazepam-binding in inhibitor-like activity in rat cerebrospinal fluid after stimulation by an aversive quinine taste. *Chem. Senses.*, **25**, 431–439 (2000).
- 11) Yamamoto T, Sako N, Maeda S. Effects of taste stimulation on beta-endorphin levels in rat cerebrospinal fluid and plasma. *Physiol. Behav.*, **69**, 345–350 (2000).
- 12) Harder DB, Whitney G, Frye P, Smith JC, Rashotte ME. Strain difference among mice in taste psychophysics of sucrose octaacetate. *Chem. Senses*, **9**, 311–323 (1984).
- 13) 河合崇行. 動物行動学に基づいた美味しさの評価およびリック計測器の開発. *食糧*, **49**, 1–20 (2011).

## 研究ノート

**Effect of cooking procedure and roasting on the protein composition and *in vitro* digestibility of common bean proteins**Michiko Momma<sup>§</sup>, Keiko Sasaki\*, Kiyoshi Ohba\*, Seiichiro Isobe

National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan

\*Hokkaido Tokachi Area Regional Food Processing Technology Center

**Abstract**

We examined the effect of traditional nama-ann preparation and paste cooking from whole beans and bean flour with /without enzymatic treatment on the formation of cell granules and protein composition in order to improve the protein availability and quality of common beans. We found that a substantial amount of protein and other nutritional elements was lost in the traditional whole bean cooking procedure and that it could remove the basic subunit of legumin, a pepsin-resistant protein, from the available protein fraction. Roasting before milling improved the pepsin digestibility of phaseolin; trace amounts of phaseolin, lectin, and 15-kDa polypeptide remained tolerant to digestion. Legumin, a pepsin-resistant protein in common beans, was not detected in roasted bean flour.

Key words: common bean, legumin, pepsin-resistant protein, phaseolin, red kidney bean, roasting

Abbreviations: SGF, simulated gastric fluid

**Introduction**

Among a variety of plants foods, beans are one of the important resources for global human nutrition. They are high in protein, low in fat and sodium, and a good source of fiber, certain minerals, vitamins, and antioxidant polyphenols. Bean proteins in general, however, have a lower nutritional value due to their lower digestibility and deficiency in one or more essential amino acids (Porzucek *et al.*, 1991; Friedman, 1996). It is also known that heat processing of whole beans causes formation of cell granules which are resistant to human digestion (Noah *et al.*, 1998).

The digestibility of bean proteins has been studied extensively. It has been known that the digestibility of

phaseolin, a major protein in common beans, is remarkably improved by heat processing, although it is highly resistant to gastric enzymes in the native state (Despande and Nielsen, 1987; Nielsen *et al.*, 1988). In contrast, we found that the basic subunit of legumin, a storage protein in beans, remained highly tolerant to pepsin even after extensive heating processing and several enzymatic treatments (Momma, 2006; Momma, 2007). The tolerance of proteins to digestive enzymes is also considered to reflect the risk of allergenicity, as it has been suggested that resistance to pepsin digestion is a significant and valid parameter that distinguishes a food allergen from a nonallergen (Astwood *et al.*, 1996).

In this study, first, we surveyed the protein composition of a traditionally cooked common bean paste (nama-ann). Then, we examined the effects of paste processing

---

<sup>§</sup> Corresponding author: Phone: +81-29-838-8004, Fax: +81-29-838-7996  
e-mail: michiko@affrc.go.jp

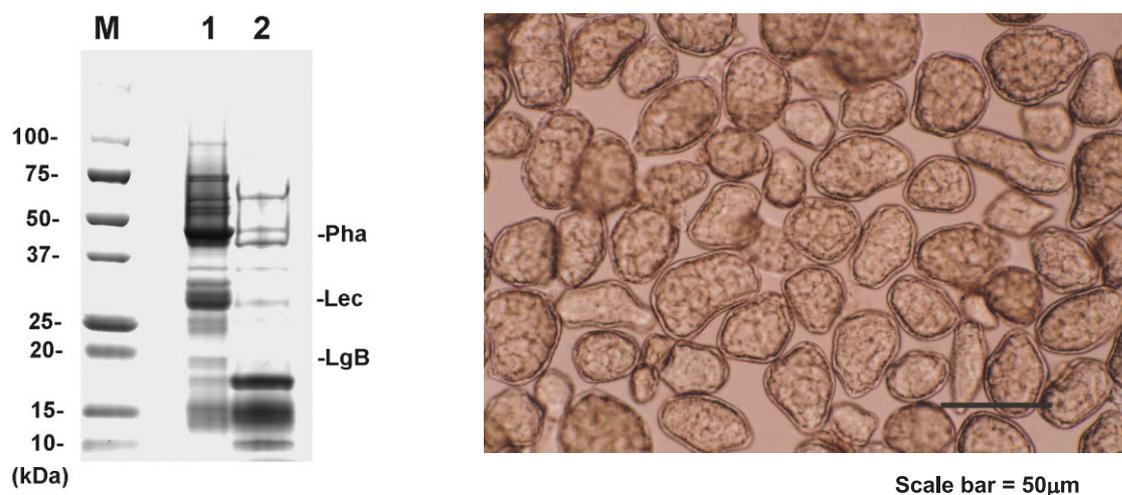


Fig.1 Protein composition (left) and micrograph (right) of nama-ann prepared from white common beans

M: Molecular weight marker; lane 1, bean flour; lane 2, nama-ann extract. Marks on the right indicate phaseolin (Pha), lectin (Lec), and the basic subunit of legumin (LgB), respectively.

from bean flour and whole beans with/without enzymatic treatment and roasting of beans before flouring on the protein composition and behavior of pepsin-resistant proteins.

## Materials and Methods

### Preparation of traditional bean paste (nama-ann)

Nama-ann, a traditional bean paste, was prepared at the Tokachi Area Regional Food Processing Technology Center as follows. Beans were soaked overnight and boiled for 15 min. After cooling them by pouring water, beans were boiled again for 1 h, kept there for another 1 h, and strained through a 60-mesh to remove the hull. The process of washing with water and collecting the precipitated nama-ann was repeated 3 times. Nama-ann was put in a cloth bag, pressed to remove excess water, and freeze dried. Proteins in the freeze-dried powder or flour (50 mg) were extracted by adding 500  $\mu$ L sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) sample buffer and boiling for 5 min.

### Preparation of whole bean/flour paste

Whole beans (20 g) were soaked in 60 mL of water

overnight. Intact beans were milled, and 20 g of flour was mixed with 60 mL of water. The mixture was heated at 120°C for 4 min by using an autoclave. After cooling down to 50°C to 53°C, 100 mg of crude  $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1. from *Bacillus subtilis*, Wako 013-03732) was added, the mixture was kept at 50°C for 1 h, and then boiled for 5 min. Control samples were incubated at the same temperature without adding amylase. Proteins were extracted from 200 mg of the pastes with 0.2 mL of SDS-PAGE sample buffer and analyzed by SDS-PAGE.

### Roasting of red kidney beans

Red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Taisho kin-toki) were supplied by the Bean Fund Association of Japan. About 60 kg of beans were roasted at 152°C for 20 min at a manufacture's plant in the Tokachi area of Hokkaido. Roasted beans were crushed by using a twin-screwed crusher (Suehiro EPM, Yokkaichi, Japan) at 200 rpm and subsequently milled by using a hummer mill (Type SK1, Retsch GmbH, Haan, Germany) with a screen of 250  $\mu$ m.

### Pepsin digestion assay

Distilled water was added at 10 times (v/w) of the

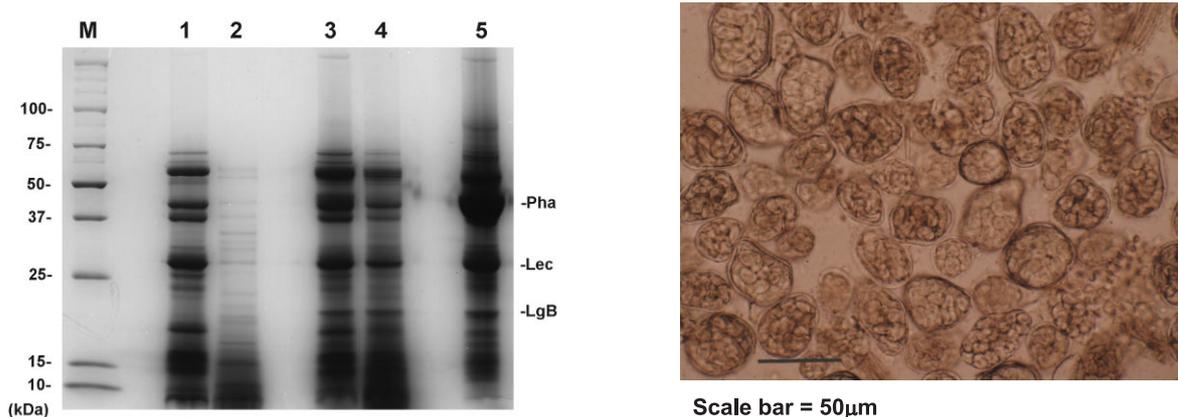


Fig.2 Protein composition (left) and micrograph (right) of cooked common bean pastes

Lane 1, whole bean paste without enzymatic treatment; lane 2, whole bean paste digested with crude amylase; lane 3, flour paste without enzymatic treatment; lane 4, flour paste with crude amylase digestion; lane 5, bean flour (raw). Marks on the right indicate phaseolin (Pha), lectin (Lec), and the basic subunit of legumin (LgB), respectively.

flour. The mixture was then homogenized by using a Hiscotron homogenizer (NS-50, Nichi-On) for 1 min at 10,000 rpm. After centrifugation at 8,000g for 20 min, supernatants were collected. The protein concentration of the extracts was estimated by employing a microassay procedure using a protein assay reagent (BioRad). *In vitro* pepsin digestibility of the extracted protein was examined by using the method of Astwood *et al.* (1996). SDS-PAGE samples were loaded onto a 5% to 20% polyacrylamide precast gel (Atto NPG 520) and subjected to electrophoresis at 20 mA for 90 min. The resultant gel was stained with Coomassie brilliant blue (CBB R-250).

## Results and Discussion

### Protein composition of traditionally cooked bean paste (nama-ann)

White common beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Yukitebou) were used for the nama-ann preparation since it is the most popular material for nama-ann preparation in Japanese confectionery. The protein composition and a micrograph (right) of nama-ann prepared from white common beans are shown in Fig. 1. As shown in the micrograph, the nama-ann paste prepared from whole beans was composed of cell granules associated with a proteinaceous matrix, derived from cotyledonary cells of beans (Noah *et al.*, 1998). Some debris was found, probably because of the washing procedure during the preparation. In

the SDS-PAGE pattern (Fig. 1, left), phaseolin was the major protein in common bean flour, and lectin and other minor proteins, including legumin, were also found in the flour. In contrast, the content of phaseolin, lectin, and other high-molecular weight polypeptides was very low, and legumin was not detected in the nama-ann paste (lane 2). Noah *et al.* (1998) reported that about 17% of starch in cotyledonary cell granules in cooked beans was resistant starch, and they showed that the cell granules remained in the human ileum at 3 h after ingestion. From these results, it was suggested that proteins and other substance in common beans were “trapped” in cell granules, which are covered by resistant carbohydrates during the cooking procedure. Though a more detailed examination is needed with regard to the composition of materials in the granules and their extractivity, the results implied that a substantial amount of proteins and other nutritional elements was lost in the traditional cooking procedure. On the other hand, it was also implied that the basic subunit of legumin, a pepsin-resistant protein and possible allergen in common bean, was removed or “trapped” in cell granules in the traditionally cooked nama-ann paste, which could be related to the low incidence of common bean allergies in Japan.

### Protein composition of cooked pastes made of whole beans or bean flour

In the previous studies, we found a 20-kDa polypep-

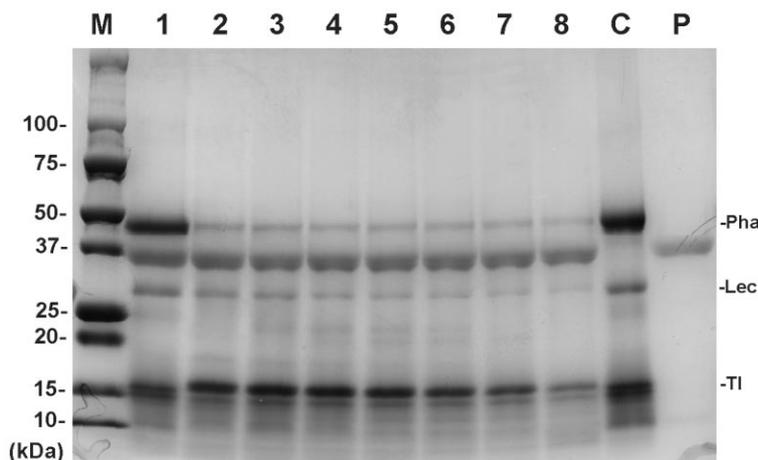


Fig. 3 Pepsin digestibility of proteins in roasted beans

M: Molecular weight marker. Protein extract of roasted beans was incubated in simulated gastric fluid (SGF, 0.32% pepsin from porcine stomach [3300 U/mg, Wako], 30 mM NaCl, pH 1.2) for 0, 0.25, 1, 2, 4, 8, 15, and 60 min, respectively (lanes 1-8). Extract and SGF were run alone (lanes marked C and P, respectively). Marks on the right indicate phaseolin (Pha), lectin (Lec), and trypsin inhibitor (TI), respectively.

tide in common beans, which was highly tolerant to pepsin digestion, and identified it to be the basic subunit of legumin (Momma, 2006, 2007). Since red kidney beans contain rather high amounts of legumin among the a series of bean samples examined, in this study, we used red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Taisho kintoki) to examine the behavior of legumin and proteins in bean pastes prepared from bean flour and whole beans with/without enzymatic treatments.

As shown in the micrograph (Fig. 2, right), the whole bean paste contained cell granules and a substantial amount of debris, because the paste preparation procedure did not include a washing process as compared to the nama-ann preparation. In the enzymatically processed whole bean paste (lane 2), almost no protein was detected, except for low-molecular-weight polypeptides. This result implied that most of the proteins outside the cell granules were degraded during paste preparation, probably by co-existing proteinases, and proteins in the cell granule were not extracted in the SDS-PAGE sample preparation.

In the result of SDS-PAGE, the paste prepared from bean flour appeared to contain more proteins than that prepared by cooking whole beans (Fig. 2, left, lanes 1 and 3). The amounts of phaseolin, lectin, and 60- and 37-kDa polypeptides in the flour paste decreased by incubation

with a commercial crude amylase in the course of paste cooking (lanes 3 and 4 in Fig. 2), probably because of co-existing proteolytic enzymes. In the pastes prepared from flour with/without enzymatic treatments, an evident band of the basic subunit of legumin was observed, while it was not detected in the paste made of whole beans (lane 1). The enzymatic treatment during paste cooking appeared not to affect the amount of the basic subunit of legumin.

These results indicated that the available protein content was increased by preparing the paste from flour, but this procedure resulted in the presence of legumin, a pepsin-resistant and possibly allergenic polypeptide, in the bean paste. The formation of cell granules in whole bean pastes might prevent the release of the basic subunit of legumin into the fraction of available proteins in the pastes.

#### Effect of roasting on the protein composition and pepsin digestibility of flour paste

In order to enhance the digestibility of bean proteins and prevent the presence of legumin in the products, we applied a roasting procedure to whole red kidney beans prior to flouring. Roasted bean flour contained phaseolin, lectin, and a trypsin inhibitor as major proteins (Fig. 3, lane 1). Minor proteins, including the pepsin-resistant le-

gumin subunit, were not observed in the SDS-PAGE profile. As explained above, though phaseolin, the most abundant protein in beans, is highly stable in the intact state, it is known that heating results in a drastic increase in its susceptibility to proteolytic enzymes (Despande and Nielsen, 1987). In the previous studies, we affirmed that the digestibility of phaseolin in red kidney beans was improved remarkably by boiling for 10 min with three times of water (Momma, 2006). The rapid decrease in phaseolin in the pepsin assay (Fig. 3) suggested that heat processing by roasting at 152°C for 20 min, which was a similar procedure as the preparation of roasted soybean powder (Kinako), could improve the digestibility of phaseolin in red kidney beans. Notably, no evident band of the basic subunit of legumin was detected in the flour and pepsin digests after up to 60 min. It would be of interest to investigate whether legumin molecules interact with each other and/or other components (eg, starch molecules) during the roasting process.

However, it should be noted that there were trace amounts of phaseolin, lectin, and a 15-kDa polypeptide, which showed resistance to pepsin. Maleki *et al.* (2000) reported that Ara h1 and Ara h2, two major allergens in peanuts, were more resistant to digestion by gastrointestinal enzymes once they had undergone the Maillard reaction. Ara h1 belongs to the 7S globulin family (vicilin-type protein) in peanuts as phaseolin in common beans. We consider that similar mechanisms might be involved in the persistent resistance of phaseolin and other proteins in roasted red kidney beans. The amount of a 16-kDa polypeptide appeared to increase after the start of the pepsin assay (lane 2). This polypeptide, probably generated by cleavage of phaseolin (Venkatachalam and Sathe, 2003), also showed resistance to pepsin digestion. Further investigation is necessary to identify the optimal heating condition.

In conclusion, we found that a substantial amount of proteins and other nutritional elements was lost in the traditional whole bean cooking procedure, while it could remove the basic subunit of legumin, a pepsin-resistant protein, from the available protein fraction. From the experimental results of this paste preparation and roasting study, we concluded that it would be possible to enhance the availability of bean proteins and develop more innovative utilization processes by combining appropriate heating and

flouring processing, though further quantitative analysis and optimization of heat treatment are necessary.

## Acknowledgment

This work was supported by a project research from the Japan Bean Fund Association and “Food Functionality” project from the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries.

## References

- Astwood, J. D., Leach, J. N. and Fuchs, R. L. (1996). Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotech.*, **14**, 1269-1273.
- Despande, S.S. and Nielsen, S.S. (1987). *In Vitro* enzymatic hydrolysis of phaseolin, the major storage protein of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Food Science.*, **52**, 1326-1329.
- Friedman, M. (1996). Nutritional value of proteins from different food sources: a review. *J. Agric. Food. Chem.*, **44**, 6-29.
- Fujino, K., Funatsuki, H., Inada, M., Shimono, Y. and Kikuta, (2001). Y., Expression, cloning and immunological analysis of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seed storage proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1825-1829.
- Maleki, S. J., Kopper, R. A., Shin, D. S., Park, C.-W., Compadre, C. M., Sampson, H., Burks, A. W. and Bannon, G. A. (2000). Structure of the major peanut allergen Ara h 1 may protect IgE-binding epitopes from degradation. *The Journal of Immunology*, **164**, 5844-5849.
- Momma, M. (2006). A pepsin resistant 20 kDa protein found in red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was identified as basic subunit of legumin. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **70**, 3058-3061
- Momma, M. (2007). In vitro protein digestibility of flours and cooked pastes prepared from white common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Yukitebou). *Food Science and Technology Research*, **13**, 166-168
- Nielsen, S. S., Deshpande, S. S., Hermodson, M. A. and Scott, M. P. (1988). Comparative digestibility of legume storage proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 896-902.
- Noah, L., Guillon, F., Bouchet, B., Bulleon, A., Molis, C.,

- Gratas, M., Champ, M. (1998). Digestion of carbohydrate from white beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in healthy humans. *J. Nutri.*, **128**, 977-985.
- Porzucek, H., Larsson-Raznikiewicz, M. and Mirosława Klepacka. (1991). *In vitro* protein digestibility of flours and protein isolates from seeds of some Leguminous plants. *Swedish J. Agric. Res.*, **21**, 49-53.
- Roux, K. H., Teuber, S. S., Robotham, J. M. and Sathe, S. K. (2001). Detection and stability of the major almond allergen in foods. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 2131-2136.
- Venkatachalam, M. and Sathe, S. K. (2003). Phaseolin in vitro pepsin digestibility: Role of acids and phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3466-3472.

## いんげん豆加工処理が耐消化性粒子の形成，蛋白質組成ならびに試験管内消化性に与える影響について

門間美千子，佐々木香子\*，大場潔\*，五十部誠一郎

食品総合研究所，\*財団法人十勝圏振興機構食品加工技術センター

### 要 約

いんげん豆蛋白質の有効利用を図るため，生餡加工，ペースト化における細胞粒子形成ならびに蛋白質組成への影響について調べたところ，いんげん豆の全粒加熱調理により耐消化性細胞粒子が形成され，蛋白質の利用効率が低下するが，一方でペプシンに耐性をもつレグミン塩基性サブユニットが除去されることが示された。いんげん豆主要蛋白質ファゼオリンの消化性を

高めつつ，レグミンの混入を防ぐことを目的に，粉碎前に焙煎処理を行った。焙煎処理によってファゼオリンはペプシン分解を受けやすくなったが，痕跡量のファゼオリン，レクチンおよび15kDa タンパク質の残存が見られた。焙煎粉末ではペプシン耐性蛋白質であるレグミンのバンドは観察されなかった。本研究により，加工条件によって餡に含まれる蛋白質やアレルゲンの組成を制御できる可能性が示唆され，いんげん豆蛋白質の利用に関する有益な知見が得られた。

## 研究ノート

Inulin Fructotransferase (DFA III-producing) From *Arthrobacter nicotinovorans* K-9

Kazutomo Haraguchi\*

National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8642 Japan

## Abstract

An inulin fructotransferase (DFA III-producing) [EC 2.4.1.93] from *Arthrobacter nicotinovorans* K-9 was purified and characterized. The enzyme was purified 35.7-fold from the culture supernatant of the microorganism with a yield of 12.1 %. The enzyme showed maximum activity at 60°C and pH 6.0, and its activity was stable up to 70°C after 30 min of heat treatment. Its molecular mass was estimated to be 40 kDa by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, and 70 kDa by gel filtration, and the enzyme was considered to be a dimer.

Key words: *Arthrobacter*, DFA III (difructose dianhydride III), inulin, enzyme, purification

## Introduction

Inulin is a polysaccharide found in chicory, *Dahlia*, Jerusalem artichoke, and other plants. Its chemical structure is a  $\beta$ -2, 1- linked fructose polymer terminated by a sucrose residue. Inulinase [EC 3.2.1.7] is an inulin-decomposing enzyme, which is present in molds and yeast. In addition a novel inulin-decomposing enzyme was found to be produced by *Arthrobacter ureafaciens*<sup>1)</sup>. The enzyme converts inulin into a di-D-fructofuranose 1,2':2, 3' dianhydride (DFA III) oligosaccharide and a small number of other oligosaccharides, and it was designated as inulin fructotransferase (DFA III-producing) [EC 2.4.1.93]. Subsequently, there have been several reports on the presence of inulin fructotransferase in *Arthrobacter* species<sup>2),5)</sup> and Kang et al.<sup>6)</sup> reported that the enzyme is found in *Bacillus* sp. We have reported that the enzyme is also found in

*Leifsonia* sp.<sup>7)</sup>.

The DFA III is half as sweet as sucrose and it accelerates the assimilation of minerals (i.e. calcium and iron) from intestine<sup>8)</sup>. Therefore, DFA III has potential to be used for osteoporosis and anemia caused by iron deficiency. The industrial production of DFA III started in Japan in 2004. DFA III containing commodities are now commercially available at drugstores and convenience stores in Japan. Thus, inulin fructotransferase (DFA III-producing) is an industrially important enzyme, even though its price is very high (¥50,000/ kg). The high cost is partly because of the low productivity of the enzyme producing microorganisms, and hence microorganisms with of high enzyme activity are required.

We recently isolated a microorganism, strain K-9, which produced highly active inulin fructotransferase in the culture supernatant. Through taxonomic studies, the microorganism was identified as *Arthrobacter nicotino-*

§ Corresponding author: Phone: Tel: +81-029-838-8073, Fax: +81-029-838-7996  
e-mail: haraguti@affrc.go.jp

*vorans*. In this paper, we describe how we identified the microorganism, and also the purification methods and properties of the enzyme.

## Materials and Methods

### Microorganism identification

We isolated a microorganism, strain K-9, from a soil sample collected in Chiba prefecture, Japan. Genomic DNA extraction, rDNA amplification, and DNA sequencing were performed by NCIMB Japan, Co Ltd., Shizuoka, Japan. For the extraction of a genomic DNA, achromopeptidase (Wako, Pure Chemicals, Ltd., Japan) was used. The amplification of 16S rDNA was performed using PrimeSTAR HS DNA polymerase (Takara Bio Inc, Japan). The DNA sequencing was performed using an ABI PRISM 3130xl genetic analyzer system (Applied Biosystems, USA).

### Cultivation of the microorganism

To generate a starter culture, 1 loop of the microorganism (strain K-9) was inoculated into 100 mL of medium (composed of 0.4 % (w/v)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 %  $\text{NaNO}_3$ , 0.05 %  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.001 %  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.001 %  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.05 % yeast extract (Difco), and 0.3 % inulin, pH 7.0) in a 500 mL shaking flask. The culture was incubated at 30°C for 24 h, with reciprocal shaking. The starter culture was inoculated in a 5-L Erlenmeyer flask containing 1 L of the same medium and cultured at 30°C, for 24 h. After cultivation, the cells were removed by centrifugation (8000g, 30 min) and the supernatant was used as a crude enzyme solution.

### Standard assay methods

For measuring the enzyme activity, 0.5 mL of 0.1M citrate buffer, (pH 6.0), the enzyme solution (0.1 mL), deionized water (0.4 mL), and 2 % inulin (1.0 mL) were mixed. Enzyme reaction was performed at 60°C, for 30 min, and the reaction was stopped by heating at 100°C, for 7 min. The DFA III produced was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC; 4.6 mm x 25 cm column; Shim-pack CLC ODS; Shimadzu Co Ltd, Kyoto, Japan; mobile phase, water; detector, refractive index detector). One unit of the enzyme was defined as the amount of the enzyme that could produce 1  $\mu\text{mole}$

DFA III per min at 60°C and pH 6.0. The protein concentrations were determined by the method of Lowry et al<sup>9</sup>.

### Purification of enzyme

The crude enzyme solution was dialyzed against, 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0. The dialyzed enzyme solution was applied to a column of DEAE-Toyopearl 650M (2.5 cm x 20 cm, Tohsoh Co Ltd, Japan) equilibrated with 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0. The elution was performed with a linear 0 to 0.5 M NaCl gradient in the same buffer. The fraction showing the enzyme activity was pooled and dialyzed against 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 containing ammonium sulfate (100 g/L). The dialyzed enzyme solution was applied to a column of Butyl-Toyopearl 650M (1.5 cm x 14 cm, Tohsoh Co Ltd, Japan) equilibrated with 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 containing an ammonium sulfate (100 g/L). The elution was performed with linear 100 to 0 g/L ammonium sulfate gradient in the same buffer. The fraction containing the enzyme activity was pooled and dialyzed against 10 mM Tris HCl buffer, pH 8.0. The dialyzed solution was applied to a column of Super Q Toyopearl (1.5 x 14 cm) equilibrated with 10 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0. The elution was performed with 0 to 0.5 M NaCl gradient in the same buffer. The fraction containing the enzyme activity was pooled and used as the purified enzyme fraction.

### Estimation of molecular mass

The molecular mass of the enzyme was estimated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) using a ready-made gel (Pagel: NPU-10L, Atto Co Ltd, Japan). The molecular mass of the enzyme was also estimated by gel filtration on an HPLC, column, (TSK-gel G3000SWXL; Tohsoh Co Ltd, Japan; mobile phase, 100 mM sodium phosphate buffer, pH 7.0, containing 0.5 M NaCl; flow rate, 0.5 mL/min; detection, UV 280 nm).

### Amino acid sequencing

The purified enzyme was electrophoretically blotted on a PVDF membrane (Sequi-Blot, Bio-Rad Laboratories Co Ltd, USA). The amino acid sequence of the N-terminal region of the enzyme was analyzed by automated Edman degradation with a G1005A Protein Sequencer (Hewlett Packard Co Ltd, USA).

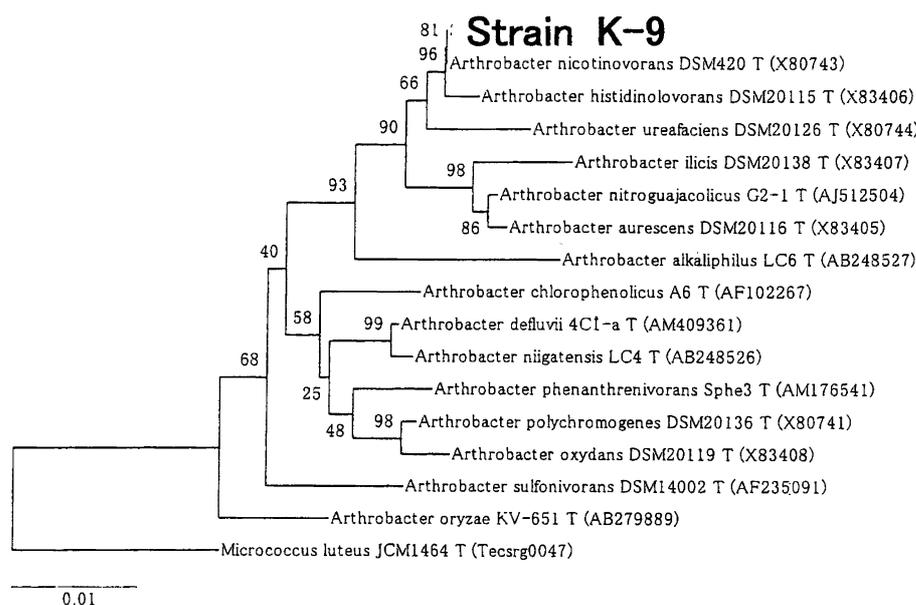


Fig. 1 Molecular genealogical analysis of the rDNA sequences of the microorganisms

The full-length of the 16S rDNA sequence was analyzed by Apollo 2.0 software (Techno Suruga Co. Ltd., Shizuoka). The small numbers at the junctions are the bootstrap values. The bar at the bottom left is a scale bar for genetic distance.

#### Preparation of reaction products from inulin

The reaction products were prepared by combining, 0.1 M citrate buffer, pH 6.0 (2.0 mL), purified enzyme solution (1.0 mL, 2.0 U/mL) and 4 % inulin (1.0 mL). The enzyme reaction was performed at 60°C for 22 h and then, heated at 100°C for 7 min to stop the reaction. After cooling, the reaction mixture was analyzed by a paper chromatography. Paper chromatography was performed at 37°C using Toyo No.50 filter paper (Advantec Toyo, Co Ltd, Japan) with a solvent system of n-butyl alcohol: pyridine: water (3:2:2, by volume). The chromatogram was irrigated twice. The spots of the reaction products were revealed with resorcinol-HCl reagent.

## Results and Discussion

#### Identification of the microorganism

Taxonomic studies were performed by NCIMB Japan, Shizuoka, Japan. The K-9 microorganism was a gram-positive, non-spore-forming aerobic bacterium, that was catalase positive and oxidase negative. From these results, strain K-9 was hypothesized to be a coryneform bacterium. The 16S rDNA sequence showed 99.8% homology with the sequence of *Arthrobacter nicotinovorans* (type strain). Molecular genealogical analysis of the 16S

rDNA sequence showed that strain K-9 clustered with *Arthrobacter nicotinovorans* (Fig. 1). These results suggested that strain K-9 was *Arthrobacter nicotinovorans*.

#### Purification of enzyme

Table 1 shows the enzyme purification scheme. The enzyme was purified 35.7-fold with a yield of 12.1 % by a DEAE-Toyopearl, a Butyl Toyopearl and a Super Q-Toyopearl chromatography. The Super Q-Toyopearl fraction was analyzed by SDS-PAGE. As shown in Fig. 2, it gave a single band.

#### Effect of pH and temperature on enzyme activity

The effect of pH on the enzyme activity was investigated for the pH range of 4.0 to 8.0 at 60°C. As shown in Fig.3 (A), maximum activity was obtained at pH6.0. The enzyme reaction was performed in the range of 30°C to 75°C at pH 6.0. As shown in Fig. 3 (B), maximum activity was obtained at 60°C. Table 2 summarizes the properties of inulin fructotransferase from different microorganisms. In the industrial production of oligosaccharide DFA III, the enzyme from *Arthrobacter* sp. H65-7 is used. For increased production of DFA III, high specific activity of the enzyme is needed. We determined the specific activity of the enzyme of the enzyme from *A. nicotino-*

Table 1. Purification of the enzyme from *Arthrobacter nicotinovorans* K-9.

Step	Total activity (Units)	Total protein (mg)	Specific activity (U/mg protein)	Yield (%)
Crude enzyme	1650	78.2	21.1	100
DEAE-Toyopearl	882	6.60	134	53.5
Butyl-Toyopearl	397	1.01	393	24.1
Super Q-Toyopearl	199	0.264	754	12.1

Table 2. Comparison of inulin fructotransferases (DFA III-producing)

Microorganism	Optimum pH (°C)	Optimum temp.(°C)	Heat Stability	Molecular mass (kDa)		Ref.
				SDS-PAGE	Gel-filtration	
<i>A. nicotinovorans</i> K-9	6.0	60	70	40	70	This work
<i>A. ureafaciens</i>	6.0	50	50		80	(1)
<i>A. globiformis</i> C11-1	5.0	55	75	45	50	(2)
<i>A. ilicis</i> OKU-17B	5.5	60	70	27	50	(3)
<i>Arthrobacter</i> sp. H65-7	5.5	60	70	49	100	(4)
<i>Arthrobacter</i> sp. L68-1	5.5-6.0	55	80	43	73	(5)
<i>Bacillus</i> sp. snu-7	6.0	40	60	62		(6)
<i>Leifsonia</i> sp. T88-4	5.0	65	60	44	74	(7)

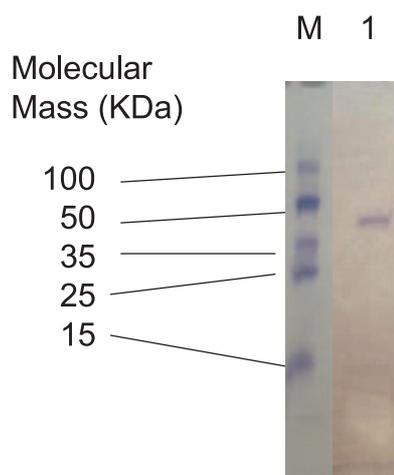


Fig. 2 The SDS-PAGE of the purified enzyme fraction

Lane M, Molecular mass standards; lane 1, Super Q- Toyopearl Fraction (0.1 µg protein/lane). The protein bands were stained with Coomassie brilliant blue R250.

*vorans* K-9 to be 754 units/ mg protein (Table 1), while the known specific activity of the enzyme from *Arthrobacter* sp. H65-7 is 604 units/ mg protein<sup>4</sup>). Therefore, the specific activity of *A. nicotinovorans* K-9 is higher than that of the industrial strain.

#### Thermal stability

The enzyme solution was heated at various temperatures for 30 min at pH 6.0, and the residual activities were then measured at 60°C and pH 6.0. As shown in Fig. 3 (C), the enzyme was stable up to 70°C, but it was inacti-

vated at 75°C.

#### Molecular mass estimation

Based on the plots of logarithmic molecular mass of the enzyme vs. protein mobility determined by SDS-PAGE, the molecular mass of the enzyme was estimated to be 40 kDa. By gel filtration with TSK-gel G3000 SWXL, the molecular mass was estimated to be 70 kDa. On the basis of these results, the enzyme was considered to be a dimer.

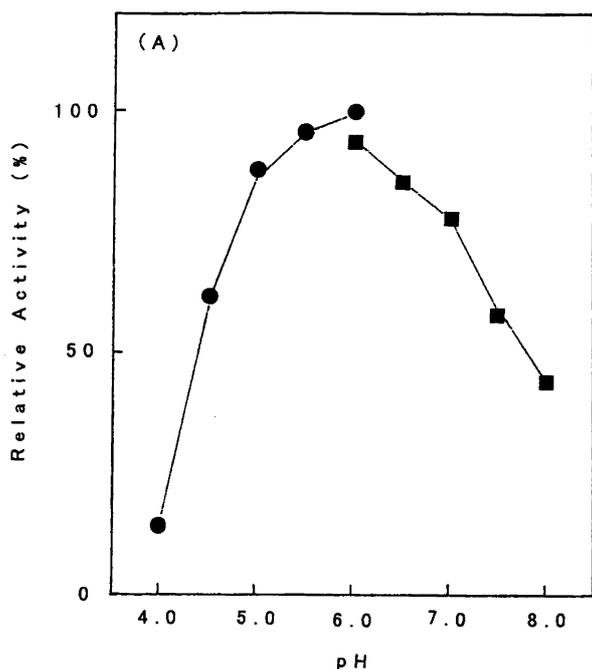


Fig. 3 (A) Effect of pH on the enzyme activity; (●), Citrate buffer; (■), Phosphate buffer.

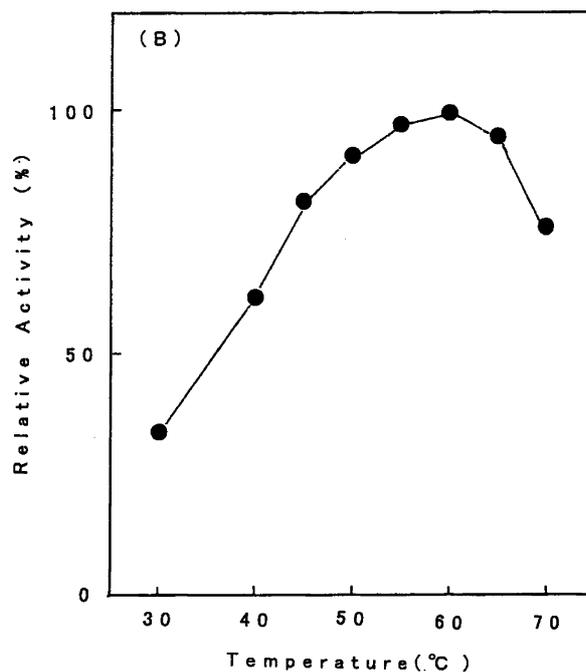


Fig. 3 (B) Effect of temperature on the enzyme activity.

#### N-terminal amino acid sequence

The N-terminal amino acid sequence of the enzyme was analyzed by a protein sequencer. However, the machine was unable to determine the N-terminal amino acid sequence.

#### Reaction products

The reaction mixtures of the enzyme from *A. nicoitovorans* K-9, were analyzed by a paper chromatography. The  $R_f$  values for the main reaction products and 2 residual oligosaccharides (minor products) were 0.98, 0.43 and 0.35, respectively. The  $R_f$  values for the standard materials (DFA III, GF<sub>2</sub> (1-kestose), GF<sub>3</sub> (nystose), and GF<sub>4</sub> (fructosyl nystose)) were 0.98, 0.52, 0.42 and 0.35, respectively. Therefore, the residual oligosaccharides were believed to be GF<sub>3</sub>, and GF<sub>4</sub>.

#### References

- 1) Uchiyama, T., Niwa, S., & Tanaka, K. (1973) Purification and properties of *Arthrobacter ureafaciens* inulase II. *Biochim. Biophys. Acta*, **315**, 412-420.
- 2) Haraguchi, K., Kishimoto, M., Seki, K., Hayashi, K.,

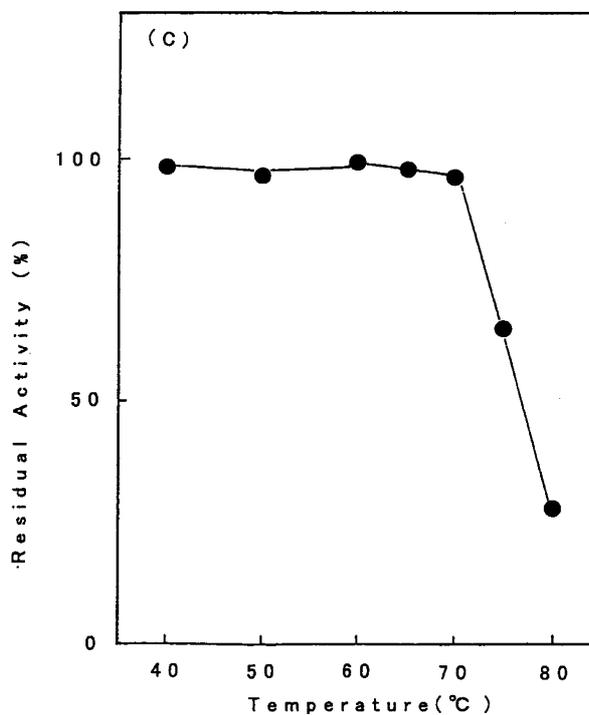


Fig. 3 (C) Thermal stability of the enzyme.

- Kobayashi, S., & Kainuma, K. (1988) Purification and properties of inulin fructotransferase (depolymerizing) from *Arthrobacter globiformis* C11-1. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 291-292.
- 3) Kawamura, M., Takahashi, S., & Uchiyama, T. (1988) Purification and some properties of inulin fructotransferase (depolymerizing) from *Arthrobacter ilicis*. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 3209-3210
- 4) Yokota, A., Enomoto, K., & Tomita, F. (1991) Purification and properties of an inulin fructotransferase (depolymerizing) from *Arthrobacter* sp. H65-7. *J. Ferment. Bioeng.*, **72**, 262-265.
- 5) Haraguchi, K., Yoshida, M., & Ohtsubo, K. (2005) Thermostable inulin fructotransferase (DFA III-producing) from *Arthrobacter* sp. L68-1. *Carbohydr. Polym.*, **59**, 411-416.
- 6) Kang, S., Kim, W., Chang, Y., & Kim, S. (1998) Purification and properties of inulin fructotransferase (DFA III-producing) from *Bacillus* sp. snu-7. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 628-631.
- 7) Haraguchi, K., Yoshida, M., & Ohtsubo, K. (2006) Inulin fructotransferase (DFA III-producing) from *Leifsonia* sp. T88-4., *Carbohydr. Polym.*, **66**, 75-80 .
- 8) Saito, K. & Tomita, F. (2000) Difructose anhydrides: Their mass production and physiological functions. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **64**, 1321-1327.
- 9) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr A.L., & Randall R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.

## *Arthrobacter nicotinovorans* K-9 の Inulin fructotransferase (DFA III-producing)

原口 和朋

農研機構・食品総合研究所

### 要 約

新たに分離した DFA III オリゴ糖合成酵素生産菌 K-9株について分類学的検討を行った結果、本菌は *Arthrobacter nicotinovorans* と同定された。本菌株の DFA III 合成酵素を粗酵素液である培養上清から DEAE-トヨパール、Butyl-トヨパール、SuperQ-トヨパールによ

るクロマトグラフィーにより、電気泳動的に均一に精製した。本酵素の反応至適 pH は6.0、反応至適温度は60℃であった。本酵素の耐熱性について検討すると70℃まで安定という結果が得られた。本酵素の分子量について検討すると SDS-電気泳動から40KDa、ゲル濾過から70KDa という値が得られた。このため本酵素はホモダイマーと推察される。

## 研究ノート

**Comparison of antiproliferative effects of trichothecene mycotoxins, nivalenol and deoxynivalenol, in cultured cells**Hitoshi Nagashima<sup>§</sup>, Masayo Kushiro, Hiroyuki Nakagawa and Keiko IwashitaNational Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization  
2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan**Abstract**

To elucidate the mechanisms underlying the toxicities of nivalenol (NIV) and deoxynivalenol (DON), their potencies on cell proliferation in cultured cells were investigated. Assays were performed after 24 h of treatment. Both toxins retarded proliferation of all 4 cell lines tested. NIV was more potent than DON in the human promyelocytic leukemia cell line HL60, the human lymphoblastic leukemia cell line MOLT-4, and the rat aortic myoblast cell line A-10. In contrast, both toxins exhibited almost the same potencies in the human hepatoblastoma cell line HepG2. If both toxins exert their toxicities through the same mechanism, ratios of the 50 % inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of DON to NIV are expected to be constant regardless of the types of cells used in the assays. However, the ratios of each IC<sub>50</sub> varied, indicating differences in the mechanism of action of these toxins.

Key words: cell proliferation; deoxynivalenol; nivalenol

**Introduction**

A variety of *Fusarium* fungi produce a number of trichothecenes, a significant class of mycotoxins. At present, more than 100 trichothecene mycotoxins are known; nivalenol (NIV) and deoxynivalenol (DON) are 2 such trichothecenes, which have similar chemical structures. The *Fusarium* fungi are commonly found on cereals grown in temperate regions (Creppy, 2002). In Japan, NIV contamination as well as DON contamination of cereals is commonly found (Nakajima and Yoshida, 2007); hence, studies on both NIV and DON toxicities are very meaningful. Leucopenia is one of the leading signs of trichothecene toxicosis (Joffe, 1971), implying that tricho-

thecenes hinder cell proliferation. Indeed, we have demonstrated NIV-caused retardation of cell proliferation in human leukemia HL60 cells (Nagashima et al., 2006).

Besides, cell proliferation is one of the most fundamental biological phenomena. In this study, therefore, to elucidate the mechanism underlying the toxicities of NIV and DON, we focused on their effects on cell proliferation in various cultured cells and compared the potencies of both toxins.

**Materials and Methods****Chemicals and cells**

NIV and DON were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) and dissolved in dimethyl sulfoxide. A

<sup>§</sup> Corresponding author: Phone: +81-29-838-8085; Fax: +81-29-838-7996  
e-mail: nagasima@affrc.go.jp

colorimetric immunoassay kit (Cell Proliferation ELISA, BrdU [colorimetric]) was purchased from Roche Diagnostics GmbH (Penzberg, Germany). The human promyelocytic leukemia cell line HL60 and the human hepatoblastoma cell line HepG2 were purchased from RIKEN Cell Bank (Tsukuba, Japan). The human acute lymphoblastic leukemia cell line MOLT-4 was purchased from Health Science Research Resources Bank (Sennan, Japan). The rat aortic myoblast cell line A-10 was purchased from American Type Culture Collection (Manassas, VA). HL60 and MOLT-4 cells were cultured in Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 medium (Invitrogen Corp, Carlsbad, CA) containing 10 % fetal calf serum (FCS; JRH Biosciences Inc, Lenexa, KS). A-10 and HepG2 cells were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Nissui Pharmaceutical Co, Ltd, Tokyo, Japan) containing 10 % FCS (JRH Biosciences).

### Cell proliferation

Cell proliferation was investigated by measuring 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation during DNA synthesis, as described previously (Nagashima and Goto, 2000). Approximately  $1.5 \times 10^4$  cells (HL60) or  $2 \times 10^3$  cells (MOLT-4, A-10, and HepG2) in 100  $\mu$ L of medium containing either NIV or DON were placed in each well of a 96-well microtiter plate, and cell proliferation was assessed after 24 h of culture.

## Results and Discussion

DON hindered cell proliferation in HL60 cells and the 50 % inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) was  $0.36 \pm 0.09$   $\mu$ g/mL (1.22  $\mu$ M) in 5 replicates. Considering that the  $IC_{50}$  of NIV was 0.16  $\mu$ g/mL (0.51  $\mu$ M) in HL60 cells (Nagashima et al., 2006), DON is less potent than NIV concerning the cell proliferation in this cell line. Though the  $IC_{50}$  was slightly lower, MOLT-4 cells exhibited similar results to HL60 cells (Fig. 1). Because both cell lines are categorized as leukemia cell lines, this coincidence would be accounted for by the cell type. To our knowledge, this is the first report describing the effects of trichothecene mycotoxins on MOLT-4 cells. The results of the assays with A-10 cells showed the same trend as in the former 2 cell lines; that is, NIV is more potent than DON (Fig. 1). However, the  $IC_{50}$  of DON in A-10 cells

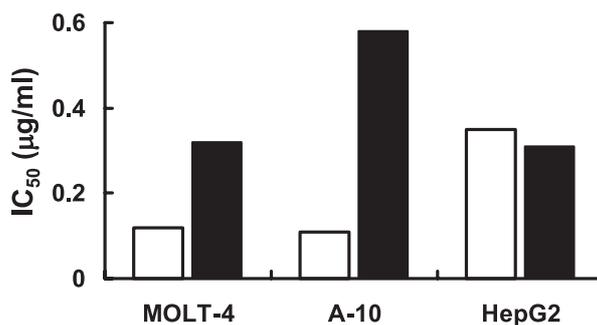


Fig. 1 Antiproliferative effects of trichothecene mycotoxins on MOLT-4, A-10, and HepG2 cells

Cells were treated with either nivalenol (NIV) or deoxynivalenol (DON) for 24 h. Open and filled bars represent treatment with NIV and DON, respectively. Each cell proliferation assay was examined in triplicate.  $IC_{50}$  stands for 50 % inhibitory concentration.

was higher than that in the former 2 cell lines; consequently, the ratio of the  $IC_{50}$  of DON to that of NIV in A-10 cells was higher than that in the former 2 cell lines. To our knowledge, there is no report on the effects of trichothecene mycotoxins on A-10 cells, although a different type of the trichothecene mycotoxin T-2 toxin was reported to retard cell proliferation in primary cultured cells derived from aortic smooth muscles (Yaron et al., 1987). The  $IC_{50}$  of DON in HepG2 cells was similar to that in HL60 and MOLT-4 cells, while the  $IC_{50}$  of NIV was evidently higher than that in other cell lines (Fig. 1). Contrary to the results from other cell lines, the potency of DON was the same as or even higher than that of NIV in HepG2 cells. With regard to cell proliferation, NIV is more potent than DON in most of the cells tested (Johannisson et al., 1999; Luongo et al., 2008; Minervini et al., 2004; Severino et al., 2006; Taranu et al., 2010; Thuvander et al., 1999), indicating that HepG2 is an exception. Sahu et al. (2010) investigated the effects of DON on the viability of HepG2 cells; however, they did not address the effect on cell proliferation.

Supposing that both NIV and DON exert their toxicities through the same mechanism and that the only difference between NIV and DON is the potency of their toxicity, the ratios of the  $IC_{50}$  of DON to that of NIV are expected to be almost the same, regardless of the cell line. However, the ratio of the  $IC_{50}$  ranges from 0.9 (HepG2) to 5.3 (A-10), indicating that there are some differences in

the mechanisms underlying the toxicities of NIV and DON.

In the present study, we investigated the effects of NIV and DON on cell proliferation in various cultured cells and demonstrated the differences of toxicities between these toxins. However, further studies are required to identify what factor(s) contributes to the difference.

### References

- Creppy, E. E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.*, **127**, 19-28.
- Joffe, A.Z. (1971). Alimentay toxic aleukia. In "Microbial Toxins VII," ed. by S. Kadis, A. Ciegler and S.J. Ajl. Academic Press Inc., New York, pp. 139-189.
- Johannisson, A., Bj rkhag, B., Hasson, W., Gadhasson, I., and Thuvander, A. (1999). Effects of four trichothecene mycotoxins on activation marker expression and cell proliferation of human lymphocytes in culture. *Cell Biol. Toxicol.*, **15**, 203-215.
- Luongo, D., de Luna, R., Russo, R., and Severino, L. (2008). Effects of four Fusarium toxins (fumonisin B<sub>1</sub>,  $\alpha$ -zearalenol, nivalenol and deoxynivalenol) on porcine whole-blood cellular proliferation. *Toxicon*, **52**, 156-62.
- Minervini, F., Fornelli, F., and Flynn, K.M. (2004). Toxicity and apoptosis induced by the mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and fumonisin B<sub>1</sub> in a human erythro-leukemia cell line. *Toxicol. In Vitro*, **18**, 21-28.
- Nagashima, H., and Goto, T. (2000). Calcium channel blockers verapamil and diltiazem impaired rubratoxin B-caused toxicity in HL60 cells. *Toxicol. Lett.*, **118**, 47-51.
- Nagashima, H., Nakagawa, H., and Iwashita, K. (2006). Cytotoxic effects of nivalenol on HL60 cells. *Mycotoxins*, **56**, 65-70.
- Nakajima, T., and Yoshida, M. (2007). Mycotoxin productivity and virulence of Fusarium graminearum species complex causing Fusarium head blight on wheat and barley in the western part of Japan. *Jpn. J. Phytopathol.*, **73**, 106-111.
- Sahu, S.C., O'Donnel Jr., M.W., and Wiesenfeld, P.L. (2010). Comparative hepatotoxicity of deoxynivalenol in rat, mouse and human liver cells in culture. *J. Appl. Toxicol.*, **30**, 566-573.
- Severino, L., Luongo, D., Bergamo, P., Lucisano, A., and Rossi, M. (2006). Mycotoxins nivalenol and deoxynivalenol differentially modulate cytokine mRNA expression in Jurkat T cells. *Cytokine*, **36**, 75-82.
- Taranu, I., Marina, D.E., Burlacu, R., Pinton, P., Damian, V., and Oswald, I.P. (2010). Comparative aspects of in vitro proliferation of human and porcine lymphocytes exposed to mycotoxins. *Arch. Anim. Nutr.*, **64**, 383-393.
- Thuvander, A., Wikman, C., and Gadhasson, I. (1999). In vitro exposure of human lymphocytes to trichothecenes: Individual variation in sensitivity and effects of combined exposure on lymphocyte function. *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 639-648.
- Yaron, R., Sherman, Y., Bergmann, F., Sintov, A., and Berman, L.D. (1987). T-2 toxin effect on rat aorta: Cellular changes in vivo and growth of smooth muscle cells in vitro. *Exp. Mol. Pathol.*, **47**, 143-153.

## 培養細胞におけるトリコテセン系マイコトキシンのニバレノールと デオキシニバレノールの細胞増殖阻害活性の比較

長嶋 等・久城 真代・中川 博之・岩下 恵子

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

### 要 約

ニバレノール(NIV)とデオキシニバレノール(DON)の毒性発現機構を解明するために、培養細胞の増殖に対する両毒素の阻害効果を検討した。毒素処理24時間後に試験を行った。両毒素は試験に供した4つの培養細胞の増殖を遅らせた。ヒト前骨髄球白血病細胞 HL 60とヒトリンパ芽球白血病細胞 MOLT-4, ラット大動

脈筋芽細胞 A-10においては、DON よりも NIV の方が効果が強かった。これに対し、ヒト肝芽腫細胞 HepG 2では両毒素ともほぼ同じ効果を示した。もし両毒素が同一の毒性発現機構で毒性を発揮しているのであれば、細胞の種類にかかわらず DON と NIV の50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) の比は一定になると考えられるが、各々の細胞の IC<sub>50</sub>の比は一様でないことから、両毒素の毒性発現機構には違いがあると考えられた。

研究ノート

醤油粕の植物細胞壁分解酵素製剤及び糸状菌培養による減量効果

服部 領太, 楠本 憲一<sup>§</sup>, 鈴木 聡, 北本 則行\*, 柏木 豊

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*愛知県産業技術研究所 食品工業技術センター

The decreasing effect of soy sauce refuse by degradation  
with plant cell wall hydrolyzing enzymes and culture of filamentous fungi

Ryota Hattori, Ken-Ichi Kusumoto<sup>§</sup>, Satoshi Suzuki, Noriyuki Kitamoto\*, and Yutaka Kashiwagi

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*Food Research Center, Aichi Industrial Technology Institute

Abstract

The purpose of this study was to decrease the soy sauce refuse and utilize it as microbial culture media. The insoluble fraction of the tested soy sauce refuse was decreased to around 70% of the initial weight at the maximum by the treatment of the commercial plant cell wall degrading enzymes. *Aspergillus tamarii* NFRI1618 achieved the highest mycelial amount among the tested fourteen filamentous fungus strains by static culture. This strain has a possibility that it increases the nutritious value of the soy sauce refuse as animal feed.

Keywords : 醤油粕, 酵素剤, 糸状菌

緒言

醤油は、味噌や味醂、酢と共に、調味料として我が国で伝統的に利用されてきた発酵食品である。醤油粕は醤油工場で、生醤油の濾過工程において余剰物として排出される醤油加工上の副生物である。醤油会社か

ら発生する醤油絞り粕は年間約10万トンにのぼる。醤油の製造工程は、炒って挽き割った小麦と蒸煮した大豆（脱脂大豆、あるいは丸大豆）を混合し、そこに種麴を添加混合して発酵させる。その後、食塩水を混合し、発酵タンクにて約6ヶ月間発酵させる。タンク内の醤油諸味（モロミ）は原料由来の植物繊維やタンパク質、麹菌菌体、醤油主発酵酵母、後発酵酵母や乳酸

<sup>§</sup>連絡先, kusumoto@affrc.go.jp

菌等の混合物より構成される。醤油諸味を圧搾機で搾り、生揚（キアゲ）醤油を得た残渣が醤油粕である。醤油粕の発生量は、使用原料重量の約25%、醤油生産量の約8%と推定されている。発生直後の醤油粕の水分含量は、26~34%の範囲である。発生直後の醤油粕を生粕と呼び、ほとんどの工場はこの状態で処分しているが、飼料向けには生粕を粉碎し、さらに乾燥するメーカーもある<sup>1)</sup>。一方、水分含量が約30%と高いこと、食塩含量は7~8%と比較的高いことが醤油粕処理を困難にしている理由として挙げられる。一部の醤油粕は、乳牛の飼料に利用されると共に、キノコ用培地としての利用、炭化して土壤改良剤としての利用、ボイラーの助燃剤としての利用がある<sup>2)</sup>が、ほとんどの粕は産業廃棄物として専門業者に引き取られ、処理されているのが現状であり、多くの醤油メーカーで醤油粕の廃棄コストの増加が問題となっている。

そこで、醤油粕を減量、または有効利用するための研究が進められており、醤油粕を培地とした微生物生産<sup>3,7)</sup>、醤油粕由来の生理機能成分の同定<sup>4)-6)</sup>に関する報告がある。

一方、醤油粕の酵素分解による低減化に関連しては、セルロース分解酵素の効果が認められているが、醤油粕中の非セルロース系多糖類の減少が醤油粕減量につながるとの報告もある<sup>8-11)</sup>。実際の麹菌株あるいは酵素剤の利用を考慮すると、現状の酵素活性を有する麹菌株のみで醤油粕を低減化することには限界があり、醤油諸味への酵素剤使用による低減化、あるいは排出された醤油粕の酵素剤や微生物培養等による特性変換による利用が必要とされている。

そこで、本研究では、さらなる醤油粕の低減化と利用拡大を図るため、市販の植物細胞壁分解酵素剤を用いた醤油粕の分解試験及び、醤油粕使用培地による保存糸状菌株の培養を行い、菌体生育量と分解による醤油粕残渣の減少の比較を行った。その結果、醤油粕培地上で生育量が高い菌株を見出したこと、またその菌株の培養後の醤油粕残渣が供試酵素剤分解における減量割合の最高値と同等に減少することを見出したので、報告する。

## 実験材料及び方法

### 1. 供試菌株

供試菌株として、*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus awamori*, *Monascus anka* の計5種14株を使用した(表1)。

表1. 供試菌株

種名	NFRI 番号
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1133
<i>Aspergillus sojae</i>	NFRI1147
<i>Aspergillus sojae</i>	NFRI1148
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1572
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1575
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1577
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1599
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1600
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1601
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1603
<i>Aspergillus oryzae</i>	NFRI1607
<i>Aspergillus awamori</i>	NFRI1617
<i>Aspergillus tamarii</i>	NFRI1618
<i>Monascus anka</i>	NFRI1067

表2. 供試酵素剤

酵素剤名	由来	主要酵素活性
セルロシン T 2	<i>Trichoderma</i>	セルラーゼ
セルロシン A C 40	<i>A. niger</i>	セルラーゼ
セルロシン T P 25	<i>Trichoderma</i>	キシラナーゼ
セルロシン G M 5	<i>A. niger</i>	マンナーゼ
セルロシン P E 60	<i>A. niger</i>	ペクチナーゼ
セルロシン H C	<i>A. niger</i>	キシラナーゼ
セルロシン H C 100	<i>A. niger</i>	キシラナーゼ
セルロシン P C 5	<i>A. niger</i>	ペクチナーゼ
セルロシン B	<i>A. niger</i>	キシラナーゼ
ドリセラーゼ	<i>Irpex</i>	セルラーゼ

### 2. 酵素剤による醤油粕分解試験

市販植物細胞壁分解酵素剤として、9種類の阪急バイオインダストリー(株)製剤と、ドリセラーゼ(協和発酵製)を使用した(表2)。500ml容の三角フラスコ中で醤油粕(株イチビキ、水分27-28% (w/w)) 3.0gと60mlのイオン交換水を混合してオートクレーブ滅菌(121℃, 15分間)後、酵素剤を0.3g添加し、30℃で80rpmで振とうしながら、分解反応を18時間行った。その後、ろ過助剤として珪藻土を1.5g添加して、吸引ろ過を行った。残渣を60mlの脱イオン水で2回洗浄し、90℃で恒量まで乾燥後、秤量した。残渣の重量は珪藻土重量を差し引いて表記した。

### 3. 醤油粕培地による糸状菌の培養と醤油粕分解試験

500ml容の三角フラスコに醤油粕10g(乾燥重量)を入れ、イオン交換水100mlを加えた後、121℃で15分間オートクレーブ滅菌したものを醤油粕液体培地と

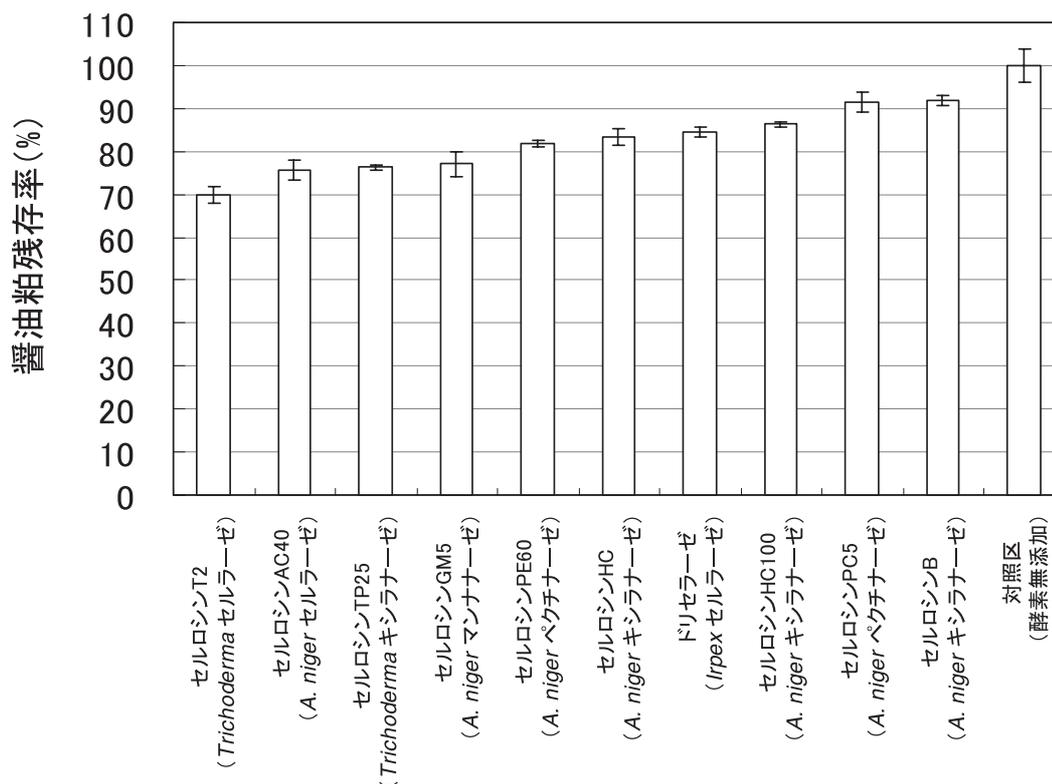


図1. 各種市販酵素剤処理による醤油粕固形分の残存率

各データは、3回の反復試験の平均値。また、各データの標準偏差を誤差線で示した。以下も同様。

した。麹菌として、*A. oryzae*, *A. sojae*, *A. tamarii*, *A. awamori*, *M. anka* の計5種14株(表1)を用い、これらの孢子懸濁液を $5 \times 10^6$ 孢子数となるよう植菌した。その後、30℃で約2週間、静置培養を行った。培養後、まず菌蓋となっている菌体を醤油粕が混在しないように注意深く取り出し、菌体を90℃で乾燥後、秤量した。また、菌体除去後の醤油粕残渣を別途、ろ過助剤として珪藻土を2.5g添加して、ろ紙(アドバンテック, No.2)を用いて吸引ろ過を行った。ろ過残渣をイオン交換水で2回洗浄し、90℃で恒量まで乾燥後、秤量した。

## 実験結果および考察

### 1. 酵素製剤による醤油粕の加水分解

酵素製剤で処理しない対照区における醤油粕不溶性固形分は、 $0.90 \pm 0.03$  g (3回の独立した試験の平均値 $\pm$ 標準偏差)であり、これは、供試した醤油粕の42% (乾燥重量換算)であった。これに市販植物細胞壁分解酵素製剤処理を施した場合は、セルラーゼ製剤、特に *Trichoderma* 由来セルラーゼ製剤(セルロシンT2)

