

[成果情報名] 農薬登録をした高圧炭酸ガスを用いたクリシギゾウムシ殺虫技術

[要約] クリの主要害虫であるクリシギゾウムシを、高圧炭酸ガスを用いて殺虫する。温度 25℃、圧力 3MPa の条件下で 30 分処理後、ガスを 10 分かけて放出するとクリシギゾウムシはほぼ完全に殺虫できる。

[キーワード] 臭化メチル代替技術、農薬登録、高圧炭酸ガス、クリシギゾウムシ

[担当] 食総研・食品安全研究領域・食品害虫ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8081

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・普及

[背景・ねらい]

臭化メチルは地球のオゾン層を破壊することから、モントリオール議定書締約国会合によってその生産が段階的に制限され、先進国では2005年に生産中止となった（途上国では2015年の予定）。現在、日本では植物検疫用あるいは国際的に不可欠用途使用申請がなされ許可された量のみが使用されている。特にクリシギゾウムシ防除の場合は、臭化メチル以外に有効な技術がないため、不可欠用途使用申請を行い2006年はクリ用として約7トンの使用が許可された。しかし、臭化メチルの不可欠用途使用の許可が今後も認められるかは不明であり、代替殺虫技術の開発が急務である。

[成果の内容・特徴]

1. クリ 70kg（品種：筑波）を一度に処理できる大型高圧炭酸ガス処理装置を製作し（図1）、温度 25℃、圧力 3MPa の条件で 30 分処理後、内部の炭酸ガスを 10 分かけて放出するとクリシギゾウムシをほぼ完全に殺虫することができる（図2）。この殺虫率は従来の臭化メチルくん蒸の効果と同程度である。高圧炭酸ガス処理装置は、3MPa に耐える容器が必要であるが、装置の構造は簡単である。
2. 複数年にわたり複数の地域からクリを採取し、同様の条件で殺虫試験を行ったところ、十分な殺虫効果が確認された。さらに寒冷地での効果をみるために、10℃の低温で処理したが殺虫効果は維持された（表1）。
3. 本成果をもとに 2007 年 7 月、クリシギゾウムシ殺虫を目的としたくん蒸剤として、高圧炭酸ガス処理が農薬登録された（登録番号：18194 号・農薬名：エキカ炭酸ガス）。現在、唯一の臭化メチル代替の農薬である。
4. 1回の処理は約 1 時間であり、臭化メチルの2～3時間のくん蒸処理に比べると短時間である。

[成果の活用面・留意点]

1. クリ果実を処理する場合はガスを瞬時に放出するとクリが割れることから、10分程度かけてガスを徐々に放出することが重要である。
2. ドイツでは、高圧炭酸ガスによる大規模な殺虫装置（直径2m、長さ約20mの円筒形耐圧容器）が実用化され、薬用茶（ハーブティー）の殺虫に使われている。その処理条件は2MPaで2時間である。装置導入コストが高くとも、付加価値の高い素材で実用化されている。
3. 高圧炭酸ガスは残留性がなく、農薬のポジティブリスト制度の対象外物質であり、有機JAS認定制度においても使用が認められている。
4. 放出した炭酸ガスは回収し再利用するシステムを導入することで、環境に配慮したシステムとすることが可能である。
5. 高圧炭酸ガス処理によるクリ成分への影響は認められない。
6. クリシギゾウムシの殺虫技術には、「温湯処理」や「冷蔵処理」が開発されているが、カビの発生や長い処理時間に問題がある。

[具体的データ]



図1 大型高圧炭酸ガス処理装置（外径40cm・長さ155cm）とクリシギゾウムシ幼虫によるクリ被害



図2 クリシギゾウムシの殺虫処理手順

[その他]

研究課題名：流通農産物・食品の有害生物の制御技術の開発

課題ID：323-e

予算区分：特別研究費

研究期間：2007～2008年度

研究担当者：宮ノ下明大、今村太郎

発表論文等：1)宮ノ下、今村（2006）食糧、44：59-72

2)宮ノ下（2007）食総研ニュース、No.19：4-6.

[成果情報名] 無機元素組成による黒大豆「丹波黒」の原産国判別

[要 約] 日本産と中国産の黒大豆「丹波黒」100粒中の24元素を測定し、そこから選択した5元素で構築した判別モデルは、未知試料的的中率が96%であり、「黒大豆（丹波黒）の原産国判別マニュアル」として公開した。また、一粒判別法として、選択した3元素とKの濃度比による判別モデルを構築した。その未知試料的的中率は91%であった。

[キーワード] 産地判別、無機元素、丹波黒、マニュアル、一粒

[担 当] 食総研・食品分析研究領域・分析ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8059

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 行政・普及

[背景・ねらい]

