

[成果情報名] 低温製粉装置および十割そば製造装置を利用した「水ごね十割手打ちそば」
[要 約] 新開発の低温製粉装置でそば全層粉の微粉末を調製できる。品質評価用十割そば製造装置を用いると「水ごね十割手打ちそば」を容易に製造できる。本技術は、ソバの品質評価、ソバを活用した食育や地域食料産業の創出に利用できる。
[部 署] 食品総合研究所・食品素材部・穀類利用研究室
[連絡先] 穀類利用研究室 029-838-8043 horigane@affrc.go.jp
[成果区分] 普及
[キーワード] ソバ、十割そば、品質評価、低温製粉、赤外分光分析

[背景・ねらい]

国土の75%が山地のわが国では、米、麦などの主要穀類の栽培が困難な地域が多く、雑穀類などを原料とした付加価値の高い農産加工技術の開発が求められている。ソバは、世界各地で栽培されており、日本人にも伝統食品のそば切りとして親しまれている。そば切りは、小麦などのつなぎを加えて調製される場合が多く、そば粉のみを原料とする十割そばに比べて風味が劣る。本研究では高品質そばを利用した食料産業の実用化を目指し、ソバ穀粒のタンパク質などの成分分布の解析、粒度の揃ったそば粉の調製技術の開発、そば切りの簡易な製造技術の開発を行う。

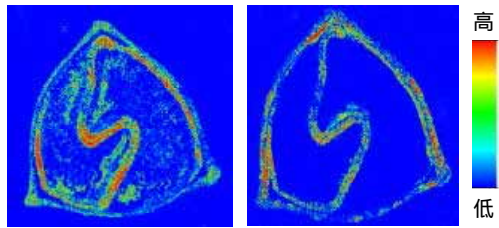
[成果の内容・特徴]

1. ソバ穀粒断面を赤外分光分析で調べると、つなぎに影響を及ぼすタンパク質、うまみに影響を及ぼす脂質は種皮と子葉の部分に多い(図1)。
2. 新たに開発した低温製粉装置(図2)を用いると「さな粉」として大部分が廃棄される子葉と種皮部を微粉末化できる。そば粉の粒度は、ステンレス製スパーサーを用いて調製できる。
3. 金属臼は YAG レーザーで微細な目立てができる。低温製粉装置の上臼を氷で冷却することにより平均粒度 0.08mm 以下の手打ちに適したそば全層粉を 30 以下の粉温で調製できる(図3)。
4. 新たに開発した品質評価用十割そば製造装置は、水分損失の少ない三爪の水回し器具、てこの原理を利用した加圧器具、中央部の直径を 1.2mm 細くした麺棒、および 2 軸ロールカッターで構成される(図4)。
5. 品質評価用十割そば製麺装置を利用すると「水ごね十割手打ちそば」を 10 分以内に調製でき、ソバの品質評価が容易である。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法は、特別な製麺技術を持たないソバ生産者、生産地域を訪れた観光客などが挽き立てそば粉でそば切りを製造できるため、食育や新しい地域食料産業の創出に利用できる。
2. 低温製粉装置、品質評価用十割そば製造装置は食品総合研究所の特許実施許諾のもとに市販されており、ソバ育成場所、農業生産団体、製粉会社等が導入している。
3. 低温製粉装置は、臼部の温度が上昇すると糊化し易い。臼を氷冷して、排出されるそば粉の温度を30 以下にする必要がある。
4. 低温製粉装置は金属臼を用いているため磨耗によりそば粉に異物が混入する可能性がある。業務用を利用する場合は磁石を用いて異物の鉄粉を除去することが望ましい。

[具体的データ]



タンパク質

脂質

図1 ソバ穀粒の赤外分光分析による成分分布解析



図2 低温製粉装置と金属臼 (CGM-100S、千穂田精衡)

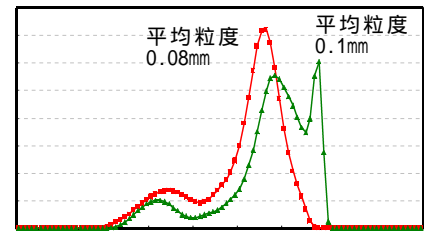


図3 ソバ全層粉の粒度分布
赤：低温製粉、緑：市販品



1. 加水



2. 水回し (2 ~ 3分)



3. 捏ね(2分)



4. 延し(2分)



5. 切り(1分)



6. 茹で(25秒)

図4 十割そば製造装置による低温製粉そば粉を用いたそば切りの調製方法

低温製粉装置で調製した平均粒度が 0.06 ~ 0.08mm 程度のそば全層粉はタンパク質が多く含まれるため「水ごね十割手打ちそば」を容易に調製できる。開発した十割そば製造装置を用いると加水から茹で上がりまで7 ~ 8分でそば切りの調製ができる。

[その他]

研究課題名：小麦等の栽培診断技術と品質評価技術の作物生産および農産加工への応用

予算の区分：交付金プロジェクト（形態・生理）

研究期間：2004 ~ 2007年度（平成16年度）

研究担当者：堀金彰、山田純代、引地良行(千穂田精衡株式会社)

発表論文等：

- 1) 堀金彰外、そば切りの水回し工程の解析、食科工誌、7、346-351(2004)
- 2) 堀金彰外、食品加工総覧、第3巻、製粉、122の14-122の18(2004)
- 3) 堀金彰外、食品加工総覧、第4巻、そば、270の8-270の12(2004)

[成果情報名] 食パンの製パン工程における最適ミキシング状態の可視化

[要 約] 開発された3次元可視化手法により、ミキシングの初期段階では、パン酵母の分布は均一にはなっておらず、最適とされている段階でパン酵母がパン生地中に均一に分布しており、さらにオーバーミキシングにした状態では、パン酵母の分布が再び不均一になることが観察できる。

[部 署] 食品総合研究所・食品工学部・電磁波情報工学研究室

[連絡先] 電磁波情報工学研究室 029-838-8047、sugiyama@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] ミキシング、パン酵母、可視化、蛍光、3次元

[背景・ねらい]

食パンの製パン工程において、ミキシング(混捏)工程はパン品質を左右する重要な工程である。多くの材料と多成分からなるパン生地中における数 μm サイズのパン酵母の分布状態は製品の仕上がり大きく寄与すると考えられている。しかし、実際にその3次元的な分布状況を把握することはこれまで困難であった。本研究は、パン生地中に分散しているパン酵母を3次元的に可視化するための観察手法を開発し、製パンミキシングの各工程におけるパン酵母の分布状態の解明を試みた。

[成果の内容・特徴]

1. パン酵母の菌体内で蛍光マーカー遺伝子を発現させて、パン酵母の表面が強く光る酵母を作る。
2. この酵母を加えたミキシング工程中における各段階で、パン生地を採取し、急速凍結する。
3. 凍結したパン生地を $1\mu\text{m}$ 毎に連続的に切削すると同時に、各断面を蛍光観察し、デジタル画像を取得する。(約300枚/サンプル)
4. 得られた画像をコンピュータ内で3次元に再構築し、検出された各パン酵母に異なった彩色を施し、パン生地自体には透明化を施す処理により、立体感を伴って全方位からの分布状態の把握が可能となる。
5. ミキシングの初期段階あるいは過剰な段階では、パン酵母の分布は均一にならなっており、その途中の最適とされている段階でパン酵母がパン生地中に均一に分布しており、さらにオーバーミキシングでは分布が偏ることが可視化により明らかになった。

[成果の活用面・留意点]

3次元の可視化には、試料を切削するスライサとその切削に同期しながら表面を蛍光観察する観察装置、および得られた画像に画像処理を施し、3次元に再構築する専用システムが必要である。

本手法は、酵母のみならず、グルテンの形成や気泡の分散の観察にも有効であり、今後、さらに3次元での分散状態の定量化技術を確立することで、小麦・小麦粉の違いや多様なミキシング条件による最適なミキシング状態の解明がなされ、新しい製パン技術の開発が期待される。

[具体的データ]

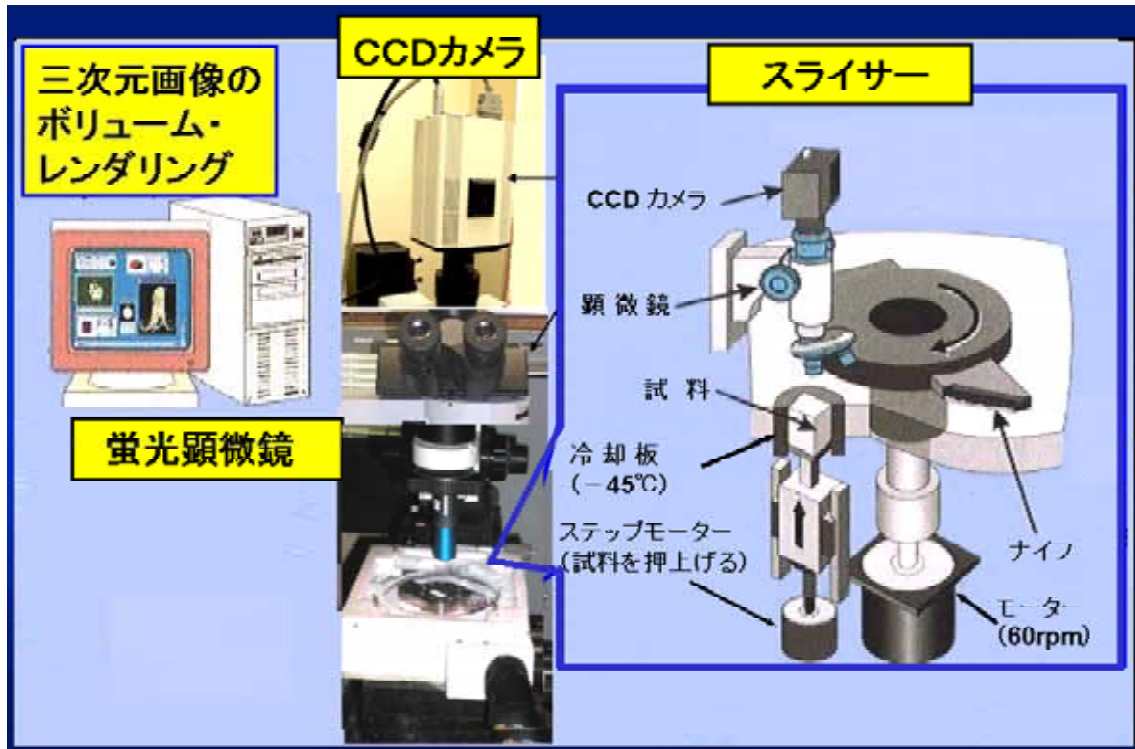


図1 計測システム

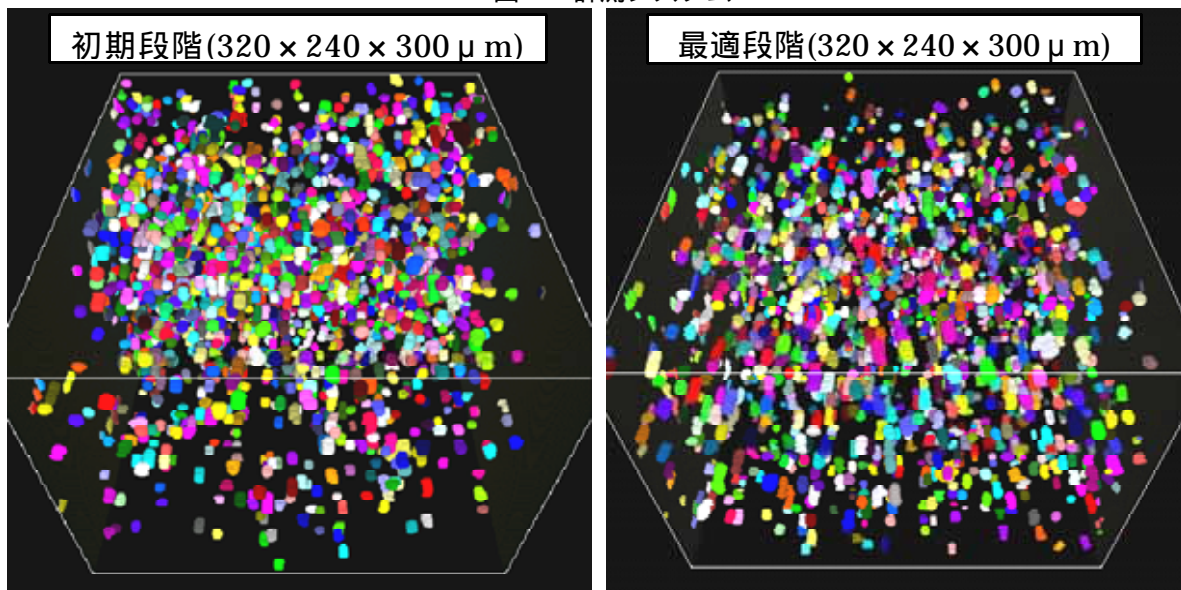


図2 ミキシング工程におけるパン酵母の分布状態

(可視化した酵母を3次元で見やすいように色を変えて表示。初期段階では、立方体内部の手前から後ろにかけて酵母が凝集しているが、最適段階では均等に分散している。)

[その他]

研究課題名：国産小麦の品質特性把握のためのパン生地微細組織構造の可視化

予算区分：技会交付金プロ（国際食品）

研究期間：2004～2006年度（2004年度）

研究担当者：杉山純一、前田竜郎（日清製粉）

発表論文等：

[成果情報名] 無機元素情報による国産と中国産ネギのスクリーニング判別

[要 約] Na、P、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Sr、Ba、Co、Ni、Rb、Mo、Cd、Cs、La、Ce、Tl の 19 元素の Mg に対する濃度比について線型判別分析(LDA)または/および SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy) を行うことにより、ネギ 1 本を 2 日以内に国産か中国産かのスクリーニング判別できる。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・分析研究室

[連絡先] 分析研究室 Tel & Fax : 029-838-8059 E-mail :

[成果区分] 普及

[キーワード] ネギ、原産地判別、無機元素分析、ケモメトリックス、線型判別分析、SIMCA

[背景・ねらい]

相次ぐ食品の原産地表示の偽装により、消費者の食品表示に対する不信感が増大している。消費者の食品表示に対する不信感を払拭するためには、食品の原産地表示を徹底させることが必要である。日本に輸入される生鮮ネギの大部分は中国産であるが、日本品種の開発輸入によるものであり、品種判別で産地は特定できない。ネギは生鮮野菜であるので迅速に判別することが求められているため、無機元素組成によりネギの原産国について、実用上十分な精度かつ迅速さで、立入検査等による表示監視活動の効率化に資するスクリーニング判別手法を開発した。

[成果の内容・特徴]

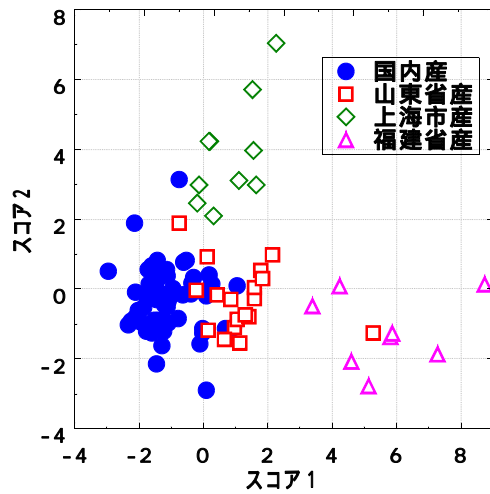
1. ネギ中の Mg に対する 19 元素の濃度比の組成に基づく迅速分析法を確立することにより、2 日以内にネギ1本について原産国をスクリーニング判別できる手法が確立できた。
2. 得られた分析データについての LDA では、モデリングに用いた 101 検体について 97 %の適中率で判別できた(図 1)。このモデルを用いた 119 検体のネギ 1 本についての予測では 93 %の適中率が得られ、ネギの原産国をスクリーニング判別することが可能であった。
3. 得られた分析データについての SIMCA では、モデリングに用いた 101 検体も合わせた 220 検体のネギ1本についての予測では 92 %の適中率が得られ(図 2、3)、ネギの原産国をスクリーニング判別することが可能であった。
4. LDA と SIMCA を組み合わせて判断したところ、国産を中国産とする誤りは 94 試料中ゼロだった。逆に中国産を中国産ではないとする誤りは 126 試料中 17 試料あった。両方の手法を組み合わせることで結果をクロスチェックでき、より信頼性の高い判別を行うことが可能である。
5. (独)農林水産消費技術センターの本部、横浜センター及び神戸センター担当課において、この手法を実際に使って判別する事前運用試験を行い問題のない結果が得られたことから、マニュアル化を行った。

[成果の活用面・留意点]

この手法は ICP-AES 及び ICP-MS 等、必要な設備のある機関であれば当マニュアルに沿って分析をすることで判別できるものであり、(独)農林水産消費技術センターのホームページ上に公開した(http://www.cfqlcs.go.jp/technical_information/hinpyou/index.htm)。

[具体的データ]

(a)



(b)

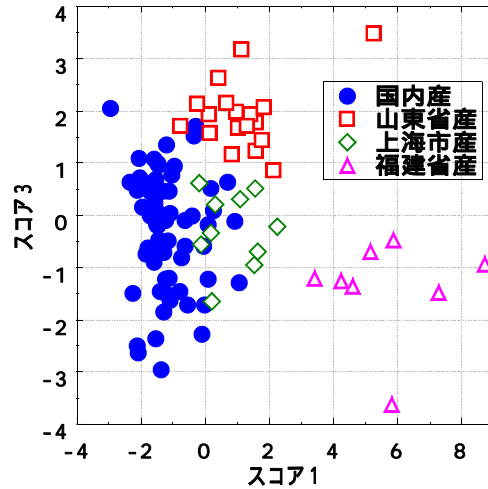


図1 11元素(Na、P、K、Ca、Co、Cu、Sr、Cd、Ce、Cs、Tl)のMgに対する濃度比に基づく101試料の判別得点1対2(a)と1対3(b)のプロット

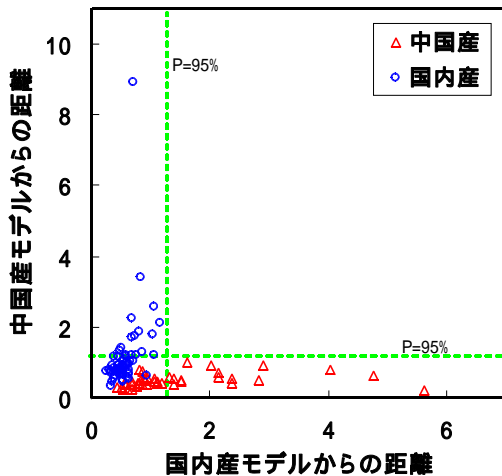


図2 19元素のMgに対する濃度比に基づくSIMCAによるPlot (モデリング試料): 国内産60試料、中国産41試料のデータを用いて構築したモデルによる、これらの試料の国内産と中国産モデルからの距離。

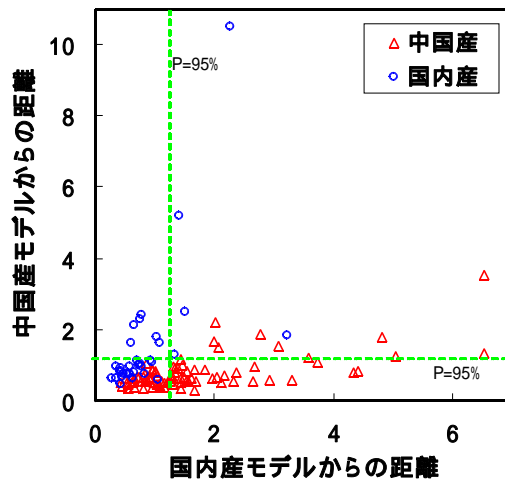


図3 19元素のMgに対する濃度比に基づくSIMCAによるPlot (予測試料): 101試料のデータを用いて構築したモデルによる、別の国内産34試料、中国産85試料の各クラス(国内産と中国産)からの距離。

[その他]

研究課題名：微量元素組成によるネギの原産国スクリーニング判別技術の開発

予算区分：行政対応特別研究(ネギ・イグサプロ)

研究期間：2001～2003年度

研究担当者：有山薫、堀田博、安井明美

発表論文等：

- 1) 有山薫、堀田博、安井明美、ネギの産地判別のための無機元素測定法の確立と予備的検討、分析化学、52(11)969-978(2003)
- 2) Ariyama K, Horita H, Yasui A, Chemometric Techniques on Inorganic Elements Composition for the Determination of the Geographic Origin of Welsh Onions, *Anal. Sci.* **20**, 871-877 (2004)
- 3) Ariyama K, Horita H, Yasui A, Application of Inorganic Element Ratios to Chemometrics for Determination of the Geographic Origin of Welsh Onions, *J. Agric. Food Chem.* **52**, 5803-5809 (2004)

[成果情報名] 分光装置の親機で開発した検量線の子機への簡易移設方法

[要 約] 分光装置の子機の親機に対する機差を複数試料のスペクトルの平均スペクトルから求め、その機差を子機のスペクトルから差し引くことにより、親機で開発した検量線をそのまま子機で利用できるようにする「分光装置応答特性の平準化法」を開発した。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・非破壊評価研究室

[連絡先] 非破壊評価研究室 029-838-8088 kawano@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 普及

[キーワード] 応答特性、平準化、糖度選別機、近赤外装置、検量線

[背景・ねらい]

分光器の親機で開発した検量線の子機で使用できるようにするため、分光装置の応答特性の違いから発生するスペクトルの歪みを補正する方法を提供することを目的としている。

従来、特定の分光器で開発した検量線を同規格の他の装置に移設する場合、化学分析値が既知の複数の試料を用いてバイアス(測定値の偏り)の補正をする必要があった。バイアス補正の作業は、検量線に移設する機器が少数の場合はあまり困難ではないが、果実糖度選別機のように 20 ~ 30 台のセンサーを同時に補正する場合、時間と多くの労力を必要とする。(図 1)

開発した「分光装置応答特性の平準化法」は、化学分析値を必要とすることなく、検量線の移設を容易に行うことを可能にする方法である。

[成果の内容・特徴]

1. 研究用の 2 台の近赤外装置を用い、同一のリンゴ(100 個)のスペクトルをそれぞれ測定し、一方の装置を親機、他方の装置を子機と見立てて、親機で作成した糖度用検量線の子機に移設し、同検量線を用いて子機でリンゴの糖度を推定したところ、 -0.42°Brix のバイアスが発生した。(図 2、図 4)
2. 従来の平準化法(MSC 処理によりゲインを調整する方法)に従って、スペクトルの強度を一定にするゲイン調整を施したが、バイアスの値は小さくならなかった。
3. 親機の平均 2 次微分スペクトルと子機の平均 2 次微分スペクトルを比較したところ、同スペクトル間に差(差スペクトル)が観察された。これは検出器の感度及び分光器の波長のそれぞれ僅かな違いによるものである。(図 3)
4. 子機で測定したリンゴ 100 個の 2 次微分スペクトルから差スペクトルを差し引くことにより平準化 2 次微分スペクトルを求め、すなわち「応答特性の平準化」を行い、この平準化 2 次微分スペクトルに上述した検量線を適用することにより、正確な糖度の値を得ることができた。(図 4)

[成果の活用面・留意点]

1. この「分光装置応答特性の平準化法」は、糖度選別機に限らず、一般の分光器に広く適用できる技術である。実験室等に設置された分光器(親機)で作成した検量線(定性分析用のキャリブレーションモデルを含む。)を、従来法によるバイアス補正の作業を行うことなく、容易に現場の分光器(子機)へ移設することが可能となる。
2. この技術は、「分光装置応答特性の平準化法」として特許出願中であり、利用を希望される方は上記「連絡先」へ要連絡。

[具体的データ]



図1 温州ミカンの糖度選別装置。各選果ラインのセンサーが分光装置の子機に相当する。

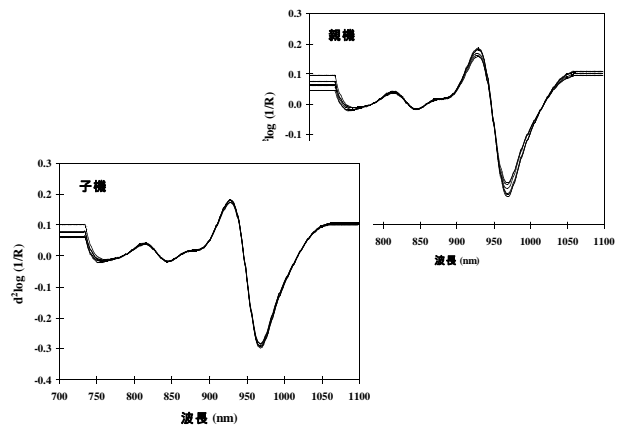


図2 2台の分光装置で測定したリンゴの2次微分スペクトル。右上：親機、左下：子機

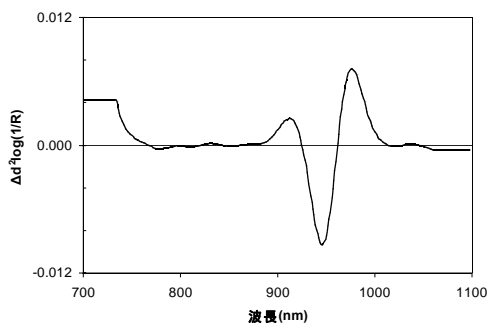


図3 親機と子機の2次微分スペクトルの差スペクトル(子機-親機)。

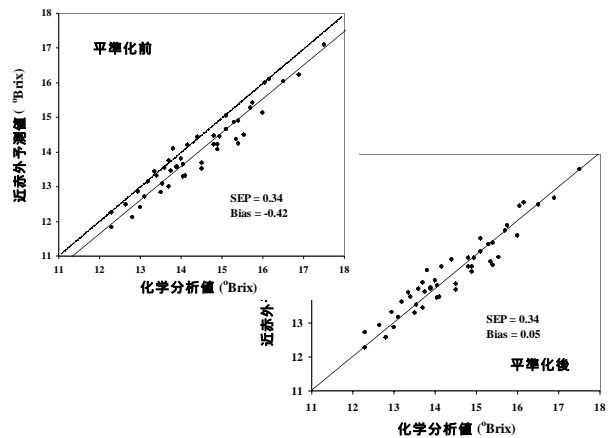


図4 親機で開発した検量線の子機に適用した場合の近赤外予測糖度の散布図。左上-平準化前で予測値の回帰直線が下にシフト。右下-平準化後で両者の値は一致。

[その他]

研究課題名：近赤外一粒システム化に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2000～2005年度（2004年度）

研究担当者：河野澄夫

発表論文等：

- 1) S. Saranwong and S. Kawano: A simple method of instrument standardization for an NIR sorting machine: the utilization of average spectra as input vectors, *J. Near Infrared Spectrosc.*, (in press)
- 2) 河野澄夫・サランウォング シリンナパー：分光装置応答特性の平準化法、特許出願、特願2004-58443 平成16年3月3日

[成果情報名] 組換え農作物の安全性評価のための食品成分データベース

[要 約] 組換え農作物の安全性評価においては、従来の食品と比較し安全性の評価を行うことが必要である。そこで、多品種の多岐に亘る食品成分について分析・調査を行い、ここで得られたデータを集積したデータベースを構築した。

[部 署] 食品総合研究所・企画調整部・食品衛生対策チーム

[連絡先] 食品衛生対策チーム 029-838-8067、kaz@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 組換え農作物、安全性評価、食品成分データベース

[背景・ねらい]

遺伝子組換え食品は、近年国際的な広がりをみせており、食料の多くを海外からの輸入に頼る我が国においては無視することのできないものである。今後更に新しい食品の開発が進むことも予想されるため、安全性確保の観点から、適正な安全性評価が行われなければならない。遺伝子組換え食品の安全性審査にあたっては、組換えDNA技術により生産物に意図的に導入された因子以外の全ての因子についても評価を行うべきである。従って、組換え技術によって生産物に付加されることが期待されている性質だけでなく、組換え技術に起因し発生するその他の影響等についても、従来の食品と比較し安全性の評価を行うことが必要である。実際、農作物の分析を行った報告は多いが、それぞれの研究目的に応じて分析項目や分析手法が設定されており、多岐にわたる食品成分の各項目を同一試料について調査した例は少ない。農産物の各成分は加工食品と異なり品種や生産環境等の影響を大きく受けて変動するにもかかわらず、従来品に関する食品成分等のデータの基準とされている日本食品標準成分表に示されている分析値に関しても、分析値に変動幅があることを認識しながらも、1食品につき1標準成分値を示したものである。このように、従来品に関する食品成分等のデータは安全性評価を実施する上で十分とは言い難い状況である。そこで、今後組換え技術を利用した開発が予想される農作物について栄養成分、微量栄養成分、有害成分等の分析・調査を行い、ここで得られたデータを集積したデータベースを構築することが必要となっている。

[成果の内容・特徴]

1. 国内で栽培されているコメ（玄米）の主要10品種（15検体）を収集して分析試料とした（表1）。
2. 国内で栽培されているダイズの主要8品種（10検体）を試料とした。また、輸入ダイズへの依存率が高いため、アメリカ産3検体、ブラジル産、中国産各1検体も収集し分析試料とした（表1）。
3. 多岐に亘る食品成分の分析を行った（表2）。
4. インターネット環境で一般に公開可能なデータベースを構築した。本データベースは品種、栽培地、試験項目、収穫年から絞り込み検索を可能としている。また、検索結果は容易にダウンロードして安全性評価時に利用することが可能である（図1）。

* 現在、本データベースに関しては、農林水産省技術会議事務局筑波事務所電子計算課に移管作業中である。

[成果の活用面・留意点]

組換え体の安全性に対しては消費者の不安もあり、組換え作物の使用拡大に歯止めをかけているという現状もある。従って、情報を広く公開することにより組換え体の利用に対する透明性を高め、パブリックアクセスを推進することは極めて重要である。本研究において組換え技術を利用した開発が予想されるコメ、および既に組換え体の存在するダイズについて栄養成分等の分析を行い、データベースを構築したが、本データベースは広く情報を公開する上でその目的に合うものである。本研究で行った多品種の多岐に亘る食品成分の分析データは安全性評価の基盤をなすものであり、今後も継続的にデータの蓄積を行い、データベースの充実・拡充を図る必要がある。また、本研究においては主要栄養成分を中心に分析を行ったが、有害成分等の分析手法を確立しデータを得ることも強く望まれる。

[具体的データ]

表1 平成14年産コメ（玄米）およびダイズの品種および産地

A コメ（玄米）

品種	産地
ほしのゆめ	北海道
きらら397	北海道
ひとめぼれ	岩手、宮城
あきたこまち	秋田
はえぬき	山形
どんとこい	新潟、兵庫
コシヒカリ	新潟、茨城、栃木
ハナエチゼン	福井
キヌヒカリ	滋賀
ヒノヒカリ	福岡、鹿児島

B ダイズ

品種	産地
スズマル	北海道
トヨコマチ	北海道
トヨムスメ	北海道
タチナガハ	宮城、栃木
リュウホウ	秋田
エンレイ	富山
フクユタカ	三重、福岡
むらゆたか	佐賀
品種不明 ¹⁾	ブラジル
NK-1990	アメリカ
VINTON	アメリカ
品種不明 ²⁾	アメリカ・ノースダコタ州
品種不明 ³⁾	中国

- 1) FT-Nagano
- 2) 納豆用 分別極小34-101403
- 3) 黒竜江省健三江国营農場管理局对外経済貿易公司 品質保証大豆

表2 コメ（玄米）およびダイズの分析項目

分析項目	コメ(玄米)	ダイズ
一般成分等（エネルギー、水分、タンパク質、脂質、炭水化物、糖質、灰分、食物繊維）		
ビタミン類（ビタミンB ₁ 、ビタミンB ₂ 、ビタミンB ₆ 、ビタミンE効力、トコフェロール、ビタミンK、ナイアシン）	1)	
アミノ酸組成（18種）		
脂肪酸組成	2)	3)
フィチン酸		
レシチン		
リン脂質組成（ホスファチジルコリン等6種）		
オリゴ糖類（ラフィノース、スタキオース）		
サポニン		
イソフラボン類（Daidzin、Glycitin、Genistin等13種 ⁴⁾ ）		

- 1) ビタミンKは除く、2) 主要な15種、3) 主要な13種、
- 4) 平成11、12年産は10種

【その他】

研究課題名：食品成分の安全性確認に関する試験研究、組換え農作物の安全性評価のための食品成分データベースの作成

予算区分：経常、委託プロジェクト研究：「遺伝子組換え体の産業利用における安全性確保総合研究」（「組換え体総合研究」）

研究期間：2001～2004年度（2004年度）

研究担当者：一色賢司、日野明寛、川本伸一、橘田和美、小川正、森山達哉、吉川礼次、飯塚太由、金谷建一郎、市川久次、宮崎奉之、斉藤和夫、牛尾房雄、荻野周三

発表論文等：

- 1) Kazumi Kitta, et al.: Variations in lipid content and fatty acid composition of major non-glutinous rice cultivars in Japan, *J. Food Comp. Anal.*, **18**, 269-278(2005)



図1 食品成分データベース検索イメージ

[成果情報名] ハードルテクノロジーの活用による食品加害細菌制御

[要 約] 酸性化亜塩素酸水を使用することで、生食野菜表面上の腐敗細菌や食中毒原因菌を1/100-1/1000以下に減少させることができる。この技術は白菜浅漬け製造にも応用できる。

[部 署] 食品総合研究所・企画調整部・食品衛生対策チーム

[連絡先] 食品衛生対策チーム 029-838-8067 inatu@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 浅漬け・殺菌・酸性化亜塩素酸水（ASC）

[背景・ねらい]