処理により、不溶性固形分が対照区の約70%に減少した(図1)。*Trichoderma* は、結晶性及び非結晶性セルロース分解に関与するセロビオハイドrolラーゼとCMC液化酵素活性が高いとされる。菊池らは、醤油粕に含まれる多糖類と圧搾性すなわち濾過抵抗性への寄与率について、非セルロース系多糖類の寄与が70%以上、そのうち酸性多糖類のそれは40%以上と報告している<sup>8)</sup>。また、醤油粕中の不溶性固形分(洗浄粕)は、約10%の微生物菌体、30%のタンパク質、20%の大豆由来非タンパク質、30%の非タンパク質と推計した。そのうち、大豆由来の非セルロース系酸性多糖類は7%であった。また、洗浄粕中の多糖類は、セルロース、大豆由来の酸性多糖類、小麦由来のアラビノキシラン、デンプンであった<sup>9)</sup>。これらの結果から、菊池は、醤油粕を水洗浄した後に得られる不溶性固形分の約55%が醤油原料の大豆と小麦に由来する多糖類であり、セルロースは不溶性固形分の約35%、大豆由来ペクチンが約7%、小麦由来アラビノキシランが約10%であると報告している<sup>9)</sup>。このことから、菊池らの使用した醤油粕と組成の違いはあると考えられるが、セルロシンT2により、供試醤油粕中の不溶性固形分中のセル

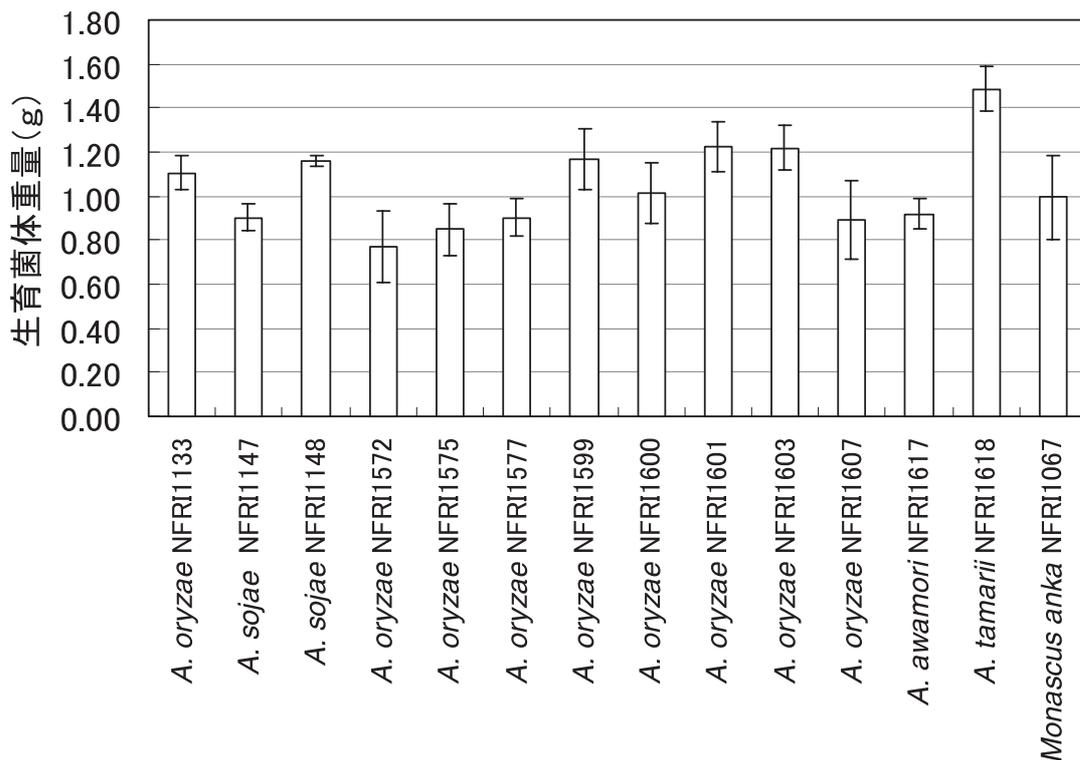


図 2. 各種糸状菌株の醤油粕培地での培養菌糸重量

ロースがほぼ加水分解により可溶性となり、除去されたと考えられる。セルラーゼ製剤は、反応産物であるグルコースによる反応阻害効果が高い。そこで、麹菌等の微生物培養により反応産物を炭素源として消費しながら、反応産物による阻害を回避することで、さらに効率的な醤油粕分解の可能性が考えられる。また、*Trichoderma* キシラナーゼ剤（セルロシン T P 25）や、*A. niger* マンナナーゼ製剤（セルロシン GM 5）処理においても、約76-77%に醤油粕固形分が減少した。また、*A. niger* ペクチナーゼ製剤（セルロシン P E 60）処理では、約82%と、セルラーゼ製剤ほどではないが、やはり醤油粕固形分が減少した。北本によれば、醤油中ではペクチンがゲル化しており、このことが醤油諸味の難圧搾性の原因であるとされる<sup>10)</sup>。また、中台によれば、醤油粕減量につながる麹菌株として、ペクチナーゼ活性の強い株を推奨している<sup>11)</sup>。*A. niger* ペクチナーゼ製剤にもセルラーゼ活性が混在している可能性はある。一方、菊池<sup>9)</sup>は大豆由来ペクチンが約7%と報告している。そこで、これに相当する量のペクチンがペクチナーゼ製剤により加水分解を受け、不溶性固形分のペクチン含量以上の減少につながったと考え

られる。このことから、醤油粕中の不溶性多糖類はそれぞれ複雑に相互作用しながら、圧搾の阻害要因となるが、その多糖類の一部を部分的に分解するだけでも、酵素剤の標的多糖類の減少以上の効果が期待されると考えられた。また、同じ *A. niger* ペクチナーゼ製剤でも、セルロシン P E 60とセルロシン P C 5では、不溶性固形分残渣量が10%近く異なり、酵素剤の調製法により効果が大きく異なることが明らかになった。また、酵素製剤は酵素群の混合物であり、主要な酵素と共にセルラーゼ等その他の酵素が含まれていることも、その原因と考えられる。同様に、*A. niger* キシラナーゼ製剤であるセルロシン H C、セルロシン H C 100とセルロシン Bでも、その固形分残渣減量効果に違いが見られた。また、これらの試験結果から、複数の酵素を組み合わせることにより、醤油粕不溶性固形分の分解に、相乗・相加効果が期待されるため、今後の検討事項とした。

## 2. 醤油粕使用培地上における糸状菌供試株の生育

糸状菌保存株による醤油粕培地上の静置培養後の菌体重量と醤油粕残渣重量の比較を行った。供試菌株14

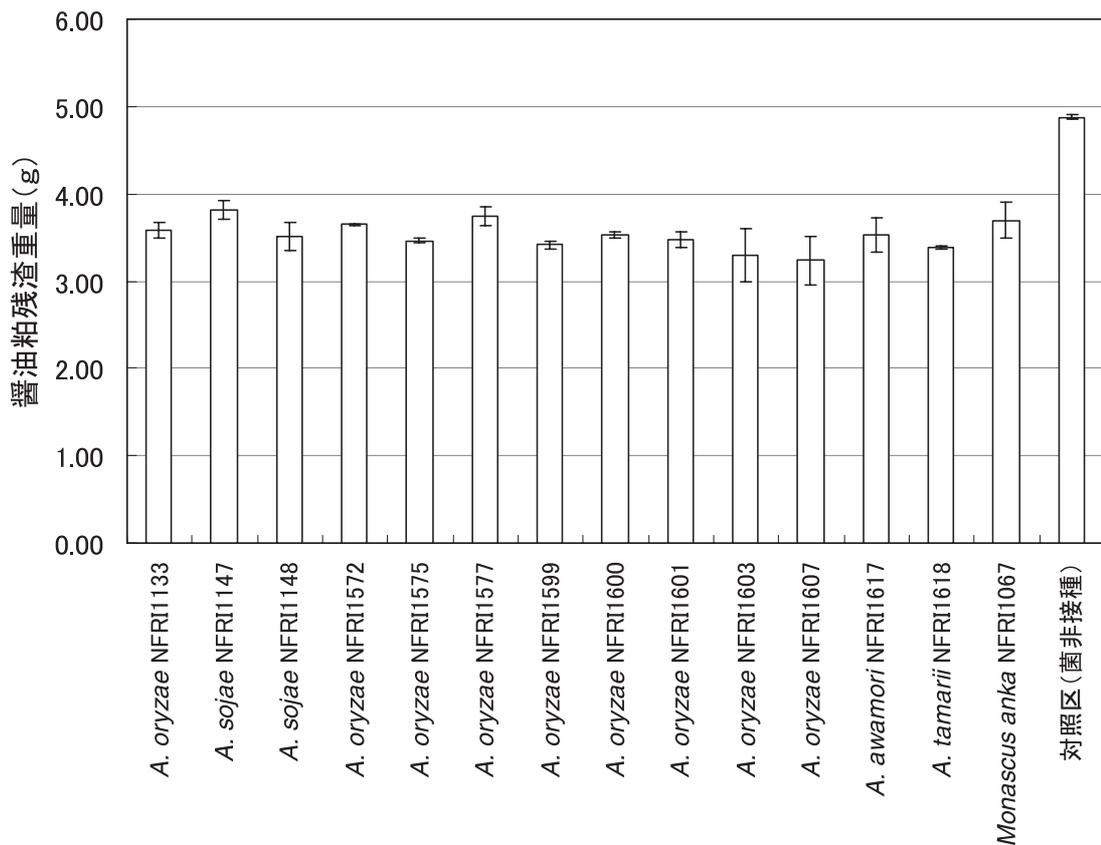


図3. 各種糸状菌株の醤油粕培地培養後における醤油粕残渣重量

株中では、*A. tamarii* NFRI1618の生育菌体量が平均で他株の約20%程度高かった(図2)。ここでは*A. tamarii*の1株のみの供試であるため、この特徴が*A. tamarii*全体の特徴であるかは不明である。しかし、醤油粕液体培地上で生育量の高い株が見出されたことで、今後、本株が生産する酵素群の特徴の解明により、醤油粕を培地として利用して*A. tamarii*の酵素生産に利用できることが考えられた。なお、これらの糸状菌を生育させた後の醤油粕残渣重量は、*A. tamarii* NFRI1618で対照区の69%、他の供試菌株では66%~78%であった(図3)。一方、この試験における固形分残渣の減量の程度(66%~78%)は、図1の酵素製剤処理における残渣量減少に匹敵し、特に最大値を示したセルロシンT2処理における残渣量減少率と同等の減少率を示す株も見られた。このことから、醤油粕を培地として用いた*A. tamarii* NFRI1618の培養によって、醤油粕を利用しながら醤油粕の減量と菌体生産が可能であることが、実験結果から示唆された。

醤油粕の有効利用に関する研究として、河原らは、醤油粕を培地とした*A. awamori*株培養によるグルコースの生産について、報告している<sup>3)</sup>。また、梅川

らは、たまり醤油粕投与で高血圧自然発症ラットの血圧上昇抑制効果が認められ、たまり醤油粕由来のACE阻害画分が、高血圧予防機能性食品として利用の可能性について言及している<sup>4)</sup>。また、梅川らは上記のACE阻害画分がペプチドであり、それらのラット投与により、有意な血圧低下が認められたことを報告している<sup>5)</sup>。一方、江崎らは、醤油粕より調製したイソフラボン分画物の抗酸化素材としての有用性を報告している<sup>6)</sup>。また、牧野らは、醤油粕を脱塩した後に排出される脱塩液を醤油酵母の前培養液として利用の可能性を報告した<sup>7)</sup>。これらの、醤油粕に含まれる生理機能成分に着目した研究成果と、醤油粕の培地利用についての研究成果を、本研究で見出された醤油粕培地上で生育菌体量の高かった*A. tamarii* NFRI1618の培養と組み合わせることにより、醤油粕利用についての新たな知見が得られることが期待される。

北本ら<sup>12)</sup>は、麹菌の遺伝子組み換え株として、エンド-1、4-β-グルカナナーゼB遺伝子高発現株を作製し、本株を用いた醤油麹作製と醤油諸味小仕込み試験を行った。本株はCMC液化酵素活性が親株の50倍以上上昇しており、諸味小仕込み試験では仕込み6か月目の

諸味濾過残渣重量は、組み換え株で親株の20%低下したと報告している。現状では、遺伝子組換え麹菌を食品製造に使用することは、社会的に受け入れられていないため、本研究のような実用株の利用が重要となる。

一方、醤油粕の飼料利用の際に、糸状菌が生育することにより栄養的に有利となる可能性が考えられる。特に、本研究で *A. tamarii* NFRI1618 の菌体生育量は供試菌株中で最大であった。しかし、本株の培養による醤油粕の不溶性固形分減量は、他の菌株と比較して特段に高いということはなく、固形分分解に寄与する酵素の菌体当たりの生産量はかえって他の株よりも低いことが考えられた。そのため、*A. tamarii* NFRI1618 の利用としては、醤油粕培地で生育量の高い菌株として、醤油粕の飼料としての栄養価値を上昇させる可能性が考えられる。また、飼料用酵素製剤として酵素メーカーが糸状菌酵素を生産していることを考慮すると、当該菌株が生産する各種加水分解酵素群が、飼料の消化性向上に寄与する可能性も考えられる。今後、*A. tamarii* NFRI1618 の酵素生産性と醤油粕減量の詳細について、検討する予定である。

## 謝 辞

研究に使用した醤油粕を提供いただいたイチビキ株式会社、セルロシンシリーズの酵素剤をご提供いただいた阪急バイオインダストリー株式会社に感謝致します。本研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト「農林水産バイオリサイクル研究」により実施された。

## 要 約

醤油加工副産物である醤油粕の低減化と微生物培養基への利用を目的とした。市販植物細胞壁分解酵素製剤により、供試した醤油粕の不溶性固形分は、最高で対照区の約70%に減少した。また、醤油粕培地における糸状菌14株の静置培養を行ったところ、*A. tamarii* NFRI1618 は生育菌体量が高く、不溶性固形分の減量も対照区の69%と、酵素製剤使用時の固形分減量率に匹敵した。そのため、*A. tamarii* NFRI1618 は醤油粕培地で生育量の高い菌株として、醤油粕の飼料としての栄養的価値を上昇させる可能性が考えられる。

## 参考文献

- 1) 新潟県醤油協同組合連合会, 醤油工場が排出する産業廃棄物の適正処理に関するビジョン (平成十年度中小企業活路開拓調査・実現化事業実施報告書)
- 2) 松田茂樹, 湯乃上雅子, 醤油粕等の有効利用に関する研究(3) - 醤油粕食物繊維の製造法とその性質, 醬研, **26**, 89-94 (2000)
- 3) 河原秀久, 和泉自泰, 清水知香, 小幡斉, *Aspergillus awamori* No.3由来複合酵素を用いた醤油粕からのグルコース生産, 醬研, **33**, 95-99 (2007)
- 4) 梅川逸人, 中井伸行, 吉田沙織, 古市幸生, 松永正好, たまり醤油粕の投与が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響, 食科工, **53**, 655-658 (2006)
- 5) 梅川逸人, 藤原稔弘, 吉田沙織, 沖村幸司, 内山裕介, 西尾昌洋, 勝崎裕隆, 今井邦雄, 松永正好, たまり醤油粕由来のACE阻害ペプチドの高血圧自然発症ラットに対する血圧降下作用, 食科工, **57**, 361-365 (2010)
- 6) 江崎秀男, 渡部綾子, 菱川進弘, 大澤俊彦, 川岸瞬朗, 醤油粕より調製したイソフラボン分画物の抗酸化素材としての有用性, 食科工, **51**, 47-53 (2004)
- 7) 牧野義雄, 竹上伊津子, 松下茂善, 松尾祐一郎, 徳田昭光, 白川武志, 醤油粕脱塩液で培養した酵母添加による醤油醸造, 食科工, **46**, 664-668 (1999)
- 8) 菊池忠昭, 杉本洋, 横塚保, 醤油粕中の多糖類とその圧搾困難性におよぼす影響, 農化, **50**, 279-286 (1976)
- 9) 菊池忠昭, 醤油醸造における大豆多糖類の挙動と役割, 醬研, **3**, 154-159 (1977)
- 10) 北本則行, 醤油麹菌のキシラン分解酵素とペクチン分解酵素の分子生物学的解析, 醸協, **95**, 811-816 (2000)
- 11) 中台忠信, 醤油諸味の圧搾における粕転化糖に関与する麹菌酵素系の統計的解析, 醬研, **10**, 97-99 (1984)
- 12) 北本則行, 吉野庄子, 和久豊, セルラーゼ高生産組換え麹菌の利用による醤油粕の低減化, 醬研, **25**, 55-60 (1999)

## 研究ノート

## 蛋白質の溶液 X 線散乱測定における 2 次元データの評価

渡邊 康<sup>1§</sup>, 猪子 洋二<sup>2</sup>

1) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

2) 大阪大学大学院基礎工学研究科

## An assessment study on two-dimensional X-ray scattering data for protein solutions

Yasushi Watanabe<sup>1§</sup> and Yoji Inoko<sup>2</sup><sup>1</sup> National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642<sup>2</sup> Graduate School of Engineering Science, Osaka University, 1-3 Machikaneyama, Toyonaka, Osaka 560-8531

## Abstract

Two-dimensional imaging plate data were evaluated in the solution X-ray scattering measurement of protein solutions. In the conversion of two-dimensional data into one-dimensional data, the circular averaged data were the same as the data calculated from the vertical sectoral areas ( $330^\circ \sim 30^\circ$  and  $150^\circ \sim 210^\circ$ ) and the horizontal sectoral areas ( $60^\circ \sim 120^\circ$  and  $240^\circ \sim 300^\circ$ ) in the measured scattering angles except for a very small-angle scattering region. The circular averaged data at the middle-angle scattering regions were less noisy than data of a one-dimensional detector under same conditions. These results show that the two-dimensional detector is useful for the static solution X-ray scattering measurements of homogeneous protein solutions at pseudo-point focus X-ray optics.

Keywords: 蛋白質溶液 (protein solution), 溶液 X 線散乱測定 (solution X-ray scattering measurement), 2 次元データ (two-dimensional data)

## 緒言

蛋白質は重要な食品構成成分であるため、食品科学および食品産業における蛋白質の特性解析技術の開発・改良は重要な課題の一つである。特に、温度や溶

媒成分の変化による蛋白質の溶液中の分散性や構造は、食品の品質や加工特性の制御における蛋白質の有効利用に役立つ知見となり得る。蛋白質の構造情報が、低分解能ではあるが多様な溶媒条件で得られる方法が溶液 X 線散乱法である<sup>1)2)</sup>。近年の放射光の発展により比較的低濃度の試料で溶液 X 線散乱測定が可能となっ

<sup>§</sup>連絡先, yasuw@affrc.go.jp

たものの<sup>3)</sup>、放射光溶液X線散乱測定装置は、個々の放射光施設の光学系に適した測定装置ユニットの組み立てが必要であり、測定対象や実験目的に依存して改良・開発が要求される<sup>4)5)</sup>。

我々は、放射光溶液X線散乱測定装置として、高エネルギー加速器研究機構放射光施設のビームライン10Cを利用している。本測定装置では、偏向電磁石からの放射光を光源とし、2結晶モノクロメータおよび湾曲シリンドリカルミラーに対して1:1集光の光学系を採用していることから、低バックグラウンドを実現している<sup>6)</sup>。このため、これまでこの放射光溶液X線散乱測定装置を用いてタンパク質や酵素などの溶液X線散乱の静的測定および遅い反応の時分割測定を行ってきた<sup>7)~12)</sup>。本ビームラインは垂直方向より水平方向の集光が十分に望めない線収束光学系であることから、本測定システムのX線散乱検出器として、1次元位置敏感比例係数装置を縦置きにして使用してきた。蛋白質の溶液X線散乱測定における中角領域のデータは、蛋白質の分子形態や比較的高次元の構造解析に必要な角度領域であるものの、1次元検出器の散乱X線を線で捕らえる特性から中角領域での統計精度の高い散乱データが得られない難点があった。最近、その状況を改善するため、散乱X線を面で捕らえる2次元検出器の導入試験を経て実験モードでの利用を可能とした<sup>13)</sup>。

本研究では、溶液X線散乱法の評価研究を通して、広く食品関連生体高分子の溶液構造の解析に資する研究手法の提示を目的として、蛋白質溶液の溶液X線散乱測定における2次元検出器の測定データの評価を行った。その結果、2次元データの1次元データへの変換において、垂直方向(0時と6時方向の $\pm 30^\circ$ 扇形)、水平方向(3時と9時方向の $\pm 30^\circ$ 扇形)、および全方向同心円の積算データの重なりは良好であった。さらに、同設定条件での1次元位置敏感比例係数装置の利用による測定データとの比較から、中角領域のデータのバラツキは小さいことが明らかとなった。従って、これらの結果は、蛋白質水溶液のような分散溶液の静的測定において、2次元検出器の導入のメリットが十分にあることを示している。

## 実験材料及び方法

ウシ血清アルブミンおよびウマ脾臓アポフェリチンは、シグマ株から購入した。溶媒は50 mM リン酸ナトリウム緩衝液, pH 6.8, を使用した。

放射光溶液X線散乱測定は、高エネルギー加速器研究機構放射光施設ビームライン10Cに設置された小角溶液X線散乱測定装置(酵素回折計)を使用した。測定に供したビーム特性は、ミラー下流のスリットを上下1 mm, 左右1 mmに調整し、試料セル直前のスリットサイズを上下1.1 mm, 左右1.4 mmに設定した疑似点収束光学系である。検出器としては、有効検出サイズが200 mm $\times$ 2 mmの1次元位置敏感比例係数装置(特別仕様高速PSPC, リガク株), あるいはイメージングプレート(imaging plate; IP)のサイズが300 mm $\times$ 300 mmのIP自動読み取り2次元検出器(特別仕様R-AXIS VII, リガク株)を使用した。試料検出器間距離は900 mmに設定し、6 mm径鉛製円形ビームストッパーおよび250 mm径カプトンフィルム製円形窓付き検出器前フランジを使用した。

試料セルはステンレス製で、厚み1 mm, 縦3 mm, 横15 mmの穴の両面に石英板(厚み20  $\mu$ m, 縦6 mm, 横20 mm)を窓材として貼ったものを使用した。X線の波長は0.1488 nm, 測定時間は5分とし、得られた散乱データは、試料直前のイオンチェンバーの出力により入射X線強度の補正をした。また、鶏の腱から取り出したコラーゲン繊維束を標準物質として、検出器のチャンネルあるいはピクセルあたりの散乱ベクトル $q$ ( $= (4\pi/\lambda)\sin\theta$ ,  $\lambda$ はX線波長,  $2\theta$ は散乱角)を算出した。蛋白質濃度は、光路長1 cm, 1%溶液の280 nmにおける吸光係数6.78(ウシ血清アルブミン)および9.0(ウマ脾臓アポフェリチン)を用いて計算した<sup>14)</sup>。

## 実験結果および考察

図1に、1次元検出器と2次元検出器の測定系の違いを模式的に示した。放射光X線が試料溶液に照射され、直進透過X線は検出器前のビームストッパーにより受け止められて検出器のダメージを防ぐ。1次元検出器は、垂直方向の散乱X線を検出し(図1 a), 2次元検出器はビーム中央から同心円状に面で検出する(図1 b)。本研究では、1次元検出器と2次元検出器の同測定条件下の蛋白質の分子形態や比較的高次元の構造解析に必要な角度領域である中角領域の散乱データを比較した。具体的には、アレルギー性を有する蛋白質であるウシ血清アルブミン水溶液について、2次元検出器を使用して散乱データを得た。図2に得られた2次元データ像を示した。中央の白い円状領域は、直進X線による検出器へのダメージを防ぐた

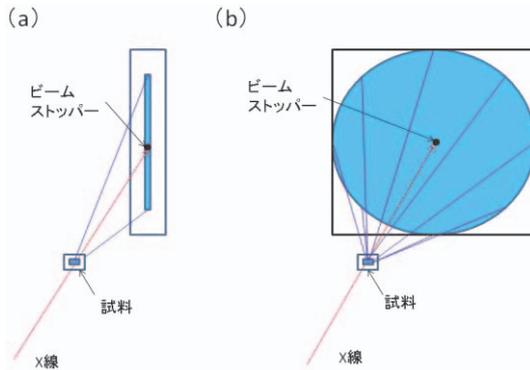


図 1. 1次元検出器と2次元検出器の測定系の違い

1次元検出器 (a) では、垂直方向の散乱X線を直線的に計測し、2次元検出器 (b) では、散乱X線を面で計測する。試料およびビームストッパーの位置条件は同一とした。

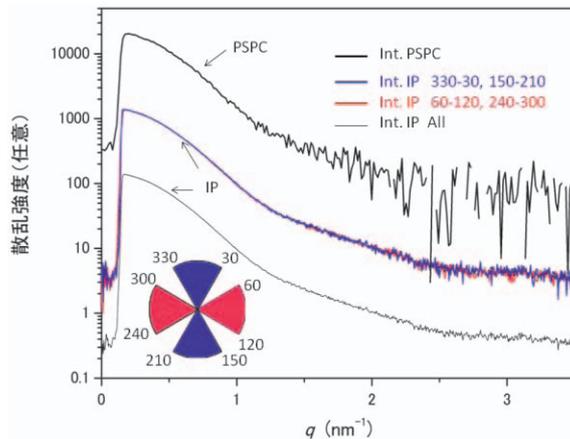


図 3. ウシ血清アルブミン水溶液の溶液X線散乱パターン

試料濃度は10 mg/ml, 5分間の測定。図1の2次元IPデータの垂直方向の扇形(0時と6時方向の $\pm 30^\circ$ ; 青色, 挿入図参照), 水平方向の扇形(3時と9時方向の $\pm 30^\circ$ ; 赤色, 挿入図参照), および全方向同心円(黒色)の積算データをプロットした。差を明瞭にするために, 全方向同心円の積算データは下方にずらして再プロットした。また, 1次元位置敏感比例係数装置(PSPC)のデータは, 上方にずらしてプロットした。小角領域の散乱強度の急激な落ち込みはビームストッパーによるためである。挿入図は, 積算領域の理解のために示した。

めのビームストッパー(6 mm 径)の痕跡である。その痕跡外周端から外側全方向に徐々に濃度が薄くなっていることがわかる。つまり, 図における濃度の濃淡は散乱強度の強弱を表すので, 散乱強度が外側全方向に向かって弱くなっていることを示す。

この2次元データの1次元データへの変換例を図3に示した。図3の2次元データの垂直方向の扇形(挿

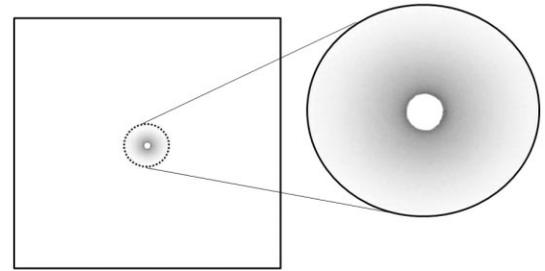


図 2. ウシ血清アルブミン水溶液についての2次元イメージングプレート検出器のデータ像

試料濃度は10 mg/ml, 5分間の測定。中央の白い円部分は, 直進透過X線による検出器のダメージを防ぐためのビームストッパー(6 mm 径)の痕跡である。黒色の濃淡がわかりやすい中央部分を拡大表示した。黒色の濃いほど散乱強度が強いことを示す。

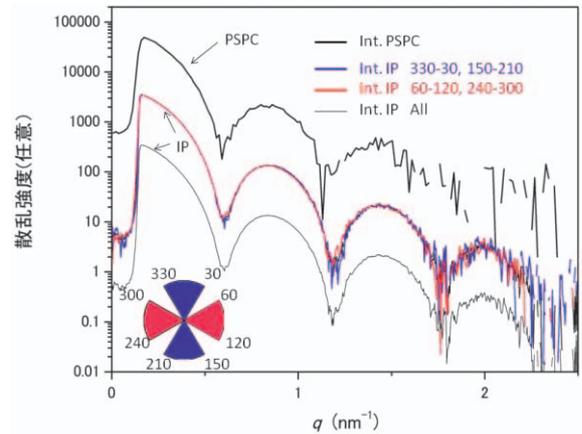


図 4. ウマ脾臓アポフェリチン水溶液の溶液X線散乱パターン

試料濃度は5 mg/mlで, その他の条件は図2と同じである。

入図の青色領域参照, 0時と6時方向の $\pm 30^\circ$ , つまり $330^\circ \sim 30^\circ$ と $150^\circ \sim 210^\circ$ , 水平方向の扇形(挿入図の赤色領域参照, 3時と9時方向の $\pm 30^\circ$ , つまり $60^\circ \sim 120^\circ$ と $240^\circ \sim 300^\circ$ ), および全方向同心円の積算データをプロットした。図3の測定された全散乱角領域において, 垂直, 水平, および全方向同心円積算データの重なりは良好であった。さらに, 散乱ベクトル $q$ で $1 \text{ nm}^{-1}$ から $3 \text{ nm}^{-1}$ の中角領域における散乱データは, 同設定での1次元位置敏感比例係数装置による測定データとの比較において, 2次元データからの1次元変換データのバラツキが小さく, 全方向同心円積算データでもっとも良好であった。

次に, 図4では, 鉄貯蔵蛋白質であるアポフェリチンの水溶液中でのX線散乱パターンを示した。アポフ

エリチンは24個のサブユニットが中空球殻構造を形成している分子量約44万のオリゴマー蛋白質である。したがって、その構造に特徴的な山と谷が散乱パターンに現れている<sup>12)</sup>。その山と谷の位置は、同条件での1次元検出器のデータと良い一致を示した。また、図3と同様に、垂直、水平、および全方向同心円積算データの重なりは良好であった。さらに、散乱ベクトル $q$ で $1\text{ nm}^{-1}$ から $2.5\text{ nm}^{-1}$ の中角領域における散乱データは、同設定での1次元検出器による測定データとの比較において、データのバラツキが小さい結果が再現されている。これらの結果は、2次元検出器が散乱X線を面で捕らえることにより同条件の測定における1次元検出器のデータに比べて中角領域の統計精度が上がり、蛋白質水溶液のような分散溶液の静的測定には2次元検出器の導入効果が十分であることを示している。今後は、ビームストッパーや検出器前フランジ窓などのサイズや形状をさらに工夫することにより、放射光施設のビームラインの光学系に適した測定法の高度化を展開する必要がある。

溶液X線散乱法は低分解能ではあるが溶液中の蛋白質の構造情報を得られる手法である。NMRは蛋白質の溶液構造を原子レベルで解析できる手法である<sup>15)</sup>。しかし、蛋白質の分子量が大きくても数万、通常は2万以下のものが主な対象となる。分子量数10万以上の蛋白質（集合体）の溶液中の分子構造を解析することは、蛋白質の有効利用のために大変重要である。溶液散乱法の長所は、生理的な条件ばかりでなく種々の溶媒条件での測定が可能である点である。従って、溶液散乱法は、蛋白質会合状態やゲル化初期過程、あるいは分子間相互作用による超分子構造を解明する手段として効果的に利用されることが期待される。さらに、蛋白質ばかりでなく多糖などの生体高分子についても本手法を適用することにより、食品分野での生体高分子素材の特性解明の手段として期待できる。今後さらに適応例を増やすとともに、生体高分子の物性評価に適した手法の改良も今後の重要な課題と考えられる。

## 要 約

食品素材成分である蛋白質を有効利用するため、溶液中の蛋白質の特性を解析する技術の開発は重要である。本研究では、蛋白質溶液についての溶液X線散乱測定における2次元データを評価した。2次元データの1次元データへの変換において、垂直方向の扇形(0

時と6時方向の $\pm 30^\circ$ )、水平方向の扇形(3時と9時方向の $\pm 30^\circ$ )、および全方向同心円の積算データは、測定された散乱角領域において良好な一致を示した。さらに、全方向同心円の積算データの中角領域は、同測定条件下の1次元検出器による測定データと比較して、きわめてばらつきが小さいことが明らかとなった。これらの結果は、蛋白質水溶液のような分散溶液の静的測定では、疑似点収束光学系における溶液X線散乱測定システムに2次元検出器を導入することのメリットが十分であることを示している。

## 謝 辞

溶液X線散乱測定は、高エネルギー加速器研究機構放射光共同利用実験(課題番号2011G098)として行った。

## 参考文献

- 1) I. Pilz, Proteins. In "Small angle X-ray scattering", eds. O. Glatter and O. Kratky, Academic Press, pp239-293 (1982).
- 2) O. Kratky, Natural high polymers in the dissolved and solid state. In "Small angle X-ray scattering", eds. O. Glatter and O. Kratky, Academic Press, pp361-386 (1982).
- 3) 菊田惺志, 放射光光源, 「X線回折・散乱技術(上)」, 初版(東京大学出版会, 東京), pp176-200 (1997).
- 4) 渡邊 康, 猪子洋二, 小林克巳, タンパク質の放射光溶液X線散乱測定におけるX線透過率の同時評価, 食品総合研究所研究報告, **69**, pp19-22(2005).
- 5) 渡邊 康, タンパク質の相互作用解析技術, 食品技術総合辞典(朝倉書店), pp559-563 (2008).
- 6) 猪子洋二, 酵素回折計ビームラインの現状と将来計画, 「高輝度光源を利用したX線溶液散乱の展望新酵素回折計の役割」猪子洋二, 小林克巳編, (高エネルギー加速器研究機構報告書, 茨城), pp 2 - 5 (1999).
- 7) Y. Watanabe and Y. Inoko, Physicochemical characterization of the reassembled dimer of an integral membrane protein OmpF porin, *Protein J.*, **24**, 167-174 (2005).
- 8) 渡邊 康, 猪子洋二, タンパク質のクロマトグラフィ検出手段としての溶液X線散乱測定, 食品総

- 合研究所研究報告, 70, pp 1 - 5 (2006).
- 9) Y. Watanabe and Y. Inoko, Small-angle light and X-ray scattering measurements of a protein-oligosaccharides complex mucin in solution, *Journal of Applied Crystallography*, **40**, s209–s212 (2007).
- 10) 渡邊 康, 猪子洋二, 両親媒性環境下の疎水性蛋白質の分子集合状態の特性評価, 食品総合研究所研究報告, **71**, pp33-37 (2007).
- 11) Y. Watanabe and Y. Inoko, Size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics, *J. Chromatogr A*, **1216**, 7461–7465 (2009).
- 12) Y. Watanabe and Y. Inoko, Further application of size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics for characterization of biological macromolecules, *Anal. Bioanal. Chem.*, **399**, 1449–1453 (2011).
- 13) N. Igarashi, Y. Watanabe, Y. Shinohara, Y. Inoko, G. Matsuba, H. Okuda, T. Mori and K. Ito, Upgrade of the small angle X-ray scattering beamlines at the Photon Factory, *J. Phys.: Conf. Ser.*, **272**, 12026–12029 (2011).
- 14) G. D. Fasman, Handbook of biochemistry and molecular biology, Vol.2, CRC Press, Cleveland, OH, (1976).
- 15) K. Wüthrich, NMR of proteins and nucleic acids, John Wiley & Sons (1986).

研究ノート

ダイズ種子エポキシド加水分解酵素変異体の作出及びその性質検討

荒平 正緒美, Benjamin Sailas, Sam-Pin Lee,  
Ngoc Minh Nghiem, Van Chi Phan, 深澤 親房

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Characterization of soybean epoxide hydrolase mutant

Masaomi Arahira, Benjamin Sailas, Sam-Pin Lee,  
Ngoc Minh Nghiem, Van Chi Phan, and Chikafusa Fukazawa

National Food Research Institute, NARO, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, Japan, 305-8642

Abstract

Epoxide hydrolases (EH) catalyze hydrolysis of epoxides to the corresponding vicinal diols. By site-directed mutagenesis, a total of 22 mutants were constructed, followed by analyzing their kinetics. Through these experiments, mutation of G32, S39, and D58, located at a highly conserved region of EHs known to date, led to a 2-fold higher specific activity than that of wild-type.

Keywords : epoxide hydrolase, mutant

緒言

植物種子の登熟の間に、種子は菌類、細菌、ウイルスなど病原体による攻撃を含む様々な生物学的あるいは非生物的環境ストレスにさらされることとなる。植物組織全体の防衛の場合と同様、種子においても環境ストレスに対する防衛反応として、種子内に数種の防御タンパク質を合成することが知られている<sup>1),2)</sup>。種子

中で、貯蔵タンパク質よりも多量に発現誘導される場合があるレクチン及びプロテアーゼ阻害タンパク質など、生化学的または分子生物学に比較的良好に性質が解明された種子防御関連タンパク質があるが<sup>3)-4)</sup>、これらとは関連のない防御関連タンパク質が、登熟時の様々な環境刺激に反応して生じることが報告されており、一方、これらの発現調節メカニズムの多くが未知のままである。

真菌に対する種子の防御のため、天然の殺菌剤と考

1	MCEHLLVLSLCYIWRVTRQRIVEFNE□EIQIKHRTVEVNGIKMHVAEKGEQPVV-LFLHGFP	59
1	M-SH-----G-YVTVK-PR-V--R-L-HF-----VEL-G---W----- PAVCLC-HGFP	31
	* * * * *	
60	ELWYSWRHQILSL-SSLYRAVA-PDLRGYGDTEAPPSISSYCNCFHIV-GDLVALIDSLG	116
32	ESWYSWRYQIPAL-AQAGYR-VLAMDKGYGESSAPPEIEEY-CMEVLCKEMVTFLDKLG	88
	* * * * *	
117	VQQVFLVAHDWGAIIIGWYLCMFRPDKVKAYVCLSVPLLRDPNIRTVDGMRALYGDDYYV	176
89	LSQAVFIGHDWGMMLVWYMALFYPERVRAVASLNTPFIPANPNMSPLESIKANPVFDYQL	148
	* * * * *	
177	CRFQKPGEMEAQMAE-VGTEYVLKNILTRNPGPPILPKGRF-Q---F-NPEMNTLPS	229
149	Y-FQEPGVAEAELEQNLRTF--KS-LFRASDESVLMSHKVCEAGGLFVNSPEEP-SL-S	206
	* * * * *	
230	WL-TEEDLAYVYVSKFEKTGFTGPLNYYRNFNLNVELTAPWTGGQIKVPVKYITGELDMVY	288
207	RMVTEEEIQFYVQQFKKSGFRGPLNWYRNMERNW--K--W-ACK-SLGRKILIPAL-MV-	257
	* * * * *	
289	NSLNLKEY--I-HGGGFKQD-VPNLEQVIVQK-GV-A--HFNNQEAEEIDNYI-YD---	336
258	TA-E-KDFVLVPQMSQHMEDWIPHLKRGHIEDC-----GHWTQMDKPTEVNQI-LIKWLD	305
	* * * * *	
337	--FINKF	341
306	SDARNPPVVSKM	318

図1. ダイズ（上段）とヒト（下段）のアミノ酸相同性の比較

□で囲んだメチオニンが第2メチオニン

えられている物質の中には、様々なエポキシ脂肪酸及びそれらの誘導体が含まれる<sup>5)-7)</sup>。これらの構成要素となるエポキシドについてはその生合成経路やその分解経路が報告されて来ており、これらの経路を構成する酵素群の1つがエポキシド水解酵素(EH)である。この酵素はエポキシドに水分子を付加することで、それぞれの分子をジオールに変換する触媒機能を有しており<sup>8)</sup>、ホウレンソウ<sup>9)</sup>、リンゴ<sup>10)</sup>、及びソラマメ<sup>7)</sup>から報告されて来た。エポキシド水解酵素活性が最初に見つかったのはソラマメの種子抽出物であるが、その詳細は不明である。一方、ダイズは主要農産物の1つであり、その性質検討は農業にも貢献し得るとの見地から、我々はダイズ種子のエポキシド水解酵素に着目し、既に同酵素の精製、性質検討及び遺伝子のクローニングにも成功し報告をしている<sup>11)-15)</sup>。エポキシド水解酵素の相同遺伝子はヒトでも得られており、同遺伝子が種子の環境ストレスだけでなく、多様な機能を有することも示唆されている。

そこで、我々は、ダイズ種子エポキシド水解酵素cDNAを大腸菌で発現し、得られた酵素の性質を検討

した。さらに、活性のより高い酵素の作出を目的として、ダイズと他の植物やヒトの遺伝子がそれぞれコードするアミノ酸配列の相同性に基づき9ヶ所、22種類の部位特異的変異を導入し、各種変異酵素の作出を試みた。その結果、6種の変異酵素の獲得に成功し、それぞれの酵素活性及び円二色性スペクトルによる構造情報を比較した。ここでは、その結果を報告する。

## 実験方法

### 発現プラスミドの構築

大腸菌を用いてエポキシド水解酵素を生産するために、推定した成熟した酵素のN末端(図1に示される第2のメチオニン)に基づく2つのプライマーを合成した。1.(センス側):*Nde*I サイト(アンダーラインによって示される)を含む上流側を含んでエポキシド水解酵素の26から33アミノ酸残基のコドンと一致するように造られた5'-ATATACATATGGAGCAAATAAAGCACAGAACA-3, 2.(アンチセンス側):*Eco*RI サイト(アンダーライン)を含む停止コドンと3'非翻訳

領域と一致する5'-GGTTGAATTCGT TTTTGGACAAG ATCAGAAGCTTC-3'. テンプレートとしてエポキシド水解酵素組み換えプラスミド DNA (pSEH 221) から *KpnI* で切り出されるフラグメントを精製して用い、PCR 法によって増幅した<sup>14)</sup>. *EcoRI* と *NdeI* で PCR 産物を切断し、フラグメントを精製した後、発現ベクター pRSET (インビトロジェン, オランダ) にサブクローニングした. この発現プラスミド (pRSEH 310とする) を *E. coli* BL21 (DE3) に形質転換し、発現実験の親株として用いた<sup>14)</sup>. 発現プラスミド PRSEH310は、変異を導入するための親プラスミドとして用い、変異体の作製実験を行った.

#### エポキシド水解酵素の部位特異的変異法

His31を Phe (H31F) もしくは Lys (H31K) に、Gly 32を Ala (G32A), もしくは Cys (G32C), Glu (G32E), Leu (G32L), Asn (G32N), Gln (G32Q), Ser (G32S), Thr (G32T) や、Tyr (G32Y) それぞれに、Phe 33を Trp (F33W) に、Phe33Pro34を Pro33Phe34 (F33P34 / P33F34) に Glu35を Asp (E35D) もしくは Gln (E35Q) に、Ser39を Ala (S39A) もしくは Leu (S39L), Asn (S39N) や、Thr (S39T) それぞれに、Trp40 Arg41を Arg40Trp41 (W40R41 / R40W41) に、Asp58を Glu (D58E) もしくは Asn (D58N) にそれぞれ変換するために部位特異的変異を表1で示したオリゴヌクレオチドを用いて PCR 法で行った. 最初の PCR サンプルは、以下の条件で増幅: 95°C (48秒) の変性, 56°C (48秒) のアニーリング, 72°C (1分) の伸長反応を 30サイクル, 最後に72°C (8分) 伸長反応. 得られた PCR 産物をそれぞれ電気泳動を用いて単離し、カルボキシル端側の2回目の PCR 反応を上記と同じ条件で行った. 2回目の PCR 産物を同様に単離し、pCR2.1ベクター (インビトロジェン, オランダ) にサブクローニングの後、全塩基配列をシーケンサーを用いて確認した. 作製したプラスミドは、上記方法で発現ベクター pRSET にサブクローニングし、*E. coli* (DE3) に形質転換後、発現実験に用いた.

#### エポキシド水解酵素活性の測定法

エポキシド水解酵素活性としてエポキシド-ジオール変換活性をスチレンオキシドを基質とし、反応後、生成物のスチレングリコールの量を高速液体クロマトグラフィーを用いて測定し解析した<sup>14)</sup>.

#### 円二色性 (CD) スペクトルの測定

表1 変異体作成用プライマー

Mutation	Sequence
H31F	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCCTTGAGG-3'
H31K	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCCAAAGAGG-3'
G32A	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCGTGGAGG-3'
G32C	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCAGTGGAGG-3'
G32E	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCTGTTGGAGG-3'
G32L	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGAGTGGAGG-3'
G32N	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGTTGTGGAGG-3'
G32Q	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAATTGTGGAGG-3'
G32S	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGCTGTGGAGG-3'
G32T	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGTGTGGAGG-3'
G32Y	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGGAAGTAGTGGAGG-3'
F33W	5'-GAGTACCAGAGCTCAGGCCAGCCGTGGAGG-3'
F33P34/P33F34	5'-GAGTACCAGAGCTCGAAAGGGCCGTGGAGG-3'
E35D	5'-GAGTACCAGAGATCAGGGAAGCCGTGGAGG-3'
E35Q	5'-GAGTACCAGAGTTGAGGGAAGCCGTGGAGG-3'
S39A	5'-CTGATGGCGCCAGGCGTACCAGAGCTCAGG-3'
S39L	5'-CTGATGGCGCCAGAGGTACCAGAGCTCAGG-3'
S39N	5'-CTGATGGCGCCAATTGTACCAGAGCTCAGG-3'
S39T	5'-CTGATGGCGCCATGTGTACCAGAGCTCAGG-3'
W40R41/R40W41	5'-CTGATGCCAGCGTGTGAGTACCAGAGCTCAGG-3'
D58E	5'-AGCCACGGAGCTCGGGAGCGACGGCGCGG-3'
D58N	5'-AGCCACGGAGGTTGGGAGCGACGGCGCGG-3'

表2. 野生型エポキシド水解酵素と3種の変異体の比活性の比較

EHs	Kinetic values	Specific activity (μmol/min/mg)	% of control
	Wild Type		3.86
G32S		8.53	221.0
S39A		6.69	173.3
D58E		8.00	207.3

大腸菌で発現させた酵素タンパク質の構造情報を得るため、Jasco J-800を用いて発現タンパク質のCDスペクトルを測定した. 測定条件は、タンパク質濃度0.1 mg/ml, 石英セル長0.01cm, スキャン範囲200-250nm バンド幅 1 nm, レスポンス0.5sec で実施した.

#### 結果および考察

##### 大腸菌で発現したエポキシド水解酵素タンパク質

クローニングの結果から推定されたエポキシド水解酵素タンパク質 (図1) 配列の内、26残基目から341残基目にわたっているアミノ酸部分をカバーするよう構築したエポキシド水解酵素発現プラスミド (pRSEH 310) を使用することにより、我々は組換え型酵素を生産し、エポキシド-ジオール変換活性を確かめた.

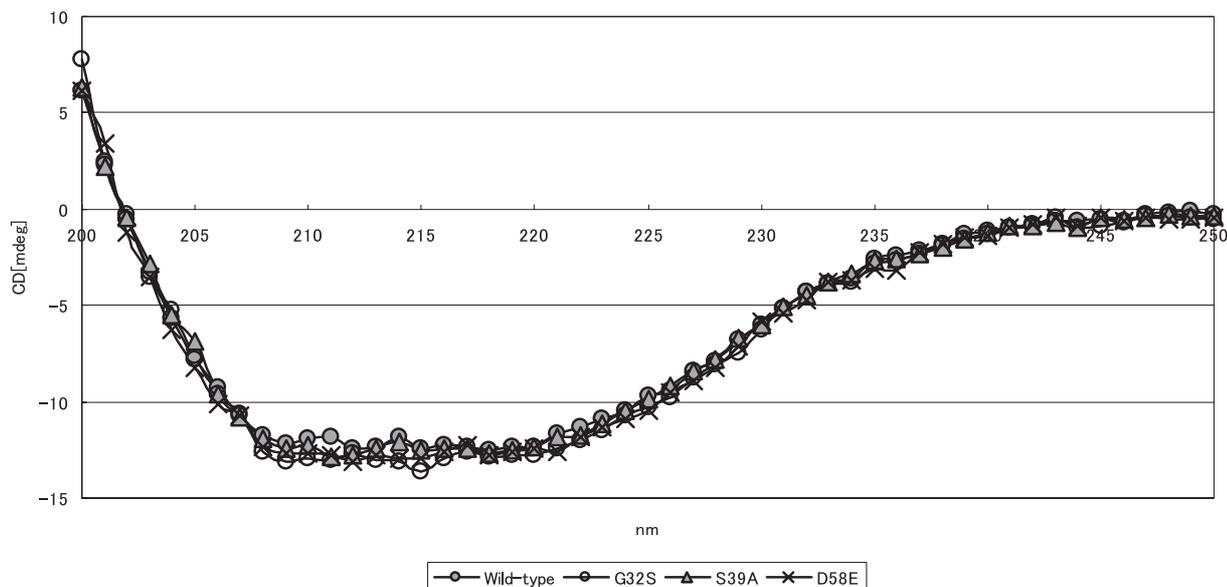


図2. 野生型と3種の変異体のCDスペクトル

条件は実験方法による。(●) 野生型；(○) G32S；(▲) S39A；(×) D58E.

野生型エポキシド水解酵素を大腸菌で発現し、菌体破碎後、55℃10分間加熱処理を行い、タンパク質画分を45%硫酸沈殿で濃縮後、Sephacryl S-200 HR（直径2.6cm×100cm）で分離し<sup>14)</sup>、得られた活性画分を再度同カラムで分離精製するという3ステップの精製過程により、SDS-PAGE およびウエスタンブロットによって単一になるまで精製した（データ非掲載）。SDS-PAGE およびウエスタンブロットは文献14の方法に従った。酵素活性は菌体内に検出され、培養液1Lから約10mgの精製組換え型エポキシド水解酵素が得られた。この酵素は、超遠心平衡分析によって36,000の分子量を示し、塩基配列から予想される分子量が35,986.14であることから、単量体酵素が活性単位であることが明らかとなった。

また酵素活性については、文献14の方法に従い、基質としスチレンオキシドを添加、反応後、生成したスチレングリコールの量を測定した。その結果、組換えダイズエポキシド水解酵素の比活性、kcat と Km 値はそれぞれ、3.86 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ 、4.34 $\text{sec}^{-1}$ 、2.56mMであった。これは文献14記載の比活性の2.8倍であった。ゲル濾過の過程をもう1つ加えることにより、精製が更に進んだものと考えられた。

#### エポキシド水解酵素変異体の酵素活性

活性の高いエポキシド水解酵素変異体の作出を目的

として、文献14に記述してある植物由来酵素との比較および、図1に示すヒト由来のエポキシド水解酵素との間の比較で相同性の高い部分に、変異させるアミノ酸残基の性質を塩基性に変えたものなどの変異を有する22種の変異体の作製を試みた。その結果、H31変異では可溶性酵素は得られず、G32変異でも、G32Sを除いて、可溶性酵素は得られなかった。更にS39LとD58Nの変異でも同様の結果が得られた。一方、変異体G32S、E35D、S39A、S39N、S39TとD58Eでは可溶性酵素が得られた。これらの酵素についてエポキシド水解酵素活性を測定したところ、いずれも野生型より高い比活性を示した。この中で、野生型よりも顕著に活性の高い変異体はゲノム上極めて高度に保存されている領域に変異を有し、野生株の2倍程度までの活性が検出された（表2）。これら残基は酵素の立体構造において、推定される活性残基の近傍にあり、上記変位によって構造が安定することによって活性が上がるのではないかと考えた。また、他の変位の場合は構造が変わり、不溶化するのではないかと考えられた<sup>17)</sup>。

#### CDスペクトルの比較結果

エポキシド水解酵素の変異が酵素分子のコンフォメーション変化にどのような影響を与えるかを検討するために、野生型と変異型のCDスペクトルの比較を行った（図2）。その結果、200-250nmの範囲でのC

Dスペクトルにおいて、野生型と3種の変異体の間で有意な差は見られなかった。また、DSC（示差走査熱量測定）の分析においても有意な差は認められなかった（データ非掲載）。

以上の結果から、変異によるエポキシド水解酵素活性の上昇は、分子の大きな構造変化によるものではなく、アミノ酸変異による微細な変化が反映するものと推定された。基質との相互作用への影響等、活性変化の原因の解明は今後の課題である。

## 要約

エポキシド水解酵素は、エポキシドを加水分解し、ジオールに変換する触媒作用を示す。ダイズエポキシド水解酵素の22種の部位特異的変異体の作出を試み、6種の可溶性変異酵素が得られた。得られた変異酵素の内、ゲノム上極めて高度に保存されている領域に変異を有する3種の酵素については、野生型酵素の2倍近い酵素活性が得られた。野生型酵素及び変異酵素のCDスペクトルを測定した結果、顕著な差異は見られなかった。変異による酵素活性の上昇はアミノ酸変異による微少な変化を反映しているものと予想された。

## 参考文献

- 1) Ryan, C.A. & Jagendorf, A. (1995) Self defense by plants, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **92**, 4075-4075.
- 2) Bowles, D.J. (1990) Defense-related proteins in higher plants, Ann. Rev. Biochem. **59**, 873-907.
- 3) Peumans, W.J. & Van Damme, E.J. (1995) Lectins as plant defense proteins, Plant Physiol. **109**, 347-352.
- 4) Birk, Y. (1996) Protease inhibitors in legume seeds-overview, Arch. Latinoam. Nutr. **44**, 26S-30S.
- 5) Badami, R.C. & Patil, K.B. (1981) Structure and occurrence of unusual fatty acids in minor seed oils, Prog. Lipid Res. **19**, 119-153.
- 6) Ohta, H., Shida, K., Peng, Y.-L., Furusawa, I., Shishiyama, J., Aibara, S. & Morita, Y. (1990) The occurrence of lipid hydroperoxide-decomposing activities in rice and the relationship of such activities to the formation of antifungal substances, Plant Cell Physiol. **31**, 1117-1122.
- 7) Hamberg, M. & Fahlstadius, P. (1992) On the specificity of a fatty acid epoxygenase in broad bean. Plant Physiol. **99**, 987-995.
- 8) Beetham, J.K., Grant, D., Arand, M., Garbarino, J.E., Kiyosue, T., Pinot, F., Oesch, F., Belknap, W.R., Shinozaki, K. & Hammock, B.D. (1995) Gene evolution of epoxide hydrolyzes and recommended nomenclature. DNA, Cell. Biol. **14**, 61-71.
- 9) Croteau, R. & Kolattukudy, P.E. (1975) Biosynthesis of hydroxyfatty acids polymers. Enzymatic epoxidation of 18-hydroxyoleic acid to 18-hydroxy-cis -9, 10-epoxystearic acid by a particulate preparation from spinach (*Spinacia oleracea*), Arch. Biochem. Biophys. **170**, 61-72.
- 10) Croteau, R. & Kolattukudy, P.E. (1975) Biosynthesis of hydroxyfatty acids polymers. Enzymatic hydration of 18-hydroxy-cis-9, 10-epoxystearic acid to threo-9,10,18-trihydroxystearic acid by a particulate preparation from apple (*Malus pumila*), Arch. Biochem. Biophys. **170**, 73-81.
- 11) Blee, E. & Schuber, F. (1992) Occurrence of fatty acid epoxide hydrolases in soybean (*Glycine max*), Biochem. J. **282**, 711-714.
- 12) Blee, E. & Schuber, F. (1992) Regio- and enantioselectivity of soybean fatty acid epoxide hydrolase. J. Biol. Chem. **267**, 11881-11887.
- 13) Blee, E. & Schuber, F. (1995) Stereocontrolled hydrolysis of the linolenic acid monoepoxide regioisomers catalyzed by soybean epoxide hydrolase, Eur. J. Biochem. **230**, 229-234.
- 14) Arahira, M., Nong, V.H., Udaka, K., and Fukazawa, C. (2000) Purification, molecular cloning and ethylene-inducible expression of a soluble-type epoxide hydrolase from soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) Eur. J. Biochem. **267**, 2649-2657
- 15) Fukazawa C., Arahira M., and Lee S-P. (2000) Molecular characterization of a soluble-type epoxide hydrolase from soybean. Abstract of 92nd AOCS Annual Meeting
- 16) Pinot, F., Grant, D.F., Beetham, J.K., Parker, A.G., Borhan, B., Landt, S., Jones, A.D., & Hammock, B.D. (1995) Molecular and biochemical evidence for the involvement of the Asp333-His523 pair in catalytic mechanism of soluble epoxide hydrolase, J. Biol. Chem. **270**, 7968 - 7974.
- 17) Verschuere KH, Franken SM, Rozeboom HJ, Kalk KH, & Dijkstra BW. (1993) Refined X-ray structures of haloalkane dehalogenase at pH 6.2 and pH 8.2 and im-

plications for the reaction mechanism, *J Mol Biol.* **232**,  
856-872.

## 技術報告

食用油の加熱によって生じる有害アルデヒド4-hydroxy-2*E*-nonenal  
およびその類縁化合物4-hydroxy-2*E*-hexenal の定量分析

箭田 浩士, 亀山 眞由美

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Quantitative analysis of 4-hydroxy-2*E*-nonenal  
and 4-hydroxy-2*E*-hexenal in heated cooking oil

Hiroshi Yada and Mayumi Ohnishi-Kameyama

National Food Research Institute (NFRI), National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

## Abstract

A cytotoxic aldehyde, 4-hydroxy-2*E*-nonenal (4-HNE), is formed by lipid peroxidation in cells. In order to investigate formation of 4-HNE and the related aldehyde, 4-hydroxy-2*E*-hexenal (4-HHE) in cooking oil, we developed a quantitative analytical method for the aldehydes using synthesized deuterium labeled aldehydes as the internal standards. The cooking oil including internal standards was clean-upped by a cartridge-type silica-gel column, and the hydroxyl groups of 4-HNE and 4-HHE were derivatized to trimethylsilyl ether for the GC/MS measurement. Commercial cooking oils were heated and analyzed using the developed isotope-dilution method. 4-HNE levels increased according to heating time, and the final concentrations differed about five times among analyzed cooking oils. In the oil repeatedly used by tempura cooking, 4-HNE increased following the rise of peroxide value (POV) in the first several use, and then its concentration reached a plateau.

Keywords : 4-hydroxy-2*E*-nonenal (4-HNE), 4-hydroxy-2*E*-hexenal (4-HHE), 内部標準法, GC/MS, 定量分析

## 緒言

近年, 加熱加工・調理によって食品中にヒトに対して有害な化合物が生成することが報告されている。加熱加工食品に含まれるアクリルアミドは, 2002年にスウェーデン政府が炭水化物を多く含む食材を焼いたり, 炒めたり, 揚げたりして製造した食品にアクリル

アミドが含有されていると発表したことから広く知られるようになり, 現在でも世界的に大きな関心を集めている<sup>1)</sup>。アクリルアミド以外にも, 缶詰や瓶詰等の密閉状態で加熱殺菌された食品中のフラン<sup>2)</sup>や, 燻製食品等に含まれる多環芳香族化合物 (PAHs) 等<sup>3)</sup>は, ヒトへの健康影響が懸念され, 食品中の濃度が調べられている。

多価不飽和脂肪酸由来の過酸化脂質が分解して生成

する4-hydroxy-2E-nonenal (4-HNE, 図1)は、変異原性および細胞毒性を有することが知られており<sup>1)</sup>, 生体内における疾病関連シグナル物質として膜脂質由来4-HNEについて数多くの研究がある<sup>2)</sup>. その4-HNEが大豆油でジャガイモを揚げるといった通常の調理で生成することが, 2004年にミネソタ大学の Seppanen らにより報告<sup>3)</sup>された. 経口摂取した4-HNEのヒトの健康に対する影響については, 有害性を示す濃度を含めてまだ明らかにされていないが, 健康影響のリスクが生じる可能性があることから, 我が国でも天ぷら等の調理における4-HNEの生成の有無や濃度について調べることにした. *n*-6系の多価不飽和脂肪酸から生じる4-HNEに加え, DHAやEPAなどの*n*-3系の多価不飽和脂肪酸の酸化によって生じる4-hydroxy-2E-hexenal (4-HHE)も4-HNEと同様の作用を有することが示唆されている<sup>4)</sup>ことから, 4-HHEも測定対象とした.

Seppanen らは試料油に含まれる4-HNEおよび類似構造を持つアルデヒドを2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) 誘導体化して抽出し, TLCによる精製の後に紫外可視吸光度を指標とする HPLCで分析している<sup>3)</sup>. また, 韓国の Surh と Kwon は水で抽出して逆相前処理カラムで精製してからトリメチルシリル (TMS) 誘導体として GC/MSにより外部検量線法で定量分析して, 油および市販の食品に含まれる4-HNE, 4-HHEの濃度を調べている<sup>5)</sup>. 筆者らは4-HNE, 4-HHEを定量分析するにあたり, 目的成分を他成分と十分分離することと回収率の影響を最小限にすることを目指し, 安定同位体で標識した内部標準を用いて TMS 誘導体を GC/MSで定量分析する方法を開発した. この方法を用いて市販の食用油を加熱した場合の4-HNE, 4-HHE濃度と, 繰り返し天ぷら油を使用した際の4-HNE, 4-HHE濃度と油の劣化指標を調べたので, ここに報告する.

## 実験材料及び方法

### (1) 4-HNE, 4-HHEの分析方法

#### i) 重水素標識化4-HNE, 4-HHEの合成

2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNEは文献記載の方法<sup>6)</sup>に従って化学合成した(図2). プロピオールアルデヒドジエチルアセタール **1** (東京化成工業製)とエチルマグネシウムブロマイド (13%THF溶液, 東京化成工業製)の反応により調製したグリニヤ試薬 **2**をヘキサナール (関東化学製)と反応させて, 4-ヒドロキシ-2-ノニナルジエチルアセタール **3**を得た. **3**の三重結合を重水素化

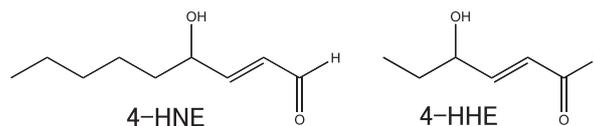


図1. 有害アルデヒド4-HNE, 4-HHEの化学構造

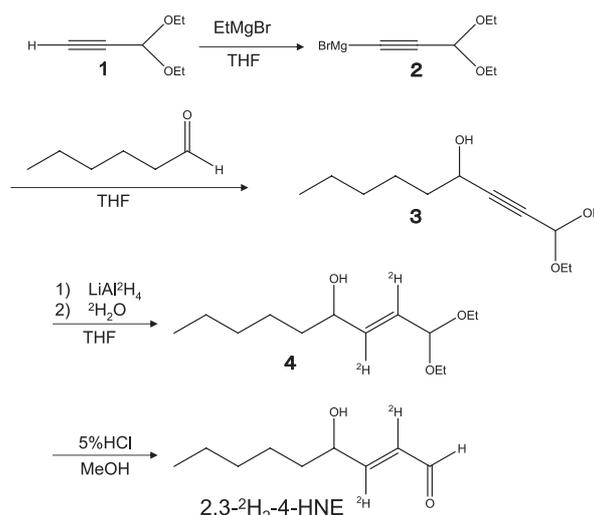


図2. 2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNEの合成経路

リチウムアルミニウム (和光純薬製)でトランス二重結合に還元し, 重水により反応を停止して, トランス二重結合に重水素が導入された **4**を得た. **4**を5%塩酸/メタノール中30分間室温で攪拌してアセタールを加水分解し, シリカゲル60 (ナカライ製)によるカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒30%酢酸エチル/*n*-ヘキサン)で精製して, 2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNEを86.5 mg得た (プロピオールアルデヒドジエチルアセタール **1**からの収率は44%).

2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HHEの化学合成は, 2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNEと同様の方法で行った. すなわち, グリニヤ試薬 **2**をプロパナール (東京化成工業製)と反応させて4-ヒドロキシ-2-ヘキシナルジエチルアセタールを得て, 以下同様に三重結合のトランス二重結合への還元と重水素の導入, アセタールの加水分解を行って, 2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HHEを73.1 mg得た (プロピオールアルデヒドジエチルアセタール **1**からの収率は11%).

合成した2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNEおよび2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HHEの<sup>13</sup>C-NMRは以下の通り (2,3-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>-4-HNE: δ<sup>c</sup> 14.0 (C-9), 22.5 (C-8), 24.9 (C-7), 31.6 (C-6), 36.4 (C-

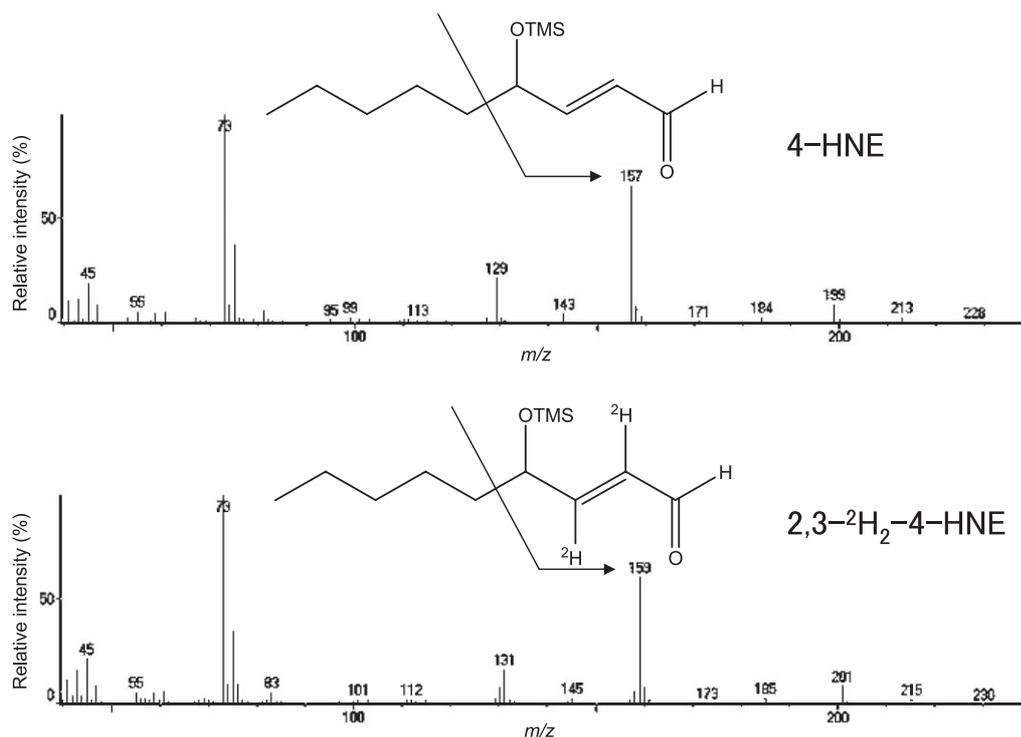


図3. 4-HNE および $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$  のマススペクトル

5), 71.0 (C-4), 130.2 (C-2), 158.9 (C-3), 193.8 (C-1)) ;  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HHE}$  :  $\delta^c$  9.5 (C-6), 29.5 (C-5), 72.2 (C-4), 130.5 (C-2), 158.1 (C-3), 193.6 (C-1)) であり, それぞれ期待する構造を有することを確認した. オレフィン炭素のシグナルが重水素とのカップリングにより分裂していることから, 重水素標識導入位置を2, 3位と確認した. さらに,  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HHE}$  および  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$  を TMS 誘導体化 (後述) して GC/MS で分析したところ, それぞれ市販の 4-HHE, 4-HNE の TMS 誘導体と保持時間が完全に一致した. 9.2分に検出された  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HHE}$  の TMS 誘導体は  $m/z$  188, 13.2分に検出された  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$  の TMS 誘導体は  $m/z$  230に分子イオンピークを与えた. また, 両者のマススペクトルには  $m/z$  159に強度の大きいフラグメントイオンが観測された. これは TMS 化4-ヒドロキシ-2-アルケナールの C-4-C-5間が開裂したイオンに相当し, その  $m/z$  値は非標識体のフラグメントイオンよりも2大きかった (図3に4-HNE および  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$  のマススペクトルを示す). 従って GC/MS での選択イオンモニタリング (SIM) により, 合成した  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HHE}$  および  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$  が非標識体と区別して検出できることから, これらを 4-HHE, 4-HNE の定量分析の内部標準として利用可能であることが判明した.