食品の表示、特に原産国表示に対する一般消費者の関心は非常に高い。2000年からJAS法により生鮮食品の産地表示が義務づけられているが、輸入品を高価な日本産とする偽装表示が後を絶たない。丹波・篠山地方（兵庫県と京都府）の地域特産品である黒大豆品種「丹波黒」も、中国で栽培されたものが日本へ輸入されている。また、中国産と日本産の「丹波黒」大豆粒を混合し、日本産と表示する産地偽装も懸念される。そこで、長ネギなどで実用化され、迅速に結果が得られる、無機元素組成を基に統計解析で産地を判別する技術を活用し、①丹波黒大豆100粒による日本産と中国産の判別、②日本産と中国産の混合による産地偽装表示を鑑定するための一粒での判別技術を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. 国産、中国産計66点の黒大豆「丹波黒」約100粒を酸分解し、ppm～pptレベルの元素分析が可能なICP-AES(誘導結合プラズマ発光分析装置)及びICP-MS(誘導結合プラズマ質量分析計)により24元素を測定した。得られたデータ(66点×24元素濃度)を基に、後進ステップワイズ法により選択した5元素(Al, Ba, Ca, K, Ni)により、全66点の国産、中国産を分類する線形判別モデルⅠを構築した(表1、図1)。そのモデルによる新たな未知試料的的中率は96%であった(表2)。
2. 一粒判定を目的として、100粒による測定データを基に、各元素とKとの濃度比を使い、後進ステップワイズ法により選択した6元素(Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni /K)により、線形判別モデルⅡ、またICP-MS測定元素(15元素)から選択した3元素(Cd, Cs, V /K)により、線形判別モデルⅢを構築した。(表1、図2)。
3. 判別モデル構築用試料と新たな収集試料計97点から一粒ずつ取り、検証用試料とした。それらを測定した結果、判別モデルⅡによる的中率は、判別モデル構築用試料から取った検証用試料では高かったが新たな未知試料では低かった。判別率の低下には粒間の元素濃度の変動が大きく影響することが判明したので、変動が小さい微量元素から判別元素を選抜し、判別モデルⅢを構築した。このモデルによる検証の結果、新たな未知試料では91%と、モデルⅡよりの中率が大きく向上した(表2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 100粒による判別モデルⅠは、農林水産消費安全技術センターの検査業務で使用するマニュアルとなり、同センターのweb siteで公開されている。
2. 一粒判別モデルでの判別により、市販の黒大豆「丹波黒」の産地偽装表示だけでなく、中国産と日本産の黒大豆「丹波黒」を混合し日本産と表示する偽装も監視できる。
3. 地域振興のため、種々の地域特産農産物が注目されているが、競合する輸入品との差別化を図れる偽装表示防止技術として、農産物の科学的な産地鑑定法が無機元素組成に基づくことで比較的容易に開発できる。

[具体的データ]

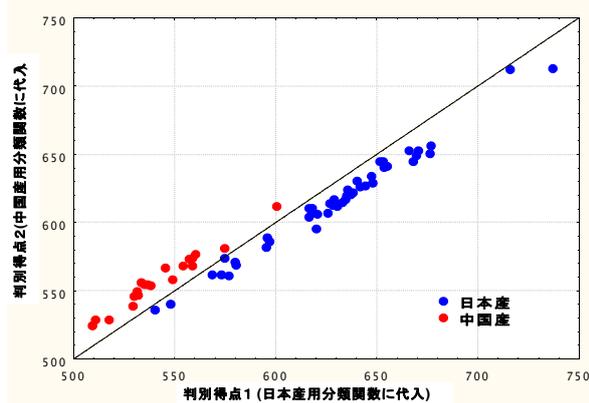


図1 判別モデルⅠ（100粒）による日本産及び中国産丹波黒の判別 5元素（Al, Ba, Ca, K, Ni）による判別得点プロット

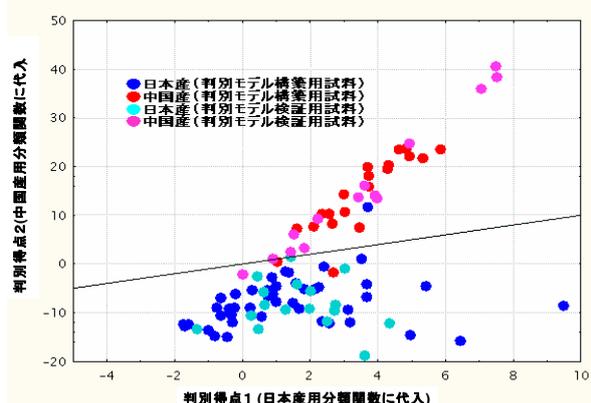


図2 判別モデルⅢ（一粒）による日本産及び中国産丹波黒の判別 3元素（Cd, Cs, V）のKに対する濃度比による判別得点プロット

表1 線形判別モデルの係数と定数

元素	判別モデルⅠ（100粒判別用分類関数）		判別モデルⅡ	判別モデルⅢ
	日本産用	中国産用	一粒判別用(元素/K)	
Al	-1.58	-0.485	-	-
Ba	1.23×10^1	7.89	1.17×10^5	-
Ca	-3.51×10^{-2}	-1.48×10^{-2}	-9.16×10^2	-
K	6.36×10^{-2}	5.77×10^{-2}	-	-
Ni	-6.36	-4.13	-5.05×10^4	-
Mn	-	-	3.23×10^4	-
Nd	-	-	-4.45×10^7	-
W	-	-	2.17×10^7	-
Cd	-	-	-	6.93×10^5
Cs	-	-	-	-2.02×10^6
V	-	-	-	-1.03×10^7
定数	-6.31×10^2	-5.57×10^2	4.02×10^1	1.09×10^1

モデルⅠでは、未知試料の元素濃度を代入し、値の大きい方を産地とする
 モデルⅡ・Ⅲでは、濃度比を代入し、正值は日本産、負値は中国産と判別

表2 線形判別モデルの判別の中率

検証用試料		判別モデルⅠ	判別モデルⅡ	判別モデルⅢ
判別モデル構築 用試料から取得	国産	100%(45/45)	93%(41/44)	98%(43/44)
	中国産	100%(21/21)	90%(19/21)	90%(19/21)
	総計	100%(66/66)	92%(60/65)	95%(62/65)
新たな未知試料	国産	100%(12/12)	65%(11/17)	94%(16/17)
	中国産	92%(11/12)	67%(10/15)	87%(13/15)
	総計	96%(23/24)	66%(21/32)	91%(29/32)

[その他]

研究課題名：流通・消費段階における情報活用技術及び品質保証技術の開発

課題ID：324-b

予算区分：交付金

研究期間：2004～2005年度

研究担当者：法邑雄司、鈴木忠直、小阪英樹、堀田博、安井明美

発表論文等：1)法邑ら(2006)食科工、53(12):619-626

2)法邑ら(2005)日作紀、74(1):36-40

3)法邑(2007)日本醸造協会誌、102(10):737-742

- [成果情報名]** 精米粉末中カドミウムおよび主要ミネラルの分析に関する技能試験の提供
- [要約]** 食総研では、各試験室で使用している分析法の点検等に役立ててもらうため、精米中のカドミウムおよび主要ミネラル分析を対象とした技能試験の提供を開始している。
- [キーワード]** 精米、カドミウム、主要ミネラル、技能試験、IUPAC/ISO/AOAC ハーモナイズドプロトコル
- [担当]** 食総研・食品分析研究領域・品質情報解析ユニット
- [代表連絡先]** 電話 029-838-8057
- [区分]** 食品
- [分類]** 行政・普及
-