加熱処理は効果的な食品微生物の制御手段であるが、カット野菜や浅漬け類には使用することができない。そのため、原料に付着した微生物を洗浄殺菌するとともに、低温保存により増殖を抑えることで食中毒リスクの低減が図られる。ハードルテクノロジーとは、製品劣化を引き起こさない程度のマイルドな処理を複数組み合わせることで、食品中の腐敗細菌や病原菌の増殖を抑制する技術である。酸性化亜塩素酸（ASC）水は、食品添加物である亜塩素酸ナトリウムと食用が認められる（有機）酸の混合溶液である。混合によって発生する亜塩素酸の殺菌力と、酸によるpH低下が相乗的に働くことで、強い殺菌効果を発揮する。次亜塩素酸水には有機物との反応による活性低下や有機塩素化合物の生成という問題があるが、ASCにはその欠点が少ないというメリットがあり、米国FDAは畜肉（製品）や野菜・果実の表面殺菌に使用を認めている。

[成果の内容・特徴]

1. 0.5g/l（使用基準の上限）の亜塩素酸ナトリウムおよび1g/lのクエン酸を含むASC水は、白菜表面上に付着させた病原大腸菌0157:H7株に対し、有効塩素濃度0.1g/l（100ppm）の次亜塩素酸水と同程度の殺菌力（2 LogCFU/g低下）を示した（表1）。クエン酸濃度を上昇させることで、その効果は約10倍増加した。pHが同じであれば、酸の種類は殺菌力に大きく影響を与えなかった。洗浄処理温度の上昇（50℃）は殺菌力の向上をもたらすが、同時に明らかな色調・硬度の変化を引き起こした。低温（4℃）・室温（25℃）処理の間には殺菌力の違いはなく、品質劣化もみられなかった。
2. 一般細菌・大腸菌群あるいはその他の食中毒原因菌もASC洗浄処理により2~3Log CFU/g程度減少させることが可能であった。処理後の10日貯蔵により病原菌大腸菌やサルモネラ・黄色ブドウ球菌は増殖しなかったが、一般細菌・大腸菌群（図2）およびリステリア（図3）は増殖した。
3. ASC洗浄白菜を原料とする白菜浅漬けについて食味試験およびカラーメータによる測定を行った結果、洗浄処理が製品の色調・味・香りおよび食感に影響を与えないことが確認された。

[成果の活用面・留意点]

亜塩素酸ナトリウムを殺菌目的で使用する場合は、食品衛生法上の規定により、最大使用濃度規制と対象食品の限定（生食野菜・果実および卵殻）とがある点に注意が必要である。次亜塩素酸ナトリウムと同様に、使用後に分解・除去が義務付けられているが、製造助剤扱いとされるために食品添加物表示は免除される。原料の表面殺菌のみでは、残存した一般細菌・大腸菌群の一部あるいはリステリアなどの低温増殖性細菌が低温保存中に増加するために、長期間にわたる微生物制御のためには、他の食品添加物の併用も必要である。なお、この試験はラボスケールで実施したもので、実プラントで使用するには、別途殺菌効果を評価する必要がある。

[具体的データ] 表1 白菜に接種した病原大腸菌に対する各種洗浄剤の殺菌効果

洗浄剤	生菌数 (log CFU/g)	pH (洗浄液)
洗浄前	6.3 ± 0.0	
水洗	5.7 ± 0.1	6.5
クエン酸(1.0g/l)	4.9 ± 0.1	2.2
次亜塩素酸ナトリウム	4.1 ± 0.1	8.7
次亜塩素酸ナトリウム+クエン酸 (1.0g/l)	4.5 ± 0.1	2.3
亜塩素酸ナトリウム	5.1 ± 0.1	7.6
亜塩素酸ナトリウム+クエン酸 (1.0g/l)	3.5 ± 0.1	2.4
亜塩素酸ナトリウム+クエン酸(10g/l)	2.9 ± 0.2	1.6

3cm × 3cm 角白菜葉 100g を 1000ml の洗浄液で 15 分間洗浄した結果

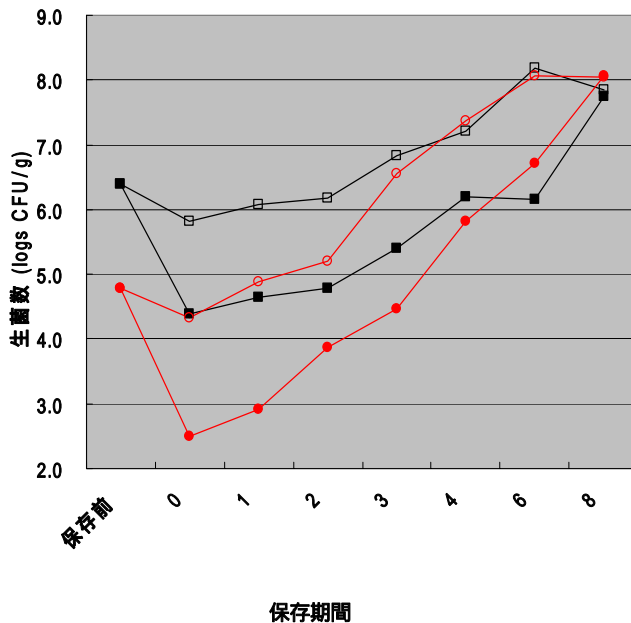


図2 一般細菌（黒四角）および大腸菌群（赤丸）の増殖（10 漬込）。白抜きは未殺菌・塗漬しはASC 殺菌原料を使用。

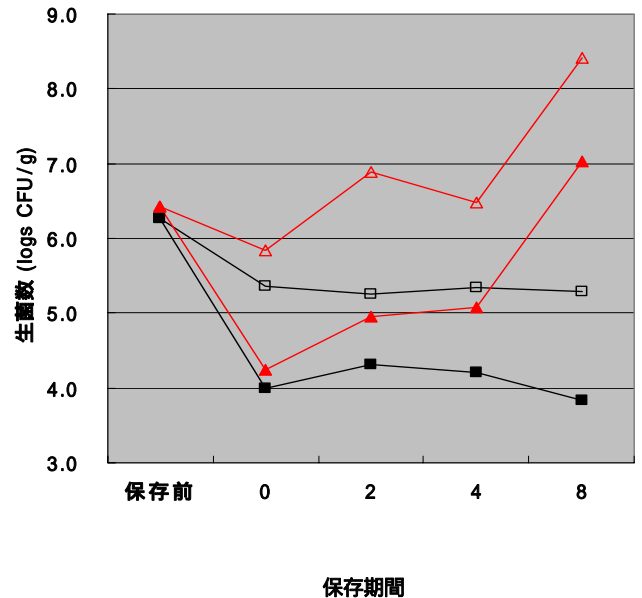


図3 接種した病原大腸菌（黒四角）およびリステリア（赤丸）の増殖。試験条件および記号は左と同様。

[その他]

研究課題名：ハードルテクノロジーの活用による食品加害細菌制御（食品総合）

予算区分：食品の安全性確保のための研究開発（食品総合）

研究期間：2002～2004 年度（2003 年度）

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

発表論文等：

- 1) Inatsu et al., *J. Food Prot.* **68**, in press (2005)
- 2) Inatsu et al., *J. Food Prot.* **68**, 251-255(2005)
- 3) 稲津ほか、*食品工業*、**47**、46-52(2004)

[成果情報名] キノコのステロール化合物によるがん細胞増殖抑制作用

[要約] キノコ類より単離したエルゴステロールパーオキシド及び数種のステロール類は白血病細胞及び大腸がん細胞等の増殖抑制効果を示す。

[部署] 食品総合研究所・食品機能部・機能成分研究室

[連絡先] 機能成分研究室 029-838-8055 kobori@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] キノコ、エルゴステロール、エルゴステロールパーオキシド、がん、増殖

[背景・ねらい]

がんの発症には食生活が密接に関与していることが明らかになっており、がんの予防や抑制に関わる食品成分の作用機構を明らかにし、食品成分及びその組み合わせによる効果を解明することは、がん予防に効果的な食生活の構築に有用である。本研究では、重要ながんの抑制機構であるがん細胞アポトーシス誘導効果及び増殖抑制効果を示す食品成分を明らかにし、そのがん抑制効果及び作用機構の解明を目指している。

[成果の内容・特徴]

1. コウタケアセトン抽出物より精製した HL60 細胞アポトーシス誘導効果を示す成分は、エルゴステロールパーオキシド及びエルゴステロールパーオキシドと類似構造を持つステロール化合物であり、HL60 白血病細胞アポトーシス誘導効果を示した（図 1 a 及び b）。
2. 精製したエルゴステロールパーオキシドは、HL60 白血病細胞の増殖を抑制したが、B16 メラノーマ細胞及び HT29 大腸がん細胞に対する増殖抑制効果は低かった（図 2）。しかし、培養時間を延長することにより、WI38 ヒト繊維芽細胞の増殖に影響を及ぼさない低濃度で、HT29 細胞の増殖を抑制した。
3. 他のキノコ類からも、HL60 細胞増殖抑制効果を示す成分としてエルゴステロールパーオキシドが単離された他、HL60 細胞及び B16 メラノーマ細胞のどちらに対しても強い増殖抑制効果を示す新規ステロール化合物が単離された。本化合物は腺維芽細胞の増殖に影響を及ぼさない濃度で、HT29 大腸がん細胞の増殖を強く抑制した。
4. キノコ類より単離したエルゴステロールは培養がん細胞の増殖を抑制しないが、B16 メラノーマ細胞移植後にマウス皮下に投与した場合において、形成される腫瘍体積及び重量を減少させ、腫瘍形成抑制効果を示した（図 3）。

[成果の活用・留意点]

エルゴステロールパーオキシドはHPLCで高度に精製するとがん細胞増殖抑制効果が弱くなる。混入成分の影響を受けやすいため、本化合物の生理作用を評価する際には注意深く精製する必要がある。キノコステロール化合物は殆ど体内に吸収されないとの報告があるが、今回、大腸がんを抑制する可能性が示されたことから、更なる検討が必要である。

[具体的データ]

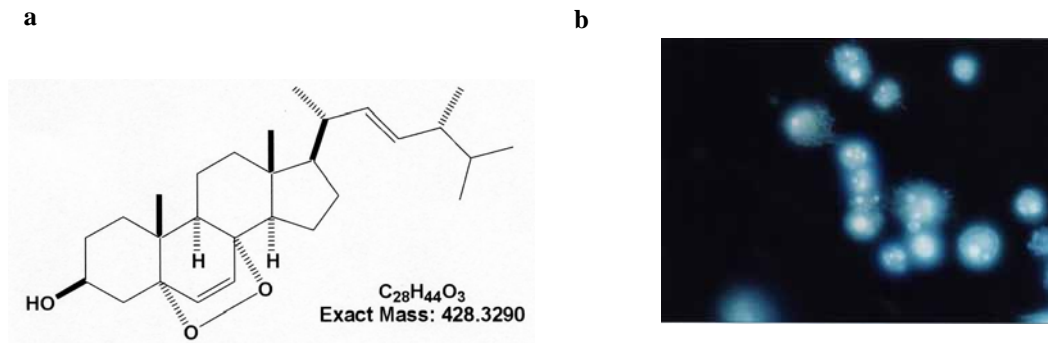


図1 a) エルゴステロールパーオキシド(EPO)の構造 b) EPO のアポトーシス誘導効果

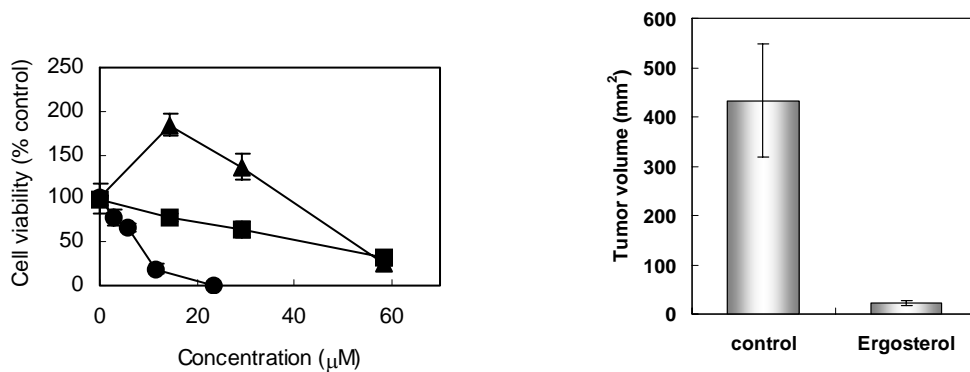


図2 エルゴステロールパーオキシド(EPO)のがん細胞増殖抑制効果 (HL60細胞, B16細胞, HT29細胞) EPOはがん細胞の培養上清に添加し、24時間後の細胞数を測定した。

図3 エルゴステロールの腫瘍増殖抑制効果 B16メラノーマ細胞及びエルゴステロールをマウス皮下に投与し、3週間後の腫瘍体積を測定した。(n=12)

[その他]

研究課題名：食品成分のアポトーシス調節機構及び効果の解明

予算区分：委託・パイテック先端技術「食品総合」

研究期間：2002～2006年度(2004年度)

研究担当者：小堀真珠子

発表論文等：

- 1) Takei, T., Yoshida, M., Ohnishi-Kameyama, M., Kobori, M.: Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **69**, 212-215(2005)
- 2) 武井利之(福島県林研セ)小堀真珠子、吉田充、亀山真由美：アポトーシス誘導能を有す食品又は食品素材、特許出願番号 2003-209493

[成果情報名] 大豆イソフラボンからエコーンへの変換を抑制する腸内細菌

[要約] *Lactobacillus gasseri* は、ダイゼインからエコーンへの変換を抑制し、マウスに経口投与すると血漿や盲腸内容物中のイソフラボン及びその代謝物であるエコーンの濃度に影響を与える。

[部署] 食品総合研究所・食品機能部部・機能生理研究室

[連絡先] 機能生理研究室 029-838-8089 motoita@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] *Lactobacillus gasseri*、イソフラボン、ダイゼイン、エコーン、マウス

[背景・ねらい]

近年、大豆食品に多く含まれるイソフラボンの生活習慣病予防効果に注目が集まっている。イソフラボンの一つダイゼインは腸内フローラによってエストロゲン作用や抗酸化性がより強力なエコーンに代謝されることが明らかにされつつある。そこで、*Lactobacillus gasseri* 菌をマウスに経口投与し、イソフラボンの代謝や吸収におよぼす乳酸菌の影響を検討し、イソフラボンの効果をより効率よく発揮させる条件を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 乳酸桿菌 *Lactobacillus gasseri* 投与群は、対照群（非投与群）に比べて血漿のダイゼイン濃度が有意に高く（図1）、血漿のエコーン濃度は有意に低い値を示した（図1）。
2. 盲腸内容物のダイゼインは、*L. gasseri* 投与群で高い傾向が認められたが、有意な差は認められなかった。一方、エコーンは、*L. gasseri* 投与群で有意に低い値を示した（図2）。
3. 糞便の乳酸桿菌の菌数は、対照群に比べて *L. gasseri* 投与群で有意に高い値を示した（図3）。
4. 糞便希釈液とダイジン（ダイゼインの配糖体）とを嫌氣的にインキュベーションした場合、*L. gasseri* 投与群から得た糞便は、対照群に比べてダイジンからエコーンへの変換量が有意に低い値を示した（図4）。

これらの結果から、*L. gasseri* はイソフラボンのバイオアベイラビリティに影響を及ぼし、*in vivo* において、ダイゼインからエコーンへの生産性を抑制する可能性が強く示唆された。

[成果の活用面・留意点]

乳酸桿菌 *Lactobacillus gasseri* が、ダイゼインからのエコーンの生成を抑制する可能性があることを世界で始めて明らかにした。しかし、乳癌リスクの低さと尿中へのエコーン排泄量の高さに相関があるという報告や、男性の前立腺癌はエコーン生産能が高い人で少ないことが報告されており、イソフラボンの乳癌、前立腺癌予防には、エコーンが重要な役割を担っていることが推察される。エコーン生産性の向上は、生活習慣病予防に効果的であると考えられ、本研究成果は、エコーン生産性に関するきわめて重要な情報を提供するものである。

[具体的データ]

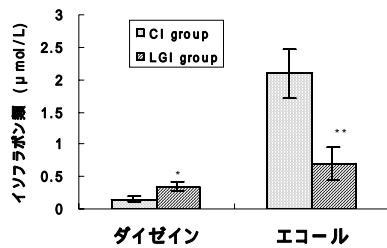


図 1. 血漿のイソフラボン類の濃度

CI group: 対照群

LGI group: *Lactobacillus gasseri*投与群

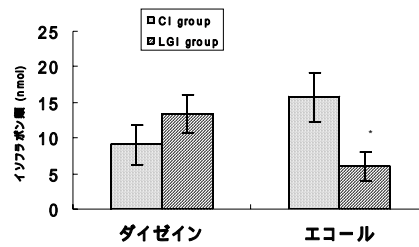


図 2. 盲腸内容物のイソフラボン類の総量

*、対照群 に対して $p < 0.05$ で有意差あり

**、対照群 に対して $p < 0.01$ で有意差あり

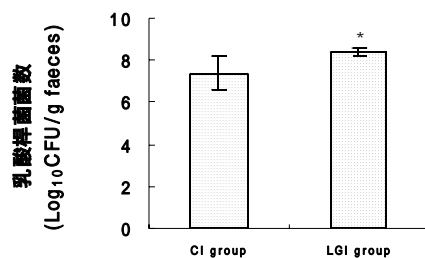


図 3. 糞便の乳酸桿菌菌数の比較

*、対照群 に対して $p < 0.05$ で有意差あり

CI group: 対照群、 LGI group: *Lactobacillus gasseri*投与群

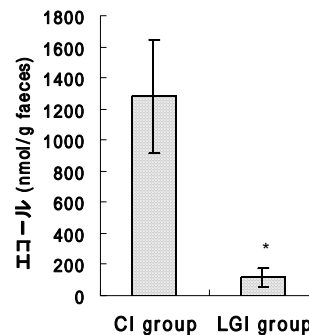


図 4. *In vitro*におけるダイジン (ダイゼインの配糖体) に対する糞便希釈液添加の影響

[その他]

研究課題名: 機能成分の消化吸収に及ぼす腸内フローラの影響

予算区分: 食品総合・健全な食生活構築のための食品の機能性及び安全性に関する総合研究

研究期間: 2002 ~ 2006 年度 (2004 年度)

研究担当者: 田村基、鈴木平光

発表論文等:

- 1) M. Tamura, K. Hirayama, K. Itoh, K. Shinohara: Effects of human intestinal flora on plasma and caecal isoflavones, and effects of isoflavones on the composition and metabolism of flora in human flora-associated (HFA) mice, *Microecology in Health and Disease*, **16**, 18-22(2004)
- 2) M. Tamura, K. Shinohara: Effects of fructose-isoflavone diet on plasma isoflavonoids and cecal enzyme activity in mice, *Food Science and Technology Research*, **10**, 191-194(2004)
- 3) M. Tamura, M. Ohnishi, K. Shinohara: *Lactobacillus gasseri*: Effects on mouse intestinal flora enzyme activity and isoflavonoids in the caecum and plasma, *British Journal of Nutrition*, **92**, 771-776(2004)

[成果情報名] ネギ類由来のスルフィドによる褐変抑制及びアクリルアミドの生成抑制

[要 約] ネギ属野菜から生成するスルフィド類には、高温加工食品におけるアクリルアミドの生成を大幅に低減する作用、カットレタスやカットリンゴの酵素的褐変を抑制する作用及び糖とアミノ酸による非酵素的褐変を抑制する作用がある。

[部 署] 食品総合研究所・流通安全部・品質制御研究室

[連絡先] 品質制御研究室 029-838-8087 hosoda@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] ネギ属野菜、スルフィド、褐変抑制、アクリルアミド生成抑制

[背景・ねらい]

タマネギ、ニンニク、ネギ等のネギ属野菜には古くから薬効があるとされており、体調調節作用をもつ成分が明らかにされつつある。ネギ属野菜から含硫化合物の変化によって生じる特有の成分は体調調節作用だけではなく野菜・果実の褐変を抑制する作用がある。また最近、調理・加工時の高温加熱によりジャガイモ加工品などに発ガン性が危惧されるアクリルアミドが生成することが判明したが、ネギ属野菜から生成する成分はこのアクリルアミドの生成も抑制することを明らかにした。これらの作用をもつ有効成分を解明するとともに、加工、流通現場で利用できる技術を開発し、食品の加工、流通の改善に役立てる。

[成果の内容・特徴]

1. ネギ属野菜を磨砕し、有効成分を生成させた後、超臨界抽出、水蒸気蒸留などでイオウ化合物を抽出する。また、切断したネギ属野菜や搾汁液もそのまま利用できる。
2. 新鮮なリンゴ切片をタマネギ搾汁液に10分間浸けることによって褐変を完全に止めることができる(図1)。褐変を抑制する成分はイオウ原子が3つ又は2つつながり、両端にプロピル基等が付いたトリスルフィドやジスルフィド化合物である。ニンニクでは両端にアリル基、ネギ、タマネギではプロピル基、ニラ、ラッキョウではメチル基が付いたスルフィドが多い。
3. 食用油に2 ppm のトリスルフィドを添加してジャガイモを揚げると、フライドポテトのアクリルアミド生成量を1/5 ~ 1/8 に低減でき(表1)、フライドポテトに異臭は付かない。
4. カットレタスと、カットレタスの1/10量の切断したネギ属野菜を接触しない状態で、ポリプロピレン袋と一緒に包装しておく、カットレタスの褐変が抑制できる。特にニラには強い褐変抑制作用がある(図2)。
5. ネギ属野菜から生成するイオウ化合物の中には、2、4の酵素的褐変抑制のほか、糖とアミノ酸による非酵素的褐変(メイラード反応)を抑制するモノスルフィドも含まれている(図3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 高温加熱によりアクリルアミドが生成しやすい食品の製造や褐変が品質劣化の大きな要因となるカットレタス等のカット野菜製造等に利用できる。
2. リンゴ切片をタマネギ搾汁液に浸けると、その後で水洗してもタマネギ臭がとれない。臭いをとるための洗浄法等の工夫が必要である。また、カットレタスをニラと一緒に包装すると、カットレタスにも臭いが付くが、軽く水洗して10分間程度おくと臭いがなくなる。臭いが気になる場合はニラ以外のネギ属野菜を利用する。

[具体的データ]

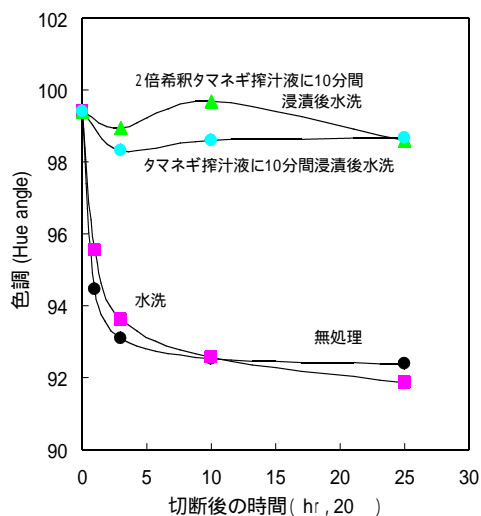


図1. タマネギ搾汁液への浸漬によるリンゴ切片的褐変防止



図2. 細切ニラと一緒に包装することによるカットレタスの褐変抑制

左：対照（カットレタスのみ）
 右：カットレタス 100g + 細切ニラ 10g
 10、5日後

表1. ネギ類イオウ化合物(トリスルフィド)添加によるフライドポテトのアクリルアミド低減効果

添加物質 (ppm)	アクリルアミド(ppb)
アリルメチルトリスルフィド	82
ジメチルトリスルフィド	129
トコフェロール	441
BHT (抗酸化剤)	550
無添加	657



図3. 非酵素的褐変に及ぼすジイソプロピル硫黄化合物の阻害効果

左：対照(12.5%グリシン+12.5%グルコース)
 中央：対照 + 250ppm ジイソプロピル硫黄化合物
 右：対照 + 250ppm BHT
 上記メタノール溶液を2時間加熱還流

[その他]

研究課題名：野菜・果実及びその加工品の褐変抑制技術の開発

予算区分：高度化事業

研究期間：2003～2005年度(2004年度)

研究担当者：細田浩、坂上和之(三栄源エフ・エフ・アイ(株))、岩橋由美子、永田忠博

発表論文等：

- 1) 細田浩、岩橋由美子：タマネギ搾汁液によるリンゴの切片およびジュースの褐変防止、園芸学会雑誌、71、452-454(2002)
- 2) 細田浩、大見和枝、坂上和之、田中健治：タマネギオイルによるカットレタスの褐変抑制とその活性成分、園芸学会雑誌、72、451-456(2003)
- 3) 坂上和之、細田浩、永田忠博、多田幹郎：タマネギ抽出物による非酵素的褐変およびアクリルアミド生成の抑制、日本食品化学学会、2004年大会
- 4) 細田浩、坂上和之、鍾旭東：褐変抑制剤およびその製造法、特開2004-173590、平成16年6月24日

[成果情報名] 大豆タンパク質ジスルフィド結合の蛍光色素標識による解析と豆腐加工適性評価

[要 約] 大豆に含まれる各タンパク質のジスルフィド結合を蛍光色素モノプロモバイメインで標識し定量解析した。グリシニン(11S グロブリン)塩基性サブユニットと豆腐破断応力の相関が示された。

[部 署] 食品総合研究所・食品素材部・タンパク質素材研究室、農研機構作物研究所・豆類育種研究室

[連絡先] タンパク質素材研究室 029-838-8051 michiko@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 大豆タンパク質、ジスルフィド結合、蛍光色素標識、豆腐加工適性

[背景・ねらい]

大豆食品は従来日本人の食生活において主要な構成要素の一つであり、近年様々な健康機能が明らかにされるにつれその重要性が益々認識されている。抗酸化性の高い黒豆や、風味や色合いに優れた青大豆、豆臭を抑えた新品種等の多様な大豆の利用が広がる一方で、国産大豆は品質が不安定で利用しにくいといった実需者からの問題点も指摘されている。本研究では、これらの問題解決に寄与するために、小規模流通に適した品質評価技術の開発を目的とし、タンパク質ジスルフィド結合に対する特異的蛍光色素モノプロモバイメイン(mBBr)を用いて、大豆タンパク質のジスルフィド結合の評価法を検討した。

[成果の内容・特徴]

1. 大豆 33 品種から抽出したタンパク質をジチオスレイトールで還元処理し、mBBr による蛍光標識後、SDS 電気泳動で分離し主要バンドの蛍光標識強度を計測した。グリシニン(11S グロブリン)の酸性および塩基性サブユニットと Bowman-Birk プロテアーゼインヒビターが主要バンドとして検出された(図1)。各バンドの蛍光強度は、タンパク質に含まれるジスルフィド結合の量と反応性を反映しており、豆腐のゲル形成と関連する可能性が考えられた。
2. 大豆ジスルフィドタンパク質の蛍光標識強度と豆腐の破断応力との関係を検討した。上記大豆から6倍加水、グルコノデルタラクトン凝固により充填豆腐を調製してゲル強度を測定した。グリシニン(11S グロブリン)塩基性サブユニットの蛍光強度と豆腐の破断応力に正の相関がみられ、酸性サブユニットも正の相関を示した(図2)。よって、これらの蛍光強度により、大豆の豆腐加工適性を推定することが可能であると考えられた。Bowman-Birk プロテアーゼインヒビターは、多量のジスルフィド結合を含有しているが、豆腐ゲルの破断応力との相関がなく、ゲルネットワークの構造にほとんど寄与していないことが示唆された。

[成果の活用面・留意点]

蛍光色素標識法による大豆タンパク質ジスルフィド結合の解析を行い、大豆加工適性との関連を明らかにした。蛍光バンドでは分子量の近いタンパク質の識別が困難なため電気泳動条件の検討や二次元電気泳動法を活用した、より詳細な解析が期待される。

[具体的データ]

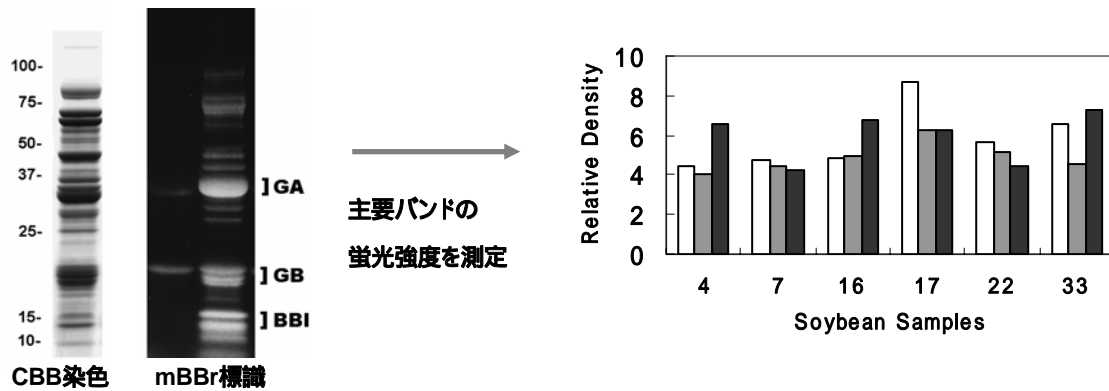


図1 大豆タンパク質成分におけるジスルフィド結合の蛍光色素標識による解析

, GA(グリシニン酸性サブユニット) , GB(グリシニン塩基性サブユニット) , BBI(Bowman-Birkプロテアーゼインヒビター)

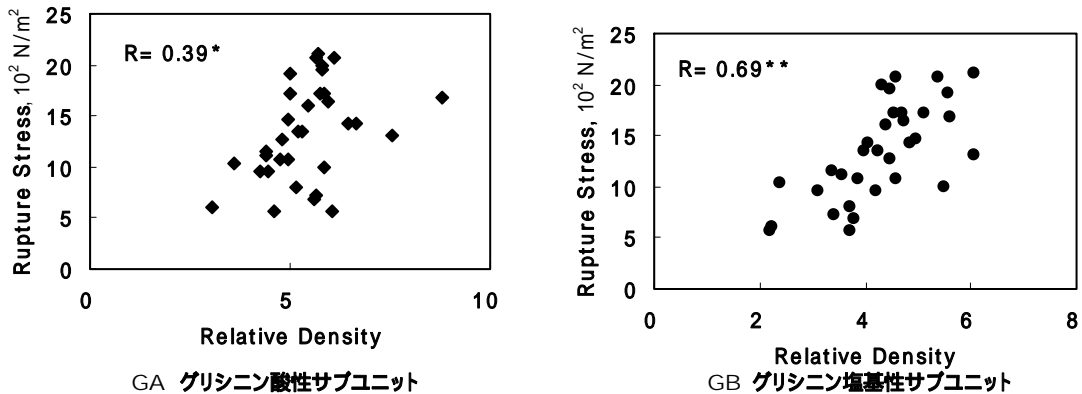


図2 大豆タンパク質蛍光標識強度と豆腐の破断応力の相関

[その他]

研究課題名：品質安定化のための大豆加工適性評価技術の開発

予算区分：技会交付金プロ「国際食品」

研究期間：2004～2008年度（2004年度）

研究担当者：門間美千子

発表論文等：

- 1) 門間美千子、関友子、羽鹿牧太：蛍光色素モノプロモバイメイン標識による大豆タンパク質ジスルフィド結合の解析、日本食品科学工学会誌、51、pp.406-412 (2004)
- 2) 門間美千子、大豆タンパク質ジスルフィド結合の蛍光色素標識と豆腐加工特性、日本食品科学工学会第51回大会講演要旨集 p.83
- 3) Michiko Momma :Fluorescence Labeling of disulfide bonds in soybean protein and tofu property, Proceedings of 33rd Annual Meeting of the United States - Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR) Food and Agriculture Panel p.273-277(2004)

[成果情報名] ムチンとプロテオグリカンの溶液中の分子量分布と分子鎖構造評価

[要 約] 食品に関連するタンパク質には、不定形で結晶化のできないものやNMR解析には適さない巨大分子である場合が少なくない。このような対象の一例であるムチンやプロテオグリカンの溶液中の分子量分布と分子鎖構造評価には、光・X線・中性子溶液散乱法が有効である。

[部 署] 食品総合研究所・食品素材部・タンパク質素材研究室

[連絡先] 029-838-8115 yasuw@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 巨大タンパク質多糖複合体、分子量分布、分子鎖構造、溶液散乱法

[背景・ねらい]

溶液中のタンパク質の分子量や分子サイズ・形状は、それを素材とした食品（構成物）の粘性やゲル化性などの物理特性に影響を与える主要な因子の一つである。また、これらの物性値はその素材の機能や食品の品質に関連するものが少なくない。食品に関連するタンパク質は、不定形で結晶化ができないものや、分子量が大きいためNMR解析が不可能である場合も多く、基本的な構造解析手法の開発・改良も必要である。本研究では結晶化の成功していないムチンとプロテオグリカンを対象に、光散乱測定による分子量分布の評価とX線および中性子溶液散乱測定による分子鎖構造の解析を行い、同種の生体高分子の解析に資する知見の提供を目的とした。

[成果の内容・特徴]

1. ゲル電気泳動法では解析が困難なムチン（消化管粘膜などでの食品成分との相互作用の可能性のある成分）の溶液中の分子量分布の評価には低角レーザー光散乱法が、比較的簡便な手法として有効である（図1）。また、プロテオグリカン（軟骨の主要機能成分）やタンパク質の構造形成中間体にも適用可能である（データ省略、文献2,5）。
2. 分子量4万以上のタンパク質の構造解析はNMR測定ではきわめて困難な条件なので、結晶化の成功していないNMR測定に適さないムチンの溶液中の構造解析にはX線溶液散乱法は有効である。さらに、溶液中のタンパク質の構造解析を目的としたX線溶液散乱測定システムの開発・改良も重要である（文献3）。試料のX線吸収を散乱と同時測定するシステムの開発から、1Mまでの塩化ナトリウム中でムチンの散乱パターンに変化がない結果が得られ、ムチンは生理的な条件での塩による構造変化は示さないことがわかった（図2；文献4）。
3. プロテオグリカンの様なタンパク質多糖複合体の分子鎖構造解析には中性子溶液散乱法が有効である。重水濃度を变化させたコントラスト変調法を利用した中性子散乱測定から、プロテオグリカンはタンパク質コアに糖鎖が無数に分布して、溶液中で細長い分子形態であることが示唆された（図3；文献1）。