#### ii) 油試料の前処理法

前処理では, 油試料0.5~1 gを正確に秤量して内部標準 ( $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HHE}$  および  $2,3\text{-}^2\text{H}_2\text{-4-HNE}$ ) を各 1  $\mu\text{g}$  と, 10 mL の溶出溶媒A (4%酢酸エチル/*n*-ヘキサン (酸化防止剤として100  $\mu\text{M}$  のブチルヒドロキシトルエン (BHT) を含む)) を添加して十分に溶解し, あらかじめ6 mL の *n*-ヘキサンで平衡化しておいたシリカゲル前処理カラム (Sep-Pak Plus Silica (シリカゲル充填量690 mg), Waters 製) に負荷した. シリカゲル前処理カラムを16 mL の溶出溶媒A, 次いで1 mL の溶出溶媒B (20%酢酸エチル/*n*-ヘキサン (100  $\mu\text{M}$  の BHT) を含む) で洗浄し, 9 mL の溶出溶媒Bで4-HNE, 4-HHEを溶出した. 溶出液の溶媒を減圧留去し, 100  $\mu\text{L}$  の酢酸エチル (100  $\mu\text{M}$  の BHT を含む) に再溶解後, 100  $\mu\text{L}$  の *N,O*-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA, ジーエルサイエンス製) を加え, 85  $^{\circ}\text{C}$  で10分反応させて4-HNE, 4-HHEをTMS誘導体化した. 反応液を放冷後, 酢酸エチル (100  $\mu\text{M}$  の BHT を含む) を加えて全量を1 mLとして, GC/MSの分析試料とした.

#### iii) GC/MSによる定量分析法

TMS誘導体化した4-HNE, 4-HHEは, 以下に示す条件でGC/MS分析を行った.

装置: QP5000 (島津製作所製), カラム: DB-5MS (ア

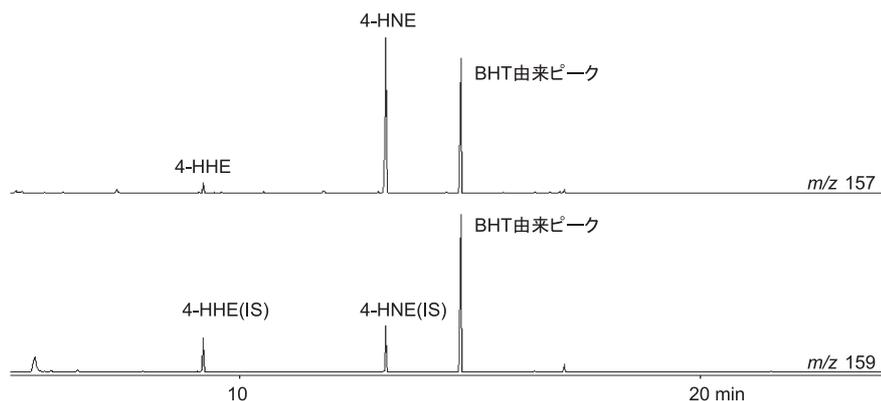


図4. 180℃で60分加熱したサラダ油の選択イオンクロマトグラム

ジレント製), 30 m×0.25 mm (i.d.), 0.25 μm (膜厚), 気化室温度: 200 °C, カラム温度: 50 °C (2 min)-10 °C/min-220 °C (5 min), インターフェース温度: 240 °C, 注入方法: スプリットレス注入, 注入量: 1 μL, MS: EI (70 eV), 検出: SIM  $m/z$  157 (ターゲット),  $m/z$  159 (内部標準).

4-HHEは9.2 min付近, 4-HNEは13.2 min付近に溶出され, 他のピークと十分に分離した(図4).

#### iv) 検量線

検量線の作成には, 内部標準各1 μgに対して市販の4-HHE (Cayman Chemical Company製) および4-HNE (Cayman Chemical Company製) をそれぞれ0.5, 3.0, 10.0 μg添加した標準試料ならびに4-HHE, 4-HNEを添加しない標準試料を用いた.  $m/z$  159に検出される非標識の4-HHEおよび4-HNEの $m/z$  157のフラグメントイオンの同位体ピークの影響を排除するため, 炭素とケイ素の同位体存在割合( $^{13}\text{C}$ (1.10%),  $^{29}\text{Si}$ (4.67%),  $^{30}\text{Si}$ (3.10%))に基づき非標識化合物のピーク比を $157:159=1:0.0402$ と算出して,  $m/z$  157面積/(159面積-157面積×0.0402)の値と標準試料の4-HNE, 4-HHE添加量から検量線を作成した.

#### v) 添加回収試験

添加回収試験は, 低濃度の4-HNE, 4-HHEを含む油1 gに対して4-HHEを0.2 μg, 4-HNEを0.3 μg添加した試料3点を分析して求めた4-HHEおよび4-HNEの濃度から, 添加量に対する回収量を計算して求めた.

## (2) 食用油の加熱処理及び調理によって生成する

### 4-HNE, 4-HHE

#### i) 食用油の加熱処理

市販の油10種類について, バイアル瓶(22 mL容)に油9 mLを加え, 栓をせずにアルミブロック中180 °Cで30分および60分加熱した. 加熱実験は3連で行い, 加熱後油を室温まで放冷した後, 4-HNE, 4-HHEを分析した.

#### ii) 天ぷら調理による油の繰り返し使用と油に含まれる4-HNE, 4-HHE

サラダ油(大豆油と菜種油の調合油)を繰り返し天ぷら調理に使用し, 生成する4-HNE, 4-HHEの変化を調べた. 天ぷら調理には, 市販のIH調理器(KZ-PH5: パナソニック製)とIH調理器対応の天ぷら鍋(KZ-TT2(1 L容量): パナソニック製)を用いた. 水道水で洗ったジャガイモ500 gを皮付きのまま8 mm厚にスライスし, 市販の天ぷら粉(昭和天ぷら粉: 昭和産業製)100 gに対して水道水160 mLを加えて調製した衣をつけた. 天ぷら調理はIH調理器の油揚げ機能により温度を180 °Cに設定し, 油1000 gが180 °Cになってから衣をつけたジャガイモを油に投入して行った. 油の温度を一定に保てるように温度計で確認しながら1回にジャガイモを5-8枚ずつ, 全量を4回に分けて投入し, 投入開始から調理終了までは約45分とした. 調理後は油が冷えるまで1時間程度放置し, 油の一部をサンプリングした後, 1 Lのビーカーに入れてアルミ箔で覆い遮光して室温で次の調理まで保存した. 次の調理では, 油が1000 gになるように新しい油を約150 g注ぎ足して, 同様の手順で行った. この天ぷら調理は独立した2連の実験で161日間, 15回にわたり油を繰り返し使用した.

繰り返し使用した油について, 4-HNE, 4-HHEに加えて劣化指標として過酸化価値(POV)と酸化(AV)を, いずれも日本油化学会制定の基準油脂分析試験

表 1. 市販の油を加熱した際の4-HNE, 4-HHE 濃度

油の種類	4-HNE mg/kg (CV %)			4-HHE mg/kg (CV %)		
	180 °C加熱条件			180 °C加熱条件		
	加熱なし	30分加熱	60分加熱	加熱なし	30分加熱	60分加熱
サラダ油 (大豆油+菜種油)	nd	6.33 (5.4)	10.57 (3.8)	nd	0.33 (3.6)	0.52 (2.7)
特定保健用食品 (B 1)*	nd	2.92 (6.7)	5.07 (1.8)	nd	0.23 (5.6)	0.30 (1.4)
特定保健用食品 (B 2)*	<0.19	2.89 (3.7)	5.52 (3.7)	nd	0.23 (3.2)	0.34 (2.2)
特定保健用食品 (B 3)	nd	5.53 (7.6)	9.94 (5.3)	<0.04	0.33 (2.5)	0.49 (4.2)
特定保健用食品 (B 4)*	nd	2.87 (9.0)	5.08 (3.8)	nd	0.57 (2.8)	0.82 (0.2)
特定保健用食品 (B 5)	nd	2.79 (23.5)	4.14 (3.8)	nd	0.19 (13.7)	0.27 (1.6)
菜種油	nd	2.27 (15.2)	4.59 (9.8)	nd	0.55 (4.6)	0.82 (1.8)
栄養機能食品 (菜種油+ビタミンE)*	nd	1.98 (1.1)	3.11 (8.5)	nd	0.44 (1.9)	0.69 (5.7)
栄養機能食品 (紅花油+ビタミンE)*	nd	5.06 (4.7)	8.80 (9.3)	nd	<0.04	0.06 (1.2)
綿実油	<0.19	10.13 (2.4)	14.96 (4.3)	nd	<0.04	0.05 (7.2)

\*: ビタミンEを含む油, nd: not detect, 加熱実験は3連で実施した平均値

法<sup>7,8)</sup>により測定した。

### 実験結果および考察

#### (1) 分析方法の評価

加熱した油に生成する微量の4-HNE, 4-HHEを高感度で定量分析するためには, 食用油に多量に存在する低極性夾雑成分のトリグリセリドを除去する必要がある。そこで前処理において, シリカゲル前処理カラムに4-HNE, 4-HHEを選択的に保持させて夾雑成分を可能な限り溶出, 除去した。また, 精度の高い定量を行えるよう, 重水素標識化4-HNE, 4-HHEを合成し, 内部標準として油試料に一定量添加して前処理操作を行った。夾雑成分を除去した後に4-HNE, 4-HHEをシリカゲル前処理カラムから溶出し, TMS誘導体化してGC/MSにより定量分析した。

##### i) 検量線

一連の分析試料の前後に分析した標準溶液4点(ターゲット/内部標準の範囲は0-10に相当し, 油0.5gを処理した場合では0-20 mg/kgに相当)より検量線を作成し, 4-HHE, 4-HNE共に $r^2$ は0.9999以上であった。

##### ii) 定量限界と添加回収試験

開発した定量分析法により低濃度の4-HNE, 4-HHEを含む油について繰り返し分析( $n=8$ )を実施した。標準偏差から推定した検出限界(LOD)は4-HHEで0.01 mg/kg, 4-HNEで0.06 mg/kgであり, 定量限界(LOQ)は, 4-HHEで0.04 mg/kg, 4-HNEで0.19 mg/kgであった。

添加回収試験(添加量: 油1gに対して, 4-HHE 0.2 µg, 4-HNE 0.3 µg)の結果, 回収率は4-HHEで

88%, 91%, 93%, 4-HNEで89%, 109%, 91%であり, いずれも85~110%の範囲に入り良好であった。

#### (2) 食用油の加熱処理及び調理によって生成する4-HNE, 4-HHE

開発した方法を用いて, 市販の食用油を加熱した場合と繰り返し天ぷら油を使用した際の4-HNE, 4-HHE濃度を分析した。繰り返し使用した天ぷら油については, 劣化指標としてPOVとAVについても測定した。

##### i) 食用油の加熱処理

表1に市販の油10種類を180 °Cで30分および60分加熱した際の4-HNE, 4-HHEの濃度を示した。それぞれの油において, 加熱時間に応じて4-HNE, 4-HHEの濃度が増加し, 油の種類によって4-HNE濃度には5倍程度の差があった。加熱により4-HNE濃度が大きく増加した油は, 大豆油を使用した特定保健用食品B3, サラダ油, 綿実油の3点であった。サラダ油は大豆油と菜種油の調合油であることから, 大豆油, 菜種油および綿実油に注目して, 4-HNEや4-HHEの由来となる $n-6$ 系ならびに $n-3$ 系多価不飽和脂肪酸の量を比較した。五訂増補日本食品標準成分表脂肪酸成分表編<sup>9)</sup>によると, 油100g中の $n-6$ 系多価不飽和脂肪酸の量は, 大豆油では49.67g, 綿実油では53.51gであり, 菜種油(18.59g)よりも多かった。従って,  $n-6$ 系不飽和脂肪酸の含有量は4-HNEの生成量に影響すると考えられた。一方, 油100g中の $n-3$ 系多価不飽和脂肪酸の量は, 菜種油(7.52g)よりも大豆油(6.1g)と綿実油(0.34g)の方が少なかった。4-HHEの生成量は綿実油では低く, 菜種油と特定保健用食品B4で高かった。4-HHEは, 分析した全ての油で4-

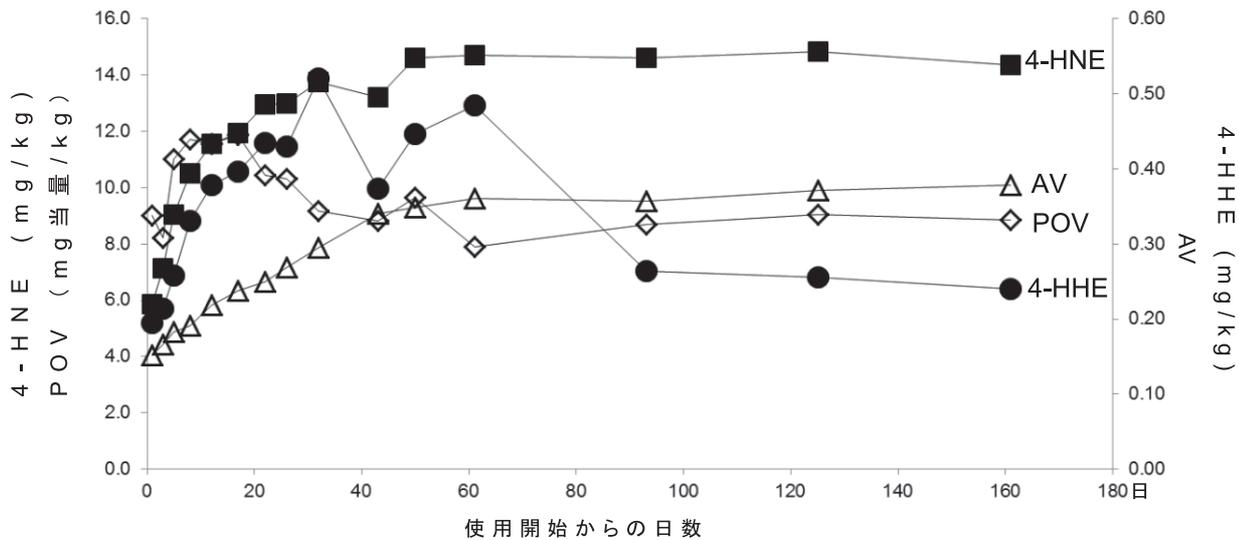


図5. 繰り返し天ぷら調理に使用したサラダ油の4-HNE, 4-HHE, 過酸化値 (POV), 酸価 (AV)

サラダ油1000 g (180℃) でジャガイモ500 gの天ぷら調理を繰り返した。使用後のサラダ油は遮光室温保存し、次回使用時に約150 gの未使用サラダ油を注ぎ油した。分析値は2連で実施した油の平均を示した。

HNEに比べて低濃度であったが、*n*-3系多価不飽和脂肪酸の含有量と4-HHEの生成量には相関があると考えられた。4-HNEおよび4-HHEが多価不飽和脂肪酸の過酸化脂質から生成することから、ビタミンEなどの抗酸化剤を含む食用油では4-HNEや4-HHEの生成量が低くなることが期待された。しかしながら、ビタミンE添加が明示されている油において添加量は示されておらず、今回の分析結果からビタミンE添加と4-HNE, 4-HHE濃度の間に明確な関連性は認められなかった。

Seppanenらが大豆油を185℃で1時間加熱した後の4-HNEは2.27 mg/kg, 4-HHEは0.40 mg/kgであり、表1のサラダ油(大豆油+菜種油)と比べると低い値であった<sup>10)</sup>。この原因は不明であるが、加熱条件(Seppanenらは5 Lの油をステンレス製のディープフライヤーで加熱)や分析法の違いが影響している可能性が考えられた。

#### ii) 天ぷら調理による油の繰り返し使用と油に含まれる4-HNE, 4-HHE

サラダ油を使用開始から161日間、15回繰り返し天ぷら調理に使用して、4-HNE, 4-HHEに加えてPOVとAVを測定した結果を図5に示す。4-HNE, 4-HHEは繰り返し使用の初期にPOVの上昇に遅れて増加しているが、これは4-HNE, 4-HHEが過酸化脂質の分解により生成することと一致している。4-HNEはや

がて頭打ちとなりほぼ一定の値を示したが、4-HHEは頭打ちとなった後に減少傾向が認められた。これは、分子量が小さい4-HHEが揮発や他成分との反応によって失われている可能性や、含有量の少ない*n*-3系多価不飽和脂肪酸が酸化により減少したこと等が考えられた。今回の結果からは、4-HNE, 4-HHEの増加をより一般的な油の劣化指標であるPOVやAVで評価することは困難であると考えられた。

4-HNEおよび4-HHEを経口摂取した際の体内動態や反応性に関する情報が無いため、今回得られた4-HNE, 4-HHEの油中の濃度がヒトの健康に与える影響については不明である。Surhらは韓国の大人が植物油(未加熱)、魚介類(未加熱)および揚げ食品から1日に摂取する4-HNEと4-HHEの合計を16.1 μgと推定している<sup>5)</sup>。本報告で油を12回繰り返し使用した場合、一食の天ぷらから摂取する油の量を約10 gとすると、4-HNEと4-HHEの合計摂取量は150 μg程度となり、Surhらの報告した1日摂取量の10倍程度であった。

## 要約

油の加熱によって生成する有害アルデヒド、4-HNE, 4-HHEを安定同位体で標識した内部標準を用いて定量分析する方法を開発した。この方法を用いて、

様々な食用油を加熱した際に生成する4-HNE, 4-HHE量を調べた。その結果, 4-HNEも4-HHEも加熱時間に応じて増加した。油の種類により4-HNEの生成量は5倍程度の差があり, *n*-6系多価不飽和脂肪酸の含有量の影響が大きいと考えられた。サラダ油を繰り返し天ぷら調理に使用した場合には, 4-HNE, 4-HHE共に繰り返し使用の初期にPOVの上昇に遅れて増加した。その後, 4-HNEはやがて頭打ちとなりほぼ一定の値を示したが, 4-HHEは減少した。

### 参考文献

- 1) Eckl, P.M., Ortner, A. and Esterbauer, H., Genotoxic properties of 4-hydroxyalkenals and analogous aldehydes, *Mutation Research*, **290**, 183-192(1993)
- 2) Petersen, D. R. and Doorn, J. A., Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets, *Free Radical Biology & Medicine*, **37**, 937-945(2004)
- 3) Seppanen, C. M. and Csallany, A. S., Incorporation of the toxic aldehyde 4-hydroxy-2-*trans*-nonenal into food fried in thermally oxidized soybean oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **81**, 1137-1141 (2004)
- 4) Long, E. K. and Picklo, M. J. Sr., Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of *n*-3 fatty acid peroxidation: make some room HNE..., *Free Radical Biology and Medicine*, **49**, 1-8(2010)
- 5) Surh, J. and Kwon, H., Estimation of daily exposure to 4-hydroxy-2-alkenals in Korean foods containing *n*-3 and *n*-6 polyunsaturated fatty acids, *Food Additives and Contaminants*, **22**, 701-708(2005)
- 6) Kinter, M., Trace quantitation of 4-hydroxy-2-nonenal in biological samples as its oxim-bis-*tert*-butyldimethyl silyl derivative using 3-hydroxynonanal as an internal standard, *J. Chromatogr.*, **578**, 9-16(1992)
- 7) 「基準油脂分析試験法」, 日本油化学会制定, 1996年版, 過氧化物価 (酢酸-イソオクタン法) 2.5.2-1996
- 8) 「基準油脂分析試験法」, 日本油化学会制定, 1996年版, 酸価2.3.1-1996
- 9) 「五訂増補日本食品標準成分表脂肪酸成分表編」, 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会編集, 2005年発行, 油脂類 p 270-271
- 10) Seppanen, C. M. and Csallany, A. S., The effect of intermittent and continuous heating of soybean oil at frying temperature on the formation of 4-hydroxy-2-*trans*-nonenal and other  $\alpha$ -,  $\beta$ -unsaturated hydroxyaldehydes, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **83**, 121-127(2006)

### 引用URL

- i) <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0286tr.pdf>  
(2011.10.28)
- ii) [ftp://ftp.fao.org/codex/cccf5/cf05\\_13e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/cccf5/cf05_13e.pdf)  
(2011.10.28)
- iii) <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/724.pdf>  
(2011.10.28)

技術報告

## 食品害虫サイトの大幅改訂による訪問者のアクセス行動の変化

曲山 幸生\*, 七里 与子, 宮ノ下 明大, 今村 太郎, 和田 有史, 増田 知尋

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

## Changes in Access Behavior of Visitors to Food-Insect Site after a Large Revision

Yukio Magariyama\*, Kumiko Shichiri, Akihiro Miyanoshita,

Taro Imamura, Yuji Wada, and Tomohiro Masuda

National Agriculture and Food Research Organization, Food Research Institute  
2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

### Abstract

We made a large revision in the Food-Insect Site in November, 2010, based on the result of a web survey carried out from June to August, 2010. To find the desired information easily in the Food-Insect Site, we have set a common menu and links to the other related pages on most pages in the new version. The comparison of access behaviors to the Food-Insect Site before and after the revision shows that the visitors moving from "Picture Guide to Food Pests" to the other pages increased, and that the views of the other pages increased.

Keywords : ウェブサイト (website), 改訂 (revision), アクセス解析 (access analysis)

### 緒 言

インターネット図鑑「貯穀害虫・天敵図鑑」をさらに使いやすくし、また、食総研における研究成果を中心に周辺情報もあわせて提供することを目的に、2007年11月に食品害虫サイトを開設した<sup>1)</sup>。これらの目的がどの程度達成されているかを調べるために、2010年6月から8月までの3か月間、食品害虫サイトへの訪問者を対象にウェブアンケートを実施した。その結果、

食品害虫サイトはどちらの目的も概ね達成していた。一方で、サイト内のコンテンツ間の関連を強くすることで、さらに他コンテンツへ誘導できる確率を増やす可能性があると考えられた<sup>2)</sup>。

そこで、食品害虫サイト全体に一体感を持たせ、各ページへの移動がスムーズにおこなえるように、2010年11月に大幅改訂を実施した。ここでは、食品害虫サイトの改訂内容とその結果訪問者のアクセス行動がどのように変わったかを報告する。

\*Corresponding author: maga@affrc.go.jp

表 1. 訪問解析の例

時刻	参照元	閲覧ページ	備考
8:46:22	www.google.co.jp/search?	/yakudachi/gaichu/zukan_00.html	入口
8:46:36	/yakudachi/gaichu/zukan_00.html <u>/yakudachi/gaichu/zukan_03.html</u>	/yakudachi/gaichu/zukan_03.html <u>/yakudachi/gaichu/zukan_00.html</u>	修正 (追加)
8:46:50	/yakudachi/gaichu/zukan_00.html	/yakudachi/gaichu/zukan_02.html	
8:47:22	/yakudachi/gaichu/zukan_02.html	/yakudachi/gaichu/zukan/10.html	
8:47:37	/yakudachi/gaichu/zukan/10.html	/yakudachi/gaichu/index.html	出口

下線なしのURLはアクセスログから得られた情報で、下線付きのURLは追加されたイベントである。上記の例では、8:46:36のアクセスの後に、訪問者はウェブブラウザの戻るボタンで/yakudachi/gaichu/zukan\_00.htmlを表示させ、その後8:46:50に/yakudachi/gaichu/zukan\_02.htmlを閲覧したと考えられる。そこで、アクセスログによる閲覧ページ数は5ページだが、/yakudachi/gaichu/zukan\_00.htmlを2回閲覧したと解釈し、この訪問では6ページ閲覧したことにした。

## 実験方法

### アクセス解析

食品害虫サイトは食総研サイトの一部として食総研ウェブサーバに設置されているので、食総研ウェブサーバのアクセスログファイルを解析した。巨大ファイルを取り扱うことができるエディタ Emursoft EmEditor Professional を用いて、このファイルを Windows で扱えるテキスト形式（文字コード：Shift-JIS、改行コード：CR+LF）に変換し、1カ月単位のファイルを作成した。アクセス解析に関する書籍<sup>3)</sup>を参考に、Microsoft Excel 2010 VBA でアクセス解析プログラムを独自に作成し、上記のアクセスログファイルを解析した。

### 解析対象

アクセス解析の対象とするログは、以下の基準を満たすものとした。

- (1) ファイル全体をダウンロード要求し、成功したもの（GETメソッド、ステータスコード：200）
- (2) 食品害虫サイトのページであるもの（リストと照合、2011年9月現在で137ページ）
- (3) 食総研ドメインからのアクセスでないもの（ホスト：150.26.17.###と150.26.147.###）
- (4) 検索ロボット等からのアクセスでないもの（リストと照合、2011年9月現在で181種類）

### 訪問者の識別

訪問者の識別は、IPアドレスとウェブブラウザ（ユーザーエージェント情報から抽出）の組み合わせによりおこなった。これを修正ホストとし、同じなら同一人物によるアクセスと仮定した。下に例を示す。

#### (1) PCの例

修正ホスト：MSIE7-60.56.92.205

MSIE7

ウェブブラウザ：Internet Explorer Ver.7

60.56.92.205 IPアドレス

#### (2) 携帯電話の例

修正ホスト：DoCoMo2/F08B-202.229.176.###

DoCoMo2/F08B

ウェブブラウザ：DoCoMo Ver.2, 機種：F08B

202.229.176.### IPアドレス（モバイルの場合、同一訪問中に変わる可能性があるため最後のドット以下は区別しない）

#### (3) 携帯電話（ウェブページ変換サービス）の例

修正ホスト：jig1/001SH-124.83.159.###

jig1/001SH 変換サービス：jig Ver.1, 機種：001SH

124.83.159.### IPアドレス（モバイルの場合、同一訪問中に変わる可能性があるため最後のドット以下は区別しない）

### 訪問の定義

修正ホストごとにアクセスイベントを日時順に並べ替えた後に、連続したアクセス間隔が30分以内の場合に同一の訪問とみなした。また、携帯電話からのアクセスは一般に参照元情報を得られないこと、サーバにアクセスせずにウェブブラウザの戻るボタン等を利用した操作もあること等から、必ずしも参照元と閲覧ページの流れが連続しない場合がある（表1）。その場合は仮想的なイベントを追加することにより、流れが連続するようにした。

## 実験結果および考察

### 改訂の内容

2010年6月から8月にかけて実施したウェブアンケート<sup>2)</sup>やアクセス解析の結果を基に食品害虫サイト



図1. 改訂前後のページ例 (図鑑：アズキゾウムシ)

(a) 改訂前のページ。(b) 改訂後のページ。右側の共通メニューや下側の関連情報等を記載し、訪問者が食品害虫サイト全体から目的の情報を取り出しやすいページ構成にした。http://nfri.naro.affrc.go.jp/yakudachi/gaichu/zukan/11.html, 2011年10月25日ダウンロード)

の改善案を検討し、2010年11月に大幅に改訂した食品害虫サイトを公開した。以下に、主な変更点を紹介する。

#### 共通メニュー

食品害虫サイトの訪問者の多くが、検索サイトから検索によって直接図鑑ページを閲覧する。改訂前の食品害虫サイトのページ構成では、図鑑の他にどのようなコンテンツがあるか訪問者は把握しにくかった(図1a)。そこで、訪問者が食品害虫サイトのどこにいてもサイト全体の構成を直観的に把握し、他のコンテンツにも容易にたどり着けることを目指して、サイト内のコンテンツを整理し、メニューの表現を簡潔にした。このメニューは食品害虫サイトの構成を表しており、サイト内のすべてのページで同じものが表示されている(図1b)。

#### 写真で検索する図鑑

食品害虫サイト訪問者の中には昆虫の名称を知らずに図鑑を調べたい人も多い。例えば、検索サイトで「食品 害虫」といったキーワードを入力して食品害虫サイトにたどり着いた人たちである。食品中に発生した



図2. 改訂後のページ例 (図鑑：食品で探す)

食品害虫サイトの図鑑では掲載されている昆虫を探す方法として、形態別、名称別、食品別、分類なしの4つのリストを用意し、それぞれに昆虫の写真の写真を掲載している。

(http://nfri.naro.affrc.go.jp/yakudachi/gaichu/zukan\_01.html, 2011年10月25日ダウンロード)

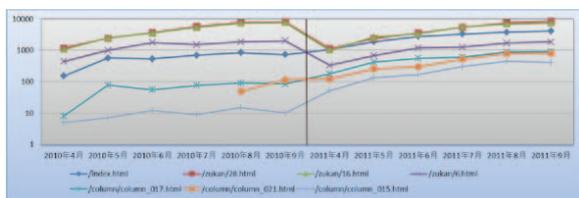


図3. ページ閲覧数の推移

食品害虫サイトトップ (/index.html), 図鑑：ノシメマダラメイガ (/zukan/28.html), 図鑑：コクゾウムシ (/zukan/16.html), 図鑑：コクヌストモドキ (zukan/6.html), コラム：コクゾウムシはどこから来るのか (/column/column\_017.html), コラム：米びつ害虫の勘違い (/column/column\_021.html), コラム：ノシメマダラメイガの赤い糞 (/column/column\_015.html) の、毎月のページ閲覧数の変化を示す。図鑑ページは改訂前後で閲覧数の傾向に変化が見られなかったが、トップページとコラムページは改訂後に閲覧数が前年よりも増加した。縦軸は対数で表示した閲覧数である。

目の前で動いている昆虫について調べたい場合、検索するための手がかりは限られているために、前述のような大雑把なキーワードでしか検索できない。改訂後の食品害虫サイトの図鑑では、形態（甲虫、蛾、その他、天敵、幼虫等）、名称（アイウエオ順）、被害を受けた食品（穀類、豆類、乾燥食品、その他）で分類した目次において、名称だけでなく代表的な写真を掲載し、訪問者が少ない操作で容易に目的の情報に到達できるようにした（図2）。

#### 関連情報の追加

ある昆虫に関連した情報は、食品害虫サイトの図鑑以外のページにも掲載されている。例えば、コクゾウムシに関係した情報として、コラム「貯穀害虫の飼い方」、コラム「コクゾウムシはどこから来るのか」、コラム「スターのコクゾウムシと一発屋のコクヌストモドキ」、コラム「米びつ害虫の勘違い」、過去の質問「コクゾウムシの雌雄判別は、口吻で見分けると聞いたのですが、口吻のどういう特徴で見分けられるのでしょうか?」、といったページが存在する。これらの関連情報へのアクセスを容易にするために、改版後の食品害虫サイトの各ページには、食品害虫サイト内の関連ページへのリンクを記載した（図1参照）。また、参考文献として食総研研究者による関連論文等のリストも掲載した。

#### 過去の質問、防除方法・殺虫方法、健康被害の掲載

貯蔵していた食品に発生した昆虫の危険性に関する情報を得ることを目的にした訪問者は個別に質問する

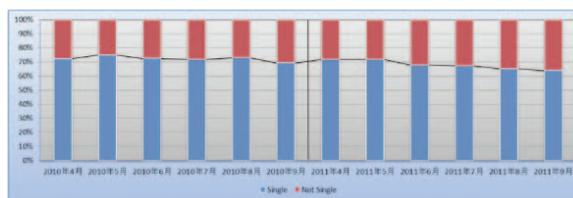


図4. 訪問回数

食品害虫サイトへの訪問のうち、1回だけの訪問（青）と複数回の訪問（赤）の割合を示す。2011年6月以降に繰り返し訪問の割合が増加している。

割合も高い。そこで、改訂後の食品害虫サイトには、「過去の質問」、「防除方法・殺虫方法」、「健康被害」というページを設け、基本的な情報をまとめて提供することにした。これにより、訪問者は個別に質問する手間を省くことができ、サイト運営者は同じ質問に繰り返し回答する必要がなくなることが期待される。

#### アクセス解析結果

##### ページ閲覧数

改訂前後で食品害虫サイト内のページ閲覧数を調べた（図3）。2010年11月の大幅改訂前の夏の期間6か月と1年後の6か月を比較した。

もともと閲覧数の多かったノシメマダラメイガ、コクゾウムシ、コクヌストモドキの図鑑ページは、改訂前後で変化は見られなかった。一方、食品害虫サイトトップページ、コラム「コクゾウムシはどこから来るのか」、コラム「米びつ害虫の勘違い」、コラム「ノシメマダラメイガの赤い糞」の各ページは、改訂後に閲覧数が増加した。共通メニューによって食品害虫サイト全体の構造が把握しやすくなり、関連情報によりコラム等の図鑑以外のコンテンツの存在が広く知られ始めた効果であると考えられる。

なお、以前報告したように<sup>9)</sup>、昆虫の発生数を反映したアクセス数の季節変動（夏にアクセス数が増加する傾向）が認められた。

##### 訪問回数の変化

図4は食品害虫サイトへの訪問のうち、1回だけの訪問者と複数回の訪問者との割合を解析した結果である。複数回訪問する割合が多いほど、食品害虫サイトに掲載されている情報が、訪問者にとって何度も閲覧する価値が高かったと考えることができる。図4を見ると、改訂前後で複数回訪問の割合に急激な変化は見られなかった。しかし、2011年5月まで複数回訪問の

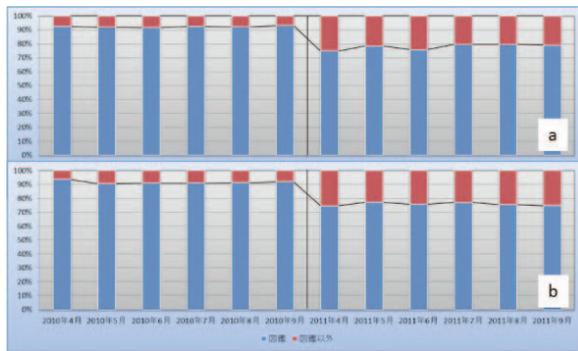


図5. 入口ページ，出口ページ

(a) 食品害虫サイト全体のうち，入口ページが図鑑ページである割合(青)とその他のページである割合(赤)。(b) 食品害虫サイト全体のうち，出口ページが図鑑ページである割合(青)とその他のページである割合(赤)。どちらの場合でも，食品害虫サイトの大幅改定(2010年11月1日)のあと図鑑ページが占める割合が低下している。

割合は30%弱でほぼ一定だったが，その後少しずつ増加しているように見える。現在この原因を特定できていないが，今後この傾向が継続していくのか，一時的なものか，より長期的なデータを取得し検討する。

#### 入口ページ・出口ページ解析：図鑑と図鑑以外のページの比較

入口ページは訪問の最初に閲覧したページ，出口ページは最後に閲覧したページである。表1の例では，害虫図鑑のトップページ (/yakudachi/gaichu/zukan\_00.html) が入口ページ，食品害虫サイトのトップページ (/yakudachi/gaichu/index.html) が出口ページである。入口ページとなる回数は社会にどの程度認知されているか，出口ページとなる回数は訪問者の目的に合っていたかを反映した指標だと考えられる。

各種コンテンツがどの程度食品害虫サイトへの訪問のきっかけになったのか，その貢献度を検討するために，図鑑ページと図鑑以外のページが入口ページ，出口ページになった割合をそれぞれ算出した(図5)。図鑑以外のページは，改訂前に10%未満の割合でしか入口ページになっていなかったが，改訂後は20%以上に増加した。出口ページも同様の傾向が見られた。

この結果は，改訂によって図鑑以外のページも食品害虫サイトへの訪問促進に対する貢献度が増したことを示している。

#### 入口ページ・出口ページ解析：個別ページ

個別のページに対して，閲覧数，入口ページになっ

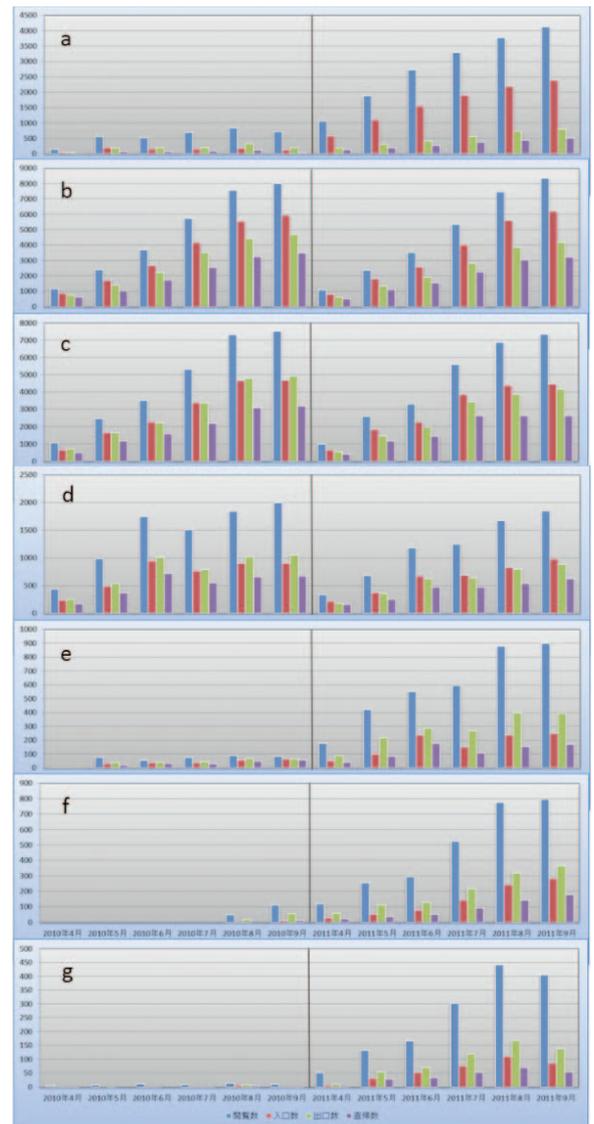


図6. ページ別の閲覧数，入口数，出口数，直帰数

(a) 食品害虫サイトトップ (/index.html)，(b) 図鑑：ノシメマダラメイガ (/zukan/28.html)，(c) 図鑑：コクゾウムシ (/zukan/16.html)，(d) 図鑑：コクヌストモドキ (zukan/6.html)，(e) コラム：コクゾウムシはどこから来るのか (/column/column\_017.html)，(f) コラム：米びつ害虫の勘違い (/column/column\_021.html)，(g) コラム：ノシメマダラメイガの赤い糞 (/column/column\_015.html)。青が閲覧数，赤が入口数，緑が出口数，紫が直帰数である。

た回数(入口数)，出口ページになった回数(出口数)，そのページだけを閲覧した訪問の回数(直帰数)を解析した結果を図6に示した。対象としたページは，食品害虫サイトトップ (/index.html)，図鑑「ノシメマダラメイガ」 (/zukan/28.html)，図鑑「コクゾウムシ」 (/zukan/16.html)，図鑑「コクヌストモドキ」 (zukan/

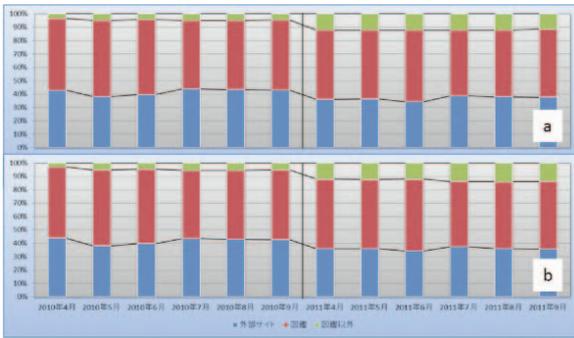


図7. 図鑑を通過するアクセスの流れ

(a) 図鑑を閲覧する直前のページ。(b) 図鑑を閲覧したあとのページ。青は食品害虫サイト以外のページ、赤は図鑑ページ、緑は図鑑以外の食品害虫サイトのページである。食品害虫サイト改訂後のほうが食品害虫サイトの図鑑以外のページからの流入割合が増加した。同様に、食品害虫サイトの図鑑以外のページへ移動する割合が増加した。

6.html), コラム「コクゾウムシはどこから来るのか」(/column/column\_017.html), コラム「米びつ害虫の勘違い」(/column/column\_021.html), コラム「ノシメマダラメイガの赤い糞」(/column/column\_015.html)である。

「訪問回数の変化」で述べたように、図鑑ページの閲覧数は改訂前後で目立った変化はなかったが、図鑑以外のページの閲覧数は大きく増加していた。

一方で、図鑑ページの入口数、出口数、直帰数は改訂後に減少した。直帰数の減少は、他のページへの誘導が成功したことを意味しているため、改訂の目的が達成されたとと言える。

改訂後の食品害虫サイトトップページの閲覧数増加の要因は入口数の増加である。つまり、改訂後に食品害虫サイト自体が次第に認知されてきたために、トップページが入口ページになることが多くなったと考えられる。

一方、改訂後のコラムページに注目すると、閲覧数の増加ほど入口数の増加の割合は大きくない。つまり、多くの訪問者が他のページから移動してきた結果、閲覧数が増加した。図鑑ページの出口数の減少と合わせて考えると、図鑑ページからコラムページへの移動が増加したと考えられる。

#### 図鑑を介した閲覧の流れ

食品害虫サイトの中心コンテンツは、貯穀害虫・天敵図鑑である。そこで、図鑑ページへの訪問者の流入と図鑑ページからの流出を調べた。

図7 aは、図鑑コンテンツの閲覧の参照元を、食品害虫サイト外、図鑑ページ、食品害虫サイトの図鑑以外のページに分けて、その割合を示したグラフである。改訂前は図鑑以外のページからの流入は数%だったが、改訂後は10%を超えた。図7 bは、図鑑コンテンツからの流出先を同様に分類して示したグラフである。こちらも改訂後に流出先が図鑑以外のページである割合が増加している。相対的に図鑑内移動や食品害虫サイト外部との間の移動の割合は減少しているが、回数には大きな変化はない。改訂後に図鑑と図鑑以外のページの間の移動数が増加したことから、図鑑と図鑑以外のページの間に関連が訪問者にとって強くなったことが示された。

図8は図鑑の各ページに対する流入と流出を解析した結果を示したグラフである。採り上げたページは、ノシメマダラメイガ、コクゾウムシ、コクヌストモドキ、カクムネヒラタムシ、フタオビツヤゴミムシダマシ、ゾウムシコガネコバチである。前の3者は閲覧数の多い貯穀害虫のページ、残りの3者は閲覧数の少ない、いわばマイナーな貯穀害虫(天敵)のページである。

閲覧数の多い図鑑ページについて、改訂後に図鑑以外のページからの流入が増加している。図鑑以外のページへの流出も増加している。一方、閲覧数の少ない図鑑ページについては、改訂前後で共通する変化は見られなかった。前に図鑑と図鑑以外のページ間の関係が改訂後に強化されたと述べたが、この結果によると、主にノシメマダラメイガやコクゾウムシのような閲覧数の多い図鑑ページの効果が大きいことが明らかになった。

#### 検索キーワードの解析

食品害虫サイトの訪問のうち、検索サイトが参照元となっていたのは約40%であった。改訂前後での検索キーワードの使用頻度の変化を検討した(図9)。

コクゾウムシやノシメマダラメイガという代表的な貯穀害虫名をキーワードとした検索は、改訂前後で大きな変化は見られなかった。ザザムシはコラム「虫入りチョコレートケーキの試食」(2008年4月24日)の文章中に現れるが、改訂(2010年11月)の前には検索キーワードとして現れなかった。また、「貯穀害虫・天敵図鑑」に直結する一般名詞である害虫や図鑑をキーワードとした検索は、改訂後に減少した。逆に、画像をキーワードとした検索は改訂後に増加している。

以上の結果は、改訂後の食品害虫サイトは貯穀害虫・

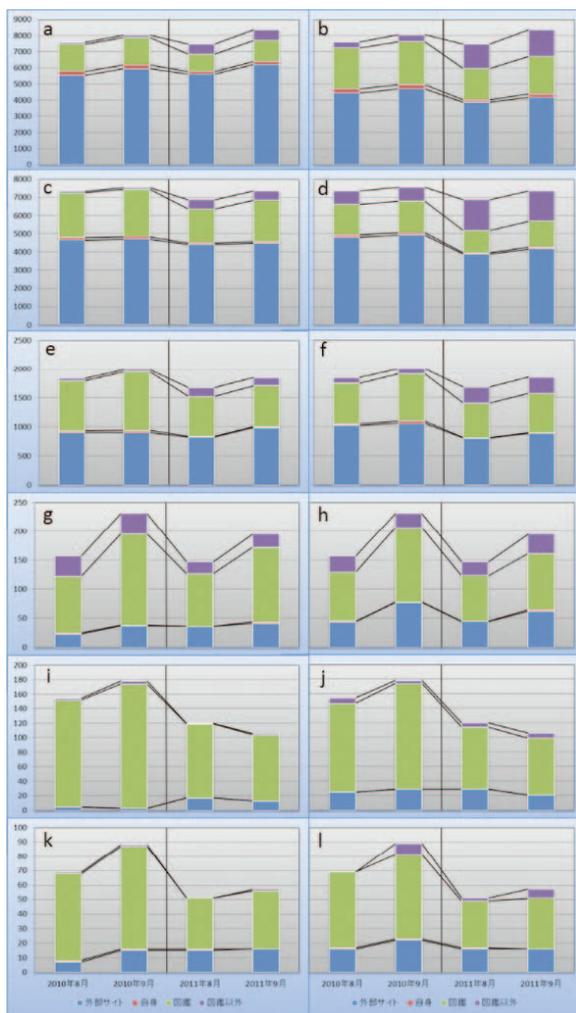


図 8. 図鑑ページを通過するアクセスの流れ

(a) 図鑑：ノシメマダラメイガ (/zukan/28.html) への流入，(b) 図鑑：ノシメマダラメイガ (/zukan/28.html) からの流出，(c) 図鑑：コクゾウムシ (/zukan/16.html) への流入，(d) 図鑑：コクゾウムシ (/zukan/16.html) からの流出，(e) 図鑑：コクヌストモドキ (/zukan/28.html) への流入，(f) 図鑑：コクヌストモドキ (/zukan/28.html) からの流出，(g) 図鑑：カクムネヒラタムシ (/zukan/27.html) への流入，(h) 図鑑：カクムネヒラタムシ (/zukan/27.html) からの流出，(i) 図鑑：フタオビツヤゴミムシダマシ (/zukan/3.html) への流入，(j) 図鑑：フタオビツヤゴミムシダマシ (/zukan/3.html) からの流出，(i) 図鑑：ゾウムシコガネコバチ (/zukan/45.html) への流入，(j) 図鑑：ゾウムシコガネコバチ (/zukan/45.html) からの流出。

天敵図鑑に依存したサイトから脱却し，食品害虫に関する総合的な情報提供サイトへと変化しつつあることを示している。

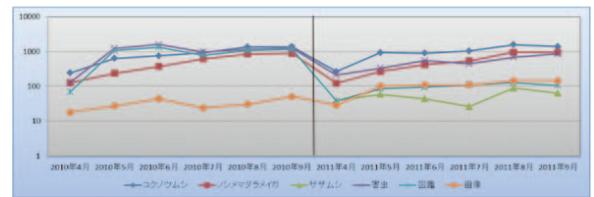


図 9. 検索キーワードの使用頻度の推移

検索キーワードとして，コクゾウムシ，ノシメマダラメイガ，ザザムシ，害虫，図鑑，画像の 6 語が使用された頻度の推移を示す。食品害虫サイト改訂後に，ザザムシが現れ，図鑑が改訂前の約 10 分の 1 になった。縦軸は対数表示の使用頻度である。

表 2. アクセス解析用語集

用語	意味
閲覧	利用者がウェブページを見る行為。ここでは HTML ファイルがダウンロードされたことをもって閲覧とみなした。
訪問	一連のまとまった閲覧行動。ここでは 30 分を超えると別の訪問とみなした。
参照元	対象とする利用者の行動（閲覧や訪問）の直前に閲覧していたページあるいはサイト。
入口ページ	訪問の最初に閲覧したページ。
出口ページ	訪問の最後に閲覧したページ。
直帰	1 ページだけ閲覧した訪問。
アクセスログ	ウェブサーバが記録したアクセス情報。次のような情報が記録されている。 IP アドレス (例, 114.182.80.41) アイデンティティ (例, -) ユーザ ID (例, -) 日付時刻 (例, [01/Oct/2011:00:00:09 +0900]) リクエスト (例, "GET /yakudachi/gaichu/zukan/8.html HTTP/1.0") ステータス (例, 200) サイズ (例, 15244) 参照元 (例, http://nfri.naro.affrc.go.jp/yakudachi/gaichu/zukan_01.html) ユーザーエージェント (例, "Mozilla/4.0 (compatible; MSIE 8.0; Windows NT 5.1; Trident/4.0; GTB7.1; .NET CLR 2.0.50727; .NET CLR 3.0.4506.2152; .NET CLR 3.5.30729)")

#### 補足

本技術報告で使用したアクセス解析用語の簡単な解説を表 2 にまとめた。

#### 要約

2010年6月から3か月間実施したウェブアンケートの結果を受けて，2010年11月に食品害虫サイトを大幅に改訂した。この改訂では，各ページに共通メニューを設け，訪問者が食品害虫サイトに存在する情報を見つけやすくした。また，ページごとに関連情報へのリンクを設けて，訪問者が興味を持ちそうな情報が他に

もあることを示した。この改訂の前後でアクセス解析結果を比較したところ、図鑑から他のページへ誘導される訪問者が増加し、図鑑以外のページの閲覧数が増えていた。この結果から、食品害虫サイトの利便性が向上し、図鑑以外の有用な情報を掲載したページの存在に気づきやすくなったと考えられる。また、検索キーワードに図鑑関係以外の単語も現れてきているので、改訂後の食品害虫サイトは図鑑への依存度が低下してきたと考えられる。

## 参考文献

- 1) 曲山幸生, 七里与子, 宮ノ下明大, 今村太郎, 食品害虫サイトの開設とそのアクセス解析, 家屋害虫, vol. 31, no. 2, pp. 93-99 (2009).
- 2) 曲山幸生, 七里与子, 宮ノ下明大, 今村太郎, 和田有史, 増田知尋, 木村敦, ウェブアンケートによる食品害虫サイト利用状況調査, 食品総合研究所研究報告, no. 75, pp. 55-61 (2011).
- 3) 衣袋宏美, PROFESSIONAL アクセス解析, 技術評論社, ISBN978-4-7741-4633-1, 2011年発行
- 4) 曲山幸生, 七里与子, 宮ノ下明大, 今村太郎, アクセス解析から推定した注目度と浸透度, 農業情報研究, vol. 19, no. 1, pp. 109 (2010).

## In Vitro Screening of Food Functionalities of Commonly Consumed Bangladeshi Vegetables and Rice

Hossain Uddin Shekhar

UNU-Kirin Fellow from Bangladesh  
Functional Food Factor Laboratory

Bangladesh is an agro based country. Vegetables that grow in Bangladesh serve as a major source of daily food in general. However, the potency of these everyday consumed vegetables in terms of antioxidant, antimutagenic, antitumor and antibacterial activity against pathogenic microbes and spoilage bacteria etc. has never been known. So attempts have been made to study above parameters taking twelve representative vegetables samples namely: red amaranth (*Amaranthus gangeticus*), spinach (*Spinacia oleracea*), coriander leaves (*Coriendum sativum*) cauliflower (*Brassica oleracea var botrytis*), green bringle (*Solanum melongena*), cabbage (*Brassica oleracea*), kolmi shak (*Ipomoea aquitica*), radish (*Raphanus sativus*), green banana (*Musa paradisiaca*), amaranth leaf (*Amaranthus viridis*), purple bringle (*Solanum melongena*), and mushroom (*Genoderma lucidium*).

H-ORAC activity was found to be in the range of 32.42 (green Banana) - 343.13 (kolmi shak)  $\mu\text{mol TE (Trolox}^{\text{®}}\text{ equivalent)}/\text{g DW}$  (Dry weight). DPPH-RSA was 288.315(mushroom)-753.42 (kolmishak)  $\mu\text{molTE}/\text{gDW}$ . TPP was ranged from 36.12 (coriander leaf) to 328.91 (purple bringle) mg GAE (galic acid equivalent) /g DW. Kolmi shak showed highest antioxidant activity in terms of H-ORAC and DPPH-RSA. Correlation between H-ORAC & DPPH-RSA, HORAC & TPP, and DPPH & TPP were found to be 0.60, 0.09 and 0.03 respectively.

The DMSO extract of all these vegetables demonstrate antimutagenic effect on Trp-P2 induced mutagenicity to *Salmonella typhimurium* TA98 while tested with Perilla as standard. The anti-mutagenic activity demonstrated by all these vegetables showed wide range of variation with Red amaranth with highest activity (69.11 %) and Coriender leaves with lowest 6.76%.

The DMSO extract of Eggplant (green), Water spinach, Red amaranth and Eggplant (purple) showed highest anti tumor activities in P388 leukemia cell line. Six vegetables extract showed antibacterial activity against spoilage bacteria. Coriender leaves, showed maximum activity against three spoilage bacteria namely *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*. Water Spinach's extract was found to be active against four pathogenic bacteria.

The physicochemical and pasting (rheological) properties between Bangladeshi traditional and high yielding variety (HYV) of Indica rice has been compared. 7 representatives of traditional indica parboiled rice namely Dudhkolom, Ashiana, Kajalsail, Dadkhani, kataribhog, Jalidhan and 7 high yielding varieties namely BRR22, BRRI23, BRRI28, BRRI 29, BRRI 31, BRRI40, BRRI 41 have been chosen based on their popularity and availability. The flour particle size obtained after grinding ranged from 204.05 $\mu\text{m}$  (Ashiana)-311.85 $\mu\text{m}$  (Magursail) for traditional variety and 224.87 $\mu\text{m}$  (BRRI 31)-281.70 $\mu\text{m}$  (BRRI 28) for HYVs. The overall hardness of the rice grain range from 262800 N/m<sup>2</sup> (Kataribhog)- 458200 N/m<sup>2</sup> (Magursail) for traditional varieties and 343800 N/m<sup>2</sup> (BRRI 29)- 461300 N/m<sup>2</sup> (BRRI 31) for HYV. In white index BRRI 22 has been found to be the most white rice grain among all fourteen varieties.

Amylose content (AC) ranged from 21.18 % (Kajal sail)-25.81% (Dudhkolom) for traditional variety and 22.16%

(BRRI 31)-30.37% (BRRI 22) for HYV. The protein content of traditional varieties lie between 6.09 % (Dudhkolom)-8.76% (Jolidhan) and that of HYV lied between 7.82 % (BRRI 41)- 9.09 %(BRRI 31). Gel consistency test reveal that all the varieties have soft gel consistency.

Rheological properties namely peak viscosity (PV), trough viscosity (TV), breakdown viscosity (BV), final viscosity (FV) and setback viscosity (SV) have been determined for all the 14 samples. It has been found that varietal differences cause significant difference in these parameters.

Thirty different free amino acids with variable amount have been detected in all the fourteen samples. Seven tasty amino acids (Ala, Gly, Gln, Glu, Asn,Thr, Asp) have been detected in all varieties. Kataribhog contain the highest amount of these tasty amino acid and Kajalsail the least. Different amount of Gamma amino butyric acid (GABA) has been found in all the varieties. BRRI 22 contain the highest (12.33mg/gm dry basis).

## Quality Control of Food Material Using Ultra-Grinding Method

Ngamjit Lowithun

UNU-Kirin Fellow from Thailand

Food Processing Laboratory,

Quality of rice bread prepared with different particle sizes of rice flour was studied to evaluate the effect of ultra-grinding method. *Japonica* (Koshihikari) and *Indica* (Rinks-nakate) rice varieties ground with hammer mill and jet mill methods were used to prepare bread samples at 20, 30 and 40% rice flours. The sample prepared from wheat flour was used as control sample. The results showed that increasing of rice flours caused decrease of expansion volume and increase of hardness characteristics. The bread substituted with jet-milled rice flours had the lowest volume in both of the rice varieties. Moreover, the texture values of all samples were increased with increase of storage time. The addition of water in the formula increased expansion volume and decreased hardness of bread samples. In the second experiment, the pretreatment of raw rice with cooking process was studied to improve bread quality. The bread samples substituted with cooked Koshihikarai and Khao Dawk Mali 105 (Jasmine rice) rice having different particle size resulted to the loaf volume and hardness values were improved. A suitable gelatinization process for making rice bread must be more studied in future years.

## Practical Production of Oligosaccharides Employing Multiple-enzymes System

Li Bingxue

UNU-Kirin Fellow from China

Enzyme Laboratory

There are many kinds of oligosaccharides which have important functions. The low quantity and difficulty to synthesis limited the utility value of such oligosaccharides. Fortunately, oligosaccharides could be synthesis or exploited by phosphorolytic enzymes (phosphorylase).

D-Galactosyl-  $\beta$  1 $\rightarrow$ 4-L-rhamnose phosphorylase (GRP) could produce Gal- $\beta$ 1,3-Glc, which was a new oligosaccharides, from glucose and Gal-1-P. We named Gal- $\beta$ 1,3-Glc as Novus-Lactose, because the structure of Lactose was Gal- $\beta$  1,4-Glc. The Novus-Lactose could be one important candidate Functional Oligosaccharide in food and health products due to its distinctive structure.

For the construction of the enzymatic procedure, it is important to establish a routine method to measure the enzymatic activity. We developed a protocol for the enzymatic colorimetric quantification of orthophosphate (Pi) using pyruvate oxidase and peroxidase. The following relationship was derived from linear regression with a correlation coefficient greater than 0.996:  $y = 0.46 x$  ( $x = [\text{phosphate}]$  (mM);  $y = \Delta\text{Abs}_{505}$ ). The calibration curve was not affected by the presence of labile phosphate esters. The method is capable for continuous monitoring of the reaction activity of GRP.

We have attempted the one-pot enzymatic synthesis of Novus-Lactose from sucrose employing multiple-enzymes system: sucrose phosphorylase (SP), UDP-glucose-hexose 1-phosphate urydylal transferase (GalT), UDP-glucose 4-epimerase (GalE), xylose isomerase (XI), and GRP (Fig.1).

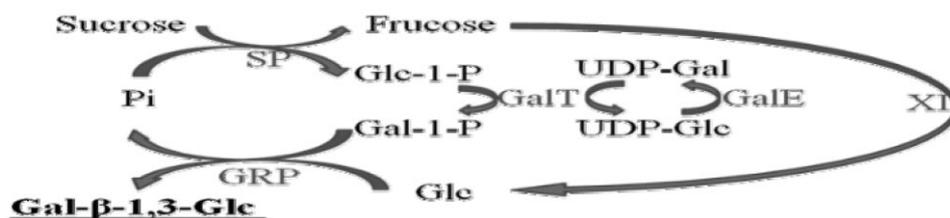


Fig.1 Multiple-enzymes system for synthesizing Gal- $\beta$ -1,3-Glc

We initially fixed the concentrations of substrates and cofactors as 1.0 M Sucrose, 400 mM phosphate, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, and 1 mM UDPG. Then we fixed the concentration of GalT, GalE, XI, and GRP as optimum concentration 31.2, 81.2, 400, and 100 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), respectively. We try to optimize the SP concentration and found it between 31.2 to 125 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) The maximum concentration of Gal- $\beta$ -1,3-Glc reached 322 mM in 14 d at 30 °C with SP, GalT, GalE, XI, and GRP at 25, 125, 325, 1600 and 400 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), respectively.

## **CFD Analysis of Bubble Distribution in Non-Catalytic Reactor for Production of Biodiesel Fuel**

Dyah Wulandani

UNU-Kirin Fellow from Indonesia  
Reaction and Separation Engineering Laboratory

Biodiesel fuel is a biodegradable of diesel fuel that is produced through trans-esterification between vegetable oil and methanol. The non-catalytic biodiesel fuel production method called superheated methanol vapor in the bubble column reactor which is used in this research has advantage; no requiring purification before and after reaction, due to the not existing of catalyst, so both initial and running costs are to be reduced. However the reaction rate of biodiesel fuel production is still lower than other method (catalytic method). The previous studies noted that the contact surface between the methanol bubble and the oil acts as the limiting factor for enhancing the reaction rate. The contact surface area is influenced by the bubble size distribution, which in turn affected by the reactor design. Therefore, this study is devoted to the analysis of the bubble distribution in non catalytic reactor to increase the reaction rate of biodiesel fuel production using the Computational Fluid Dynamics (CFD) method. CFD can minimize the experimental design cost and time by simulating various experimental conditions to show a real phenomenon, with a reasonable accuracy and precision.

A transparent reactor using nitrogen and water system were used to verify the CFD modeling. By comparing this model with experiment result using high speed camera, it was found that 3D CFD modeling, turbulent flow and non-equilibrium wall function give the best similarity with experimental result. The result proves that the increase of inlet gas velocities increase the gas holdup and contact surface area significantly.

Based on the proper CFD modeling, ten scenarios of treatment and design of obstacle installed in the column reactor were simulated to find the highest contact surface area and reaction rate. Both of simulation and experimental result show that by utilizing of the obstacle in the reactor, contact surface between oil and methanol vapor increase and the reaction rate of biodiesel fuel production also increase by use of the obstacle. The CFD modeling represented well to describe the bubble behavior, and reaction rate was estimated by results of CFD.

## Research Study of Nutritional and Healthy Functional Components of Vegetables and Fermented Traditional Foods of Mongolia and Japan

Dolgorsuren Bayarsaikhan

UNU-Kirin Fellow from Mongolia

Food Function Laboratory

The functional foods and supplements for human health are studied and developed using traditional food and ancient foods. Sometimes traditional foods are very important as source of function food, because there are many no-identified compounds in the foods. It is possible that Mongolian traditional foods also may have new functions for human health. Traditional Mongolian milk products can be classified as non-fermented and fermented milk products. Fermented milk products can be further sub-divided into products of lactic acid fermentation (Tarag, Khoormog, Byaslag, and Eezgiii) and products of lactic acid fermentation combined with alcoholic fermentation (Airag, Undaa, Arkhi, Aarts and Aaruul). We have focused on the 3 food functions, which were typical health functions and very important for human health. Therefore, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and anti-oxidant activity of traditional daily products in Mongolian country area were assayed in this report. Furthermore these traditional daily products and vegetables were performed overall evaluation of food function for some human health points. Mongolia milk products were crushed and extracted with distilled water. The extracted samples were used for assays of anti-oxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, and ACE inhibitory activity. For identification of compound having ACE inhibitory activity in Mongolian dairy products, ultrafiltration and reverse-phase HPLC fractionation were performed. The relatively high active fraction was used as sample of mass spectrometry analysis. About ACE inhibitory activity of various traditional milk products, 12 Aaruul samples, 3 Eezgii, and 2 Byalag were used for ACE inhibitory activity. Highest group was Aaruul (mare), and Aaruul (cow) was almost same value. It seems that the difference is depend on fermentation process. So we tried to purify the active components in Aaruul (mare). Most active sample was selected from Aaruul (cow and mare) and also Eezgii (cow) group. And ultrafiltration and RP-HPLC were performed. At the HPLC, 8 peaks of inhibitory activity were detected in the chromatography fraction. One of the active fractions was selected and analyzed as active material for mass spectrometry. From result of electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, 2 peaks of the sample were detected. In according to the molecular weight and another data, the 362.05 peak may be almost guanosine 5'-monophosphate (5'GMP), and 346.06 peak may be adenosine 5'-monophosphate (5'AMP). ACE inhibitory activity of 5'-monophosphate of various nucleotides was measured. It became clear that 5'GMP was weak inhibitor of ACE and Mongolian milk products contained the 5'GMP from these results. Generally mare milk is more condensed than other milk, cow, yak and sheep. And when Mongolian milk products were made, it needs to ferment for long time. These are the reason that the mare milk product has more active components than other daily products. This is the first report that 5'GMP is weak inhibitor of ACE. We used 10 kinds of milk products and vegetables for  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. Aaruul (camel and yak) and Camembert had no inhibitory activity of the  $\alpha$ -glucosidase. On the other hand, intensity of sea buckhorn, which is a kind of goumi, was 0.343, and value of beetroot was height one 0.823 in used samples. It is known that there are large amount of sugar in beetroot. Therefore glucosidase activity may be interfered by the sugar. Anti-oxidant activity of Mongolian milk products and Mongolian vegetables was measured by lag-time method. Milk products including of Japanese products have almost same values (6.5 – 13.4  $\mu$ M Trolox eq.). However the vegetable was more active, especially beetroot had highest activity. It suggested that the high anti-oxidant activity of beetroot is derived from the vitamin C and betaine. We tried to overall estimation for health functions of Mongolian local milk products and local vegetable and fruit. It suppose that the overall estimation of functional food is one useful selection method and first trial in order to select effective foods for human health.