[背景・ねらい]

技能試験は、分析法の点検等に活用してもらうことを目的として、実施者が分析対象の試料を参加試験室に配付し、各試験室から提出された報告値をデータ解析して試験結果報告書を返送するものである。試験室の技能試験への参加は、試験所認定（ISO/IEC 17025）や食品衛生法上の食品検査機関の登録の必須条件ともなっている。しかし、食品分析の技能試験はほとんどが海外から提供されているため、おり、国内の試験室では、分析対象としている食品および成分の技能試験への参加が難しいが難しいしにくい状況がある。食品として国内で関心の高い米を選択し、行政的な低減施策が行われているカドミウム（Cd）と、成分表示等の関連で分析機会の多い主要ミネラルを対象成分とした分析技術の技能試験を食総研から提供する。

[成果の内容・特徴]

1. 2006年度と2007年度に食総研から提供した技能試験では、2006年度には(独)産業技術総合研究所が製造した候補標準物質を、2007年度には食総研の製造による精米粉末試料を配付布している（図1）。
2. 精米中Cdのコーデックス基準値（0.4mg/kg・fw）をもとに、分析法の点検にとって適当なCd含量の米を入手し、均質な精米粉末試料を調製している。2006年度および2007年度の試料ともに、試薬のCdの添加は行っていない。
3. IUPAC/ISO/AOACの分析化学試験室の技能試験に関する国際ハーモナイズドプロトコル（2006）にしたがって、試料の均質性を確認した後（2007年度食総研実施）、試料を参加試験室に配付する。し、試験室から提出されたの報告値のデータ解析（表1、図2）を行い、参加者への試験結果報告書を作成し、参加者へ報告している。
4. 2006年度は参加59試験室のうち参加があり、57試験室がから分析結果をの報告し、2007年度は参加48試験室のうち47試験室が分析結果を報告しているを得てデータ解析を行い（表1、図2）、参加者への試験結果報告書を作成した。

[成果の活用面・留意点]

1. 報告書にはすべての参加試験室の試験結果が含まれるが、それぞれの試験室が特定されないようコード番号で識別されている。参加試験室は、自己の試験室にのみ知らされるコード番号によって試験結果を判断することができる。
2. 技能試験の参加により、使用している分析法の自己点検ができる。zスコアの絶対値が2を超えている場合は、分析法に問題がないかの検討が必要である。
3. 技能試験への参加が、上述の試験所認定や食品衛生法上の検査機関登録には、技能試験への参加がの必須条件であるほか、2年以内の技能試験参加の有無の報告が、コーデックス委員会、農林水産省に危害要因の分析データを提出する場合においても、2年以内の技能試験参加の有無の報告が必要となっている。分析試験室は、各自の分析目的に適合した技能試験への定期的な参加が望まれる。
4. 技能試験の運営に関するJIS Q 0043-1:1998（ISO Guide 43-1：1997の対応規格）の要求事項に従った品質システムを構築することが食総研の今後の検討課題である。

[具体的データ]



2006年度試料 約20g

Cd=0.178 mg/kg·fw (産総研製造、候補標準物質)



2007年度試料 約20g

Cd=0.384 mg/kg·fw (食総研製造)

図1 配付試料

表1 精米粉末の候補標準物質を用いた2006年度技能試験結果の要約

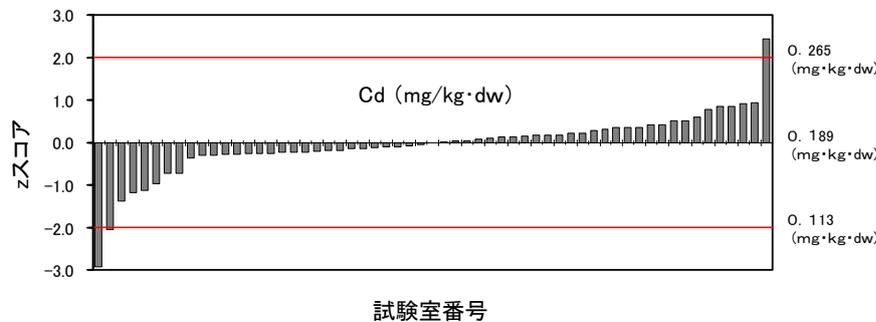
分析対象成分	参加試験室数	外れ値除去後の有効データ数	付与された値 (mg/kg·fw)	zスコア ≤2の試験室数	zスコア ≤2の率(%)	zスコア >3の試験室数
カドミウム(Cd)	59	58	0.178	56	95	0
ナトリウム(Na)	20	14	5.81	6	30	13
カリウム(K)	24	21	1300	19	79	3
マグネシウム(Mg)	29	25	504	22	76	6
カルシウム(Ca)	25	18	61.0	17	68	7
リン(P)	20	18	1630	17	85	2
鉄(Fe)	25	23	4.94	22	88	2
亜鉛(Zn)	36	32	19.3	29	81	6
銅(Cu)	34	30	1.78	28	82	4
マンガン(Mn)	30	30	8.24	29	97	1

注1) カドミウム及び水分の報告は必須とし、他のミネラルは任意とした。

注2) 赤及びグレーの行の成分は報告値のばらつきが大きくて、IUPAC/ISO/AOACの技能試験に関する国際ハーモナイズドプロトコルの手順で付与された値を決定できなかったため参考値。

注3) $|z| \leq 2$ のとき測定値は受け入れ可能、 $2 < |z| \leq 3$ のとき測定値は疑わしい、 $|z| > 3$ のとき測定値は検討が必要と判定する。