[成果の活用面・留意点]

光散乱測定装置は市販品があるので、目的にあった装置が利用できる。物理定数未知な試料については、分子量評価のためには個々において工夫が必要である。放射光X線溶液散乱測定装置は、高エネルギー加速器研究機構やSPRING8などにおいて、中性子溶液散乱測定装置は、日本原子力研究所や東大物性研の共同利用施設などにおいて、研究課題審査を経て、広範囲な基礎的および産業分野の研究者に利用が可能である。より高機能のタンパク質酵素デザインあるいは高品質の食品開発などに資する知見が得られることが期待できる。

[具体的データ]

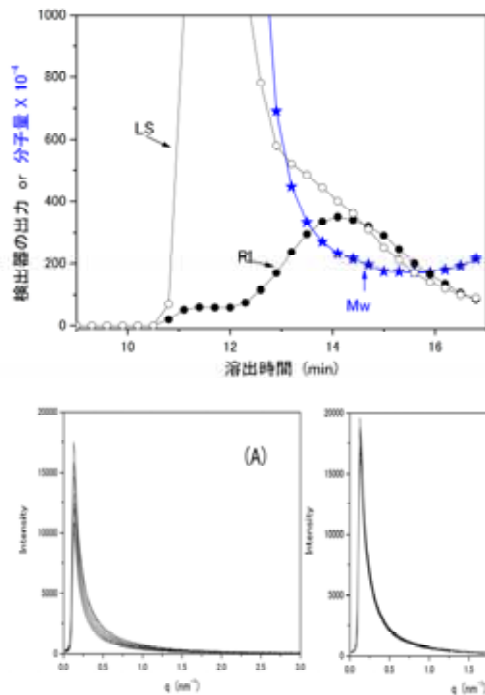


図2 ムチンのX線溶液散乱パターンの一例

溶媒中の塩化ナトリウムの濃度を変えたときの透過率補正前(A)と補正後(B)のパターンを示す。横軸は散乱ベクトル q ($= (4 / \lambda) \sin(\theta)$); λ は波長、 2θ は散乱角)、縦軸は散乱強度である。各塩濃度表示は省略した。

図1 光散乱測定により得られた溶液中のムチンの分子量分布とクロマトグラムの一例

光散乱(LS;)と示差屈折率(RI;)および各溶出時間における分子量(Mw;)を示す。50mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.8)においては、溶出時間が約11分の少量成分の分子量は1千万以上で、約14分の主成分の分子量は約200万であった。



図3 中性子溶液散乱測定実験から得られた多糖タンパク質複合体プロテオグリカンの分子形状と内部構造モデル

[その他]

研究課題名：タンパク質多糖複合体の溶存状態と共存分子との相互作用解析(食品総合)
溶液中のタンパク質分子集合状態の特性評価(形態生理)

予算区分：農水省食品総合および形態生理プロジェクト

研究期間：2001～2006年度(2004年度)

研究担当者：渡邊 康

発表論文等：

- 1) Y. Watanabe *et al.*: Small-angle neutron scattering study on a proteoglycan in solution, *Journal of Physical Society of Japan*, **70**, 414-416(2001)
- 2) Y. Watanabe: Characterization of the refolding and reassembly of an integral membrane protein OmpF porin by low-angle laser light scattering photometry coupled with high-performance gel chromatography, *Journal of Chromatography*, **A 961**, 137-146(2002)
- 3) 渡邊康: 生体高分子の構造解析のための放射光小角X線散乱測定装置、食総研ニュース **8**、4-5(2003)
- 4) 渡邊康、猪子洋二、小林克己: 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、食品総合研究所報告 **69**、17-20(2005)
- 5) Y. Watanabe and Y. Inoko: Physicochemical characterization of the reassembled dimer of an integral membrane protein OmpF porin, *The Protein Journal*, (2005) in press

[成果情報名] 野菜・海藻に含まれるキサントフィルの消化・吸収

[要 約] ガン予防や血流改善等の機能が示唆されているフコキサンチン、ネオキサンチン及びクロセチンについて、マウスでの消化・吸収及び代謝変換を解析した。また、食品中のカロテノイドの消化性を簡便に評価するin vitro消化系を構築した。

[部 署] 食品総合研究所・食品素材部・脂質素材研究室

[連絡先] 脂質素材研究室 029-838-8039 nagao@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] フコキサンチン、ネオキサンチン、クロセチン、消化・吸収、体内動態

[背景・ねらい]

多くの植物性食品に含まれるカロテノイドは、ラジカル捕捉活性及び一重項酸素消去能などの抗酸化性示すため生活習慣病予防に寄与しているものと考えられている。また、その中でも極性の高いキサントフィルやアポカロテノイドには抗酸化性の他に特異な生物活性が報告されている。海藻に含まれるフコキサンチンや緑葉野菜のネオキサンチンには強い抗プロモーション活性やがん細胞増殖抑制活性が、サフランやクチナシの色素成分であるクロセチンには血流改善作用が報告されており、ヒトの健康維持への関与が示唆されている。しかし、これらを食品から摂取した場合の生物活性発現を裏付ける消化・吸収等の生体内動態についての知見は得られていない。本研究では、これらのキサントフィル類の消化・吸収と代謝産物についてマウスへの経口投与試験により解析し、また、それらの生物活性をPC-3ヒト前立腺がん細胞の増殖に対する影響から評価した。

[成果の内容・特徴]

1. ワカメ由来フコキサンチンのマウスへの経口投与試験の結果、フコキサンチンは消化管内でフコキサンチノールへ加水分解されたのち吸収され、さらに肝臓ミクロソームの脱水素酵素の働きによりアマローシアキサンチンAに変換されることを見出した(図1)。これらの代謝産物は、PC-3ヒト前立腺がん細胞に対してフコキサンチンと同程度の細胞毒性を示したことから、従来報告されてきた in vivo でのフコキサンチンの生物活性はこれらの代謝産物に依存することが示唆された。
2. ホウレン草由来ネオキサンチンのマウスへの経口投与試験の結果、ネオキサンチンは消化管内でその一部がネオクロームに異性化されたのち吸収されることを見出した(図2)。ネオキサンチンのPC-3ヒト前立腺がん細胞に対するアポトーシス誘導活性は、ネオクロームでは消失したものの顕著な細胞増殖抑制作用を示した。in vivo でのネオキサンチンの生物活性にはネオクロームも関与することが示唆された。
3. クロシン及びクロセチンのマウスへの経口投与試験の結果、クロシンは消化管内でクロセチンへ加水分解後に吸収されること、クロセチンの一部はグルクロン酸抱合体に変換されることを見出した。これらの吸収性は、 β -カロテンやネオキサンチン等に比べ10倍程度高いことが示唆された。
4. 植物性食品中のカロテノイドの消化性及び消化過程における化学変化を調べるため、塩酸性や消化酵素処理等からなる in vitro 消化系を構築した。ホウレン草に含まれる非極性の β -カロテンの消化性は、極性のキサントフィル類に比べ著しく低いことが示され、食品カロテノイドの消化性を評価できることが分かった(図3)。

[成果の活用面・留意点]

マウスへ経口投与されたフコキサンチン、ネオキサンチン及びクロセチンは吸収・代謝され血液中出现することが示され、ガン予防や血流改善等の生体での機能発現が期待される。今後、さらに、ヒトが摂取した場合の吸収を調べる必要がある。in vitro 消化系を用いることによって、食品中の脂溶性栄養機能成分の消化性や消化性に及ぼす食品因子を簡便、迅速に解析することが可能となる。

[具体的データ]

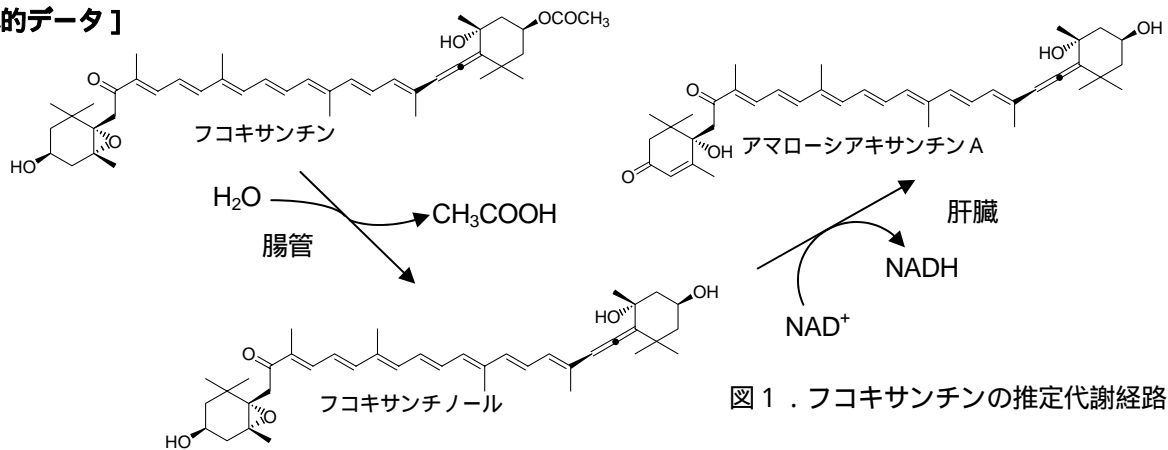


図1. フコキサンチンの推定代謝経路

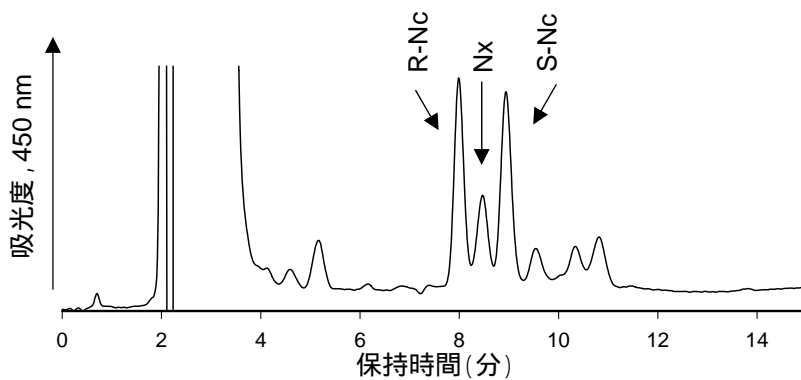


図2. ネオキサンチン投与マウス血漿抽出物のHPLC分析
R-Nc, (8'R) - ネオクローム
S-Nc, (8'S) - ネオクローム
Nx, ネオキサンチン

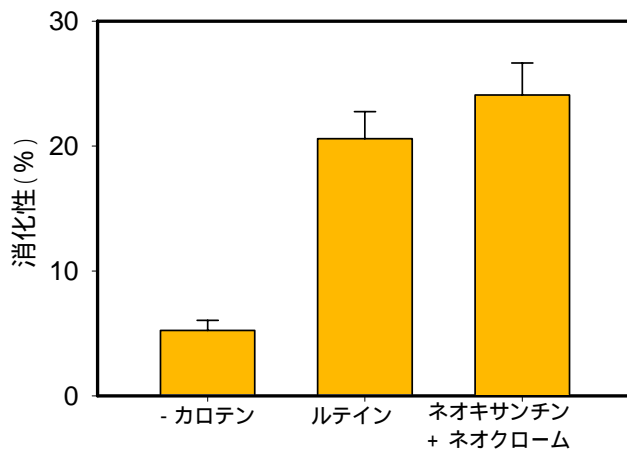


図3. ホウレン草カロテノイドのin vitro消化試験
ホウレン草から消化物可溶性画分へ移行したカロテノイドの割合を示す。

[その他]

研究課題名: テルペノイド (科振調)、クチナシ色素の生体吸収性に関する研究 (受託研究)

予算区分: 科振調 (非栄養性機能物質)、受託研究

研究期間: 2003~2004年度 (2004年度)

研究担当者: 長尾昭彦

発表論文等:

- 1) Akira Asai, *et al.*, An epoxide-furanoid rearrangement of spinach neoxanthin occurs in the gastrointestinal tract of mice and in vitro: formation and cytostatic activity of neochrome stereoisomers, *J. Nutr.*, **134**, 2237-2243(2004)
- 2) Akira Asai, *et al.*, Biotransformation of fucoxanthinol to amarouciaxanthin A in mice and HepG2 cells: formation and cytotoxicity of fucoxanthin metabolites, *Drug Metab. Dispos.* **32**, 205-211(2004)

[成果情報名] 脂質及びトコフェロール類（ビタミン E）類の腸管膜吸収機構の解明

[要 約] 脂溶性物質の生体内動態を解明するために、大腸癌由来細胞系や動物実験系で、各種構造脂質やトコフェロール類の吸収を調べた。腸管からの吸収の速い脂質代謝物が共存するとトコフェロール類の吸収も速くなることがわかった。

[部 署] 食品総合研究所・食品素材部・脂質素材研究室

[連絡先] 脂質素材研究室 029-838-8039 wakako@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 構造脂質、 トコフェロール、 トコトリエノール、 腸管膜吸収

[背景・ねらい]

脂質の過剰摂取は、血管系疾患などの「現代病」と密接に関連があるが、脂質の中には、機能性脂質や必須脂肪酸などもあり、脂質を「上手に」摂取することが重要である。しかし、これら脂溶性物質の生体内動態については、十分解明されていない。本研究においては、食品中に含まれる多様な脂溶性物質の効率的な摂取方法を提案するために、大腸ガン由来細胞を用いた腸管膜細胞モデル系や動物実験系で構造脂質やビタミン E の腸管膜透過機構について調べた。

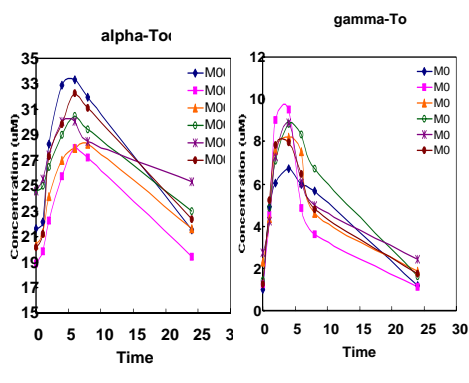
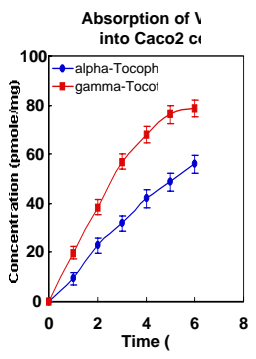
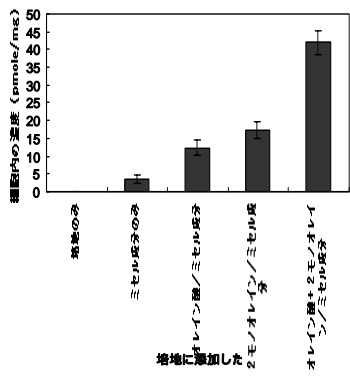
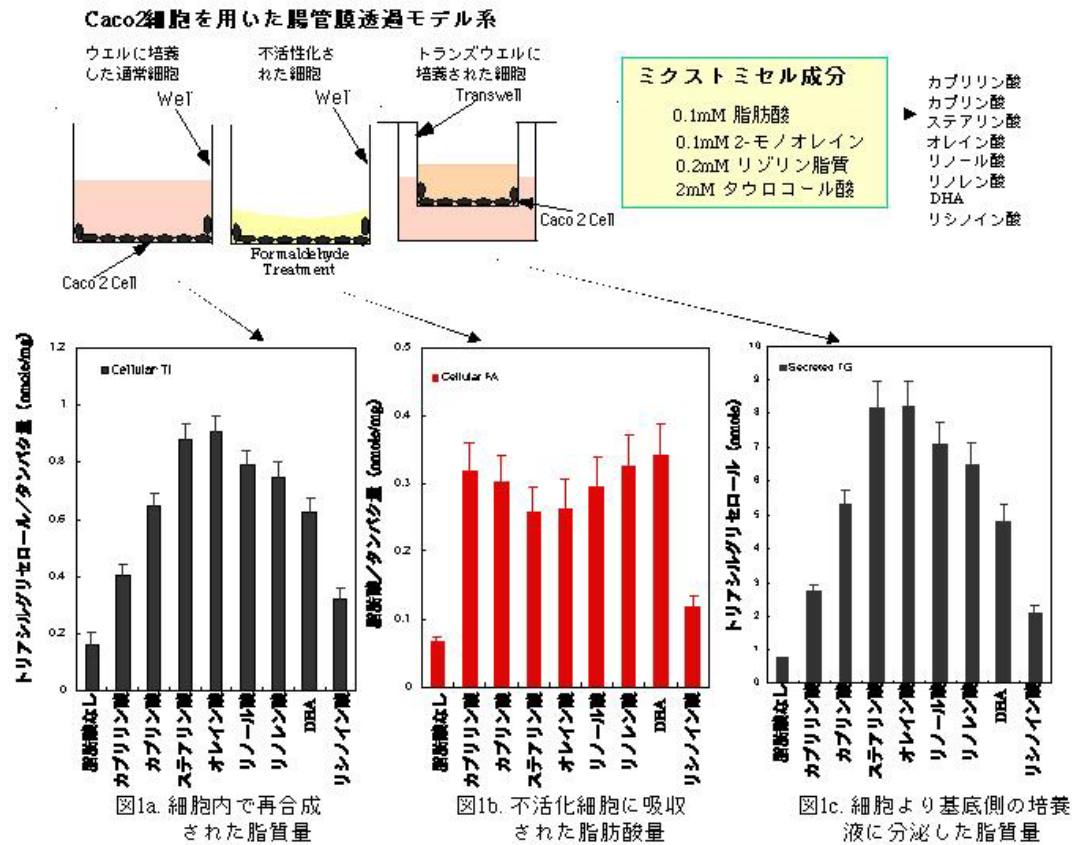
[成果の内容・特徴]

1. ヒト大腸ガン細胞由来の Caco2 細胞を用いて、3 種類の腸管膜モデル系を構築した。Caco2 細胞をウエル上に培養した系では、培養液から Caco2 細胞への脂溶性成分の吸収量を測定できる（図 1a）。また、ウエルに培養した Caco2 細胞をホルムアルデヒドで前処理して細胞活性を喪失させた系では、細胞活性を伴わない脂溶性成分の吸収量を評価できる（図 1b）。トランスウエル上に Caco2 細胞を培養した系では、培養液から吸収した脂溶性成分が、Caco2 細胞を介して、基底側の培養液に分泌される量を測定できる（図 1c）。
2. 蛍光 HPLC 法による高感度な脂肪酸検出法を確立したので、細胞内へ吸収された微量な非放射性脂質の検出ができ、様々な分子構造の脂質の挙動を調べることが可能になった。
3. 胆汁酸等でミセル化された各種脂肪酸の Caco2 細胞への吸収速度は、脂肪酸の側鎖の分子構造に依存していた。ステアリン酸やオレイン酸等の長鎖脂肪酸よりも、カプリン酸等の中鎖脂肪酸やリノレン酸や DHA 等の多価不飽和脂肪酸の方が、活性のない細胞への吸収速度は速かった（図 1b）。一方、細胞活性を有する通常の Caco2 細胞へ吸収された脂質代謝物はすぐにトリアシルグリセロールに再合成される。細胞中のトリアシルグリセロール量は、中鎖脂肪酸や多価不飽和脂肪酸よりも、長鎖脂肪酸を吸収したときの方が多く（図 1a）、再合成された脂質の腸管膜細胞からの分泌量も同様の傾向があった（図 1c）。
4. 脂溶性ビタミンのひとつであるビタミン E の Caco2 細胞への取り込みは、脂質代謝物が共存するときに増大することがわかった（図 2）。
5. 抗酸化力が強くスーパービタミン E と呼ばれているトコトリエノールの Caco2 細胞への吸収速度は、ビタミン E の主成分であるトコフェロールより速いことがわかった（図 3）。
6. ラットに脂質といっしょにこれらのビタミン E 類を投与したところ、血漿中のトコトリエノールの増加、減衰は、トコフェロールのそれよりも速くなっており、腸管膜細胞系での結果は、動物実験系でも裏付けられた（図 4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 腸管膜透過モデル系の結果から、構造脂質の代謝物の分子構造から吸収速度を推定することが可能になった。例えば、加水分解された脂質代謝物の中で多価不飽和結合を有する脂肪酸や水酸基の結合する脂肪酸等は吸収され難い脂質と考えられる。
2. 吸収速度の速いオレイン酸等の脂質代謝物が共存すると脂溶性ビタミンなどの吸収も速くなるので、この組合せを応用して効率的に脂溶性機能性成分を吸収する系を構築できる。

[具体的データ]



[その他]

研究課題名：脂質関連酵素反応に関する脂質分散状態の解析
 予算区分：経常研究費
 研究期間：2004～2006年度(2004年度)
 研究担当者：都築和香子、長尾昭彦
 発表論文等：

- 1) W.Tsuzuki, A.Ue, A.Nagao, M.Endo and M.Abe, Inhibitory effect of lysophosphatidylcholine on pancreatic lipase-mediated hydrolysis in lipid emulsion. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1684**, 1-7 (2004)
- 2) W.Tsuzuki, A.Ue and A.Nagao, Polar organic solvent added to an aqueous solution changes hydrolysis property of lipase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1660-1666(2003)

[成果情報名] 効率的マイクロチャンネル乳化のための非対称マイクロデバイスの開発

[要約] 非対称構造のマイクロ貫通孔を効率的に集積したシリコンデバイスを製作し、このデバイスを用いて単分散エマルションの効率的な作製技術を開発した。また計算機流体力学を用いてマイクロ貫通孔からの液滴作製挙動のシミュレーション技術を確認した。

[部署] 食品総合研究所・食品工学部

[連絡先] 食品工学部長 029-838-8014 mnaka@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] マイクロチャンネル乳化、単分散エマルション、非対称マイクロ貫通孔、シリコン基板、計算機流体力学 (CFD)、液滴作製シミュレーション

[背景・ねらい]

分散液滴径の揃った単分散エマルションは、種々の高機能な液体・固体微粒子、マイクロカプセルなどの製造に有用な材料であり、食品や医薬品など各種産業で多様な用途が存在する。本研究では、単分散エマルションを従来のマイクロチャンネル (MC) 乳化よりも効率良く安定的に作製できるスリットとチャンネルの二層構造の非対称マイクロ貫通孔を持つシリコン非対称貫通型 MC を新規に開発した。また CFD (Computational Fluid Dynamics) を用いてマイクロ貫通孔からの液滴作製プロセスのシミュレーションと解析を行なった。

[成果の内容・特徴]

1. 半導体微細加工技術を利用して、スリットとその下部の円形チャンネルからなる非対称マイクロ貫通孔の加工に成功した。均一なサイズの非対称貫通型 MC は、大きさ 24mm、厚さ 500 μ m のシリコン基板の中央部に約 1 万個形成されている (図 1)。
2. 非対称貫通型 MC を用いることで、大豆油に加え低粘度のデカンを分散相とした系 (連続相: 1.0wt% ドデシル硫酸ナトリウム水溶液) でも平均液滴径 35 ~ 40 μ m で変動係数 2% 以下の単分散水中油滴型 (O/W) エマルションを安定的に作製することができる (図 2)。非対称貫通型 MC を通過した分散相は、連続相中で外力による剪断を必要とせず自発的にマイクロ液滴へと変形する。現在、非対称貫通型 MC から最大で大豆油系で約 10 個/s、デカン系で約 50 個/s の単分散液滴を高効率かつ安定的に作製することができる。
3. 貫通型 MC を用いたマイクロ液滴作製プロセス (大豆油/水系) のシミュレーションを行うための CFD モデルを構築した。このモデルには、円形貫通型 MC (図 3a、直径 10 μ m) または楕円形貫通型 MC (図 3b、長軸 40 μ m、短軸 10 μ m) が組み込まれている。円形ではなく歪んだ断面を持つ貫通型 MC を含む CFD モデルを用いて計算した場合に自発的な液滴作製が起こり、直径 40 μ m のマイクロ液滴が安定的に作製された (図 3)。これは実験結果を支持するものであり、CFD は貫通型 MC 乳化プロセスのシミュレーションと解析に有用である。

[成果の活用面・留意点]

非対称貫通型 MC は単分散エマルションを効率良く安定的に作製できる優れたデバイスであるが、普及のためには基板の大型化および操作性に優れた大型モジュールの開発が必要である。実験と CFD シミュレーションを上手く活用することにより、MC 乳化の最適設計が可能になると考えられる。

[具体的データ]

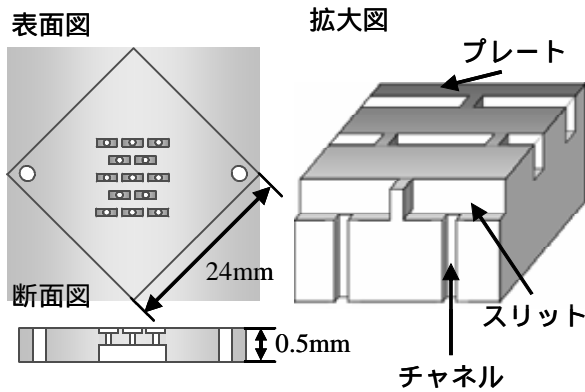


図1 シリコン非対称貫通型 MC デバイス

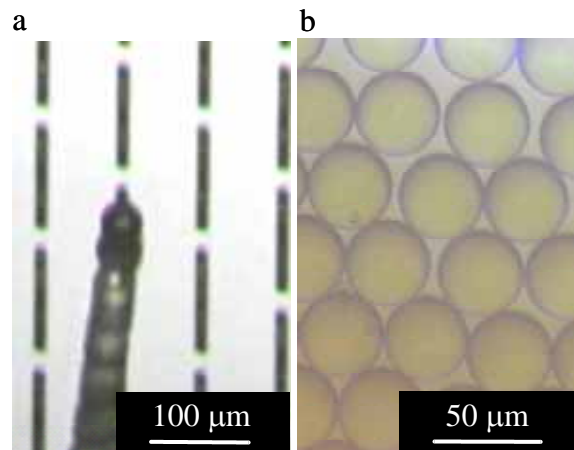


図2 非対称マイクロ貫通孔を用いた
単分散 O/W エマルション作製

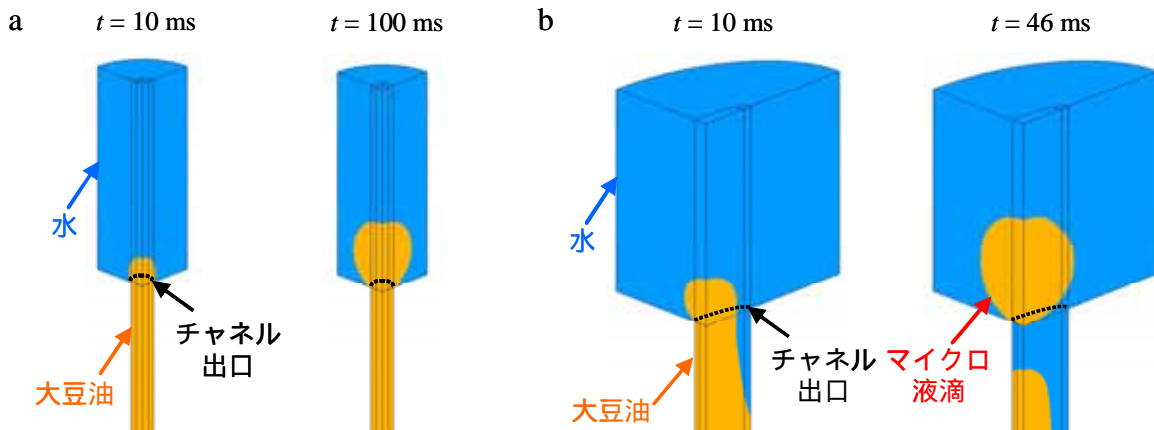


図3 貫通型 MC を用いたマイクロ液滴作製プロセスの CFD シミュレーション結果
a : 円形貫通型 MC (直径 10 μm), b : 楕円形貫通型 MC (長軸 40 μm, 短軸 10 μm)

[その他]

研究課題名：単分散ナノ粒子およびマイクロ粒子の作製（ナノテクノロジー）

単分散マイクロカプセルおよびナノカプセルの作出と機能発現特性の解明（科研費）

予算区分：農水省ナノテクノロジープロジェクト、科研費

研究期間：2002～2006年度（ナノテク）、2002～2004年度（科研費）

研究担当者：小林功、中嶋光敏

発表論文等：

- 1) Kobayashi, I., Mukataka, S., Nakajima M.: Effect of slot aspect ratio on droplet formation from silicon straight-through microchannels, *J. Colloid Interface Sci.*, **279**, 277-280(2004)
- 2) Kobayashi, I., Mukataka, S., Nakajima M.: CFD simulation and analysis of emulsion droplet formation from straight-through microchannels, *Langmuir*, **20**, 9868-9877(2004)
- 3) 中嶋光敏、小林 功：マイクロスフィアの製造装置および製造方法；特願 2004-302529(2004. 10. 18)

[成果情報名] 電解水を用いた野菜の効果的殺菌と品質保持

[要 約] 強酸性電解水を用いたレタスの殺菌において、加温した(50℃)強アルカリ性電解水を前処理に用いることで顕著な殺菌効果および褐変抑制効果を得ることができた。また、バイオフィルムの殺菌においても強アルカリ性電解水による前処理が効果的であった。

[部 署] 食品総合研究所・食品工学部・製造工学研究室

[連絡先] 製造工学研究室 029-838-8029 seichi@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 強酸性電解水、強アルカリ性電解水、殺菌処理

[背景・ねらい]

電解水(強酸性電解水および強アルカリ性電解水)のポストハーベストを含む農業分野への最適化利用のために、処理方法(主に殺菌効果)に関する諸問題を抽出し、その解決方法を検討して最適な処理方法を提案することを目的とした。その中で、殺菌効果を評価するための実験系として、植物表面やバイオフィルムの殺菌効果評価方法を確立し、この評価系を用いて、電解水の殺菌効果を最大限にするため、強アルカリ性電解水による前処理や加温等を併用した処理方法を検討した。

[成果の内容・特徴]

1. 強アルカリ性電解水による前処理と加温との併用効果の検討

強酸性電解水による処理との併用効果を明らかにするため、強アルカリ性電解水による前処理、さらには加温(50℃)処理の併用効果について検討した(図1)。その結果、通常温度(20℃)での強アルカリ性電解水の前処理(5分間)効果は、強酸性電解水による単独処理よりも殺菌効果が1 log₁₀ CFU/g程度向上した。一方、強アルカリ性電解水を50℃に加温して前処理(5分間)に用いた場合には、強酸性電解水による単独処理よりも殺菌効果が3 log₁₀ CFU/g程度向上した。また、レタスの品質として、栄養成分の一つであるアスコルビン酸の含量変化を比較した結果、加温処理を含めて一連の電解水処理によって影響を受けないことが明らかになった。

2. バイオフィルムに対する殺菌効果の検討

金属表面に大腸菌のバイオフィルムを流れの中で生成するシステムを作成した(図2)。これによって安定的にバイオフィルムを作成することが可能になった。バイオフィルムに対する電解水の殺菌効果を検討した結果、強酸性電解水による単独処理では顕著な効果は認められなかった。一方、強アルカリ性電解水により前処理した後に強酸性電解水で処理した場合は、顕著な殺菌効果を示した(図3)。

3. 付着有機物量と電解水の殺菌効果との関係解明

レタス表面に微量の有機物(ペプトン溶液)を付着させることで、強酸性電解水の殺菌効果は低下することが確認された(図4)。しかし、これらの付着物も強アルカリ性電解水等で前処理することで除去され、強酸性電解水本来の殺菌効果を得ることができた。したがって、確実に安定的な殺菌効果を得るためには前処理が必要不可欠であることが示唆された。

[成果の活用面・留意点]

本研究によって電解水(強酸性電解水および強アルカリ性電解水)の効果的な使用方法を実験室レベルで明らかにすることができたが、今後は実用化に向けて規模を拡大して試験を行い、効果の再現性を確認していく必要がある。

[具体的データ]