日本食品工学会誌 (英文誌), 16(6), 523-530 (2010)

生米における  $\alpha$  グルコシダーゼとアミラーゼの層別分布

露久保美夏\*, 大倉 哲也\*\*, 馬橋 由佳\*, 香西みどり\*

\*お茶の水女子大学  
\*\*農研機構食品総合研究所

米内在性酵素である  $\alpha$  グルコシダーゼ,  $\alpha$  アミラーゼ,  $\beta$  アミラーゼに注目し, 生米における局在を明らかにすることを試みた. 試料米には平成20年度南魚沼産コシヒカリを用い, 5 画分 (玄米全体, 搗精部位層 100-90%, 90-80%, 80-70%, 70-0%) の米粉から粗酵素液を調製した後, SDS-PAGE および各酵素の特異的抗体を用いたウエスタンブロッティングを行った. その結果,  $\alpha$  グルコシダーゼは内層部 (70-0%画分) に多く存在し, 外層部にいくほど少なかった. 一方,  $\alpha$  アミラーゼは外層部に多く存在し, 特に, 至適活性温度を37°C付近に持つ  $\alpha$  アミラーゼ I は100-80%画分, 70°C付近に持つ  $\alpha$  アミラーゼ II は90-80%画分に偏在していることを確認した. また,  $\beta$  アミラーゼは米粒全体に分布していることを明らかにした.

Food Science and Technology Research 16(6), 523-530(2010)

Different distributions of alpha-glucosidases and amylases in milling fractions of rice grains

Mika Tsuyukubo\*, Tetsuya Ookura\*\*, Yuka Mabashi\*, Midori Kasai\*

\*Ochanomizu University  
\*\*National Food Research Institute

日本調理科学会誌, 43(6), 228-236, (2010)

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

馬橋 由佳\*, 三輪有紀枝\*, 大倉 哲也\*\*, 香西みどり\*

\*お茶の水女子大学  
\*\*農研機構 食品総合研究所

米飯成分に及ぼす精白米内在性酵素の影響を5品種の米 (コシヒカリ, 日本晴, 羽二重餅, 夢十色, ジャスミンライス) で比較した. 炊飯温度履歴が米飯成分に及ぼす影響を日本晴を試料米として調べたところ, 先に示したコシヒカリと同様の挙動を示した. また, 炊飯によってグルコースを主とした糖類が増加すること, 一方でアミノ酸の変化は少ないことが, 5品種共通の現象として確認された. 内在性の加水分解酵素の温度特性は, 5品種で類似しており, 糖基質の分解は60度で最大となった. 一方でプロテアーゼ活性はいずれも低かった. 5品種の米粉の糊化は60-64度で開始した. これらから, コシヒカリで示した炊飯過程における米飯成分のメカニズムは, 他品種の米にも適用可能であることが示された. すなわち, 内在性酵素によるグルコース生成においては, 60度付近が重要であり, 米飯の逃生文意炊飯方法が大きく影響することが明らかになった.

日本調理科学会誌, 43(8), 237-245 (2010)

搗精度合いの異なる米における米内在性酵素の米飯成分への影響

馬橋 由佳\*, 矢吹 里美\*, 大倉 哲也\*\*, 香西みどり\*

\*お茶の水女子大学  
\*\*農研機構食品総合研究所

米飯成分に及ぼす米内在性酵素の影響を4段階の搗精歩合 (85, 90, 95, 100%) の米で比較した. 各搗精歩合の生米と標準炊飯米の成分を比較したところ, 炊飯によって特にグルコースを主とした糖類が増加することが共通して確認された. グルコースの増加率は搗精度の高い米で高く, 還元糖やアミノ酸の増加率は搗精度の低い米で搗精度の高い米よりも相対的に高かった. 米内在性加水分解酵素の温度特性を比較すると, 60度付近のグルコシダーゼ活性は85%・90%搗精米で高く, 30度付近のアミラーゼ活性及び40-60度のプロテアーゼ活性は95・100%搗精米で高くなった. 糊化特性はいずれの搗精歩合でも類似していた. いずれの搗精歩合においても60度のグルコース生成は炊飯過程において特徴的な現象であったが, 搗精度の異なる試料間では, 内在性酵素の挙動に差があり, 米飯成分に影響することが考えられた.

## Effect of Dietary Lipid Type on the Enhancement of Swimming Endurance of Mice by L-Lactic Acid

Guihua Zhang\*, Nobuya Shirai\*, Hiramitsu Suzuki\*\* and Eiji Shimizu\*\*\*

\*National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

\*\*Kagawa Nutrition University, Sakado

\*\*\*Fuji Pharmaceutical Inc.

16週間6%のラード食、魚油食あるいはErabu海蛇油食のどれかを与えられたマウスはL-乳酸あるいはグルコース(25mg/kg)を腹腔内に注入され、その後に30minで水泳試験にさらされた。乳酸投与マウスの泳ぐ時間比率は、ラード食マウス( $p < 0.01$ )、魚油食マウス( $p < 0.05$ )より海蛇油を供給したマウスにおいてより大きかった。グルコース投与実験では、マウス海蛇脂質を供給したマウスだけが大きかった。ラード、魚油では大きくなかった。グルコース注入による増加した耐久性は、どの食事のマウスでも観察されなかった。これらの結果は、食事の脂質タイプがL-乳酸を注射されたハツカネズミに対する耐久性に影響することを示している。また、海蛇油は、乳酸新陳代謝を有効に制御する因子を含んでいる可能性がある。

乳酸による水泳持続性上昇に対する日常脂質の効果

## Effect of Extruded Polished, Brown, and Germinated Brown Rice on the Behavior and Plasma Parameters of ICR Mice

Nobuya Shirai\*, Hiramitsu Suzuki\*\*, Keitaro Suzuki\* and Ken'ichi Ohtsubo\*,\*\*\*

\*National Food Research Institute

\*\*Kagawa Nutrition University

\*\*\*Niigata University

この研究の目的は、血漿中脂質、グルコースおよびミネラルの濃度を含め、オープン・フィールド試験でのICRマウスの行動に関して、白米(PR)、玄米(BR)および発芽玄米(GBR)の影響を調査することであった。オープン・フィールド試験で4週の後には、行動距離は、PRを与えられたマウスよりGBRを与えられたマウスがより少ない行動距離であったが、GBRと同じガンマアミノ酪酸(GABA)含有する食を与えても変化は無かった。異なる米飯食は、血漿中脂質とグルコースに影響がほとんど無かった。しかし、血漿カルシウム量はPRを与えられたものよりBRを与えられたマウスにおいて著しく上昇した。これらの結果は、マウスの行動に対するGBRの影響はGABAに加えてGBRの他のコンポーネントと関係のある可能性がある。BRとGBRがミネラルレベルではマイナスの影響はない可能性を示唆する。

ICRマウスの行動と血漿パラメータに対する白米と玄米と発芽玄米の効果

A Comparative Study of the Effects of Erabu Sea Snake (*Laticauda semifasciata*) Lipids, Green Tea Extract and Conjugated Linoleic Acid on the Swimming Endurance of Mice

Guihua Zhang\*, Nobuya Shirai\*, Tomoyuki Higuchi\*\*, Hiramitsu Suzuki\*\*, Eiji Shimizu\*\*\*

\*National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

\*\*Kagawa Nutrition University

\*\*\*Fuji Pharmaceutical Inc.

この研究の目標は、1%の海蛇油(SSL)を与えられたマウスの生理的・生化学的パラメーター間の相互関係を評価し、0.2%の緑茶抽出物(GTE)食あるいは0.5%の共役リノール酸(CLA)食を与えられたマウスを比較することであった。週0と比較して、SSL群の遊泳時間は、週12および週16( $p < 0.001$ )で有意に増加し、GTE群では、週12( $p < 0.005$ )で増加した。しかし、コントロールとCLA群では、週0で増加しなかった。週12でのSSL群は、対照群と比較して増加傾向( $p = 0.09$ )であった。

SSLとGTEの両群は週12および週16でCLA群より長い遊泳時間を示した( $p < 0.001$ )。

5分間の水泳運動の後、SSL群は対照群と比較し、血漿と筋肉の乳酸値の有意な低下( $p < 0.01$ )と血漿非エステル化脂肪酸(NEFA)の低下( $p < 0.001$ )を示した。SSL群と対照群間では血漿グルコース、筋肉および肝臓グリコーゲン、筋肉乳酸脱水素酵素(LDH)、カルニチン・パルミトイルトランスフェラーゼ(CPT)あるいはモノカルボン酸トランスポーター1(MCT1)のうちのどれにも有意な差は無かった。この結果は、1%のSSL摂取がマウスで0.2%のGTEあるいは0.5%のCLAの摂取以上の持久性を改善したことを示唆する。この作用は、乳酸酸化の促進を持久力増強に有効利用できる可能性を示している。

JARQ 44 (2), 167–172 (2010)

Angiotensin I–Converting Enzyme Inhibitory Activities of Extracts from Commercial Chinese Style Fermented Soypaste

Feng–Juan LI \*, Li–Jun YIN \*\*, Yong–Qiang CHENG\*\*, Masayoshi SAITO\*\*\*,  
Kohji YAMAKI\*\*\*\* and Li–Te LI\*\*

\*College of Food Engineering and Biotechnology,  
Tianjin University of Science and Technology

\*\*College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University

\*\*\*Post–harvest Science and Technology Division, Japan International Research Center  
for Agricultural Sciences

\*\*\*\* National Food Research Institute

30種の中国味噌のアンジオテンシンI–変換酵素 (ACE) 阻害活性を測定した。すべての水溶性抽出試料は ACE 阻害活性を示した。広東省で生産された9つの試料は他の試料 ( $p < 0.0001$ ) より著しく高い ACE 阻害活性を示し、最も強い活性は  $0.012 \text{ mg/mL}$  の IC<sub>50</sub>であった。更に、9つの試料は、わずかなタンパク質分解活性を持った系列でより低いペプチド濃度を示した。また他のサンプル ( $p < 0.0001$ ) より高い L\* (明るさ) を示した。このことによって、産地によって異なる加工技術が、中国味噌の ACE 抑制活性に影響する可能性があること示された。この研究での所見は、中国味噌由来の抗 ACE 阻害薬の発見に貢献し、抗高血圧効果を示す機能性食品の開発に役立つと考えられる。

市販中国味噌抽出物のアンジオテンシン変換酵素阻害活性

J Agric Food Chem. 2010 Apr 14;58(7):4097–4103.

Purification and identification of 1–deoxynojirimycin (DNJ) in okara fermented  
by *Bacillus subtilis* B2 from Chinese traditional food (Meitaoza).

Yun–Ping Zhu\*, Kohji Yamaki\*\*, Tadashi Yoshihashi\*\*, Mayumi Ohnishi–Kameyama\*\*\*, Xiu–Ting Li\*\*\*\*,  
Yong–Qiang Cheng\*\*\*\*, Yutaka Mori\*\* and Li–Te Li\*\*\*\*

\*Department of Food Science, School of Chemical and Environmental Engineering, Beijing Technology and Business University

\*\*Post–harvest Science and Technology Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences

\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*\*College of Food Science and Nutritional Engineering, Post Box 40, China Agricultural University

この研究では、枯草菌 B 2 株によって発酵したおからから  $\alpha$  グルコシダーゼ抑制活性を検出し、その構造を同定した。透析と、活性炭と CM–Sephrose クロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーを用い精製を行った。質量分析および NMR 測定の結果、この  $\alpha$  グルコシダーゼ抑制活性物質は  $163 \text{ Da}$  の分子量で 1–deoxynojirimycin (DNJ) と確認した。これは、DNJ が発酵した食品から分離された最初の例である。枯草菌 B 2 株のおから発酵物は糖尿病患者のための機能性食品として食物由来の DNJ の製品化の可能性を示唆するものである。

中国伝統食品 (Meitaoza) から分離された枯草菌 B 2 株で発酵したおからからの 1–デオキシノジリマイシンの精製と同定

Journal of Food Processing and Preservation 34 (2010) 520–540.

Effects of Drying Method on Physicochemical and Functional Properties of Soy Protein Isolates

Xiao–Zhong Hu\*, Yong–Qiang Cheng\*, Jun–Feng Fan\*\*, Zhan–Hui Lu\*, Kohji Yamaki\*\*\* and Li–Te Li\*

\*College of Food Science and Nutritional Engineering China Agricultural University No. 17,  
Qinghua Dong Road, Haidian District Beijing, 100083, China

\*\*College of Bioscience and Biotechnology Beijing Forestry University Haidian, Beijing, China

\*\*\*Food Science and Technology Division Japan International Research Center  
for Agricultural Science Tsukuba, Ibaraki, Japan

3つの分離大豆たんぱく (SPI) は、真空凍結乾燥、噴霧乾燥および減圧乾燥を含む異なる乾燥方法によって得られた。これらの SPI は、CIELAB L\*, a\*, b\* 値のカラーと、示差走査熱量測定での変性 ( $\Delta H$ ) のエンタルピー、1–アニリノ–8–ナフタレン–スルホン酸塩の表面疎水性および総スルフヒドリル基量で ( $P < 0.05$ )、著しく異なることが明らかになった。pH 4–5 以外では、スプレー乾燥 SPI の溶解性は、凍結乾燥 SPI と真空乾燥の SPI より高い結果となった。凍結乾燥や真空乾燥よりスプレー乾燥 SPI はより低い混濁性で、より高い可溶性およびより良い乳化性と泡立ち性であった。これらの結果は、乾燥方法が SPI の機能特性に影響を及ぼす可能性を示唆しました。

大豆抽出タンパク質の物理化学的および機能的特性に対する乾燥方法の効果

## Simple, Selective, and Rapid Quantification of 1-Deoxyojirimycin in Mulberry Leaf Products by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection

Tadashi Yoshihashi\*, Huong Thi Thu Do\*, Patcharee Tungtrakul\*\*, Sumitra Boonbumrung\*\*, Kohji Yamaki\*\*\*

\*Postharvest Science and Technology Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences

\*\*Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University

\*\*\*National Food Research Institute

クワや他の植物に存在する 1-Deoxyojirimycin (DNJ) は、血糖レベルを抑えることが報告された非常に有力なグリコシダーゼ阻害剤で、糖尿病の予防効果を持っている。しかし DNJ を測定するためには誘導体化が必要となる。それでクワ食品の DNJ 含量の測定を困難にしている。そこで単純で選択的なクワの食品中の DNJ の含量を測定する方法としてパルス・アンペロメトリー検出 (HPAEC-PAD) を備えた高性能陰イオン交換クロマトグラフィーの迅速法を開発した。さらに熱処理の下の DNJ の安定試験も行なった。クワ茶サンプルの水抽出物は、水酸化ナトリウムグラジェントで CarboPac MA 1 カラムの HPAEC-PAD で測定された。DNJ は、7.26min の保持時間で分離され、水抽出物での検出が可能であった。検出限界は 5 ng であった。熱安定性試験で、DNJ は熱に強いことが示唆された。HPAEC-PAD は DNJ に高度に選択的で、試料調製や感度の点から他の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) より優れていた。この方法は単純で、選択的、そして食品中の DNJ の迅速分析、またクワの食品開発に役立つと考えられる。また熱処理は、クワ製品の殺菌法として有効であると示唆された。

パルス電気化学検出高性能陰イオン交換クロマトグラフィーを用いたクワ食品中の  
1-デオキシノジリマイシンの単純かつ選択的迅速定量

## Soy protein and fish oil independently decrease serum lipid concentrations but interactively reduce hepatic enzymatic activity and gene expression involved in fatty acid synthesis in rats

Yoko Takahashi\*

\*National Food Research Institute

食餌タンパク質源と脂質源が肝臓の脂質代謝に及ぼす交互作用を調べた。雄ラットにタンパク質源としてカゼインまたは大豆タンパク質を、脂質源としてパーム油または大豆油を含む食餌を与えた。3週間後、肝臓の脂肪酸合成に関与する酵素活性および mRNA 発現量は、パーム油が脂質源であったとき、カゼインと比べて大豆油によって有意に低下した。魚油が脂質源のとき、これらの値はタンパク質源の種類にかかわらず大きく低下した。脂肪酸酸化系の酵素および mRNA 発現量は、魚油によって有意に上昇したが、大豆タンパク質はこれらの酵素活性のみ上昇させた。大豆タンパク質と魚油はどちらも血清の脂質濃度を低下させたが、両者の交互作用は見られなかった。大豆タンパク質を摂取したラットでは、カゼインを摂取したラットと比べ、コレステロール合成および胆汁酸合成に関与する主要な酵素の mRNA 発現量がそれぞれ減少、および増加した。一方、魚油は胆汁酸のコレステロール輸送タンパク質である ATP-binding cassette sub-family G, member 5 (ABCG5) と ATP-binding cassette sub-family G, member 8 (ABCG8) の発現量を著しく上昇させた。しかし、大豆タンパク質と魚油を同時に摂取したときの肝臓での脂肪酸合成の低下は、魚油による脂肪酸合成の低下が強かったため、予想される相加作用よりも小さいものであった。

大豆タンパク質と魚油はラット血清脂質濃度を独立して低下させるが、  
肝臓での脂肪酸合成関連酵素の活性と遺伝子発現では交互作用が生じる

高橋 陽子\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

## The Effect of Methanol Extracts of Tsao-ko (Amomum tsao-ko Crevost et Lemaire) on Digestive Enzyme and Antioxidant Activity In Vitro, and Plasma Lipids and Glucose and Liver Lipids in Mice

Longquan YU\*, \*\*, Nobuya SHIRAI\*\*\*, Hiramitsu SUZUKI\*\*\*\*, Nozomi SUGANE\*\*\*\*\*, Tsuyoshi HOSONO\*\*\*\*\*, Yoshijiro NAKAJIMA\*\*\*\*\*, Masahiro KAJIWARA\*\*\*\*\*, and Kazuhiro TAKATORI\*\*\*\*\*

\*United Graduate School of Agricultural Science, Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*College of Chemical Engineering, Shijiazhuang University

\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

\*\*\*\*Kagawa Nutrition University

\*\*\*\*\*Meiji Pharmaceutical University

\*\*\*\*\*Ohta's Isan Inc.

私たちのこれまでの研究は、小豆蔻摂取が血漿と肝臓の triacylglycerol (TG) 濃度を低下させ、マウスの低血糖と抗酸化活性を有することを示した。この研究はシリカゲル・カラム・クロマトグラフィーで小豆蔻のメタノールによる 2 つの主要分画 (A と B) を分離して、小豆蔻の最も有効な成分を明確にして、生体内でこれらの分画の効果を決定することである。メタノール抽出物 (MeX) および A 分画の摂取は、体脂肪と血漿チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) コントロールに比較し、著しく低下させた。そして、リパーゼと  $\alpha$  グルコシダーゼ活性も抑制した。これらの減少は B 分画マウス中では観察されなかった。B 分画のこの抑制は MeX および A 分画と比較し、穏やかなものであった。コントロールと比較して各分画の投与群の血漿および肝臓 TG 濃度は大きな違いを示さなかった。

A 分画の [M—H]<sup>+</sup> および最大 UV 吸収は、それぞれ 291nm/ε および 279nm であった。A 分画のピークは LC/MS/MS 分析でエピカテキン標準物質と一致した。また、A 分画の MS/MS のスペクトルはエピカテキン標準物質と類似していた。身体脂質低下作用、血糖低下作用、抗酸化活性を示す小豆蔻の最も有効な物質は、極性の分画に含まれていた。この物質がエピカテキンである可能性も示唆された。しかし、最も強い TG 低下効果を持つ小豆蔻の成分はメタノール不溶性である可能性がある。

消化酵素と抗酸化活性およびマウスの血漿脂質と血糖と肝臓脂質に対する Tsao-ko のメタノール抽出物の効果

食品総合研究所研究報告, 75, 33-38 (2011)

凍り豆腐がラット肝臓でのコレステロール代謝に及ぼす影響

高橋 陽子

(独)農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

コレステロール代謝への凍り豆腐の影響を、大豆タンパク質とイソフラボンによる影響と比較した。ラットの血清コレステロール濃度は、カゼインと比べ凍り豆腐と大豆タンパク質摂取により有意に低下した。肝臓でのコレステロール代謝関連遺伝子の発現量は凍り豆腐と大豆タンパク質により変化した。コレステロール合成系酵素は減少し、胆汁酸合成律速酵素とコレステロール排出輸送体は減少した。一方、イソフラボンは血清コレステロール濃度や遺伝子発現に影響を与えず、食餌タンパク質源との相互作用もほとんどなかった。よって、血清コレステロール濃度の低下作用は凍り豆腐のタンパク質成分に由来し、肝臓でのコレステロール合成の抑制と胆汁酸の排出促進によるものと考えられた。

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(10):2137-2140(2010).

Estimated Average Daily Intake of Antioxidants from Typical Vegetables Consumed in Japan: A Preliminary Study

Jun TAKEBAYASHI\*, Tomoyuki OKI\*\*, Jianbin CHEN\*, Maki SATO\*\*, Teruki MATSUMOTO\*,  
Kyoko TAKU\*, Megumi TSUBOTA-UTSUGI\*, Jun WATANABE\*\*\*, Yoshiko ISHIMI\*

\*National Institute of Health and Nutrition

\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

日本における食品からの総抗酸化能摂取量を推算するため、23種類の日本において一般的に消費される野菜の抗酸化能を親水性ORAC法により測定した。日本において消費される「典型的な野菜」のH-ORAC値は594.3micromol Trolox 当量 (TE) /100gであった。これより、350gの野菜を摂取した場合、2080micromol TEの抗酸化能の摂取に相当すると考えられた。

日本において典型的に消費される野菜からの抗酸化物質一日摂取量の推算に関する予備的検討

竹林 純\*, 沖 智之\*\*, Jinbin CHEN\*, 佐藤 麻紀\*\*, 松本 輝樹\*,  
卓 興鋼\*, 坪田 (宇津木) 恵\*, 渡辺 純\*\*\*, 石見 佳子\*

\*独立行政法人国立健康・栄養研究所

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 九州・沖縄農業研究センター

\*\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry Vol. 75 (2011), No. 2 pp.393-395

An in Vitro Effect of Coffee on the Antigen-Specific Immune Responses of Naive Splenocytes

Masao Goto\*, Yuko Takano-Ishikawa\*, Hiroshi Shinmoto\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Tamagawa University

当研究グループはアレルギーモデルマウスを用いて、コーヒーの経口摂取が免疫細胞によるIL-12の産生亢進を通じてアレルギー発症を予防することを発表した(73, 2439-44 (2009))。しかし、コーヒーの抗アレルギー活性成分に関しては未解明であったことから、今回は、非感作のアレルギーモデルマウスから採取した脾臓細胞を用い、in vitroにおいてコーヒー抽出液を添加することにより、抗原特異応答への影響を明らかにした。その結果、細胞増殖とIL-2産生、Th2型サイトカイン産生についてはin vivoとほぼ同じ挙動を示したが、IL-12の産生は逆に強く抑制された。このことから、コーヒーの抗アレルギー活性発現には、経口摂取による消化分解過程が重要であると推察された。

日本農芸化学会英文誌 Vol. 75 (2011), No.2, pp. 393-395

未感作脾臓細胞の in vitro 抗原特異的応答性へのコーヒーの影響

後藤 真生\*, 石川 (高野) 祐子\*, 新本 洋士\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*玉川大学農学部

Journal of Nutrition, 140(12):2121–2127(2010).

Effects of Fructo–Oligosaccharide on DSS–Induced Colitis Differ in Mice Fed Nonpurified and Purified Diets

Haruka Goto\*, Naoki Takemura\*, Toru Ogasawara\*, Naho Sasajima\*,  
Jun Watanabe\*\*, Hiroyuki Ito\*\*\*, Tatsuya Morita\*\*\*, Kei Sonoyama\*

\*Hokkaido University

\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*Shizuoka University

DSS 誘導下痢症に及ぼすフルクトオリゴ糖 (FOS) 添加の影響をマウスを用いて調べた。精製飼料への FOS 添加により下痢と体重減少の増悪が見られ、非精製飼料への FOS 添加により便潜血の増悪が見られた。DSS 非投与群においては、盲腸内酢酸・酪酸濃度は精製飼料群よりも非精製飼料群で有意に高かった。糞中の保水量は非精製飼料群において精製飼料群よりも高かった。DSS 投与開始 1 日後において、盲腸内コハク酸濃度は FOS 添加精製飼料群において他の群と比較して高値を示したが、短鎖脂肪酸濃度は非精製飼料群において精製飼料群よりも高値を示した。高吸水性ポリマーの添加により糞中の保水量が増加し、精製飼料への FOS 添加による下痢症の増悪は抑制された。以上より、DSS 誘導下痢症に及ぼす FOS 添加の影響は試料の種類により異なり、非精製飼料による DSS 誘導下痢症の抑制には消化管内での有機酸の産生増加と保水量の増加によるものと考えられた。

フルクトオリゴ糖による DSS 誘導下痢症への影響は飼料によって異なる

後藤 悠\*, 武村 直紀\*, 小笠原 達\*, 笹島 菜穂\*, 渡辺 純\*\*, 伊藤 浩之\*\*\*, 森田 達也\*\*\*, 園山 慶\*

\*北海道大学

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*\*静岡大学

Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 56(4):260–265(2010).

2,4–Dinitrofluorobenzene–Induced Contact Hypersensitivity Response in NC/Nga Mice Fed Fructo–Oligosaccharide

Reiko FUJIWARA\*, Naho SASAJIMA\*, Naoki TAKEMURA\*, Keisuke OZAWA\*, Yuki NAGASAKA\*,  
Takuma OKUBO\*, Yuraporn SAHASAKUL\*, Jun WATANABE\*\*, Kei SONOYAMA\*

\*Hokkaido University

\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

乳幼児期の腸内細菌叢を修飾することにより、発育後のアレルギー発症を予防するという方策が考えられている。本研究では接触過敏反応 (CHS) にフルクトオリゴ糖が影響を及ぼすか否かを NC/Ngaau 鼠を用いて調べた。FOS 添加食あるいは無添加食を 3 週間摂取させた後、耳介に 2,4–ジニトロフルオロベンゼンを塗布して CHS を誘導した。FOS の摂取は耳介の肥厚を抑制し、IL–10, IL–12p40, IL–17 の耳介での発現を抑制した。妊娠・授乳期のマウスに FOS 添加食あるいは無添加食を摂取させ、仔マウスには離乳後に FOS 添加食あるいは無添加食を摂取させた。離乳後の FOS 摂取は仔マウスの耳介の肥厚を抑制したが、母マウスの FOS 摂取は仔マウスの耳介の肥厚に対して効果を示さなかった。以上の結果より、FOS 摂取は CHS を抑制するが、母マウスの FOS 摂取は仔マウスの CHS に対しては無効であることを示唆する。

フルクトオリゴ糖が NC/Nga マウスの 2,4–ジニトロフルオロベンゼン誘発接触過敏反応に及ぼす影響

藤原 麗子\*, 笹島 菜穂\*, 武村 直紀\*, 小澤 恵輔\*, 長坂 悠生\*, Yuraporn Sahasakul\*, 渡辺 純\*\*, 園山 慶\*

\*北海道大学

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

食品総合研究所報75号 P17–23 (2011)

カフェインの抗原特異的免疫応答への影響のマウス脾臓細胞を用いた評価

後藤 真生\*, 石川 (高野) 祐子\*, 新本 洋士\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*玉川大学農学部

カフェインは世界でもっとも消費されている飲料成分である。カフェインはアデノシンアンタゴニストとして知られており、コーヒーや茶など様々な一般的飲料の主要成分であり、その健康機能性が期待されているが、その免疫機能性に関する研究はほとんど存在しない。T 細胞レセプター遺伝子導入マウスの未感作免疫細胞を用いて抗原特異的応答へのカフェインの影響を探索した結果、カフェインは抗原特異的な細胞増殖、インターロイキン (IL) 2, 4, 10 の産生、イムノグロブリン (Ig) G 1 の産生を特に抑制することが示された。一方で IL–5, IL–12 の p40 サブユニット, IgG 2 A, IgA の産生にはほとんど影響しなかった。これらのことからカフェインが未感作状態の免疫細胞の抗原特異的応答に影響することが示唆された。

Effect of caffeine on antigen–specific immune responses of mouse splenocytes

Masao Goto\*, Yuko Takano–Ishikawa\*, Hiroshi Shinmoto\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Tamagawa University

日本食品科学工学会誌, 58巻(2), 43-50, 2011

群馬県育成スモモウメ品種‘紅の舞’の生体調節機能評価,

北爪 雅恵\*, \*\*, 渡辺 純\*\*, 後藤 真生\*\*, 石川(高野) 祐子\*\*

\*群馬県農業技術センター

\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

スモモとウメの種間雑種である‘紅の舞’の抗酸化性を DPPH ラジカル消去活性, H-ORAC で, ポリフェノール総量および組成をフォーリン-チオカルト法および HPLC 法, また, アンジオテンシン I 変換酵素阻害活性および脱顆粒阻害活性について測定し, それらの活性を同じく種間雑種である‘李梅’, およびウメ 2 品種‘白加賀’, ‘南高’, スモモ‘ソルダム’と比較した. ‘紅の舞’の抗酸化性は, DPPH ラジカル消去活性が $15.8-20.5\mu\text{mol TE/g FW}$ , H-ORAC 値が $57.0-61.7\mu\text{mol TE/g FW}$ であり, ‘李梅’と同程度, それ以外の品種より高かった. これら種間雑種に見られる高い抗酸化性は, エピカテキン含量がウメよりも高いこと, またアントシアニンが含まれていることに起因すると推察された. また, ‘紅の舞’では成熟に伴い他品種と同様にエピカテキン含量は減少するものの, 抗酸化性の高いアントシアニン含量が増加することから, 抗酸化性が維持されたと考えられた. 評価した 2 種類の抗酸化性測定値は, いずれも総ポリフェノール含量と高い相関 ( $r=0.988$ ) を示した. ACE 阻害活性は, ‘紅の舞’とそれ以外の品種に活性の差は認められず, 脱顆粒抑制活性は, ウメよりも低かった

Nippon Shokuhin Kagaku Kougaku Zasshi

Evaluation of the Physiological Function of Sumomoume (*Prunus salicina* x *Prunus mume*) ‘eninomai’ Bred in Gunma Prefecture

Masae Kitazume\*, \*\*, Jun Watanabe\*\*, Masao Goto\*\*, Yuko Takano-Ishikawa\*\*

\*Gunma Agriculture Technology Center

\*\*National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

日本食品科学工学会誌, 57巻(12), 525-531, 2010

抗酸化能測定法である H-ORAC 法の室間共同試験

渡辺 純\*, 沖 智之\*\*, 竹林 純\*\*\*, 山崎 光司\*\*\*\*, 津志田藤二郎\*\*\*\*\*

\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構九州・沖縄農業研究センター

\*\*\*独立行政法人 国立健康・栄養研究所

\*\*\*\*太陽化学株式会社

\*\*\*\*\*宮城大学

本研究では, AOAC International の基準に基づき, 代表的な抗酸化物質を用いて抗酸化能測定法である H-ORAC 法の室間共同試験を行い, 精度の調査を行った. 室間共同試験には 5 種 ((+) -カテキン, Trolox, trans-フェルラ酸, ヘスペレチン, コーヒー酸) の抗酸化物質溶液および粉末を用いた. その結果, RSDr は溶液試料で $5.9-13.2\%$ , 粉末試料で $5.4-10.4\%$ であり, RSDR は溶液試料で $16.2-61.4\%$ , 粉末試料で $16.9-33.2\%$ であった. Trolox 検量線の上限濃度である $50\mu\text{M}$ から算出した HorRat 値は溶液試料で $1.48-5.62$ , 粉末試料で $1.54-3.03$ であり, 本室間共同試験によって妥当性が確認されたとは言いがたかった. 室間再現性低下の要因として, プレートリーダーの特性に起因するウェル間での蛍光強度変化の差異挙げられ, これを低減することが H-ORAC 法の室間再現性向上に重要と考えられた.

Nippon Shokuhin Kagaku Kougaku Zasshi

Interlaboratory study of hydrophilic-oxygen radical absorbance capacity, a method for measuring antioxidant capacity

Jun Watanabe\*, Tomoyuki Oki\*\*, Jun Takebayashi\*\*\*, Koji Yamasaki\*\*\*\*, Tojiro Tsushisa\*\*\*\*\*

\*National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

\*\*National Agriculture and Food Research Organization, National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

\*\*\*National Institute of Health and Nutrition

\*\*\*\*Taiyo Kagaku Co.

\*\*\*\*\*Miyagi University

Autophagy 6(3), 345–352 (2010)

## Autophagy impairment stimulates PS1 expression and gamma-secretase activity

Kazunori Ohta\*, Akihito Mizuno\*, Masashi Ueda\*, Shimo Li\*, Yoshihiro Suzuki\*, Yoko Hida\*,  
Yoshika Hayakawa-Yano\*, Masanori Itoh\*, Eri Ohta\*, Masuko Kobori\*\*, Toshiyuki Nakagawa\*

\*Gifu University Graduate School of Medicine

\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

$\gamma$ -セクレターゼはアルツハイマー病の進行に重要な役割を果たしている。 $\gamma$ -セクレターゼ活性はオートファジー液胞で高く、アミロイド $\beta$ の産生を増加させる。オートファジーリソソームの機能障害はアルツハイマー病に関与するが、オートファジーが $\gamma$ -セクレターゼ活性に影響を及ぼすかどうかは明らかになっていない。私達はオートファジー機能が損なわれた細胞において、 $\gamma$ -セクレターゼ活性が eF2 $\alpha$  ( $\alpha$  subunit of eukaryotic translation initiation factor 2) キナーゼ, GCN2 (general control non-derepressible 2) を介して増加することを報告する。プレセニリン1の発現は, autophagy-related 5 をノックダウンしたヒト腎胚細胞株 HEK293 や chloroquine 処理した HEK293 細胞において, 栄養存在下でも増加したが, GCN2 ノックダウン又は ATF4 ノックダウン細胞では誘導されなかった。更に, Atg5 ノックダウン細胞では, アミロイド $\beta$ の産生及び Notch1 の分解が増加したが, オートファジーを誘導するレスバトロールにより抑制された。このように, オートファジーリソソームシステムは GCN2 を介した  $\gamma$ -セクレターゼ活性を制御する。

オートファジーの低下は, PS1 の発現及び  $\gamma$ -セクレターゼの活性を刺激する太田 和徳\*, 水野 彰人\*, 上田 昌史\*, Shimo Li\*, 鈴木 欣宏\*, 樋田 陽子\*,  
矢野 (早川) 佳芳\*, 伊藤 正徳\*, 太田 瑛里\*, 小堀真珠子\*\*, 中川 敏幸\*

\*岐阜大学大学院医学部研究科

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Biochemical and Biophysical Research Communications 402(1), 7–13 (2010)

## High-salt diet advances molecular circadian rhythms in mouse peripheral tissues

Hideaki Oike\*, Kanji Nagai\*\*, Tatsunobu Fukushima\*\*, Norio Ishida\*\*\*,\*\*\*\*, Masuko Kobori\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Mitsubishi Rayon Co. Ltd.

\*\*\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

\*\*\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

食品成分は生理機能や代謝に関わる様々な遺伝子発現に影響を及ぼすが, 時計遺伝子の発現に及ぼす影響は殆ど明らかになっていない。私達は, マウスに高塩食を2週間以上自由摂取させることにより, 肝臓, 腎臓及び肺の時計遺伝子の発現が約3時間前進することを明らかにした。DNA マイクロアレイ解析の結果から, 肝臓において, 代謝に関わる多くの遺伝子発現が前進することが示された。末梢組織の位相前進の直前に, 腸において, 糖吸収に関わるナトリウム-グルコース共輸送体 Sglt1 及びグルコース輸送体 Glut2 発現量が増加した。また, 高塩食摂取後, 急速に血糖値が上昇した。さらに, SGLT1 の阻害剤であるフロリジンは, 高脂肪食摂取による肝臓の位相前進を抑制したこと等から, 高塩食は, 糖吸収を増加させることにより, 末梢の体内時計を変化させると考えられる。

高塩食はマウス末梢組織の体内時計を前進させる

大池 秀明\*, 永井 寛治\*\*, 福島 達伸\*\*, 石田直理男\*\*\*, \*\*\*\*, 小堀真珠子\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*三菱レイヨン株式会社

\*\*\*独立行政法人産業技術総合研究所

\*\*\*\*筑波大学大学院

Japan Agricultural Research Quarterly 44(3), 243–248 (2010)

## Evaluation of anti-inflammatory and anti-allergic effects of food components using DNA microarray analysis

Masuko Kobori\*, Kanji Nagai\*\*, Yumiko Takahashi\*, Hideaki Oike\*

\*National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

\*\*Mitsubishi Rayon Co. Ltd.

多くの人が, 喘息, 花粉症及びアトピー性皮膚炎等のアレルギーや炎症性疾患を発症している。食品成分のアレルギー及び炎症抑制効果を明らかにするため, 私達は免疫及び炎症に関わる遺伝子やハウスキーピング遺伝子を搭載した DNA マイクロアレイを開発した。開発した DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果は再現性に優れており, 定量 RT-PCR の結果と高い相関を示した。DNA マイクロアレイ解析により, ニガウリ胎座抽出物のブタノール可溶画分がバクテリアのリボ多糖でマクロファージ様細胞 (RAW264.7) に誘導される炎症性遺伝子の発現を抑制することが明らかになった。また, DNA マイクロアレイを用いて, フラボノイドのフィセチンが活性化 T 細胞膜で誘導される HMC-1 ヒトマスト細胞の遺伝子発現を抑制することも明らかにした。このように, DNA マイクロアレイ解析によりニガウリの炎症抑制効果及びフィセチンのアレルギー抑制効果が明らかになった。更に, DNA マイクロアレイ解析により, 再構成ヒト表皮モデルの皮膚刺激性に関わる遺伝子発現を検出することができた。

DNA マイクロアレイを用いた食品成分の炎症及びアレルギー抑制効果の評価

小堀真珠子\*, 永井 寛治\*\*, 高橋 弓子\*, 大池 秀明\*,

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*三菱レイヨン株式会社

Appetite, 55, 271–278, 2010

Interactive effects of carbon footprint information and its accessibility on value and subjective qualities of food products

Atsushi Kimura\*, Yuji Wada\*, Akiko Kamada\*\*, Tomohiro Masuda\*, Masako Okamoto\*\*\*,  
Sho-ichi Goto\*\*\*\*, Daisuke Tsuzuki\*\*\*\*, Dongsheng Cai\*\*\*\*, Takashi Oka\*\*\*\*\*, Ippeita Dan\*\*\*\*

\*National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Bunkyo University

\*\*\*Jichi Medical University

\*\*\*\*University of Tsukuba

\*\*\*\*\*Nihon University

消費者の食品の価値判断に情報のアクセシビリティとカーボンフットプリントの程度が及ぼす影響について検討した。情報のアクセシビリティ（積極的探索と受動条件）とカーボンフットプリントの程度（低い、中くらい、高い、記載なし）を操作した商品について、実験参加者に支払い意思額を示させた。さらに、味、クオリティ、健康への影響、環境への影響についても主観的な評価をさせた。その結果、カーボンフットプリント表示の効果は積極的探索時に受動条件よりも大きいことが明らかになった。すなわち、炭素量が低いほうが高く評価された。また、環境への影響についても同様の結果が見られたことから、積極的な探索条件下で環境への影響に関する理解が増し、評価も高くなったと考えられる。

食品の価値と主観的質におけるカーボンフットプリント情報とそのアクセシビリティの相互作用効果

木村 敦\*, 和田 有史\*, 鎌田 晶子\*\*, 増田 知尋\*, 岡本 雅子\*\*\*,  
後藤 祥一\*\*\*\*, 續木 大介\*\*\*\*, 蔡 東生\*\*\*\*, 岡 隆\*\*\*\*, 檀 一平太\*\*\*\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*文教大学

\*\*\*自治医科大学

\*\*\*\*筑波大学

\*\*\*\*\*日本大学

Food Quality and Preference, 21, 843–848

Eating habits in childhood relate to preference for traditional diets among young Japanese

Atsushi Kimura\*, Yuji Wada\*, Kentaro Ohshima\*\*, Yui Yamaguchi\*\*\*,  
Daisuke Tsuzuki\*\*\*\*, Takashi Oka\*\*, Ippeita Dan\*\*\*\*

\*National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Nihon University

\*\*\*Shimadzu Corporation

\*\*\*\*University of Tsukuba

\*\*\*\*\* Jichi Medical University

本研究は高校生までの朝食習慣が、日本の若年者のその後の食習慣に及ぼす影響を調査した。実験では、実験参加者は大学1年生であり、2群に分けられた。一方は習慣として朝食に和食を食べていた群、もう一方は習慣的に朝食に洋食を食べていた群である。彼らは、潜在連合検査（IAT）を行い、さらに質問紙調査にも参加した。この結果、日本食と態度の潜在的・顕在的連合の両者は、和朝食群で洋朝食群よりも強く示された。

日本の若年者の伝統食習慣への好みに対する子ども時代における食習慣の影響

木村 敦\*, 和田 有史\*, 大島謙太郎\*\*, 山口 由衣\*\*\*, 續木 大介\*\*\*\*, 岡 隆\*\*, 檀 一平太\*\*\*\*\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*日本大学

\*\*\*島津製作所

\*\*\*\*筑波大学

\*\*\*\*\*自治医科大学

Food Quality and Preference 21(7), 867–872 (2010)

Package images modulate flavor perception for orange juice

Nanami Mizutani\*, Masako Okamoto\*\*,\*\*\*, Yui Yamaguchi\*\*\*\*, Yuko Kusakabe\*\*\*\*, Ippeita Dan\*\*, Toshimasa Yamanaka\*

\*University of Tsukuba  
\*\*Jichi Medical University  
\*\*\*Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine  
\*\*\*\*NARO, National Food Research Institute

ほとんどの食品包装は、文字情報だけでなく画像を含んでいる。文字情報が持つ食品の風味評価に対する影響についてはよく研究されてきたが、画像の影響についてはよく研究されていない。そこで、本研究ではジュース容器上の画像が風味評価にどのように影響を与えるかについて調査した。以下の4項目のラベルを添付したオレンジジュースに対する嗜好性等の評価を行った。

- (1) 美味しそうに見えるオレンジの絵 (快適で中身と関連する画像)
- (2) まずそうに見えるオレンジの絵 (不快で中身と関連する画像)
- (3) 食品以外の心地よい印象を与える絵 (快適だが中身と関係しない画像)
- (4) 食品以外の不快な印象を与える絵 (不快で中身と関係しない画像)

その結果、快適な画像が嗜好性を高くし、新鮮さを付与すること、中身と関連する画像は香りにも好影響を与えることが明らかになった。

容器のイメージは、オレンジジュースの風味の知覚に影響する

水谷奈那美\*, 岡本 雅子\*\*\*\*, 山口 由衣\*\*\*\*, 日下部裕子\*\*\*\*, 檀 一平太\*\*, 山中 敏正\*

\*筑波大学  
\*\*自治医科大学  
\*\*\*帯広畜産大学  
\*\*\*\*農研機構・食品総合研究所

NeuroImage, 54, 2, 1578–1588, 2011

Process-specific prefrontal contributions to episodic encoding and retrieval of tastes: A functional NIRS study.

Masako Okamoto\*, Yuji Wada\*\*, Yui Yamaguchi\*\*\*, Yasushi Kyutoku\*\*\*\*,  
Lester Clowney\*, Archana K. Singh\*\*\*\*, Ippeita Dan\*\*\*\*

\*Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine  
\*\*National Agriculture and Food Research Organization  
\*\*\*Shimadzu Corporation  
\*\*\*\*Jichi Medical University  
\*\*\*\*\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

符号化と想起という記憶処理の神経基盤は機能的神経イメージング研究で検討されてきた。しかし、味の記憶というエピソード記憶の重要な部分の皮質の基盤は人間ではあまり研究されてこなかった。われわれは近赤外分光法を用いて、外側前頭前皮質(LPFC)が記憶の符号化に関わっていることを既に発見している。このイメージング法は通常の姿勢で液体の味刺激を味わうことを可能にする。本研究では同じシステムを用いて28名の健康な参加者が味の符号化と想起を行なっているときのLPFCの活動を測定した。閉眼時の脳活動との差分によって両側のLPFCの課題時の活動を明らかにした。符号化時には、LPFCと両側の前部と右背側部が活動し、右半球の優位性が見られた。この発見は半球間符号化/想起非対称性モデルと一致していた。

エピソード的な味の符号化と想起に対する処理に特定のな前頭葉の働き：近赤外分光法を用いた研究

岡本 雅子\*, 和田 有史\*\*, 山口 由衣\*\*\*, 久徳 康史\*\*\*\*,  
レスター クラウニー\*, アチャナ シン\*\*\*\*, 檀 一平太\*\*\*\*

\*帯広畜産大学  
\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所  
\*\*\*島津製作所  
\*\*\*\*自治医科大学  
\*\*\*\*\*独立行政法人産業技術総合研究所

基礎心理学研究 (The Japanese Journal of Psychonomic Science), 29, 1, 77-78, 2010

Hardness perception in visual motion –An experimental investigation in penetration motion–

Tomohiro Masuda\*, Atsushi Kimura\*, Sho-ichi Goto\*\*, Yuji Wada\*

\*National Agriculture and Food Research Organization

\*\*University of Tsukuba

運動中の速度や加速度の変化などの視覚情報は対象の“かたさ”や“やわらかさ”などの材質感の判断に影響を及ぼす。本研究では、貫入運動を用いて、運動対象の被貫入対象への貫入前後での加速度変化を操作し、視覚による被貫入対象の材質感の知覚に及ぼす影響を検討した (n = 6)。その結果、貫入対象が貫入前に減速するか、貫入後に加速する運動では、貫入前後で加速度が変化しない運動よりも被貫入対象の表面がかたいと判断された。また、貫入前後で加速から減速に変化する運動は、加速度が変化しない運動よりも内側がやわらかいと判断されることが示された。これらのことから、視覚的な貫入運動による材質のかたさの知覚は、貫入前後の対象の加速度変化により規定されることが示唆された。

視覚運動におけるかたさ知覚 – 貫入運動における実験的調査 –

増田 知尋\*, 木村 敦\*, 後藤 祥一\*\*, 和田 有史\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*筑波大学

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(8), 1598-1605 (2010)

Relationship between the rheological properties of thickener solutions and their velocity through the pharynx as measured by the ultrasonic pulse Doppler method

Akiko TASHIRO\*, Atsuko HASEGAWA\*, Kaoru KOHYAMA\*\*, Hitomi KUMAGAI\*\*\*, Hitoshi KUMAGAI\*

\*Kyoritsu Women's University

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Department of Chemistry and Life Science, Nippon University

増粘剤カルボキシメチルセルロース (CMC)、キサントガム、グアーガム溶液の動的粘弾性パラメータの角速度依存性と、粘性のずり速度依存性とを比較した。さらに、これらのレオロジー特性が、超音波パルスドップラー法で求めた咽頭部を通過するときの最高に及ぼす影響を調べた。CMC 溶液は希薄溶液、グアーガム溶液は真の高分子溶液と考えられた。キサントガム溶液は 0.5% 以上で弱いゲル、0.2% 以下で真の高分子溶液状であった。増粘剤溶液の最高速度は、静的粘性率、動的粘性率、および複素粘性率と、特にずり速度もしくは角速度が 20~30 s<sup>-1</sup> もしくは rad/s よりも高い条件で測定した場合に相関があった。このことから、嚥下困難者向けの液状介護食品に対して、静的粘性率、動的粘性率、複素粘性率のいずれもが適した指標になることが示唆された。

増粘剤溶液のレオロジー特性と超音波パルスドップラー法により測定した咽頭部を通過するときの速度との関係

田代 晃子\*, 長谷川温子\*, 神山かおる\*\*, 熊谷日登美\*\*\*, 熊谷 仁\*

\*共立女子大学家政学部

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*\*日本大学生物資源科学部

Food Chemistry, 127, 541-546 (2011)

Effect of non-starch polysaccharides on the in vitro digestibility and rheological properties of rice starch gel

Tomoko SASAKI, and Kaoru KOHYAMA

National Food Research Institute, NARO

3種類の非澱粉性多糖類 (NSP: 寒天, キサントガム, コンニャクグルコマンナン) を添加した30%米澱粉ゲルを調製し、ゲルの澱粉消化性とレオロジー特性を解析した。添加したいずれの NSP も、澱粉消化性を抑制する効果を示し、その効果には添加した NSP の濃度依存性が認められた。同じ添加濃度で比較すると、寒天は他の NSP より抑制効果が低い傾向を示した。澱粉ゲルの貯蔵弾性率は寒天とキサントガムの添加によって増加したが、コンニャクグルコマンナンを添加したゲルは逆に貯蔵弾性率が減少した。一方、ゲルの破断応力および変形率は NSP の添加により減少した。澱粉ゲルのレオロジー特性値と澱粉消化性との間に関連性が認められなかったため、NSP の澱粉消化性抑制効果はゲルの物性制御によるものではなく、澱粉と NSP の相互作用の関与が示唆された。

米澱粉ゲルの消化性およびレオロジー特性に及ぼす非澱粉性多糖類の影響

佐々木朋子, 神山かおる

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Food Hydrocolloids, 24(5), 512–517 (2010)

Phenomenological viscoelasticity of some rice starch gels

Navdeep Singh SODHI\*, \*\*, Tomoko SASAKI\*, Zhan-Hui LU\*, \*\*\*, Kaoru Kohyama\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Department of Food Science and Technology, Guru Nanak Dev University, India

\*\*\*College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, P. R. China

強力でかつ使いやすい技術である粘弾性の現象論を、米澱粉ゲルの動的粘弾性データ解析に応用した。本理論に基づいて、連続 Maxwell モデルで Tikhonov 則を適用し、連続緩和スペクトルが求められた。連続 Maxwell モデルにおけるスペクトルを、ピーク数、ピークの強度、主分布ピークの形および平衡弾性率により解釈したところ、米澱粉ゲルの粘弾性挙動の主な特性が、よく反映されていることが明らかになった。アミロース量が高い澱粉のゲルで観察される緩和スペクトルのピーク数の増加は、不均一な構造に対応していると考えられた。またピーク強度と平衡弾性率もアミロース量が高くなると増加したが、系がより安定したゲルのような状態に移行していることを示していた。

米澱粉ゲルの現象論的粘弾性

Navdeep Singh SODHI\*\*\*, 佐々木朋子\*, 魯戦会\*\*\*\*, 神山かおる\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*Department of Food Science and Technology, Guru Nanak Dev University, India

\*\*\*中国農業大学食品科学栄養工芸学院

Journal of Sensory Studies, 25(6), 917–939 (2010)

Sensory lexicon of brewed coffee for Japanese consumers,  
untrained coffee professionals and trained coffee tasters

Fumiyo Hayakawa\*, Yukari Kazami\*, Hideto Wakayama\*\*, Rutsu Oboshi\*\*\*, Hiroyuki Tanaka\*\*\*\*,  
Gou Maeda\*\*\*\*\*, Chiaki Hoshino\*\*\*\*\*, Hidekazu Iwawaki\*\*\*\*\*, Tetsuo Miyabayashi\*\*\*\*\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Ajinomoto General Foods, Inc

\*\*\*Art Coffee Co., Ltd.

\*\*\*\*Key Coffee Inc

\*\*\*\*\*UCC Ueshima Coffee, Co., Ltd.

\*\*\*\*\*Unica&eacute; Inc

\*\*\*\*\*Doutor Coffee Co., Ltd.

レギュラーコーヒーの官能評価語彙を構築した。市販52種のレギュラーコーヒーから選定した24種を試料とし、コーヒー業界関係者（非熟練者）とコーヒーテイスター（熟練者）による官能評価を行い、377種の表現を収集した。これらを整理して127の評価用語（外観7語、香り61語、味23語、テクスチャー8語、総合的印象28語）のリストを作成した。さらに、コーヒーに対する教育や訓練を受けていない評価員によって用語追加の必要性を検証し、消費者独自の用語の可能性が低いことを確認した。次に、消費者およびコーヒー業界関係者の各用語の認知度を調査し、認知度50%以上の場合に、その用語がそのグループの人の語彙に含まれるとみなした。127語のうち、消費者の語彙とみなされたのは31語、コーヒー業界関係者（熟練テイスター以外）の語彙は60語であった。本研究で得られたデータは、営業や消費者教育の際のツールとして、また、製品開発等における官能評価の用語候補リストとして有用であると考えられる。

日本人消費者、コーヒー業界関係者、熟練コーヒーテイスターのレギュラーコーヒーの官能評価語彙

早川 文代\*, 風見由香利\*, 若山 秀人\*\*, 大星 るつ\*\*\*, 田中 博之\*\*\*\*,  
前田 剛\*\*\*\*\*, 星野 千秋\*\*\*\*\*, 岩脇 秀一\*\*\*\*\*, 宮林 哲夫\*\*\*\*\*

\* (独)農研機構食品総合研究所

\*\*味の素ゼネラルフーズ(株)

\*\*\*(株)アートコーヒー

\*\*\*\*キーコーヒー(株)

\*\*\*\*\*UCC 上島珈琲(株)

\*\*\*\*\* (株)ユニカフエ

\*\*\*\*\* (株)ドトールコーヒー

Journal of the Physical Society of Japan, 79(4), 044801 (2010)

Fragmentation of a viscoelastic food by human mastication

Naoki KOBATASHI\*, Kaoru KOHYAMA\*\*, Kouichi SHIOZAWA\*\*\*

\*Department of Physics, Chuo University

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Department of Physiology, Tsurumi University School of Medicine

粘弾性のある食品（魚肉ソーセージ）を咀嚼した後の粒度分布を実験的に研究した。7名の被験者による咀嚼実験を行ったところ、単一対数正規分布パターンと、対数正規分布にべき分布の尾部がついた混合パターンの2群に分類することができた。このことから、食品試料が複雑な物理学的特性をもっていれば、破壊のパターンに個人差が生じることが示唆された。特に、対数正規分布とべき分布の混合パターンは、魚肉ソーセージのヒト咀嚼による粒度分布が、我々が以前に報告した生ニンジンのもものと異なっており、大きな部分と小さな部分との間に、大きさにより分離する構造をもつ破壊過程であることを示している。この構造を説明するため、確率的過程に基づいて、魚肉ソーセージの咀嚼モデルが提案された。

ヒト咀嚼による粘弾性食品の破壊

小林奈央樹\*, 神山かおる\*\*, 塩澤 光一\*\*\*

\*中央大学理工学部物理学教室

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*\*鶴見大学歯学部生理学教室

Starch-Starke, 61, 677-686 (2009)

Chain-length distribution profiles of amylopectin isolated from endosperm starch of waxy and low-amylose bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines with common genetic background

Takeshi YASUI\*, Kanae Ashida\*, and Tomoko SASAKI\*\*

\*National Agricultural Research Center for Western Region, NARO

\*\*National Food Research Institute, NARO

準同質遺伝子系統のモチ性とウルチ性小麦、および低アミロース系統の小麦種子から澱粉を精製し、澱粉のアミロース含量とアミロペクチンを精製した後、アミロペクチンの側鎖長分布の解析を行った。アミロース含量は2.6-23.6%の幅広い値を示した。精製したアミロペクチンをヨードカリ液で呈色させた時の最大吸収波長と青価は系統間で有意差が認められなかったことから、モチ性およびウルチ性小麦から精製したアミロペクチンにはヨウ素と複合体を形成するようなアミロースもしくは超長鎖のような長い側鎖は含まれていないことが示された。アミロペクチンの側鎖長分布の解析結果はDP6-12が26.5-27.5%、DP13-24が43.6-44.1%、DP25-36が13.6-14.2%、DP37-60が11.0-11.7%といずれも系統間で有意差が認められなかった。以上の結果から、Wx-D1座の対立遺伝子はアミロペクチンのヨウ素結合量や側鎖長分布に影響を及ぼさないことが明らかになった。

遺伝背景が共通なモチ性とウルチ性小麦から精製したアミロペクチンの側鎖長分布

安井 健\*, 芦田かなえ\*, 佐々木朋子\*\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業センター

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

食品総合研究所研究報告, 75, 45-54 (2011)

ジャムのテクスチャー用語リストの作成

早川 文代\*, 長縄 省吾\*\*, 干野 隆芳\*\*, 風見由香利\*, 神山かおる\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所

\*\*アヲハタ(株)

日本語テクスチャー用語リストから、ジャムのテクスチャー用語を選定した。調査票に445語のテクスチャー用語を列挙し、34人の評価者が、ジャムの描写表現として妥当であるか否かを3段階のカテゴリー尺度で判定した。データにコレスポンデンス分析を適用した結果、第1次元はジャムの表現としての適切さを表す軸と解釈できたので、各用語の「妥当度」を算出し、124語をジャムのテクスチャー用語として選定することができた。また、第2次元は評価者の属性を表す軸と解釈でき、ジャムのテクスチャー用語としての判定には、パネリストの専門性の高さが影響することが示された。本研究で得られたデータは基礎研究や製品開発におけるジャムの官能評価に有用な情報を提供すると考えられる。

Development of a list of texture descriptors for jam in Japanese

Fumiyo Hayakawa\*, Shogo Naganawa\*\*, Takayoshi Hoshino\*\*, Yukari Kazami\* and Kaoru Kohyama\*

\*National Food Research Institute, NARO,

\*\*Aohata Corporation

日本食品科学工学会誌, 57(6), 232-237 (2010)

皮を加工したたくあんの力学および咀嚼特性解析

大山 高裕\*, 阿久津智美\*, 伊藤 和子\*, 渡邊 恒夫\*, 山崎 公位\*, 神山かおる\*\*

\*栃木県産業技術センター食品技術部  
\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

高齢者が咀嚼しにくいたくあんを用いて、皮の加工がもたらす力学、及び咀嚼特性について機器測定と咀嚼筋筋電位計測により検討した。何も加工を施さないもの、皮に切れ目をいれたもの、皮を取り除いたものの3種類を試料とした。機器測定では、皮切れ目において最も小さな破断荷重の値を示した。咀嚼筋筋電位計測の結果については、若年者と比較して高齢者が咀嚼回数、咀嚼時間の値が有意に大きかった。しかし、咀嚼周期、筋電位振幅、筋活動量については、逆の傾向を示した。たくあん試料において、皮無しは咀嚼筋筋電位計測における咀嚼回数、咀嚼時間、筋活動時間、筋活動量のパラメータが有意に小さな値を示し、今回の試料の中で最も咀嚼負担が少なかった。さらに、筋電位振幅のデータは、高齢者でのみ有意な差が見られ、皮の加工の与える影響は若年者と高齢者で異なると考えられた。

The influence of skin processing on mechanical and mastication properties of Takuan (Pickled Radish)

Takahiro OYAMA\*, Satomi AKUTSU\*\*, Kazuko ITO\*, Tsuneo WATANABE\*, Kimii YAMAZAKI\*, Kaoru KOHYAMA\*\*

\*Industrial Technology Center of Tochigi Prefecture  
\*\*National Food Research Institute, NARO

Journal of Agricultural and Food Chemistry 59, p.78-84(2011)

Identification of Irradiated Prawn (*Penaeus monodon*) Using Thermoluminescence and 2-Alkylcyclobutanone Analyses

Susu Chen\*, Yuka Morita\*, Kimie Saito\*, Hiromi Kameya\*, Mitsutoshi Nakajima\*\*, Setsuko Todoriki\*

\*Food Safety Division, National Food Research Institute  
\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

熱ルミネセンスおよび2-アルキルシクロブタンオン分析を用いた照射エビ (*Penaeus monodon*) の検知

陳 蘇 蘇\*, 森田 佑佳\*, 齊藤希巳江\*, 亀谷 宏美\*, 中嶋 光敏\*\*, 等々力節子\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*筑波大学

TL法が日本で実際に輸入しているタイプのエビの検知に適用可能であるかの検証と、下処理済みのエビへの検知法として、2-ACB類の検出を指標とした新たな分析法の開発を行った。TL法では、背腸の内容物を塩酸加熱分離した測定資料を用い、低線量(0.5kGy)で照射したエビを賞味期限(60日)に、非照射と照射サンプルとの判別が可能であった。しかし、背腸のないエビについては、測定対象となる鉍物が存在しないため、TL法もPSL法も適用できない。そこでエビの検知に適用出来る2-ACB類の抽出方法や精製方法を開発し、簡易なプロトコルを完成した。実用照射レベルのエビの検出が可能なることを示した。

食品衛生学雑誌, 52(1), 18-23 (2011)

X線照射を用いた熱ルミネセンス法による照射食品検知法の開発と単一試験室における妥当性確認

坂部 寛\*, 森 良 種\*, 齊藤希巳江\*\*, 等々力節子\*\*

\* (独) 農林水産消費安全技術センター本部横浜事務所  
\*\* (独) 農研機構食品総合研究所

標準照射にX線を利用した熱ルミネセンス(TL)法による照射食品検知法を検討し、その検知法の単一試験室における妥当性確認を行った。照射食品の検知に使用できる小型のX線照射装置を開発し、コバルト60ガンマ線による標準照射の代替となるX線の照射条件を明らかにした。妥当性確認には、ガンマ線照射した香辛料を試料として用いた。検出限界値および発光量の下限値を測定し、香辛料からの鉍物質の分離を確認した。新たに開発したX線照射装置を含む2台の装置を用いて得られた香辛料のTL比に有意差がないことを明らかにした。また、測定者、X線照射装置、測定日を異にしたTL比の室内再現精度および併行精度は、有意差が認められなかった。

Development and Single Laboratory Validation for Thermoluminescence Detection of Irradiated Foods Using X-ray Irradiation

Hiroshi Sakabe\*, Yoshitane Mori\*, Kimie Saito\*\*, Setsuko Todoriki\*\*

\*Food and Agricultural Materials Inspection Center, Yokohama Office  
\*\*National Food Research Institute

食品照射, 45, p.26-33 (2010)

放射線照射によるニンニクの萌芽発根抑制効果

小林 泰彦\*, 菊地 正博\*, 等々力節子\*\*, 齊藤希巳江\*\*, 桂 洋子\*\*,  
亀谷 宏美\*\*, 市川まりこ\*\*\*, 飯塚 友子\*\*\*, 千葉 悦子\*\*\*, 鶴飼 光子\*\*\*\*

\* (独)原研機構量子ビーム応用研究部門  
\*\* (独)農研機構食品総合研究所  
\*\*\*食のコミュニケーション円卓会議  
\*\*\*\*北海道教育大学

放射線照射によるニンニクの萌芽と発根の抑制効果について調べた。収穫から約2ヶ月後の青森産ニンニクに30Gy以上の $\gamma$ 線を照射することによって、ほぼ完全に萌芽と発根を抑制できることがわかった。照射時期が1ヶ月遅くなると、萌芽抑制の効果は若干低下した。

Sprouting and Rooting Inhibition of Garlic with Co-60  $\gamma$ -rays

Kobayashi Yasuhiko\*, Kikuchi Masahiro\*, Todoriki Setsuko\*\*, Saito Kimie\*\*, Katsura Yoko\*\*,  
Kameya Hiromi\*\*, Ichikawa Mariko\*\*\*, Iizuka Tomoko\*\*\*, Chiba Etsuko\*\*\*, Ukai Mitsuko\*\*\*\*

\*Japan Atomic Energy Agency  
\*\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*\*Roundtable for Food Communication  
\*\*\*\*Hokkaido University of Education

Environmental Toxicology and Pharmacology 31, 258-261 (2011)

Nuclear factor- $\kappa$ B inhibitors alleviate nivalenol-induced cytotoxicity in HL60 cells

Hitoshi NAGASHIMA, Masayo KUSHIRO, Hiroyuki NAKAGAWA

ニバレノール (NIV) の毒性発現機構解明のため、核内因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) の HL60細胞における NIV 誘導性の細胞毒性への関与を NF- $\kappa$ B の特異的阻害剤 PDTTC とデキサメサゾンを用いて検討した。NIV はインターロイキン (IL) - 8 の分泌を誘導した。その分泌は NIV 単独処理より NIV と NF- $\kappa$ B 阻害剤の同時処理した細胞の方が少なかった。NIV は単球走化性タンパク質 (MCP) - 1 の分泌を減少させた。その分泌は NIV 単独処理より NIV と NF- $\kappa$ B 阻害剤の同時処理した細胞の方が多かった。NF- $\kappa$ B 阻害剤が NIV の影響を緩和したので、NF- $\kappa$ B は NIV によるサイトカイン分泌の変化に重要であると考えられた。NIV は細胞増殖を阻害し、デキサメサゾンはこの影響を弱めたので、NF- $\kappa$ B が細胞増殖に与ると考えられた。以上の結果より NF- $\kappa$ B が HL60細胞における NIV 誘導性の細胞毒性に関与することが明らかとなった。