注4) 精米粉末の候補標準物質は、(独)産業技術総合研究所が平成18年度中小企業産業術調査等委託費「食品分析精度管理用標準物質の研究開発」によって製造した。



zスコアは、標準正規分布の確率変数。-2~+2の範囲内の値を95%の確率とする。

$$z = \frac{x - \hat{X}}{s_p}$$

x : 試験室の分析値

\hat{X} : 付与された値

s_p : Horwitzの式に

付与された値を

代入して求めた

室間再現標準偏差

図2 精米粉末中の乾物重当たりのカドミウムのzスコアの分布

[その他]

研究課題名 : 外部精度管理における試料調製方法等の開発

課題 ID : 321-b

予算区分 : 食品プロ

研究期間 : 2006~2007年度

研究担当者 : 進藤久美子、塚越芳樹、内藤成弘、稲垣和三 (産総研)、鎗田孝 (産総研)、成川知弘 (産総研)、千葉 光一 (産総研)、安井明美

発表論文等 : 進藤ら (2007) 精米粉末中のカドミウム及び必須元素のプロフィシエンシィテスト報告書

[成果情報名] 食品・食事の血糖応答性の簡易評価法 (GR 法) の開発

[要 約] 食品・食事の食後血糖応答性を予測し、血糖上昇の穏やかな食品・食事の開発・提供に繋げるため、国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) と協力して開発した、ヒトの物理的・生化学的消化過程を模したインビトロ評価法 (GR 法) である。

[キーワード] GR 法、血糖応答性、インビトロ評価法、グリセミックインデックス (GI)

[担 当] 食総研・食品素材科学研究領域・糖質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8053

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 研究・普及

[背景・ねらい]

食後血糖値の急激な上昇は種々の生活習慣病の進行を促すことが示唆されており、血糖値の上昇を穏やかにする食品や食事の摂取が勧められている。国際標準化機構 (ISO) では、ヒト試験による食品の血糖応答性 (グリセミックインデックス、GI) 測定技術の標準化に向けて国際的検討を行っている。しかし、ヒト試験による GI 測定は、個人差等の測定誤差が大きく、時間と経費がかかる上に、GI 測定のための被験者の活動制約、ブドウ糖液の大量摂取、採血等がストレスとなる。また、我が国の食品産業が消費者の健康維持に貢献する食品を開発・提供するための、簡便・迅速かつ信頼性の高い食後血糖応答予測手法の開発が強く望まれている。

そこで、本研究では、特定非営利活動法人国際生命科学研究機構 (ILSI Japan) と協力し、物理的破砕および生化学的消化プロセスをモデル化して組み合わせた食後血糖応答予測手法 (GR (Glucose Releasing Rate) 法) の開発を行う。

[成果の内容・特徴]

1. ヒト試験による GI 法は、物理的破砕および生化学的消化の他に、ホルモンの影響を中心とした生理学的因子を反映する。しかしながら、生理学的因子は個人差や体調差などによる変動要因ともなりうる。そこで GR 法は、食品の破砕特性と (図 1 に示すような) 消化酵素の作用特性のみを反映させた評価系とする。また、GR 法を簡便・迅速かつ安価な測定系とするため、肉挽き機 (ミンサー) やプラスチック容器などの汎用性の高い器具を使用している。
2. 物理的破砕法としては、ミンサー処理を咀嚼に対応させ、本工程およびその前後の工程における攪拌により、食塊を均一化させる。また、生化学的消化工程としては、胃内消化を模したペプシン(0.3%)処理、腸内アミラーゼ消化を模したパンクレアチン(0.3%)処理(0.5%インベルターゼを含む)、そして腸管の二糖分解酵素系による消化を模したラット小腸アセトン粉末(1.5%)による単糖への分解を組み入れている (図 2, 3)。本法により測定した食品の GR 値を図 4 に示す。
3. 米飯、スパゲティなど 8 種類の食品 (試料) の GR 値と GI 値の間には $R^2=0.74$ の相関性が認められる。本法は、GI 法では対応しにくい食事メニューの値を測定することが可能である。

[成果の活用面・留意点]

1. 食事は多様な形状 (形態) ・消化性をもつ食品素材で構成されるため、GR 法の適用性については、新たに個別検討・最適化が必要となるケースも考えられる。また、試験室間試験等を通じ、本法の汎用性を評価する必要がある。
2. 健全な食生活を営む上では、栄養バランスと適正なエネルギー摂取が基本である。食品は総合的に評価されるべきであり、急激な血糖上昇のみが抑制されればよいというものではない。GR 値を普及させる際には、その値が一人歩きしないよう、両者を考慮した上で、健康への効果をアピールする必要がある。

[具体的データ]

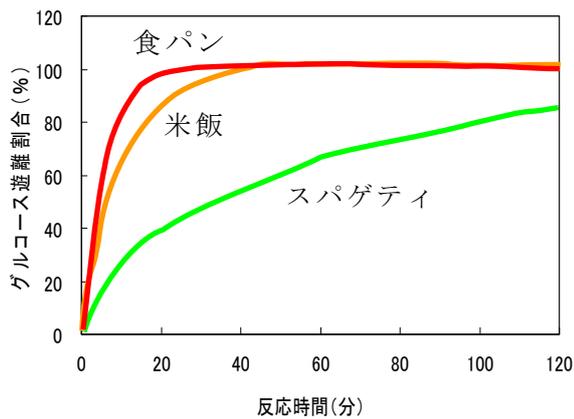


図1 デンプン系食品のグルコース遊離割合の経時変化(RAG法: Rapidly available glucose測定法)

サンプル処理

1. 切断・前攪拌: 適宜3cm以下に切断し、必要に応じ水を添加し、タッパーウェア内で攪拌。
2. 破碎: ミンサーで処理。
3. 後攪拌: プラスチックバッグ内で攪拌。