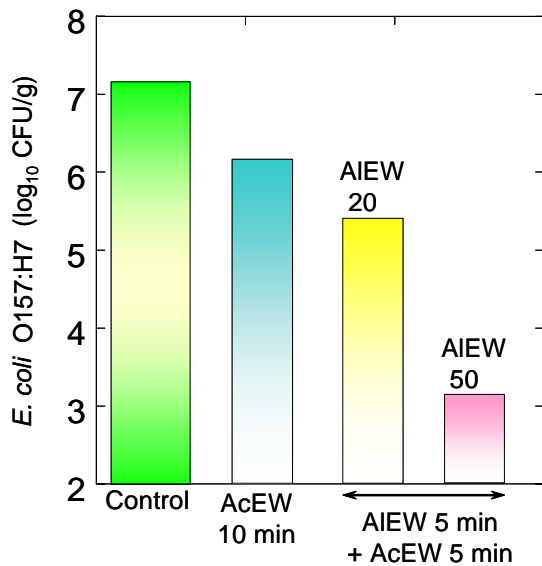


図1 強アルカリ性電解水による前処理と強酸性電解水処理との併用効果

AcEW: 強酸性電解水、AIEW: 強アルカリ性電解水

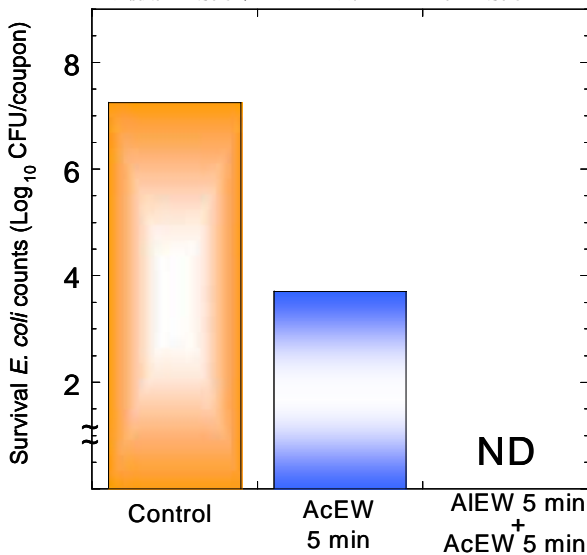


図3 電解水によるステンレス上のバイオフィルムに対する殺菌効果

AcEW: 強酸性電解水 AIEW: 強アルカリ性電解水
ND: 検出されず

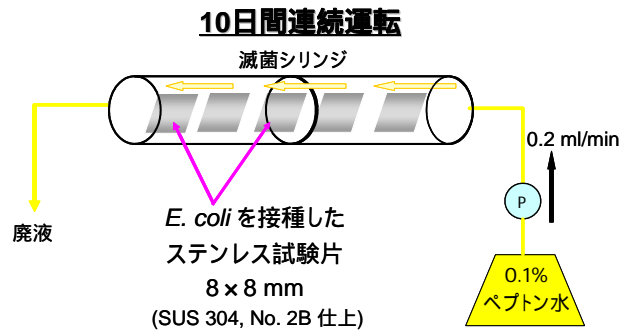


図2 バイオフィルム生成システムの概要

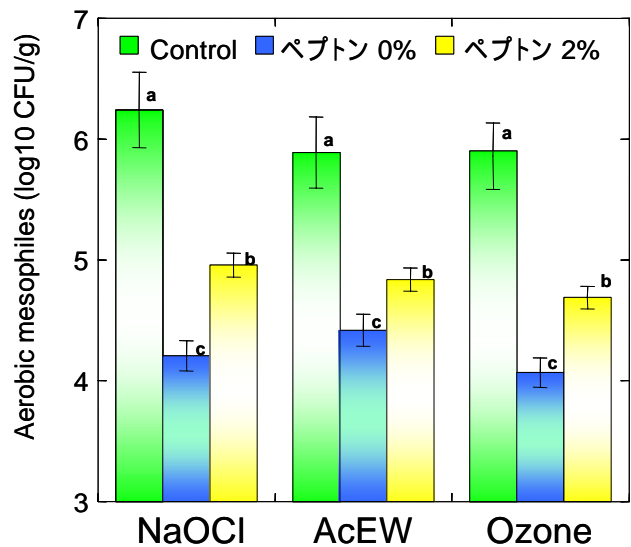


図4 レタス上の付着有機物量(ペプトン)と殺菌効果との関係

AcEW: 強酸性電解水
NaOCl: 次亜塩素酸ナトリウム(200 ppm)
Ozone: オゾン水(5 ppm)

[その他]

研究課題名: 殺菌を主体とした最適化利用のための電解水の作用機構の解明

予算区分: 経常、交付金プロジェクト(特定資材現地農法)

研究期間: 2000~2004年度(2004年度)

研究担当者: 五十部臨誠一郎, 小関成樹

発表論文等:

- 1) KOSEKI et al. :Efficacy of Acidic Electrolyzed Water as a Sanitizer for Microbial Control of Cucumbers and Strawberries, *Journal of Food Protection*, **67**, 1247 – 1251(2004)
- 2) KOSEKI et al. :Effect of Mild Heat Pre-treatment with Alkaline Electrolyzed Water on Efficacy of Acidic Electrolyzed Water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Lettuce, *Food Microbiology*, **21**, 559 – 566(2004)

[成果情報名] 調理加工におけるタマネギ中のフラボノイドの挙動

[要 約] タマネギ中の主要な抗酸化成分であるケルセチン 3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン 4'-グルコシドは、「炒める」、「揚げる」等の単一の加熱操作においては比較的安定であったが、タマネギを用いた実際の調理加工においては他の調理操作の影響で残存率が低くなるケースがあることを確認した。

[部 署] 食品総合研究所・食品工学部・製造工学研究室

[連絡先] 製造工学研究室 029-838-8029 tknk1221@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] フラボノイド、機能性成分、調理損耗

[背景・ねらい]

農産物に含まれている機能性成分について多くの研究が行われているが、これらを含んだ素材が食品として調理加工される場合に、十分にそれらが保持されているか、また機能性がどのように変動しているかについては不明な点が多い。農産物は収穫後、摂取されるまでにいくつもの過程を経るが、中でも調理加工における加熱操作は食品の品質を大きく変動させる。本研究では、各種調理加工操作における機能性成分の挙動を追跡し、栄養性・嗜好性等の食品の本来持つ特性とのバランスを考慮した適切な加工方法を見出すことを目的とした。

[成果の内容・特徴]

1. オニオンスープの製造においては、タマネギを単に炒めたり揚げたりしても、タマネギ中のフラボノイドはあまり変化しなかったが、これらをブイヨンと一緒に煮込んでオニオンスープに仕上げると、特に揚げタマネギを用いたものにおいてフラボノイドの残存率は低くなった（図1）。
2. タマネギの搾汁液を濃縮・加熱して作製するオニオンエキスの製造過程においては、加熱によるフラボノイドの損失は少なかった。濃縮段階においてはフラボノイドの濃度は増大し、その損失は認められなかった（図2）。
3. タマネギ中の主要な抗酸化成分であるケルセチン 3,4'-ジグルコシド（Q3,4'G）およびケルセチン 4'-グルコシド（Q4'G）は、単独で加熱される場合、100 の湿熱および乾熱加熱においては極めて安定であったが、200 の乾熱加熱においては特に Q3,4'G の減少が目立ち、Q4'G およびケルセチン（Q）が一部検出された（図3）。

[成果の活用面・留意点]

農産物素材だけでなく、それらを用いた様々な調理加工品について機能性成分に着目した評価を行うことで、実際に摂取している食品の品質に関する情報が増え、場合によっては高付加価値化を図ることができる。食品の調理加工においては通常、成分や特性の多様な変化を伴うので、それらのバランスを考慮して調理加工法を設計する必要がある。

[具体的データ]

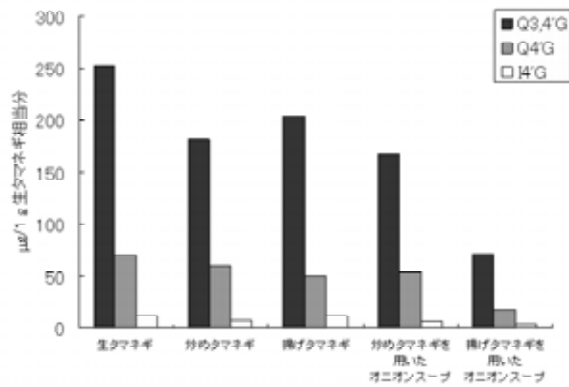


図1 オニオンスープ製造過程の各種タマネギ試料におけるフラボノイドの含有量

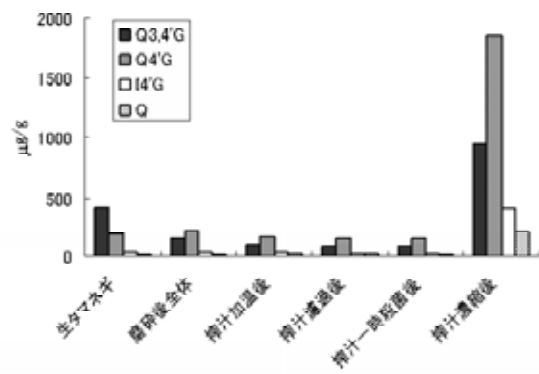


図2 オニオンエキス製造工程の各段階のフラボノイド含有量

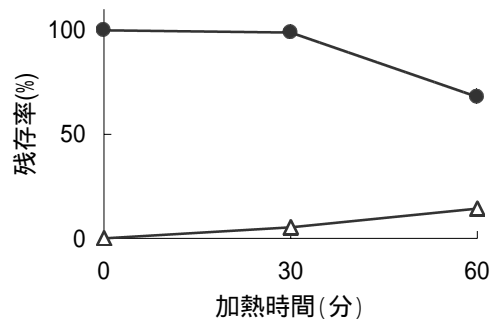
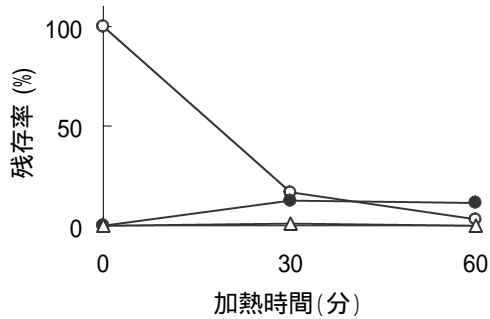


図3 Q3,4'G および Q4'G (いずれもタマネギから単離・精製されたもの) の乾熱加熱 (200℃) における変化 (左グラフ: Q3,4'G の加熱、右グラフ: Q4'G の加熱、●: Q3,4'G、○: Q4'G、△: Q)

[その他]

研究課題名: 食品の機能性向上を目的とした調理加工手法の開発と評価

予算区分: 委託費プロジェクト (食品総合)

研究期間: 2002 ~ 2005 年度 (2004 年度)

研究担当者: 竹中真紀子、五十部誠一郎

サンプル調製協力: 大貫勇 (日本エスコフィエ協会)、永谷幸善 (井村屋製菓株)

発表論文等:

- 1) Makiko Takenaka *et al.*, Cooking loss of major onion antioxidants and the comparison of onion soups prepared in different ways, *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 405-409(2004)
- 2) 竹中真紀子 他、オニオンエキス製造工程におけるフラボノイド含有量の変動、日本食品科学工学会第41回大会講演要旨集、70ページ、2004年9月

[成果情報名] アウリントリカルボン酸を利用した米麹からの簡便RNA抽出法

[要 約] 醗酵食品においては醗酵過程に微生物が生産する種々の核酸分解酵素の活性が高く、またRNA等の核酸は澱粉質との分離が困難であるため、そのような試料から高品質のRNAを簡便に精製することはこれまで困難であった。我々は核酸保護物質アウリントリカルボン酸(ATA)を用いて米麹等の多量の澱粉質を含む醗酵食品試料より、試料中の微生物のRNAを簡便かつ安定に抽出する方法を開発した。

[部 署] 食品総合研究所・応用微生物部・糸状菌研究室

[連絡先] 糸状菌研究室 029-838-8077 satosuz@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 麹菌、RNA抽出法、アウリントリカルボン酸(ATA)、米麹

[背景・ねらい]

これまで、醗酵食品試料からのRNA抽出、特に米麹のような澱粉質を多量に含む試料から醗酵中の食品微生物の発現遺伝子をリアルタイムに検出するための高品質なRNAを抽出することは困難であった。その理由としては(1)醗酵食品中の核酸分解酵素活性が高い(2)澱粉等の多糖類を多量に含むため精製操作が煩雑となり(1)とあいまって、多段階の精製操作中に試料中の強力な核酸分解活性によりRNAが分解してしまう、の2点が挙げられる。従って強力なRNA保護剤の採用と精製操作の簡便化が問題解決に重要であると考えられた。従来法では、試料や器具に含まれる核酸分解活性をグアニジンチオシアネートによるタンパク質変性により抑制し、核酸と多糖の分離は、遠心分離操作において微妙に遠心力や遠心時間を調整することで行なっていた。しかし、試料の核酸分解活性が高いため、タンパク質変性剤を用いても、常に冷却を保ち迅速な操作を行わなければRNAの分解を完全に抑えることは出来なかった。また、遠心条件の微妙な調整による核酸と多糖の分離は、精製度と収量という二律背反する要求の妥協点を溶液の濁度の目視等による主観に基づき経験的に判断して行っており、更に核酸保護能力の不足分を冷却で補うことにより核酸と多糖がより同時に沈殿しやすい状況を作り出すため困難を伴っていた。そのような従来法の問題点を解決し、操作に熟練を要せず簡便に高品質なRNAを醗酵食品試料より抽出するため、アウリントリカルボン酸(ATA)とCTABを用いる方法を開発した。本方法は、RNA精製の定法であるグアニジン塩による試料の可溶化と塩化セシウム超遠心法によるRNAの選択的沈殿による方法に加えて、ATAによる強力な核酸保護作用とCTABによる多糖の分離を組み合わせた方法である。

[成果の内容・特徴]

1. 本方法はATAを用いることによりRNAを核酸分解酵素より保護する。ATAは核酸及び核酸分解酵素に強固に結合し核酸を分解から保護するため、精製操作中のバッファー交換時などもRNAを保護し続けることが出来る。従って抽出バッファー中のタンパク質変性剤等の一般的な核酸分解酵素阻害剤の働きが期待できない状況でも、RNAの分解を防ぐことが出来る上、精製操作中の核酸分解酵素の混入に対しても核酸保護効果を発揮する。ATAを用いる方法はイネの研究グループによる生米からのRNA抽出の実績があり、また動物組織からのRNA抽出法としても報告があるが、CTABと組み合わせた醗酵食品への応用は初めてである。
2. 本方法では米由来の多量の糊状成分をCTAB法と超遠心により2段階で除去する。第一段階の遠心分離ではCTABにより不溶性の糊状成分とタンパク質の大部分を除去する。さらに上清中の不純物を5.7M塩化セシウム超遠心法により除去して高純度のRNAを沈殿として回収する。その際ATAの大部分もRNAから除去されると考えられる。
3. 本方法では無傷の長いmRNAも取得できる。本方法により抽出した全RNA中から定法に従いmRNAを

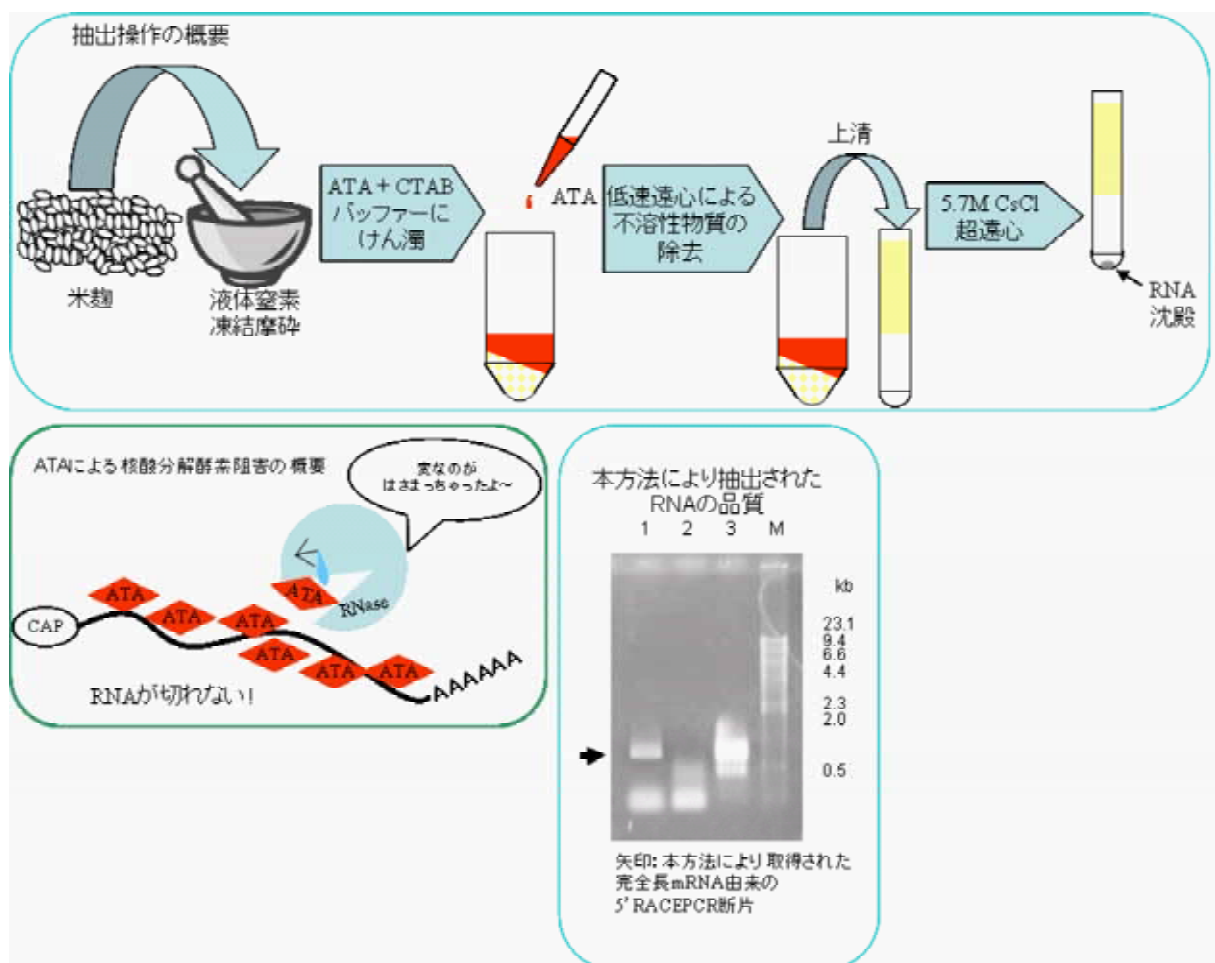
精製し、5' RACE法により末端配列を確認したところ、5' キャップ構造を持つ完全長のmRNAが含まれていることが明らかとなった。

4. 本方法により、従来法に比べて全RNAにして約5倍の収量（米麹10gあたり500から800 μg ）を挙げた。また、RACE反応等を例とする各種酵素反応に利用できる高純度のRNAを得られた。

[成果の活用面・留意点]

醗酵醸造食品中の微生物の遺伝子発現をモニタリングすることで、醗酵過程の解析を行うことが出来る。また、それにより醗酵工程の最適化に必要なデータを得ることが出来る。また、これまで解析が困難であった、米麹等の固体培養時に特異的に発現する有用酵素遺伝子等の探索にも役立つ。

[具体的データ]



[その他]

研究課題名：麹菌の形態変化に伴う高発現遺伝子の制御機構の解析

予算区分：交付金プロジェクト（形態生理）

研究期間：2001～2003年度

研究担当者：鈴木聡、柏木豊

発表論文等：

- 1) 鈴木聡、他 4 名：アウリントリカルボン酸アンモニウムを用いた米麹からの麹菌全 RNA 抽出法の検討、食品総合研究所研究報告、68号、p33～37（2004）

[成果情報名] 麹菌の高温誘導性遺伝子の発現制御領域を利用したタンパク質生産の制御

[要 約] 麹菌の高温誘導性熱ショック蛋白質遺伝子 (*Aohsp30*) を単離し、その発現制御領域を用い、外来遺伝子を組込んだ組換えプラスミドを構築した。これを麹菌に形質転換し、得られた形質転換菌を高温培養することによって、外来遺伝子を高発現させ、温度による蛋白質生産の制御に成功した。

[部 署] 食品総合研究所・応用微生物部・糸状菌研究室

[連絡先] 研究室名 029-838-8077 ykswg@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 麹菌、ゲノム、高温誘導、蛋白質生産制御

[背景・ねらい]

1. 麹菌は、味噌、醤油、清酒などのわが国の伝統的発酵食品生産に不可欠であり、酵素生産源としてタカジアスターゼなどの酵素生産にも用いられ、産業的に重要な微生物である。麹菌は、蛋白質の分泌生産性が高いという特徴を持っているが、さらに生産性の高い品種の育種が望まれている。
2. 酒造における製麹（せいきく）工程では、製麹後期に品温が 40 ほどにまで上昇する。アミラーゼ等の酵素生産は、品温の上昇により急激に高まることが経験的に知られている。そこで、高温培養において大量に発現する遺伝子を利用すれば、麹菌の酵素生産のさらなる改善が期待される。
3. 本研究では、麹菌を高温培養した時に、特異的かつ大量に発現する遺伝子を単離し、この遺伝子の発現制御領域を利用することにより、外来遺伝子産物の大量発現系の構築を目的とした。

[成果の内容・特徴]

1. 麹菌を高温培養（37 または 42 ）した時に特異的に発現する遺伝子を cDNA サブトラクション法で探索し、熱ショック蛋白質の一種の遺伝子を単離し、本遺伝子を *Aohsp30* と命名した。
2. *Aohsp30* は、液体培養において 30 ではほとんど転写されないが、培養温度を 30 から 42 に高温シフトさせると、転写量が急激に高まる特徴を持っていた（図 1）。
3. 大腸菌の β -グルクロニダーゼ遺伝子（GUS 遺伝子）を保持する麹菌用形質転換ベクター pNAG の GUS 遺伝子の 5' 上流に *Aohsp30* のプロモーター領域を連結し、高温誘導プロモーターベクター pNAGMPro を構築した。pNAGMPro を用いて麹菌を形質転換し、組換え麹菌を取得した（図 2）。
4. 得られた組換え麹菌を 30 にて液体培養し、菌体を十分生育させた後、培養温度を 42 に上昇し、高温誘導を行うことにより、 β -グルクロニダーゼ酵素活性を、30 に比較して、5.0 倍以上に高発現させることに成功した（図 3）。

[成果の活用面・留意点]

1. 本高温誘導性遺伝子及び組換え麹菌は、酵素等の蛋白質生産の高度化のために利用することができる。
2. pNAGMPro ベクターにおいて、GUS 遺伝子の 5' 側のすぐ上流にマルチクローニングサイトを導入すれば、クローニングに際して GUS 活性による挿入失活法を利用できるようになる。
3. 高温培養において高発現する麹菌遺伝子およびその発現状況は、高温条件での麹菌の生育状態、発酵状態を調査するための参考として活用できる知見である。
4. 組換え DNA 技術を用いるため、本組換え麹菌は食品への直接利用には適さない。

[具体的データ]

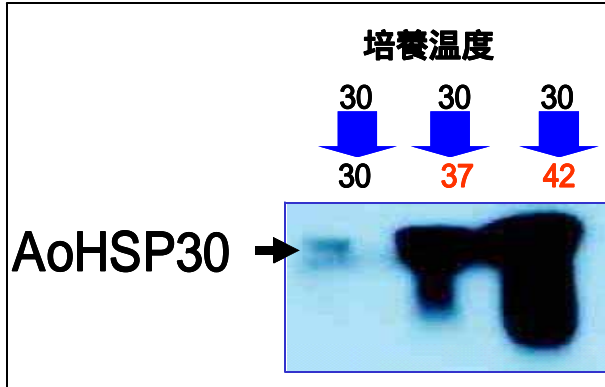


図1 ノーザンハイブリダイゼーション法による熱ショック蛋白質遺伝子 (*Aohsp30*) の転写量の高温誘導の検出

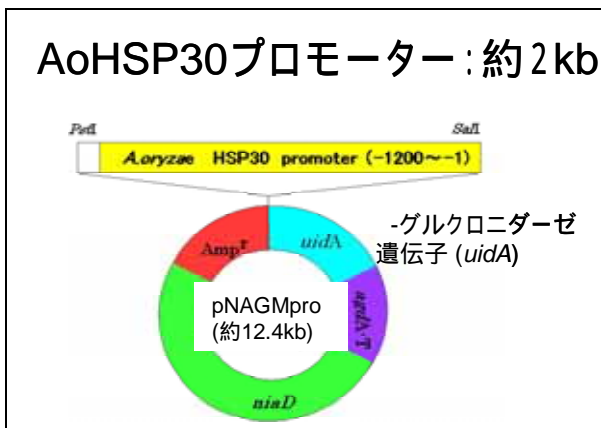


図2 高温誘導プロモーターベクターの構築

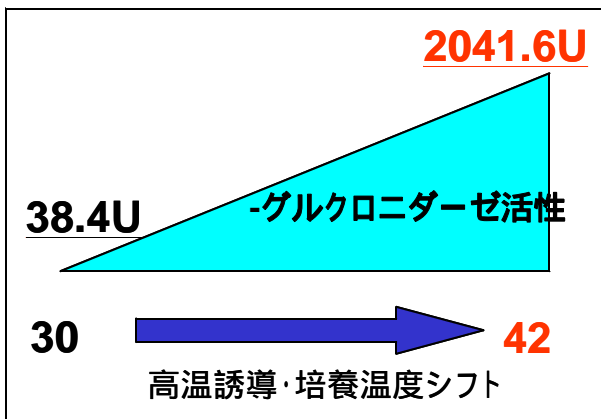


図3 高温誘導による酵素活性の上昇

[その他]

研究課題名：麹菌等の遺伝子の構造と機能に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2001～2006年度（2005年度）

研究担当者：柏木豊、松下真由美、山口加奈子、栗原洋子、鈴木聡、楠本憲一

発表論文等：

- 1) 柏木豊、他：麹菌の遺伝子、該麹菌発現遺伝子のプロモーター並びに該プロモーターを利用した外来遺伝子の発現方法、特許出願、2003-312099、平成15年9月4日

[成果情報名] 還元末端から単糖を遊離するエキソ型キシラナーゼの発見

[要 約] *Bacillus halodurans* 由来 BH2105 遺伝子を大腸菌に発現させて酵素を精製した。本酵素はキシロオリゴ糖の還元末端から単糖を遊離するエキソ型酵素であり、REX (Reducing-end-xylose releasing exo-oligoxyylanase)と命名した。糖質の還元末端から単糖を遊離するエキソ型酵素は世界初の発見である。

[部 署] 食品総合研究所・生物機能開発部・酵素機能研究室

[連絡先] 酵素機能研究室 029-838-8071 mkitaoka@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] キシラナーゼ、エキソ型酵素、REX

[背景・ねらい]

近年多くの微生物のゲノム配列が明らかになるにつれ、既存の酵素と中程度のホモロジーを示すタンパクをコードする遺伝子が見つかっている。我々はその中で好アルカリ性細菌である *Bacillus halodurans* のゲノムに見いだされ、セルラーゼ、キトサナーゼ、キシラナーゼ等が含まれる糖加水分解酵素ファミリー 8 (GH8)に属するが、キシラナーゼと30%程度のホモロジーを示すのみでその活性は明らかではないタンパクをコードする遺伝子に着目しその遺伝子産物の機能ならびに性質を調べた。

[成果の内容・特徴]

1. *B. halodurans* 由来 BH2105 遺伝子を大腸菌に発現させて遺伝子産物を調製した。精製された酵素は元々のN末端を保っており、菌体内酵素である。
2. 本酵素を同ファミリー内にある酵素が分解する基質であるキチン、キトサン、CM-セルロース、キシランに対する活性は無かった。本酵素は重合度3以上のキシロオリゴ糖を初期に重合度の一つ少ないキシロオリゴ糖とキシロースに分解し、最終的にキシロピオースとキシロースまで分解した。本酵素は還元末端をメチル化したキシロオリゴ糖にはほとんど作用しなかった。
3. 本酵素をグルコ・キシロヘテロ三糖に作用させてその活性を調べたところ、還元末端の単糖を遊離させていた(表1)。本酵素は還元末端のアノマーを選択的に認識しており、その反応はアノマー反転型であった(図1)。本酵素を REX(Reducing-end-xylose releasing exo-oligoxyylanase)と命名した。
4. *B. halodurans* では、他の通常細菌と異なり多くのヘミセルロース分解酵素が菌体内に分布していた。REX は、*B. halodurans* がアルカリ性環境下で生育するために最小限の分泌酵素をアルカリ型に進化させ残りの酵素を中性型のまま菌体内に残す進化戦略上必要であると考えられた(図2)。

[成果の活用面・留意点]

本酵素は現在までに報告されていない活性を示すために具体的な用途に関しては検討の余地が多い。本酵素の発見は、極限微生物における酵素系の進化の戦略を考察する上で重要な知見を与える。即ち、細胞内外の環境が極端に異なる極限微生物においては菌体外のみならず菌体内にもユニークな酵素活性を持つ可能性を示唆するものであり、今後の新規酵素のスクリーニングを行う上で考慮すべき点である。

[具体的データ]

表 1 . グルコキシロヘテロオリゴ糖に対する R E X の切断活性

基質	生成物	活性(s ⁻¹)
X-X-X	X-X + X	84
X-X-Xde	X-X + Xde	2.7
G-X-X	G-X + X	0.94
X-X-G	X-X + G	0.42
G-X-G	G-X + G	0.003
X-G-G	-	
G-G-X	-	
X-G-X	-	
G-G-G	-	

- , 活性無し

X, キシロース ; G, グルコース

Xde, 1-デオキシキシロース

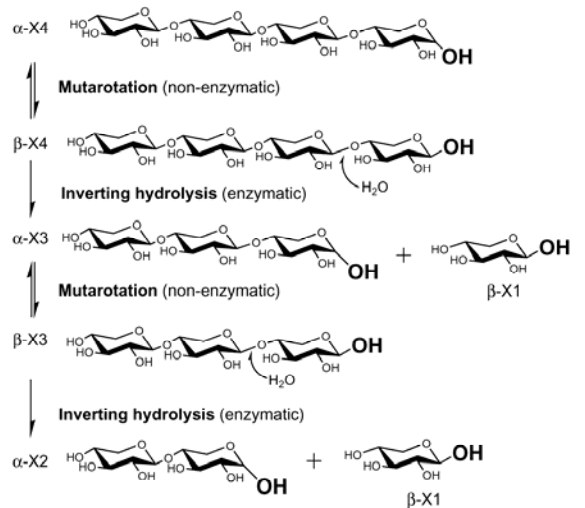


図 1 . REX のキシロオリゴ糖切断メカニズム

アノマーのみ認識し還元末端からキシロースを遊離するとともに一つ重合度の小さいキシロオリゴ糖を生成する。生成したキシロオリゴ糖は非酵素的にアノマーに変換された後さらに REX にて切断される。

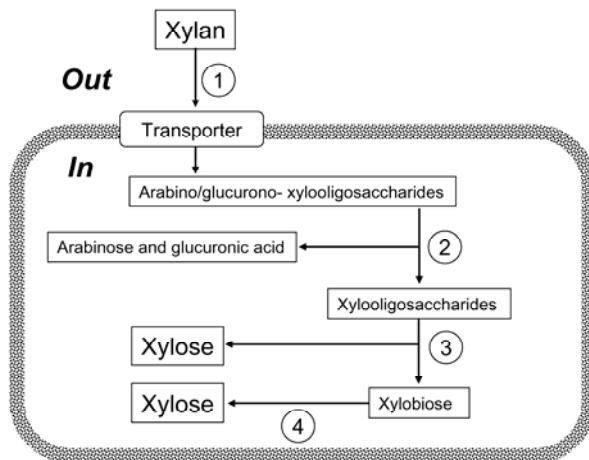


図 2 . *Bacillus halodurans* のキシラン代謝系

- ・ エンドキシラーナーゼ + アセチルキシランエステラーゼ
- ・ アラビノシダーゼ + グルクロニダーゼ
- ・ REX
- ・ キシロシダーゼ

[その他]

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

予 算 区 分 : 運営交付金プロジェクト・形態生理

研究 期 間 : 2004 ~ 2007 年度 (2004 年度)

研究担当者 : 北岡本光

発表論文等 :

- 1) Y. Honda and M. Kitaoka: A family 8 glycoside hydrolase from *Bacillus halodurans* C-125 (BH2105) is a reducing-end-xylose releasing exo-oligoxyylanase, *J. Biol. Chem.*, **279**, 55097-55103(2004)

[成果情報名] 放線菌が生産する青色色素化合物(アクチノロージン)の生合成に關与するモノオキシゲナーゼの解明

[要 約] 放線菌は抗生物質や色素物質等として知られる芳香族ポリケタイド化合物を生産する。青色色素化合物アクチノロージンの生合成遺伝子群について遺伝生化学的解析を行い、ポリケタイド骨格の修飾に關与するモノオキシゲナーゼ(酸化酵素)を同定した。本化合物の生合成には少なくとも3種類のモノオキシゲナーゼが關与しており、その内の一つは新規な構造の酵素であることを見いだした。

[部 署] 食品総合研究所・生物機能開発部・微生物機能研究室

[連絡先] 微生物機能研究室 029-838-8124 sdspage@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 二次代謝、芳香族ポリケタイド、生合成、モノオキシゲナーゼ

[背景・ねらい]

芳香族ポリケタイドは放線菌を始めとする微生物によって生産され、医薬品等として利用されているものも少なくない。ポリケタイド骨格の形成に關与する酵素については詳細な解析が行われているが、基本骨格の修飾に關与する酵素の解析はそれほど行われていない。しかしながら、それらの修飾酵素には様々な炭素骨格への酸素原子の付加、糖転移など化学的に興味深い反応を触媒するものも少なくなく、新規な物質変換プロセスへの応用が期待される。本課題では、放線菌の生産する芳香族ポリケタイド化合物アクチノロージンの生合成過程、とりわけポリケタイド骨格の修飾反応について解析することを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. アクチノロージンは22の遺伝子から成る生合成遺伝子クラスターによって合成される(図1)。本課題では、ポリケタイド骨格の化学修飾(テーラリング)に關わる遺伝子のうち、最後期の酸化反応に關わる *actVA* および *actVB* 遺伝子群について解析を行った。
2. これまで、既知のモノオキシゲナーゼとの相同性および発現蛋白質を用いた生化学的解析(基質アナログを使用)から、6位の炭素の酸化反応は *ActVA6* 蛋白質によって触媒されると考えられていた。しかしながら、遺伝子破壊株の解析により本酵素がこの反応にあまり關与していないことが明らかとなった(図2および3)。
3. 各種遺伝子破壊株の代謝産物解析および発現蛋白質を用いた生化学的解析により、上記の酸化反応は主に *ActVA5* および *ActVB* の2種類の蛋白質から成るモノオキシゲナーゼによって触媒されることを明らかにした(図2および3)。
4. 遺伝学的な解析により、8位の酸化反応は *ActVA3* 蛋白質によって触媒されることが示された(図3)。本酵素は既知のモノオキシゲナーゼとは全く相同性を示さず新規な構造を有すると考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. ここで見いだされた3種類のモノオキシゲナーゼは有用芳香族化合物(ポリフェノールなど)の構造改変などに使用できる可能性がある。
2. *ActVA3* 蛋白質については発現蛋白質を用いての基質特異性等の検討が必要である。