核内因子  $\kappa$ B の阻害剤は HL60細胞におけるニバレノール誘導性の細胞毒性を軽減する

長嶋 等, 久城 真代, 中川 博之

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Journal of Food Protection, 73(10): 1817-1823 (2010)

Distribution of deoxynivalenol and nivalenol in milling fractions  
from Fusarium-infected Japanese wheat cultivars

Manasikan THAMMAWONG\*, Mayuko OKABE\*\*, Tomomi KAWASAKI\*, Hiroyuki NAKAGAWA\*,  
Hitoshi NAGASHIMA\*, Hiroshi OKADOME\*, Takashi NAKAJIMA\*\*\*, AND Masayo KUSHIRO\*

\* National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)  
\*\*Shinshu University  
\*\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, NARO

人為的にフザリウム属かびを感染させた国産小麦品種を用い、製粉でのフザリウム系かび毒のデオキシニバレノールとニバレノールの動態を解析した。かび毒汚染程度の異なる穀粒を試験製粉機により製粉し、3種のプレーキ粉 (1B, 2B, 3B) と3種のミドリング粉 (1M, 2M, 3M) ならびに大フスマと小フスマを得、ヒトの可食部となる上質粉を1B, 2B, 1M, 2Mから調製し、残り (3Bと3M) を末粉とした。4種の試料 (上質粉, 末粉, 大フスマ, 小フスマ) 中のデオキシニバレノールとニバレノールの濃度を HPLC-UV により分析した。その結果、汚染度の違いにより、各製粉分画への分布の様子が異なっていた。低汚染粒の製粉では毒素はフスマに多く分布していたが、中汚染粒 (暫定基準値近くの汚染粒) では可食部の分布度が高まっていた。国産小麦穀粒に含まれるデオキシニバレノールとニバレノールは、製粉により効果的に取り除かれない場合があることが明らかとなった。

国産小麦中デオキシニバレノールとニバレノールの各製粉分画への分布

Manasikan Thammawong\*, 岡部 繭子\*\*\*, 川崎 友美\*, 中川 博之\*, 長嶋 等\*, 岡留 博司\*,  
中島 隆\*\*\*, 久城 真代\*

\* (独)農研機構食品総合研究所  
\*\*信州大学  
\*\*\* (独)農研機構九州沖縄農業研究センター

Radioisotopes, 59, 10, 607-614, 2010

Relaxation behavior and dose dependence of radiation induced radicals in irradiated mango

Hiromi Kameya, Daisuke Kakita\*, Yoshihiko Kaimori\*\*, Masahiro Kikuchi\*\*\*,  
Yasuhiko Kobayashi\*\*\*, Mitsuko Ukai\*\*, Yuhei Shimoyama\*\*\*

National Food Research Institute  
\*Muroran Institute of Technology  
\*\*Hokkaido University of Education  
\*\*\*Japan Atomic Energy Agency

日本では温湯浸漬処理されたマンゴーが輸入されている。近年、照射輸入マンゴーはアメリカでは広く利用されている。本研究では照射マンゴーに誘導されるラジカルのESR法による分析について報告する。γ線照射されたマンゴーの果肉及び果皮には $g=2.004$ に強い1本線の信号が観測された。これは有機フリーラジカル由来と考えられた。果肉及び果皮において12kGy以上の照射処理によりセルロース由来の照射誘導ラジカルが現れた。一本線信号の緩和時間(T1とT2)を計算した。T1はほぼ一定であったが、T2は線量の増加とともに変化した。T1及びT2の相乗平均を検討したところ、線量依存性が確認された。

照射マンゴー中に誘導されるラジカルの緩和挙動と線量依存性

亀谷 宏美, 垣田 大介\*, 貝森 良彦\*\*, 菊地 正博\*\*\*, 小林 泰彦\*\*\*, 鶴飼 光子\*\*, 下山 雄平\*\*\*

独立行政法人農研機構食品総合研究所  
\*室蘭工業大学大学院工学研究科  
\*\*北海道教育大学大学院教育学研究科  
\*\*\*独立行政法人日本原子力研究開発機構

Radioisotopes, 59, 7, 415-420, 2010

Analysis of radicals of irradiated garlic

Hiromi KAMEYA, Yoshihiko KAIMORI\* and Mitsuko UKAI\*

\*Hokkaido University of Education

ESR法を用いた照射ニンニクの計測を行った。照射処理はγ線を用いた。ニンニクのESR信号は、 $g=2.00$ の1本線であった。この1本線の信号は有機フリーラジカル由来の信号である。照射処理により、1本線の信号強度が増大した。また、この信号の傍に2本のセルロースラジカルの信号が観測された。1本線のESR信号強度は照射線量に依存して増大した。

放射線照射したニンニクにおけるラジカルの測定

亀谷 宏美, 貝森 良彦\*, 鶴飼 光子\*

\*北海道教育大学

食品照射, 45, 1, 2, 19-25, 2010

ESRによるグルコースポリマー中の照射誘導ラジカルの解析

亀谷 宏美, 中村 秀夫\*, 鶴飼 光子\*, 下山 雄平\*\*

農研機構食品総合研究所  
\*北海道教育大学  
\*\*日本原子力研究開発機構

電子スピン共鳴(ESR)分光学を使用して、実測データと理論解析からセルロースとデンプンのグルコールポリマーの照射処理により新規に誘導されるラジカルの解析を行った。照射前のスペクトルでは両方のグルコースポリマーで信号は観測されなかった。しかし、ガンマ線照射処理により $g=2.0$ に一本線信号が観測された。さらに、セルロースのESRスペクトルでは $g=2.0$ の1本線信号に対称の位置に1対のサイド信号が観測された。サイド信号はデンプンでは観測されなかった。この結果から、照射により誘導されたサイド信号はグルコースの過酸化ラジカルやセルロティックラジカルに由来するものではなく、照射セルロース由来の信号であると結論した。理論シミュレーションから、サイド信号は2つの不対なプロトンの超微細相互作用に由来するトリプレット信号であることが示された。

An ESR Study of radiation induced radicals in glucose polymers

Hiromi Kameya, Hideo Nakamura\*, Mitsuko Ukai\*, Yuhei Shimoyama\*\*

National Food Research Institute  
\*Hokkaido University of Education  
\*\*Japan Atomic Energy Agency

食品照射, 45, p.11-18 (2010)

放射線照射漢方薬 (エキス剤) の照射誘導ラジカルの緩和挙動

中村 秀夫\*, 高橋 司\*, 本多 由依\*, 貝森 良彦\*, 亀谷 宏美\*\*, 鶴飼 光子\*

\*北海道教育大学  
\*\* (独) 農研機構食品総合研究所

食品照射は, 放射線を利用した殺虫, 殺菌, 発芽防止, 熟成遅延などにより食品の貯蔵期間を延長する食品の殺菌技術である。照射殺菌は, 加熱殺菌に比べて熱上昇が少なく, 独特の芳香や薬効を損なわずに殺菌処理ができるため, 香辛料や生薬に適している。また, 照射処理は処理対象物中で放射線は熱エネルギーに転換して消滅するため, 食品添加物のように食品に残存しない。さらに, 最終的な出荷包装の状態での照射殺菌処理ができるため, 処理後はそのまま出荷出来る。そこで微生物や害虫に再び汚染することがない。生薬は, 産地や採取時期, 保存法などにより品質が異なる。また, 製造工程によってもその品質が異なるとされている。原料生薬は微生物汚染を受けやすく微生物汚染度の測定は医薬品の品質管理と安全性確保の観点から重要である。

Electron spin relaxation behavior of radiation induced-radicals of kampo extraction

Hideo Nakamura\*, Tsukasa Takahashi\*, Yui Honda\*, Yoshihiko Kaimori\*, Hiromi Kameya\*\*, Mitsuko Ukai\*

\*Hokkaido University of Education  
\*\*National Food Research Institute, NARO

日本食品科学工学会誌, 57, 11, 472-478, 2010

照射ニンニクの ESR, PSL, TL による検知

亀谷 宏美, 齊藤希巳江, 菊地 正博\*, 小林 泰彦\*, 鶴飼 光子\*\*, 等々力節子

(独) 農研機構食品総合研究所  
\* (独) 日本原子力研究機構  
\*\*北海道教育大学大学院

TL法, PSL法, ESR法の3種の照射食品検知法が, 実用線量 (50~180Gy) でのガンマ線照射ニンニクの検知に適用かについて検討した。ESR法は信号強度が線量に依存して増大した。線量に対する信号強度すなわちラジカル量の増加率を検討することで検知法として利用できる可能性が示唆された。PSL法は, 照射前後で得られる発光増加量及び発光積算量は変化した。これにより, 発光積算量を用いることで照射判別法として利用できる可能性が示唆された。詳細な数値検討を行うことで実用化が可能であると考えた。TL法は照射直後および1年間の貯蔵後でも照射判別が可能であった。TL報による照射ニンニクの検知は, TL比と発光極大温度の設定により実用的な研法として照射判別可能であると結論した。

Detection of Irradiated Garlic Bulb Using ESR Spectroscopy, PSL and TL Methods

Hiromi Kameya, Kimie Saito, Masahiro Kikuchi\*, Yasuhiko Kobayashi\*, Mitsuko Ukai\*\*, Setsuko Todoriki

National Food Research Institute  
\*Japan Atomic Energy Agency  
\*\*Hokkaido University of Education

日本食品科学工学会誌, 57, 6, 257-262, 2010

乳児用成型ミルクの ESR による分析

鶴飼 光子, 亀谷 宏美\*

北海道教育大学大学院  
\*農研機構食品総合研究所

乳児用成型ミルクを ESR で分析した。これは新しい乳児用ミルクで, 固形であるが湯に溶けやすい。比較として乳児用粉末ミルク, 脱脂粉乳, コーヒー用粉末ミルク, 乾燥全卵を用いた。いずれの試料も g 値が2.0の位置に有機フリーラジカル由来の鋭い一本線が観測された。Mn<sup>2+</sup>の超微細構造線, g 値が4.0に Fe<sup>3+</sup>由来の一本線が観測された試料もあった。各試料の ESR 信号強度はマイクロ波強度が増すに従って増加し, マイクロ波強度が10mW もしくは20mW で飽和し閾値を得た。閾値を示した後, 信号強度は減少した。乳児用ミルクの ESR 信号強度は脱脂粉乳やコーヒー用粉末ミルクの信号強度よりも高くなった。電子スピンの緩和時間 (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) は乳児用ミルクでは T<sub>1</sub> は10 $\mu$ s, T<sub>2</sub> は60ns であった。乳児用ミルクで計測されたラジカルは成型ミルクでも粉末ミルクでも同じラジカル種であると考えられた。

ESR analysis of cubed infant milk

Mitsuko Ukai, Hiromi Kameya\*

Hokkaido University of Education  
\*National Food Research Institute

## 殺菌処理された香辛料の成分変化の ESR による解析

亀谷 宏美\*, 鶴飼 光子\*\*

\* (独) 農研機構・食品総合研究所  
\*\*北海道教育大学

殺菌処理の異なる香辛料を ESR 計測した。殺菌処理は過熱蒸気殺菌およびガンマ線照射処理である。香辛料の ESR スペクトルは鋭い 1 本線で構成された。g 値は約 2.00 であったことから有機フリーラジカル由来と考えた。1 本線の信号強度は、測定時のマイクロ波強度が増すに従って増加し飽和した。いずれの香辛料でも照射試料の ESR 信号強度が最も大きかった。緩和時間 (T1, T2) を算出した。過熱試料と照射試料の緩和時間はほぼ同じであった。脂質を多く含む香辛料の解析には脱脂処理が必要と考えた。香辛料では、過熱処理と照射処理により生成されるラジカル成分が同じであると結論した。

ESR analysis of sterilized spices

Hiromi Kameya\*, Mitsuko Ukai\*\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Hokkaido University of Education

## 次亜塩素酸ナトリウムに繰り返し曝露した大腸菌 O157:H7 の塩素耐性への影響

稲津 康弘\*, Md. Latiful Bari\*, 北川 智子\*, 川崎 晋\*, Vijay K. Junera\*\*, 川本 伸一\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*米国農務省東部研究所

塩素系殺菌剤は食品の表面や食品製造施設における微生物汚染を低減するために広く活用される一方、殺菌剤に対する感受性が低下した微生物の発生と蔓延が公衆衛生上の問題点として指摘されている。本報では大腸菌 O157:H7 を用いて、塩素耐性が塩素系殺菌剤溶液中で誘導され耐性を獲得する可能性について in vitro の系で試験・評価した。加えて、偶発的に起こりうる塩素耐性変異種の発生についても検討した。また、微生物代謝活性評価法と曝露試験回数との関連性についても検討した。NTG による処理の有無や継体培養回数に関わらず感受性について差異は認められず、また、NaClO 処理の有無に関わらず微生物の呼吸活性や酸化ストレス遺伝子発現量および薬剤感受性に違いを認めなかった。これらの結果、大腸菌 O157:H7 の塩素系殺菌剤耐性獲得は難しいと考えられた。

The effect of repeated sodium hypochlorite exposure on chlorine resistance developed in Escherichia coli O157:H7

Yasuhiro Inatsu\*, Md. Latiful Bari\*, Tomoko Kitagawa\*, Susumu Kawasaki\*, Vijay Kumar Junena\*\*, Shinichi Kawamoto\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Eastern Regional Research Center

## Combined effect of low-dose irradiation and acidified sodium chlorite washing on Escherichia coli O157/H7 inoculated on mung bean seeds

Daisuke Nei, Md. Latiful Bari, Yasuhiro Inatsu, Susumu Kawasaki, and Setsuko Todoriki, Shinichi Kawamoto

National Food Research Institute

低線量の放射線照射と酸性化亜塩素酸ナトリウムを併用することによる大腸菌 O157:H7 およびサルモネラの殺菌効果を検討した。酸性化亜塩素酸ナトリウム洗浄を行った後、0.75kGy および 1.5kGy の放射線を照射することにより、病原菌の生菌数を検出限界以下 (<1.0 log CFU/g) にまで低下させることができた。殺菌処理による発芽率の低下は認められなかった。

低線量の放射線照射と酸性化亜塩素酸ナトリウムの併用による緑豆種子に接種した大腸菌 O157:H7 およびサルモネラの殺菌効果

根井 大介, Md. Latiful Bari, 稲津 康弘, 川崎 晋, 等々力節子, 川本 伸一

農研機構食品総合研究所

Foodborne Pathogens and Disease, 7巻, 12号, 1481-1489頁, 2010

酸性化亜塩素酸水と次亜塩素酸ナトリウムによる大腸菌殺菌効果の比較

Rachel Ramos Elano\*, 北川 智子\*, Md. Latiful Bari\*, 川崎 晋\*, 川本 伸一\*, 稲津 康弘\*

\*農研機構食品総合研究所

食肉および青果物から分離した大腸菌株を用いて, 酸性化亜塩素酸水 (ASC) と次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) による殺菌効果の比較を行った。40の非病原性大腸菌分離株と, 対照株として大腸菌 JCM1649株ならびに4株の大腸菌 O157:H7 (CR-3, MN-28, MY-29, DT-66) を用いて実験に供した。100mg/LのNaClOと20mg/LのASC (pH4.6) で25°C 3分間処理した場合, 大腸菌分離株および対照株いずれも, PBS処理と比較して $4.3 \pm 0.9$ および $7.8 \pm 1.7 \log \text{CFU/mL}$ の減少が認められた。例外として1株の凝集形成株では,  $1.0 \log \text{CFU/mL}$ の減少のみ認められた。しかし, レタスにおいてNaClOとASCで5分処理した場合の殺菌効果は $1.7 \pm 0.3 \log$  および $1.9 \pm 0.4 \log \text{CFU/g}$ にとどまり, ホウレンソウにおいても殺菌効果は $1.6 \pm 0.2 \log$  および $1.6 \pm 0.4 \log \text{CFU/g}$ しか得られなかった。蒸留水のみで洗浄した場合では, 菌数の減少を観測できなかった。in vivoにおける殺菌剤による効果は株間での違いが認められず, 葉物野菜表面に付着した大腸菌の殺菌効果は大腸菌の分離源に関わらず類似した挙動を示すと考えられた。

Comparison of the effectiveness of acidified sodium chlorite and sodium hypochlorite in reducing *Escherichia coli*

\*National Food Research Institute, NARO

Foodborn Psathogens and Disease, 7(7) 845-850 (2010)

Effectiveness of superheated steam and gas catalytic infrared heat treatments to inactivate *Salmonella* on raw almonds

Md. Latiful Bari\*, Daisuke Nei\*, Itaru Sotome\*, Ikuo Nishina\*\*, Fumiyo Hayakawa\*, Seiichiro Isobe\* and Shinichi Kawamoto\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Satake USA Co. Ltd.

アーモンドの食中毒はサルモネラによるものが多い。したがって, 流通前にアーモンドに付着したサルモネラを効果的に殺菌することが重要である。本研究では, 過熱水蒸気処理と赤外線加熱の併用によるサルモネラの殺菌効果とアーモンドの品質に及ぼす影響を評価した。70秒間の過熱水蒸気処理と70秒間の赤外線加熱を組み合わせるにより, サルモネラの生菌数を $5.73 \log/\text{CFU}$ 低下させることが可能であった。殺菌処理後のアーモンドの外観は許容範囲にあり, 過熱水蒸気処理と赤外線加熱の併用はアーモンドの殺菌効果として有効であることが示された。

過熱水蒸気および赤外線加熱によるアーモンド表面に付着したサルモネラの殺菌効果

Md. Latiful Bari\*, 根井 大介\*, 五月 女格\*, 西名 郁夫\*\*, 早川 文代\*, 五十部誠一郎\*, 川本 伸一\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*株式会社サタケ USA

Foodborne Pathogens and Disease, 7巻, 5号, 549-554頁, 2010

多重リアルタイム PCR 法を用いた豚挽肉中でのサルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 の同時検出と定量について

川崎 晋\*, Pina M. Fratamico\*\*, 堀越菜穂子\*\*\*, 岡田 幸男\*\*\*, 竹下 和子\*\*\*, 鮫島 隆\*\*\*, 川本 伸一\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*米国農務省東部研究所  
\*\*\*プリマハム基礎研究所

サルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 について多重リアルタイム PCR 法による同時検出と定量を試みた。画病原菌の標的因子に特異的な蛍光色素標識プローブを設計し, PCR 反応の直接検出および初発テンプレート濃度の定量に用いた。検出感度は各々 $2.0 \times 10^2 \text{CFU/mL}$ , 定量幅と相関係数は $10^2-10^7 \text{CFU/mL}$  および $R^2 > 0.99$ と得られ, この際のPCR 反応効率は84.2~99.2%と高い効率を得た。豚挽肉において25g中1細胞を接種した場合においても20時間後の培養で検出できることから, 全行程24時間にて上記標的菌を検出できると考えられた。本多重リアルタイム PCR 法は食品からの迅速な食中毒菌スクリーニング法として活用できる。

Multiplex real-time polymerase chain reaction assay for simultaneous detection and quantification of *Salmonella* species, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in ground pork samples

Susumu Kawasaki\*, Pina M. Fratamico\*\*, Naoko Horikoshi\*\*\*, Yukio Okada\*\*\*, Kazuko Takeshita\*\*\*, Takashi Sameshima\*\*\*, Shinichi Kawamoto\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Eastern Regional Research Center  
\*\*\*PRIMA Meat Packers, Ltd.

Japan Agricultural Research Quarterly, 45巻, 1号, 77-81頁, 2011

サルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 の多重 PCR 検出キットの開発

川崎 晋\*, Pina M. Fratamico\*\*, 堀越菜穂子\*\*\*, 岡田 幸男\*\*\*, 竹下 和子\*\*\*, 鮫島 隆\*\*\*, 川本 伸一\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*米国農務省東部研究所  
\*\*\*プリマハム基礎研究所

著者らは, 食品中におけるサルモネラ, リステリアモノサイトゲネス, 病原性大腸菌 O157:H7 の多重 PCR 検出キットを開発した. 検出キットの開発には, 専用の前培養培地の開発と簡易核酸抽出法の開発, 多重 PCR 反応系の構築, の3つを最適化せねばならなかった. これらの開発手法を用いた際, 25 g 中 1 細胞を接種した場合においても 24 時間に検出できることを明らかにした. これらの開発技術は "[TA10] Pathogenic Bacterial Multiplex PCR Detection Kit" との名で販売がなされることとなった. 他研究室との比較検証試験を行っても, 研究室間での検出感度の差異は無かった. 本開発技術と培養法による検出法は極めて一致し, 食品からの迅速な食中毒菌スクリーニング法として活用できると考えられた.

Development of the multiplex PCR detection kit for *Salmonella* spp.,  
*Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7

Susumu Kawasaki\*, Pina M. Fratamico\*\*, Naoko Horikoshi\*\*\*, Yukio Okada\*\*\*,  
Kazuko Takeshita\*\*\*, Takashi Sameshima\*\*\*, Shinichi Kawamoto\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\* United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Eastern Regional Research Center  
\*\*\*PRIMA Meat Packers, Ltd.

Journal of Food Protection, 73(4) 752-757 (2010)

Practical evaluation of mung bean seed pasteurization method in Japan

Md. Latiful Bari\*, Katsuyoshi Enomoto\*\*, Daisuke Nei\* and Shinichi Kawamoto\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Daisey Co. Ltd.

スプラウトの食中毒の多くは大腸菌 O157:H7 およびサルモネラによるものであり, これらの病原菌を効果的に殺菌することが重要である. 本研究では, 85℃で40秒間の熱水処理を加えた後, 2,000ppm の次亜塩素酸ナトリウムで処理することにより, 病原菌を完全に死滅できることを明らかにしてきた. さらに, 実用機を使用して大規模試験を行った結果, 非病原性の大腸菌に対して高い殺菌効果が得られ, 有効な種子殺菌方法であることが認められた.

日本における緑豆種子殺菌の実用性評価

Md. Latiful Bari\*, 榎本 克義\*\*, 根井 大介\*, 川本 伸一\*

\* (独)農研機構食品総合研究所  
\*\*株式会社大生機械

Journal of Stored Products Research 46,13-19(2010)

Detection and identification of *Wolbachia* endosymbionts  
from laboratory stock of stored-product insect pests and their parasitoids

Daisuke Kageyama\*, Satoko Narita\*, Taro Imamura\*\*, Akihiro Miyanoshita\*\*

\*National Institute of Agrobiological Science  
\*\*National Food Research Institute

食品総合研究所に収集・維持されている貯蔵食品害虫とその寄生者に感染している内部共生細菌ボルバキアについて調査した. コウチュウ目, チャタテムシ目, チョウ目, ハチ目に属する38種59系統のボルバキアの WSP 遺伝子の断片を PCR し, 遺伝子配列を明らかにした. その結果, 13種18系統からボルバキア感染が検出された. その中でボルバキアの14系統が WSP 遺伝子の配列から同定された. データベース調査は, 6 種のボルバキア系統が複数の宿主種に共有されていることを示した.

貯蔵食品害虫とその寄生者のラボラトリーストックからの内部共生細菌ボルバキアの検出と同定

陰山 大輔\*, 成田 聡子\*, 今村 太郎\*\*, 宮ノ下明大\*\*

\*農業生物資源研究所  
\*\*農研機構食品総合研究所

家屋害虫, 32巻2号, 51-57頁 (2010)

スチール製倉庫内でのコクゾウムシの越冬実験—シェルターと水分の効果—

今村 太郎\*, 宮ノ下明大\*, 松阪 守\*\*, 峯岸 利充\*\*, 石向 稔\*\*, 中北 宏\*\*\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*国際衛生株式会社  
\*\*\*つくば防虫協議会

つくば市の食品総合研究所敷地内に設置したスチール製倉庫内でコクゾウムシの越冬実験を行った。2007年9月25日に、玄米を入れた容器、定期的に5mlの蒸留水を注ぐ注水シェルター、水を注がない無注水シェルターを入れた実験容器に卵から成虫までの全成育ステージを含むコクゾウムシを入れ、その実験容器21個を倉庫内に置いた。2007年10月15日以降、5週間ごとにそのうちの3個を回収し、成虫の容器内での分布とその生死を調べ、玄米を回収した。回収した玄米は30℃、70%RHの恒温恒湿室に置き、出現する成虫を数えた。2007年11月20日の調査以降、玄米容器から脱出しているコクゾウムシ成虫が見られるようになり、その数は無注水シェルターより注水シェルターの方で多かった。実験容器内の成虫は2008年4月8日の調査まで生存しているものが見られた。回収した玄米から出現したコクゾウムシ成虫は2007年11月20日に回収した玄米で最大になった。これを基準にした2008年4月8日に回収した玄米での成虫以前の成育ステージでの生存率は6.9%と推定された。

Overwintering of *Sitophilus zeamais* in a metal shed: Effects of shelter and water

Taro Imamura\*, Akihiro Miyanoshita\*, Mamoru Matsusaka\*\*,  
Toshimitsu Minegishi\*\*, Minoru Ishiko\*\*, Hiroshi Nakakita\*\*\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*Kokusaieisei Co., Ltd.  
\*\*\*Tsukuba Association of Insect Pest Control

家屋害虫, 32(2), 59-63 (2010)

堅果類で発育するコクゾウムシ

宮ノ下明大\*, 小畑 弘己\*\*, 真邊 彩\*\*, 今村 太郎\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*熊本大学文学部埋蔵文化財調査室

コクゾウムシの発育実験(温度25℃)を4種類の堅果類(クリ, スダジイ, シラカシ, マテバシイ)を用いて行った。全ての堅果類に対してコクゾウムシは産卵し成虫まで発育した。成虫羽化数は30頭程度、発育日数は35日程度であり、クリ, スダジイ, マテバシイの堅果間で大きな差はなかったが、シラカシの堅果では成虫羽化数が少なく、発育日数が遅延した。また、外果皮が無傷な堅果(クリ, シラカシ)に対してコクゾウムシは産卵できず、次世代の成虫は羽化しなかった。

Maize weevil, *Sitophilus zeamais* breeding in acorns

Akihiro Miyanoshita\*, Hiroki Obata\*\*, Aya Manabe\*\*, Taro Imamura\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Arhaeological Operation Center, Kumamoto University

Carbohydrate Polymers 81(4) 964-968 (2010)

NMR characterization of acidic xylo-oligosaccharides containing two methylglucuronic acid residues from Japanese cedar and Hinoki cypress

Tadashi ISHII\*, Tomoyuki KONISHI\*, Takashi YAMASAKI\*\*, Ayumi ENOMOTO\*\*,  
Mitsuru YOSHIDA\*\*\*, Ikuko MAEDA\*\*\*, Kazumasa SHIMIZU\*\*

\*Forestry and Forest Products Research Institute  
\*\*College of Bioresource Sciences, Nihon University  
\*\*\*National Food Research Institute, NARO

隣接したキシロシル基に結合した2つの4-O-メチルグルクロン酸(MeGlcA)基を有するキシロオリゴ糖、および単独のMeGlcA基を有するキシロオリゴ糖を杉(Sugi, *Cryptomeria japonica*)および桧(*Chamaecyparis obtusa*)のアラビノグルクロノキシラン(AGX)の部分酸分解物から単離した。2つMeGlcA基を有するキシロオリゴ糖と単独のMeGlcA基を有するキシロオリゴ糖の比率は、杉でも桧でも1:3であった。4種類の2つのMeGlcA基を有するキシロオリゴ糖の還元末端を2-アミノペンザミド(2AB)で標識し、それらの構造解析を順相液体クロマトグラフ、エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)、および核磁気共鳴(NMR)分光分析を用いて行った。1次元および2次元NMR法により、これら2AB標識キシロオリゴ糖の1Hおよび13C NMRスペクトルのシグナルをすべて帰属することができた。

杉および桧から単離された2つのメチル化グルクロン酸基を含む酸性キシロオリゴ糖のNMRによる構造解析

石井 忠\*, 古西 智之\*, 山崎 隆志\*\*, 榎本あゆみ\*\*, 吉田 充\*\*\*, 前田 育子\*\*\*, 志水 一允\*\*

\*森林総合研究所  
\*\*日本大学生物資源科学部  
\*\*\*農研機構食品総合研究所

Tetrahedron Letters 51 (38) 4953–4956 (2010)

Oryzamutaic acids H–J, new alkaloids from an *Oryza sativa* mutant with yellow endospermHiroshi NAKANO\*, Seiji KOSEMURA\*\*, Mitsuru YOSHIDA\*\*\*, Rika IWAURA\*\*\*,  
Toshisada SUZUKI\*\*\*\*, Ryota KAJI\*, Makoto SAKAI\*

\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, NARO

\*\*Department of Chemistry, Hiyoshi Campus, Keio University

\*\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*\*Faculty of Agriculture, Kagawa University

含窒ヘテロ環を有する3種類の新規のアルカロイド oryzamutaic acids H–J を黄色胚乳を有するイネ変異株から得た精白米から単離した。これらの新規アルカロイドの相対立体配置を含む構造を、精密質量分析、1次元<sup>1</sup>Hおよび<sup>13</sup>C NMR、<sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H相関および<sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C相関2次元NMRスペクトル解析により明らかにした。Oryzamutaic acids Hは、カルボキシル基と窒素原子が結合している炭素を3つ有し、アミノ酸3分子から生合成されると考えられた。また、oryzamutaic acids Hの類縁体、oryzamutaic acids A–G, I, Jの骨格も同様なアミノ酸3分子に由来すると考えられた。

## 黄色胚乳を有するイネ変異株の米から単離された新規アルカロイド Oryzamutaic acids H–J

中野 洋\*, 小瀬村誠治\*\*, 吉田 充\*\*\*, 岩浦 里愛\*\*\*, 鈴木 利貞\*\*\*\*, 梶 亮太\*, 坂井 真\*

\*農研機構九州沖縄農業研究センター

\*\*慶應義塾大学法学部

\*\*\*農研機構食品総合研究所

\*\*\*\*香川大学農学部

Researches in Organic Geochemistry, 26, 31–37, 2010

熱分解型元素分析／同位体比質量分析計 (TCEA／IRMS) を用いた  
有機物の水素・酸素安定同位体比の測定方法における留意点とその応用

鈴木彌生子\*, \*\*\*, 佐藤 里恵\*\*

\*日本認証サービス株式会社

\*\*SIサイエンス株式会社

\*\*\* (現所属) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

水素・酸素同位体比分析は古環境復元や野生動物研究, 法医学, 食品の信頼性評価などの分野で有用な手法として注目されている。熱分解型元素分析／同位体比質量分析計の普及により, 酸素・水素同位体比の分析は, 迅速かつルーチンで分析可能となってきた。地球化学・生態学・食品科学への応用に関する研究報告が急増しているにもかかわらず, 分析手法の信頼性については言及されていない。本研究では, 有機物の酸素・水素同位体比分析の測定法の基礎について述べるとともに, 食品や化成品への応用例を示す。

Stable hydrogen and oxygen isotope analysis of organic materials  
by thermal conversion elemental analyzer / isotope mass spectrometer (TCEA)

\*Japan Certification Services, Inc.

\*\*SI Science CO., LTD.

\*\*\* (Present address) National Food Research Institute

Bioscience Biotechnology Biochemistry, 74, 4, 861–864, (2010)

オオバギボウシ (*Hosta sieboldiana*) の新規ステロイドサポニン

箭田 浩士\*, 木村 俊之\*\*, 鈴木 雅博\*\*, 亀山 (大西) 眞由美\*, 新本 洋士\*\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター福島研究拠点

\*\*\*玉川大学農学部

著者らはオオバギボウシ (*Hosta sieboldiana*, 山菜名ウレイ) 抽出物がマウス白血病細胞 P388 の増殖を抑制することを過去に報告している。本論文では, オオバギボウシの可食部抽出物から新規ステロイドサポニンを単離し, 分光学的手法によりその化学構造を (25R)–3β–(α–L–rhamnopyranosyl)–(1→4)–β–D–glucopyranosyl–(1→3)–[β–D–glucopyranosyl–(1→2)]–β–D–glucopyranosyl–(1→4)–β–D–galactopyranosyl)–5α–spirostan–2α–ol と決定したので報告する。

New steroidal saponin from *Hosta sieboldiana*

Hiroshi YADA\*, Toshiyuki KIMURA\*\*, Masahiro SUZUKI\*\*, Mayumi OHNISHI–KAMEYAMA\*\*, and Hiroshi SHINMOTO\*\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Japan National Agricultural Research Center for Tohoku Region, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*Tamagawa University, Faculty of Agriculture

Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 58 (9), 1259–1262 (2010)

Six New Acylated Anthocyanins from Red Radish (*Raphanus sativus*)

Satoru Tamura\*, Kouji Tsuji\*, Piao Yongzhen\*, Mayumi Ohnishi–Kameyama\*\* and Nobutoshi Murakami\*

\*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

\*\*National Food Research Institute

栽培した赤カブの根から6種の新規アシル化アントシアニンと3種の既知類縁体を単離した。それらの化学構造を分光学的手法により解明した。6種の新規アントシアニンのうち5種は、ペラルゴニジン骨格の5位に結合したグルコピラノシル基の6位水酸基がマロニル化されていた。

赤カブに含まれる6種の新規アシル化アントシアニン

田村 理\*, 辻 耕治\*, P. Yongzhen\*, 亀山真由美\*\*, 村上 啓寿\*

\*大阪大学大学院薬学研究科

\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Small, 6, 10, 1131–1139, (2010)

1, 18-ヌクレオチド双頭型資質による多様な自己集合体：核酸塩基と相補的オリゴヌクレオチドの影響

岩浦 里愛\*, 飯澤 智彦\*, 南川 博之\*\*, 亀山真由美\*, 清水 敏美\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\* (独) 産業技術総合研究所ナノチューブ応用研究センター

グアニル酸、アデニル酸、チミジル酸、シチジル酸を親水部とする双頭型ヌクレオチド脂質を合成し、それらの自己集合および相補的オリゴヌクレオチドとの二成分系自己集合体構造を調べた。その結果、自己集合体は核酸塩基の種類に依存してナノシート、ナノファイバー、ナノベシクルを形成した。二成分系自己集合では相補的核酸塩基対を形成することによりヘリカルナノファイバーやヘリカルナノロッドを形成した。以上のように、核酸塩基部位および相補鎖の有無に強く依存した多様な自己集合体形成が明らかとなった。

Diverse morphologies of self-assemblies from homoditopic 1,18-nucleotide-appended bolaamphiphiles:  
effects of nucleobases and complementary oligonucleotides

Rika IWAURA\*, Tomohiko IIZAWA\*, Mayumi Hiroyuki MINAMIKAWA\*\*, OHNISHI-KAMEYAMA\*, Toshimi SHIMIZU\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

日本食生活学会誌, 20 (4), 305–312 (2010)

タラヨウの当年葉および古葉中のカフェ酸誘導体含量の季節変動

翠川 美穂\*, 亀山真由美\*\*, 永田 忠博\*

\*聖徳大学大学院

\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

中国で苦丁茶として飲用されるタラヨウ (*Ilex latifolia* Thunb.) の葉に含まれる6種のカフェ酸誘導体含量と、それらの季節変動を調べた。当年葉 (新葉) と古葉を雌雄株から春または秋に採取し、凍結乾燥した試料を80%メタノールで抽出し HPLC で分析した。いずれの葉にもカフェインは含まれなかったが、カフェ酸とその誘導体6種が検出された。カフェ酸誘導体総量は、乾燥重量1gあたり、春に採取した当年葉では147~235mgと高かったのに対し、秋に採取した当年葉では36mg、古葉では春・秋ともに、それぞれ24~44mg, 31mgにとどまった。6種のカフェ酸誘導体のうち、4-O-カフェオイルキナ酸のみ、秋の当年葉の方が春の当年葉よりも3~6倍多かった。一方、雌雄株の古葉のカフェ酸誘導体含量に差異は認められなかった。春のタラヨウの新葉は抗酸化性を有するカフェ酸誘導体の供給源となり得ると考えられた。

Seasonal difference of caffeic acid derivative contents in current-year leaves  
and old leaves of *Ilex latifolia* Thunb.

Miho Midorikawa\*, Mayumi Ohnishi–Kameyama\*\*, Tadahiro Nagata\*

\*Seitoku University

\*\*National Food Research Institute

Analyst 136(3), 533–539 (2011)

## Sampling variability and uncertainty in total diet studies

Yoshiki Tsukakoshi

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization.

トータルダイエツトスタディーのサンプリング誤差や変動について、地域差、年周差などについて解析を行いその大きさについて解析を行った。

塚越 芳樹

農研機構食品総合研究所

Analytical Chemistry, 83, 719–726 (2011)

Evaluation of a Semipolar Solvent System as a Step toward Heteronuclear Multidimensional NMR-Based Metabolomics for  $^{13}\text{C}$ -Labeled Bacteria, Plants, and Animals

Yasuyo Sekiyama\*, \*\*, Eisuke Chikayama\* and Jun Kikuchi\*, \*\*\*, \*\*\*\*, \*\*\*\*\*

\*Metabolomics Research Division, RIKEN Plant Science Center

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Graduate School of Nanobiosciences, Yokohama City University

\*\*\*\*Biomass Engineering Research Program, RIKEN Research Cluster for Innovation

\*\*\*\*\*Graduate School of Bioagricultural Sciences and School of Agricultural Sciences, Nagoya University

多次元 NMR 法を用いた比較メタボローム解析に有効な抽出溶媒を検討するため、シグナル線幅のブロード化が顕著な光合成細菌、*Rhodobacter sphaeroides* IL106を用いて一連の重溶媒を検討した。二次元  $1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC スペクトルにおけるシグナル線幅を指標に15種類の溶媒について検討した結果、重メタノールや重アセトニトリルの様な極性有機溶媒において、顕著なシグナルの先鋭化が認められた。また、それぞれの溶媒における代謝物の溶解能を調べたところ、鋭い線幅を与える溶媒のうち、最も多い検出シグナル数を与える溶媒は MeOD であった。pH 変動によるケミカルシフト値のゆらぎを抑えるために、バッファーには誘電損失の少ない HEPES-d18を用い、最終的には使用する抽出溶媒を MeOD/HEPES-d18とした。 $^{13}\text{C}$  標識した植物（シロイヌナズナ、ポプラ）、微生物（大腸菌）、動物（マウス、カイコ）サンプルについても同様な検討し、MeOD/HEPES-d18抽出が比較メタボローム解析に有効であることを確認した。

## 多次元 NMR 法による比較メタボローム解析のための抽出溶媒の検討

関山 恭代\*, \*\*, 近山 英輔\*, 菊地 淳\*, \*\*\*, \*\*\*\*, \*\*\*\*\*

\* (独)理化学研究所植物科学研究センター

\*\* (独)農研機構食品総合研究所

\*\*\*横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科

\*\*\*\* (独)理化学研究所バイオマス研究プログラム

\*\*\*\*\*名古屋大学大学院生命農学研究科

Bulletin of the Seismological Society of America 100(2), 876–881 (2010)

Mapping the  $\{\eta\}$ -value and the test results on the hyper-Gutenberg-Richter relation for microseismicity around the Japanese Islands

Yoshiki Tsukakoshi

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization.

煎餅などの破壊の解析に役立てるため、地殻の破壊についてその大きさ-発生頻度の解析を行い、煎餅の場合とは異なり、べき乗則に乗っており、煎餅の場合は極端に堅い所がないところが好ましい食感であるということを示した。

塚越 芳樹

農研機構食品総合研究所

Applied Spectroscopy, 65(2), 221–226 (2011)

Far-ultraviolet spectra of n-alkanes and branched alkanes in the liquid phase observed  
by an attenuated total reflectance–far ultraviolet spectrometer

Shin Tachibana\*, Yusuke Morisawa\*, Akifumi Ikehata\*\*, Harumi Sato\*, Noboru Higashi\*\*\*, Yukihiro Ozaki\*

\*Kwansei Gakuin University  
\*\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*\*Kurabo Industries Ltd.,

新規に開発した減衰全反射遠紫外分光器を用いて液体状態の n アルカンと枝分かれアルカンの遠紫外スペクトルを得た。直鎖 (n) アルカンは 8.3eV を中心としたブロードなピークを持ち、さらに 7.7eV に弱いショルダーピークを持つことが分かった。前者は特に分子鎖長の伸長に従い、低エネルギーシフトと吸収強度の増加が認められた。8.3eV のピークはそれぞれ HOMO→3p, HOMO-1→3s の重畳、7.7eV のショルダーは枝分かれによって分子の対称性が崩れ、禁制の HOMO→3s 遷移が許容されたものによると帰属できた。

減衰全反射遠紫外分光器による n アルカンと枝分かれアルカンの液体状態遠紫外スペクトル観察

立花 慎\*, 森澤 勇介\*, 池羽田晶文\*\*, 佐藤 春実\*, 東 昇\*\*\*, 尾崎 幸洋\*

\*関西学院大学  
\*\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*\*倉敷紡績株式会社

Journal of Near Infrared Spectroscopy, 18(4), 271–280 (2010)

Applying near infrared spectroscopy to the detection of fruit fly eggs and larvae in intact fruit

Sirinnapa Saranwong\*, Waranee Thanapase\*\*, Nattaporn Suttijitpukdee\*\*,  
Ronnarit Rittiron\*\*\*, Sumaporn Kasemsumran\*\*, Sumio Kawano\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*KAPI, Kasetsart University  
\*\*\*Faculty of Engineering at Kamphaengsaen, Kasetsart University

外傷のない果実におけるミバエの卵、幼虫の検出への近赤外分光法の適用

シリナパ サランウォング\*, ワルニー タナパー\*\*, ナタポルン スティウイプディ\*\*,  
ロナリット リティロン\*\*\*, スマポルン カゼムサムラン\*\*, 河野 澄夫\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*カセサート大 KAPI  
\*\*\*カセサート大 カムペーンセン工学部

果実内部のミバエの卵、幼虫を非破壊的に検出するため、近赤外分光法の可能性について検討した。タイ産マンゴを使用し、ミバエ有り無しと無しの条件で比較した結果、まず波長域については短波長 (700–1100nm) が有効であることが分かった。PLS 回帰を用いた判別では産卵から 48 時間程度の定温放置と、その間の孵化が必要であることが明らかとなり、わずか 4.2% の誤差で幼虫 (卵) の有無を判別できることが示された。また判別に有効な波長は乾燥した幼虫のスペクトルに見られた特徴的な波長である 730nm と一致した。

Journal of Near Infrared Spectroscopy, 18(5), 291–300 (2010)

Factors affecting the accuracy of non-invasive blood glucose measurement by short-wavelength  
near infrared spectroscopy in the determination of the glycaemic index of foods

Yasuhiro Uwadaira\*\*, Norihiko Adachi\*, Akifumi Ikehata\*\*\*, Sumio Kawano\*,\*\*\*

\*University of Tsukuba  
\*\*WACCOR Co. Ltd.,  
\*\*\*National Food Research Institute, NARO

食品のグリセミック・インデックス測定を非侵襲で実現すべく、短波長 (700–1100 nm) の近赤外スペクトルを用いて血糖値を推定するためのモデルを PLS 回帰法を用いて作成した。本論文では特にその精度に及ぼす要素について検討した。結果として参照値用の採血とスペクトル測定を同時に行うことの重要性が明らかとなった。その結果、推定グルコースの標準誤差は 9.7mg/L となり、測定法として許容できるレベルが確保できた。

短波長近赤外分光法による食品のグリセミックインデックス決定における血糖値の非侵襲測定精度に及ぼす要素

上平 安紘\*\*\*, 足立 憲彦\*\*, 池羽田晶文\*\*\*, 河野 澄夫\*\*\*\*

\*筑波大学  
\*\*株式会社ワコード  
\*\*\* (独) 農研機構食品総合研究所

The Journal of Physical Chemistry A, 114(32), 8319–8322 (2010)

Effect of cations on absorption bands of first electronic transition of liquid water

Akifumi Ikehata\*,\*\*, Motoki Mitsuoka\*\*, Yusuke Morisawa\*\*, Naomi Kariyama\*\*\*, Noboru Higashi\*\*\*, Yukihiro Ozaki\*\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Kwansei Gakuin University

\*\*\*Kurabo Industries Ltd.,

水の第一電子遷移吸収帯への一価の陽イオン (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Rb, Cs<sup>+</sup>) について減衰全反射遠紫外分光装置を用いて調べた。硝酸塩 1 M 溶液を 25℃ の条件で測定したところ、水の第一電子遷移吸収帯が陽イオン半径の逆数に比例して増加することを見出した。この結果は水の第一電子遷移が溶媒と自由エネルギーによって規定されることを示唆する。

水の第一電子遷移吸収帯への陽イオンの影響

池羽田晶文\*\*\*, 光岡 基樹\*\*, 森澤 勇介\*\*, 菊山 直美\*\*\*, 東 昇\*\*\*, 尾崎 幸洋\*\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所

\*\* 関西学院大学

\*\*\* 倉敷紡績株式会社

Journal of AOAC International, 93, 2, 734–749, 2010

Tendency for interlaboratory precision in the GMO analysis method based on real-Time PCR

Takashi Kodama, Yasunori Kurosawa\*, Kazumi Kitta\*, Shigehiro Naito\*

Food and Agricultural Materials Inspection Center

\*National Food Research Institute

食品分析分野における化学分析法の性能基準として、室間再現精度の予測式である Horwitz 曲線がよく使われている。リアルタイム PCR を用いた生化学的定量法でも妥当性確認を飛躍的に普及させるには類似の性能基準が必要である。シンプレックスリアルタイム PCR 法を用いた 7 種類の遺伝子組み換え作物 (GMO) の室間共同試験 53 件について精度の傾向分析を行った。室間再現標準偏差 (sR) 及び併行標準偏差 (sr) の GMO 混入率による大きさの違いは、GMO の種類 (コーン, 大豆, 綿花, 菜種, ジャガイモ, テンサイ, 米) 及び精度の評価方法によってあまり変化しなかった。53 件の報告の一部は DNA 抽出及び PCR 測定の実工程の精度を評価し、残りの報告は DNA 抽出液を配付して PCR 測定のみを評価した。よって、sR 及び sr は Horwitz 曲線と同様に GMO 混入率だけの関数であり、それらの数式及び Horwitz 比と同様の GMO 定量法の性能指標を提案した。

リアルタイム PCR を用いた GMO 定量法の室間再現精度の傾向

児玉 貴志\*, 黒沢 康紀\*\*, 橘田 和美\*\*, 内藤 成弘\*\*

\* 農林水産消費安全技術センター

\*\* 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Report of National Food Research Institute, 75, 9–16 (2011)

Possibilities of salinity stress as a variation factor of sodium content in rice

Kumiko SHINDOH, Akemi YASUI

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

「日本食品標準成分表」に記載されている含有量と実際の分析値が異なる理由に関する問い合わせに答えを与える一つの情報となるよう、コメの Na 含量が高いケースに着目し、穂ばらみ期に塩ストレス処理を与えて水耕栽培したイネから収穫した玄米の Na 含量を無処理区と比較した。その結果、処理区の玄米の Na 含量の増加の割合は品種・系統によって差があり、無処理区の 1 倍から 234 倍となった。このことから、品種・系統によっては、イネが生育した環境条件で、「日本食品標準成分表」に記載の標準的な成分値に比較して Na 含量がかなり高いコメが生産されることが十分あり得ることが示された。

米粒中ナトリウム含量の変動要因としての生育期の塩ストレスの可能性

進藤久美子, 安井 明美

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Analytical Chemistry, 82(23) 9909–9916(2010)

A novel detection system for the genetically modified canola (*Brassica rapa*) line RT73

Hiroshi AKIYAMA\*, Daiki MAKIYAMA\*, Kosuke NAKAMURA\*, Nobuhiro SASAKI\*\*,  
Yasutaka MINEGISHI\*\*\*, Junichi MANO\*\*\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*\*  
Yoshihiro OZEKI\*\*\*\*\*, Reiko TESHIMA\*

\*National Institute of Health Sciences

\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*\*NIPPON GENE, Co., Ltd.

\*\*\*\*National Food Research Institute

ラウンドアップ耐性ナタネ (*Brassica napus*) RT73系統は飼料や食品としての使用について世界的に承認されている。しかし、RT73系統の種間交雑により生じた *B. rapa* RT73系統については日本において使用が認められていない。本論文では、ナタネ穀粒試料の粒単位定性試験に基づく *B. rapa* RT73系統の新たな検知システムについて報告する。まず、エンドポイント解析により *B. napus* と *B. rapa* を判別する二重リアルタイム PCR 法を開発した。また、RT73特異的配列及び内在性 *FatA* 遺伝子を同時検出する二重リアルタイム PCR 法についても開発を行った。加えて、96ウェルシリカメンブレンによる DNA 抽出法も開発した。開発した検知システムは、ナタネ試料中の *B. rapa* RT73種子の判定により、正確で信頼性の高いモニタリングを可能にした。

遺伝子組換えナタネ (*Brassica rapa*) RT73系統の新規検知システム

穂山 浩\*, 牧山 大樹\*, 中村 公亮\*, 佐々木伸大\*\*, 峯岸 恭孝\*\*\*, 真野 潤一\*\*\*\*,  
橋田 和美\*\*\*\*\*, 小関 良宏\*\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所

\*\*東京農工大学

\*\*\*株式会社ニッポンジーン

\*\*\*\*食品総合研究所

Applied Microbiology and Biotechnology, 89(6) 1929–1938(2011)

A novel L-isoleucine metabolism in *Bacillus thuringiensis* generating (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine, a potential insulinotropic and anti-obesity amino acid

Jun OGAWA\*\*\*\*, Tomohiro KODERA\*\*, Sergey V. SMIRNOV\*\*\*,  
Makoto HIBI\*\*\*\*, Natalia N. SAMSONOVA\*\*\*, Ryoukichi KOYAMA\*,  
Hiroyuki YAMANAKA\*, Junichi MANO\*, Takashi KAWASHIMA\*,  
Kenzo YOKOZEKI\*\*\*\*\*, Sakayu SHIMIZU\*

\*Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

\*\*Institute of Life Sciences, Ajinomoto Co., Inc.

\*\*\*Ajinomoto-Genetika Research Institute

\*\*\*\*Laboratory of Industrial Microbiology, Graduate School of Agriculture,  
Kyoto University

\*\*\*\*\*Aminoscience Laboratories, Ajinomoto Co., Inc.

フェヌグリーク種子中の 4-ヒドロキシイソロイシン (HIL) はインスリン分泌促進及び抗肥満の効果を有しており、インスリン非依存型糖尿病の新規経口医薬として期待されている。我々は新規に単離された *Bacillus thuringiensis* 2e2 株とその近縁の *B. thuringiensis* ATCC35646株が HIL と 2-アミノ-3-メチル-4-ケトペンタン酸 (AMKP) を介した新規 L-イソロイシン代謝経路を有することを明らかにした。当該 HIL 生産は  $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼにより立体選択的に触媒され、HIL 光学異性体 (2S, 3R, 4S) -HIL の効率的な生産に有用であった。本代謝経路は、バチルス属における不完全なトリカルボン酸回路を補う効果的なバイパスとして機能しており、ビタミン B12 の代謝拮抗物質である抗生物質 AMKP の生産機序を説明するものであった。一連の発見は HIL 及び AMKP の商業生産の道を開くものである。

インスリン分泌促進性の期待される抗肥満アミノ酸、(2S, 3R, 4S) - 4-ヒドロキシイソロイシンを生産する *Bacillus thuringiensis* の新規 L-イソロイシン代謝

小川 順\*\*\*\*, 小寺 智博\*\*, Sergey V. SMIRNOV\*\*\*, 日比 慎\*\*\*\*,  
Natalia N. AMSONOVA\*\*\*, 小山 亮吉\*, 山中 寛之\*, 真野 潤一\*,  
川島 隆\*, 横関 健三\*\*\*\*\*, 清水 昌\*

\*京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻

\*\*味の素ライフサイエンス研究所

\*\*\*味の素ジェネチカリサーチンステイチュート

\*\*\*\*京都大学大学院農学研究科産業微生物学

\*\*\*\*\*京都大学微生物科学寄附研究部門

\*\*\*\*\*味の素(株)アミノサイエンス事業部

Food Science and Technology Research, 16(5) 421–430(2010)

Evaluation of quantitative PCR methods for genetically modified maize  
(MON863, NK603, TC1507 and T25)

Reona TAKABATAKE\*, Satoshi FUTO\*\*, Yasutaka MINEGISHI\*\*\*,  
Masatoshi WATAI\*\*\*\*, Chihiro SAWADA\*\*\*\*\*, Kosuke NAKAMURA\*\*\*\*\*,  
Hiroshi AKIYAMA\*\*\*\*\*, Reiko TESHIMA\*\*\*\*\*, Satoshi FURUI\*,  
Akihiro HINO\*, Kazumi KITTA\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and  
Food Research Organization  
\*\*FASMAC Co., Ltd.  
\*\*\*NIPPON GENE, Co., Ltd.  
\*\*\*\*Japan Food Research Laboratories  
\*\*\*\*\*Japan Frozen Foods Inspection Corp.  
\*\*\*\*\*National Institute of Health Sciences

GM トウモロコシ新系統 MON863, NK603および TC1507に関して, リアルタイム PCR 定量分析法を開発した. MON863, NK603に関しては系統特異的領域, TC1507に関しては構造特異的領域を用いた. また, T25に関しても, 従来の標準分析法で用いている構造特異的領域は TC1507にも存在していることから, 新たに系統特異的定量分析法を開発した. 3種類のリアルタイム PCR 装置, ABI PRISM7700, 7900HT および7500を用いて, これら GM 系統の内標比を決定し, さらに, 疑似混入試料を用いたブライント試験によって本分析法の性能指標を明らかにした.

遺伝子組換え (GM) トウモロコシ新系統 MON863, NK603, TC1507および T25定量 PCR 法の開発および評価

高島令王奈\*, 布藤 聡\*\*, 峯岸 恭孝\*\*\*, 渡井 正俊\*\*\*\*, 澤田 千尋\*\*\*\*\*, 中村 公亮\*\*\*\*\*,  
亀山 浩\*\*\*\*\*, 手島 玲子\*\*\*\*\*, 古井 聡\*, 日野 明寛\*, 橘田 和美\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*株式会社ファスマック  
\*\*\*株式会社ニッポンジーン  
\*\*\*\*(財)日本食品分析センター  
\*\*\*\*\* (財)日本冷凍食品検査協会  
\*\*\*\*\* 国立医薬品食品衛生研究所

Food Science and Technology Research, 16(6) 599–606(2010)

Immunological characterization of polyclonal antisera prepared against  
recombinant rice RAG2 and its application in detection of  
14–16 kDa  $\alpha$ -amylase/trypsin inhibitors from processed foods

Gang-hua LANG\*, Mika OHBA\*, Shinichi KAWAMOTO\*  
Koichi YOZA\*, Tatsuya MORIYAMA\*\*, Kazumi KITTA\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Department of Applied Cell Biology, Graduate School of Agriculture, Kinki University

RAG 2 はコメ主要アレルゲンである14–16kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターのメンバーである. 組換え RAG 2 タンパク質を大腸菌で発現させ, ポリクローナル抗体 (血清) を作製した. ポリクローナル抗体は, 玄米, 赤米, 黒米の14–16kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターに特異的に結合し, 他の供試した穀物の塩溶性タンパク質との間で交差性は認められなかった. イムノプロットの結果, 14–16kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターは米胚乳全体に分布していることが認められ, その含量の評価を行った. さらに加工食品中の14–16 kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターを検出することが可能であった. 従って, 本ポリクローナル抗体は14–16 kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターの含量の比較, 或いは加工食品中の14–16kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビターの有無の評価に利用可能であることが示された.

組換え RAG 2 タンパク質に対するポリクローナル抗体の免疫学的特性評価と  
加工食品中の14–16kDa・ $\alpha$ -アミラーゼ/トリプシンインヒビター検出への応用

郎 剛 華\*, 大羽 美香\*, 川本 伸一\*, 與座 宏一\*, 森山 達哉\*\*, 橘田 和美\*

\*食品総合研究所  
\*\*近畿大学大学院農学研究科 応用細胞生物学研究室

Journal of AOAC International, 94(1) 224–231(2011)

Qualitative PCR method for Roundup Ready soybean: interlaboratory study

Takashi KODAMA\*, Masaki KASAHARA\*, Yasutaka MINEGISHI\*\*, Satoshi FUTO\*\*\*,  
Chihiro SAWADA\*\*\*\*, Masatoshi WATAI\*\*\*\*\*, Hiroshi AKIYAMA\*\*\*\*\*,  
Reiko TESHIMA\*\*\*\*\*, Yasunori KUROSAWA\*\*\*\*\*, Satoshi FURUI\*\*\*\*\*,  
Akihiro HINO\*\*\*\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*\*\*

\*Food and Agricultural Materials Inspection Center

\*\*NIPPON GENE, Co., Ltd.

\*\*\*FASMAC Co., Ltd.

\*\*\*\*Japan Frozen Foods Inspection Corp.

\*\*\*\*\*Japan Food Research Laboratories

\*\*\*\*\*National Institute of Health Sciences, Ministry of Health, Labor and Welfare

\*\*\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

わが国の GMO 定量検知法については、試験室間共同試験が既に実施されている。本研究においては、定量検知法において利用されているプライマー対を用いたラウンドアップレディサイズ (RRS) の定性検知法の試験室間共同試験を国内14機関の参加のもと実施した。0, 0.05, 0.10%の RRS を含むサイズ擬似混入試料 1 g から DNA を抽出し、内在性遺伝子 Le 1 および RRS に対するプライマー対を用いた PCR の後、ゲル電気泳動を行った。Le 1 の PCR 増幅産物は全ての試料において検出された。本法の感度、特異性、偽陰性、擬陽性の割合については RRS の検出結果より得られた。0.05 および 0.1% 試料の偽陰性率はそれぞれ 6.0 および 2.3% であり、本法の LOD は 0.1% 以下と見積もられた。本定性検知法は GM サイズの表示をモニタリングする上で実用的であることが示された。

ラウンドアップレディサイズ定性 PCR 検知法の試験室間共同試験

児玉 貴志\*, 笠原 正輝\*, 峯岸 恭孝\*\*, 布藤 聡\*\*\*, 澤田 千尋\*\*\*\*,  
渡井 正俊\*\*\*\*\*, 穂山 浩\*\*\*\*\*, 手島 玲子\*\*\*\*\*, 黒澤 康紀\*\*\*\*\*,  
古井 聡\*\*\*\*\*, 日野 明寛\*\*\*\*\*, 橋田 和美\*\*\*\*\*

\* (独) 農林水産消費安全技術センター

\*\*株式会社ニッポンジーン

\*\*\*株式会社ファスマック

\*\*\*\*(財)日本冷凍食品検査協会

\*\*\*\*\* (財)日本食品分析センター

\*\*\*\*\*厚生労働省 国立医薬品食品衛生研究所

\*\*\*\*\* (独) 農研機構 食品総合研究所

Journal of General Plant Pathology, 77(1) 33–42(2011)

Extracts from *Ralstonia Solanacearum* induce effective resistance to the pathogen in both *Arabidopsis* and solanaceous plants

Reona TAKABATAKE\*, Takafumi MUKAIHARA\*

\*Research Institute for Biological Sciences, Okayama

植物の基礎的抵抗性反応 (basal defense) は、病原体由来の PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) が植物細胞膜上の受容体によって認識され発動する防御応答で、誘導抵抗性の中では最初の防波堤になっていると考えられている。

我々は、青枯病菌懸濁液を煮沸後、遠心処理した上清に含まれる菌体成分 (boiled extract) により、植物に basal defense が誘導されることを見出した。boiled extract を前処理したシロイヌナズナ、ナス及びトマトでは、青枯病菌接種による病徴が著しく軽減され、植物内での病原菌の増殖も抑制されていた。この結果は、青枯病菌由来の boiled extract 中に含まれる PAMPs によって誘導された basal defense が、青枯病菌以外の細菌病にも有効であることを示唆している。

青枯病菌の菌体成分によるシロイヌナズナ及びナス科植物における基礎的抵抗性反応の誘導

高畠令王奈\*, 向原 隆文\*,

\*岡山県生物科学総合研究所

Analyses of the cis-regulatory regions responsible for the transcriptional activation  
of the N resistance gene by Tobacco mosaic virus

Michie KOBAYASHI\*, Nobuaki ISHIHAMA\*\*, Hirofumi YOSHIOKA\*\*,  
Reona TAKABATAKE\*\*\*, Shinya TSUDA\*\*\*\*, Shigemi SEO\*,  
Yuko OHASHI\*, Ichiro MITSUHARA\*

National Institute of Agrobiological Sciences

\*\*Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University,

\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*\*National Agricultural Research Center

N 遺伝子をもつタバコは、タバコモザイクウイルス(TMV)に対して、過敏反応による抵抗性を示す。N 遺伝子の転写は、TMV 感染によって誘導されることが既に報告されているが、そのメカニズムは明らかにされていなかった。我々は、N 遺伝子の5'側領域に、TMV 感染による転写誘導に関わるプロモーター活性を見出した。詳細なプロモーター解析を行ったところ、5'側上流の290–271bpの領域に、感染に反応するシス領域が存在することが明らかとなった。この転写活性化は、N タンパク質およびN 遺伝子シグナルに必要なものと考えられる。本結果から、N 遺伝子の転写活性化が、シグナルを正に制御しているという示唆が得られた。

タバコモザイクウイルス感染による N 遺伝子転写活性化に関わるシス応答領域の解析

小林光智衣\*, 石濱 伸明\*\*, 吉岡 博文\*\*, 高島令王奈\*\*\*, 津田 新哉\*\*\*\*,  
瀬尾 茂美\*, 大橋 祐子\*, 光原 一朗\*

\* (独)生物資源研究所植物

\*\*名古屋大学大学院生命農学研究科

\*\*\* (独)農研機構食品総合研究所

\*\*\*\* (独)農研機構中央農業総合研究センター

Development of multiplex PCR method for simultaneous detection  
of four events of genetically modified maize: DAS-59122-7, MIR604, MON863 and MON88017

Taichi OGUCHI\*, Mari ONISHI\*\*, Junichi MANO\*, Hiroshi AKIYAMA\*\*\*,  
Reiko TESHIMA\*\*\*, Satoshi FUTO\*\*, Satoshi FURUI\*, Kazumi KITTA\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*FASMAC Co., Ltd.

\*\*\*National Institute of Health Sciences

DAS-59122-7, MIR604, MON863, MON88017系統からなる遺伝子組換え (GM) トウモロコシ4系統同時検出のため、新規多重PCR法の開発を行った。GM及び非遺伝子組換え体由来のDNAを混合した溶液を用いて単一試験室で分析法の性能が評価され、当該多重PCR法の検出限界がMON863, MIR604, MON88017系統について0.16%, DAS-59122-7系統について0.078%であることが確認された。著者らは、以前にGMトウモロコシ8系統 (Bt11, Bt176, GA21, MON810, MON863, NK603, T25, TC1507系統) 同時検出のためのノナプレックス (9-plex) 反応を開発している。このノナプレックスPCR法と組み合わせることで、新たに開発した方法は11系統のトウモロコシの検出と同定を可能とした。

遺伝子組換えトウモロコシ DAS-59122-7, MIR604, MON863, MON88017系統同時検出を目的とした多重PCR法の開発

小口 太一\*, 大西 真理\*\*, 真野 潤一\*, 龍山 浩\*\*\*, 手島 玲子\*\*\*,  
布藤 聡\*\*, 古井 聡\*, 橋田 和美\*

\* (独)農研機構食品総合研究所

\*\*株式会社ファスマック

\*\*\*国立医薬品食品衛生研究所

Food Hygiene and Safety Science, 51(5) 242–246(2010)

Establishment and evaluation of event-specific quantitative PCR method for genetically modified soybean MON89788

Reona TAKABATAKE\*, Mari ONISHI\*\*, Tomohiro KOIWA\*\*\*,  
Satoshi FUTO\*\*, Yasutaka MINEGISHI\*\*\*\*, Hiroshi AKIYAMA\*\*\*\*\*,  
Reiko TESHIMA\*\*\*\*\*, Satoshi FURUI\*, Kazumi KITTA\*

\*National Food Research Institute,  
National Agriculture and Food Research Organization,  
\*\*FASMAC Co., Ltd.

\*\*\*Food and Agricultural Materials Inspection Center  
\*\*\*\*NIPPON GENE, Co., Ltd.

\*\*\*\*\*National Institute of Health Sciences

遺伝子組換え (GM) ダイズ新系統 MON89788 の系統特異的定量分析法を開発し、その性能指標を評価した。内標比とは、各 GM 系統に固有の値をとり、混入率算出の際に必要な係数であるが、本研究によって MON89788 の内標比が実験的に決定された。また、様々な濃度の MON89788 を含む DNA 溶液レベルでの疑似混入試料を調製し、単一試験室あるいは複数試験室において性能指標を明らかにしたところ、本分析法の定量下限値は 0.1% 以下と見積もられ、偏差、室間再現性ともに 20% を下回る良好な結果が得られた。以上の結果から、本分析法は検査に適用可能であることが示された。

GM ダイズ新系統 MON89788 の系統特異的定量検知法の開発および性能指標の評価

高島令王奈\*, 大西 真理\*\*, 小岩 智宏\*\*\*, 布藤 聡\*\*, 峯岸 恭孝\*\*\*\*,  
穂山 浩\*\*\*\*\*, 手島 玲子\*\*\*\*\*, 古井 聡\*, 橘田 和美\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*株式会社ファスマック

\*\*\* (独) 農林水産消費安全技術センター  
\*\*\*\*株式会社ニッポンジーン

\*\*\*\*\*国立医薬品食品衛生研究所

Food Hygiene and Safety Science, 51(2)65–70(2010)

Interlaboratory validation of an event-specific real time polymerase chain reaction detection method for genetically modified DAS59132 maize

Hiroshi AKIYAMA\*, Kozue SAKATA\*, Frank Spigelhalter\*\*, Satoshi FURUI\*\*\*,  
Akie NAKASHIMA\*\*\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*, Reiko TESHIMA\*

\*National Institute of Health Sciences  
\*\*Eurofins GeneScan, Inc.