酵素反応

1. 破碎物をプラスチック容器に10g分注。
2. 恒温水槽中、37℃で30分間ペプシン消化。
3. 中和後、パンクレアチン溶液を添加、37℃振とう。
4. 反応開始20分後と終夜反応(12時間以上)後にサンプリング。
5. サンプリングした画分に対してラット小腸抽出液を加え、37℃で40分間、単糖遊離反応。
6. グルコース濃度を測定(G₂₀、G_{O/N})。

GR算出法

$$GR = G_{20} / G_{O/N} \times 100(\%)$$

図2 GR値測定法の概要

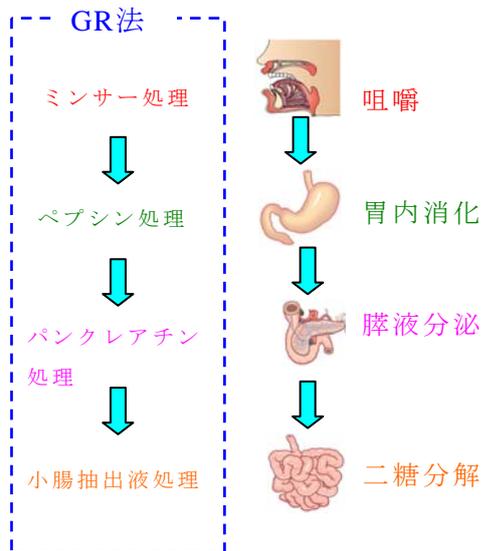


図3 消化過程とGR法における各工程との対応

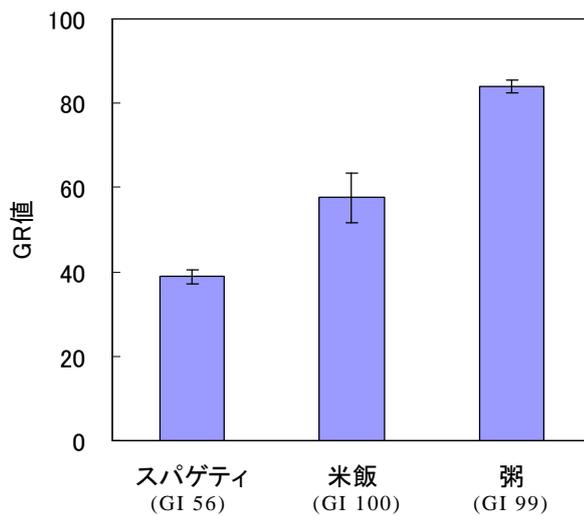


図4 食品に対するGR値の測定例 参考のGI値は杉山らの値(米飯を100と定義)

[その他]

研究課題名: 血糖値上昇に関連するインビトロ評価法の開発と利用

課題 ID: 312-e

予算区分: 交付金

研究期間: 2005~2007年度

研究担当者: 與座宏一、熊井英志(明治乳業、ILSI Japan)、徳安健、松木順子、佐々木朋子、大江洋正、津志田藤二郎

発表論文等: 熊井ら(2007)ジャパンプードサイエンス、46(7):33-37

[成果情報名] エコール生産に影響を与えるヒト由来腸内細菌の発見

[要約] 健常人のヒトの糞便からジヒドロダイゼイン高生産性の新菌種 TM-40 株を発見した。TM-40 株は、ヒト糞便フローラのエコール生産性の向上に寄与した。本菌は、フラボノイド類代謝性研究に関して貴重な研究材料として活用し得る。

[キーワード] 機能性、エコール、腸内細菌、糞便フローラ、ジヒドロダイゼイン

[担当] 食総研・食品機能研究領域・機能生理評価ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8089

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

イソフラボン類の摂取量及び体内動態に関して安全性と機能性の両面から社会的な関心が高まりつつある。主要なイソフラボンであるダイゼインからは、腸内フローラ(腸内細菌叢)の代謝によって、ダイゼインよりもエストロゲン活性が強いエコール(equol)が生成する。イソフラボン類の吸収・代謝制御には、腸内フローラのイソフラボン類代謝制御が重要である。そこで、イソフラボン類代謝性ヒト腸内細菌のプロファイルを獲得し、*in vitro* でのヒト腸内フローラのイソフラボン類代謝性を解明する。

[成果の内容・特徴]

1. 健常人のヒトの糞便からイソフラボン類代謝性ヒト腸内細菌の単離・同定を試み、ジヒドロダイゼイン高生産性の新菌種 TM-40 株を発見した。TM-40 株は、ダイゼインとダイゼインの配糖体であるダイジンのいずれからでもジヒドロダイゼインを生産可能であった(表1)。しかし、TM-40 株はエコールを生産しなかった。TM-40 株の 16S rRNA ホモロジーの解析結果から、この細菌は、*Coprobacillus catenaformis* と 93%の相同性がある新菌種である可能性が見出された(図1)。
2. ヒト糞便希釈液を用いた *in vitro* でのイソフラボン類代謝性試験で、TM-40 株のエコール生産性に及ぼす影響を検討したところ、TM-40 株をジヒドロダイゼイン生産能とエコール生産能を有するヒト糞便に添加することによりエコール生産性が向上した(図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. ヒトの糞便に、従来全く見出されなかった種類のジヒドロダイゼイン生産菌が存在することを明らかにした。
2. TM-40 株は、16S rRNA ホモロジーの解析結果から、*Coprobacillus catenaformis* と 93%の相同性を有しているが、新菌種である可能性がある。本研究結果は、ヒトの腸内に未だ同定されていないイソフラボン類代謝菌の存在を示唆するものである。
3. 今回発見された腸内細菌 TM-40 株は、健常人の糞便から検出され、イソフラボン代謝性が *in vitro* において非常に高い活性を有していたことから、健常人のフラボノイド代謝性研究に関して、貴重な研究材料として活用し得る。