[具体的データ]

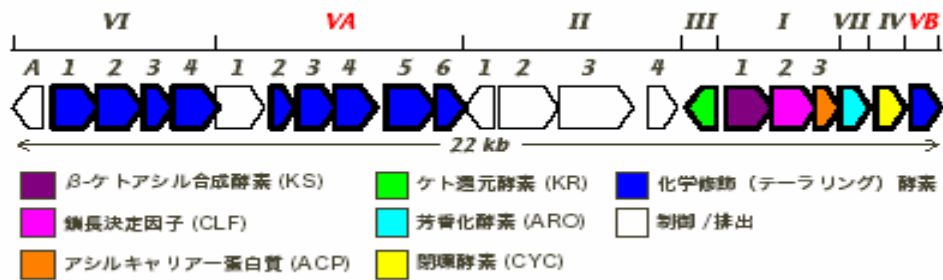


図1 アクノロージン生合成遺伝子クラスターの構造

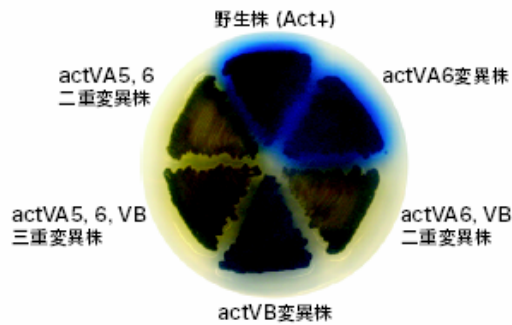


図2 各種 act 変異株におけるアクチノロージン（青色色素）生産性

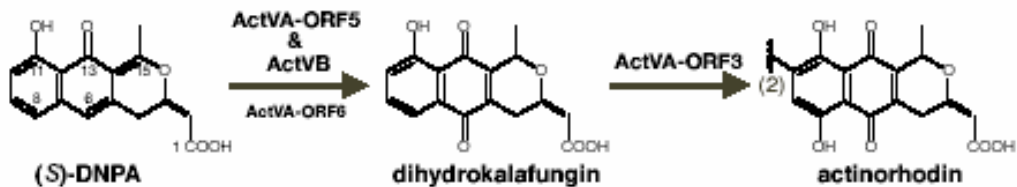


図3 アクチノロージンの後期生合成過程

[その他]

研究課題名：微生物分化制御機構に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2003～2005年度（2004年度）

研究担当者：岡本晋、越智幸三

発表論文等：

- 1) Okamoto-Hosoya Y, Okamoto S, Ochi K: Development of antibiotic-overproducing strains by site-directed mutagenesis of the *rpsL* gene in *Streptomyces lividans*, *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 4256-4259(2003)
- 2) Ochi K, Okamoto S, Tozawa Y, Inaoka T, Hosaka T, Xu J, Kurosawa K: Ribosome engineering and secondary metabolite production, *Adv. Appl. Microbiol.* **56**, 155-179(2004)
- 3) 越智幸三、岡本晋:「リボソーム工学」による放線菌利用の新展開、*日本農芸化学会誌*、**78**、38-41(2004)

[成果情報名] 高日持ち性トマトの成熟制御機構

[要 約] トマトの正常型親と成熟変異体(*rin*)親との交配により得られるF₁雑種は優れた日持ち性を示す。果実の日持ち性に関わるエチレン合成や軟化に関与する遺伝子発現の変化を明らかにした。

[部 署] 食品総合研究所・生物機能開発部・細胞機能研究室、食品工学部・流通工学研究室

[連絡先] 細胞機能研究室(029-838-8050) yasuito@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] トマト、成熟制御、*rin* 変異遺伝子、高日持ち性、エチレン

[背景・ねらい]

果実に高日持ち性を付与することは流通面において利点が多く、重要な育種目標の一つである。果実の成熟制御機構の解明は日持ち性制御技術を開発する上で重要な手掛かりとなる。トマト果実において成熟誘導を行う *LeMADS-RIN* 遺伝子は転写制御因子であり、本遺伝子に生じた *rin* 変異は果実の成熟を抑制する(図1右)。この変異体と正常型トマトとを交配して得られたF₁雑種は高日持ち性品種として利用できる可能性がある。本研究では、高日持ち性かつ優良品質を持つF₁品種として育種されたKGM011(カゴメ(株)より品種登録申請済、図1中央)について、その特性を検討し、果実成熟制御に関わる因子の研究を行い、成熟制御技術を開発するための基礎的知見を得ることを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 様々な正常系統と *rin* 変異系統を交配した結果、日持ち性と着色性は両親の中間型を示すが、それらの程度は系統によって異なっていた(表1)。また、高着色性系統が必ずしも日持ち性が悪いということはなく、交配組み合わせによっては、高日持ちかつ高着色系統が育種できる可能性が示唆された(表1)。
2. 果実の軟化は日本の代表品種“桃太郎”と比較して、強く抑制されていた(図2A)。細胞壁の代謝に関わる3種のタンパク質遺伝子の転写解析の結果、いずれもその転写量は減少しており、これらを含めた軟化に関わる数多くの遺伝子の発現が部分的に抑制され、果実軟化が抑制されていると考えられる(図2B)。
3. KGM011の果実成熟期間におけるエチレン発生量は大幅に減少していた(図3A)。このことが過熟抑制に大きく関与していると考えられるが、エチレン合成関連遺伝子(*ACS2* 及び *ACO1*)の転写量はそれほど大きく変化しておらず(図3B)、転写後の制御の影響が示唆された。

[成果の活用面・留意点]

1. 変異遺伝子 *rin* を利用したF₁品種の作出は、従来の交配育種法であるため高日持ち性品種の育種法として導入が容易であり、しかも日持ち性改善効果は大きい。
2. 日持ち性が良く赤みの高い系統の作出には、交配組み合わせの十分な検討が必要である。どの系統を親にすれば高日持ち性で赤みの強い系統が得られるかは予測が難しい。

[具体的データ]

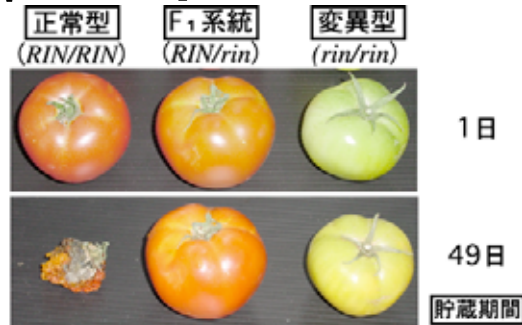


図1 *rin* 遺伝子をヘテロに持つ F₁ 系統は優れた日持ち性を示す。

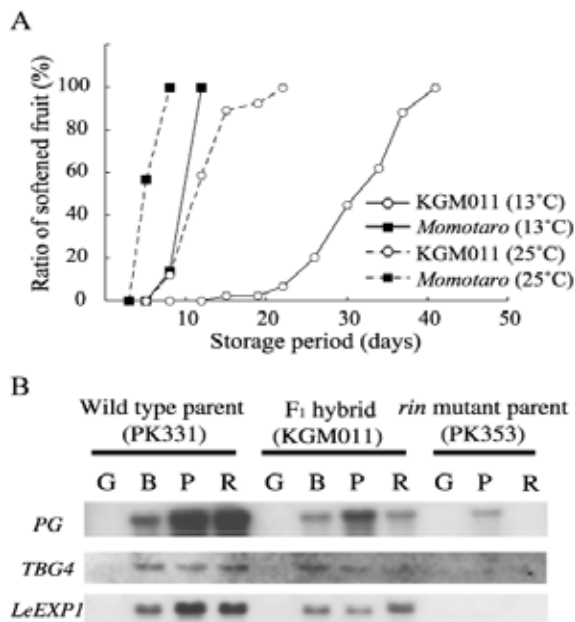


図2 KGM011 の果実軟化と関連遺伝子発現変化
(A) KGM011 と“桃太郎”における果実軟化進行の比較。
(B) 細胞壁分解に関わると考えられる遺伝子の発現比較。PG, ポリガラクトチュロナーゼ; TBG4, -

[その他]

研究課題名：LSL トマトの日持ち性改善機構の遺伝学的解明（重点領域）、果実類の品質保持に関わる成熟制御因子の解析（国際食品）

予算区分：重点領域研究費、交付金プロ「国際食品研究動向を見据えた国産農産物の新加工流通技術」

研究期間：2002～2004 年度（2002 年度）

研究担当者：伊藤康博

発表論文等：

- 1) Mamiko Kitagawa, Hiroataka Ito, Takeo Shiina, Nobutaka Nakamura, Takahiro Inakuma, Takafumi Kasumi, Yukio Ishiguro, Kimiko Yabe, Yasuhiro Ito: Characterization of tomato-fruit ripening and analysis of gene expression in F1 hybrid of the ripening inhibitor (*rin*) mutant, *Physiologia plantarum*, in press (2005)
- 2) 伊藤康博、北川麻美子、伊藤博孝、中村宣貴、椎名武夫、矢部希見子、稲熊隆博、石黒幸雄、春見隆文：高日持ち性トマトの開発と日持ちに関わる要因の解析、農業技術、60、73-77(2005)

ガラクトシダーゼ; *LeEXP1*, エクспанシン。

表1 正常型及び *rin* 変異体の交配から得られた F₁ 系統果実の日持ち性と着色性の比較

F ₁ 系統	親系統		日持ち性 (日数) ¹⁾	赤み (a* 値) ²⁾
	種子親	花粉親		
Kc01-5	PK353 ³⁾	TK5970	25.8 ± 5.1	17.4 ± 0.3
Kc01-6	PK331	PK353 ³⁾	29.0 ± 4.5	17.5 ± 0.6
Kc01-7	PK355 ³⁾	PK331	28.4 ± 4.4	17.1 ± 0.6
Kc01-10	PK356 ³⁾	PK347	30.4 ± 3.0	19.2 ± 0.5
Kc01-11	PK356 ³⁾	PK331	23.0 ± 9.3	14.8 ± 0.6
Kc01-24	01F345	PK353 ³⁾	31.0 ± 3.2	16.6 ± 0.3
Kc01-28	PK329	PK356 ³⁾	15.4 ± 7.1	21.3 ± 0.7
Kc01-31	PK330	PK355 ³⁾	19.6 ± 3.4	14.9 ± 0.9

注1) 日持ち性は果実表面に水浸状のスポットが出るまでの期間とした。

2) CIE カラーモデルのインデックスによる。

3) *rin* 変異体親

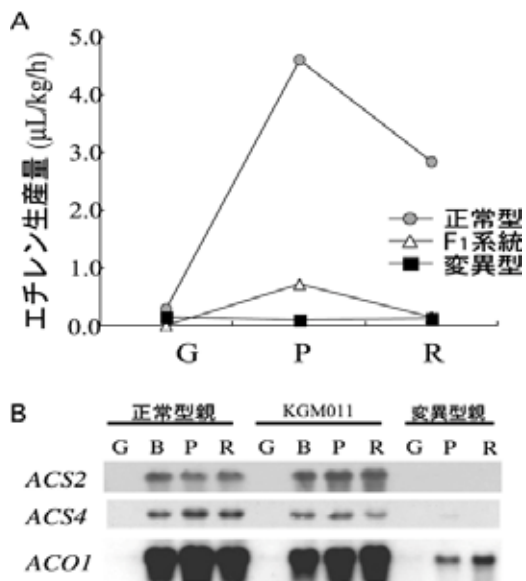


図3 KGM011 系統におけるエチレン生成
(A) 各成熟期におけるエチレン生成量。
(B) 果実成熟期におけるエチレン合成関連遺伝子 (ACS2, ACS4, ACO1) の mRNA 転写量の比較。

[成果情報名] 紫外線(UV)写真を利用した野菜のフラボノール簡易検出法

[要 約] 野菜は機能性成分であるフラボノイドを多く含み、それらは紫外光領域に吸収を示す。この性質を利用して、紫外光領域に感度のある紫外線写真でタマネギの表面や断面を撮影すると、フラボノールが局在する部分は写真上黒色像として検出された。紫外線写真法は抽出操作を必要としない簡便なフラボノール非破壊検出法であるとともに、野菜抽出液を用いればフラボノイドの濃度の予測も可能である。

[部 署] 食品総合研究所・生物機能開発部・細胞機能研究室

[連絡先] 細胞機能研究室 029-838-8050 yabek@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] フラボノール、紫外線(UV)写真、検出法

[背景・ねらい]

生体調節機能等の機能性成分として知られるフラボノイド類は、野菜や果実類に多く含まれている。フラボノイド類のうちフラボノール類は黄色を示すが目での検出感度は低い。一方、フラボノールは360nm近傍の長波長紫外光を吸収する性質を持ち、紫外線(UV)写真は紫外光の吸収や反射を撮影できる写真技術である。そこで紫外線写真を用いて野菜におけるフラボノイドの高感度映像化技術を開発した。

[成果の内容・特徴]

1. 紫外線写真は紫外光領域の吸収や反射を撮影する写真技術であり、紫外線ランプ、紫外線透過レンズ装備のカメラ、可視光を遮断する紫外線フィルターを用いて写真撮影する。
2. タマネギ(赤タマネギ、黄タマネギ、白タマネギ)を縦に半分に切って、内側の鱗葉を剥がして開いて台の上に置き、上部から紫外光(UV写真)または可視光(通常の写真)を照射し写真撮影する(図1)。
3. 赤タマネギと黄タマネギの鱗葉の外側は可視光写真で部分的または全体的に白く写るが、紫外線写真では全体が真っ黒に写る。しかし、鱗葉の裏側は可視光写真でも紫外線写真でも白く写った。一方、白タマネギでは両面とも白く写ることが確認された(図1)。
4. 鱗葉の各部位からフラボノイドを抽出し高速液体クロマトグラフィーで調べたところ、紫外線写真で黒く写る部分はフラボノールが高濃度に局在することが確認された。白タマネギではいずれの部位も全くフラボノールを含まないことが確認された。
5. フラボノイドがタマネギのように顕著な局在を示さない野菜の場合や、フラボノール含有量を知りたい場合には、通常分光光度計による360nmの吸収を測定する。しかし、栽培や品種改良の現場では分光光度計の利用が困難なことが多い。
6. タマネギの抽出液をマイクロタイタープレートや小チューブに入れ、または抽出液の一滴をビニール上に滴下して紫外線写真撮影を行うと、フラボノールの濃度に応じて種々の濃淡を示す写真像が得られた(図2)。
7. 種々の濃度のフラボノール標準液を作り、野菜抽出液といっしょに撮影した。標準液と濃淡を比較することにより、簡便に抽出液のフラボノール含量を見積もることができた(図2)。

[成果の活用面・留意点]

ボラロイドカメラは高感度フィルムを使うため、紫外線レンズなしでも同様の紫外線写真が撮影できる。本法を野菜の生産現場等で利用するには、紫外線写真装置の軽量化及び標準物質の供給が必要である。

[具体的データ]

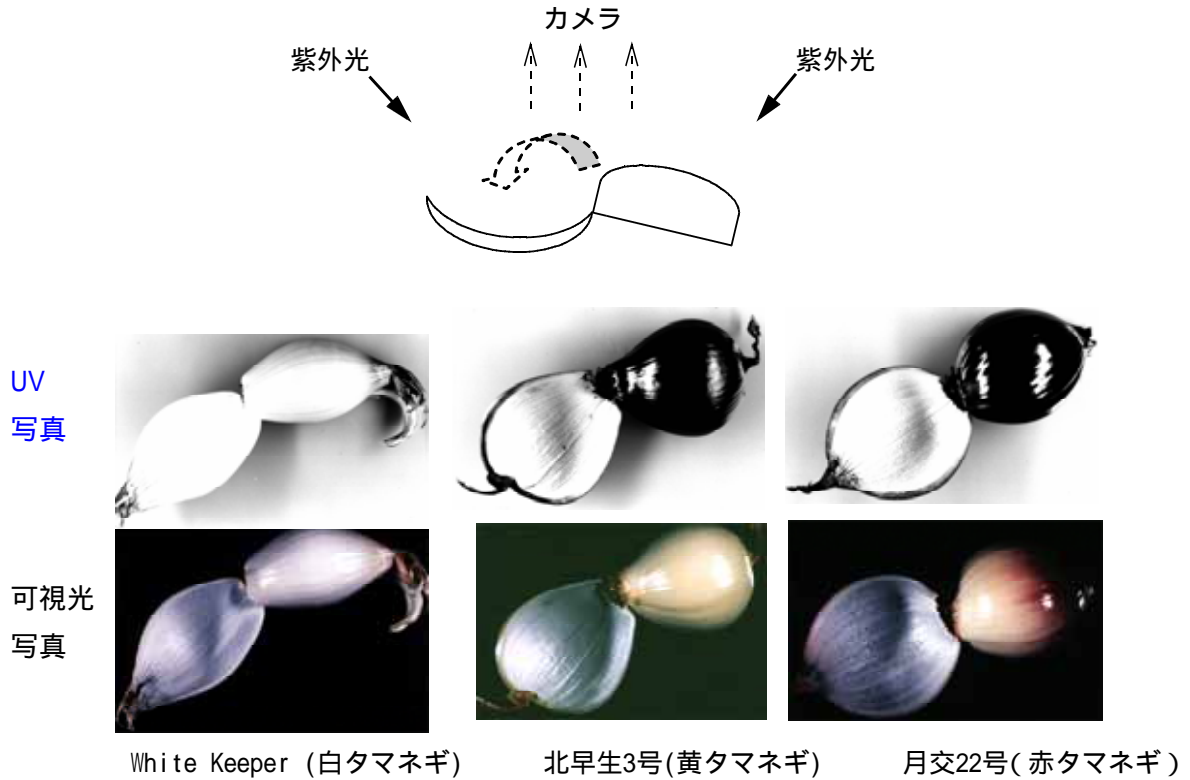
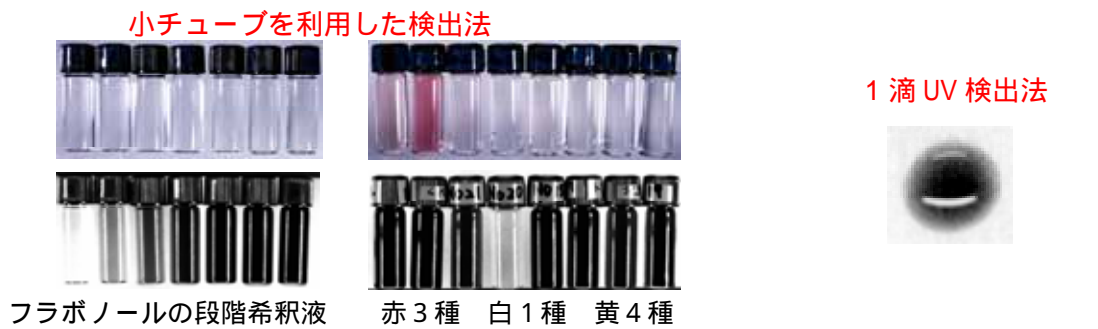


図1. タマネギの紫外線写真と可視光写真



・本成果は動物衛生研究所、北海道農業研究センターとの共同研究による。

図2. 紫外線写真によるタマネギ抽出液のフラボノール濃度の予測
小チューブにフラボノール溶出液を入れ(左) または一滴の抽出液をビニール上に滴下して(右)、可視光写真(左上)または紫外線写真(左下及び右)を撮影した。

[その他]

研究課題名：フラボノイド等の栄養機能性成分の簡易・簡便な評価手法の開発

予算区分：ブランドニッポン

研究期間：2003～2005年度(2004年度)

研究担当者：矢部希見子、中川博之(食総研)、安藤義路(動衛研)、野口裕司(北海道農研)

発表論文等：

1) 矢部希見子、他：中間トピックス16年

<http://www.vegetea.affrc.go.jp/kinou/shukakugoseiri/H16bn6mtp.pdf>

[成果情報名] MRIで見るスパゲティ内部の水分分布

[要 約] 各種ゆでスパゲティの水分分布を、磁気共鳴イメージングによって調べ、乾麺ゆで上げ品と冷凍麺ゆで解凍品の麺中心部に、デンプンの糊化が不十分で固い、いわゆる「アル・デンテ」状態を示す明瞭な低水分領域を検出することができた。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室

[連絡先] 状態分析研究室 029-838-8033 mitsuru@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] MRI、水分分布、テクスチャ、スパゲティ、パスタ

[背景・ねらい]

様々なタイプのスパゲティがスーパーマーケットやコンビニエンスストアで売られているが、それらの品質評価や食感（テクスチャ）向上に役立つ情報として、スパゲティのテクスチャに大きな影響を及ぼす麺線中の水分分布を、磁気共鳴イメージング（MRI）によって調べた。また、各種ゆでスパゲティの物性を、破断試験における荷重 - 変位曲線から評価し、水分分布との関係を明らかにした。

[成果の内容・特徴]

1. デュラムセモリナを使用して製造したスパゲティ生麺のゆで上げ品、生麺を乾燥させて製造した乾麺のゆで上げ品、ゆでた乾麺から製造した冷凍麺のゆで解凍品、乾麺をゆでて5で24時間保存したコンビニ弁当麺の電子レンジ加熱品、及びゆでた乾麺をレトルト食品用の袋に密封し加熱殺菌後5で7日間保存したロングライフゆで麺のフライパン加熱品を、試料として使用した。
2. 麺各部位の水分含量は、デュラムセモリナに一定量の水を加え加熱して調製した糊化試料の水分含量と水プロトンのスピン - スピン緩和時間 (T_2) の相関に基づく検量線（図1）を用いて算出した。
3. 乾麺ゆで上げ品と冷凍麺ゆで解凍品の麺中心部には、はっきりとした低水分領域が認められ、この部分がデンプンの糊化が不十分で固く感じられる、いわゆる「アル・デンテ」状態を示す領域であることが推測された（図2）。
4. 他のタイプのスパゲティにおいては、中心部の低水分領域は明確ではなかった。特にロングライフ麺加熱品の水分分布は麺全体にわたってほぼ均一であった（図2）。
5. 破断試験において、乾麺ゆで上げ品と冷凍麺ゆで解凍品は、他のタイプのスパゲティと比較してより高い荷重が中心部の低水分領域にかかるあたりで観測され（図3）、「アル・デンテ」領域の存在が裏付けられた。
6. 中心部の水分含量がより高かったコンビニ弁当麺及びロングライフ麺加熱品は、破断時の最大荷重が小さく、また最大荷重後の荷重の落ち込みが大きく（図3）柔らかくもろい食感を反映していた。

[成果の活用面・留意点]

本測定手法は、製麺法、調理法や保存法が調理麺やパスタの水分分布とテクスチャに及ぼす影響の評価に利用可能である。

[具体的データ]

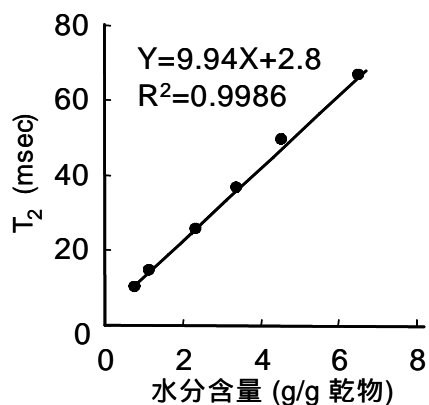


図 1 デュラムセモリナ糊化試料の水分含量と水プロトンの T₂ の関係

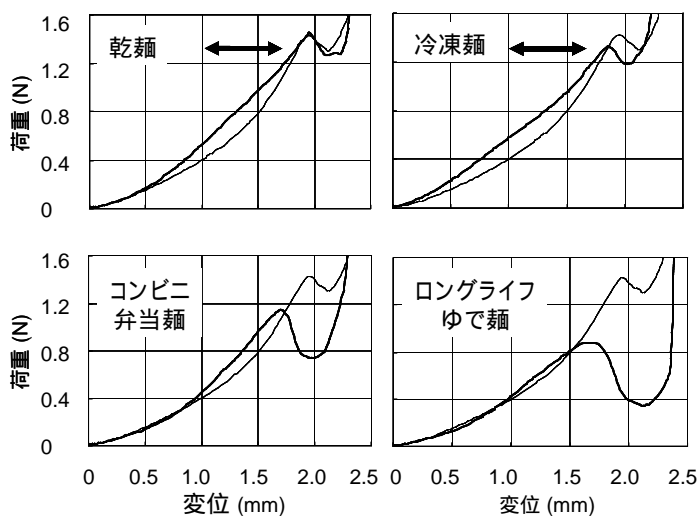


図 3 各種ゆでスパゲティ試料の荷重 変位曲線

各グラフ上の細い線は生麺の荷重 変位曲線を、乾麺と冷凍麺のグラフ中の矢印は図2 における各々の低水分領域を示す。

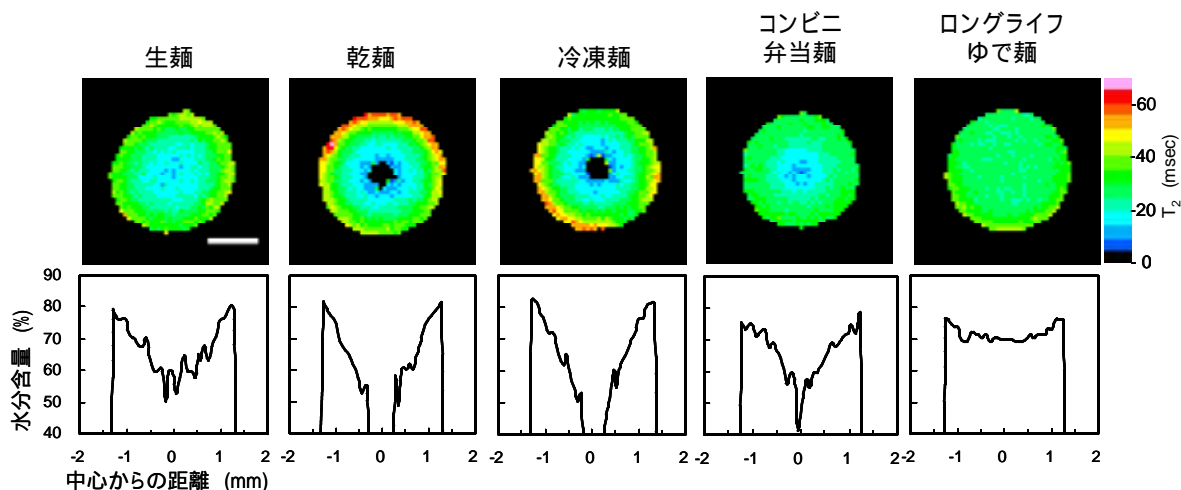


図 2 各種ゆでスパゲティ試料の T₂ 画像と中央水平線上の水分ラインプロファイル

生麺の画像中のスケールは 1mm を示す。

[その他]

研究課題名：MRI による調理中、調理後の食品構造及び成分分布の変化の解析

MRI によるデンプン食品中の水分分布と構造の解析

予算区分：経常

研究期間：2001 ~ 2005 年度 (2004 度)

研究担当者：吉田充、堀金明美、入江謙太郎 (イニシオフーズ)、内藤成弘、本井博文 (日清製粉グループ本社)

発表論文等：

- 1) K. Irie *et al.*: Moisture distribution and texture of various types of cooked spaghetti, *Cereal Chemistry*, **81**, 350-355 (2004)

[成果情報名] バレイシヨ中のグリコアルカロイドのLC/MSによる高感度分析法

[要 約] LC/MSによるバレイシヨ中の -ソラニンと -チャコニンの分析法を開発した。選択的イオン検出(SIM)により、定量限界は -ソラニンが 1.7 ng/mL、 -チャコニンが 0.83 ng/mL となり、バレイシヨ中のグリコアルカロイドを高感度に分析することができる。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室

[連絡先] 状態分析研究室 029-838-7103 chuda@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] グリコアルカロイド、 -ソラニン、 -チャコニン、 LC/MS

[背景・ねらい]

ナス科植物等に含まれているグリコアルカロイドには急性毒性や慢性毒性があることが知られており、その定量分析法としてはGC法やHPLC法等が報告されている。しかしながら、GC法は誘導体化の前処理が必要で、操作が煩雑である。HPLC法は、現在最も普及しているが、グリコアルカロイドの検出には、210 nm 付近の波長を使用するため、しばしば他の成分の妨害により定量が困難となる問題がある。そこで本研究では、UVと比較して選択性の高い検出方法であるMSを使用するLC/MS分析法を検討した。なお、バレイシヨ中のグリコアルカロイドとしては、 -ソラニンと -チャコニンの他に、これらとは構成糖が異なる -、 -ソラニン、 -、 -チャコニン等も知られているが、型が95%以上を占めることが報告されている。

[成果の内容・特徴]

1. 分析は表1の条件で行った。 -ソラニンと -チャコニンとも[M+H]⁺が検出され、それぞれ m/z 868.5 と 852.5 であった。保持時間は -ソラニンが 7.6 分、 -チャコニンが 8.5 分であった。
2. 検量線について、 -ソラニンと -チャコニンを、それぞれ 0.1 ~ 20 $\mu\text{g/mL}$ の範囲になるように調製した混合標準液を用いて SIM で測定し、得られたピーク面積を用いて作成した。相関係数は 0.999 以上であった。
3. 装置の定量限界は -ソラニンが 1.7 ng/mL、 -チャコニンが 0.83 ng/mL であり、検出限界は -ソラニンが 0.51 ng/mL、 -チャコニンが 0.25 ng/mL であった。
4. 添加回収試験はすり下ろしたイモ 500 mg に、 -ソラニンと -チャコニンが、それぞれ 5 μg または 100 μg になるように添加して行った。いずれの添加濃度においても、両化合物の回収率は 94% 以上であった。

[成果の活用面・留意点]

1. グリコアルカロイドを高感度に分析できるように、分析試料や使用溶媒を減らすことが可能であり、多検体のスクリーニング分析には最適である。
2. 今後、バレイシヨのみならず、バレイシヨを用いた加工食品への適用を検討する。また、バレイシヨ中の他のグリコアルカロイドについても高感分析法を検討する。

[具体的データ]

表 1 LC/MS 分析条件.

LC 部	MS 部
移動相 A : 0.2%ギ酸水溶液	イオン化法 : ESI+
移動相 B : 0.2%ギ酸含有アセトニトリル	検出法 : SIM
流速 : 0.2 mL/min	
カラム : SymmetryShield RP ₁₈ (φ 2.1 mm × 150 mm)	
リニアグラジエント : 0分 (B液 20%) - 12分 (B液 25%)	

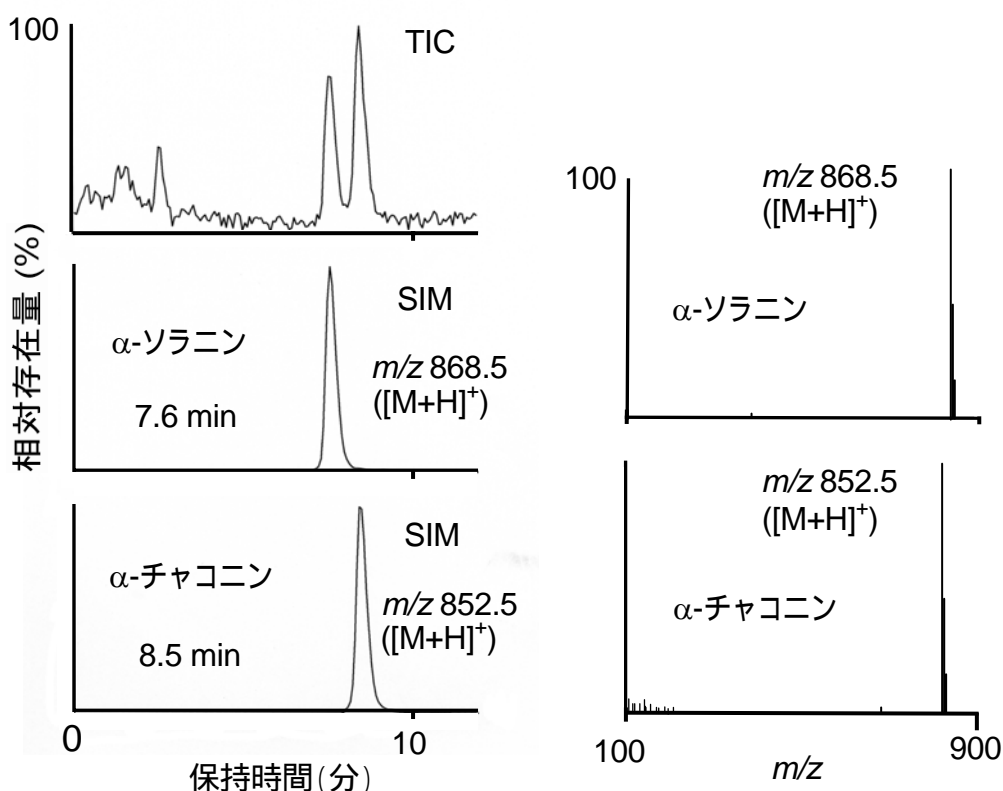


図 1 α -ソラニンと α -チャコニンのマスクロマトグラムとマスペクトル.