\*\*\*National Food Research Institute

\*\*\*\*Hiroshima Prefectural Institute of Public Health and Environment

遺伝子組換えトウモロコシ DAS59132 (E32) に特異的なリアルタイム PCR 法を E32 の低濃度定性検知のために適応させた。本法は国内 8 機関による試験室間共同試験により妥当性確認がなされた。検出感度は E32 をそれぞれ 0, 0.05, 0.1% 含むトウモロコシ疑似混入試料を用いて評価した。加えて、0.01% の E32 DNA 溶液も用いた。DNA 溶液の検出限界は約 0.01% と見積もられた。本試験室間共同試験の結果から、本リアルタイム PCR 法は E32 トウモロコシの定性検知のための信頼できる手法であることが示された。

遺伝子組換えトウモロコシ DAS59132 系統特異リアルタイム PCR 法の試験室間共同試験による妥当性確認

穂山 浩\*, 坂田こずえ\*, Frank Spigelhalter\*\*, 古井 聡\*\*\*,  
中島安基江\*\*\*\*, 橘田 和美\*\*\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所  
\*\*Eurofins GeneScan, Inc.

\*\*\*食品総合研究所  
\*\*\*\*広島県保健環境センター

食品衛生学雑誌, 51(5), 247-252 (2010)

コンニャク製粉含有コメ粉からのコメDNA抽出精製法の検討

峰松 和彦\*, 中村 公亮\*\*, 穂山 浩\*\*, 張替 直樹\*\*\*, 中島 治\*\*, 橋田 和美\*\*\*\*, 手島 玲子\*\*, 飯塚 太由\*

\*財団法人食品環境検査協会  
\*\*国立医薬品食品衛生研究所  
\*\*\*武庫川女子大学薬理学研究室  
\*\*\*\*食品総合研究所

コンニャク製粉を含有する米粉がコメ加工品として中国から輸入されている。コンニャク多糖成分はDNA抽出用緩衝液を吸収しゲルを形成するため、抽出過程において問題視されることがあったため、コンニャク製粉を含有するコメ粉のPCR分析のためにDNA抽出法の改良が求められる。本研究において、コンニャク製粉含有コメ粉から簡便にコメDNAを抽出する前処理法の開発を行った。抽出DNAはPCR及びリアルタイムPCRに適した鋳型となることが示された。

Extraction and purification method of rice DNA from rice powder containing konjak flour

Kazuhiko MINENMATSU\*, Kosuke NAKAMURA\*\*, Hiroshi AKIYAMA\*\*, Naoki HARIKAI\*\*\*, Osamu NAKAJIMA\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*\*, Reiko TESHIMA\*\*, Tayoshi IIZUKA\*

\*Japan Inspection Association of Food and Food Industry Environment  
\*\*National Institute of Health Sciences  
\*\*\*School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University  
\*\*\*\* National Food Research Institute

Japanese Journal of Food Chemistry and Safety, 17(2) 110-115(2010)

A novel chromogenic method for determining the genetically modified soybean content in soybean powder with primer extension

Naoki HARIKAI\*, Hiroshi AKIYAMA\*\*, Kazunari KONDO\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*, Reiko TESHIMA\*\*, Yuzo YOSHIDA\*

\*School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University  
\*\*National Institute of Health Sciences  
\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

ラウンドアップレディーダイズ (RRS) の混入率を測定するための新規手法を開発した。本法においては、GM大豆 (ラウンドアップレディー大豆 (RRS)) の特異的DNA配列に対して、それに対応するオリゴを固定したプレート上で、DNAポリメラーゼにて伸長反応を行った。その際、プライマー伸長反応産物はビオチンでラベル化され、そのビオチンをアビジン-ビオチン複合体とアルカリフォスファターゼで発色させた。本法により、109コピーのRRS特異的DNA断片を検出でき、1012コピーまでコピー数の対数と発色の濃さの間に高い相関が認められた。RRS特異的配列の増幅に至適化したPCRの条件下で、本法により0.1から5.0%の間でダイズ粉砕物中のRRSの混入率を検出できることが示された。

プライマー伸張反応を使用した遺伝子組換え大豆の新規発色定量法

張替 直樹\*, 穂山 浩\*\*, 近藤 一成\*\*, 橋田 和美\*\*\*, 手島 玲子\*\*, 吉田 雄三\*

\*武庫川女子大学薬学部薬理学研究室  
\*\*国立医薬品食品衛生研究所  
\*\*\* (独) 農研機構食品総合研究所

Japanese Journal of Food Chemistry and Safety, 17(2) 123-129(2010)

Evaluation of tomato DNA fragmentation and PCR amplicon size for detection of tomato DNA in processed products

Kosuke NAKAMURA\*, Chihiro YAMADA\*\*\*, Hiroshi AKIYAMA\*, Reona TAKABATAKE\*\*\*, Mamiko KITAGAWA\*\*\*\*, Kazumi KITTA\*\*\*, Hiroshi KAWAKAMI\*\*, Reiko TESHIMA\*

\*National Institute of Health Sciences  
\*\*Department of Food Science & Nutrition, Kyoritsu Women's University  
\*\*\*National Food Research Institute  
\*\*\*\*Research Institute, Kagome Co., Ltd.

様々なトマト含有加工食品において、異なる長さの増幅産物が生じるように設計したPCR法により、トマトDNAの断片化の程度を調査した。通常のPCR法では、ベーストのような低加工度のものでは、284bpのPCR産物が検出されたが、ケチャップやソース、ジュースといった高加工度の食品では、92bpのPCR産物のみが増幅可能であった。また、DNAプローブを用いるリアルタイムPCR法では、92bpの標的領域は、調べた限りの全てのトマト加工品において検出可能であることが明らかとなった。したがって、今後、トマト加工品において、遺伝子組換えのトマトの混入を検出する際には、90bp程度の標的領域を設計することが重要であると考えられる。

トマト含有加工食品のトマトDNAの断片化及びトマトDNA検出用PCR断片長の評価

中村 公亮\*, 山田 千尋\*, \*\*, 穂山 浩\*\*, 高島令王奈\*\*\*, 北川麻美子\*\*\*\*, 橋田 和美\*\*\*, 川上 浩\*\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所  
\*\*共立女子大学大学院  
\*\*\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*\*\*カゴメ株式会社総合研究所

Chemistry and Physics of Lipids 163 (2010) 741–745

cis–trans Isomerization of carbon double bonds in monounsaturated triacylglycerols via generation of free radicals

Wakako Tsuzuki

National Food Research Institute

トリアシルグリセロールのモノエンの二重結合の加熱によるシス→トランス異性化機構について調べた。トリオレインを180℃程度に加熱すると加熱時間に応じて、微量のトランス脂肪酸が生成するが、窒素気流下での加熱や、トリオレインに抗酸化剤を添加することにより、加熱によるトランス異性化は抑制された。この現象から、二重結合の熱酸化過程で生じる中間生成物が、熱誘導性のシス→トランス異性化に寄与している可能性が示唆された。単価脂肪酸の二重結合の異性化反応のアレニウスプロットから、異性化のための回転障壁エネルギーを算出したところ、ブタンの二重結合がラジカル化したときの回転障壁エネルギーと同等の値になることがわかった。このため、トリオレインの二重結合の熱酸化過程で生じるラジカル中間体が、加熱中に生じるトランス異性化の原因物質であることが示唆された。

フリーラジカル形成を経由したトリアシルグリセロールのモノエンの二重結合のシス→トランス異性化

都築和香子

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Food Chemistry 123 (2010) 976–982

Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process

Wakako Tsuzuki, Akiko Matsuoka, Kaori Ushida

National Food Research Institute

食用油脂からの正確なトランス脂肪酸摂取量を調べるためには、調理や加熱によって生成するトランス脂肪酸量を考慮しなければならぬ。揚げ油（キャノーラ油）の10%に相当する量（w/w）のジャガイモを10回揚げ、揚げ油やフライドポテトに含まれるトランス脂肪酸量をガスクロマトグラフィー法で調べた。揚げ油のトランス脂肪酸量は、加熱時間に10回目のフライドポテト100gに含まれるトランス脂肪酸量は、1回目のものと比較しても、0.01g以下の量しか増加しておらず、フライ調理中に生成するトランス脂肪酸量は、トランス脂肪酸摂取に大きな影響を与えないことがわかった。また、市販のキャノーラ油以外にも、市販されている調合油、ダイズ油、コーン油等のトランス脂肪酸含量を測定した。これらの油脂を160℃、180℃、200℃で4時間まで加熱したときのトランス脂肪酸生成量を追跡したところ、食用油脂の種類によって多少の差異はあったが、トランス脂肪酸の加熱による増加量はいずれも小さかった。

フライ調理や加熱による食用油脂のトランス脂肪酸生成

都築和香子, 松岡安希子, 牛田かおり

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

日本食品科学工学会誌, 58(1), 26–29 (2011)

DNA マーカーによる糯米検出法

岸根 雅宏, 奥西 智哉

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

糯米の簡易検出法を開発したので報告する。我々はまず、既に報告されている糯米の2つのモチ性変異に由来するDNAマーカーを開発し、その2つのマーカーいずれかによって、糯米の主要48品種（流通量の99.6%）がすべて検出可能であることを示した。また、開発したDNAマーカーの特異性と感度を検証するため、粳米に糯米を人為的に混入したサンプルを用いて分析を行った結果、どちらのDNAマーカーも糯米に特異的であり、また少なくとも0.5%以上の糯米の混入であれば検出可能であることが明らかとなった。

Detection of Japanese Glutinous Rice Cultivars by DNA Markers for Identifying wx Mutations

Masahiro Kishine, Tomoya Okunishi

National Food Research Institute

日本食品科学工学会誌, 58(2), 55-61 (2011)

米粉パンの加工適性評価と宮崎県産米粉間の比較

高橋 克嘉, 奥西 智哉\*, 鈴木啓太郎\*, 柚木崎千鶴子

宮崎県食品開発センター

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

米粉とグルテンを85:15で配合する米粉パンを作成し加水, ファリノグラフ強度及びパン比容積の比較を行った。ファリノグラフの最大強度が300 BUとなる加水付近において比容積が最大となる傾向が見られた。

宮崎県産米4品種の米粉の特性と製パン特性を測定した。大型製粉機にて製粉した米粉の場合, ミズホチカラ, 南海141号の比容積は4.0近く, ヒノヒカリと比べ0.2ほど良好であった。小型製粉機で製粉した米粉もミズホチカラ, 南海141号が良好であった。ただ, 大型製粉機で製粉した米粉より比容積が0.3ほど低かった。官能試験の結果, 差はわずかであったが, すだちはミズホチカラが, 味はタカナリが良好であった。

Processing Suitability Evaluation Method of Rice Bread and Evaluation of Rice Flour Produced in Miyazaki

Katsuyoshi Takahashi, Tomoya Okunishi\*, Keitaro Suzuki\* and Chizuko Yukizaki

Miyazaki Prefectural Food R&D Center

\*National Food Research Institute

Applied Microbiology and Biotechnology, 87, 6, 2059-2066 (2010)

Cellulase production on glucose-based media by the UV-irradiated mutants of *Trichoderma reesei*

Masakazu Ike, Jeung-yil Park, Mine Tabuse, Ken Tokuyasu

Carbohydrate Laboratory, Food Resource Division, National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

セルラーゼ高生産株 *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) ATCC66589を親株とした22,791の変異株から, グルコースを唯一の炭素源とする培地においてセルラーゼを生産する2つの変異株 (M2-1及びM3-1)を取得した。これらの変異株は, セルロースを炭素源として培養した際, 親株と比較して1-2割高い濾紙分解活性 (FPA)を生産した。また, グルコース・セロビオース混合液を連続的に添加しつつセルラーゼ生産を行ったところ, 変異株は214及び210U/g-炭素源のFPA生産効率を示し, 親株 (140U/g-炭素源)の約1.5倍であった。変異株の示した高いセルラーゼ生産効率は, グルコースを含む可溶性炭素源からの効率的セルラーゼ生産を可能にする。

UV照射によって得られた *Trichoderma reesei* 変異株を用いた, グルコースを含む培地でのセルラーゼ生産

池 正和, 朴 正一, 田伏 美峰, 徳安 健

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Biomass and Bioenergy 34, 1336-1341, 2010

Alkali-aided enzymatic viscosity reduction of sugar beet mash for novel bioethanol production process

Sathaporn Srichuwong\*, Mitsuhiro Arakane\*, Maki Fujiwara\*, Zilian Zhang\*, Hiroyuki Takahashi\*\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

\*\*National Agricultural Research Center for the Hokkaido Region, NARO

テンサイ磨砕物 (SBM) からのエタノール製造では, 現行工程における原料からのショ糖の分散・精製や水蒸発工程を省くことによりエネルギー投入量を減らせるものと期待される。細胞壁分解酵素の作用により磨砕物の粘性低下が起こり, エタノールへの発酵工程が効率化すると期待されるが, SBMでは, バレイショ磨砕物と比較して数倍もの多量の酵素投入が必要となった。そこで, 本研究では, 希アルカリ処理 (0.025~0.15 N NaOH, 25℃, 1時間)による酵素粘性低下の促進効果について評価を行った。NaOH濃度を増すことによりSBMの脱メチル化と脱アセチル化が進行し, 酵素処理による粘性低下が効率化し, 0.1Nでの処理により効果的に粘性低下した。その一方で, アルカリ処理を行わないSBMでは, 20倍量の酵素を用いても粘性低下に抵抗性を示した。アルカリ処理を行うことにより, 12-13% (w/v)のショ糖を含むSBMから7-8% (v/v)のエタノールを24時間の発酵で生産し, 効率的なアルコール製造を行うことができた。

テンサイ磨砕物のアルカリ作用後の酵素粘性低下による新規バイオエタノール生産プロセス

Sathaporn Srichuwong\*, 荒金 光弘\*, 藤原 真紀\*, 張 子 蓮\*, 高橋 宙之\*\*, 徳安 健\*

\*農研機構食品総合研究所

\*\*農研機構 北海道農業研究センター

Bioresour. Technol., 101, 6805–6811, 2010

A novel lime pretreatment for subsequent bioethanol production  
from rice straw–calcium capturing by carbonation (CaCCO) process

Jeung-yil Park\*, Riki Shiroma\*, Muhammad Imran Al-Haq\*, Ying Zhang\*, Masakazu Ike\*,  
Yumiko Arai-Sanoh\*\*, Atsuhiko Ida\*\*, Motohiko Kondo\*\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

\*\*National Institute for Crop Science, NARO

稲わらから効率的なバイオエタノール製造システムを構築するため、固液分離を伴わない新前処理 (CaCCO) 法を開発した。本工程では、水酸化カルシウム処理後の中和を炭酸ガス吹き付けにより行い、pH 6 程度まで低下させ、生成 CaCO<sub>3</sub> を容器内に閉じこめる。本工程では、酵素糖化や発酵への深刻な影響は観察されなかった。CaCCO 法では、溶解するキシラン、澱粉やシヨ糖のような糖質は容器内に留まり、単糖回収率向上を可能とした。前処理稲わらを原料として *Saccharomyces cerevisiae* 及び *Pichia stipitis* を用いて並行複発酵 (基質10%, g-稲わら/g-水) を行い、19.1g/Lのエタノールを得た。この値は、原料中からのグルコース及びキシロースの量からのエタノールの理論収率に対して74%の値となった。このように、本法は、原料中のセルロースのみならず、キシラン、澱粉やシヨ糖を有効利用するための新規な前処理法となる。

稲わらからのバイオエタノール生産のための炭酸ガスによるカルシウム捕捉 (CaCCO) 法前処理

朴 正一\*, 城間 力\*, Muhammad Imran Al-Haq\*, 張 エイ\*, 池 正和\*,  
荒井 (三王) 裕見子\*\*, 井田 隆\*\*, 近藤 始彦\*\*, 徳安 健\*

\*農研機構 食品総合研究所

\*\*農研機構 作物研究所

Bioresour. Technol., 101, 9734–9741, 2010

Bioconversion of L-arabinose and other carbohydrates from plant cell walls to alpha-glucan by a soil bacterium, *Sporosarcina* sp. N52

Zilian Zhang\*, Sathaporn Srichuwong\*, Tooru, Kobayashi\*\*, Mitsuhiro Arakane\*, Jeung-yil Park\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, NARO

土壌から分離したグラム陽性菌 N52 は、L-アラビノースから菌体内グルカンを生産し、tRNA ゲノム配列と生理学的/生物学的性質から *Sporosarcina* 属菌と同定された。N52 株の好気培養時には対数増殖期にグルカン生産が増加し、定常期には生産量が一定値となって菌体乾燥重量の37.0%の量を蓄積した。細胞壁由来の他の糖でもグルカン合成が観察され、グルカンは  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合と  $\alpha$ -1,6-グルコシド結合から構成されることを確認した。蒸留廃液を N52 により72時間処理した結果、総有機性炭素量 (TOC)、化学的酸素要求量及び生物学的炭素要求量はそれぞれ42.6%、45.0%及び82.5%減少した。可溶性画分の TOC の16.0%に相当する量のグルカンとして固定し、菌体乾燥重量の31.9%を蓄積した。このように、本菌により、有機物を有価物である  $\alpha$ -グルカンに変換する工程を含む、新たな廃液処理技術が提供される。

土壌細菌 *Sporosarcina* 属 N52 株による植物細胞壁由来の L-アラビノース等の糖質の  $\alpha$ -グルカンへの生物変換

張 子 蓮\*, Sathaporn Srichuwong\*, 小林 透\*\*, 荒金 光弘\*, 朴 正一\*, 徳安 健\*

\*農研機構 食品総合研究所

\*\*農研機構 九州沖縄農業研究センター

Bioresour. Technol., 102, 2943–2949, 2011

RT-CaCCO process: An improved CaCCO process for rice straw by its incorporation  
with a step of lime pretreatment at room temperature

Riki Shiroma\*, Jeung-yil Park\*, Muhammad Imran AL-HAQ\*, Mitsuhiro Arakane, Masakazu Ike\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

我々は常温 Ca(OH)<sub>2</sub> 前処理による稲わらのための CaCCO プロセスの改良を行った。先に、リグノセルロース部の常温 Ca(OH)<sub>2</sub> 前処理条件について検討した。Ca(OH)<sub>2</sub>/バイオマス (乾燥) が0.2% (w/w)、常温、7日間静置処理した際の酵素糖化後の糖回収率が120°C、1時間の加熱 Ca(OH)<sub>2</sub> 前処理と同等の値となった。一部の稲わらに含まれるシュクロース、澱粉、 $\beta$ -1,3-1,4-グルカンはモデル物質を用いた常温 Ca(OH)<sub>2</sub> 前処理でほとんど残存する事が明らかとなった。実際にシュクロース、澱粉、 $\beta$ -1,3-1,4-グルカンを含む稲わらを用いて加熱 (120°C、1時間) CaCCO プロセスと常温 (室温、7日間) CaCCO プロセス (RT-CaCCO) による酵素糖化後の糖回収率を比較した結果、後者の糖回収率が高い値を示した。RT-CaCCO プロセスは常温で潤滑状態のバイオマス原料を糖質のロスを最低限に抑える保存法であると同時に酵素糖化のための前処理も行えるプロセスであり、稲わらの貯蔵・前処理コストの問題に対するブレイクスルーとしての可能性を有するものと期待される。

RT-CaCCO プロセス: 常温 Ca(OH)<sub>2</sub> 前処理による稲わらのための CaCCO プロセスの改良

城間 力\*, 朴 正一\*, Muhammad Imran AL-HAQ\*, 荒金 光弘\*, 池 正和\*, 徳安 健\*

\*農研機構 食品総合研究所

## An improved CARV process for bioethanol production from a mixture of sugar beet mash and potato mash.

Min-Soo Yun\*, Jeung-yil Park\*, Mitsuhiro Arakane\*, Riki Shiroma\*,  
Masakazu Ike\*, Seiji Tamiya\*\*, Hiroyuki Takahashi\*\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

\*\*National Agricultural Research Center for the Hokkaido Region, NARO

バイオエタノール原料としてのテンサイは、搾汁液の糖濃度が15% (w/w) 前後で雑菌汚染されやすいため、シックジュース製造工程の導入により熱濃縮を行うことが一般的である。本研究では、熱エネルギー消費を伴うシックジュース製造工程を省きつつ、テンサイからの効率的なバイオエタノール製造を実現するため、テンサイと澱粉性原料であるパレイショとの混合利用の可能性について検討した。テンサイ根部とパレイショ塊茎の磨砕物を重量比1:1の比率で混合した原料(糖濃度23.7% (w/w))を調製し、磨砕混合物を酵素処理に供することにより、pH上昇・低下処理を省いた粘性低下することができた。また、粘性低下試料の澱粉液化・加熱殺菌の後、並行複発酵を行った結果、14.2% (v/v) のエタノールが生産された(理論収率の92.4%)。本技術によれば、北海道での安定的生産が可能な二種類の作物を利用し、シックジュース製造工程を省きつつ、雑菌汚染リスクを低減した高濃度エタノール製造が可能となると期待される。

## テンサイとパレイショの磨砕混合物からのバイオエタノール生産

尹 旻 洙\*, 朴 正一\*, 荒金 光弘\*, 城間 力\*, 池 正和\*, 田宮 誠司\*\*, 高橋 宙之\*\*, 徳安 健\*

\*農研機構 食品総合研究所  
\*\*農研機構 北海道農業研究センター

## Characterization of starch granules in rice culms for application of rice straw as a feedstock for saccharification

Junko Matsuki\*, Jeung-yil Park\*, Riki Shiroma\*, Yumiko Arai-Sanoh\*\*,  
Masashi Ida\*\*, Motohiko Kondo\*\*, Kota Motobayashi\*\*\*, Ken Tokuyasu\*

\*National Food Research Center, NARO

\*\*National Institute of Crop Science, NARO

\*\*\*National Agricultural Research Center Hokuriku Research Center, NARO

稲わらは、多いもので稈部重量の50%に達する易分解性糖質を蓄積することが知られており、バイオマス原料として極めて高い潜在性を有している。しかしながら、その主成分である澱粉の構造特性については殆ど知られていない。そこで、完熟イネ三品種[コシヒカリ(KH)、リーフスター(LS)、夢あおば(YA)]の稈部から澱粉を単離し、構造特性および糊化特性を調べたので報告する。稈部澱粉はいずれも単粒~数個からなる複粒で構成され、大きさは2~20 $\mu$ mで、結晶性を有していた。見かけのアミロース含量はYAが25%、LSとKHが30%程度、ConA法によるアミロース含量はYAが20%、LSとKHが25%程度で、いずれの品種でもヨウ素と高い親和性を示した。アミロペクチンの側鎖長分布を解析した結果、YAはLS、KHと比較するとDP6-12が多く、DP13-24が少なかった。DSC糊化特性では、YAの糊化温度、糊化エンタルピーともLS、KHよりも低く、アミロペクチンの構造の違いを反映していると考えられた。本結果により、稲わら澱粉の効率的糖化技術の開発や茎葉澱粉構造に着目した稲わら原料特性の改良に繋がるものと期待される。

## 稲わらバイオマス中の澱粉の構造特性及び変換特性の解析

松木 順子\*, 朴 正一\*, 城間 力\*, 荒井(三王)裕美子\*\*, 井田 仁\*\*, 近藤 始彦\*\*, 元林 浩太\*\*, 徳安 健\*

\*農研機構 食品総合研究所  
\*\*農研機構 作物研究所  
\*\*\*農研機構 中央農研北陸研究センター

## ミキサーの消費電力測定による米粉パン生地のみキシング特性の解析

與座 宏一, 松木 順子, 岡留 博司, 徳安 健

(独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

混捏過程におけるピンミキサーの消費電力の値により米粉と小麦粉の混合生地の特性を評価した。茨城県産のコシヒカリを原料米として米粉を委託製粉した。米粉試料は湿式気流式(2試料)、乾式気流式、ピンミル、ロールミルの5種類である。小麦粉は市販のミリオンを使用した。米粉と小麦粉の比率は3対7であり、合計で200gとした。加水量は60~80%である10分間ピンミキサーで混合した際の消費電力の様子をモニターした。加水の増加によりピークの消費電力が低下した。米粉の平均粒子径と損傷デンプン含量の違いによりピーク時間が変動した。

## Evaluation of mixing properties of dough from wheat flour blended with rice flour by recording dough mixer

Koh-ichi Yoza, Junko Matsuki, Hiroshi Okadome and Ken Tokuyasu

National Food Research Institute

Biological & Pharmaceutical Bulletin, 33(8), 1418–1425 (2010)

Immunoproteomic and two-dimensional difference gel electrophoresis analysis of Arabidopsis dehydration response element-binding protein 1A (DREB1A)-transgenic potato

Rika Nakamura\*, Rie Satoh\*, Ryosuke Nakamura\*, Takayoshi Shimazaki\*\*, Mie Kasuga\*\*\*, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki\*\*\*, Akira Kikuchi\*\*, Kazuo N. Watanabe\*\*, Reiko Teshima\*

\*Division of Novel Foods and Immunochemistry, National Institute of Health Sciences

\*\*Gene Research Center, Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

\*\*\*Biological Resources Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS)

本研究では、プロテオミクス手法及び蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析を用い、シロイヌナズナ DREB 1 A を導入した組換えジャガイモのアレルゲン性評価を行った。ジャガイモアレルギー患者血清を用いたイムノプロットの結果、いくつかの IgE 結合タンパク質が検出された。そのスポットのパターンは組換えジャガイモと非組換えジャガイモの間でほとんど同じであった。ジャガイモ中の IgE 結合タンパク質は、パタチン、セリンプロテアーゼインヒビター 2、プロテイナーゼインヒビター 2 と同定された。蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析により、組換えジャガイモにおいて発現量の増加していたスポットはパタチンであることがわかった。環境変化によるタンパク質の発現量の変化を解析することにより、今回検出された発現量の増加が遺伝子導入によるものなのか環境要因によるものなのかを確認できると考える。

プロテオミクス手法及び蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析を用いたシロイヌナズナ DREB 1 A 組換えジャガイモのアレルゲン性試験

中村 里香\*, 佐藤 里絵\*, 中村 亮介\*, 島崎 高嘉\*\*, 春日 美江\*\*\*,  
篠崎 和子\*\*\*, 菊池 彰\*\*, 渡邊 和男\*\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部

\*筑波大大学院生命環境科学研究科

\*\*\*国際農林水産業研究センター生物資源部

International Archives of Allergy and Immunology, 153,133–140(2010)

Identification of an IgE-Binding Epitope of a Major Buckwheat Allergen, BWp16, by SPOTs Assay and Mimotope Screening

Rie Satoh\*, Satoru Koyano\*, Kayoko Takagi\*, Rika Nakamura\*, Reiko Teshima\*

\*Division of Novel Foods and Immunochemistry, National Institute of Health Sciences

本研究ではソバ主要アレルゲン BWp16 の IgE エピトープの解析を行った。BWp16 の overlapping ペプチドを合成した SPOTs 膜とソバアレルギー患者血清との反応性を検討したところ、EGVRDLKELPSK が IgE エピトープ候補として単離された。BWp16 のミモトープスクリーニングの結果、EGVRDLKE と相同な配列が IgE エピトープの候補配列として単離された。IgE エピトープ候補配列を Ala 残基に置換した変異体と、マウス抗 BWp16 抗体を用いた ELISA、及び患者血清を用いた ELISA 阻害試験の結果、IgE 結合活性の減少は Glu99 または Asp103 を Ala 残基に置換した際に特に大きかった。ELISA 阻害試験の結果、Asp103 の Ala 残基置換変異体で IgE 結合阻害活性が低下した。EGVRDLKE が BWp16 のエピトープの 1 つで、Asp103 が IgE 結合に重要であることが示された。

ソバ主要アレルゲン BWp16 の IgE エピトープの同定

佐藤 里絵\*, 児矢野 聡\*, 高木加代子\*, 中村 里香\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 7949–7954(2010)

Improvements in the bread-making quality of gluten-free rice batter by glutathione

Hiroyuki Yano

National Food Research Institute

セリアック病や小麦アレルギーの患者数は多く、グルテンフリー食品の需要が高まっている。米蛋白質は小麦グルテンが示すような粘弾性をもたないため、酵母発酵を利用したパンなどの膨化食品にはあまり利用されていない。本研究では米粉生地にグルタチオンを添加すると発酵ガスの保持力が高まることがわかった。分子間ジスルフィド結合によって高分子化した蛋白質ポリマーが米粉生地中の澱粉粒を取り囲み、これが澱粉の吸水を抑えることが予想されていた（バリア説）が、グルタチオンはこのバリア形成を阻害することを示す実験結果が得られた。また、グルタチオンの添加により糊化温度が低下すること、パンの微細構造は小麦粉パンのように多孔であるが表面は澱粉粒の形態がはっきりと見られないことなどが明らかになった。こうした実験結果により、グルタチオンは米粉生地の吸水を促進し生地の粘性を高めることでパンが膨らむと示唆された。

グルタチオンによるグルテンフリー米粉パン生地の製パン性向上

矢野 裕之

(独)農研機構・食品総合研究所

Regulatory Toxicology and Pharmacology, 59, 3, 437–444 (2011)

Proteomic analysis of known and candidate rice allergens between non-transgenic and transgenic plants

Rie Satoh\*,\*\*\*, Rika Nakamura\*, Akira Komatsu\*\*, Masahiro Oshima\*\*, Reiko Teshima\*

\*Division of Novel Foods and Immunochemistry, National Institute of Health Sciences

\*\*Rice Biotechnology Research Team, National Institute of Crop Science,  
National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*Protein Laboratory, Food Resource Division, National Food Research Institute,  
National Agriculture and Food Research Organization

非組換え及び組換え米における既知アレルゲン及びアレルゲン候補タンパク質を、プロテオミクス手法を用いて検出した。アレルギー患者血清を用いた一次元ウエスタンブロットの結果、非組換え米においてのみ検出されるようなIgE結合タンパク質はほとんどなかった。非組換え及び組換え米における既知アレルゲンRAG 2及びglyoxalase Iの質的量的違いはほとんどみられなかった。二次元ウエスタンブロットの結果、既知アレルゲン及びアレルゲン候補タンパク質を含む複数のスポットが検出された。52kDa及び63kDaのグロブリン様タンパク質が新規アレルゲン候補タンパク質として同定された。それぞれの特異的抗体を用いた解析の結果、これらのタンパク質の量的変化は見られなかった。これらの結果により、今回用いた組換え米においては、遺伝子組換え操作により変化する内在性既知及び新規IgE結合タンパク質は見られなかった。

プロテオミクス手法を用いた遺伝子組換え及び非組換え米における既知及び新規アレルゲンの解析

佐藤 里絵\*\*\*, 中村 里香\*, 小松 晃\*\*, 大島 正弘\*\*, 手島 玲子\*

\*国立医薬品食品衛生研究所

\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所

\*\*\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Regulatory Toxicology and Pharmacology, 58, 3, S30–S35 (2010)

2D-DIGE analysis of rice proteins from different cultivars

Reiko Teshima\*, Rika Nakamura\*, Rie Satoh\*, Ryosuke Nakamura\*

\*National Institute of Health Sciences

蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析を用いて10品種の米のプロテオミクス解析を行った。米より塩可溶性画分を抽出し、Cy 3またはCy 5で標識し、二次元電気泳動を行った。およそ700スポットが検出された。これらのスポットについて、日本晴とその他の品種との間の発現量の比較を行った。蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析は異なる品種における差異を検出し、アレルゲンタンパク質の発現量を比較するのに有効な手段であることが分かった。

異なる品種を用いた米タンパク質の蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析

手島 玲子\*, 中村 里香\*, 佐藤 里絵\*, 中村 亮介\*

\*国立医薬品食品衛生研究所

食品総合研究所研究報告, 75, 1 – 8 (2010)

米澱粉の糊化における蛋白質の溶解性変化に関する解析

矢野 裕之\*, \*\*, 竹内 正彦\*\*\*, 加藤 (江森) 澄恵\*\*\*\*, 我妻 義則\*\*\*\*, 佐藤 里絵\*,  
田口 計哉\*\*\*\*, 岡澤 由晃\*\*\*\*, 西澤 賢一\*\*\*, 黒田 稔\*\*, \*\*\*\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所

\*\*\* (社) 長野県農村工業研究所 \*\*\*\* トキタ種苗株式会社

\*\*\*\*\* わがつまこどもクリニック \*\*\*\*\* 長野興農株式会社

\*\*\*\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター

米アレルゲン画分には多くの種類のアレルゲンが含まれ、米アレルギー患者血清を用いたウエスタンブロットングにより、反応するアレルゲンが血清によって異なることが確認された。米粉に加水・加熱し糊化させた後、アミラーゼ処理で液化した糖化液を遠心すると、二次元電気泳動による解析からも上清には蛋白質やアレルゲンがほとんど含まれないことから、アレルギー患者・腎臓病患者用の飲料、あるいは低蛋白・低アレルゲン食品原料として利用できる可能性がある。

Analyses on the solubility of rice protein in the gelatinization of rice starch

Hiroyuki Yano\*, \*\*, Masahiko Takeuchi\*\*\*, Sumie Kato-Emori\*\*\*\*, Yoshinori Wagatsuma\*\*\*\*\*,  
Rie Satoh\*, Keiya Taguchi\*\*\*\*\*, Yoshiaki Okazawa\*\*\*\*\*, Kenichi Nishizawa\*\*\*, Shigeru Kuroda\*\*, \*\*\*\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*National Institute of Crop Science, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*Agriculture and Technology Institute of Nagano Farmers

\*\*\*\*Research Station, Tokita Seed Co., Ltd.

\*\*\*\*\*Wagatsuma Pediatric and Allergy Clinic

\*\*\*\*\*Nagano Kono Co., Ltd.

\*\*\*\*\*Bio-oriented Technology Research Advancement Institution (BRAIN)

The Journal of Nutrition, 140 (10), 1824–1831 (2010)

Keto-carotenoids are the major metabolites of dietary lutein and fucoxanthin in mouse tissues.

Lina YONEKURA\*, Miyuki KOBAYASHI\*, Masaru TERASAKI\*, Akihiko NAGAO\*

\*National Food Research Institute, NARO

ICR マウスにおけるフコキサンチン及びルテインの代謝、組織分布、消失について比較検討した。14日間フコキサンチンあるいはルテインエステルを与えた後、それぞれ、28日間、41日間、カロテノイドを含まない飼料を与えた。ルテイン投与後の血漿および組織中の主要なカロテノイドは、3'-ヒドロキシ- $\epsilon$ ,  $\epsilon$ -カロテン-3-オンであり、ついで、 $\epsilon$ ,  $\epsilon$ -カロテン-3,3'-ジオンであった。マウス組織におけるこれらのケト-カロテノイドの存在はこの論文で初めて明らかにされた。ルテイン及びその代謝産物は肝臓に著しく蓄積した (7.51 $\mu$ mol/kg)。ルテイン代謝産物の半減期は、血漿で1.16日、肝臓で2.63日、腎臓で4.44日、脂肪組織で41日以上であった。フコキサンチンの主要な代謝産物はフコキサンチノールとアマローシアキサンチンAであり、脂肪組織に顕著に蓄積した (3.13~3.64 $\mu$ mol/kg)。フコキサンチン代謝産物の半減期は脂肪組織 (0.92~1.23日) に比べ血漿、肝臓、腎臓 (0.92~1.23日) では短かった。このように、マウスは2級の水酸基を酸化することによってルテインとフコキサンチンをケト-カロテノイドへ変換し組織に蓄積する活性をもつ。

食餌ルテイン及びフコキサンチンのマウス組織中での主要な代謝産物はケト-カロテノイドである。

Lina YONEKURA\*, 小林みゆき\*, 寺崎 将\*, 長尾 昭彦\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

食品総合研究所研究報告, 75, 55–61 (2011)

ウェブアンケートによる食品害虫サイト利用状況調査

曲山 幸生\*, 七里 与子\*, 宮ノ下明大\*, 今村 太郎\*, 和田 有史\*, 増田 知尋\*, 木村 敦\*\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*東京電機大学 情報環境学部 情報環境学科

2007年11月に貯穀害虫・天敵図鑑を拡張する形で食品害虫サイトを開設してから、2010年4月で約2年半が経過し、欠点が生じているに明らかになってきた。この点について客観的なデータを得るために、食品害虫サイトにアンケートを埋め込み、訪問者に対してアンケート調査を実施した。アンケートの項目は、訪問の目的、目的の達成度、目的外の成果、本サイトへの訪問回数、本サイトへの信頼度、コメント(自由記述)で、コメント以外はラジオボタンによる選択式とした。2010年6月1日から8月31日までの3ヶ月間に55件の有効回答があった。訪問の目的は、仕事や学習が半数、家庭が4割、残りが趣味や好奇心だった。目的が達成できなかったという回答は3件のみだったので、食品害虫サイトの掲載内容は大きな問題はないと考えられた。目的外の成果が得られた訪問者も約8割いたが、他のページへの誘導を改良できる余地もあると思われた。また、回答者のうち約半数から面倒なコメント欄への記述が得られたので、回答にもう少し手間のかかるアンケート調査も可能かもしれない。以上の結果を検討して、近日中に、より使いやすい改訂版食品害虫サイトを公開する予定である。

A Survey of Visitors to Food-Insect Site by Web Questionnaire

Yukio Magariyama\*, Kumiko Shichiri\*, Akihiro Miyanoshta\*, Taro Imamura\*, Yuji Wada\*, Tomohiro Masuda\*, and Atsushi Kimura\*\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Tokyo Denki University

食品総合研究所研究報告, 75, 25–32 (2011)

食品ナノテクノロジープロジェクトのウェブサイトの開設

曲山 幸生, 七里 与子, 杉山 滋

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

農林水産省委託研究プロジェクト「食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発」(食品ナノテクノロジープロジェクト)のウェブサイト (<http://nfri.naro.affrc.go.jp/yakudachi/foodnanotech/index.html>) を開設した。ナノテクノロジーが社会に受容される技術となるためには、研究者などの専門家だけではなく、一般の方にも初期の段階から研究の状況を知ってもらい、ともに研究を推進することが重要だと考えられている。ここでは、研究の成果や現状を専門家でない方にも理解してもらうために、ウェブサイトを組み込んだいくつかの工夫について紹介する。

Opening the Website of Food-Nanotechnology Project

Yukio Magariyama, Kumiko Shichiri and Shigeru Sugiyama

National Food Research Institute, NARO

農業情報研究, 19(1), 1 - 9 (2010)

アクセス解析から推定した食品害虫の注目度と浸透度

曲山 幸生, 七里 与子, 宮ノ下明大, 今村 太郎

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

食品総合研究所のインターネット図鑑「貯穀害虫・天敵図鑑」のアクセス解析を実施した。各ページの閲覧数は、規則的な季節変動を示すこと、社会の注目によって変動することから、その昆虫に対する社会の注目度を表していると考えられた。逆に訪問数を監視することによってその昆虫の注目度の変化にいち早く気づくことができると考えられた。また、検索サイト経由で訪問した比率や他のサイトのリンク経由で訪問した比率というパラメータを基準にすると、この図鑑に掲載されている全53種の昆虫のうち、コクゾウムシとノシメマダラメイガの2種と、それ以外の51種の2グループに分けることができ、社会への浸透度を反映していると考えられた。つまり、コクゾウムシとノシメマダラメイガは、それ以外の昆虫に比較すると、社会に深く浸透していると分析できた。

Public Attention and Penetration to Food Insect Pests can be Estimated by Access Analysis

Yukio Magariyama, Kumiko Shichiri, Akihiro Miyanoshita and Taro Imamura

National Food Research Institute, NARO

Cereal Chemistry, 88(1):6-11;11(2011).

Starch Damage and Pasting Properties of Rice Flours Produced by Dry Jet Grinding

Md. Sharif Hossen, Itaru Sotome, Makiko Takenaka<sup>1</sup>, Seiichiro Isobe, Mitsutoshi Nakajima\* and Hiroshi Okadome

National Food Research Institute, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

\*Graduate school of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba,

ハンマーミルとジェットミルを使って米粉微粉末を作製し、粒子径が損傷澱粉と糊化特性に与える影響を検討した。ジェットミルでは平均粒径が10 $\mu$ m未満の米粉が得られ、ハンマーミルよりも粒度分布の狭い米粉が得られた。損傷澱粉は平均粒径が10 $\mu$ m未満で顕著に増加し、60 $\mu$ m未満の同程度の粒子径では粉碎機間で損傷澱粉の値が異なっており、粒子径だけではなく、粉碎方法も損傷度に影響を与えた。一方、糊化特性については平均粒径が45 $\mu$ m以上では類似の糊化曲線を示した。しかし、20 $\mu$ m未満では異なる曲線を示し、10 $\mu$ m未満では最高粘度や最終粘度が著しく低下した。また玄米粉及び精米粉とも平均粒径が3 $\mu$ mになるとセットバックのほうが最高粘度よりも高くなった。以上により、ジャボニカ梗品種から作製した米粉の損傷澱粉と糊化特性は平均粒径が10 $\mu$ m未満で劇的に変化することが明らかになった。

乾式ジェットミル粉碎により製造した米粉の損傷澱粉と糊化特性

Md シャリフ ホッセン, 五月女 格, 竹中真紀子, 五十部誠一郎, 中嶋 光敏\*, 岡留 博司

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*筑波大学生命環境科学研究科

Food Science and Technology Research, 16(6), 627-630, 2010

Effective recovery of polymethoxyflavonoids by mulch-stage extraction of *Citrus depressa*

Makiko Takenaka\*, Hiroshi Ono\*, Hiroshi Okadome\*, Itaru Sotome\*,

Kazuko Nanayama\* Hidekazu Sumi\*\*, Seiichiro Isobe\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, NARO

シークワーサー (*Citrus depressa*) の未利用部位に含まれるポリメトキシフラボノイド (PMF) の有効利用を目的として、異なる搾汁機を組み合わせるシークワーサー果実の多段階搾汁処理を行った。キャタピラプレスおよび二軸スクリュープレスにより二段階搾汁処理を、キャタピラプレス、ローラープレスおよび二軸スクリュープレスにより三段階搾汁処理を行い、各システムにおける物質収支およびPMFの分布を中心とした評価を行った。キャタピラプレスによる単一の搾汁処理における液状部の回収率が47%であったのに対し、二段階および三段階搾汁処理における液状部の合計回収率はいずれも62%であった。また、キャタピラプレスによる単一の搾汁処理におけるPMFの液状部への移行率が21%であったのに対し、二段階および三段階搾汁処理におけるPMFの液状部への合計移行率はそれぞれ36%および33%であった。多段階搾汁処理により、従来の単一の搾汁処理で得られるものよりも高濃度のPMFを含む二次および三次果汁を得るとともに、搾汁残渣の低減が達成された。

シークワーサーの多段階搾汁処理におけるポリメトキシフラボノイドの効率的な回収

竹中真紀子\*, 小野 裕嗣\*, 岡留 博司\*, 五月女 格\*, 七山 和子\*, 住 秀 和\*\*, 五十部誠一郎\*

\* (独)農研機構 食品総合研究所

\*\* (独)農研機構 九州沖縄農業研究センター

Japan Agricultural Research Quarterly, 45(1), 69–76, 2011

Food processing and cooking with new heating system combining superheated steam and hot water spray

Itaru SOTOME, Seichiro ISOBE

National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

野菜のブランチングには一般的に熱水あるいは飽和水蒸気を使用されるが、これらの加熱媒体では野菜から加熱媒体への成分の流出や野菜の吸水によるテクスチャーの変化が問題点として指摘されていた。過熱水蒸気を使用するとこれらの問題は解決するが、過熱水蒸気には加熱対象物を乾燥させる性質があることから、野菜の乾燥を防ぎつつブランチングを行うことは難しい場面も多かった。著者らは野菜の乾燥を防ぎつつ過熱水蒸気でブランチングを行うため、過熱水蒸気処理と熱水のスプレーを組み合わせた食品加工システムを開発した。開発したシステムでジャガイモのブランチングを行った結果、熱水による処理と比較して、ジャガイモのテクスチャーと色彩の変化が抑制され、過熱水蒸気処理と比較して歩留り低下が抑制されることが示された。また開発されたシステムにおいては野菜表面の温度を短時間で昇温させることが可能であり、野菜表面を短時間で生に近い食感を保ったまま加熱殺菌することが可能であることが示された。開発されたシステムは現在、食品加工業者によって惣菜類の調理に利用されており、また畜産物および水産物の加工にも応用が検討されている。

過熱水蒸気と熱水のスプレーによる食品加工と調理

五月女 格, 五十部誠一郎

農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

農業機械学会誌, 72(3), 251–261, 2010

青果物の呼吸速度計測法に関する研究 (第2報) – 通気法における従来式の誤差と利用可能条件および定常通気モデル式の提案 –

川越 義則, 五月女 格\*, 大下 誠一, 瀬尾 康久\*\*

東京大学大学院農学生命科学研究科

\*農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*日本大学生物資源学部

従来の通気法の計算式 (従来式) は、計測チャンバ流入・流出気体の流量を同じとみなし、その濃度差と流量の積に基づいている。しかしながら厳密には呼吸商により流入・流出気体に流量差が生じるので、この点を考慮し、またエチレンも含めた、チャンバ内の青果物とチャンバ内外の気体交換を表す通気モデル式を導出した。また従来式による呼吸速度の誤差は、呼吸商、エチレン生成比 (二酸化炭素放出速度に対するエチレン生成速度の比)、流出気体濃度に依存することを示し、これらに依存しない定常通気モデル式を提案するとともに、従来式の利用可能条件も示した。さらに、濃度測定値に必要な最小桁と流入気体流量の決定法、および測定開始時間の判断基準を示した。

Studies on measuring method of respiration rates of fruits and vegetables (part 2) – Identification of error in respiration rate and conditions required for conventional formula and proposal of modified formula for flowing system in a steady state –

Yoshinori KAWAGOE, Itaru SOTOME\*, Seiichi OSHITA, Yasuhisa SEO\*\*

The University of Tokyo, Graduate School of Agricultural and Life Science

\*National Agriculture and Food Research Organization, National Food Research Institute

\*\*Nihon University, College of Bioresource Science

Journal of Membrane Science, 366, 43–47 (2011)

Flux behavior in a hydrophobic dense membrane with undiluted and hexane-diluted vegetable oils

S. Manjula\*, H. Nabetani\*\*, R. Subramanian\*

\*Food Engineering Department, Central Food Technological Research Institute,  
Council of Scientific and Industrial Research, India

\*\*Reaction and Separation Engineering Laboratory, National Food Research Institute,  
National Agriculture and Food Research Organization

様々な植物油をヘキサンで希釈した状態と希釈しない状態において、非多孔質の膜 (NTGS-2200, 活性層がシリコン製で、支持層がポイイミド製) でろ過し、透過流束の挙動を調べた。ヘキサンで希釈することにより油の透過流束は10倍以上に増大した。また、ろ過圧力の増大とともに、全体としての透過流束だけではなく、油の透過流束も増大した。いずれの希釈条件 (油の濃度が5–80%) およびろ過圧力 (0.5–4MPa) においても、トリグリセリドは膜によって阻止されなかった。いずれの希釈条件においても、処理溶液の粘度と全体としての透過流束の間には反比例の関係が観察された。また、実験に用いたトリグリセリドの分子量範囲が670–961 Daと狭いものの、分子量と油の透過流束の間には反比例の関係が存在することが明らかになった。興味深いことに、この関係は、ヘキサンで希釈した場合にも観察された。

ヘキサンで希釈しない植物油とヘキサンで希釈した植物油を非多孔質疎水成膜でろ過した際の透過流束の挙動

マンジュラ, S. \*, 鍋谷 浩志\*\*, スブラマニアン, R. \*

\*インド中央食品研究所

\*\*農研機構 食品総合研究所

Separation and Purification Technology, 77, 80–86(2011)

Purification of crude fatty acids using a PDMS-based composite membrane

Atsushi Miyagi\*, Hiroshi Nabetani\*\*, Rangaswamy Subramanian\*\*\*

\*Chiba Industrial Technology Research Institute

\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*\*Department of Food Engineering, Central Food Technological Research Institute, Council of Scientific and Industrial Research, India

廃食用油を酸により加水分解することにより得られた粗脂肪酸を PDMS を基材とした複合膜により精製した。膜によるろ過の際、脂肪酸は選択的に膜を透過し、色素成分は膜により阻止され、脂肪酸の含量は86.5%から90%に向上した。粗脂肪酸と廃食用油の混合系のろ過試験では、処理液の粘度と透過流束（全体としての透過流束、脂肪酸の透過流束ともに）の間には良好な相関関係が観察された。粗脂肪酸をヘキサンで希釈した系を用いることにより、透過流束が劇的に増大するとともに、透過液の脂肪酸含量は97%にまで向上した。この際、色素成分に対する阻止率は、大きくは低下しなかった。ろ過圧力の増大は、ヘキサンによる希釈と同様に、脂肪酸の透過流束を増大させたが、透過液の純度や色の改善には大きな変化は見られなかった。各成分の透過の挙動を解析した結果、溶解-拡散モデルにより説明できることが明らかになった。

PDMS を基材とした複合膜を用いた粗脂肪酸の精製

宮城 淳\*, 鍋谷 浩志\*\*, スブラマニアン, R. \*\*\*

\*千葉県産業支援技術研究所

\*\*農研機構 食品総合研究所

\*\*\*インド中央食品研究所

Food and Bioprocess Technology, 3(6), 922–927(2010)

Detection of Deoxynivalenol Using Fluorescence Excitation–Emission Matrix

Kaori Fujita\*, Mizuki Tsuta\*, Mito Kokawa\*, Junichi Sugiyama\*

\* National Food Research Institute

デオキシニバレノール (DON) は、フザリウム菌によって産出されるかび毒の一種である。本研究では、励起蛍光マトリクス (EEM) を用いて、7種類の濃度の DON 水溶液に関して検討を行った。EEM とは、励起波長、蛍光波長、蛍光輝度値の3軸からなるグラフで表されるデータであり、励起波長と蛍光波長を連続的に走査させて蛍光輝度を測定することにより得られる。水溶液にはみられない DON 水溶液特有の蛍光ピークの範囲は、以下の励起波長 (Ex), 蛍光波長 (Em) において観察された。Ex200–240nm/Em300nm, Ex250–300nm/Em400–500nm。主成分分析を適用した結果、第1主成分と第2主成分によるスコアプロットにおいて、水と DON 水溶液の判別と DON の各濃度の判別が可能であった。

励起蛍光マトリクスによるデオキシニバレノールの検知

藤田かおり\*, 葛 瑞樹\*, 粉川 美踏\*, 杉山 純一\*

\*独立行政法人農業・食品技術総合研究機構 食品総合研究所

Journal of Food Engineering, 101(3), 244–252(2010)

NIR spectral imaging with discriminant analysis for detecting foreign materials among blueberries

Takehiro Sugiyama\*, Junichi Sugiyama\*\*, Mizuki Tsuta\*\*, Kaori Fujita\*\*,  
Mario Shibata\*, Mito Kokawa\*, Tetsuya Araki\*, Hiroshi Nabetani\*\*, Yasuyuki Sagara\*\*\*

\*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

\*\*National Food Research Institute

\*\*\*Food Kansei Communications

冷凍ブルーベリー中から、果汁で同色に染まった葉や茎等の異物を近赤外分光イメージングと判別分析を利用して取り除く技術を開発した。予備実験にて、判別に必要な波長を特定した結果、1268nm と 1317nm が有効であることが明らかになった。この結果にもとづき、この2つの波長における分光画像を撮影し、その画像から、ブルーベリーの画素を9850ピクセル、異物の画素を10107ピクセル、ランダムに抽出し、測定に使った撮影システムにおける判別関数と閾値を決定した。最終的に、この判別関数と閾値を、異物を混在させた1268nm と 1317nm のその他の分光画像に適用した。得られた2値化画像においては、いずれも異物とブルーベリー果実を明確に判別された。

ブルーベリー中の異物検出のための判別分析と近赤外分光イメージング

杉山 武裕\*, 杉山 純一\*\*, 葛 瑞樹\*\*, 藤田かおり\*\*, 柴田真理朗\*,  
粉川 美踏\*, 荒木 徹也\*, 鍋谷 浩志\*\*, \*\*, 相良 泰行\*\*\*

\*東京大学大学院農学生命科学研究科

\*\*独立行政法人農業・食品技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*\*(社)食感性コミュニケーションズ

日本食品科学工学会誌, 57(6), 243-250 (2010)

スキャナを用いたパン気泡構造の計測手法の開発

柴田真理朗\*, 杉山 純一\*, 蔦 瑞樹\*, 藤田かおり\*, 杉山 武裕\*\*, 粉川 美踏\*\*,  
荒木 徹也\*\*, 鍋谷 浩志\*\*, 相良 泰行\*\*\*

\*独立行政法人農業・食品技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*東京大学大学院農学生命科学研究科  
\*\*\*社食感性コミュニケーションズ

パンの気泡構造を定量化するために、操作が簡便なイメージスキャナとパラメータの最適化を伴わない画像処理手法により、簡易かつ客観的に気泡を計測する手法を開発した。

- 1) パン試料の画像から気泡を検出しやすくするために、同一試料を上下左右の4方向から撮像した4枚の画像から、最も輝度の低い画像の輝度値をとる min 合成することにより、気泡が強調された画像を合成した。
- 2) 画像全体から均一に気泡を検出するために、ブロック分割した領域ごとに Otsu の二値化手法を適用した。その際の最適なブロックサイズは20×20pixelであった。
- 3) 検出された気泡部分をラベリングし平均気泡面積、平均周囲長、単位面積あたりの気泡数および気泡面積割合を算出した。それらに t 検定を適用した結果、すべての項目に対して有意な差が検出されたことから、2種類のパン試料の気泡構造の特徴の差は的確に抽出されたと考えられた。

Development of Measurement for Bubble Structure of Bread using Image Scanner

Mario Shibata\*, Junichi Sugiyama\*, Mizuki Tsuta\*, Kaori Fujita\*, Takehiro Sugiyama\*\*,  
Mito Kokawa\*\*, Tetsuya Araki\*\*, Hiroshi Nabetani\*\*, Yasuyuki Sagara\*\*\*

\* National Food Research Institute  
\*\* Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo  
\*\*\* Food Kansei Communications

日本食品科学工学会誌, 57(7), 296-303 (2010)

パンの粘弾性と気泡構造(すだち)との関係の定量化手法の開発

柴田真理朗\*, 杉山 純一\*, 蔦 瑞樹\*, 藤田かおり\*, 杉山 武裕\*\*, 粉川 美踏\*\*, 荒木 徹也\*\*, 鍋谷 浩志\*\*, 相良 泰行\*\*\*

\*独立行政法人農業・食品技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*東京大学大学院農学生命科学研究科  
\*\*\*社食感性コミュニケーションズ

すだち(気泡構造)からパンの食感を推定するために、粘弾性と気泡計測パラメータを計測し、それらの関係の定量化を行った。

- (1) 試料サイズの最適値を決定した。気泡パラメータの変動および実際の計測の安定性を考慮した結果、試料サイズの最適値は1辺20mmの立方体とした。
- (2) クリープ試験および4要素フォークト粘弾性モデルを適用し、4つの粘弾性係数を得た。一方、イメージスキャナにより撮像したデータに、画像処理を適用し、4つの気泡パラメータを算出した。粘弾性係数および気泡パラメータの変動係数は7.5~49.2%であり、試料断面部位によって不均一であることが明らかになった。
- (3) 瞬間弾性、遅延弾性および永久粘性および気泡面積割合に有意な相関がみられた ( $r > 0.6$ ,  $p < 0.05$ )。本実験で用いた試料においては計測した咀嚼面の気泡面積割合が大きいほど、「かたく」感じられることが示唆された。

Development of Quantitative Analysis for Relationships between Viscoelasticity and Air-bubble Structure of Bread

Mario Shibata\*, Junichi Sugiyama\*, Mizuki Tsuta\*, Kaori Fujita\*, Takehiro Sugiyama\*\*,  
Mito Kokawa\*\*, Tetsuya Araki\*\*, Hiroshi Nabetani\*\*, Yasuyuki Sagara\*\*\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo  
\*\*\*Food Kansei Communications

日本食品科学工学会誌, 57(6), 238–242 (2010)

励起蛍光マトリクスによるそば粉と小麦粉の混合割合の推定

杉山 武裕\*, 藤田かおり\*\*, 葛 瑞樹\*\*, 杉山 純一\*\*, 柴田真理朗\*\*,  
粉川 美踏\*\*, 荒木 徹也\*, 鍋谷 浩志\*\*, 相良 泰行\*\*\*

\*東京大学大学院農学生命科学研究科

\*\*独立行政法人農業・食品技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*\*社食感性コミュニケーションズ

励起蛍光マトリクス (EEM) 計測による, そば粉と小麦粉の混合割合推定の可能性を確認した. 試料として, 市販のそば粉と小麦粉を11種類の混合比で混ぜた混合粉試料を, 励起波長200–900nm, 蛍光波長200–900nmの範囲で測定した. 計測で得られた EEM データに対して PLS 回帰分析を適用し, 潜在ベクトル数=7で推定式を計算した. 推定式の係数から, 励起波長340–555nm, 蛍光波長500–755nmの範囲に重要な EEM データが含まれていることが分かった. この波長範囲に限定した EEM データに対して再度 PLS 回帰分析を適用したところ, 検量線の精度は波長範囲を限定していない場合とほぼ同等であった. さらに, 計測時間を1試料あたり515秒から105秒に短縮できた. 本研究によって, そば粉・小麦粉の簡易・迅速な混合割合の推定法として EEM 計測を適用できる可能性が存在することが示された.

Prediction for Mixture Rate of Buckwheat Flour Against Wheat Flour Using Excitation–emission Matrix (EEM)

Takehiro Sugiyama\*, Kaori Fujita\*\*, Mizuki Tsuta\*\*, Junichi Sugiyama\*\*, Mario Shibata\*\*,  
Mito Kokawa\*, Tetsuya Araki\*, Hiroshi Nabetani\*\*, Yasuyuki Sagara\*\*\*

\*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

\*\*National Food Research Institute

\*\*\*Food Kansei Communications

Analytical Biochemistry, 401(2), 242–249 (2010)

Direct detection of green fluorescent protein messenger RNA expressed in Escherichia coli by rolling circle amplification

Hirokazu Takahashi, Atsuko Matsumoto, Shigeru Sugiyama, Toshiro Kobori

National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

核酸増幅法であるローリングサークル法 (RCA) を基盤技術とした, 簡便で選択的な mRNA 検出技術の開発を検討した. 試験管内転写した GFP mRNA と, その3'末端配列を相補する環状化 ssDNA を調整し, 両者でハイブリッド形成させた後に, ssDNA 結合蛍光色素存在下で RCA 反応を行った. その結果, mRNA をプライマーとした RCA 反応に伴う蛍光の増加が計測可能であった. 一方, 菌体からの mRNA 検出への適用可能性を検証するため, GFP の発現プラスミドで形質転換した大腸菌から調整した全 RNA を用いて RCA 反応をモニターしたところ, 発現誘導した場合のみ RCA 反応が進行した. 以上より, 本法は細菌 mRNA を選択的に検出できるため, 生菌検出の迅速簡便法として利用できる可能性が示唆された.

高橋 宏和\*, 松本 敦子\*, 杉山 滋\*, 小堀 俊郎\*

\*農研機構食品総合研究所

Photochemistry and Photobiology 87 (2), 470–473(2011)

A Simple DNA Characterization Method Using Fiber–Fluorescence in situ Hybridization Performed without DNA Fragmentation

Tamaki HIROSE\*, Shigeru SUGIYAMA\*

\*National Food Research Institute, National Agricultural and Food Research Organization

ラムダ DNA と蛍光標識ペプチド核酸 (PNA) プロープとを交雑した DNA 分子の高分解能蛍光イメージングを行った. 本法では, ラムダ DNA と PNA を混合, 急速に変性し, 液体中で分子交雑した. 交雑した DNA サンプルは, ガラス基板上にスポットし, コーミングした. その結果, 無傷のラムダ DNA 上の予測位置に蛍光標識プロープのシグナルが観察された. これは典型的 in situ ハイブリダイゼーション法の断続的シグナルパターンとは異なっていた. 本法では, DNA ファイバーを損傷, 蛍光シグナルの断片化を引き起こすことなく, 無傷の DNA 分子上の特異的結合部位を迅速かつ直接可視化することができた. 本法は, 遺伝学の研究, また大規模な DNA 塩基配列決定プロジェクトに有用なツールとなると期待される.

ファイバー蛍光 in situ ハイブリダイゼーションを用いた DNA のフラグメント化を起こさないシンプルな DNA 解析法

廣瀬 玉紀\*, 杉山 滋\*

\*農研機構食品総合研究所

Scanning 32(6) 383–389 (2010)

A silanized mica substrate suitable for high-resolution fiber FISH analysis by scanning near-field optical/atomic force microscopy

Shigeru SUGIYAMA\*, Megumi FIKUTA\*, Tamaki HIROSE\*, Toshio OHTANI\*, Tomoyuki YOSHINO\*\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Prefectural University of Hiroshima

我々は、本研究室で開発された極めて平坦な表面を有する新規なシラン処理マイカ基板を開発し、基板上に展開した極めて直線性の高い DNA ファイバーを近接場光学/原子力顕微鏡 (SNOM/AFM) を用いて高分解能観察することに成功した。この手法では、基板と蛍光色素結合ペプチド核酸分子の間の相互作用は極めて小さいことが判明した。そこで、本手法を用いて、in situ ハイブリダイゼーションを行い、走査型入フェージ DNA の ea47 遺伝子の冒頭部分を一分子の蛍光標識ペプチド核酸 (Alexa 532 結合 15 塩基ペプチド核酸) により検出することを試みた。その結果、蛍光ノイズはほぼ全く検出されず、基板表面には、蛍光標識ペプチド核酸は全く吸着されないことがわかった。したがって、本蛍光標識技術と SNOM/AFM の組み合わせは、極めてノイズの少ない in situ ハイブリダイゼーションとして有効であると考えられる。

走査型近接場光学原子力顕微鏡によるファイバー FISH に最適化したシラン化マイカ基板

杉山 滋\*, 福田めぐみ\*, 廣瀬 玉紀\*, 大谷 敏郎\*, 吉野 智之\*\*

\*食品総合研究所  
\*\*県立広島大学

Acta Horticulturae, 880, 253–259 (2010)

Changes in sugar and total oxalic acid contents in different sections of bamboo shoots harvested at different maturity

Manasikan Thammawong\*, Daisuke Nei\*, Poritosh Roy\*, Nobutaka Nakamura\*,  
Yuichi Inoue\*\*, Hidenobu Hamachi\*\*\*, Shigeyuki Nonaka\*\*\*\*, Takeo Shiina\*

\* National Food Research Institute, NARO

合馬産のタケノコについて、成熟ステージ (地上出現の前後) と部位 (軸方向に 4 分割) がシヨ糖, ブドウ糖, 果糖および総シュウ酸含量に及ぼす影響について解析した。また、5℃および25℃貯蔵中のタケノコの総シュウ酸含量を調査した。地上出現前のタケノコにおいて、地上出現後のタケノコに比べて糖含量が高かった。先端部 (部位 1) では他の部位よりも有意にシヨ糖含量が高く、ブドウ糖, 果糖含量は部位 4 で最も高かった。総シュウ酸含量は、地上出現前のタケノコで地上出現後のそれに比べて低かった。貯蔵中の総シュウ酸含量は、部位 4 で他の部位に比べて有意に低かった (25℃ 6 日後を除く)。5℃貯蔵において、部位 1 および部位 2 における総シュウ酸含量が増加した。

タケノコの成熟ステージと部位が糖含量および総シュウ酸含量に及ぼす影響

Manasikan Thammawong\*, 根井 大介\*, Poritosh Roy\*, 中村 宣貴\*, 井上 祐一\*\*, 高地 秀展\*\*\*, 野中 重之, 椎名 武夫\*

\*農研機構食品総合研究所  
\*\*山口県林業指導センター  
\*\*\*福岡県森林林業技術センター  
\*\*\*\*福岡県特用林産振興会

Acta Horticulturae, 880, 517–524 (2010)

Evaluation of high electric field chamber for shelf life extension of food and agricultural commodities

Takeo Shiina\*, Daisuke Nei\*, Nobutaka Nakamura\*, Manasikan Thammawong\*

\*National Food Research Institute, NARO

同一仕様の市販交流高電場付与冷蔵庫 2 台を使用して、1 台を交流高電場付与、もう 1 台を交流高電場なしとして、同一温度で運転することで、交流高電場付与の有無だけが異なる条件での実験を繰り返した。その結果、交流高電場付与の有無による水や食品の凍結挙動に差がないこと、交流高電場付与による食品の品質保持効果が大きくないこと、交流高電場付与環境下においてオゾンが発生すること、発生するオゾンが食品品質に影響を及ぼす主要な要因である可能性が高いこと、などを明らかにした。以上の結果から、市販の交流高電場付与冷蔵庫は、ベースとして利用している冷蔵庫とのコスト差を考えると、実用的なメリットは小さいと考えられた。

高電場付与冷蔵庫が食品および農産物の日持ち性に及ぼす影響の評価

椎名 武夫\*, 根井 大介\*, 中村 宣貴\*, Manasikan Thammawong\*

\*農研機構食品総合研究所

Asian Journal of Food & Agro-Industry, 3(4), 373–388 (2010)

Cooking properties of different forms of rice cooked with an automatic induction heating system rice cooker

Poritosh Roy\*, Daisuke Nei\*, Takahiro Orikasa\*\*, Hiroshi Okadome\*, Manasikan Thammawong\*, Nobutaka Nakamura\* and Takeo Shiina\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*School of Food, Miyagi University

精白米, 分づき米, 発芽玄米, 玄米について, 自動炊飯器による調理特性を調査した. 各形態の米について, 炊飯器の推奨モードで, 3水準の加水条件で炊飯し, 炊飯過程の温度, 電力量を計測するとともに, 炊飯米の物性評価を行った. 形態ごとに, 炊飯時間, 温度, 電力使用量は異なった. 官能検査で求められる硬度条件下では, 4種類の中で玄米で炊飯時間, 加水量, 含水率, 電力消費量が最も大きくなった. 本研究により, 米の炊飯特性は, 米の形態, 加水条件, 炊飯プログラムに大きく依存することが明らかとなった.