[具体的データ] 表 1. TM-40 株によるダイゼインとダイジンの代謝
 ダイゼインの初発濃度：391(μmol/L) ダイジンの初発濃度 478(μmol/L)

	ダイゼイン (μmol/L)	ジヒドロダイゼイン (μmol/L)
TM-40株とダイゼインとの嫌氣的インキュベーション	127	239
TM-40株とダイジンとの嫌氣的インキュベーション	17	439

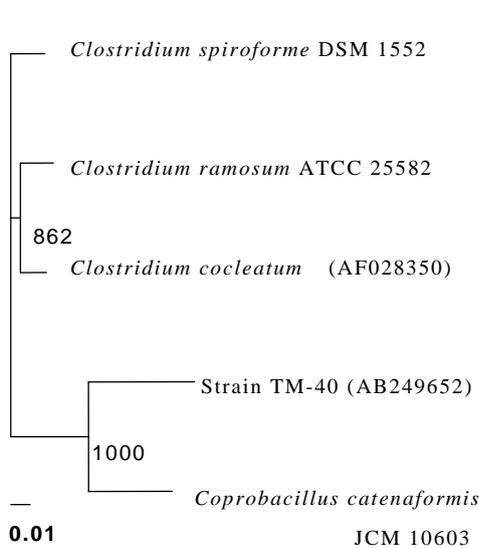


図 1 . TM40 株の系統樹

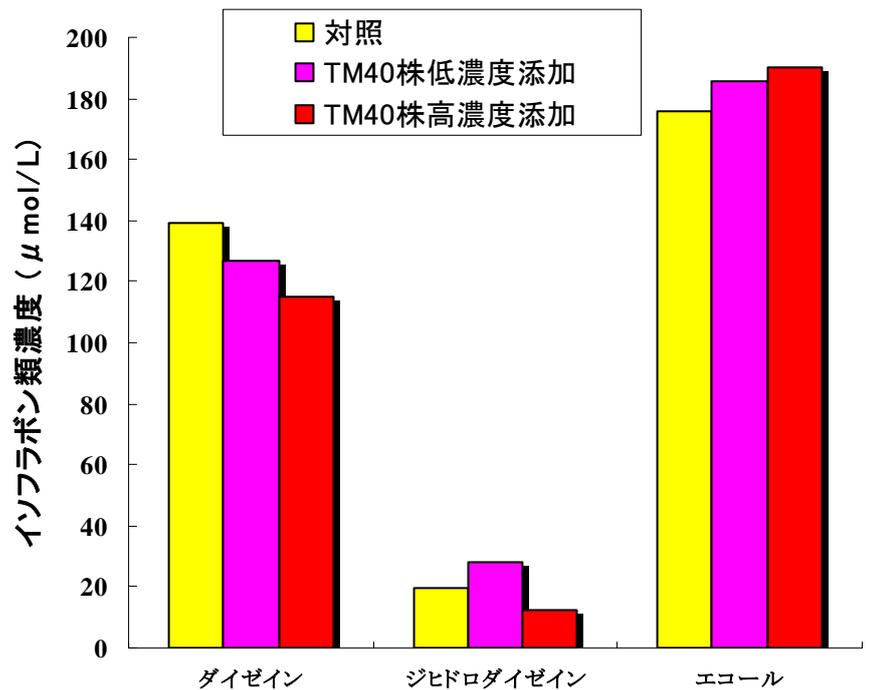


図 2 . エコール生産性ヒト糞便に対する TM-40 株の添加効果

[その他]

研究課題名：イソフラボン類を最適に摂取するための腸内フローラの制御法の開発

課題 ID：312-e

予算区分：安信プロ

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：田村 基

発表論文等：

- 1) Tamura M, Saitoh H, Tsushida T, et al. (2006) Microb. Ecol. Health Dis. 18(1):42-46
- 2) Tamura M, Tsushida T, Shinohara K, (2007) Anaerobe 13(1):32-35
- 3) Tamura M, Nakagawa H, Ohnishi-Kameyama M, et al. (2007) Food Sci. Technol. Res. 13(2):129-132
- 4) Tamura M, Nakagawa H, Tsushida T, et al. (2007) J. Food Sci. 72(9):648-651

[成果情報名] 固形状食品を大きく変形させた時の物性がヒトの咀嚼挙動^{そしやく}を変化させる

[要約] 食品の物性値とヒトの計測により得た咀嚼パラメータとの関係を体系化した。破壊特性に関わらず、極めて大きく圧縮変形させた時の力学特性が咀嚼初期の、付着性が咀嚼中期から後期の咀嚼挙動に最も影響することがわかった。

[キーワード] 固形状食品、物性値、咀嚼測定、力学測定、咀嚼パラメータ

[担当] 食総研・食品機能研究領域・食品物性ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8031

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

機器測定によって得られる食品の物性値と、ヒトの計測により得られる咀嚼パラメータとの関係の体系化をめざす。まず、汎用的に行われている物性測定から独立した代表的物性値を抽出する。咀嚼計測では、やはり汎用的に行われている閉口筋の筋電位及び切歯点における下顎運動を測定する。両者の相関関係を調べ、咀嚼挙動に影響する物性値を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 広い物性範囲から8種の固形状食品（乾パン、こんにゃく、ドライソーセージ、ソフトキャンデー、生大根、たくあん、茹で人参、生人参）を選び、一口大の15×15×10mmに成形した。
2. 平板圧縮試験やテクスチャー解析などにより、できるだけ多数の物性パラメータを得た。これらから有意に相関しない9群（①小さく圧縮変形したときの物性、②中くらい圧縮変形したときの物性、③大きく圧縮変形したときの物性、④極めて大きく圧縮したときの物性、⑤破壊に要する力、⑥ばらつきにくさ、⑦付着しやすさ、⑧密度、⑨水分量）が得られた。
3. 8食品の9群を代表する物性値はどれも類似せず（表1）、この8食品は広範囲の食品を代表するモデルとして適当であった。
4. 若年被験者11名に図1のような装具をつけて、閉口時に働く咬筋と側頭筋の筋電位及び切歯点における下顎運動を測定した（図2）。嚙下までの全咀嚼過程に関するパラメータに加えて、咀嚼中にテクスチャーが変化することを考慮して咀嚼初・中・後期における咀嚼パラメータも、できるだけ多数取得した。
5. 表1に示す物性値の中で、90%圧縮歪時の応力が初期の、付着性が咀嚼中・後期の咀嚼挙動に最も影響した。
6. 機器測定における破壊変形と対応する咀嚼パラメータは測定した約100個の中にはなかった。また、機器測定での破壊時の力と有意に相関する咀嚼パラメータも咀嚼1回目の咀嚼周期のみであった。圧縮歪が50%以下における食品の物性値は、どの咀嚼パラメータとも有意な相関関係が認められなかった。