[その他]

研究課題名 : 化学機器分析センターを利用した外部研究機関と共同研究による生理活性物質の構造解析
 予算区分 : 経常

研究期間 : 2000 ~ 2004 年度 (2004 年度)

研究担当者 : 忠田吉弘 (消費技術センター併任) 津田昌吾 (農研機構・北農研) 高田明子 (農研機構・北農研) 小林晃 (農研機構・北農研) 森元幸 (農研機構・北農研) 小野裕嗣、吉田充

発表論文等 :

- 1) Y. Chuda et al.: Quantification of Light-Induced Glycoalkaloids, α -Solanine and α -Chaconine, in Four Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.) Distributed in Japan by LC/MS. *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 341-345(2004)

[成果情報名] NMRにおける飽和移動差スペクトル (STD)法によるジベレリンのエピトープ解析

[要 約] 核磁気共鳴 (NMR) における飽和移動差スペクトル (STD) 法を用いることにより、抗体に結合する植物ホルモンジベレリン (活性型ジベレリン) を迅速にスクリーニングし、抗体との相互作用部位の同定も可能になる。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・状態分析研究室

[連絡先] 状態分析研究室 029-838-8033 hemmi@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] saturation transfer difference (STD)、飽和移動差スペクトル法、核磁気共鳴、NMR、エピトープ解析、ジベレリン

[背景・ねらい]

ジベレリン (GA) は、植物の伸長生長などに関与する植物ホルモンで、120種類を超える類縁化合物が存在する。しかしながら、そのうちの数種のみ (活性型 GA) が、GA レセプターに作用し、生理活性を発現すると考えられている。GA レセプターは、未だ同定されていないため、GA レセプターのように活性型 GA を特異的に認識する抗 GA 抗体を用いて研究が行われている。その抗 GA 抗体に対する各種ジベレリンの結合活性及び抗体認識部位については、これまで交差反応解析法により行われてきたが、その操作は煩雑でしかも時間がかかるため、より効率的な測定法が求められていた。最近、核磁気共鳴 (NMR) を用いたリガント - タンパク質間におけるリガント側の認識部位 (エピトープ) 解析法として、飽和移動差スペクトル (STD) 法が開発され、主に糖 - タンパク質間における糖側のエピトープ解析が行われてきた。そこで、この STD 法が、抗 GA 抗体に対する GA の結合活性及びエピトープ解析を簡便かつ短時間で行うことが可能かどうか検討を行った。

[成果の内容・特徴]

1. 活性型 GA である GA₃ (図 1 A) と抗 GA 抗体との混合液 (混合比 = 100 : 1) について、リファレンスとして通常の 1 次元 NMR スペクトル (図 1 B) と STD 法による NMR スペクトル (STD - NMR スペクトル) を測定した (図 1 C)。STD - NMR スペクトルにおいては、GA₃ 由来のシグナル以外観測されなかったことから、抗体との結合活性を持つ活性型 GA のスクリーニングに応用可能であると考えられた。
2. STD 法では、タンパク質との距離が近いリガントの部位ほどタンパク質からの磁化移動率が大きいという現象を利用して、エピトープ解析を行う。そこで、STD - NMR スペクトル中の GA₃ 由来の各シグナルの面積積分値から抗体認識部位を推定した (図 2)。図 2 で示してあるように、抗体は GA₃ の A, B, C の各リングを認識し、D リングを認識していないこと、さらに、GA₃ の 表面側が抗体との結合に重要であることが分かった。この結果は、すでに結晶構造解析により報告されている GA の抗体認識部位と非常に良い一致を示し、STD 法により容易に抗 GA 抗体との認識部位を解析可能であることが示された。
3. 本法において、サンプル調製は基本的に GA と抗体を混合するだけで、また STD - NMR スペクトルの測定は数十分で終了することから、簡便かつ短時間でエピトープ解析用のデータを取得できる。

[成果の活用面・留意点]

本法は、GA 以外の植物ホルモンのタンパク質との相互作用解析にも応用可能である。ただし、STD - NMR スペクトルは感度が低いため、高感度の NMR 装置が必要である。

[具体的データ]

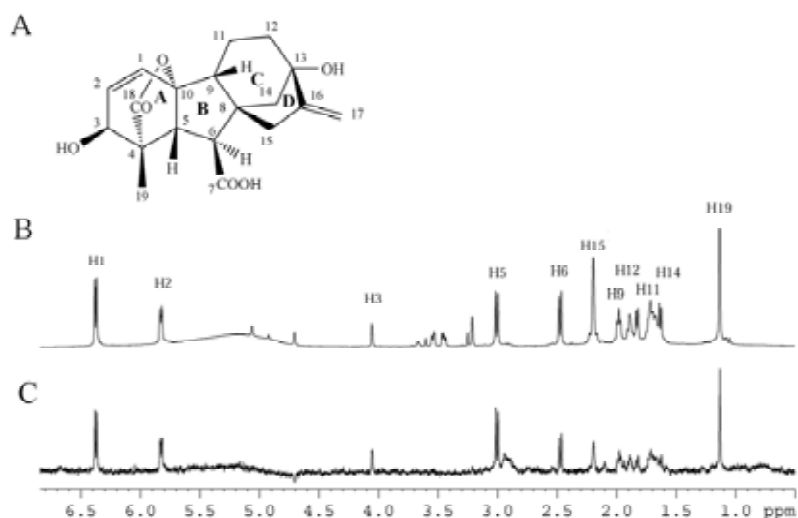


図1 . GA₃ の化学構造 (A)と GA₃ と抗ジベレリン抗体との混合液 (100:1)のリファレンス NMR スペクトル (B)と STD - NMR スペクトル(C)

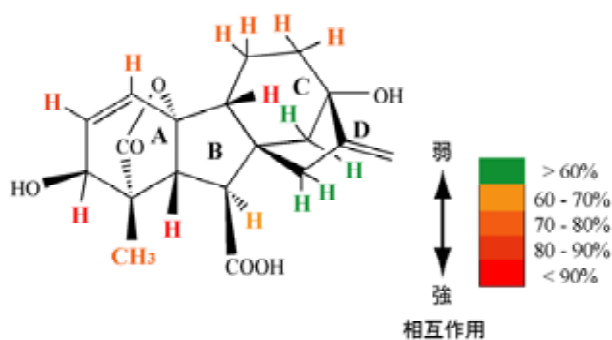


図2 . GA₃ の STD - NMR スペクトルの各プロトンシグナルのシグナル強度
抗体との相互作用が強い方を赤色で示しており、緑色側に行くほど相互作用が弱くなる

[その他]

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

予算区分：経常

研究期間：2003 ~ 2005 年度 (2004 年度)

研究担当者：逸見光、村田貴志、中嶋正敏 (東京大学大学院農学部)、吉田充、山口五十磨 (東京大学大学院農学部)

発表論文等：

- 1) Murata T, Hemmi H, Nakajima M, Yoshida M, Yamaguchi I : Epitope mapping of gibberellin to the anti-gibberellin A₄ monoclonal antibody by saturation transfer difference NMR spectroscopy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **307**, 498-502(2003)
- 2) Murata T, Hemmi H, Nakamura S, Shimizu K, Suzuki Y, Yamaguchi I : Structure, epitope mapping and docking simulation of a gibberellin mimic peptide recognized by an anti-gibberellin A₄ monoclonal antibody 4-B8(8)/E9, in preparation

[成果情報名] 食品品質管理用コンパクトMRI装置の開発

[要 約] 食品品質評価用コンパクト MRI の開発を目的として、永久磁石型 MRI を試作し性能評価を行った。コンパクト MRI はイメージコントラスト、緩和時間などにおいて研究用高磁場 MRI とは異なる特性を持った装置であるが、研究用試験器のみならず、傷害検出、脂肪分布測定など食品品質管理などへの利用の可能性がある。

[部 署] 食品総合研究所・分析科学部・品質情報解析研究室

[連絡先] 品質情報解析研究室 029-838-8057 nobu@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] MRI、コンパクト、食品、品質管理

[背景・ねらい]

食品検査・評価用のインタラクティブ（会話型）操作ができる、フルオート測定・解析型超コンパクト MRI を作製する。有用ではあっても大型で操作に高度な技術が必要とし高価な MRI を、食品検査・評価のために十分な性能を持ち安価で通常の実験室において身近に利用でき、移動も出来る小型装置とする。それによって非破壊的でイメージを利用した食品検査・評価・開発の基盤技術とする。

[成果の内容・特徴]

食品用の永久磁石を用いたコンパクト MRI の開発を行った。本装置は超電導磁石を用いた研究用の高磁場型 MRI にくらべ、保守が容易で安価であり気軽に使える装置といえる。この磁場強度は、人体用 MRI と同程度である。

1. 研究用高磁場 MRI との磁場強度の違いは、同じ条件で測定したとき S/N 比の他にコントラストの違いが生じることがわかった。この違いをうまく利用することで、コンパクト MRI は食品に対し有用な装置になると考えられた。
2. 果実の内部褐変や柑橘のす上がり、りんごの蜜入りの検出を行うことができ、研究段階では有用な技術であった。これらの実用化に向けては現在イメージを使っているため最短 30 秒である測定時間を 1 秒以下に短縮するため、データの蓄積と測定の簡易化の検討が必要と考えられた（図 1）。
3. Phase 法及び Tagging 法による水の流れ計測は、食品加工や農業分野において加工工程の改良や食品物性を知るための新しい有用な手法になると考えられた（図 2）。
4. 魚肉、肉及びソーセージなどの肉製品の脂肪分布のイメージは、化学シフトによるアーティファクトと T2 によるシグナル減衰が少ない分、低磁場型 MRI の方が有利であり画像処理と組み合わせ食品品質管理に有用であった（図 3）。
5. 貝の身肉の大きさや食品の具のつまり具合など外部からわからない内部の充実度を非破壊で測定できる（図 4）。
6. コンパクト MRI は高磁場型 MRI と異なり、液体窒素や液体ヘリウムの補給が必要なく維持管理が容易であり、通常の実験室に設置することができる。その反面、コンパクトにするため磁場の均一領域が狭いことと、液体ヘリウムに浸かって一定温度にある超電導磁石と異なり磁石が室温にさらされているため、温度変化による磁場のドリフトが大きいことが性能の限界となっている。

[成果の活用面・留意点]

現在 3 年計画の 2 年が経過したところである。装置の実用化や利用分野の開拓のために、今後も食品等でニーズのある品質管理、評価用の試料解析を行う予定であり、随時測定依頼を受け付けている。

[具体的データ]

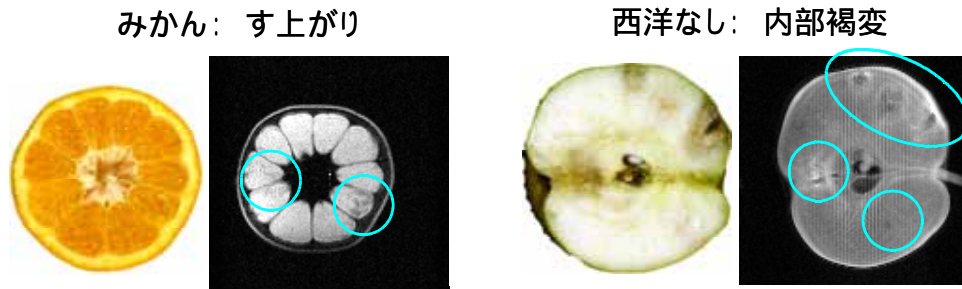


図1 果実の傷害検出

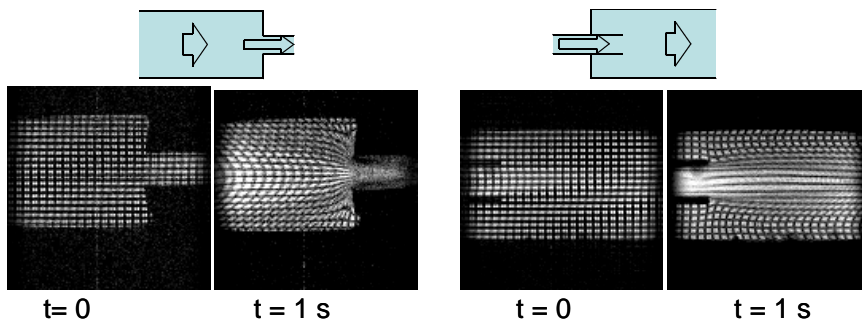


図2 パイプを流れる水のイメージ (Tagging 法): 時間経過による縞の変形が水の流れを表す
 左: 狭い出口からの流出
 右: 広い出口への噴出
 流れの速度分布と dead space が非破壊でわかる

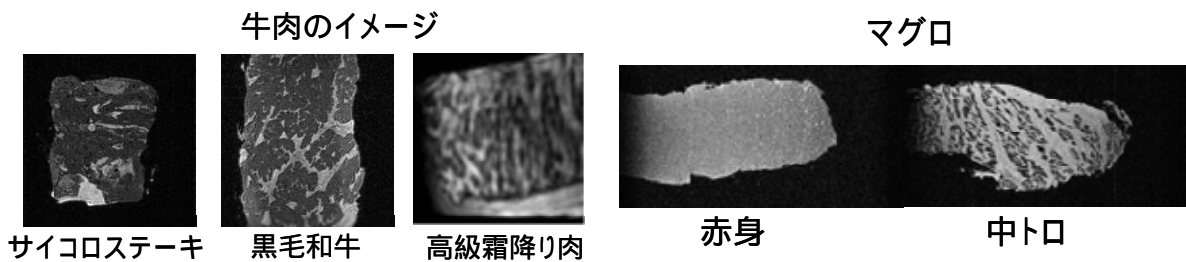


図3 肉及び魚の脂肪分布のイメージ (白い部分が脂肪)

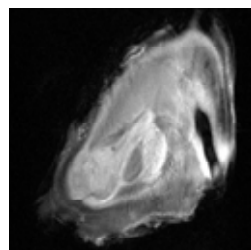


図4 カキ (殻付き) のイメージ
 内部の充実度の計測

[その他]

研究課題名：食品品質管理用コンパクトMRI装置の開発

予算区分：アグリビジネス

研究期間：2003～2005年度 (2004年度)

研究担当者：石田信昭、内藤成弘

[成果情報名] 農産物およびその加工副産物における機能性脂質セラミドの含量

[要 約] リンゴから果汁飲料を製造するときに副生するリンゴ搾汁残渣およびてん菜から砂糖を製造するときに副生するビートパルプを原料とすることで、高価な機能性糖脂質であるセラミドを大量に生産できる。

[部 署] 北農研・畑作研究部・流通システム研究チーム

[連絡先] 流通システム研究チーム 0155-62-9281 takakuwa@naro.affrc.go.jp

[成果区分] 技術・普及

[キーワード] リンゴ搾汁残渣、ビートパルプ、機能性脂質、糖脂質、セラミド

[背景・ねらい]

糖脂質の一種であるセラミドは、肌の保湿・美白効果があることから健康食品および化粧品原料に利用されている。セラミドの供給源として牛脳が使われたこともあったが、現在では米糠や小麦胚芽などの植物体を原料としている。しかし、これらに含まれるセラミドは微量(0.1~0.2 mg/g 乾燥重量)で、抽出・精製には多大なコストを要することから市場価格はきわめて高価である(3%含有品で1 kg当たり20万円)。そこで、より低コストで製造するのに適した原料を探すため、各種の農産物およびその加工副産物におけるセラミドの含量を調べた。

[成果の内容・特徴]

1. 図1に示す供試試料には、いずれもセラミドが存在する。その含量は0.01~0.94 mg/gの範囲で存在しており、リンゴの搾汁残渣がもっとも高濃度のセラミドを含む。
2. 現行のセラミド製造工程では、植物体中のステロール配糖体がセラミドの高純度精製を困難にしており、供試試料においては0.01~0.87 mg/g含まれている。
3. リンゴ搾汁残渣のセラミド/ステロール配糖体比は1.09で、セラミドに対するステロール配糖体の割合がもっとも少ないため、セラミドの高純度精製が容易である(他の試料は0.02~1.00)。主要な構成セラミド種は、脂肪酸が2-ヒドロキシパルミチン酸およびスフィンゴイド塩基が4-ヒドロキシ-シス-8-スフィンゲニンで、既往の植物セラミドと類似した組成である(図2)。
4. 北海道ではビートパルプがセラミド原料として有望である。主要な構成セラミド種は、スフィンゴイド塩基としてトランス-4, トランス-8-スフィンガジエニンを含む大豆セラミドと同一構造である(図2)。
5. 1年間に発生するビートパルプすべてから、セラミドを抽出・精製すると仮定した場合、表のように大量に生産できる。

[成果の活用面・留意点]

1. セラミドは植物界に普遍的に分布しており、未利用資源の利活用の参考とする。
2. 使用する品種および生産年によるセラミド含量の変動が予想される。
3. 抽出は食品に適用できる溶媒としてエタノールを使用する。
4. 正確なコスト試算をするには、パイロットスケールで有機溶媒抽出液からの精製試験を実施する必要がある。

平成16年度北海道農業試験会議における課題名および区分

課題名：農産物およびその加工副産物における機能性脂質セラミドの含量(指導参考)

[具体的データ]

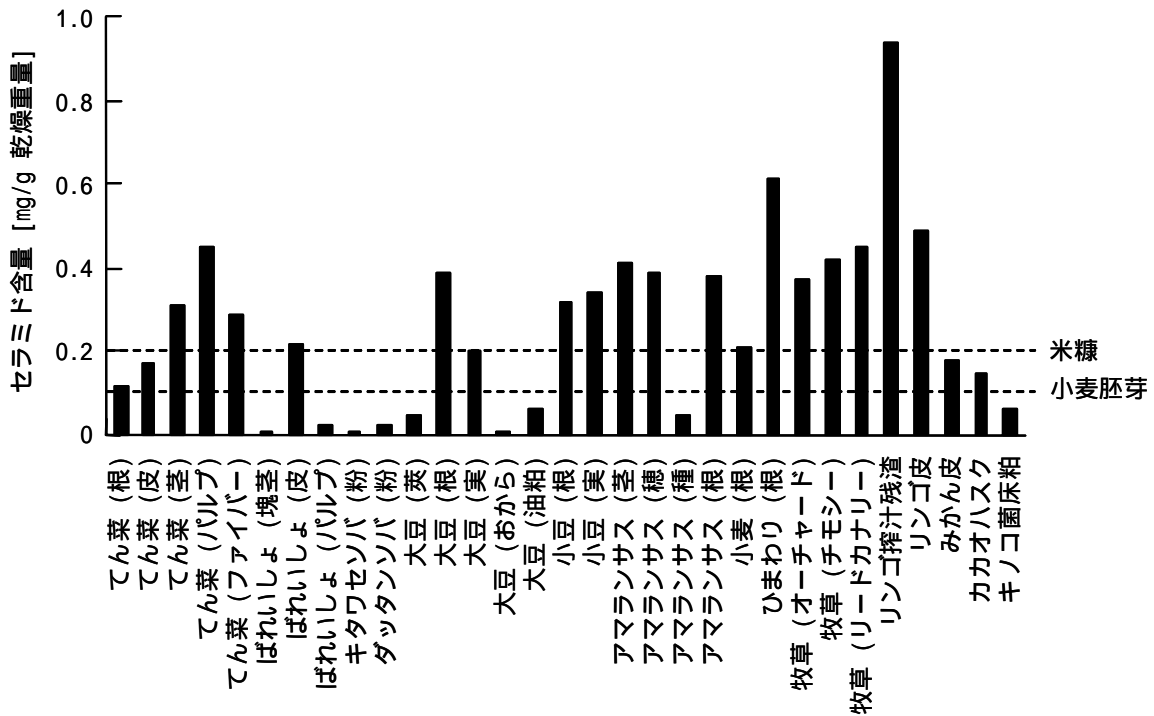
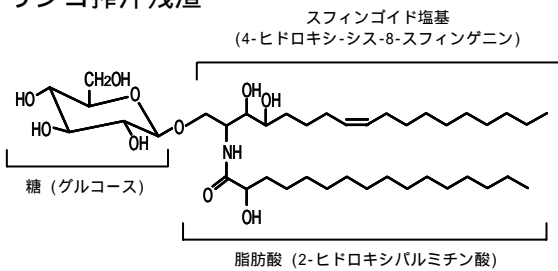


図1. 農産物およびその加工副産物におけるセラミドの含量

リンゴ搾汁残渣



ビートパルプ

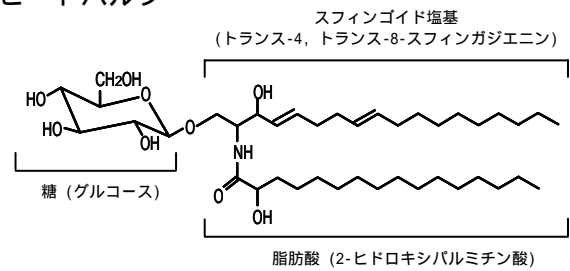


図2. リンゴ搾汁残渣およびビートパルプに含まれるセラミドの主要分子種の構造

表. ビートパルプから取得可能なセラミドの試算

年間発生量 [トン]	原料の乾燥重量 [トン]	取得セラミド量 [kg]	3%含有品量 [トン]
200,000	180,000	81,000	2,700

[その他]

研究課題名：セレブロシド及び関連脂質高蓄積酵母の分子育種による作出

課題 ID：04-04-04-* -09-04

予算区分：異分野融合

研究期間：2002～2006年度

研究担当者：高桑直也、齋藤勝一、小田有二

発表論文等：

- 1) Takakuwa *et al.*, *Bioresource Technology*, **96**, 1089-1092(2005)
- 2) Takakuwa *et al.*, *International Seminar on Developing Agricultural Technology for Value-added Food Production in Asia*, Abstract, p 51 (2004)
- 3) 高桑ら第43回日本油化学会年会講演要旨集、p 256 (2004)

[成果情報名] 東北地域で収集したリンゴジュース・リンゴ果汁使用ジュースのパツリン含有量

[要 約] 東北地域で収集したリンゴ及びリンゴ果汁使用ジュースのパツリン分析の結果、基準値（50 µg/L）を越えるものは認められなかった。検出限界 4 µg/L で試料 188 点のうち原料果実が東北地域のもの（139 点）から 3 点、外国産のもの（45 点）から 6 点にパツリンが検出された。

[部 署] 東北農業研究センター・作物機能開発部・品質評価研究室

[連絡先] 品質評価研究室 019-643-3513 wata@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] パツリン、リンゴジュース、リンゴ果汁使用ジュース、HPLC 法

[背景・ねらい]

パツリンはリンゴ果実に感染した *Penicillium expansum* 等が生産するマイコトキシンであり、動物実験により消化管の充血、出血、潰瘍等の症状が認められている。2003 年 7 月の第 26 回コーデックス総会においてパツリンの基準値として 50 µg/L が採択された。海外のパツリン調査報告には高濃度を含む多くの検出例が認められるが、国内では主として外国産果汁を原料としたリンゴジュースのパツリン含量の報告はあるものの、リンゴの主産地である東北地域では生産地で製造されたリンゴジュースが産地直売施設で多数販売されており、パツリン含量の調査報告はない。

そこで、東北地域で販売されているリンゴジュース及びリンゴ果汁を原料とするジュースのパツリン含量を調査する。

[成果の内容・特徴]

1. パツリン分析法の AOAC2000.02 法（HPLC 法）では、パツリンのピークは他ピークと良好な分離を示す（図 1）。本分析法では、パツリンピークの S/N 比の計算から定量限界（S/N 比 10）を 10 µg/L、検出限界（S/N 比 3）を 4 µg/L としている。なお、最終液量は AOAC2000.02 法では 1mL であるが、ここでは 2mL としている。
2. 国産果実を原料としたリンゴジュースのパツリン含量は、ND（検出されず）が 140 点であったが、生産地が東北地域のもの 3 点から検出され、10 µg/L、7 µg/L、6 µg/L であった（図 2）。10 µg/L の製品は別ロット品、同一製造者の製品にはパツリンは検出されていない。
3. 外国産では ND が 39 点であったが、6 点にパツリンが検出されている（図 3）。このうち 15 µg/L の製品（オーストラリア産、ストレート果汁）については、別ロットではパツリンは検出されていないが、2 銘柄（濃縮果汁還元）については、7 µg/L と 9 µg/L 及び 7 µg/L と 6 µg/L と別ロットでも検出されている。残りの 1 点は 9 µg/L である。
4. パツリンの分析に関し外部精度管理（proficiency testing, FAPAS）に参加し、分析値の信頼性の保証を受けている。

[成果の活用面・留意点]

1. 2002 年厚生労働省が決定した規制値、コーデックス総会で採択された基準値はいずれも 50 µg/L であり、これを上回るパツリン含有量の製品は確認されていない。
2. 収集したリンゴジュースは青森県産 59 点、岩手県産 59 点、秋田県産 15 点、山形県産 6 点、長野県産 1 点、国産との表示 3 点であり、外国産を原料とするもの（表示の無いものを含む）36 点（33 銘柄）、リンゴ果汁原料使用ジュースはいずれも表示が無く 9 点である。原料が東北地域のジュースの製造販売地は、青森県 4 市 12 町村、岩手県 9 市 13 町村、秋田県 3 市 5 町村、山形県 2 市 1 町にわたっている。
3. 本結果は、我が国のリンゴジュース生産現場においてもパツリン生産菌が存在することを示すものであり、生産管理の徹底が必要である。

[具体的データ]

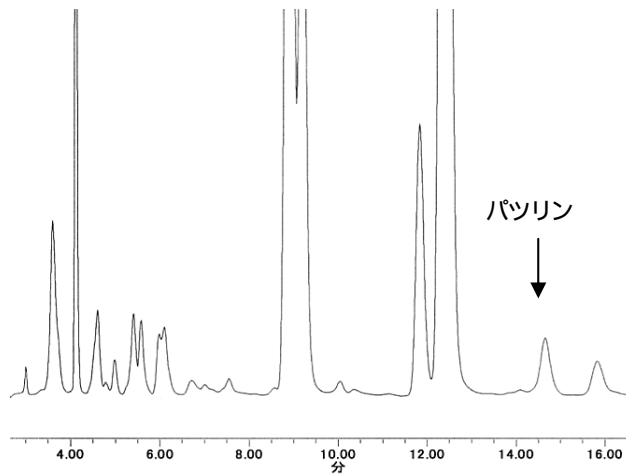


図1 パツリン含有サンプルのHPLC クロマトグラム

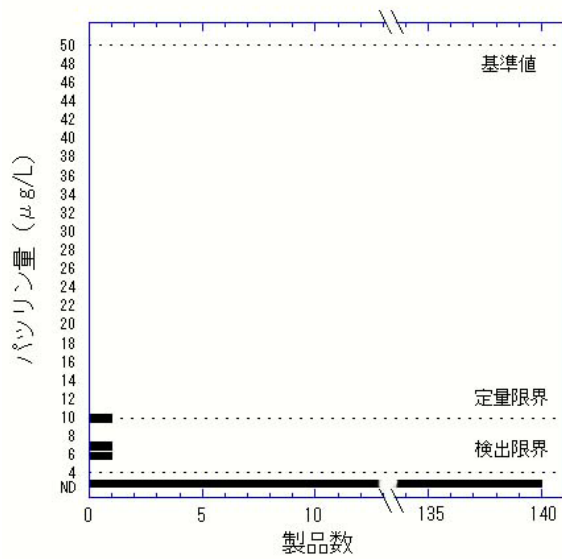


図2 国産果実を原料としたリンゴジュースのパツリン含有量

ND：検出されず

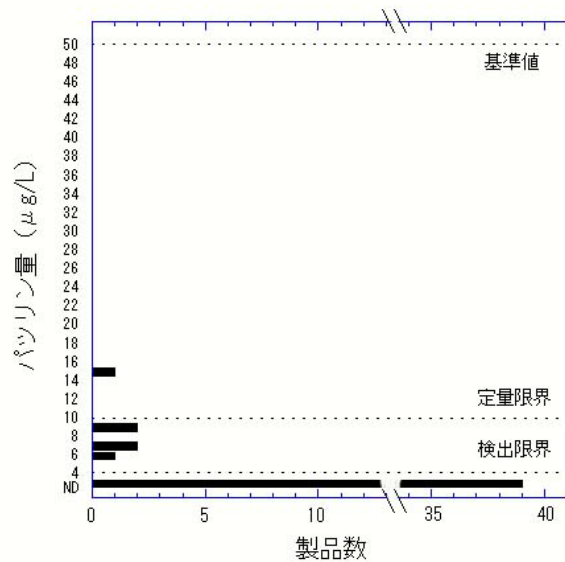


図3 外国産果汁を原料としたリンゴジュース及びリンゴ果汁原料使用ジュースのパツリン含有量

ND：検出されず

ND：検出されず

[その他]

研究課題名：東北地域リンゴのパツリン含有量及び加工による変動調査

予算区分：農水省食品総合プロジェクト

研究期間：2003～2004年度（2003年度）

研究担当者：渡辺満、清水恒

発表論文等：

[成果情報名] 水浸漬によるソバ穀実中のGABA(γ-アミノ酪酸)含有量の変動

[要約] ソバを水に浸漬するとGABA(γ-アミノ酪酸)含有量が増加する。浸漬開始から12時間以上の含有量は、同じ処理を行ったコメの含有量を大きく上回る。

[部署] 東北農研・作物機能開発部・品質評価研究室

[連絡先] 品質評価研究室 電話 019-643-3513 ohsimizu@affrc.go.jp

[成果区分] 技術・参考

[キーワード] GABA、γ-アミノ酪酸、ソバ

[背景・ねらい]

現在、ソバ等雑穀類が持つ食物繊維・ミネラル等が評価されるようになり、地域興しの為の特産物として注目されている。一方、コメやコムギ等において、血圧降下作用があるGABA(γ-アミノ酪酸)生成に関する研究が進み、発芽玄米等GABAを多く含む食品が実用化されている。しかし同じく穀類のソバについては、「寒ざらしソバ」等一部の製品についてGABA含有量が報告されているが、詳細なGABA含有量の変化に関する報告は少ない。そこで、ソバの水浸漬によるGABA含有量の変動について検討することにより、ソバに新たな商品価値を付加するための情報を提供する。

[成果の内容・特徴]

1. 供試したソバは、東北農業研究センターで栽培された「でわかおり」「最上早生」「岩手中生」「階上早生」の玄ソバである。供試したコメは、東北農業研究センターで栽培された「アキタコマチ」の玄米である。
2. ソバ穀実を、温度を変えて水に浸漬、60℃で24時間乾燥後粉碎し、初殻を篩って除去したそば粉について、生成し残留したGABAの含有量を調査した。ソバ穀実中のGABA含有量は、浸漬する水の温度が高くなるにつれて増加し、30℃で最も多くなる(図1)。
3. 30℃の水に時間を変えて浸漬し、浸漬時間の違いによる変化を調査した。ソバ穀実中のGABA含有量は長く浸漬すると増加し、6時間後に同じ処理を行ったコメの含有量を上回り、24時間後にはコメの2倍以上に達する。また増加量の品種間差は小さい(図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 水浸漬によりGABA含有量が増加したソバを使用することにより、GABAに富むソバ食品を作ることが出来る。
2. 使用する材料の生産年次や収穫後の保存状況により、ソバ穀実中のGABA含有量が異なってくる可能性がある。
3. 30℃で12時間以上浸漬を行った場合、アンモニア臭等が発生するので、食品への使用に際しては注意する必要がある。
4. 玄ソバは、微生物によって汚染されている場合があり、水浸漬することで増加する可能性がある。よって食品への使用に際しては注意が必要である。

[具体的データ]

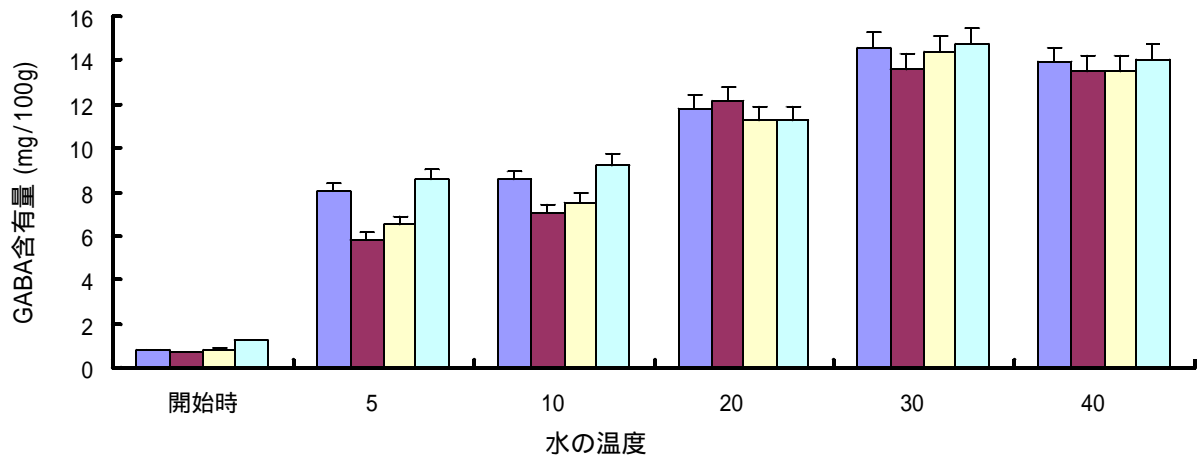


図1 浸漬24時間後のGABA含有量に対する水の温度の影響

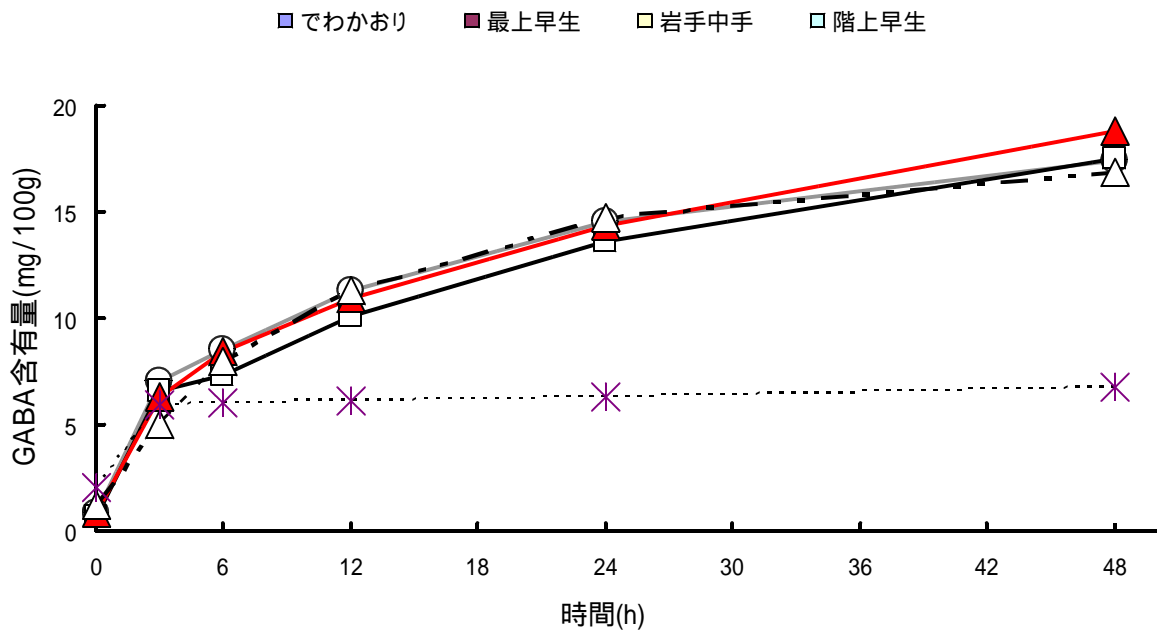


図2 30 で水浸中のGABA含有量の変化

—○— でわかおり —□— 最上早生 —▲— 岩手中生 —△— 階上早生 ---*--- コメ

[その他]