Poritosh Roy\*, 根井 大介\*, 折笠 貴寛\*\*, 岡留 博司\*, Manasikan Thammawong\*, 中村 宣貴\*, 椎名 武夫\*

\*農研機構食品総合研究所

\*\*宮城大学食産業学部

Bioresource Technology 101(10), 3711–3717 (2010)

Characterization of a soybean oil-based biosurfactant and evaluation of its ability to form microbubbles

Qingyi Xu\*, Zengshe Liu\*\*, Mitsutoshi Nakajima\*\*\*, Sosaku Ichikawa\*\*\*,  
Nobutaka Nakamura\*, Poritosh Roy\*, Hiroshi Okadome\*, Takeo Shiina\*

\*Food Engineering Division, National Food Research Institute

\*\*NCAUR/ARS/USDA

\*\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

大豆油由来の界面活性剤である, Palozengs R-004について, 物理化学的特性を調査した結果, R-004は, 既存の微生物由来界面活性剤と同等の表面活性を持ち, いくつかの化学合成界面活性剤よりも高い表面活性を持つことが明らかとなった. また, R-004を用いたマイクロバブル作製においては, 幅広い界面活性剤の濃度範囲 (0.05–0.5wt.%) で安定なマイクロバブルを作製可能であることと, 濾過の有無がマイクロバブル特性に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった.

許 晴 怡\*, Zengshe Liu\*\*, 中嶋 光敏\*\*\*, 市川 創作\*\*\*, 中村 宣貴\*, Poritosh Roy\*, 岡留 博司\*, 椎名 武夫\*

\*農研機構食品総合研究所

\*\*米国農務省農業部国立農業利用研究センター

\*\*\*筑波大学大学院

International Journal of Food Engineering, 6(2), 12(1–17) (2010)

Hot Air Drying Characteristics of Sweet Potato Using Moisture Sorption Isotherm Analysis and Its Quality Changes During Drying

Takahiro Orikasa\*, Long Wu\*\*, Yasumasa Andou\*\*\*, Yoshiki Muramatsu\*\*\*\*,  
Poritosh Roy\*\*, Toshikazu Yano\*, Takeo Shiina\*\*, Akio Tagawa\*\*\*

\*Department of Environmental Sciences School of Food, Agriculture and Environmental Sciences, Miyagi University

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Graduate school of Horticulture, Chiba University

\*\*\*\*Department of Food Science and Technology, Faculty of Bioindustry, Tokyo University of Agriculture

30, 40, 50, 60℃の一定温度下での熱風乾燥過程における, サツマイモの品質および乾燥特性を調査した. 4つの温度下および6つの相対湿度条件下で, 定常法によりサツマイモの平衡含水率を測定した. 乾燥過程における含水率および平衡含水率の実測値から, サツマイモの熱風乾燥特性を解析した. 乾燥過程でのサツマイモに含まれるL-アスコルビン酸の消失を, 一次反応式でモデル化した. 加えて, 乾燥過程における色差, 糖含量, 硬度について調査し, 乾燥温度が低いほど色差変化が小さいことを明らかにするとともに, サツマイモ中の糖含量が硬化に影響を及ぼしていることを考察した.

折笠 貴寛\*, Long Wu\*\*, 安藤 泰雅\*\*\*, 村松 良樹\*\*\*\*, Poritosh Roy\*\*, 矢野 歳和\*, 椎名 武夫\*\*, 田川 彰男\*\*\*

\*宮城大学食産業学部

\*\*農研機構食品総合研究所

\*\*\*千葉大学大学院園芸学研究所

\*\*\*\*東京農業大学生物産学部

International Journal of Molecular Sciences, 12, 462–475 (2011)

Biosurfactants for microbubble preparation and application

Qingyi Xu\*, Mitsutoshi Nakajima\*\*, Zengshe Liu\*\*\*, Takeo Shiina\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

\*\*\*NCAUR/ARS/USDA

生物由来界面活性剤は、その化学成分および由来から分類できる。本総説では、生物由来界面活性剤をその由来から分類し、その中で最も一般的に使用されているものについて紹介する。また、植物由来界面活性剤の現状と今後の方向性について考察する。さらに、マイクロバブルの特性について簡単に紹介した後、分子イメージング、排水処理、好気性発酵などへのマイクロバブルの応用例について紹介するとともに、生物由来界面活性剤を用いたマイクロバブルの作製研究について紹介する。

生物由来界面活性剤のマイクロバブルの調製および応用への利用

許 晴 怡\*, 中嶋 光敏\*\*, Zengshe Liu\*\*\*, 椎名 武夫\*

\*農研機構食品総合研究所

\*\*筑波大学大学院

\*\*\*米国農務省農業局農業利用研究センター

日本食品科学工学会誌, 57(5), 191–197 (2010)

調理用トマトの乾燥およびブランチングへのマイクロ波の適用

安藤 泰雅\*, 折笠 貴寛\*\*, 椎名 武夫\*\*\*, 五月女 格\*\*\*, 五十部誠一郎\*\*\*, 村松 良樹\*\*\*\*, 田川 彰男\*

\*千葉大学大学院園芸学研究所

\*\*宮城大学食産業学部

\*\*\*農研機構食品総合研究所

\*\*\*\*東京農業大学生物産業学部

調理用トマトの乾燥およびブランチングにマイクロ波を適用しその乾燥特性およびブランチングにおける酵素活性、品質変化を調査した。その結果、(1)マイクロ波照射開始から乾燥速度が増大し、高出力であるほど乾燥時間は短縮される、(2)含水率変化には指数モデルが適用でき、含水率0.5 (d. b. decimal) 以下の範囲では減率乾燥第一段にあること、(3)マイクロ波を照射することで明度の低下が抑制される、(4)ブランチングにマイクロ波を適用することで、熱湯浸漬と比較し酵素の失活までに要する時間が短縮され、アスコルビン酸およびリコピン含有量、色彩等の品質変化を抑制できる、ことが明らかとなった。

Application of microwave to drying and blanching of tomatoes

Yasumasa Ando\*, Takahiro Orikasa\*\*, Takeo Shiina\*\*\*, Itaru Sotome\*\*\*, Seiichiro Isobe\*\*\*, Yoshiki Muramatsu\*\*\*\*, Akio Tagawa

\*Graduate school of Horticulture, Chiba University

\*\*Department of Environmental Sciences School of Food,

Agriculture and Environmental Sciences, Miyagi University

\*\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*\*Department of Food Science and Technology, Faculty of Bioindustry, Tokyo University of Agriculture

日本食品保蔵科学会誌, 37(2), 61–67 (2011)

成熟遺伝子型の異なるトマト緑熟果実の果皮色変動予測モデル

中村 宣貴\*, タンマウオン マナシカン\*, 金原 淳司\*\*, 伊藤 博孝\*\*, 北川麻美子\*\*, 稲熊 隆博\*\*, 伊藤 康博\*, 北澤 裕明\*, 石川 豊\*, 春見 隆文\*\*\*, 椎名 武夫\*

\*独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*カゴメ株式会社総合研究所

\*\*\*日本大学生物資源科学部

成熟特性の異なるトマト品種の追熟時の緑熟果の果皮色予測モデルを作成することを目的として、25℃で保蔵中の4種類のトマト緑熟果の呼吸速度、エチレン生成速度、果皮色 (a\*値) について詳細に解析を行った。供試材料には、通常に成熟する品種である‘桃太郎’および‘PK331’, rin (ripening inhibitor) 変異体である‘PK353’, PK353と‘PK331’の交雑品種である‘KGM011’の4品種を用いた。エチレン生成量の積算値を変数とした、シグモイド型のa\*値の予測式を作成、評価した結果、‘PK353’以外の3品種のデータを用いて作成した予測式の計算値と実測値との決定係数は非常に高かった (R<sup>2</sup> = 0.97)。以上の結果より、エチレン生成量の積算値を独立変数とすることで、品種が異なるトマトの緑熟果にも適用可能なa\*値の予測式が作成可能であることが示唆された。

Prediction of pericarp color changes based upon cumulative ethylene production for several tomato varieties with different ripening inhibitor genotypes

NAKAMURA Nobutaka\*, THAMMAWONG Manasikan\*, KINBARA Junji\*\*, ITO Hiroataka\*\*, KITAGAWA Mamiko\*\*, INAKUMA Takahiro\*\*, ITO Yasuhiro\*, KITAZAWA Hiroaki\*, ISHIKAWA Yutaka\*, KASUMI Takafumi\*\*\* and SHIINA Takeo\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Kagome Co., Ltd.

\*\*\*Nihon University College of Bioresource Sciences

冷凍, 85, 949–955 (2010)

食品分野における環境負荷の見える化

椎名 武夫\*

\*農研機構食品総合研究所

温室効果ガスの排出によって起こる地球温暖化は、地球上の最も深刻な環境負荷であるといえる。ライフサイクルアセスメントは、製品やサービスのライフサイクルにわたる環境負荷を定量化するために利用される。本報告では、食品の生産と消費に関わるいくつかのLCA解析事例および、わが国におけるカーボンフットプリントに関する取り組み状況を解説する。食品のLCA解析によれば、多くの場合、ライフサイクルのうちで、生産過程が最も環境へのインパクトが大きいプロセス（ホットスポット）であることが示されている。LCAを実施することで、より環境負荷の少ない製品の開発や選択の方向を明らかにすることができる。カーボンフットプリントは、温室効果ガスの見える化により、フードサプライチェーン関係者に、環境負荷の少ない製品に関する情報を提供するための有効な手段の1つになりうる。

Visualization of global warming potential of the food supply chains

Takeo Shiina\*

\*National Food Research Institute, NARO

Journal of Food, Agriculture & Environment, 8(2), 218–222 (2010)

Impact damage to apple fruits in commercial corrugated fiberboard box packaging evaluated by the pressure-sensitive film technique

Fei Lu\*\*, Yutaka Ishikawa\*, Hiroaki Kitazawa\*, Takaaki Satake\*\*\*

\*Food Packaging Laboratory, Food Engineering Division, National Food Research Institute

\*\*College of Food Science, Shenyang Agricultural University

\*\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

リンゴ果実は、トラック輸送および荷扱い中に表面の傷や損傷につながる様々な衝撃を受けることになる。本研究では、輸送や荷扱いの過程で加えられる衝撃の影響を評価し、損傷発生の予測を行った。両面段ボール箱および複両面段ボール箱にリンゴを梱包して落下試験を行い、落下時のリンゴにかかる圧力を感圧フィルムにより測定した。両面段ボール箱とも損傷したリンゴの割合は、落下高さの増加とともに増加し、段ボール下層でリンゴの損傷は、上位層のそれより顕著に高かった。感圧フィルムの画像においても両面ボールでリンゴへの影響に有意差がみられた。圧力が加わった面積は、落下高さの増加に伴って増加したが、平均圧力には有意差は見られなかった。また、上段と下段における平均圧力についても有意差はなかった。感圧フィルムに発生した圧力面積及び平均圧を使ってあらわした損傷予測式は、実際のリンゴの損傷度を表すことが可能であった。

感圧フィルムを使った段ボール箱内のリンゴの損傷評価

路 飛\*\*, 石川 豊\*, 北澤 裕明\*, 佐竹 隆顕\*\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*瀋陽農業大学 食品学院

\*\*\*筑波大学

Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 80(1), 76–81 (2011)

Effects of storage temperature on the postharvest quality of three asparagus cultivars harvested in spring

Hiroaki Kitazawa\*, Satoru Motoki\*\*, Tomoo Maeda\*\*\*, Yutaka Ishikawa\*, Ken-ichi Matsushima\*\*\*\*, Yasunori Hamauzu\*\*\*\*, Hiroaki Sakai\*\*, Takeo Shiina\* and Yasushi Kyutoku\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Nagano Vegetable and Ornamental Crops Experiment Station

\*\*\*Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University

\*\*\*\*Graduate School of Agriculture, Shinshu University

アスパラガスの収穫後における外観品質、重量およびアスコルビン酸含量の変化に対する品種および保存温度の影響を、春どりした‘UC157’、‘Gijnlim’および‘Purple Passion’を用いて調査した。5、10および15℃で4日間保存した際の若茎頭部の開きの進行程度は、いずれの温度においても‘Gijnlim’で大きく、‘Purple Passion’で小さかった。切り口の変色程度は、いずれの品種においても保存温度の上昇に伴って大きくなったが、特に‘Gijnlim’で顕著であった。重量およびアスコルビン酸含量の減少は、いずれの温度においても‘Gijnlim’で他の2品種と比べて大きかった。以上より、アスパラガスの品質およびその収穫後の変化には品種間差があること、‘Gijnlim’は‘UC157’および‘Purple Passion’と比較し品質が低下しやすいことが明らかとなった。

保存温度の違いが春どりされたアスパラガス3品種における収穫後の品質変化に及ぼす影響

北澤 裕明\*, 元木 悟\*\*, 前田 智雄\*\*\*, 石川 豊\*, 松島 憲一\*\*\*\*,  
濱渦 康範\*\*\*\*, 酒井 浩晃\*\*, 椎名 武夫\*, 久徳 康史\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*\*長野県野菜花き試験場

\*\*\*弘前大学農学生命科学部

\*\*\*\*信州大学大学院農学研究科

園芸学研究, 9(2), 221–227 (2010)

イチゴ輸送中の衝撃解析と損傷発生予測

北澤 裕明\*, 石川 豊\*, 路 飛\*, 胡 耀 華\*\*, 中村 宣貴\*, 椎名 武夫\*

\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*西北農林科技大学機械電子工程学院

イチゴ輸送中に想定される衝撃加速度および衝撃発生回数に対応した損傷防止対策を講じることを目的として、輸送工程における衝撃発生状況を加速度記録計により調査するとともに、輸送中の衝撃と果実の損傷発生との関連を調査した。その結果、包装容器を多段に積載した状態で輸送される状況において、輸送時における衝撃の大半が最下段の箱に集中して発生していることが明らかとなった。このことは、包装容器において衝撃への対策を講じる場合、最下段の包装容器に係る衝撃加速度および衝撃回数について考慮すべきであることを示唆している。また、衝撃加速度と果実に損傷が認められるまでの衝撃繰り返し回数との関係は高い相関を持つ累乗近似曲線により表すことができたことから、この曲線をあらかじめ作成しておくことにより輸送工程における衝撃加速度および衝撃回数が果実の商品性に及ぼす影響を予測することができるものと考えられた。以上の結果は、輸送経路あるいは手段ごとの衝撃環境を考慮した、的確かつ効率的な損傷防止対策につながるものと期待される。

Analysis of Shock during Strawberry Transport and Damage Estimation

Hiroaki Kitazawa\*, Yutaka Ishikawa\*, Fei Lu, Yaohua Hu, Nobutaka Nakamura and Takeo Shiina\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*College of Mechanical and Electronic Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University

園芸学研究, 10(1), 93–100 (2011)

収穫後の衝撃がレモン果実貯蔵中の腐敗の発生に及ぼす影響

池田 裕朗\*, 石川 豊\*\*, 赤阪 信二\*, 塩田 俊\*, 北澤 裕明\*\*, 路 飛\*\*

\*広島県立総合技術研究所農業技術センター果樹研究部三原分室  
\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

貯蔵中レモン果実の腐敗、果皮障害の発生と貯蔵前に受けた衝撃の大きさとの関係について調べた。落下試験では、腐敗・果皮障害の発生率と貯蔵前に受けた衝撃エネルギーに高い相関があり、さらに落下部位により腐敗および果皮障害の発生率は大きく異なることが明らかとなった。次に、実際の収穫後の作業工程において、工程別に果実が受ける衝撃と貯蔵後の果実の腐敗発生率について調べた。選果機ラインの最後に果実が集荷台に転がり落ちて停止するまでの工程が最も衝撃回数が多く、次が果実の洗浄から乾燥機を通過してドラム選果前までの工程であった。収穫から選果終了までの作業工程別にサンプリングした試料を5か月間貯蔵した際の腐敗発生率は、選果工程が長くなるにつれて高くなった。さらに、貯蔵期間中の腐敗発生率を貯蔵月数と貯蔵前に加わった衝撃エネルギーをパラメータとしてモデル化した。これを使い、作業工程中の腐敗発生率をシミュレーションした結果、実測値と予測値は高い相関を示した。

Effect of Dropping Impact after Harvest on the Rate of Rot during Lemon Storage

Hiroaki Ikeda\*, Yutaka Ishikawa\*\*, Shinji Akasaka\*, Takashi Shioda\*, Hiroaki Kitazawa\*\* and Fei Lu\*\*

\*Mihara Branch, Fruit Research Division, Agricultural Technology Research Center, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute

\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

園芸学研究, 10(1), 81–86 (2011)

密植栽培がムラサキアスパラガス ‘パープルパッション’ の収量および生育に及ぼす影響

元木 悟\*, 北澤 裕明\*\*, 前田 智雄\*\*\*, 久徳 康史\*\*

\*長野県野菜花き試験場  
\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*\*弘前大学農学生命科学部

近年、寒冷地を中心にムラサキアスパラガスの作付けが増加している。しかし、収量がグリーンアスパラガスに比べて劣ることから、増収のための栽培方法の確立が必要である。本研究では、露地長期栽培における密植栽培がムラサキアスパラガス ‘パープルパッション’ の収量性および生育に及ぼす影響を7年にわたり調査した。比較対照であるグリーンアスパラガス ‘UC157’ の1茎重は、栽植密度を高めた場合、慣行の密度で栽植した場合（慣行区）よりも小さくなり、栽植密度を増加させても収量は大きく増加しなかった。一方、‘パープルパッション’ の1茎重は、慣行の3倍の密度で栽植した場合でもほとんど小さくならず、4年株以降では、‘UC157’ の慣行区と同等の収量となった。以上より、ムラサキアスパラガスはグリーンアスパラガスと比較し、密植栽培に適していると考えられたとともに、グリーンアスパラガスと同等の収量を得るためには、栽植密度を高めた新たな作型の提案が必要であると思われた。

Effects of Dense Planting on Yield and Growth of the Purple Asparagus Variety ‘Purple Passion’

Satoru Motoki\*, Hiroaki Kitazawa\*\*, Tomoo Maeda\* and Yasushi Kyutoku\*

\*Nagano Vegetable and Ornamental Crops Experiment Station

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University

東北農業研究, 63, 105-106 (2010)

オウトウ輸出における荷傷み防止方法

高橋 和博\*, 仲條誉志幸\*\*, 小野寺玲子\*\*, 伊東 良久\*\*\*, 石川 豊\*\*\*\*, 中村 ゆり\*\*\*\*\*, 羽山 裕子\*\*\*\*\*

\*山形県農林水産部生産技術課  
\*\*山形県農業総合研究センター園芸試験場  
\*\*\*日本トーカンパッケージ  
\*\*\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*\*\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所

最初に2重梱包の有無が輸出における果実損傷に及ぼす影響について検討した。2重梱包有り区の損傷果の発生割合は、無し区より約10%低く、その程度も軽微なものが多かった。また、2重梱包有り区では腐敗果の発生率がやや増加したものの、その他の果実品質に大きな影響はなかった。以上より、2重梱包することで輸出輸送時の果実の荷傷みが少なくなり、慣行の輸送方法より商品性が高くなることが明らかになった。次に、緩衝資材（ポリウレタンフォームを使用）の有無が果実損傷に及ぼす影響について検討した。500gバックバラ詰め梱包形態では、バックの内側底面に3mm厚の緩衝資材を敷くことで、落下衝撃による果実の損傷を軽減できることが明らかになった。最後に、緩衝資材の有無が輸出における果実損傷に及ぼす影響について検討した。2重梱包を行い、緩衝資材をバックの底面に敷いた区の損傷果の発生割合は、緩衝資材を用いなかった区より約30~50%低く、輸出輸送時の衝撃による果実損傷を軽減できることが明らかになった。

Prevention of Damage in Handling and Transport for Exportation of Cherry Fruit

Kazuhiro Takahashi\*, Yoshiyuki Nakajo\*, Reiko Onodera\*\*, Yoshihisa Itoh\*\*\*, Yutaka Ishikawa\*\*\*\*,  
Yuri Nakamura\*\*\*\*\* and Hiroko Hayama\*\*\*\*\*

\*Yamagata Prefecture Government Office  
\*\*Yamagata Integrated Agricultural Research Center, Horticultural Experiment Station  
\*\*\*Nippon Tokan Package  
\*\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization  
\*\*\*\*\*National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization

東北農業研究, 63, 107-108 (2010)

モモ輸出における荷傷み防止方法

今野 勉\*, 小野寺玲子\*, 工藤 信\*\*, 伊東 良久\*\*\*, 石川 豊\*\*\*\*, 中村 ゆり\*\*\*\*\*, 羽山 裕子\*\*\*\*\*

\*山形県農業総合研究センター園芸試験場  
\*\*山形県村山総合支庁  
\*\*\*日本トーカンパッケージ  
\*\*\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*\*\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所

輸送中の衝撃は、トラックおよび航空機または冷蔵コンテナやコンテナ船への積み降ろし作業時にみられた。飛行機を利用した輸送では20~30G程度の衝撃が7回あり、最大28G程度の衝撃がみられたが、コンテナ船を利用した輸送では20~30G程度の衝撃が1回あり、最大28G程度の衝撃がみられた。また、コンテナ船を利用した輸送は、冷蔵コンテナの使用により、段ボール箱内を低温でかつ相対湿度を高く維持することができた。果実の乱れ程度は、両輸送方法ともフルーツキャップ区でソフトバクトレー区より少なかった。また、コンテナ船を利用した輸送は飛行機を利用した輸送より果実の乱れが少なかった。果実の押し傷の発生は、フルーツキャップ区でソフトバクトレー区より少なかった。また、ソフトバクトレー区の押し傷は果底部のつぶれが多かった。

Prevention of Damage in Handling and Transport for Exportation of Peach Fruit

Tsutomu Konno\*, Reiko Onodera\*, Makoto Kudo\*\*, Yoshihisa Itoh\*\*\*, Yutaka Ishikawa\*\*\*\*,  
Yuri Nakamura\*\*\*\*\* and Hiroko Hayama\*\*\*\*\*

\*Yamagata Integrated Agricultural Research Center, Horticultural Experiment Station  
\*\*Murayama Branch of Yamagata Prefectural Government Office  
\*\*\*Nippon Tokan Package  
\*\*\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization  
\*\*\*\*\*National Institute of Fruit Tree Science, National Agriculture and Food Research Organization

日本食品保蔵科学会誌, 36(6), 265-269 (2010)

ソフトパックにより包装されたイチゴの損傷発生に及ぼす衝撃の影響

北澤 裕明\*, 佐藤 達雄\*\*, 石川 豊\*, 中村 宣貴\*, 椎名 武夫\*

\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*茨城大学農学部

1~2月および3~4月に収穫した2つの果肉硬度(それぞれ約6.1および5.1N)のイチゴ「とちおとめ」を用いて、衝撃による果実の損傷発生に及ぼす果肉硬度の影響を調査した。果実をソフトパックに詰め、実輸送中に想定される落下高さである0.10~0.25mの位置から落下させたところ、いずれの収穫時期においても果実が損傷に至るまでの衝撃加速度と衝撃繰り返し回数との関係は、疲労破壊による損傷モデルに従った。また、各衝撃加速度に対する損傷発生までの衝撃繰り返し回数は、3~4月収穫の果実では、1~2月収穫のものと比較し3割程度減少した。実輸送中の衝撃環境データに照らした損傷発生シミュレーションを行ったところ、この違いは、果実の輸送性に大きな違いをもたらすものと予測された。今後、果肉硬度が低くなる収穫時期あるいは果肉硬度の低い品種に対応した新たな包装設計が必要である。

Effect of Shock on the Damage Occurrence of Strawberry Packaged by Foam Fruit Tray

Hiroaki Kitazawa\*, Tatsuo Sato\*\*, Yutaka Ishikawa\*, Nobutaka Nakamura\* and Takeo Shiina\*

\* National Food Research Institute, NARO  
\*\* College of Agriculture, Ibaraki University

日本包装学会誌, 19(3), 215-222 (2010)

パーシャルシール包装による青ネギの鮮度保持技術

鈴木 芳孝\*, 宮崎 清宏\*, 石川 豊\*\*, 鶴永 陽子\*\*\*, 今堀 義洋\*\*\*\*

\*高知県農業技術センター  
\*\*独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*\*広島文教女子大学  
\*\*\*\*大阪府立大学大学院農学生命環境科学研究科

青果物をフィルム包装する際、シール部に微細な空隙部を残してガス透過性を調整するパーシャルシール包装を青ネギに応用し、実用的な出荷法について検討した。黄化の抑制効果、異臭の発生およびヒートシール強度を考慮すると、新たに作成したシール部幅4mm、溶着幅0.4mm、非溶着幅0.6mmのタテ目と溶着幅7.6mm、非溶着幅2.4mmの斜め目を組み合わせたシール形状が青ネギのパーシャルシール包装として適すると考えられた。青ネギ1束150gを厚さ25 $\mu$ m、大きさ90mm $\times$ 740mmのOPP製袋で包装する夏季の輸送シミュレーション試験において、パーシャルシール包装と段ボール箱を組み合わせた新出荷法は、有孔包装と発泡スチロール容器を組み合わせた現行法に比べて、袋内が低濃度酸素・高濃度二酸化炭素で安定して推移し、葉の黄化が著しく抑制されるとともに、糖およびアスコルビン酸含量が高く保持された。

Partial Seal Packaging for Welsh Onions (*Allium fistulosum* L.)

Yoshitaka Suzuki\*, Kiyohiro Miyazaki\*, Yutaka Ishikawa\*\*, Yoko Tsurunaga\*\*\*, and Yoshihiro Imahori\*\*\*\*

\*Kochi Agricultural research Center  
\*\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization  
\*\*\*Hiroshima Bunkyo Women's University  
\*\*\*\*Graduate School of Agriculture and Biological Science, Osaka Prefecture University

農業施設, 41(3), 103-110 (2010)

Effects of sampling intervals on truck transport vibration levels

Fei Lu\*\*, Yutaka Ishikawa\*, Hiroaki Kitazawa\*, Takaaki Satake\*\*\*

\*Food Packaging Laboratory, Food Engineering Division, National Food Research Institute  
\*\*College of Food Science, Shenyang Agricultural University  
\*\*\*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

わが国の青果物輸送のほとんどはトラックによるものである。輸送中の振動を計測することにより実験室内での再現試験が可能となるが、振動計測の条件により、得られる振動波形が異なったものになることが報告されている。本研究では、トラックの振動を間欠計測する際のサンプリング間隔が振動特性に及ぼす影響を解析し、連続計測と同等の振動特性を得るための条件について検討した。長野から東京までモノ輸送中の20tトラックの荷台後部において輸送行程全振動を連続計測した。ここから一定間隔で振動をサンプリングし、パワースペクトル密度(PSD)解析を行った。サンプリング間隔が長い場合には連続波形とのずれが大きくなり、実際の振動を再現できないことが明らかとなった。一般道路、高速道路ではそれぞれ60秒毎に4秒および2秒以上のサンプリングを行うことによりトラックの輸送環境を再現できることがわかった。この違いは、一般道路が高速道路に比べて輸送中の路面凹凸などによる衝撃波発生の頻度が多いためと考えられた。

トラック輸送中の振動計測に及ぼすサンプリング間隔の影響

路 飛\*\*, 石川 豊\*, 北澤 裕明\*, 佐竹 隆顕\*\*\*

\* (独)農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所  
\*\*瀋陽農業大学 食品学院  
\*\*\*筑波大学

Food Biophysics, 5(4) 330–336 (2010)

Analysis of Flow Phenomena in Gastric Contents Induced by Human Gastric Peristalsis Using CFD

Hiroyuki Koza<sup>\*,\*\*</sup>, Isao Kobayashi<sup>\*</sup>, Mitsutoshi Nakajima<sup>\*,\*\*</sup>, Kunihiko Uemura<sup>\*</sup>, Seigo Sago<sup>\*\*</sup>, Sosaku Ichikawa<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>National Food Research Institute

<sup>\*\*</sup> Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

本研究では、CFD（数値流体力学）を利用してぜん動運動に誘起されるヒト胃内部の流体の挙動についてシミュレーションと解析を行った。我々は、ぜん動運動が起きる胃幽門部の二次元計算領域を作製した。胃壁の一部が筋収縮して幽門方向へ進行する波である ACW の動きは、本研究で作製した関数により良好に再現できた。ACW は、二つの特徴的な流れを誘起することがシミュレーション結果により示唆された。一つは、収縮部近傍で起きる ACW に逆行する流れであり、最も収縮した部分で最大（ACW の進行速度の約 4 倍）となった。もう一方は、ACW の後方で起きる渦流れであり、液状内容物の粘度の増大に伴って渦長が短縮する傾向にあった。また、内容物に作用するせん断力は収縮部で大きくなり、その最大値は  $20s^{-1}$  程度であると計算された。

CFD を用いたヒト胃のぜん動運動に誘起される胃内容物の流動状態の解析

神津 博幸<sup>\*\*\*</sup>, 小林 功<sup>\*</sup>, 中嶋 光敏<sup>\*,\*\*</sup>, 植村 邦彦<sup>\*</sup>, 佐藤 誠吾<sup>\*\*</sup>, 市川 創作<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>独立行政法人農研機構食品総合研究所

<sup>\*\*</sup>筑波大学大学院生命環境科学研究科

Microfluidics and Nanofluidics, 10(4) 773–783 (2011)

Temperature Effect on Microchannel Oil-in-Water Emulsification

Katerina Burton Fujiu<sup>\*,\*\*</sup>, Isao Kobayashi<sup>\*</sup>, Kunihiko Uemura<sup>\*</sup>, Mitsutoshi Nakajima<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup>National Food Research Institute

<sup>\*\*</sup> Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

本研究では、温度がマイクロチャネル乳化における液滴作製に与える影響について特性評価を行った。マイクロチャネル乳化による水中大豆油滴 (O/W) エマルションの作製は温度が  $10^{\circ}\text{C}$  ~  $70^{\circ}\text{C}$  の間で制御されたモジュールの中で行われた。液滴径分布 4% 未満の単分散 O/W エマルションがいずれの操作温度でも安定的に作製可能であることが示された。得られた微小油滴のサイズは、温度の増加につれてわずかに縮小する傾向にあった。また、チャネルからの最大液滴作製速度は温度に大いに依存し、 $70^{\circ}\text{C}$  では  $10^{\circ}\text{C}$  の場合と比べて 8.1 倍の最大速度で均一サイズの微小油滴を作製可能であった。液滴作製時の分散相の流れは、接触角の影響を考慮したキャピラリー数により説明可能であることも示した。

O/W 型マイクロチャネル乳化における温度の影響

BUTRON FUJII Katerina<sup>\*,\*\*</sup>, 小林 功<sup>\*</sup>, 植村 邦彦<sup>\*</sup>, 中嶋 光敏<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup>独立行政法人農研機構食品総合研究所

<sup>\*\*</sup>筑波大学大学院生命環境科学研究科

Microfluidics and Nanofluidics, 10(6) 1199–1209 (2011)

Effect of Dispersed Phase Viscosity on Maximum Droplet Generation Frequency in Microchannel Emulsification Using Asymmetric Straight-Through Channels

Goran T. Vladislavjevic<sup>\*</sup>, Isao Kobayashi<sup>\*\*</sup>, Mitsutoshi Nakajima<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Chemical Engineering Department, Loughborough University, UK

<sup>\*\*</sup>National Food Research Institute

<sup>\*\*\*</sup> Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

本研究では、非対称貫通孔型チャネルを用いたマイクロチャネル乳化における均一サイズの微小油滴（大豆油、中鎖脂肪酸トリグリセリド、テトラデカン）の最大作製速度について検討した。作製された単分散水中油滴 (O/W) エマルションの平均液滴径と液滴径分布 (span) はそれぞれ約  $30\mu\text{m}$  と  $0.21 \sim 0.25$  であった。単分散 O/W エマルションの作製が可能な最大分散相流速は、分散相粘度の低下に伴って増加し、その値は大豆油系で  $120\text{L}/(\text{m}^2\text{h})$ 、テトラデカン系で  $2,700\text{L}/(\text{m}^2\text{h})$  であった。テトラデカン系の場合では、チャネルからの最大液滴作製速度は  $250\text{ Hz}$  であり、乳化基板からの最大液滴作製速度は  $320\text{万 Hz}$  に達した。液滴を作製しているチャネルの最大割合は、大豆油系と中鎖脂肪酸トリグリセリド系ではほぼ 100% に達した一方、テトラデカン系では 50% 程度であった。

分散相粘度が非対称貫通孔型チャネルを用いたマイクロチャネル乳化における最大液滴作製速度に与える影響

Goran T. Vladislavjevic<sup>\*</sup>, 小林 功<sup>\*\*</sup>, 中嶋 光敏<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>英国 Loughborough 大学化学工学科

<sup>\*\*</sup>独立行政法人農研機構食品総合研究所

<sup>\*\*\*</sup>筑波大学大学院生命環境科学研究科

Carbohydrate Polymers, 82,3,742–746 (2010)

Inulin fructotransferase DFA III-producing from *Arthrobacter ureafaciens* D13-3

Kazutomo Haraguchi

National Food Research Institute, Japan

オリゴ糖 DFA IIIは多糖類イヌリンから酵素作用によって生産される。DFA IIIにはカルシウム、鉄などのミネラルの吸収を促進する作用がある。このため DFA IIIを配合した製品が薬局やコンビニエンスストアで販売されている。*Arthrobacter ureafaciens* D13-3株が生産する DFA IIIオリゴ糖合成酵素を精製し、その性質を検討した。粗酵素液である菌株の培養上清から、DEAE-トヨパールクロマト、Super Q-クロマト（2回）を行うことによって電気泳動的に均一な酵素を得た。精製操作を行うことによって、比活性は22.3倍に上昇し、活性の収率は23.6%であった。本酵素の反応至適 pH は5.0、反応至適温度は50℃であった。酵素の耐熱性について検討すると、70℃、30分まで安定であった。本酵素の分子量について検討すると、SDS-PAGEからは40KDa、ゲル濾過からは43KDaという値が得られた。このことから本酵素は単量体と推察された。酵素蛋白質のN-末端のアミノ酸配列をペプチドシーケンサーで分析した。その結果N-末端の配列はTTVYDVTTVDVPと分析された。イヌリンに本酵素を作用させてできる主生産物は DFA III、少量できる副生成物は GF、GF 2、GF 3であった。

*Arthrobacter ureafaciens* D13-3のイヌリンフルクトトランスフェラーゼ（DFA III生産型）

原口 和朋

農研機構・食品総合研究所

Bioresource Technology, 102(2) 1844–1848(2011)

A UV-induced mutant of *Pichia stipitis* with increased ethanol production from xylose and selection of a spontaneous mutant with increased ethanol tolerance

Takashi WATANABE, Itsuki WATANABE, Mami YAMAMOTO, Akira ANDO, AND Toshihide NAKAMURA

National Food Research Institute

木材や稲わらのようなリグノセルロース系バイオマスからのエタノール生産においては、五炭糖（主にキシロース）の効率的な発酵が重要である。*Pichia stipitis* NBRC1687株を紫外線変異処理することで、キシロースからのエタノール生産性の向上した変異株 PXF58株を取得した。PXF58株はグルコース等からのエタノール生産性も向上していた。PXF58株をエタノール含有培地で継代培養した結果、エタノール耐性変異株 PET41株を取得することができた。PET41株は PXF58株よりも高いエタノール生産性を示した。

キシロースからのエタノール生産能が向上した *Pichia stipitis* の紫外線変異株とそのエタノール耐性が向上した自然突然変異株の選抜

渡部 貴志, 渡邊 樹, 山本 まみ, 安藤 聡, 中村 敏英

農研機構 食品総合研究所

Bioresource Technology, 101(24) 9710–9714(2010)

Selection of stress-tolerant yeasts for simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash to ethanol

Takashi WATANABE\*, Sathaporn SRICHUWONG\*, Mitsuhiro ARAKANE\*, Seiji TAMIYA\*\*, Masaru YOSHINAGA\*\*\*, Itsuki WATANABE\*, Mami YAMAMOTO\*, Akira ANDO\*, Ken TOKUYASU\*, AND Toshihide NAKAMURA\*

\*National Food Research Institute

\*\*National Agricultural Research Center for Hokkaido Region

\*\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

高濃度エタノールの生産は、発酵槽の容量や蒸留に必要なエネルギーを減少させる。我々は保存酵母株の中から浸透圧耐性株を検索し、3株のバイオエタノール生産用酵母の候補株を選抜した。候補株はすべて *Saccharomyces cerevisiae* であり、特に NFRI3225は耐熱性にも優れていた。バレイショ磨砕物の超高密度同時糖化発酵によるエタノール生産においても、NFRI3225は候補株の中でも最も良いエタノール生産能を有しており、産業利用されているコントロール株よりも優れたエタノール生産性を示した。

バレイショ磨砕物の超高密度同時糖化発酵によるエタノール生産に最適なストレス耐性酵母の選抜

渡部 貴志\*, Sathaporn SRICHUWONG\*, 荒金 光弘\*, 田宮 誠司\*\*, 吉永 優\*\*\*, 渡邊 樹\*, 山本 まみ\*, 安藤 聡\*, 徳安 健\*, 中村 敏英\*

\*農研機構 食品総合研究所

\*\*農研機構 北海道農業研究センター

\*\*\*農研機構 九州沖縄農業研究センター

Strategy for simultaneous saccharification and fermentation  
using a respiratory-deficient mutant of *Candida glabrata* for bioethanol production

Itsuki WATANABE, Toshihide NAKAMURA, AND Jun SHIMA

National Food Research Institute

同時糖化発酵による不溶性原料からのエタノール生産において、高温と攪拌は非常に有効である。効率的な同時糖化発酵を行うために、高温耐性酵母 *Candida glabrata* の呼吸欠損変異株を取得した。呼吸欠損変異株は同時糖化発酵において、高いエタノール生産性を示した。

バイオエタノール生産における *Candida glabrata* 由来呼吸欠損変異株を用いた同時糖化発酵の戦略

渡邊 樹, 中村 敏英, 島 純

農研機構 食品総合研究所

Biochimica et Biophysica Acta – Proteins and Proteomics, 1814(3),428–434(2010)

バチルス・サーキュランス T-3040株由来環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼの  
C末端領域の欠失変異による解析

舟根 和美\*, 川端 康之\*\*, 鈴木龍一郎\*, キム・ヨンミン\*\*\*, \*\*\*\*, カン・ヒゴン\*\*\*,  
鈴木 喜大\*\*\*\*, 藤本 瑞\*\*\*\*, 木村 淳夫\*\*\*, 小林 幹彦\*\*\*\*\*

\* (独)農研機構食品総合研究所

\*\*大阪樟蔭女子大学食物栄養学科

\*\*\*北海道大学大学院農学研究院

\*\*\*\*韓国バイオサイエンス・バイオテクノロジー研究センター (KRIBB)

\*\*\*\*\* (独)農業生物資源研究所

\*\*\*\*\*実践女子大学生活科学部

環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ (CITase) はグリコシドヒドロラーゼファミリー66に属する。アミノ酸一次配列より CITase を5つの領域「N末端保存領域 (Ser 1–Gly403)」「CITase 特異的介在領域 (R 1 ; Tyr404–Tyr492)」「2つの保存領域 (R 2 ; Glu493–Ser596および R 3 ; Gly597–Met700)」「C末端非保存領域 (R 4 ; Lys701–Ser934)」に分けた。CITase はグルコース分子1~17個から成る環状イソマルトオリゴ糖 (CI; CI-7~CI-17) を合成する反応を触媒する酵素である。C末端の R 1~R 4 領域の働きを明らかにするため、15種類の欠失変異酵素を作製した。M123Δ (R 4 欠失), MA234 (R 1 欠失), MA23Δ (R 1 および R 4 欠失) は CI を合成したが、他の変異酵素は活性が消失していた。M123Δ, MA234 および MA23Δ はデキストラン40 に対する Km 値が上昇した。野生型と M123Δ は CI-8 を主に生産したが、MA234 と MA23Δ は CI-8 を特異的に生産する性質が消失した。MA234 と MA23Δ の kcat 値は減少し、温度および pH 安定性が低下した。欠失変異による解析から(1)R 2 と R 3 は活性発現に必須の領域である。(2)R 1 と R 4 は基質結合に関与する。(3)R 1 は CI-8 の生産にも関与する。ということが示唆された。

Deletion analysis of regions at the C-terminal part of cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase from *Bacillus circulans* T-3040

Kazumi Funane\*, Yasuyuki Kawabata\*\*, Ryuichiro Suzuki\*, Young-Min Kim\*\*\*,\*\*\*\*, Hee-Kwon Kang\*\*\*,  
Nobuhiro Suzuki\*\*\*\*\*, Zui Fujimoto\*\*\*\*\*, Atsuo Kimura\*\*\*, Mikihiko Kobayashi\*\*\*\*\*

\*National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

\*\*Faculty of Food Science and Nutrition, Osaka Shoin Women's University

\*\*\*Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University

\*\*\*\*KRIBB (Eco-Friendly Biomaterial Research Center, Jeonbuk Branch Institute,

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology)

\*\*\*\*\*Protein Research Unit, National Institute of Agrobiological Sciences

\*\*\*\*\*Department of Food and Health Science, Jissenn Women's University

Animal Science Journal, 81(5),564-568 (2010)

Determination of true absorption and fecal endogenous loss of zinc in goats

Ryota Hattori\*, Shin-ichiro Torii\*\*, Masayuki Funaba\*\*, Tohru Matsui\*\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Graduate School of Agriculture, Kyoto University

安定同位体亜鉛 (Zn) をトレーサーとして用い、反芻動物であるヤギにおける Zn の生体利用性 (真の吸収, および内因性糞中排泄) を検討した。日本ザーネン種の去勢雄ヤギ 3 頭に17日間, 供試飼料 (50mg/kg DM) を1日2回に分け等量給与した。11日目の朝に<sup>67</sup>Zn で標識し, 非吸収性マーカーのディスプロシウム (Dy) を含んだ飼料を給与した後に残りの非標識飼料を給与した。糞中 Zn 濃度, 糞中<sup>67</sup>Zn 排泄量, 糞中 Dy 濃度を測定した。見かけの Zn 吸収は  $-1.07 \pm 1.85\%$  ( $-0.009 \pm 0.016\text{mg/kg BW}$ ) であった。真の Zn 吸収は  $18.25 \pm 2.01\%$  ( $0.162 \pm 0.018\text{mg/kg BW}$ ) であった。内因性 Zn 糞中排泄は  $0.172 \pm 0.004\text{mg/kg BW}$  であり, 真の吸収と内因性糞中排泄から求めた消化管内 Zn 分泌量は  $0.210 \pm 0.009\text{mg/kg BW}$  であった。反芻動物においても, 安定同位体を用いた Zn の生体利用性を検討する方法が非常に有効であることが示された。

ヤギにおける亜鉛の真の吸収, 内因性糞中排泄の検討

服部 領太\*, 鳥居伸一郎\*\*, 舟場 正幸\*\*, 松井 徹\*\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*京都大学大学院農学研究科

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 75(1),159-161 (2011)

Characterization of an *Aspergillus oryzae* cysteinyl dipeptidase expressed in *Escherichia coli*

Ryota Hattori\*, Mayumi Matsushita-Morita\*, Junichiro Marui\*, Sawaki Tada\*,  
Satoshi Suzuki\*, Ikuyo Furukawa\*, Youhei Yamagata\*\*, Hitoshi Amano\*\*\*,  
Hiroki Ishida\*\*\*\*, Michio Takeuchi\*\*, Ken-ichi Kusumoto\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*\*Amano Enzyme Inc., Gifu R & D Center

\*\*\*\*Gekkeikan Sake Co Ltd.

大腸菌で発現させたアスペルギルス・オリゼー由来システイニルジペプチダーゼ (CdpA) の特性解析を行ったところ, システインを含むジペプチドに対して活性を示した。しかし一方で, その基質特異性は他の M20A ファミリーに属するジペプチダーゼと若干異なっていた。当該酵素活性は, 至適 pH が 7-8, pH 6-9, 40℃以下で安定であった。

服部 領太\*, 松下-森田真由美\*, 丸井淳一郎\*, 多田 功生\*, 鈴木 聡\*, 古川 育代\*,  
山形 洋平\*\*, 天野 仁\*\*\*, 石田 博樹\*\*\*\*, 竹内 道雄\*\*, 楠本 憲一\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*東京農工大学  
\*\*\*天野エンザイム株式会社  
\*\*\*\*月桂冠株式会社

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 74(5), 1000-1006, (2010)

Molecular cloning of *ocpO* encoding carboxypeptidase O of *Aspergillus oryzae* IAM2640

Hirotu Morita\*, Ken-Ichi Kuriyama\*, Noritaka Akiyama\*, Ayako Okamoto\*, Youhei Yamagata\*,  
Ken-Ichi Kusumoto\*\*, Yoshinao Koide\*\*\*, Hiroki Ishida\*\*\*\*, Michio Takeuchi\*

\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*National Food Research Institute, NARO

\*\*\*Amano Enzyme Inc., Gifu R & D Center

\*\*\*\*Gekkeikan Sake Co Ltd.

*Aspergillus oryzae* IAM2640株のカルボキシペプチダーゼ O はセリントタイプのカルボキシペプチダーゼである。本研究で著者らはカルボキシペプチダーゼ O をコードする *ocpO* を含む cDNA とゲノム DNA をクローン化し, 塩基配列を決定した。その結果, *ocpO* 遺伝子のサイズは 1, 816塩基対であり, そのタンパク質コーディング領域は472アミノ酸残基の成熟カルボキシペプチダーゼ O と50アミノ酸残基の付加的な N 末端配列よりなるプレプロ酵素をコードすると予想された。BLASTN 検索により, 全ゲノム配列決定に用いられた *A. oryzae* RIB40株から, *ocpO* 相同遺伝子である AO090020000351を見出した。この相同遺伝子と *ocpO* の違いは, わずか1塩基であった。この違いにより, RIB40株の同相同タンパク質の277番目のアラニンがプロリンに置換しており, AO090020000351を過剰生産し, 精製した。精製タンパク質はカルボキシペプチダーゼ O と同等の酵素学的性質を示し, カルボキシペプチダーゼ O と AO090020000351にコードされるプロテアーゼは同じ酵素であると結論した。

森田 寛人\*, 栗山 賢一\*, 秋山 典孝\*, 岡本 綾子\*, 山形 洋平\*, 楠本 憲一\*\*,  
小出 芳直\*\*\*, 石田 博樹\*\*\*\*, 竹内 道雄\*

\*東京農工大学

\*\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*\*天野エンザイム株式会社

\*\*\*\*月桂冠株式会社

Overexpression and characterization of an extracellular leucine aminopeptidase from *Aspergillus oryzae*

Mayumi Matsushita-Morita\*, Sawaki Tada\*, Satoshi Suzuki\*, Ryota Hattori\*,  
Junichiro Marui\*, Ikuyo Furukawa\*, Youhei Yamagata\*\*, Hitoshi Amano\*\*\*,  
Hiroki Ishida\*\*\*\*, Michio Takeuchi\*\*, Yutaka Kashiwagi\*\*\*\*\*, Ken-Ichi Kusumoto\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology  
\*\*\*Amano Enzyme Inc., Gifu R & D Center  
\*\*\*\*Gekkeikan Sake Co Ltd.  
\*\*\*\*\*Tokyo University of Agriculture

ロイシニアミノペプチダーゼ (LAP) は食品産業において利用されているエキソ型ペプチダーゼであり、ペプチド基質のアミノ末端から主にロイシン (Leu) を遊離する。本研究では、*Aspergillus oryzae* RIB40株のロイシニアミノペプチダーゼ A 遺伝子 (*lapA*) に焦点を当てた。*LapA* 酵素の精製と特性解明のため、*A. oryzae* RIB40株において *amyB* プロモーターを利用し、*lapA* の過剰生産を行った。*lapA* 発現プラスミドを導入した形質転換体のうち一株は、培養上清で宿主株の33倍の LAP 活性を示した。その培養上清から組換え *LapA* 酵素を精製した。精製酵素は33kDaの分子量を有し、そのN末端のアミノ酸であるチロシンは、推定アミノ酸配列の80番目であった。酵素活性は60℃, pH8.5で至適であり、温度60℃まで、pH7.5-11の範囲で安定であった。転写解析の結果から、*lapA* 遺伝子はアルカリ条件下で誘導され、通常の培養条件では比較的低い発現量であった。*LapA* 酵素は合成基質ではロイシンパラニトロアニリド (Leu-pNA) に対する活性が高く、続いて Phe-pNA (Leu-pNA の場合の39%の活性)、Met-pNA, Lys-pNA, Arg-pNA であった。また、*LapA* はトリペプチドより長いペプチドを好んで加水分解することがわかった。

松下 (森田) 真由美\*, 多田 功生\*, 鈴木 聡\*, 服部 領太\*, 丸井淳一郎\*, 古川 育代\*,  
山形 洋平\*\*, 小出 芳直\*\*\*, 石田 博樹\*\*\*\*, 竹内 道雄\*\*, 柏木 豊\*\*\*\*\*, 楠本 憲一\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*東京農工大学  
\*\*\*天野エンザイム株式会社  
\*\*\*\*月桂冠株式会社  
\*\*\*\*\*東京農業大学

Production of polygalacturonase by recombinant *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation using potato pulp

Satoshi Suzuki\*, Mari Fukuoka\*, Sawaki Tada\*, Mayumi Matsushita-Morita\*,  
Ryota Hattori\*, Noriyuki Kitamoto\*\*, Ken-Ichi Kusumoto\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*Food Research Center, Aichi Industrial Technology Institute

馬鈴薯デンプン滓は馬鈴薯デンプン工場から排出される低付加価値の副産物である。馬鈴薯デンプン滓に高付加価値を付与するため、馬鈴薯デンプン滓を発酵基質として組換え麹菌による固体発酵によりポリガラクトナーゼを生産する技術を開発した。馬鈴薯デンプン滓を用いた培地内にてポリガラクトナーゼを高生産する麹菌株 PGB 3 を作出するため、麹菌 *Takaamylase* 遺伝子プロモーターによって麹菌由来ポリガラクトナーゼ遺伝子 *pgaB* を高発現するベクター *pGBBmR* を作製し、麹菌 RIB40株の形質転換に用いた。PGB 3 株は馬鈴薯デンプン滓培地にて宿主株 RIB40より良好な生育を示し、約4.5倍のポリガラクトナーゼを生産した。その生産量は培養二日目に最大量を示し、1g 発酵基質あたり173単位であった。本研究により、馬鈴薯デンプン滓を利用した麹菌ポリガラクトナーゼ高生産系が開発された。

馬鈴薯デンプン滓固体発酵による組換え麹菌を用いたポリガラクトナーゼ高生産系の開発

鈴木 聡\*, 福岡 真里\*, 多田 功生\*, 森田 (松下) 真由美\*, 服部 領太\*, 北本 則行\*\*, 楠本 憲一\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
\*\*愛知県産業技術研究所 食品工業技術センター

Journal of Applied Microbiology, 109(1),156–165 (2010)

Characterization of recombinant prolyl aminopeptidase from *Aspergillus oryzae*

Mayumi Matsushita–Morita\*, Ikuyo Furukawa\*, Satoshi Suzuki\*, Youhei Yamagata\*\*,  
Yoshinao Koide\*\*\*, Hiroki Ishida\*\*\*\*, Michio Takeuchi\*\*, Kashiwagi Yutaka\*\*\*\*\*, Ken–Ichi Kusumoto\*

\*National Food Research Institute, NARO

\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*\*Amano Enzyme Inc., Gifu R & D Center

\*\*\*\*Gekkeikan Sake Co Ltd.

\*\*\*\*\*Tokyo University of Agriculture

プロリルアミノペプチダーゼ (PAP) は、ペプチドからアミノ末端のプロリンのみを遊離する。食品加工に利用される糸状菌 *Aspergillus oryzae* はこの酵素を微量生産する。本論文で、著者らは組換え PAP を *A. oryzae* の高発現系を用いて効率的に生産し、その生化学的性質を解明したので報告する。PAP をコードする遺伝子を、*A. oryzae* のタカアミラーゼ遺伝子 (*amyB*) プロモーター支配下で、制限的な発現条件において His–tag 融合タンパク質の形態で過剰発現させた。プロモーター発現抑制条件であるグルコース含有完全培地において生育した菌糸における PAP 活性は、誘導条件であるデンプン含有培地使用の場合の 2 倍の活性であった。無細胞抽出液として調製した同酵素を、2 段階のカラムクロマトグラフィーを利用して部分精製した。PAP は 6 量体と推定され、4 mol/l までの NaCl に対して耐塩性を示した。*Aspergillus oryzae* の PAP を *amyB* プロモーター抑制条件において、PAP 高発現株で生産し、比活性で 1800 倍に精製した。プロモーター誘導条件における PAP の過剰生産は、変則的なタンパク質折りたたみに起因すると考えられる不活性な PAP を増加させた。高い比活性と耐塩性を有する PAP は、発酵食品の製造工程において効果的に使用できると考えられる。

松下–森田真由美\*, 古川 育代\*, 鈴木 聡\*, 山形 洋平\*\*, 小出 芳直\*\*\*,  
石田 博樹\*\*\*\*, 竹内 道雄\*\*, 柏木 豊\*\*\*\*\*, 楠本 憲一\*

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

\*\*東京農工大学

\*\*\*天野エンザイム株式会社

\*\*\*\*月桂冠株式会社

\*\*\*\*\*東京農業大学

Journal of Bioscience and Bioengineering. 2010;109(5)479–486.

DNA microarray analysis suggests that zinc pyrithione causes iron starvation to the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

D. Yasokawa\*\*, S. Murata\*\*\*, Y. Iwahashi\*, E. Kitagawa\*\*\*, K. Kishi\*\*\*\*, Y. Okumura\*\*, H. Iwahashi\*\*\*

\*National Food Research Institute

\*\*Hokkaido Food Processing Research Center

\*\*\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

\*\*\*\*Japan Pulp and Paper Research Institute, Inc.

ジンクピリチオンはふけ対策用シャンプーおよび防汚船用ペンキとして使用されました。しかしながら、その作用様式についてほとんど知られていなかった。そこで我々は酵母 DNA マイクロアレイ上で、酵母の成長を半分程度阻害する量を用いて、遺伝子の発現状態を調べた。

ジンクピリチオン添加により発現が上昇した遺伝子の大半は、鉄輸送と関係がある遺伝子群であった。一方、ジンクピリチオン添加により発現が減少した遺伝子の多くはシトクロム (ヘム) の生合成と関係がある事が判明した。これらのデータは、ジンクピリチオンが厳しい鉄の飢餓を引き起こすことを示唆している。これらを確認するために、ジンクピリチオン添加培地に鉄を加えると、酵母の生育曲線はジンクピリチオン無添加培地での成長曲線と近似に回復した。これらの結果から、ジンクピリチオンの主要な毒性が鉄の飢餓から発生すると考えられた。

酵母 DNA マイクロアレイの結果は、ジンクピリチオンが酵母内で鉄の飢餓を発生させる事を示唆している

八十川大輔\*\*, 村田 里美\*\*\*, 岩橋由美子\*, 北河恵美子\*\*\*, 岸 克行\*\*\*\*, 奥村 幸広\*\*, 岩橋 均\*\*\*

\*食品総合研究所

\*\*北海道立総合研究機構食品加工研究センター

\*\*\*産業技術総合研究所

\*\*\*\*日本紙パルプ研究所

Conversion of 11-hydroxy-O-methylsterigmatocystin to aflatoxin G1 in *Aspergillus parasiticus*

Hongmei Zeng\*, Hidemi Hatabayashi\*, Hiroyuki Nakagawa\*, Jingjing Cai\*, Ryoya Suzuki\*, mi Sakuno\*\*,  
EToshitsugu Tanaka\*\*\*, Yasuhiro Ito\*, Kenneth C. Ehrlich (USDA), Hiromitsu Nakajima\*\*, Kimiko Yabe\*

\*National Food Research Institute, NARO  
\*\*Faculty of Agriculture, Tottori University,  
\*\*\*Kobe Institute of Health  
\*\*\*\*ARS, USDA

アフラトキシン生合成において、11-hydroxy-O-methylsterigmatocystin (HOMST) は aflatoxin B 1 (AFB 1) の前駆体であり、HOMST から AFB 1 の生成は OrdA 酵素が触媒することは既に報告されていたが、HOMST と aflatoxin G 1 (AFG 1) の関係は不明であった。本研究では、*Aspergillus parasiticus* の培地に HOMST を添加して培養したところ、AFB 1 に加えて AFG 1 が新たに生成し、HOMST は AFG 1 no 前駆体であることが確認された。さらに、また同カビの無細胞系を用いて酵素反応を詳細に検討したところ、サイトゾル画分、マイクロソーム画分、及び OrdA 酵素の添加が HOMST から AFG 1 の生成に必要であることが確認され、このことから、HOMST から AFG 1 の生成には少なくとも 3 種の酵素が関与することが明らかとなった。

*Aspergillus parasiticus* における 11-hydroxy-O-methylsterigmatocystin から aflatoxin G 1 への変換

Hongmei Zeng\*, 畑林 秀美\*, 中川 博之\*, Jingjing Cai\*, 鈴木 綾也\*, 作野 えみ\*\*,  
田中 敏嗣\*\*\*, 伊藤 康博\*, Kenneth C. Ehrlich, 中島 廣光\*\*, 矢部希見子\*

\* (独) 農研機構食品総合研究所  
\*\*鳥取大農学部  
\*\*\*神戸衛生研究所  
\*\*\*\*ARS, USDA

Structural and biochemical analyses of *Kluyveromyces marxianus*  $\beta$ -glucosidase: an intracellular GH3 enzyme with PA14 domain insertion

Erina Yoshida\*, Masafumi Hidaka\*\*, Shinya Fushinobu\*\*, Takashi Koyanagi\*, Hiromichi Minami\*,  
Hisanori Tamaki\*\*\*, Motomitsu Kitaoka\*\*\*\*, Takane Katayama\*, Hidehiko Kumagai\*

*Kluyveromyces marxianus* 由来  $\beta$  グルコシダーゼ (KmBglI) は糖加水分解酵素ファミリー 3 (GH 3) に属する。本酵素は、活性ドメインに糖結合に関与すると言われる PA14 ドメイン (pf07691) の挿入を持っている点で他の酵素と異なる。今回、本酵素の諸性質と解像度 2.55 Å のグルコース共結晶の構造を解析した。本酵素は二糖特異的であり、三糖以上のオリゴ糖の分解活性は低かった。鎖超特異性は PA14 を持たない大麦  $\beta$  グルコシダーゼ (ExoI) と異なっていた。KmBglI のサブサイト-1 構造は *Thermotoga maritima*  $\beta$  グルコシダーゼとほぼ一致し、ExoI と似ていたが、サブサイト+1 の構造はこれらと全く異なっていた。KmBglI では PA14 ドメインから伸びるループが触媒ポケットを覆いサブサイト+1 を形成し、基質サイズにより立体障害を与える構造を取っていた。変異解析の結果ループ構造が特異性発現に重要であることを明らかにした。

*Kluyveromyces marxianus* 由来  $\beta$  グルコシダーゼの構造および反応解析: PA14 挿入を持つ菌体内 GH 3 酵素

吉田永里奈\*, 日高 将文\*\*, 伏信 進矢\*\*, 小柳 喬\*, 南 博道\*,  
玉置 尚徳\*\*\*, 北岡 本光\*\*\*\*, 片山 高嶺\*, 熊谷 英彦\*

\*石川県立大学  
\*\*東京大学  
\*\*\*鹿児島大学  
\*\*\*\*食品総合研究所

Practical preparation of D-galactosyl- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4-L-rhamnose employing the combined action of phosphorylases

Masahiro NAKAJIMA, Mamoru NISHIMOTO, and Motomitsu KITAOKA

National Food Research Institute

4 種の酵素、スクロースホスホリラーゼ、UDP-グルコース-ガラクトース 1 リン酸ウリジリルトランスフェラーゼ、UDP-ガラクトース 4-エピメラーゼ、D-ガラクトシル- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4-L-ラムノースホスホリラーゼの複合酵素反応を利用し、D-ガラクトシル- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4-L-ラムノース (GalRha) の生成に成功した。反応は 1.1M のスクロース、1.0M の L-ラムノースを原材料とし、1.0mM の UDP-グルコースおよび 30 mM のリン酸存在下において上述の 4 種の酵素を添加してワンポットで行った。GalRha の生成量は 1 リットルの反応溶液中において 230 グラムにまで達していた (L-ラムノースからの反応収率は 71%)。反応終了後の溶液に酵母処理を行うことにより未反応のスクロースおよび副生成物のフラクトースを除去し、GalRha の結晶化を試みたが、結晶は得られなかった。そこで酵母処理後の反応液の一部よりゲルろ過カラムクロマトグラフィーにより GalRha の精製を行い、最終的に 49 グラムの GalRha 標品を得ることができた。

ホスホリラーゼの複合反応を利用した D-ガラクトシル- $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4-L-ラムノースホスホリラーゼの実用的調製法

中島 将博, 西本 完, 北岡 本光

食品総合研究所

Biotechnology and Bioprocess Engineering, 15 (2), 273–276 (2010)

Effect of growth temperature, induction, and molecular chaperones  
on the solubilization of over-expressed cellobiose phosphorylase  
from *Cellvibrio gilvus* under in vivo conditions

Satya P. SINGH\*, M. K. PUROHIT\*, Chika AOYAGI\*\*, Motomitsu KITAOKA\*\*, and Kiyoshi HAYASHI\*\*

\*Saurashtra University  
\*\*National Food Research Institute

大腸菌に大量発現させた *Cellvibrio gilvus* 由来セロビオースホスホリラーゼは封入体を形成しやすかった。培養温度の低下および低発現条件では可溶性画分の比率が増加した。分子シャペロンの共発現は効果を示さなかった。

大量発現した *Cellvibrio gilvus* 由来セロビオースホスホリラーゼの可溶化に及ぼす培養温度、誘導条件、分子シャペロンの影響

Satya P. SINGH\*, M. K. PUROHIT\*, 青柳 千佳\*\*, 北岡 本光\*\*, 林 清\*\*

\*Saurashtra University  
\*\*食品総合研究所

Carbohydrate Research, 345 (13), 1901–1908 (2010)

Thermal decomposition of  $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-2-deoxy-D-hexopyranoses  
under neutral conditions

Kazuhiro Chiku, Mamoru NISHIMOTO, and Motomitsu KITAOKA

National Food Research Institute

$\beta$ -D-ガラクトピラノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-2-アセトアミド-2-デオキシ-D-グルコース (LNB) および  $\beta$ -D-ガラクトピラノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ガラクトース (GNB) は加熱により D-ガラクトースおよびそれぞれの2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ヘキソースに対応した誘導体 (2-アセトアミド-2,3-ジデオキシヘキソ-2-エノフラノースおよび二環式2-アセトアミド-3,6-アンヒドロ-2-デオキシヘキソフラノース) に急速に分解することを明らかにした。本分解反応は一般的にグリコシド結合が安定だと考えられている中性条件下において起こり、90°C, pH7.5における LNB および GNB の半減期はそれぞれ8.1分, 20分だった。分解の pH 依存性からその不安定性はアルカリ条件下で O-結合型糖タンパク質の糖鎖においてよく見られるピーリング反応の拡張型であることが示唆された。また、このような中性条件下での分解が3位に O-結合を有する還元型アルドースにおいて共通して見られることが明らかとなった。

中性条件下における  $\beta$ -D-ガラクトピラノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-2-アセトアミド-2-デオキシ-D-ヘキソピラノースの熱分解

知久 和寛, 西本 完, 北岡 本光

食品総合研究所

Glycobiology, 20 (11), 1402–1409 (2010)

Cooperation of  $\beta$ -galactosidase and  $\beta$ -N-acetylhexosaminidase from bifidobacteria  
in assimilation of human milk oligosaccharides with type 2 structure

Mika MIWA\*, Tomohiro HORIMOTO\*, Masashi KIYOHARA\*, Takane KATAYAMA\*\*,  
Motomitsu KITAOKA\*\*\*, Hisashi ASHIDA\*, Kenji YAMAMOTO\*

\*Graduate School of Biostudies, Kyoto University  
\*\*Research Institute for Bioresources and Biotechnology, Ishikawa Prefectural University  
\*\*\*National Food Research Institute