[成果の活用面・留意点]

1. 独立性の高い食品を選定し物性値により特徴づけたので、似た物性値を示す異なる食品を用いても、同等の結果が得られることが予測される。
2. 通常の機器による食品物性の評価では、破壊特性や弾性率等の破壊前の物性を得ることが多い。本結果から、このような一般的な物性測定では、咀嚼挙動と対応するパラメータは得にくいことが示唆された。

[具体的データ]

表 1. 選定した 8 食品の独立した 9 物性パラメータ値

パラメータ	乾パン	こんにゃく	ドライソー セージ	ソフトキャン デー	生大根	たくあん	茹で人参	生人参
① 10%圧縮歪時の応力 (MPa)	0.088c	0.002a	0.091c	0.029ab	0.224d	0.005a	0.041b	0.526e
② 50%圧縮歪時の応力 (MPa)	0.662d	0.073ab	0.628d	0.211c	0.927f	0.178bc	0.058a	0.807e
③ 70%圧縮歪時の応力 (MPa)	1.478d	0.250ab	1.002cd	0.616abc	0.660bc	3.486e	0.085a	1.336d
④ 90%圧縮歪時の応力 (MPa)	> 5	0.577a	2.827b	3.819c	2.468b	2.945b	0.339a	4.890d
⑤ 破壊応力 (MPa)	0.095a	0.653b	1.023c	> 5.5	0.989c	5.453e	0.109a	1.863d
⑥ 凝集性 (-)	0.040a	0.496e	0.627f	0.291d	0.159c	0.601f	0.106b	0.145bc
⑦ 付着性 (J/m ³)	0a	0a	286b	5046c	0a	0a	0a	0a
⑧ 密度 (g/cm ³)	0.37a	1.20e	1.11d	1.23e	0.92b	1.32f	1.12d	1.04c
⑨ 水分量 (g/100g)	9.1	97.3	25.9	8.3	94.5	88.8	89.4	90.4

同一行の異なるアルファベットのついた値はTukeyの多重比較で有意に異なる(p<0.05) ことを示す。
> 5、> 5.5は装置の荷重制限以上のため測定できず。

図 1. 咀嚼測定のためのセッティング

筋電位用に表面電極を左右の咬筋(緑矢印)、及び側頭筋(橙矢印)に装着する。筋電位は生体用アンプで増幅し、噛みしめる時の筋活動の強さを反映する信号を得る。さらに下顎運動測定では、頭部の動きをモニターするため額部に左中右の3個のLED(赤矢印)及び下側前歯に装着したプローブ(青矢印)に、額部と同様3個のLEDのついた弓状の装具を取りつける。LEDの位置は被験者の前面から上下2個のCCDカメラで撮影し、頭蓋に対する下顎の三次元的運動を得る。

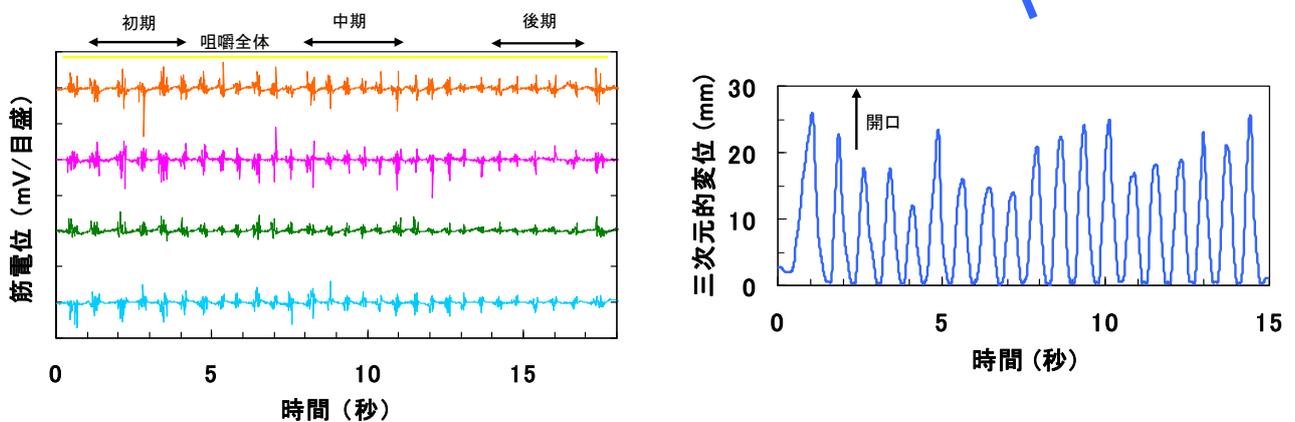
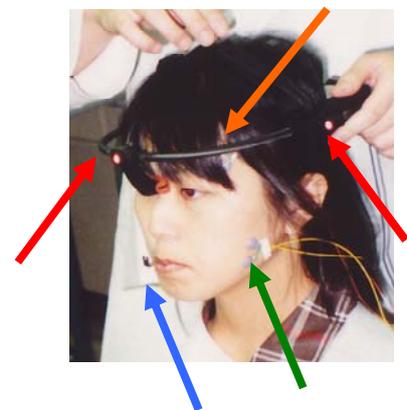