研究課題名：雑穀及びソバのGABA（ - アミノ酪酸）生成能力の評価

課題ID：05-06-06- *-04-02

予算区分：経常（所内プロジェクト）

研究期間：完 2002年度

研究担当者：清水恒

発表論文等：清水、日本作物学会東北支部会会報、46、77-78(2003)

[成果情報名] 黒ヒエの気管支喘息モデルマウス炎症性アレルギー反応抑制作用

[要 約] 気管支喘息モデルマウスに精白および未精白（玄ヒエ）の黒ヒエを通常食（AIN-93 飼料）に10%混合して飼育し感作処置すると、通常食に比べて気管支肺胞洗浄液中の好酸球数、好酸球ペルオキシダーゼ（EPO）活性、肺組織中の炎症性サイトカイン（IL-5、IL-13）及び好酸球遊走ケモカイン（エオタキシン）遺伝子の発現がいずれも抑制される。

[部 署] 東北農研・作物機能開発部・品質評価研究室

[連絡先] 品質評価研究室 電話 019-643-3513 wata@affrc.go.jp

[成果区分] 科学・参考

[キーワード] 黒ヒエ、好酸球、好酸球ペルオキシダーゼ、炎症性サイトカイン、ケモカイン

[背景・ねらい]

ヒエは岩手県を代表する特産物であり、他の雑穀とともに健康食品として認識されている。最近ではコメやコムギに対するアレルギー患者の代替食として利用・注目されているが、ヒエ（黒ヒエ）には特徴的な抗酸化物質が含まれていることは明らかにされているものの、健康機能の科学的根拠については十分に明らかにされていない。

そこで、ヒエの摂食がアレルギー性炎症反応に及ぼす影響を、気管支喘息モデルマウスを使用して明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 気管支喘息モデルマウス（NC/Nga）に AIN-93 飼料（通常食）を給餌、オボアルブミン（OVA）で感作した（図1）通常食感作（IC）群の気管支肺胞洗浄液中の白血球数は、通常食非感作（NC）群に比較して有意に増加する。また、黒ヒエ食群（精白黒ヒエ食感作（IMP）群、未精白（玄ヒエ）黒ヒエ食感作（IMW）群）で好酸球数増加は抑制傾向にあり、特に IMW 群では IC 群に比べ有意に増加が抑制される（表1）。
2. 好酸球の組織障害活性の指標である気管支肺胞洗浄液の好酸球ペルオキシダーゼ（EPO）活性は IC 群で高くなり、IMW 群で上昇抑制傾向が認められる（図2）。
3. 肺組織における炎症性サイトカイン（IL-5、IL-13）及び好酸球遊走活性を有するケモカイン（エオタキシン）遺伝子の発現は、いずれも非感作群と比較して IC 群で発現量が増加しており、これに対して黒ヒエ食群で IC 群より遺伝子発現が抑制される傾向となり、黒ヒエ食群では IMW 群でより抑制が強い傾向にある（図3）。

[成果の活用面・留意点]

1. AIN-93 飼料：米国国立栄養研究所から発表されたマウスあるいはラットを用いる栄養実験のための精製飼料。黒ヒエ食群では AIN-93 飼料に黒ヒエを 10%混合し、タンパク源であるカゼインを減じている。
2. サイトカイン、ケモカイン遺伝子の発現解析には、TaqMan primer probe セットを使用。
3. 黒ヒエには IL-1、IL-6 等の炎症性サイトカインの産生抑制効果が報告されている *M*-(ρ -クマロイル)セロトニン、抗アレルギー性が報告されているルテオリンが含まれていることを明らかにしているが、これら物質のみを摂取させた動物実験は実施していないため、本試験の結果に対する寄与は明らかでない。
4. ヒエの抗アレルギー性の確認には、さらにヒトでの試験が必要である。
5. ヒエを機能性食品素材として利用するための知見となる。

[具体的データ]

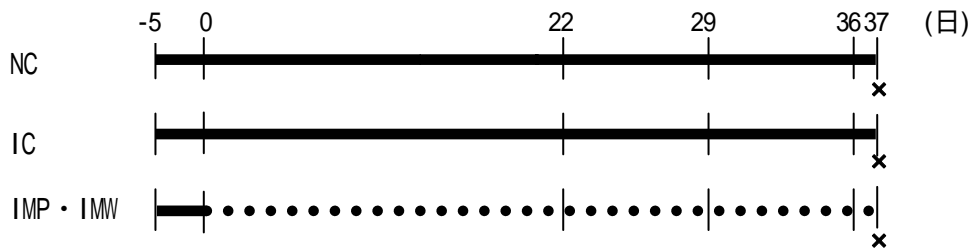


図1 飼育スケジュール

通常食 (AIN-93 飼料) ...黒ヒエ食
 生理食塩水投与、 Alum (水酸化アルミニウムゲル) -OVA 投与、
 OVA 投与、 x解剖 (肺・気管支肺胞洗浄液採取)

表1 気管支肺胞洗浄液中白血球数
 異なる文字間に有意差有 (p<0.05)

(× 10 ⁴ cells)	NC	IC	IMP	IMW
全白血球	47.2 ± 2.8 ^a	145.6 ± 27.5 ^b	98.1 ± 15.6 ^{ab}	98.7 ± 9.4 ^{ab}
マクロファージ + リンパ球	40.8 ± 3.1	45.1 ± 11.6	36.3 ± 5.0	54.9 ± 5.7
好中球	6.2 ± 2.0	9.0 ± 1.8	7.9 ± 2.8	9.7 ± 2.6
好酸球	0.2 ± 0.1 ^a	91.8 ± 17.8 ^b	53.9 ± 11.7 ^{bc}	33.4 ± 3.8 ^{ac}

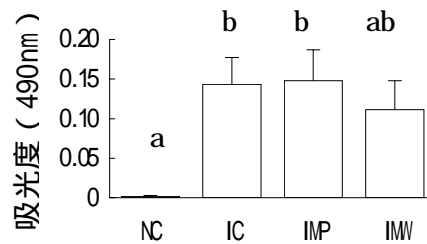


図2 気管支肺胞洗浄液好酸球ペルオキシダーゼ(EPO)活性

異なる文字間に有意差有 (p<0.05)

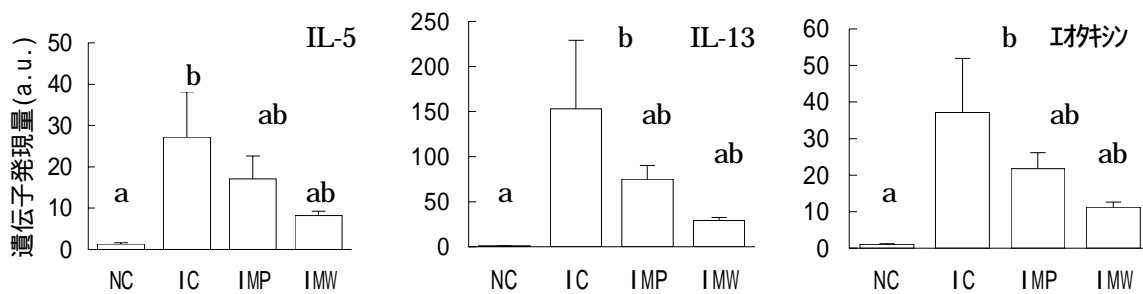


図3 肺組織中の炎症性サイトカイン (IL-5、IL-13) 及びケモカイン (エオタキシン) 発現比

異なる文字間に有意差有 (p<0.05)

[その他]

研究課題名：雑穀類の免疫調節機能に及ぼす影響の解明

課題ID：05-06-06-01-01-04

予算区分：食品総合

研究期間：2002～2006年度

研究担当者：渡辺満、佐藤倫子、清水恒

[成果情報名] 電気インピーダンスと静電容量を用いた茶葉含水率の非破壊計測法

[要 約] 高含水域から低含水域において、3kHz の電気インピーダンスと静電容量を計測することで、茶葉含水率を非破壊で高精度に推定できる方法を開発した。製茶プロセスでは各工程における茶葉の取り出し時期の判断基準として活用できる。

[部 署] 農業・生物系特定産業技術研究機構・野菜茶業研究所・茶業研究部・製茶システム研究室

[連絡先] 製茶システム研究室 0547-45-4950 myuzo@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 茶葉含水率、電気インピーダンス、静電容量、非破壊計測

[背景・ねらい]

製茶プロセスでは高含水域から低含水域において、迅速かつ高精度な水分計測が必要とされている。多種多様な水分計が市販されているが、その大部分を占める電気抵抗式や静電容量式、ならびに近赤外式の水分計は約 30%wb (%wb : 湿潤基準の含水率) 以上の高含水域において精度が悪い。マイクロ波水分計は高含水率の計測が可能だが、材料の比重や厚みで計測値を補正するため、装置が複雑になる。そこで、高含水域から低含水域まで迅速に高精度で計測できる新たな含水率非破壊計測法を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1 . 茶葉の電気的特性は交流 4 端子法により取得する。電極は丸棒の形状であり、材質はステンレスである。電極部が露出しないよう茶葉をのせ、アルミが取り付けられたガラスを被せ、茶温 20 ~ 25 でインピーダンスメータにより電気インピーダンスと静電容量を計測する。なお、アルミとインピーダンスメータのガード端子を接続し、ノイズの影響を防ぐ。計測データはパーソナルコンピュータに取り込む (図 1) 。
- 2 . 体積で補正した電気インピーダンスと静電容量は含水率とそれぞれ相関があるが、実用的な精度は得られない (図は省略) 。そこで、それぞれの式から含水率を表す新しい式を導く (式 1) 。この式によると、電気インピーダンスと静電容量を計測することで茶葉の含水率を推定でき、体積補正を必要としない。
- 3 . 製茶の各工程において茶葉を取り出し、0.1kHz から 1000kHz までの周波数を掃引したところ、式 1 より推定された茶葉含水率は乾燥法により測定された含水率と 3kHz 付近において高い相関がある (図 2) 。3kHz における電気インピーダンスは 1.00k ~ 1.20M 、静電容量は 1.22pF ~ 0.10 μF であり、式 1 を前提に定数 A 及び B を最小二乗法により求めると、A は -3.65、B は 166 である。
- 4 . 本手法は、80%wb から 3%wb の高含水域から低含水域において、高精度で茶葉の含水率を推定できる (図 3) 。3kHz の電気インピーダンスと静電容量を計測する時間は 1 秒以内である。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . 定数は電極形状や材質によって異なる。含水率の推定値は接触圧力の影響を受けないが、接触面積の影響を受ける。本手法では、電極部が露出しないよう茶葉を接触させれば高い精度が得られる。
- 2 . 本手法は茶葉含水率を迅速に高精度で計測できるため、製茶工程では茶葉の取り出し時期の判断基準として活用できる。
- 3 . 一番茶期から二番茶期の やぶきた めいりよく ふうしゅん さえみどり 及び おくゆたか を用いたが、他の品種でも適用できる。

[具体的データ]

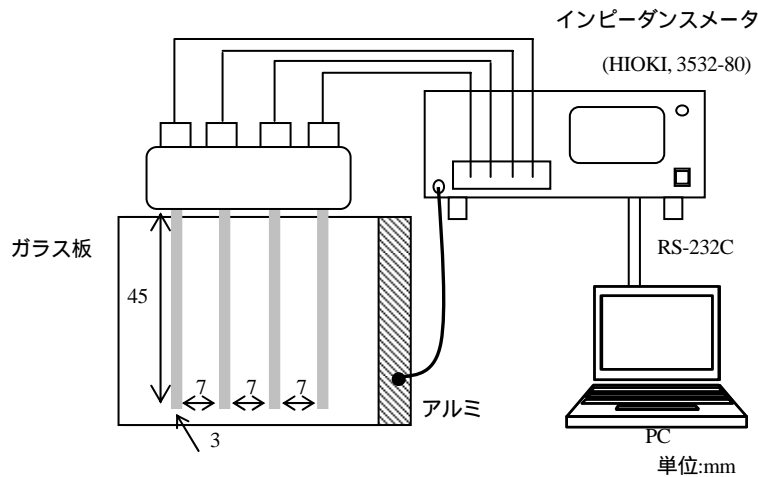


図1 電気的特性の計測概要

$$\omega = A \ln\left(\frac{Z}{C}\right) + B$$

ω : 含水率 (%wb)

Z : 電気インピーダンス ()

C : 静電容量 (F)

A, B : 定数

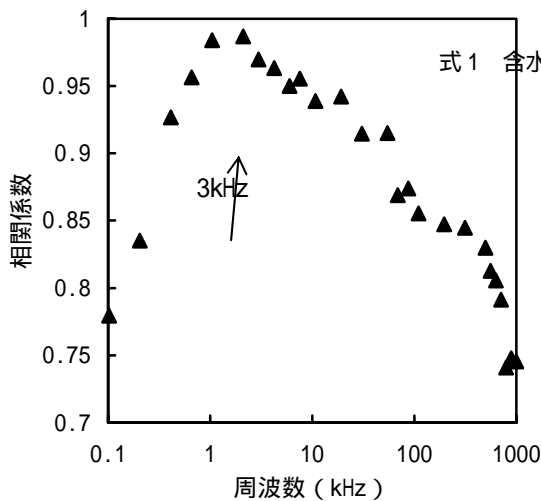


図2 電気的特性指標と含水率との相関係数の周波数依存性

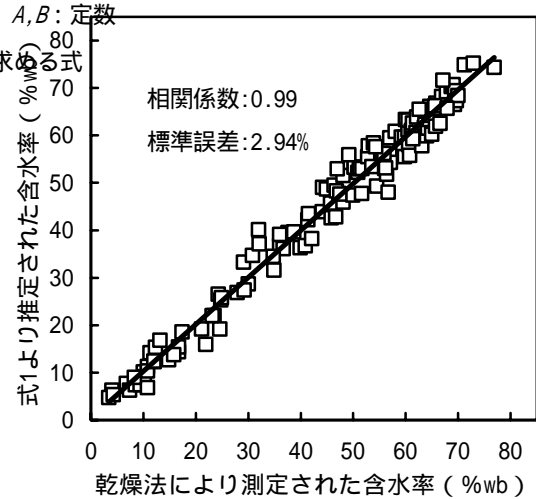


図3 乾燥法により測定された茶葉含水率と式1より推定された含水率の関係

[その他]

研究課題名：茶葉の電気的特性を考慮した水分状態の計測

予算区分：交付金

研究期間：2004～2006年度（2004年度）

研究担当者：水上裕造、山口優一、澤井祐典

発表論文等：

- 1) 水上裕造、山口優一、澤井祐典：被乾燥物含水率の非破壊計測方法及び装置、出願番号 PCT/JP2004/012063 (2004.8.23)

[成果情報名] トマト果実において成熟制御遺伝子*NOR*に非依存的に発現する遺伝子群

[要 約] トマト DNA アレイに搭載された約 10,000 の遺伝子のうち、成熟変異 *nor* の野生型対立遺伝子 *NOR* およびエチレンに非依存的に発現する遺伝子群は、ACC 酸化酵素-1 遺伝子と同様の発現パターンを示す。

[部 署] 野菜茶業研究所・機能解析部・収穫後生理研究室

[連絡先] 収穫後生理研究室 電話 059-268-4635 IMANISHI.S@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] トマト、DNA アレイ、エチレン、ジャスモン酸、成熟変異系統

[背景・ねらい]

トマト果実の成熟には植物ホルモンであるエチレンが大きな役割を果たしている。また、植物の病害抵抗性や老化に関わるジャスモン酸は、成熟にも関与することが知られている。一方、果実成熟が抑制されたトマト変異系統 *nor* の原因遺伝子座の野生型対立遺伝子 *NOR* は、エチレンとは独立して果実成熟を制御する因子とされるが、そのメカニズムは明らかになっていない。そこで、エチレンおよびジャスモン酸と *NOR* の関係を、DNA アレイを用いて遺伝子発現の面から明らかにする。

[成果の内容・特徴]

- 1 . DNA マクロアレイに固定された重複の無い 10,911 個のトマト cDNA クローンのうち、ジャスモン酸メチルエステル (MeJA) 処理によって発現レベルが 10 倍以上に上昇するものは、野生型系統においては 24 クローンである。そのうち *nor* 系統においても 10 倍以上に上昇するのは、エチレン生合成関連遺伝子の ACC (1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸) 酸化酵素-1 遺伝子 (*ACO1*) など 2 クローンである (図 1)。
- 2 . 野生型系統および *nor* 系統における MeJA およびエチレンに応答した発現の変動パターンを多変量解析により分類すると (図 2)、野生型系統と *nor* 系統ともに MeJA で誘導される *ACO1* と同じカテゴリーには、自己防衛・ストレス関連に加えて代謝関連遺伝子が多く含まれる (図 3 A)。これらは、*NOR* およびエチレンに非依存的に発現する遺伝子群である。
- 3 . 野生型系統でのみエチレンと MeJA で誘導される ACC 生成酵素-2 遺伝子 (*ACS2*) のカテゴリーには、転写や翻訳に関連する遺伝子が多く含まれる (図 3 B)。
- 4 . 野生型系統と *nor* 系統ともにエチレンや MeJA による誘導を受けない ACC 生成酵素-4 遺伝子 (*ACS4*) のカテゴリーには、機能未知の遺伝子が多い (図 3 C)。

[成果の活用面・留意点]

- 1 . ジャスモン酸は成熟エチレン生成を *NOR* 非依存的に調節している可能性がある。
- 2 . 発現様式が *ACS4* と同じカテゴリーの遺伝子群は、MeJA やエチレンおよび *NOR* 以外の成熟トリガーとなるシグナルによって発現制御されることが示唆され、未知遺伝子の中に果実成熟に深く関わる遺伝子が含まれる可能性がある。

[具体的データ]

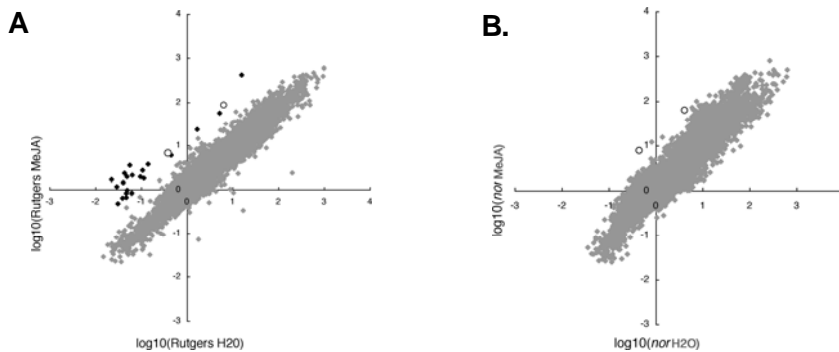


図1 トマト催色期果肉ディスクに対するジャスモン酸メチルエステル処理による遺伝子発現の変化

(A)野生型 ('Rutgers') (B)成熟変異系統 *nor* ('Rutgers'をバックグラウンドとする) 横軸：水処理時、縦軸：MeJA 処理時の発現レベルをそれぞれ対数で示す。(A)黒, 10倍以上 MeJA 処理で上昇; 白丸, 両系統において10倍以上 MeJA 処理で上昇;(B)白丸, 両系統において10倍以上 MeJA 処理で上昇

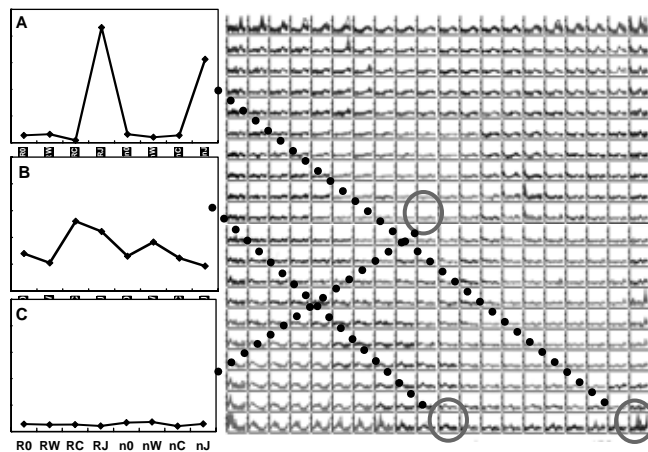


図2 多変量解析による発現パターンの分類
全遺伝子の発現パターンを類似性により Self-Organized Map 解析で 20x20 カテゴリーに分類した図(右)および *ACO1* (A), *ACS2* (B), *ACS4* (C)の発現パターン(左)。R0, 野生型(WT)未処理; RW, WT 水処理; RC, WT エテフオン処理; RJ, WT MeJA 処理; n0, *nor* 未処理; nW, *nor* 水処理; nC, *nor* エテフオン処理; nJ, *nor* MeJA 処理

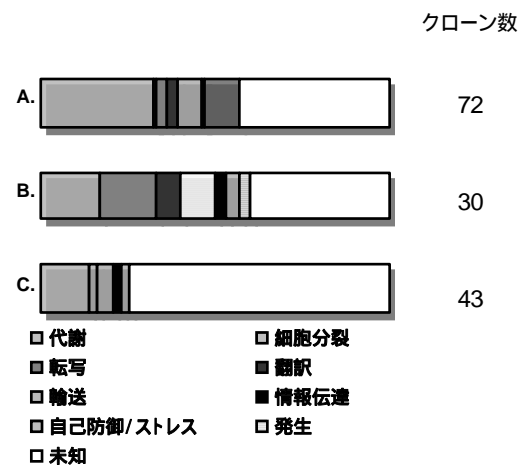


図3 多変量解析によって分類された遺伝子群の機能推定
ACO1 (A), *ACS2* (B), *ACS4* (C)それぞれと類似した発現パターンに分類された遺伝子群の機能を推定した。

[その他]

研究課題名：果実の成熟機構に関する遺伝子発現解析

予算区分：農水省高度化事業

研究期間：2002～2004年度

研究担当者：今西俊介、永田雅靖、津金胤昭（千葉農総研）、桑田主税（千葉農総研）、渡邊学（かずさDNA研）、前田ふみ（かずさDNA研）、西村繁夫（筑波大）、丸諭（千葉農総研）、青木孝一（千葉農総研）、柴田大輔（かずさDNA研）

発表論文等：

- 1) 今西ら、園学雑、73(別2)、577(2004)
- 2) Imanishi et al., 5th International Postharvest Symposium Vol of Abstract, p9(2004)

[成果情報名] 品種識別のための DNA の簡易、迅速、安価、多検体抽出法

[要 約] イチゴ等の野菜、緑茶、冷凍エダマメからグラスファイバーを装着した 96 ウェルプレートを用いて 3 時間以内に 192 検体の DNA が安価に抽出できる。抽出した DNA は品種識別に使用可能である。

[部 署] 野菜茶業研究所・機能解析部・遺伝特性研究室

[連絡先] 遺伝特性研 059-268-4655

[区 分] 参考

[キーワード] イチゴ、緑茶、DNA 抽出、品種識別、グラスファイバー

[背景・ねらい]

育成者権の保護や偽装表示防止のために、DNA マーカーを用いた品種識別技術が実用化されているが、DNA の抽出については簡易、迅速、安価で多検体の処理が求められている。特にイチゴの葉、ガク、果実のように多糖類が多く含まれている場合、CTAB 法など汎用されている方法では DNA 抽出が困難であり、抽出操作やコスト面から改善すべき点が多い。そこで DNA を吸着できるグラスファイバーが付いた 96 ウェルプレートを用いて、DNA 抽出の効率化を図る。

[成果の内容・特徴]

1. 192 (96 ウェルプレート 2 枚分) 検体の粉碎から DNA 抽出までの所要時間は、3 時間以内である (図 1、図 2)。1 検体あたりの抽出に要する試薬コストは約 50 円であり、市販品の 1/5 から 1/10 である。また本抽出法はフェノールやクロロホルムを使用しない。
2. 20~40mg のイチゴ成葉、ガクと 100mg のイチゴ果肉から、イチゴの成葉では 0.7 μ g、ガク 0.4 μ g、果肉 0.1 μ g 程度の DNA が抽出可能である (表 1)。また仕上げ加工した緑茶や調理した冷凍エダマメからも DNA が抽出できる (表 1)。
3. イチゴ成葉、ガク、果肉から本方法により抽出した DNA を PCR の鋳型に用いてイチゴ品種識別用 DNA マーカーの増幅が可能である (図 3)。

[成果の活用面・留意点]

1. DNA 抽出量は、試料の状態、量、粉碎の程度によって大きく異なる。
2. 80%エタノール洗浄後は、96 ウェルプレートのウェル内にエタノールが残存しないようにする。
3. 抽出した DNA を長期に保存するときには、エタノール沈殿など再精製を行うことが望ましい。
4. 詳細なマニュアルの作成を行い、ホームページで公開予定である。

[具体的データ]

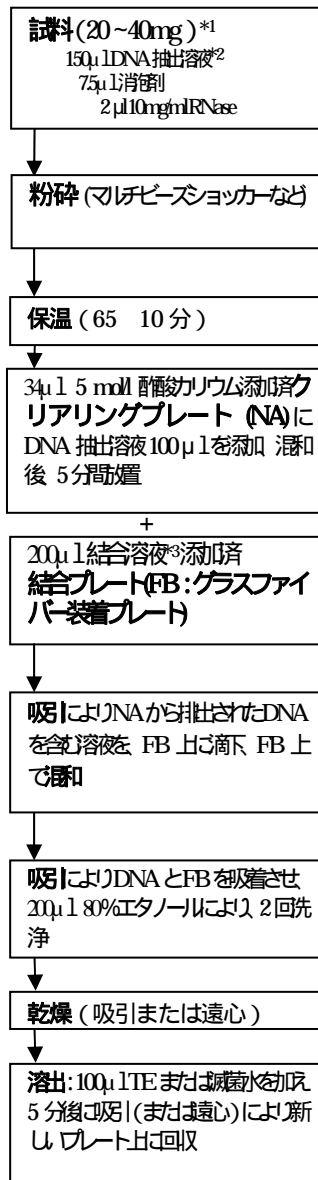


図1 DNA抽出操作の流れ

¹イチゴ果肉の場合は100mg

²DNA抽出溶液

0.1 mol/l 酢酸ナトリウム、0.05 mol/l EDTA、0.5 mol/l NaCl
0.5% PVP(MW40,000)、1.4% SDS、pH5.5

³結合溶液

8 mol/l 塩酸グアニジン溶液 + 2 倍量のエタノール

表1 各組織から抽出されたDNA量(µg)

供試材料	サンプル				最小 - 最大
	1	2	3	4	
イチゴ(成葉、20~40mg)	0.82	0.98	0.19	0.77	0.19-0.98
イチゴ(ガク、20~40mg)	0.38	0.43	0.47	0.50	0.38-0.50
イチゴ(果肉、100mg)	0.06	0.15	0.12	0.10	0.06-0.15
エダマメ(塩茹で、約40mg)	0.22	0.28	0.25	0.32	0.22-0.32
緑茶(仕上げ加工、約40mg)	0.86	0.78	1.04	0.88	0.78-1.04
ハクサイ(新鮮葉、20~40mg)	0.49	0.63	0.57	0.65	0.49-0.65

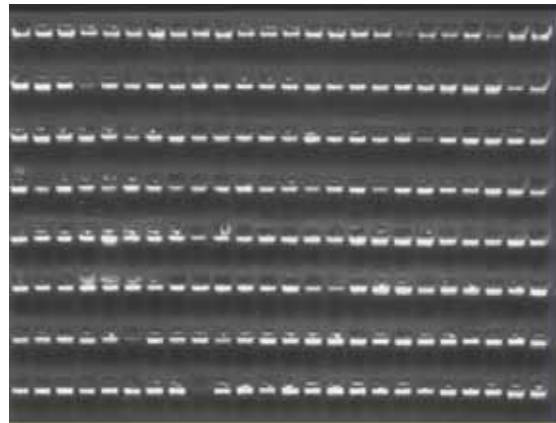


図2 イチゴ成葉から抽出したDNA192検体の電気泳動による確認

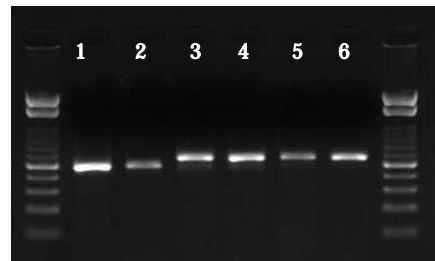


図3 イチゴ成葉、ガク、果肉から抽出したDNAを鋳型とした品種識別用マーカー(APX)の増幅

1, 2: 成葉(さちのか) 3, 4: ガク(とちおとめ) 5, 6: 果肉(とちおとめ)

[その他]

研究課題名: イチゴDNAの簡易迅速多検体抽出法の開発

予算区分: 高度化事業

研究期間: 2002~2004年度

研究担当者: 松元哲、國久美由紀、吹野伸子、藤村みゆき

発表論文等:

1) 松元ら: 品種識別のためのイチゴの多検体DNA抽出法、園学雑誌72(別2)、251(2003)

[成果情報名] 原産地の異なるブロッコリーにおける無機元素組成の違い

[要 約] ブロッコリー中のナトリウム、ストロンチウム含有量は輸入品（米国および中国産）に多く、国産品に少ない。逆にバリウム含有量は輸入品に少なく国産品に多い。これら三元素のクラスター分析によりブロッコリーの輸入品と国産品が分離する。

[部 署] 農業・生物系特定産業技術研究機構・野菜茶業研究所・機能解析部・上席研究官

[連絡先] 機能解析部・上席研究官 059-268-4633 ktsuji@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] ブロッコリー、原産地判別、ICP発光分析、ナトリウム、ストロンチウム、バリウム

[背景・ねらい]

近年、ネギやブロッコリーなどの生鮮野菜の輸入が急増している。これらは原産地表示されて販売されているものの、相次ぐ農産物の偽装表示事件あるいは輸入野菜の残留農薬問題などにより、消費者の不安はますます高まっている。このような不安を除き、正しい表示に基づいた健全な野菜流通を確保するため、偽装表示の抑止力と成り得る原産地判別技術の開発が望まれている。そこでICP発光分析法を用いて国内外のブロッコリーの無機元素組成の違いを明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. ブロッコリーの分析部位としては扱い易さ、分析精度などの面から主軸部が適当である。
2. ブロッコリーを同一圃場で栽培した場合、品種間や作型により元素組成に若干の差異が見られるが、その幅は大きくなく変動係数にして20～30%程度である（表1）。
3. ブロッコリー中のナトリウム、ストロンチウム含有量は輸入品（米国および中国産）に多く、国産品に少ない。逆にバリウム含有量は輸入品に少なく国産品に多い（表2）。
4. バリウム含有量とストロンチウム含有量を縦・横軸にとってプロットすると、国産品と外国産品を良く分離できる（図1）。また、ナトリウム、バリウム、ストロンチウム含有量を用いたクラスター分析（ウォード法）により国産品と外国産品が分離する（図2）。

[成果の活用面・留意点]

1. 日本に輸入されるブロッコリーは中国産と米国産とで98%以上を占める（H15年植物検疫統計）。

[具体的データ]

表1 無機元素組成の品種間差異

品 種 名	作型 ¹⁾	無機成分含量(乾物当たり)(ppm)									
		Na	Mg	Al	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Sr	Ba
ハイツ	1	924	1840	5.61	5864	9.92	27.46	3.85	16.73	11.25	16.04
あつもり	1	993	1599	3.02	3637	6.70	13.41	2.57	13.68	4.74	6.89
はなもり	1	587	1443	2.65	2931	8.07	21.37	2.42	20.19	4.77	5.82
スリーメイン	1	1224	2184	4.93	5434	9.64	25.81	4.48	26.17	10.33	10.45
唐嶺	1	993	1970	3.58	4376	8.65	24.41	4.06	21.32	7.37	7.56
グリエール	1	623	2143	5.83	6549	13.60	32.54	5.76	25.84	9.72	8.76
天雷	1	763	1802	3.94	4743	7.40	18.26	2.81	17.64	9.32	15.71
しげもり	1	1016	1505	3.73	2965	7.28	15.49	3.03	16.36	7.51	8.87
グリーンビューティー	1	504	1543	5.31	4502	8.39	21.02	6.12	15.06	9.02	4.85
ハイツ	2	687	1972	3.67	4071	7.69	19.80	3.52	19.70	5.75	11.21
海嶺	2	749	1826	4.05	4549	9.85	26.80	2.63	19.00	10.78	9.81
緑帝	2	651	1508	4.17	4478	8.61	18.30	2.49	17.00	10.93	13.65
平均		809	1778	4.21	4508	8.82	22.06	3.64	19.06	8.46	9.97
変動係数(%)		26.8	14.5	24.0	23.9	20.7	25.0	34.7	20.5	28.1	36.6