ビフィズス菌は母乳栄養乳児腸内での優先種であり、乳児の健康に良い影響を及ぼす。ヒトミルクオリゴ糖 (HMOs) がビフィズス菌の腸内での最も重要な成長因子として作用すると考えられる。HMOs 構成分子は二種類の主要コア四糖 {ラクト-N-テトラオース (タイプ1鎖), ラクト-N-ネオテトラオース (タイプ2鎖)} を含む。我々は以前 *Bifidobacterium bifidum* のラクト-N-テトラオース代謝経路を解明した。今回同じ菌のラクト-N-ネオテトラオースの代謝経路について解明した。菌体結合型酵素である1種の  $\beta$ -ガラクトシダーゼ (BbgIII) および2種の  $\beta$ -N-アセチルヘキソサミニダーゼ (BbhI, BbhII) 遺伝子をクローニングした。BbgIII はラクト-N-ネオテトラオースをガラクトースとラクト-N-トリオース II に分解し、BbhI はラクト-N-トリオース II をさらに GlcNAc とガラクトースに分解した。BbhII はラクト-N-トリオース II 分解活性を示さなかった。BbgIII と BbhI の基質特異性は高いことから、これらの二酵素が HMOs 由来タイプ2鎖分解に関わっていることが示された。

ビフィズス菌由来  $\beta$ -ガラクトシダーゼと  $\beta$ -N-アセチルヘキソサミニダーゼの強調作用による  
ヒトミルクオリゴ糖由来タイプII糖鎖の分解

三輪 美佳\*, 堀本 智仁\*, 清原 正志\*, 片山 高嶺\*\*, 北岡 本光\*\*\*, 芦田 久\*, 山本 憲二\*

\*京都大学大学院生命科学研究科  
\*\*石川県立大学生物資源工学研究所  
\*\*\*食品総合研究所

Journal of Applied Glycoscience, 58, 1, 1–12 (2011)

A region- and stereo-selective parallel synthesis of five types of trigalactoses on a solid support as a model of a combinatorial oligosaccharide library

Shiro Komba<sup>\*,\*\*</sup>, Takeshi Terauchi<sup>\*</sup>, Sachiko Machida<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Biomolecular Engineering Laboratory, National Food Research Institute  
<sup>\*\*</sup>PRESTO, Japan Science and Technology Agency

固相樹脂上での糖鎖の位置および立体選択的パラレル合成が、新たな $\alpha$ 選択的グリコシド化法とUni-chemo Hydroxyl保護(UCHP)法の融合により達成された。dibutyl3,4-di-O-benzoyl-2,6-di-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosyl phosphateによる $\alpha$ 選択的グリコシド化は、ポリスチレンレジンを良く膨潤させることが可能なエーテル系溶媒としてシクロペンチルメチルエーテルを使用することにより高収率に進行した。5種類のトリガラクトース(Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-3Gal, Gal $\beta$ 1-3(Gal $\alpha$ 1-4)Gal, Gal $\alpha$ 1-4Gal $\beta$ 1-3Gal, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Gal, Gal $\alpha$ 1-4Gal $\beta$ 1-4Gal)は糖鎖のコンビナトリアルライブラリーモデルとして固相樹脂上で合成に成功した。

コンビナトリアル糖鎖ライブラリーモデルとしての固相樹脂上での5種類のトリガラクトースの位置および立体選択的パラレル合成

今場 司朗<sup>\*,\*\*</sup>, 寺内 毅<sup>\*</sup>, 町田 幸子<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所  
<sup>\*\*</sup>独立行政法人科学技術振興機構 さきがけ

.....  
Analytical and Bioanalytical Chemistry, 399, 1449–1453(2011)

Further application of size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics for characterization of biological macromolecules

Yasushi WATANABE<sup>\*</sup>, Yoji INOKO<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> National Food Research Institute  
<sup>\*\*</sup>Graduate School of Engineering Science, Osaka University

クロマトグラフィー分離直後の溶出液中のタンパク質の分子サイズ、分子量、および分子鎖構造などが評価できる手法である「小角X線散乱光学系を組み込んだサイズ排除クロマトグラフィー」に関して、これまで本手法が適用されていない中空球核構造のタンパク質複合体アポフェリチンと水溶性多糖ブルランの溶液中の構造特性についての解析結果を報告した。本手法は、農業・食品分野における多くの生体高分子の高度利用に役立つことが期待できる新規な生体高分子溶液構造解析法であり、今後さらに本手法の有効性を示していく意義があることを示した。

小角X線散乱光学系を組み込んだサイズ排除クロマトグラフィーの生体高分子の特性解析へのさらなる適用

渡邊 康<sup>\*</sup>, 猪子 洋二<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>農研機構・食品総合研究所  
<sup>\*\*</sup>大阪大学大学院基礎工学研究科

.....  
Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 75(1), 181–184, 2011

Five carboxin-resistant mutants exhibited various responses to carboxin and related fungicides

Yoko Shima, Yasuhiro Ito, Hidemi Hatabayashi, Akemi Koma, Kimiko Yabe

National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

コハク酸脱水素酵素を構成するサブユニットSdhB, SdhC, SdhDのいずれかにアミノ酸置換を持つAspergillus oryzae由来のカルボキシ耐性変異5株について、カルボキシ及びカルボキシの関連薬剤であるフルトラニル, o-toluanilide, ポスカリドが菌糸生育及びコハク酸脱水素酵素活性に与える影響を検討した。野生株ではo-toluanilideに対して明確な感受性を示さなかったが、他の薬剤に対しては有意に感受性を示した。それに対し、全てのカルボキシ耐性変異株はカルボキシに対して有意に耐性を示したにも関わらず、他の薬剤に対する感受性のパターンは大きく異なっていた。また、異なるアミノ酸置換を持つSdhB変異株間においても4種類の薬剤に対する感受性のパターンが異なっていた。これらの結果は4種類の薬剤のコハク酸脱水素酵素への作用機序が同一ではないことを示している。得られた知見は薬剤とコハク酸脱水素との分子間相互作用の解明に寄与する。

カルボキシ耐性を示す5種の異なる変異株はカルボキシ及びその関連薬剤に対して感受性が異なる

嶋 羊子, 伊藤 康博, 畑林 秀美, 小間 明美, 矢部希見子

(独)農研機構食品総合研究所

Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications  
F67, Part 1, pp.68–71 (2011) (Online 22 December 2010)

Crystallization and preliminary crystallographic analysis  
of the glycoside hydrolase family 115 alpha-glucuronidase from *Streptomyces pristinaespiralis*

Zui Fujimoto\*, Hitomi Ichinose\*\*, Peter Biely\*\*\*, Satoshi Kaneko\*\*

\*National Institute of Agrobiological Sciences

\*\*National Food Research Institute

\*\*\*Slovak Academy of Sciences

*Streptomyces pristinaespiralis* 由来  $\alpha$ -グルクロニダーゼ (SpGlcA115A) は、ヘミセルロース分解  $\alpha$ -グルクロニダーゼの新しいファミリーである糖質加水分解酵素ファミリー-115に分類される触媒ドメインを含む一本鎖ペプチドで構成されている。酵素は、多糖であるキシランとオリゴ糖から  $\alpha$  結合の 4-O-メチルグルクロン酸とグルクロン酸を加水分解する反応を触媒する。SpGlcA 115A はシッティングドロップ蒸気拡散法により 293K で結晶化させた。結晶は、空間群 R 3 と 1.9 Å の分解能で回折像が得られた。

*Streptomyces pristinaespiralis* 由来糖質加水分解酵素ファミリー-115  $\alpha$ -グルクロニダーゼの結晶化および予備的な結晶学的解析

藤本 瑞\*, 一ノ瀬仁美\*\*, Peter Biely\*\*\*, 金子 哲\*\*

\*農業生物資源研究所

\*\*農研機構 食品総合研究所

\*\*\*Slovak Academy of Sciences

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 74, No. 5, pp.1126–1128 (2010)

Development of a gene transfer system for the mycelia of *Flammulina velutipes* Fv-1 strain

Tomoko Maehara\*, Makoto Yoshida\*\*, Yasuhiro Ito\*, Shizuko Tomita\*, Koji Takabatake\*\*\*, Hitomi Ichinose\*, Satoshi Kaneko\*

\*National Food Research Institute

\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*\*Toyama Prefectural Agricultural, Forestry, and Fisheries Research Center, Forest Research Institute

*Flammulina velutipes* の遺伝子形質転換法を開発するために、trp 1 遺伝子プロモーターの制御下で hph 遺伝子を備えたベクターを構築した。F. *velutipes* では報告がなかったため、ベクターは、カルシウム-ポリエチレングリコール法によって菌糸体由来のプロトプラストへ組み込んだ。制限酵素を介した組み込み法により、形質転換効率は大幅に改善された。

*Flammulina velutipes* Fv-1 の菌糸体遺伝子導入系の開発

前原 智子\*, 吉田 誠\*\*, 伊藤 康博\*, 富田 静子\*, 高島 幸司\*\*\*, 一ノ瀬仁美\*, 金子 哲\*

\*農研機構 食品総合研究所

\*\*東京農工大学

\*\*\*富山県農林水産総合技術センター 森林研究所

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, Vol. 74, No. 8, pp.1722–1724 (2010)

Extracellular carbohydrate esterase from the basidiomycete *Coprinopsis cinerea* released ferulic and acetic acids from xylan

Kohsuke Hashimoto\*, Satoshi Kaneko\*\*, Makoto Yoshida\*

\*Tokyo University of Agriculture and Technology

\*\*National Food Research Institute

担子菌 *Coprinopsis cinerea* から細胞外糖質エステラーゼ (CcEst 1) をコードする cDNA を単離した。Pichia *pastoris* で発現させた組換えタンパク質 CcEst 1 は、メチルシナピン酸には作用しなかったが、p-ニトロフェニル酢酸、 $\alpha$ -naphthyl 酢酸およびメチルヒドロキシ桂皮酸に作用した。酵素は、小麦由来のアラビノキシラン及びアセチル化キシランから、フェルラ酸と酢酸をそれぞれ遊離させた。活性はエンド- $\beta$ -1,4-キシラーナーゼの添加により上昇した。  
& #8195;

担子菌 *Coprinopsis cinerea* 由来細胞外糖質エステラーゼはキシランからフェルラ酸と酢酸を遊離させる

橋本 広祐\*, 金子 哲\*\*, 吉田 誠\*

\*東京農工大学

\*\*農研機構 食品総合研究所

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, Vol. 74, No. 12, pp.2523–2525 (2010)

Improvement of the transformation efficiency of *Flammulina velutipes* Fv-1 using the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene promoter

Tomoko Maehara\*, Shizuko Tomita\*, Koji Takabatake\*\*, Satoshi Kaneko\*

\*National Food Research Institute

\*\*Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center, Forest Research Institute

エノキタケ FV-1 の異種遺伝子の発現レベルを改善するために、標的遺伝子の発現を制御するためのグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (gpd) 遺伝子のプロモーターを有する新しいベクターを構築した。大腸菌からのハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (hph) 遺伝子は、gpd プロモーターによって制御されたとき、トリプトファン合成酵素遺伝子 (trp1) プロモーターによって制御されたときに比べて、形質転換効率が3倍高かった。

グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子のプロモーターを使用したエノキタケ FV-1 の形質転換効率の向上

前原 智子\*, 富田 静子\*, 高島 幸司\*\*, 金子 哲\*

\*農研機構 食品総合研究所

\*\*富山県農林水産総合技術センター森林研究所

Carbohydrate Research, Vol. 345, No. 18, pp.2648–2656 (2010)

Carbohydrate structural analysis of wheat flour arabinogalactan protein

Theodora Tryfona\*, Hui-Chung Liang\*, Toshihisa Kotake\*\*, Satoshi Kaneko\*\*\*, Justin Marsh\*\*\*\*, Hitomi Ichinose\*\*\*\*, Alison Lovegrove\*\*\*\*, Yoichi Tsumuraya\*\*, Peter R. Shewry\*\*\*\*, Elaine Stephens\*, Paul Dupree\*

\*Cambridge University

\*\*Saitama University

\*\*\*National Food Research Institute

\*\*\*\*Rothamsted Research

パン小麦粉 (*Triticum aestivum* L. variety Cadenza) から水抽出したアラビノガラクトタンプロテイン (AGP) のアラビノガラクトン (AG) 成分の構造を調べた。さまざまな AGP 特異的酵素により AG から遊離されたオリゴ糖を、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-TOF/MS), MALDI-ToF/ToF 高エネルギー衝突誘起解離 (CID), 糖質ゲル電気泳動分析による多糖類解析 (PACE) により分析した。AG は、 $\beta$ - (1 → 6) -D-ガラクトタン側鎖を持つ  $\beta$ - (1 → 3) -D-ガラクトンの骨格からなる。これらの側鎖は、長さによりばらつきがあるが、 $\alpha$ -L-アラビノフラノースで高度に置換された、1個から少なくとも20個のガラクトース残基からなる。いくつかの短い  $\beta$ - (1 → 6) -ガラクトタン側鎖の非還元末端には1つのグルクロン酸残基が存在した。加えて、 $\beta$ - (1 → 6) -ガラクトタン側鎖は  $\beta$ -L-アラビノピラノースで置換されていた。これらの結果から、以前のモデルを大幅に改めた小麦粉 AGP の多糖類の構造を提案する。

小麦粉アラビノガラクトタンプロテインの糖鎖構造解析

Theodora Tryfona\*, Hui-Chung Liang\*, 小竹 敬久\*\*, 金子 哲\*\*\*, Justin Marsh\*\*\*\*, 一ノ瀬仁美\*\*\*, Alison Lovegrove\*\*\*\*, 円谷 陽一\*\*, Peter R. Shewry\*\*\*\*, Elaine Stephens\*, Paul Dupree\*

\*Cambridge University

\*\*埼玉大学

\*\*\*農研機構 食品総合研究所

\*\*\*\*Rothamsted Research

Carbohydrate Research, Vol. 345, No. 17, pp.2516–2522 (2010)

Degradation of carbohydrate moieties of arabinogalactan–proteins  
by glycoside hydrolases from *Neurospora crassa*

Ryohei Takata\*, Keita Tokita\*, Satoko Mori\*, Ryohei Shimoda\*, Naoki Harada\*,  
Hitomi Ichinose\*\*, Satoshi Kaneko\*\*, Kiyohiko Igarashi\*\*\*, Masahiro Samejima\*\*\*,  
Yoichi Tsumuraya\*, Toshihisa Kotake\*

\*Saimata University

\*\*National Food Research Institute

\*\*\*University of Tokyo

アラビノガラクトタン–プロテイン (AGPs) はコアタンパク質に結合した巨大な糖鎖部分を有する植物プロテオグリカンのファミリーである。AGPの糖鎖部分は、一般的にL–アラビノースやグルクロン酸などの修飾糖が結合した $\beta$ –(1→3)(1→6)–ガラクトタンを骨格に持つ。本研究ではアカバシ由来の糖質加水分解酵素ファミリー (GHF) 54に分類される $\alpha$ –L–アラビノフラノシダーゼ NcAraf 1 と、GHF 5に分類されるエンド– $\beta$ –(1→6)–ガラクタナーゼ Nc 6 GALを同定した。

*Pichia pastoris* で発現させた NcAraf 1 の組換えタンパク質 (rNcAraf 1) は、ダイコンの AGP だけでなく、アラビナンやアラビノキシランなどを加水分解し、 $\alpha$ –L–アラビノフラノシル残基を含む多糖類に対して比較的幅広い基質特異性を示した。*Pichia pastoris* で発現させた組換え Nc 6 GAL (rNc 6 GAL) は、 $\beta$ –(1→6)–ガラクトシル残基にのみ作用した。

rNc 6 GAL 単独では、ダイコンの根由来 AGP はほとんど加水分解されなかったが、rNcAraf 1 と rNc 6 GAL の組み合わせにより、 $\beta$ –(1→6)–ガラクトタン側鎖の1つまたは2つのガラクトン残基にまで減少した。これらの結果は、AGPの糖鎖部分がアカバシから分泌された NcAraf 1 と Nc 6 GAL との協調作用によって分解されているを示唆している。

*Neurospora crassa* 由来糖質加水分解酵素によるアラビノガラクトタン–プロテイン糖鎖分解

高田 遼平\*, 常田 啓太\*, 森 智子\*, 下田 良平\*, 原田 直樹\*,  
一ノ瀬仁美\*\*, 金子 哲\*\*, 五十嵐圭日子\*\*\*, 鮫島 正浩\*\*\*, 円谷 陽一\*, 小竹 敬久\*

\*埼玉大学

\*\*農研機構 食品総合研究所

\*\*\*東京大学

Journal of Biological Chemistry, Vol. 285, No. 44, pp.34134–34143 (2010)

Crystal structure of an exo–1,5– $\alpha$ –L–arabinofuranosidase  
from *Streptomyces avermitilis* provides insights into the mechanism of substrate discrimination  
between exo– and endo–type enzymes in glycoside hydrolase family 43

Zui Fujimoto\*, Hitomi Ichinose\*\*, Tomoko Maehara\*\*,  
Mariko Honda\*\*, Motomitsu Kitaoka\*\*, Satoshi Kaneko\*\*

\*National Institute of Agrobiological Sciences

\*\*National Food Research Institute

*Streptomyces avermitilis* 由来のエキソ–1, 5– $\alpha$ –L–アラビノフラノシダーゼのインタクトな結晶構造を決定した。糖質加水分解酵素 (GH) ファミリー43に分類される触媒ドメインと、C末端側の糖結合モジュール (CBM) ファミリー42に分類されるアラビナン結合モジュールを持ち、それぞれ、5–bladed  $\beta$ –propeller 構造、 $\beta$ –trefoil 構造をしていた。糖複合体構造により、触媒ドメインには3つのサブサイトがあり、CBMには3つのアラビノース結合部位があることが明らかになった。変異体解析により、基質結合ポケットのアグリコン側に位置する Asn159, Tyr192, Leu289が基質特異性を調節していることが判明した。GH43のエンド型酵素の触媒クレフトのグリコン側に相当する部分は、Tyr281–Arg294のフレキシブルなループ領域と Tyr40残基によって塞がれており、本酵素のエキソ型の分解様式は、これらにより形成されるサブサイト–1の厳密なポケット構造によるものであった。

*Streptomyces avermitilis* 由来エキソ–1, 5– $\alpha$ –L–アラビノフラノシダーゼの立体構造は  
糖質加水分解酵素ファミリー43のエキソ型およびエンド型酵素の基質認識メカニズムに対する知見を提供する

藤本 瑞\*, 一ノ瀬仁美\*\*, 前原 智子\*\*, 本田真理子\*\*, 北岡 本光\*\*, 金子 哲\*\*

\*農業生物資源研究所

\*\*農研機構 食品総合研究所

Journal of Biological Chemistry, Vol. 285, No. 46, pp.35999–36009 (2010)

Recognition of the helical structure of  $\beta$ -1,4-galactan by a new family of carbohydrate-binding modules

Melissa Cid\*, Henriette Lodberg Pedersen\*\*, Satoshi Kaneko\*\*\*, Pedro M. Coutinho\*\*\*\*,  
Bernard Henrissat\*\*\*\*, William G.T. Willats\*\*, Alisdair B. Boraston\*

\*University of Victoria  
\*\*University of Copenhagen  
\*\*\*National Food Research Institute  
\*\*\*\*Universités Aix-Marseille

植物細胞壁多糖を分解する微生物酵素は、一般的にモジュールの複合体で、糖結合モジュール (CBM) をしばしば有している。Thermotoga maritima 由来エンド- $\beta$ -1, 4-ガラクトナーゼ未知モジュール (TmCBM61) の分析を通して、 $\beta$ -1, 4-ガラクトナーゼ活性を持つタンパク質が有する最も多くみられる CBM の新しいファミリーを同定した。多糖マイクロレイ、免疫蛍光顕微鏡検査および生化学分析により、TmCBM61が  $\beta$ -1, 4-結合のガラクトースを含むリガンドに特異性を示すことを明らかにし、新しいファミリー CBM61を創出した。TmCBM61の  $\beta$ -1, 4-ガラクトトリオースの糖複合体の X 線結晶構造 (分解能 0.95 および 1.4 Å) により、CBM の  $\beta$ -1, 4-ガラクトンに対する特異性の分子的機序が明らかになった。スターチの認識に似た結合様式を介してらせん形のガラクトン構造の認識に対する知見を提供する。

糖結合ファミリーモジュールの新規なファミリーによる  $\beta$ -1, 4-ガラクトンのらせん状構造の認識

Melissa Cid\*, Henriette Lodberg Pedersen\*\*, 金子 哲\*\*\*, Pedro M. Coutinho\*\*\*\*,  
Bernard Henrissat\*\*\*\*, William G.T. Willats\*\*, Alisdair B. Boraston\*

\*University of Victoria  
\*\*University of Copenhagen  
\*\*\*農研機構 食品総合研究所  
\*\*\*\*Universités Aix-Marseille

Plant Biotechnology, Vol.27, No. 3, pp.259–266 (2010)

Characterization of  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase related to the secondary cell walls formation in Arabidopsis thaliana

Hitomi Ichinose\*, Nobuyuki Nishikubo\*\*, Taku Demura\*\*\*, Satoshi Kaneko\*

\*National Food Research Institute  
\*\*Plant Science Center, RIKEN  
\*\*\* Nara Institute of Science and Technology

シロイヌナズナの導管形成時期特異的に発現する遺伝子 At 3g10740 はファミリー-51  $\alpha$ -L-アラビノフラノシダーゼをコードしている。組換え酵素の特性解析から、アラビノキシロオリゴ糖に最もよく作用することが明らかになり、ファミリー-10キシラーナーゼと共に二次壁形成時のキシラン制御に関与していることが示唆された。

Arabidopsis thaliana の二次壁形成に関与する  $\alpha$ -L-アラビノフラノシダーゼの特性解析

一ノ瀬仁美\*, 西窪 伸之\*\*, 出村 拓\*\*\*, 金子 哲\*

\*農研機構 食品総合研究所  
\*\*理化学研究所植物科学研究センター  
\*\*\*奈良先端科学技術大学院大学

Plant Biotechnology, Vol.27, No. 3, pp.273–281 (2010)

Molecular cloning of cDNAs encoding two glycoside hydrolase family 7 cellobiohydrolases from the basidiomycete Flammulina velutipes

Maki Ishiguro\*, Tomonobu Hori\*\*, Takuya Ishida\*, Makoto Yoshida\*\*, Koji Takabatake\*\*\*,  
Satoshi Kaneko\*\*\*\*, Kiyohiko Igarashi\*, Masahiro Samejima\*

\*University of Tokyo  
\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology  
\*\*\* Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center, Forest Research Institute  
\*\*\*\*National Food Research Institute

エノキタケのセルロース培養系から 2 種の糖質加水分解酵素 (GH) フリー-7 に属するセロビオヒドロラーゼを精製した。両酵素の推定アミノ酸配列は他の GH ファミリー-7 セルラーゼとよく似ていた一方で、セルロース基質の反応性に関与すると思われる触媒ドメインのループ構造にわずかな違いが認められた。

担子菌 Flammulina velutipes 由来糖質加水分解酵素ファミリー-7 セロビオヒドロラーゼをコードする cDNA のクローニング

石黒 真希\*, 堀友 宣\*\*, 石田 卓也\*, 吉田 誠\*\*, 高島 幸司\*\*\*, 金子 哲\*\*\*\*, 五十嵐圭日子\*, 鮫島 正浩\*

\*東京大学  
\*\*東京農工大学  
\*\*\*富山県農林水産総合技術センター森林研究所  
\*\*\*\*農研機構 食品総合研究所

木材学会誌, 第56巻第6号, 388-396頁 (2010)

エノキタケのトランスクリプトーム配列情報を用いた全分泌タンパク質解析

石黒 真希\*, 堀 千明\*, 片山 映\*\*, 五十嵐圭日子\*, 高島 幸司\*\*\*, 金子 哲\*\*\*\*, 鮫島 正浩\*

\*東京大学  
\*\*日本医科大学  
\*\*\*富山県農林水産総合技術センター森林研究所  
\*\*\*\*農研機構 食品総合研究所

エノキタケのトランスクリプトーム配列データベースを構築し, これを利用した菌体外酵素のセレクトーム解析を試みた. 種々のバイオマスまたは多糖を炭素源とした各培地においてエノキタケを培養し, 菌糸体から全RNAを抽出した. 得られた全RNAから構築された均一化cDNAライブラリの全配列を第2世代DNAシーケンサにより決定し, トランスクリプトーム配列データベースを構築した. 次に, セルロース培地から得たエノキタケの菌体外タンパク質を二次元電気泳動で分離し, トランスクリプトーム配列データベースを利用して, 得られたスポットの同定を試みた. その結果, 41個のスポットについて対応するコンティグ配列が帰属できたことにより多数の糖質分解関連酵素が同定され, エノキタケのようなゲノム配列未読菌においてもセレクトーム解析が可能であったことから, データベース化されたトランスクリプトーム配列情報の有効性が示された.

Secretome analysis using transcriptomic sequence database of *Flammulina velutipes*

Maki Ishiguro\*, Chiaki Hori\*, Akira Katayama\*\*, Kiyohiko Igarashi\*, Koji Takabatake\*\*\*, Satoshi Kaneko\*\*\*\*, Masahiro Samejima\*

\*University of Tokyo  
\*\*Nippon Medical School  
\*\*\*Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center, Forest Research Institute  
\*\*\*\*National Food Research Institute

木材学会誌, 第56巻第6号, 397-404頁 (2010)

セルロース培養系においてエノキタケが生産する糖質加水分解酵素ファミリー7セロビオヒドロラーゼの解析

石黒 真希\*, 堀友 宣\*\*, 吉田 誠\*\*, 高島 幸司\*\*\*, 金子 哲\*\*\*\*, 五十嵐圭日子\*, 鮫島 正浩\*

\*東京大学  
\*\*東京農工大学  
\*\*\*富山県農林水産総合技術センター森林研究所  
\*\*\*\*農研機構 食品総合研究所

エノキタケのセルロース培養系から精製した糖質加水分解酵素ファミリー7に属する2種のセロビオヒドロラーゼ (FvCel 7 A, FvCel 7 B) について特性解析を行った. p-ニトロフェニル- $\beta$ -D-ラクトシドを基質として両酵素の反応速度パラメータ (kcat/Km) を比較したところ, FvCel 7 B ( $0.15\text{s}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ ) が FvCel 7 A ( $0.069\text{s}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ ) の約2倍の反応速度を示した. しかしながら, 非結晶性セルロースの分解活性は FvCel 7 Aの方がFvCel 7 Bよりも高かったことから, 不溶性セルロースへの親和性はFvCel 7 Aの方が高いことが示唆されたが, 両酵素とも結晶性セルロースをほとんど分解しなかった. FvCel 7 Aは糖質結合性モジュールファミリー1に属するセルロース結合性ドメインを有しているが, 結晶性セルロースよりもキチンに対する吸着能が高かったことから, 結晶性セルロースを基質として利用できないことが考えられた.

Characterization of glycoside hydrolase family 7 cellobiohydrolases produced by *Flammulina velutipes* in cellulose-degrading culture

Maki Ishiguro\*, Tomonobu Hori\*\*, Makoto Yoshida\*\*, Koji Takabatake\*\*\*, Satoshi Kaneko\*\*\*\*, Kiyohiko Igarashi\*, Masahiro Samejima\*

\*University of Tokyo  
\*\*Tokyo University of Agriculture and Technology  
\*\*\*Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center, Forest Research Institute  
\*\*\*\*National Food Research Institute

## 付 録

## 「食品総合研究所研究報告」の編集について

## 1 方針

- (1) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究所 食品総合研究所研究報告（以下「研究報告」という。）には原著（報文、研究ノート及び技術報告）と学会誌等発表論文の抄録を登載する。原著は他誌に未発表のものに限る。研究ノートは新知見を含むが報文にまとめ得ないもの、技術報告は報文にまとめ得ないが食品分野の研究及び産業に寄与する有用なデータを含むものとする。
- (2) 原著論文については、編集委員が選定した査読者による査読を行う。
- (3) 原著論文の投稿に際しては、事前に所属領域長の承認及び内容の確認を得て行う。
- (4) 当研究所の職員が学会誌に発表した研究論文は、抄録として漏れなく登載することとする。
- (5) 当所の国連大学生の研究成果は、「国連大学生研究成果」抄録として登載する。
- (6) 研究報告の発行回数は、年1回程度とする。
- (7) その他、ここに定められていない事項は編集委員会で決定する。

## 2 原稿の提出部数

- (1) 原著原稿は正1部を提出し、電子ファイルを併せて提出する。なお、図及び写真で電子化できないものは、正原稿とは別に原図1部を提出する。
- (2) 抄録原稿は原稿1部の他、論文集として図書室保存用の別刷り1部を別途提出する。
- (3) 「国連大学生研究成果」抄録原稿は原稿1部を提出する。
- (4) 最終原稿は、電子化ファイルを提出する。ただし、図表等が電子化されていない場合は、この限りではない。
- (5) 原著については、原稿、原稿の電子ファイルともに、著者、事務局双方でバックアップを保管するものとする。

## 3 抄録原稿の記載要領抄録の構成は、学会誌名、巻・号、頁、発行年、題名、著者名、著者所属、論文要旨(和)及びキーワードとする。

- (1) 題名と著者名は日本語及び外国語を併記する。
- (2) キーワードは、5個を限度とする。

なお、外国語で書かれたキーワードは、外国語の後に日本語を括弧して入れることとする。

## 4 「国連大学生研究成果」抄録原稿の記載要領抄録の構成は、題名、著者名、所属研究室名、アドバイザー名、研究期間及び成果の要旨とする。

## 5 投稿論文の記載要領

## (1) 論文の構成

ア 報文と技術報告の構成は、表紙（表題・著者名等を記載）、英文要旨、本文、図・写真及び表とし、本文は緒言（記述にあたっては緒言の文字は省略）、実験方法、実験結果、考察（実験結果及び考察としても可）、要約、文献とする。

イ 研究ノートの構成は、本文の実験方法、実験結果、考察等の構成区分見出しを必要とせず直接必要な事項の字句を見出しにしてもよい。

なお、その他の構成は報文と同様とする。

ウ 著者の所属名称を記載する。和文の場合は、1ページ目に著者の所属名称を日本語、英語の両方で記載する。英文の場合は、1ページ目に英語で、和文要旨内には日本語で記載する。

## (2) 原稿の枚数

原稿はA 4判横組み・縦置き(26字×23行=598字)で作成し、報文及び技術報告は図表を含め20枚(刷り上がり6頁)程度、研究ノートは原稿枚数は10枚(刷り上がり3頁)以内とする。

ただし、編集委員会で認めた場合はこの限りではない。

また、原稿には通し番号を付ける。

## (3) 文章及び文字

ア 文章は、ひらがな、常用漢字、現代仮名づかい、「である」調とし、できるだけ簡潔、平易に記述する。

イ 専門用語は、原則として文部省学術用語審議会編「学術用語集」による。略号または記号を用いるときは、最初に用いる箇所で正式の名称を記し、括弧内に略号や記号を示す。

ウ 本文中の物質名や術語などは学術用語集に基づいた名称を用い、分子式やアルファベット表記を用いることは避ける。外国の人名や会社名はアルファベット表記とするが、周知の術語になっているものはカタカナ書きとする。

エ 誤読、誤植のおそれのある文字、記号、字体は、黒鉛筆で原稿に適切な指示を書き入れる。

オ その他の文字、記号、物理量等の表記については、「日本食品科学工学会誌」投稿論文記載要領に準ずる。

## (4) 図表及び写真

ア 図と表は最小限にとどめ、同一内容のものはいずれか一方とする。図は写真印刷に適した鮮明なものを作成し、タイトルは活字で入れる。

イ 写真は原則として白黒で印刷する。アート紙、またはカラー写真を希望する場合は編集委員会に申し出る。

## (5) 文献

文献の記載法については、「日本食品科学工学会誌」投稿論文記載要領に準ずる。なお、引用文献は本文の最後の一括して番号順に列記し、本文中の該当人名または事項の右肩に上付き文字で<sup>1)2)</sup>のように通し番号を付ける。

## (6) 英文要旨

原稿は上下左右に余白をとり、ダブルスペースで、タイプまたはワープロにより印字する。語数は報文と技術報告は200語程度、研究ノートは100語程度とする。

(7) 英文の投稿論文記載要領は特に定めないが、上記和文論文の記載要領を参考に用紙の上下左右に余白をとり、ダブルスペースでタイプまたはワープロにより印字する。

なお、英文校閲は原則として著者の責任で行うものとする。

英文要旨には和文要旨を併せて記載する。

## 6 校正

著者校正は原則として再校までとする。校正の際の字句の書換え及び追加は認めない。校正は赤ペンを使用し、校正の約束ごとは原則として日本印刷学会の方式に従う。

## 7 体裁

(1) A 4判、本文2段組とする。

(2) 装丁、奥付、目次、題名、著者名、英文要旨、見出し等の体裁は、編集委員会に変更しない限り従前どおりとする。

論文の受付日および受理日を原稿欄外に記載する。

改正 平成21年5月28日

改正 平成21年12月28日

## 1 はじめに

この記載要領は投稿規程により、論文投稿に当たって原稿を執筆するさいの指針として作成したものである。執筆に当たっては投稿規程とともによく読んで、体裁の整った理解しやすい論文を作成するように努めていただきたい。

## 2 投稿論文

**2.1** 用紙は A 4 判とし、縦長に置き、上下左右に各 3 cm 程度の余白を設け、11 ポイント程度の字の大きさを 27 行 (＝702 字) を横書きする。

### 2.2 投稿論文の構成と提出部数

投稿論文の構成は、(1)原稿送状、(2)表紙、(3)英文要旨およびその和訳、(4)本文、(5)表、(6)図 (写真を含む)、(7)図 (写真を含む) の説明原稿とする。

提出部数は、3 部とする。

受付後、審査に入ってから訂正原稿の提出部数は正副 2 部でよい。

著者は投稿原稿の完全な控えを手元に保存する。なお審査の過程で変更があった場合は、それらの控えもすべて保存する。

## 3 原稿送状および原稿送付先

本要領の末尾に添付した様式にしたがって必要事項を記入して提出する。原稿は下記事務局あて送付する。

原稿送付先

〒305-8642

茨城県つくば市観音台 2-1-12

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

食品総合研究所内

社団法人日本食品科学工学会

TEL : 029-838-8116 FAX : 029-838-7153

## 4 表紙

**4.1** 表紙には **4.5** の例のように、和文で題名および著者名を書き、欄外見出し、題名、著者名、所属、キーワード (日本語)、脚注の順に書く。

**4.2** 欄外見出しは著者名 (姓のみ、2 名の場合は併記し、3 名以上の場合は「筆頭著者の姓・他」とする) に続いて、題名を **15 字** 以内にまとめて書く。なお、欄外見出しは会誌の表紙題名としても使用される。

**4.3** 共著者の所属が筆頭著者のそれと異なる場合は、3 つまでは順番に共著者の氏名の右肩に「\*」「\*\*」「\*\*\*」を付け、4 つ以上の場合は \*<sup>1</sup>、\*<sup>2</sup>、\*<sup>3</sup>、\*<sup>4</sup>… とし所属 (著者の正式な所属機関名) と対応させる。内容に関する質疑、別刷り請求等のための連絡先代表者を指定する場合は、当該氏

名に「§」を付け (「\*」等があればそれに続ける)、脚注と対応させる。

**4.4** 脚注には著者の所属機関の郵便番号と住所を書く。なお、連絡先代表者を指定した場合、「連絡先 (Corresponding author)」と書く (メールアドレスを付記してもよい)。

## 4.5 表紙記載例

〔欄外見出し〕

食品・他：麴菌および鶏卵の量と魚醤油の品質

醤油麴量と鶏卵添加量がイカおよびイワシ魚醤油の品質に及ぼす影響<sup>†</sup>

食品花子、深海潜太<sup>\*</sup>、水産勝尾<sup>\*§</sup>、

畜産育雄<sup>\*\*</sup>、農業営子<sup>\*\*</sup>

独立行政法人機能食材研究所

\* 太平洋大学農林水産学系

\*\* 全国県農業畜産試験場

キーワード：5 語以内

……………〔脚注〕……………

〒929-0808 能登県いしる市薄口台 4-5-67

\* 〒288-9999 西南県南総市黒潮岬 3-2-1

\*\* 〒123-4567 全国県風見鶏市大豆が丘 5432-10

§ 連絡先 (Corresponding author), abcd@efg.hi.jk

## 5 英文要旨およびその和訳

**5.1** 英文要旨は報文および技術論文では、200 語程度とし、研究ノートおよび速報では 100 語程度とする。

**5.2** 下記 **5.4** の例のように、題名、次いで 3 行あけて著者名 (名、姓の順とし、先頭文字のみ大文字とする)、所属機関名および住所、所在地、次に 1 行あけて要旨本文を書く。

**5.3** 英文要旨には研究の目的、方法、結果および結論を述べる。キーワードを 5 語以内で付ける。

## 5.4 英文要旨記載例

Effects of Concentrations of "Shoyu Koji" and Egg on Quality of Fish Sauces of Squid and Sardine

Hanako Shokuhin, Senta Fukami\*, Katsuo Suisan\*<sup>§</sup>, Ikuo Chikusan\*\* and Eiko Nogyo\*\*

National Functional Food Stuff Institute, 4-5-67 Usukuchidai, Ishiru, Noto 929-0808

\*Institution of Agriculture, Forestry and Fisheries, Taiheiyou University, 3-2-1 Kuroshio-misaki, Nansou, Seinan 288-9999

\*\*Zenkoku Prefectural Agricultural and Livestock Experiment Station, 5432-10 daizugaoka, kazamidori, Zenkoku 123-4567

Fish sauces were prepared, using Japanese squid and sardine caught in the sea near Oni-ga-shima island. The quality of fish sauces was studied by changing Shoyu Koji and Ukokkei-egg concentrations during fermentation.……

Keywords :

## 6 本文

### 6.1 本文の構成

#### 6.1.1 報文および技術論文

構成区分は原則として緒言（記述に当たっては「緒言」という見出し字句は用いない）、実験方法、実験結果、考察（「実験結果および考察」としてもよい）、要約、謝辞（必要な場合）、文献とする。記述に当たっては、構成区分の見出し字句の前後は1行ずつあげ、見出し字句は行の中央に書く。

構成区分中の大見出し、中見出しおよび小見出しは、それぞれ1, 2, 3, ……、(1), (2), (3), ……、i), ii), iii), ……のように順次区別する。

中見出しまでは見出し字句をつけ、改行して文章を書き出す。小見出しは見出し字句をつけ、改行して文章を書くことを原則とするが、見出し字句のあとに「:」をつけて改行しないで文章を続けてもよい。見出し字句の最後にピリオドはつけない。

#### 6.1.2 研究ノートおよび速報

構成区分見出しを必要とせず、緒言（記述に当たっては「緒言」という見出し字句は用いない）、大見出し以下の区別で記述する。大見出しの見出し字句は原則として、直接必要な事項の字句を見出しとする。要約は大見出しにより、文献のみは構成区分見出しとする。

### 6.2 原稿の書き方

#### 6.2.1 文章および文字

文章は平易かつ簡潔な「である」調とする。英字、数字は原則として半角とする。

#### 6.2.2 専門用語は原則として文部科学省学術用語審議会

編「学術用語集」による。略語又は記号を用いるときは、最初に用いる箇所正式名称を書き、かっこ内に略語や記号を示す。

**6.2.3** 化合物名は原則としてIUPAC（国際純正応用化学連合）命名法に従い日本語で書く。

本文中では化学式を用いず、名称を用いて書く。長い化合物名の場合は、**6.2.2**に準じて略語を用いてもよい。また、化合物の名称として、一般に使用されるものを用いてもよい。

**6.2.4** 外国の人名、会社名などはアルファベット表記とする。ただし、例のように、周知の術語となっている人名はカタカナ書きでもよい。人名には敬称をつけない。

〔例〕 ケルダール分解法、ソモギー法、モール法、フェーリング液など

**6.2.5** 本文中に図、表を引用する場合、図、表が英文で書かれている場合はFig. 1, Table 1とし、和文で書かれている場合は図1, 表1とする。挿入位置を原稿用紙の右余白に Fig. 1, Table 1, 図1, 表1 のように指示する。

**6.2.6** 物理量の記号および使用上の規約は、なるべくIUPACの勧告に従う。付記1および「物理化学で用いられる量・単位・記号」(社)日本化学会標準化専門委員会監修、朽津耕三訳、(講談社サイエンティフィック、東京)(1991)、要約版は、化学と工業、42(3)、498-506(1989)。以下「IUPAC手引き」と略称)を参照する。

**6.2.7** 単位は付記2に準拠する。

**6.2.8** 動植物名は「文部科学省学術用語審議会編：学術用語集-動物編、植物編-大日本図書」「園芸学会編：園芸作物名編-養賢堂」などを参照し、カタカナ書きとする。学名は例1のように属（第1字目を大文字とする）、種、変種、亜変種の部分にイタリック書体とする。

〔例1〕 リンゴ→*Malus domestica* Borkh.

ウンシュウミカン→*Citrus unshiu* Marc.

動植物体の加工品は〔例2〕のように原則としてひらがなまたは漢字を用いる。

〔例2〕 コムギ→こむぎ粉、小麦粉

サケ→塩さけ

**6.2.9** 微生物の名称および用語については「日本細菌学会用語委員会編：最新版英和和英微生物学用語集（菜根出版、東京都千代田区平河町1-8-13 和田ビル）」などによる。また微生物の学名は、例のようにイタリック書体の印刷指定記号（付記5参照）をつける。

〔例〕 微生物の属名のみを記載する場合

*Aspergillus* sp.

属・種名を記載する場合

*Aspergillus oryzae*

亜種・変種などを記載する場合

*Bacillus cereus* var. *mycoides*

特定の菌株などを記載する場合

*Escherichia coli* K-12

**6.2.10** 酵素の分離精製，諸性質の解明および応用に関する論文では，対象酵素の酵素番号および系統名を必要箇所に記述する。酵素番号および系統名は国際生化学連合 (I.U.B.) 酵素委員会報告 “Enzyme Nomenclature Recommendations (1984) of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry, Academic Press (1984)” に準拠する。

〔例 1〕 グルコースイソメラーゼ (E.C. 5.3.1.5, D-Xylose ketol-isomerase)

論文で用いている酵素名が系統名と異なることから，酵素番号と系統名を記述する。

〔例 2〕 トリプシン (E.C. 3.4.21.4)

論文で用いている酵素名が系統名と同一のため，酵素番号だけを記述する。

**6.2.11** 数および数式については，付記および **6.2.6** の「IUPAC 手引き」を参照する。

**6.2.12** 引用文献番号は本文中の該当箇所に必要なます目を取り，「<sup>1)2)</sup>，<sup>2)~5)</sup>」のように上付きで指示する。文献番号は引用順に通し番号とし，本文の最後に「文献」としてまとめて書く。文献の書き方は付記 4 に従う。引用する文献は直接参照したものに限る。

**6.2.13** 本文中の脚注は原則として用いないが，やむを得ない場合には本文中の項目の右肩に \*，\*\* を用い，例のように書く。

〔例〕

(本文) ○○○○○○\*，○○○ .....

脚 注	{	* ○○○○○○○○ .....
		○○○○○ .....
		○○○○○ .....

(本文) ○○○○○○ .....

**6.2.14** 印刷上の活字の指定が必要な場合は，付記 5 に準拠し黒鉛筆で指示する。

**6.2.15** 本文原稿は欄外にページをつける。

## 7 図，写真および表

**7.1** 図と表は最小限にとどめ，同一内容のものはいずれか一方とする。

**7.2** 図・写真と表は，A4 サイズに原則ひとつずつとする。英文で図と表を作成する場合は，本文と独立して内容が理解できるような説明文を簡潔に書く。

### 7.3 図および写真

**7.3.1** 全ての図は，同一縮尺となるように調整し文字も印刷されたときを考慮し，大きさに気を付ける。印刷された文字の縦長が 1.5 mm 以下とならないようにする。グラフの縦軸の説明文字や物理量/単位は下方から上方へ向かって，横軸のそれは左から右へ横書きとする（ただし，

目盛の数字はこの限りでない）。

カラーの図の印刷料金は，付表 1 による。

**7.3.2** 写真は原図に準じ縮小して製版するので，A4 判厚手の上質白紙を台紙にして貼りつける。デジタルデータの場合は A4 判に出力する。写真印刷は原則として白黒写真とするが，原写真は白黒，カラーのいずれでもよい。カラー印刷を必要とする場合はカラー写真を用い，写真貼り付台紙左上に「カラー印刷」と記入する。原写真の右下隅には筆頭者の姓を記入する。

### 7.4 表

**7.4.1** 表は原則として A4 判を用いる。

**7.4.2** 表の題名は，表 1 又は Table 1 として表の上部に，説明などの注記は下部に書く。英文の場合，表題および表中の語句は最初の文字を大文字とし，以下は小文字とする。

著者の筆頭者の姓を表の右下隅に黒鉛筆で記入する。

## 8 掲載料

掲載料は付表 2 による

## 9 別刷

別刷の希望部数は原稿送状に明記する。

別刷料金は付表 3 による。

## 10 その他

刷り上がり 1 頁は，本文の場合，702 字詰め用の紙 3 枚，図表原稿の場合，4 枚に相当する。

著者校正は一度だけ行う。英文要旨および英文で書かれた図表については，英文校閲をすませているので，これに従う。

### 〔付記 1〕 物理量とその記号

**1.1** 物理量の記号は，論文ごとに定義を明示してから用いる。記号はラテン文字又はギリシャ文字の 1 字（ただし pH は例外）とし，必要な場合に添字（ラテン文字，ギリシャ文字，アラビア数字，ローマ数字から選ぶ），その他の記号をつけることができる。

**1.2** 物理量の記号は，イタリック体（斜体）で印刷するが，添字についてはそれ自体が物理量を表わすときはイタリック体とし，そうでない場合はローマン体（立体）とする。

**1.3** 物理量の値は，数値と単位の積である。物理量およびそれを表す記号は，特定の単位の採用を意味するものであってはいけない。（例：“長さを  $l$  とする” は正しいが，“cm で測った長さを  $l$  とする” は誤りである）

**1.4** 物理量の記号は **6.2.6** の「IUPAC 手引き」の 2 章に記載されているものについては，できるだけこれに準拠する。記載されていない物理量の記号は，**1.2** の原則に従ってなるべく慣用されているものを用いる。

「IUPAC 手引き」の 2 章から抜粋した記号を以下に示す。

(1) 空間と時間		
長さ	length	$l$
高さ	height	$h$
半径	radius	$r$
直径	diameter	$d$
面積	area	$A, A_s, S$
体積	volume	$V$
時間	time	$t$
速度	velocity	$v, u, w,$ $c$

(2) 力学		
質量	mass	$m$
密度	(mass) density	$\rho$
相対密度	relative density	$d$
力	force	$F$
圧力	pressure	$p, P$
重量	weight	$G, W$
運動エネルギー	kinetic energy	$E_k, T, K$
弾性率	modulus of elasticity	$E$
粘性率・粘度	viscosity	$\eta, \mu$

(3) 一般化学		
要素粒子の数	number of entities	$N$
物質質量	amount of substance	$n$
モル質量	molar mass	$M$
相対分子質量	relative molar mass,	$Mr$
(分子量)	(molecular weight)	
相対原子質量	relative atomic mass,	$Ar$
(原子量)	(atomic weight)	
(溶質) B のモル濃度	amount (of substance)	
	concentration of B,	$c_B, [B]$
(略して B の濃度)	(concentration of B)	
解離度	degree of dissociation	$\alpha$

(4) 熱力学		
熱	heat	$q, Q$
仕事	work	$w, W$
熱力学温度	thermodynamic temperature	$T$
熱容量	heat capacity	$C_p, C_v$
浸透圧	osmotic pressure	$\Pi$
(相対) 活量 (relative) activity		$a$
平衡定数	equilibrium constant	$K$

(5) 電気と磁気		
電荷	electric charge	$Q$
電流	electric current	$I$
電位	electric potential	$V$
電気容量	capacitance	$C$
誘電率	permittivity	$\varepsilon$
抵抗	resistance	$R$
抵抗率	resistivity	$\rho$

(6) 電磁放射		
波長	wavelength	$\lambda$
放射エネルギー	radiant energy	$Q$
透過率	transmittance, transmission factor	$\tau$
吸光率	absorptance, absorption factor	$\alpha, R$
吸光度 (常用対数) (decadic) absorbance		$A$
吸光係数, 吸収係数	absorption coefficient	$\varepsilon$
モル吸光係数 (常用対数) molar (decadic)		
	absorption coefficient	

## 〔付記 2〕 単位および単位記号の書き方

**2.1** 現在, 単位は国際的に SI (国際単位系を表す記号 (symbol) であって, 略号ではないので, どの国語でも SI と書く) 単位に統一されつつあるが (参考文献 1) を参照, ここでは SI および慣用されている単位の主なものを記載した. 論文の作成に当たっては, ここに記載した単位を選んで使用する. なお, ここに記載してない特定の量を表す単位については, 著者が論文中に定義を明確に示してから用いる.

**2.2** 単位記号はローマン体 (立体) で印刷し, 複数を意味する場合でも形を変えてはいけない. 又, 文末にくるとき以外はピリオドをつけない.

〔例〕 5 cm とし, 5 cms, 5 cm., 5 cms. とはしない.

**2.3** 接頭語と単位記号の間にはスペースをおかない.

**2.4** 2つの単位の積を示すときはセンターピリオドをおく.

〔例〕 N·m とし Nm としない.

**2.5** 2つの単位の商はスラッシュ (/) 又は割算の横線 (—), あるいは<sup>-1</sup>で示す. /は決して 2 回以上使用しない.

〔例〕 m/s,  $\frac{m}{s}$ , m·s<sup>-1</sup>

J/(K·mol) または J·K<sup>-1</sup>·mol<sup>-1</sup> とし, J/K/mol としない.

## 2.6 SI 接頭語

大きさ	接頭語	記号	大きさ	接頭語	記号
10 <sup>-1</sup>	デシ	d	10	デカ	da
10 <sup>-2</sup>	センチ	c	10 <sup>2</sup>	ヘクト	h
10 <sup>-3</sup>	ミリ	m	10 <sup>3</sup>	キロ	k
10 <sup>-6</sup>	マイクロ	$\mu$	10 <sup>6</sup>	メガ	M
10 <sup>-9</sup>	ナノ	n	10 <sup>9</sup>	ギガ	G
10 <sup>-12</sup>	ピコ	p	10 <sup>12</sup>	テラ	T
10 <sup>-15</sup>	フェムト	f	10 <sup>15</sup>	ペタ	P
10 <sup>-18</sup>	アット	a	10 <sup>18</sup>	エクサ	E

## 2.7 単位と単位記号の表

表中の \* 印は SI 基本単位を示し, \*\* は SI 組立単位で固有の名称と記号をもつものを示した.

(参考文献)

1) 国際単位系 (SI) - グローバル化社会の共通ルール - 日本語版国際文書第 7 版, 日本規格協会発行 (1998)

単位と単位記号の表

量	単位の名称 (SI 単位の定義)	単位記号			
長	さ	メートル (meter)*	m		
		マイクロメートル (micro meter)	$\mu\text{m}$		
		ナノメートル (nano meter)	nm		
面	積	平方メートル (square meter)	$\text{m}^2$		
		アール (are)	a		
		ヘクタール (hectare)	ha		
		(土地面積に限定)			
体	積	立方メートル (cubic meter)	$\text{m}^3$		
		リットル (liter), ( $\text{dm}^3$ )	l, L		
		キロリットル (kiloliter), ( $\text{m}^3$ )	kl, kL		
		ミリリットル (milliliter), ( $\text{cm}^3$ )	ml, mL		
		マイクロリットル (microliter), ( $\text{mm}^3$ )	$\mu\text{l}$ , $\mu\text{L}$		
平	面	角	ラジアン (radian)**	rad	
			度 (degree)	°	
			分 (minute)	'	
			秒 (second)	"	
立	体	角	ステラジアン (steradian)**	sr	
			間	秒 (second)*	s
				分 (minute), (60s)	min
				時 (hour), (3600s)	h
				日 (day), (86400s)	d
周	波	数	ヘルツ (hertz)**, ( $\text{s}^{-1}$ )	Hz	
			メガヘルツ (megahertz)	MHz	
回	転	数	回毎分 (revolutions per minute)	rpm	
			重	さ	キログラム (kilogram)*
グラム (gram)	g				
ミリグラム (milligram)	mg				
マイクログラム (microgram)	$\mu\text{g}$				
トン (ton), (Mg)	t				
物	質	量	モル (mole) *	mol	
			(g 分子, g 原子, g イオン, 「当量」などの語は SI 単位では廃止された)		
濃	度	・モル濃度 (molar concentration または molarity……1 L の溶液の中に含まれる溶質のモル数) (規定濃度 N は用いない)	mol/l, mol/L		
		・パーセント (percent) … (溶液中の 2 つの量の比) $\times 100$ , を意味する. パーセントを使う時は, 次のように, 重量と重量の比か, 容量と容量の比かを明確にして用いる.	%		
		・重量パーセント	% (w/w)		
		・容量パーセント	% (v/v)		
		・(重量/容量) パーセント	% (w/v)		
		・(容量/重量) パーセント	% (v/w)		
		・溶液 100 g 当たりの溶質のミリグラム	mg/100 g		
		・溶液 100 mL 当たりの溶質のミリグラム (mg% は用いない)	mg/100ml, mg/100mL		
		・parts per million	ppm		
		・parts per billion	ppb		
・parts per trillion	ppt				
		(何の比率か明示する)			

量	単位の名称 (SI 単位の定義)	単位記号
力	ニュートン (newton)** , ( $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ )	N
圧 力・応 力	パスカル (pascal)** , ( $\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$ )	Pa
粘 度	パスカル秒	$\text{Pa} \cdot \text{s}$
エネルギー・	ジュール (joule)** , ( $\text{kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$ )	J
熱 量	カロリー (calorie) , (4.184 J) (栄養・代謝に限定)	cal
温 度	ケルビン (Kelvin)*	K
	摂氏 (Celsius) , ( $0^\circ\text{C} = 273.15\text{K}$ )	$^\circ\text{C}$
電 流	アンペア (ampere)*	A
電荷・電気量	クーロン (coulomb) , ( $\text{s} \cdot \text{A}$ )**	C
電位差, 電位, 起電力}	ボルト (volt) , ( $\text{J} \cdot \text{A}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )**	V
静電容量	ファラド (farad) , ( $\text{A} \cdot \text{s} \cdot \text{V}^{-1}$ )**	F
電気抵抗	オーム (ohm) , ( $\text{V} \cdot \text{A}^{-1}$ )**	$\Omega$
工率, 放射束	ワット (watt)**	W
インダクタンス	ヘンリー (henry) , ( $\text{V} \cdot \text{A}^{-1} \cdot \text{s}$ )**	H
コンダクタンス	ジーメンズ (siemens) , ( $\text{A} \cdot \text{V}^{-1} = \Omega^{-1}$ )**	S
光 度	カンデラ (candela)*	cd
光 束	ルーメン (lumen) , ( $\text{cd} \cdot \text{sr}$ )**	lm
照 度	ルクス (lux) , ( $\text{m}^{-2} \cdot \text{cd} \cdot \text{sr}$ )**	lx
光 の 波 長	マイクロメートル (micrometer)	$\mu\text{m}$
	ナノメートル (nanometer)	nm
放射能, 放射線	ベクレル (becquerel, 放射性核種の放射能)** , ( $\text{s}^{-1}$ )	Bq
	グレイ (gray, 吸収線量)** , ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2} (= \text{J} \cdot \text{kg}^{-1})$ )	Gy
	カウント毎分 (counts per minute)	cpm
	シーベルト (sievert ; 線量当量)**	Sv

### 〔付記 3〕 数と数式

3.1 小数点は 0.101 とし , . 101 とはしない。

3.2 けた数の区切りは 5 530 000 とし , 5,530,000 としない。

3.3 積は  $101.325 \times 10^8$  とし  $101.325 \cdot 10^8$  としない。

3.4 範囲を示す場合は  $(1.0 \sim 1.5) \times 10^8$  又は  $(25 \pm 0.5)$   $^\circ\text{C}$  と書く。

3.5 数学的演算子 (d,  $\Delta$  など) および数学的定数 (e,  $\pi$ , i など) は, ローマン体で印刷する。

3.6 商を表わす斜線 (/) を用いるとき, 混同を避けるためかっこを必要とする。

・  $a+b/c+d (=a+bc^{-1}+d$  と混同する) とせずに  $(a+b) / (c+d)$  とする。

・  $(a/b) / c$  は  $a/b/c$  としてはならない。

3.7 二重の添字になる書き方はできる限り避ける。

### 〔付記 4〕 引用文献の記載法

#### 4.1 著者名

和文著者名は, 姓名共に書き, 英文著者名は姓を先にし, ついで first および middle name のイニシャルを書く。著者が複数の場合は, 各著者名の間に「,」を入れる。ただし,

英文の場合, 最後の名前の前は and のみを入れる。

#### 4.2 論文題名

引用論文の題名を書く。

#### 4.3 雑誌名

主な雑誌省略名を 4.9 に示した。これ以外の和文雑誌名は原則として略さない。欧文雑誌の省略名は原則として最近の Chemical Abstracts に従うこと。

本誌を引用する時は日食工誌, 第 42 巻以降は**食料工**とする。同じ雑誌が連続して引用される場合も“同上”, “ibid.” は用いないで繰返して書く。

#### 4.4 巻数, 頁数, 発行年

巻数はゴシック体で書く。巻数を表記しない雑誌では, 巻数の位置に発行年を西暦で書く。頁数は引用論文の最初と最後の頁数をーで結んで書き, 次いで発行年を ( ) で書く。

#### 4.5 単行本の場合

著者名, 章のタイトル, 書名, 版数, 巻数, 編集者名, 出版社, 発行地, 頁数 (最初と最後), 発行年の順に書く。

#### 4.6 特許の場合

特許権者または出願者名, 題名, 特許番号または公告番号, 年月日の順に書く。

#### 4.7 学会講演要旨集等の場合

学会要旨等は原則として引用しない。やむを得ず引用する場合は、講演者名、題名、学会大会資料名、頁数（複数頁の場合は最初と最後の頁数を一で結ぶ）、開催地、開催年の順に書く。

#### 4.8 文献記載例

- 1) 三ヶ日温子, 薩摩橙大, 温州みかんのカロチノイドに関する研究 (第2報) 近赤外線照射による温州ミカン果皮カロチノイドの変質, 食科工, **48**, 123-456 (2001).
- 2) Yoshida, K., Kirimura, O. and Danna, G., Change in the amount of SDS-insoluble membrane components by oxidants during breadmaking. *J. Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 99-999 (2001).
- 3) 佐藤昌康, 味の知覚, 「味覚の生理学」, 第1版 (朝倉書店, 東京), pp. 1-22 (1991).
- 4) Mendel, D.S., Gene and chromosome. In "Introduction to quantitative genetics," 1st ed. (Ronald. Press. Co.), pp. 9-99 (1999).
- 5) 三井清司, 色素分析一般, 「植物色素-実験・研究への手引き」, 第2版, 林孝三編, (養賢堂, 東京), pp. 93-150 (1988).
- 6) Yokota, T., Brassinosteroids. In "Comprehensive natural products chemistry," Vol. 8, eds. Barton, D.H.R., Nakanishi, K. and Meth-Cohn, O. (Vol. ed., Mori, K.), Pergamon, pp. 99-107 (1999).
- 7) 藤山京司, 早乙女成弘, 上島輝光, 小谷悠久, 浸透圧の測定方法及び装置, 特許第2802344号 (2001. 1. 11).
- 8) 深海潜太, 食品花子, 水産勝尾, 畜産育雄, 東京湾雑魚の魚種および異なる醤油麹が魚醤油の品質と成分に及ぼす影響, 日本食品科学工学会第48回大会講演要旨集, p. 47, 香川 (2001).

#### 4.9 雑誌略名表

日本栄養・食糧学会誌	薬学雑誌
園芸学会雑誌	日本化学会誌
生物工学会誌	日本農芸化学会誌
日本家政学会誌 (家政学雑誌)	日本細菌学雑誌
日本食品工業学会誌	日本作物学会紀事
日本食品科学工学会誌	日本畜産学会報
日本水産学会誌	食品衛生学雑誌
日本醸造協会誌	日本調理科学会誌
日本応用糖質科学会	

その他の雑誌は原則として略さない

(例) ビタミン	缶詰時報
分析化学	高分子化学
調味科学	味噌の科学と技術
衛生化学	油化学

食品照射 生化学  
化学と生物 食品衛生研究  
蛋白質・核酸・酵素

以下の雑誌はボールド部分のみ残し省略とした後はピリオドを打ち, 他を略す.

**Agricultural and Biological Chemistry**  
**Analytical Biochemistry**  
**Analytical Chemistry**  
**Applied and Environmental Microbiology**  
**Archives of Biochemistry and Biophysics**  
**Bakers Digest**  
**Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**  
**Biochemical and Biophysical Research Communications**  
**The Biochemical Journal**  
**Biochemistry**  
**Biochimica et Biophysica Acta**  
**Biotechnology and Bioengineering**  
**Carbohydrate Research**  
**Cereal Chemistry**  
**European Journal of Biochemistry**  
**FEBS Letters**  
**Federation Proceedings**  
**Food Science and Technology International, Tokyo**  
**Food Science and Technology Research**  
**Food Technology**  
**Food Technology in Australia**  
**HortScience**  
**International Journal of Food Science and Technology**  
**Journal of Agricultural and Food Chemistry**  
**The Journal of Applied Bacteriology**  
**Journal of Bacteriology**  
**The Journal of Biochemistry**  
**The Journal of Biological Chemistry**  
**The Journal of Cell Biology**  
**Journal of Chromatographic Science**  
**Journal of Chromatography**  
**Journal of Dairy Science**  
**Journal of Fermentation and Bioengineering**  
**Journal of Food Science**  
**Journal of Food Technology**  
**Journal of General Microbiology**  
**Journal of Lipid Research**  
**Journal of Molecular Biology**  
**Journal of Nutrition**  
**Journal of Stored Products Research**  
**Journal of Texture Studies**  
**Journal of the American Chemical Society**

*Journal of the American Oil Chemists Society*

*Journal of the American Society for Horticultural Science*

*Journal of the Association of Official Analytical Chemists*

*Journal of the Science of Food and Agriculture*

**Lipids**

**Nature**

**Phytochemistry**

**Plant and Cell Physiology**

**Plant Physiology**

*The Rice Journal*

**Science**

*Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung*

#### 〔付記5〕印刷上の活字の指示

##### 5.1 原則

誤読や、英字で誤植のおそれがある場合には、原稿に黒鉛筆で適切な指示を加える必要がある。以下にその例を示す。

##### 5.2 指示の例

空白は、□で指示する。

例：12.3□mA□s

書体は次のように指示する。

ローマン体スモールキャピタル 下に二重直線

例：Analytical → ANALYTICAL

ボールド体（太文字） 下に波線

例：Analytical → **Analytical**

分析化学 → 分析化学

イタリック体 下に直線

例：Analytical → *Analytical*

ボールドイタリック体 下に直線と波線

例：Analytical → ***Analytical***

ギリシャ文字は、上にギと書く。イタリック体のときは下に直線を引く。

例： $\overset{\text{ギ}}{\Sigma} = \overset{\text{ギ}}{\Sigma} \underset{\text{ギ}}{\rho}$

特別な理由のない限り、立体のギリシャ文字は次のものに限る。

$\Gamma, \Delta, \alpha, \beta, \gamma, \delta, \mu, \Pi, \pi, \Sigma, \Omega$

添字は、上付きを∨、下付きをへで示す。添字の前後関係を明瞭に示すよう注意しなければならない。

上付き又は下付き記号としては、原則として次のものを用いることができる。

マル  
 $\cdot, /, ", \infty, *$   
 $+, -, \dagger, \ddagger, \Phi$   
ダガー      ダブルダガー      プリムソル

## 付 表

付表1 カラー（原色版）印刷料金（円）

カラー印刷
1頁 80 000 円

（備考）

- ・2頁以上で表裏印刷とならない場合、追加1頁当たり 40 000 円
- ・表裏印刷となる場合は、1枚2頁で2×80 000 円

付表2 掲 載 料 (円)

頁 数	報文, 技術論文	研究ノート, 速報
2以下	5 000	5 000
3	5 000	17 000
4	5 000	29 000
5	5 000	41 000
6	17 000	*
7	29 000	
	*	

\*以後1頁加えるごとに12 000 円を加算する

付表3 別刷価格表（抜粋） (円)

	50部（表紙なし）	100部（〃）	150部（〃）	200部（〃）
2頁	2 800	3 800	5 300	6 800
4頁	3 800	5 300	7 300	8 800
6頁	4 800	6 800	9 300	10 800
8頁	5 800	8 300	11 300	12 800
表紙付き加算	3 000	3 800	4 700	5 600

（注）一件につき手数料 800 円含む

カラー頁を含む別刷りの場合は、1部につき 40 円を加算する

付表4 英文校閲料（円）

1編	2 650
----	-------

食品総合研究所研究報告

第76号

平成24年3月 印刷 平成24年3月 発行  
(非売品)

編集者 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

発行者 食品総合研究所

所長 林 清

(〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12)

印刷所 茨城県土浦市大畑565-2

筑波印刷情報サービスセンター協同組合

本誌より転載・複製をする場合は食品総合研究所の許可を得て下さい。