1)作型 1:H15年度秋冬作、2:H14年度夏秋作(野菜茶研圃場で栽培)

表2 ブロッコリーの原産地による無機元素組成の比較

試 料	成分含有量(乾物当たり、ppm)		
	Na	Sr	Ba
輸入品(平均 ¹⁾)	5944	31.6	2.12
国産品(平均 ²⁾)	734	12.2	8.23

1)米国産4点および中国産3点の平均値

2)国内産22点の平均値

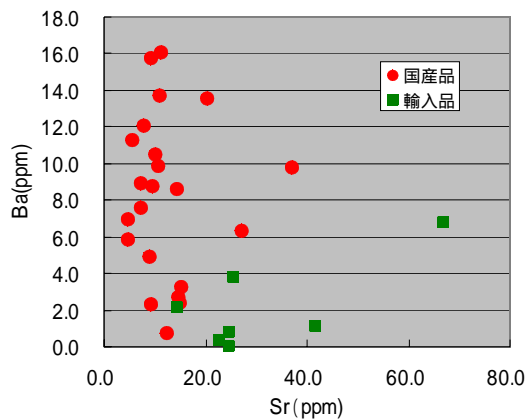


図1 国産品と輸入品のSrおよびBa含量

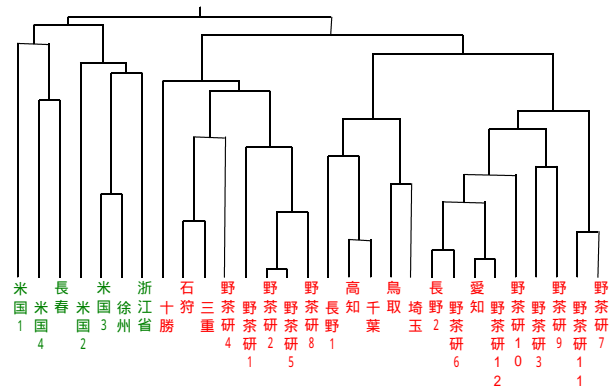


図2 クラスタ分析による原産地判別

野茶研1～12は野菜茶業研究所の同一圃場で栽培した2作型・11品種のブロッコリー。
米国1～4は入手時期等が異なるカリフォルニア産ブロッコリー。

[その他]

研究課題名：生鮮野菜の元素分析による原産地判別技術の開発

予算区分：高度化事業

研究期間：2002～2004年度

研究担当者：辻 顕光

発表論文等：辻、園学雑、73(別2)、507(2004)

[成果情報名] 茶の履歴管理・情報システム

[要 約] 茶の複雑な生産・流通経路で活用可能な履歴管理システムを構築した。本システムは、茶園から仕上げ茶にいたるロットの個別管理に対応でき、インターネット経由でのアクセスが可能である。

[部 署] 野菜茶業研究所・茶業研究部・製茶システム研究室

[連絡先] 製茶システム研究室 0547-45-4950 yyama@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 茶、トレーサビリティ、履歴管理

[背景・ねらい]

日本茶の場合、製造・流通過程の各段階でブレンドが行われる。そこで、複雑なブレンドにも対応できる、茶の栽培から流通までの一貫した履歴管理・情報システムを開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 製茶前の生葉の混合（合葉）や仕上げ段階でのブレンド（合組）などによる複雑なロットの生成に対処するため、図 1 に示す構造のデータベースを構築する。データベースの構築にあたっては、リレーショナルデータベースモデルに準拠し、正規化を行う。基本的には、茶園、生葉、荒茶、仕上げ茶をそれぞれ固有の ID で管理し、それらを摘採、合葉、合組情報等のデータベースで関連づける構造である。
2. すべてのデータベースにはデータの所有者 ID が含まれており、所有者 ID と実際のユーザー（氏名、連絡先、パスワード等）を結びつけるための人物データベースも別に準備されている。通常はデータを入力したユーザーがそのデータの所有者となり、所有者のみがデータの閲覧や改変が可能となっている。これにより、第三者によるデータの引き出しや改変を防ぐことができる。また、データ所有者のフィールドを準備したことで、ユーザーごとのデータ公開ポリシーの設定やパスワードによるアクセス管理などの機能を付加することも可能となる。
3. データベースへは、インターネット上の Web ブラウザによりどこからでもアクセスでき、ユーザー名を登録すればすぐにデータベースの利用が可能である（図 2）。データ入力については、ユーザーが管理不要と考える情報は省略可能とし、入力の煩雑さを極力排除している。また、既存の管理システムとの連動を考慮し、各データにユーザー独自の管理情報等を記録できる構造である。

[成果の活用面・留意点]

1. 本システムは、茶農協等実際の現場での利用のみならず、新たなシステム構築においてもプロトタイプとしての利用が可能である。
2. 他の業者や消費者にどのようにデータを公開するかのポリシーについては、利用者個別の事情に応じて検討し、若干システムを改造する必要がある。
3. 本システムはデータベースシステムとして PostgreSQL 7.4.6、Web サーバーとして Apache 1.3.33、Web インターフェースとして PHP 4.3.10 の環境で稼働する。本条件を満たせば、オペレーティングシステムを問わずインストール可能である。

[具体的データ]

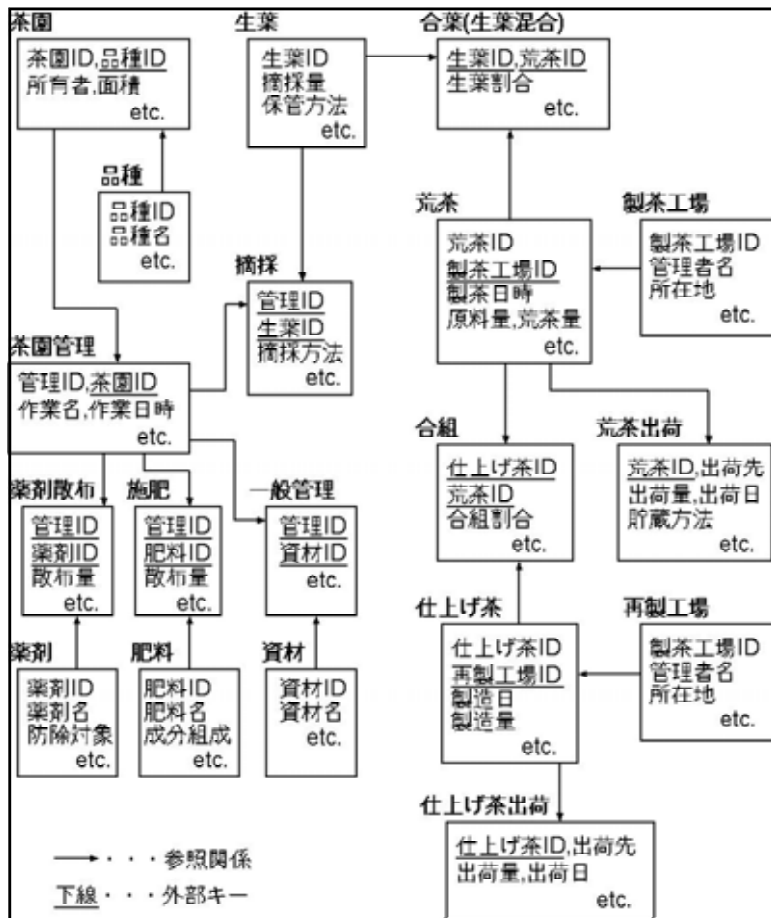


図1 茶の履歴管理のためのデータベース構造

データ所有者の認証による
データへのアクセス制御

データ所有者情報

データ所有者ID
データ所有者名
パスワード
etc.

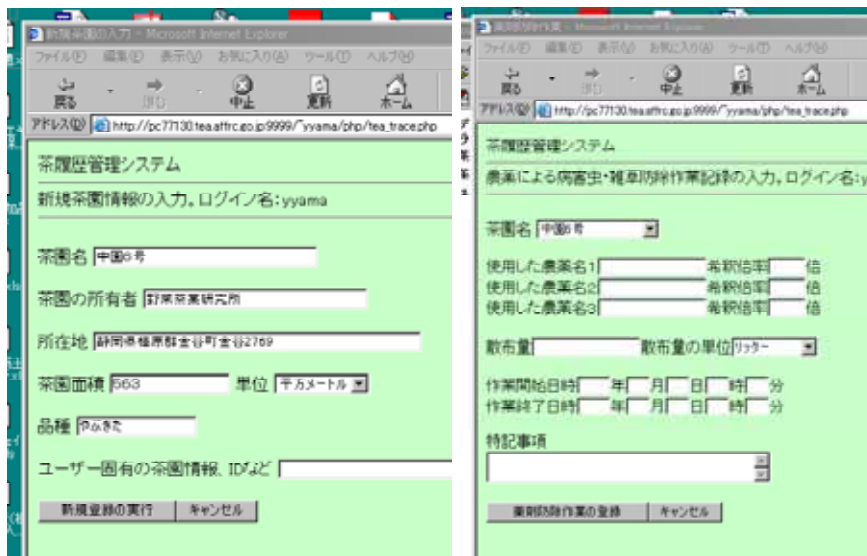


図2 データ入力画面の例
左：茶園情報入力画面
右：茶園管理履歴入力画面

[その他]

研究課題名：履歴管理・情報システムの開発
 予算区分：高度化事業（原産地判別）
 研究期間：2002～2004年度(2004年度)
 研究担当者：山口優一、澤井祐典、水上裕造

[成果情報名] 水中における茶カテキン/カフェイン複合体の結合エネルギー

[要 約] 主要な茶カテキン類 EGCg、ECg、EGC、EC は、少なくとも 5.0mmol/L までは、カフェインと化学量論比 1:1 の複合体を形成する。¹H-NMR スペクトル滴定法により算出されるその結合エネルギーは、それぞれ 2.7、2.6、2.2、2.0kcal/mol (28 °C) である。

[部 署] 農業・生物系特定産業技術研究機構・野菜茶業研究所・機能解析部・茶品質化学研究室

[連絡先] 茶品質化学研究室 0547-45-4982 hayn@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] カテキン/カフェイン複合体、化学量論比、結合エネルギー

[背景・ねらい]

ガレート型カテキン(渋味物質)とカフェイン(苦味物質)は複合体を形成することが知られているが、この現象は茶の味や機能性に影響を与えることが予想される。そこで、非ガレート型カテキンを含めた緑茶の主要カテキン類のカフェインとの複合体形成能力に関して定量的評価を行うために、化学量論比、及び結合エネルギーを求める。また NMR スペクトルから、これらの複合体の構造を解析する。

[成果の内容・特徴]

1. カテキンとカフェインの濃度の合計が 5.0mmol/L の系で Job プロットを行った場合、いずれの場合もグラフはモル比 0.5 で最大値となる(図 1)。このことは、EGCg、ECg、EGC、EC は、少なくとも 5.0mmol/L までは、カフェインと化学量論比 1:1 の複合体を形成することを示している。
2. ¹H-NMR スペクトル滴定曲線(図 2)により算出されたカテキン/カフェイン複合体の 28 °C における結合エネルギー(水中)は、EGCg、ECg、EGC、EC に対して、それぞれ 2.7、2.6、2.2、2.0kcal/mol である(図 3)。結合エネルギーの値が大きいほど、複合体は安定であることを意味する。これまで、カフェインに対する親和性が不明であった非ガレート型カテキン(EGC、EC)も十分な複合体形成能力を有しているが、ガレート型カテキン(EGCg、ECg)と比較すると、その能力は低い。
3. カテキン/カフェイン混合水溶液の ¹H-NMR の化学シフト変化と NOESY スペクトル(表 1)は、複合体形成にカテキン分子内の全ての芳香環が関与することを示している。

[成果の活用面・留意点]

1. カテキン/カフェイン複合体形成による苦渋味変化のメカニズムの解明に活用できる。
2. さらに高濃度の系では、カテキン分子間、或いはカフェイン分子間の自己会合を考慮する必要がある。

[具体的データ]

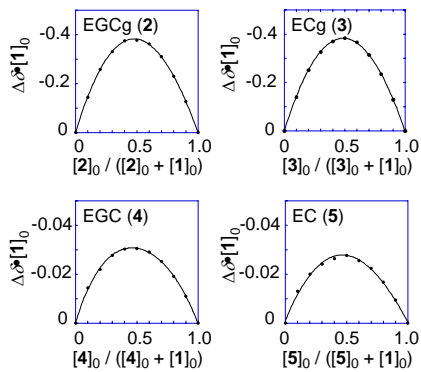
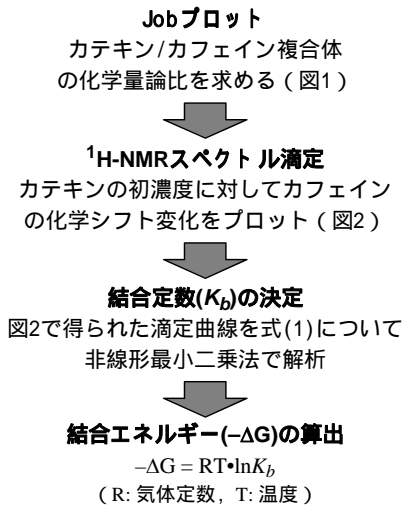


図1 カテキン (2, 3, 4, 5)/カフェイン (1) 複合体形成に関するJobプロット (重水中、pH 6) $\Delta\delta$: カフェインのC₈-Hの化学シフト変化, [X]₀: 化合物Xの初濃度



1:1複合体形成の滴定曲線式(1)

$$\Delta\delta_{\text{obs}} = \frac{\Delta\delta_{11}}{2K_b[G]_0} [1 + K_b[H]_0 + K_b[G]_0 - \{(1 + K_b[H]_0 + K_b[G]_0)^2 - 4K_b^2[H]_0[G]_0\}^{1/2}]$$

[H]₀: カテキンの初濃度, [G]₀: カフェインの初濃度. $\Delta\delta_{11}$: 1:1複合体を形成しているカフェインの化学シフトとカフェイン単体の化学シフトの差.

図3 結合エネルギーの算出方法

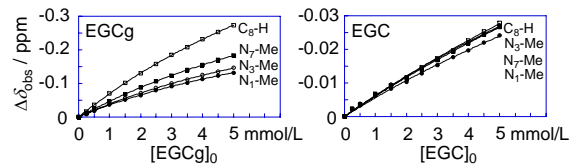


図2 カテキン/カフェイン混合系の¹H-NMRスペクトル滴定曲線 x軸: カテキンの初濃度, y軸 ($\Delta\delta_{\text{obs}}$): カフェインの¹H-NMR化学シフト変化

表1 カテキン/カフェイン系 (重水中、モル比=1:1) のNOESYシグナル

	Caffeine			
	N ₁ -Me	N ₃ -Me	N ₇ -Me	C ₈ -H
EGCg				
C ₂ -H	●	●	●	○
C ₃ -H	●	●	●	●
C ₄ -H α	-	-	○	●
C ₄ -H β	-	-	-	○
A-ring → C _{6/8} -H	●	●	●	●
B-ring → C _{2&6} -H	●	○	●	●
Galloyl → C _{2'&6''} -H	●	●	●	●
ECg				
C ₂ -H	●	●	●	○
C ₃ -H	●	●	●	○
C ₄ -H α	-	-	-	●
C ₄ -H β	-	-	-	○
A-ring → C _{6/8} -H	○	○	●	○
B-ring → C ₂ -H	●	●	●	○
C ₅ -H	●	●	●	●
C ₆ -H	●	●	●	●
Galloyl → C _{2'&6''} -H	●	●	●	●
EGC				
C ₂ -H	●	●	●	●
C ₃ -H	●	●	●	●
C ₄ -H α	●	○	○	○
C ₄ -H β	○	○	○	○
A-ring → C _{6/8} -H	○	○	●	○
B-ring → C _{2&6} -H	●	●	●	●
EC				
C ₂ -H	●	●	●	○
C ₃ -H	●	●	●	○
C ₄ -H α	●	●	●	○
C ₄ -H β	●	●	●	○
A-ring → C _{6/8} -H	○	○	●	○
B-ring → C ₂ -H	○	○	●	●
C ₅ -H	●	●	●	○
C ₆ -H	●	●	●	○

●: クロスピーク有, ○: クロスピーク無, -: クロスピークの有無不明. クロスピークの存在は、対応するプロトン間の空間的な近さを表す。

[その他]

研究課題名: センサー等を用いた茶の味評価法の開発

予算区分: 品質評価法

研究期間: 2004~2006年度 (2004年度)

研究担当者: 林宣之、氏原ともみ、木幡勝則

発表論文等:

- 1) Hayashi N, Ujihara T, Kohata K: Binding energy of tea catechin/caffeine complexes in water evaluated by titration experiments with ¹H-NMR. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 2512-2518 (2004)

[成果情報名] 茶大豆種皮プロアントシアニジン含有画分のラット血糖値上昇抑制作用

[要 約] 茶大豆種皮から調製した単量体～7量体のプロアントシアニジンを含む画分は、抗酸化活性、 α -グルコシダーゼ阻害活性、 α -アミラーゼ阻害活性を示す。またその画分をラットに投与すると糖負荷による血糖値・血中インスリン濃度の上昇を抑制できる。

[部 署] 九州沖縄農研・作物機能開発部・食品機能開発研究室

[連絡先] 食品機能開発研究室 096-242-7742 tomooki@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 有色大豆、プロアントシアニジン、血糖値上昇抑制、血中インスリン抑制

[背景・ねらい]

黒大豆・茶大豆など有色種皮大豆は、古来から薬効があるとして珍重され、近年では健康食品として消費者・実需者の人気を集めている。しかし、効能を示す成分は十分に明らかにされていない。そこで、茶大豆種皮からプロアントシアニジン含有画分を調製し、成分特性・機能特性を明らかにするとともに、ラットに経口投与した場合の血糖値上昇抑制作用を確認する。

[成果の内容・特徴]

1. 茶大豆（秋田在来）種皮の70%アセトン/0.5%酢酸抽出液からの Sephadex LH-20 カラムメタノール溶出画分（以下、メタノール溶出画分と略す）および70%アセトン溶出画分にはプロアントシアニジンが含まれている（図1）。これら溶出画分の各々のフラクションは、DPPH ラジカル消去活性（抗酸化活性の強弱を示す指標）および α -グルコシダーゼ阻害活性（マルトース グルコースの阻害程度を示す指標。糖吸収阻害と関連する）を示すが、それらの活性はプロアントシアニジン濃度に比例して高まる（図1）。
2. メタノール溶出画分と70%アセトン溶出画分に回収されるプロアントシアニジン量はモル比で20:3と、メタノール溶出画分に多い（図1）。
3. そのメタノール溶出画分には低重合度プロアントシアニジン（単量体（カテキン）～7量体）が含まれている（図2）。またこの画分は α -グルコシダーゼ阻害活性に加え、 α -アミラーゼ阻害活性（デンプンの加水分解の阻害程度を示す指標）を示す（表1）。
4. メタノール溶出画分をラットに経口投与すると、マルトース負荷による血糖値および血中インスリン濃度の急激な上昇を抑制することができる（図3左）。可溶性デンプン負荷の場合には、血糖値の上昇抑制作用は弱いですが、血中インスリン濃度の急激な上昇は抑制される（図3）。

[成果の内容・特徴]

1. 本成果は実験動物レベルでの結果である。ヒト介入試験を実施し、茶大豆種皮プロアントシアニジン含有食品による血糖値上昇抑制作用を確かめる必要がある。
2. 茶大豆種皮に含まれるプロアントシアニジン含有量は品種・系統により異なる。新品種・系統の場合には、プロアントシアニジン含有量を調べる必要がある。
3. 表1の参考値（Matsui T. et al.(2001) : J. Agric. Food Chem., 49(4), 1948-1951 より引用）
 α -グルコシダーゼ阻害活性 (mg/mL) : 紫サツマイモ抽出物 (0.36) 緑茶抽出物 (0.23)
 α -アミラーゼ阻害活性 (μ g/mL) : 紫サツマイモ抽出物 (610)

【具体的データ】

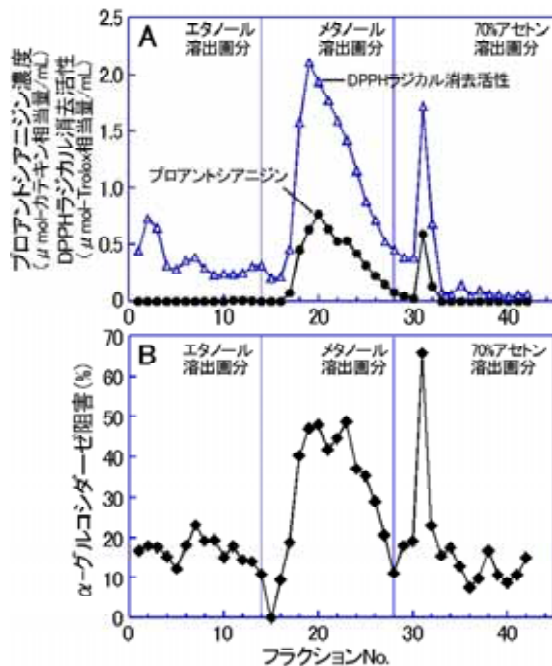


図1. Sephadex LH-20カラムによる茶大豆種皮の70%アセトン/0.5%酢酸抽出液に含まれるプロアントシアニジン(A)と-グルコシダーゼ阻害成分(B)の分離

表1. メタノール溶出画分のプロアントシアニジン含量と糖類分解酵素阻害活性

プロアントシアニジン(μmol-カテキン相当量/mg)	1.76
α-グルコシダーゼ阻害活性*(IC50, mg/mL)	0.16
α-アマラーゼ阻害活性*(IC50, μg/mL)	8.90

n=3の調製物の平均値で表示。(*)：値が低いほど高活性

【具体的データ】

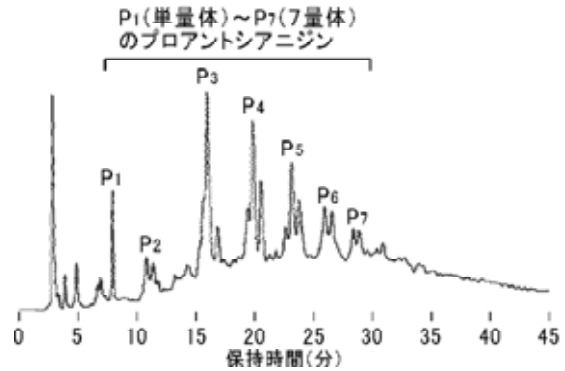


図2. メタノール溶出画分に含まれるプロアントシアニジンの順相HPLCによる組成分析
重合度は既報の保持時間との比較で推定

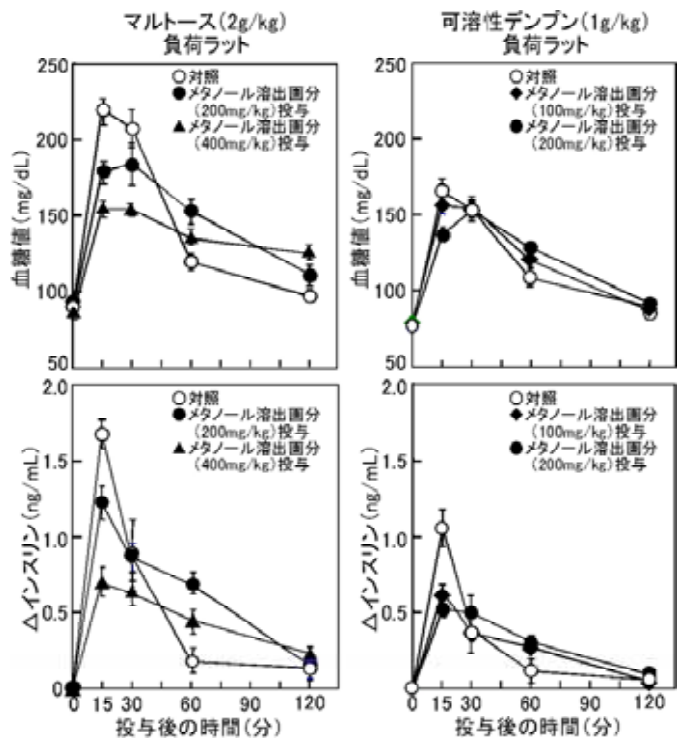


図3. メタノール溶出画分の経口投与による糖負荷ラットの血糖値・血中インスリン濃度の上昇抑制
マルトース負荷ラット(各群n=5)
可溶性デンプン負荷ラット(各群n=4)

【その他】

研究課題名：有色種皮大豆の機能性解明と利用技術開発

予算区分：プラニチ2系

研究期間：2003～2005年度(2004年度)

研究担当者：沖智之、須田郁夫、菅原晃美、西場洋一、増田真美、小林美緒、永井沙樹、竹市美和子
発表論文等：

- 1) 小林美緒ら：茶大豆種皮のラジカル消去活性とプロアントシアニジン含量、九州農業研究、65、54 (2003)

[成果情報名] 紫サツマイモ「アヤマラサキ」アントシアニンの体内吸収性と生理作用

[要 約] ラットに経口投与された紫サツマイモ由来アシル化アントシアニンは、投与後 30 分～2 時間血中に存在する。その存在中に、血液流動性は改善され、収縮期血圧は低下する。長期給餌試験でも給餌期間中は収縮期血圧低下が認められる。

[部 署] 九州沖縄農研・作物機能開発部・食品機能開発研究室

[連絡先] 食品機能開発研究室 096-242-7873 ikuosu@affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] 紫サツマイモ、アントシアニン、血液流動性、血圧降下作用

[背景・ねらい]

アシル化アントシアニン（糖部に有機酸が結合したアントシアニン）を含む紫サツマイモ「アヤマラサキ」から作ったジュースは、ヒトボランティア試験において、血圧降下作用や肝機能改善効果などの機能性を発現するが、その関与成分およびメカニズムは十分に解明されていない。そこで「アヤマラサキ」から紫サツマイモアントシアニン含有物（PSP-ANT）を調製し、実験動物を用いて、含まれているアントシアニンの体内吸収性および発現される生理作用を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 「アヤマラサキ」から調製した紫サツマイモアントシアニン含有物（PSP-ANT）をラットに経口投与すると、血中にアントシアニンが検出される（図 1）。紫サツマイモに含まれているアシル化アントシアニンは体内吸収されることを示す。
2. ラット血中に存在するアントシアニンの中で濃度の高いのは YGM-5b（peonidin 3-caffeoylsophoroside-5-glucoside、分子量 949）である（図 1）。PSP-ANT 投与 30 分後に最高レベルに到達し、2 時間後までは血中に存在する。
3. ラットにストレス（断水、断食、固定器にて拘束）を 2 回加えると血液流動性を悪化させることができる（図 2）。このモデルラットに、血液流動性の測定 1 時間前に PSP-ANT を経口投与しておく、血液流動性は改善する（値が平常値近くまで戻り、血液がサラサラになる）（図 2）。
4. PSP-ANT を単回経口投与すると、高血圧自然発症ラットの収縮期血圧は低下する（図 3）。その降圧作用は投与 2 時間後には現れ、8 時間後でも持続している。
5. PSP-ANT の血圧降下作用は、PSP-ANT を 0.1%あるいは 0.2%混合した食餌を用いた長期給餌でも観察される（図 4）。PSP-ANT の給餌を中断すると、血圧はコントロール群と同レベルになる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本成果は、紫サツマイモに含まれるアントシアニンについて明らかにされた機能性であり、他の作物のアントシアニン類（約 400 種存在）でも同様な機能があるとは保証していない。
2. PSP-ANT 調製物の特性：「アヤマラサキ」を 90℃ 10 分加熱（アシル化されているアントシアニンであるため熱安定性が高い）、マスコロイダー等で磨砕、複合酵素処理、Diaion HP-20 カラムでの溶出、減圧濃縮処理等を施し調製。アントシアニン含量は 124.4mg-YGM-5b 相当量/g で、その 90.0 % が 8 種の主要アントシアニンで占められている。なお原料イモのアントシアニン含量は 4.2mg-YGM-5b 相当量/g である。

[具体的データ]

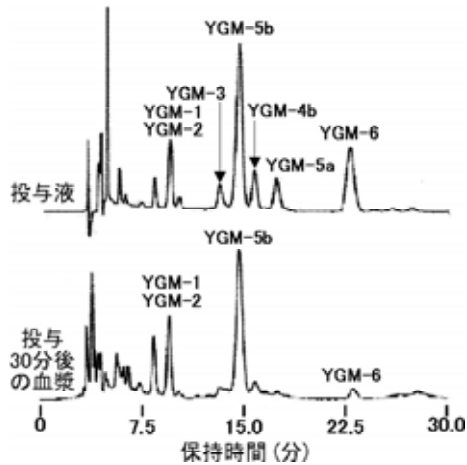


図1. PSP-ANT(投与液)および経口投与30分後にラット血漿に検出されるアントシアニンのHPLCクロマトグラム

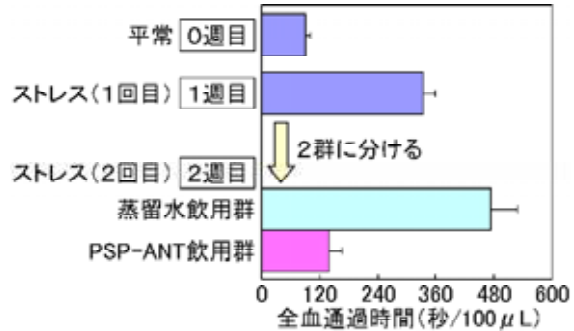


図2. PSP-ANT経口投与によるストレス負荷ラットの血液流動性の改善作用

- 0週目: 平常時の全血通過時間が60秒/100 μ L以上に達したWistar雄性ラット(11匹)を試験に供する。
- 1週目: ストレス(断水24時間、断食16時間、固定器にて拘束16時間)を加え、血液流動性が悪化していることを確認する。
- 2週目: ラットを蒸留水飲用群(n=6)とPSP-ANT飲用群(n=5)の2群に分ける。全ラットに2)と同様にストレスを加えた後、蒸留水もしくはPSP-ANTを飲ませ、その1時間後に血液流動性を調べた。

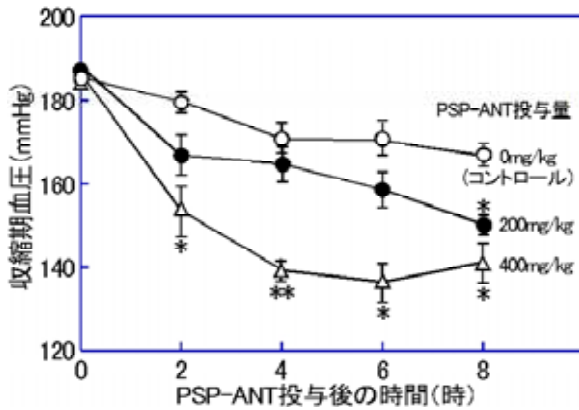


図3. PSP-ANT単回経口投与による高血圧自然発症ラットの収縮期血圧の変化

12 ~ 13 週齢の雄性ラットをコントロール群(n=7)、200mg/kg 投与群(n=8)、400mg/kg 投与群(n=6)に分ける。コントロール群の血圧低下は日内変動である。

*p<0.05でコントロール群との間に有意差あり
**p<0.01でコントロール群との間に有意差あり

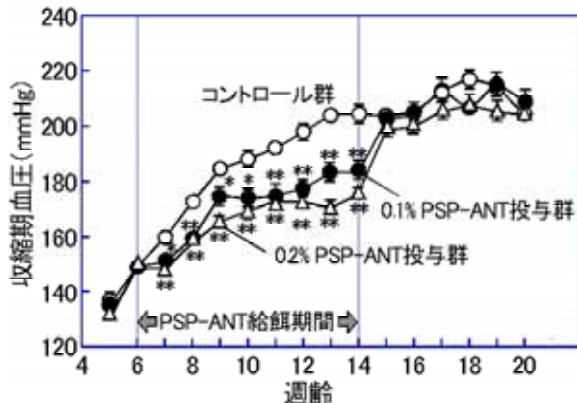


図4. PSP-ANT長期給餌による高血圧自然発症ラットの収縮期血圧の変化

各群 n=5
*p<0.05でコントロール群との間に有意差あり
**p<0.01でコントロール群との間に有意差あり

[その他]

研究課題名: 和食素材に含まれるアントシアニンの体内吸収と機能性発現の解明

予算区分: 食品総合

研究期間: 2002 ~ 2006 年度(2004 年度)

研究担当者: 須田郁夫、沖智之、増田真美、小林美緒、永井沙樹、竹市美和子、西場洋一、松ヶ野一郷・杉田浩一・福井敬一(宮崎 JA 研)、寺原典彦(南九州大)

発表論文等:

- Suda I. et al.: Direct absorption of acylated anthocyanin in purple-fleshed sweet potato into rats, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1672-1676(2002)
- 小林美緒ら: 紫サツマイモ「アヤマラサキ」から調製したアントシアニン含有物の高血圧自然発症ラットに対する血圧降下作用、*日本食品科学工学会誌*, **52**, 41-44(2005)