図 2. 筋電位(左)と下顎運動(右)の測定例

筋電図は上から順に、左右の側頭筋、左右の咬筋からの筋電位を時間に対してプロットしたもの。咀嚼開始から嚥下まで(黄線)と、咀嚼初期、中期、後期のパラメータを取得した。下顎運動は下前歯の三次元的位置の経時変化を示した。

[その他]

研究課題名：高性能機器及び生体情報等を活用した食品評価技術の開発

課題 ID：313-f

予算区分：農水省委託(安信プロ)

研究期間：2006～2007年度

研究担当者：神山かおる、早川文代

発表論文等：神山、早川(2007)日本咀嚼学会雑誌、17(1):35-44

[成果情報名] フモニシン含有コメ標準物質作成とコメ中フモニシン分析の前処理法の開発

[要約] フモニシンを均一に含むコメ標準物質を作成し、それを用いて前処理法を検討したところ、浸漬抽出が有効であった。開発した前処理法を用いて、2種の検出法で添加回収試験を行った結果、良好な成績を得た。

[キーワード] フモニシン、コメ、標準物質、浸漬抽出、シングルラボバリデーション(SLV)

[担当] 食総研・食品安全研究領域・化学ハザードユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8069

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

国産穀類でフザリウム属菌が産生するかび毒の一種であるフモニシン汚染が問題となっている。しかしながら国産穀類、特にコメに適用できる妥当性確認されたフモニシン分析法の報告はない。今回、フモニシンを均一に含むコメ標準物質を作成し、これを用いて分析に必要な試料前処理法を検討した。

[成果の内容・特徴]

1. フモニシン産生菌をコメ培地に接種し、人工汚染かび米を作成し、作成したかび米を、非汚染米と混合・粉砕して、EUにおけるフモニシン基準値(0.2~4.0 mg/kg)の上限と下限に相当する汚染度になるよう調製した。調製試料の均一性が確認され、フモニシンを均一に含むコメ標準物質が作成できた(図1, 表1)。
2. 1. で作成した標準物質を用いて試料処理法を検討したところ、水浸漬抽出が有効であり、抽出用有機溶媒添加前に30分間水浸漬することで、有意に抽出効率が向上した。浸漬時間を30分と3時間の2種類で比較した結果、両者では抽出効率に有意差がなかった(表2)。
3. 2. で開発した前処理法(=抽出用有機溶媒添加前に30分間水浸漬)を用いて、2種の検出法(昨年度開発したHPLC-蛍光法とLC-MS/MS法)で添加回収試験を行った結果、両検出法において良好な成績を得た(表3)。また、1. で作成した標準物質を用いて、研究室内で測定日、分析者を変えて測定を行った結果、良好な中間精度が得られたことより、シングルラボバリデーション(SLV: 単一試験所による妥当性確認)レベルで妥当性確認したコメ中のフモニシン分析法が確立された。日本各地の玄米試料での添加回収試験でも良好な回収率を得た。

[成果の活用面・留意点]

1. SLVレベルの妥当性確認がなされたコメ中のフモニシン分析法が確立された。本法は、ジャポニカタイプの玄米ならびに白米中のフモニシン含量の調査に利用できる。今後、餅米ならびにインディカタイプの白米について、適用可能性を検討する必要がある。
2. 今回用いた標準物質作成法は、他のかび毒を含む他の標準物質作成にも適用できる。

[具体的データ]

<p>フモニシン産生菌をコメ培地に接種 → 人工汚染かび米 (>100ppm) → オートクレーブ滅菌 → 手動/機器混合により非汚染米と粉碎・混合 → 均一性試験へ</p>
--

図 1. フモニシン含有コメ標準物質作成プロトコール

表 1. 一元配置分散分析による人工汚染かび米中フモニシンB1値の均一性試験
 (高レベル汚染米のフモニシンB1値(mg/kg) ならびに分散分析表)

4.21	4.06							
3.62	3.55							
4.02	4.25							
3.96	4.08	変動要因	変動	自由度	分散	分散比	P-値	F境界値
3.70	4.08	グループ間	0.086429	1	0.086429	1.047649	0.326241	4.747225
4.40	4.23	グループ内	0.989971	12	0.082498			
3.54	4.30	合計	1.0764	13				

P値>0.05より、均一。

表 2. フモニシン含有コメ標準物質中フモニシン値に与える水浸漬時間の影響

浸漬時間	低レベル汚染米 濃度 (mg/kg) (n=3)			高レベル汚染米 濃度 (mg/kg) (n=3)		
	フモニシンB1	フモニシンB2	フモニシンB3	フモニシンB1	フモニシンB2	フモニシンB3
0分	0.33±0.07	0.17±0.04	n.d.	3.8±0.4	2.2±0.3	<LOQ
30分	0.49±0.05*	0.25±0.03	n.d.	6.6±0.2*	3.1±0.2*	0.22±0.04
180分	0.54±0.06*	0.27±0.03	n.d.	7.0±0.3*	3.3±0.2*	0.24±0.04

*同列中の値に有意差がある (P<0.05). n.d.=HPLC-蛍光法で検出限界未満

表 3. 2種の検出法によるコメ中フモニシンの添加回収試験における回収率

添加レベル	回収率 (%) (n=3)					
	HPLC-蛍光法			LC-MSMS法		
	フモニシンB1	フモニシンB2	フモニシンB3	フモニシンB1	フモニシンB2	フモニシンB3
0.5 mg/kg	81.8±3.5	82.5±4.2	79.1±4.8	77.3±3.0	79.4±4.8	75.7±3.6
定量限界	87.2±5.5	85.8±6.1	85.5±7.7	90.2±7.0	87.5±6.3	85.4±7.3

[その他]

研究課題名：国産穀類に含まれるフザリウム属菌産生かび毒の同時検出技術の開発

課題 ID：321-a

予算区分：食品プロ

研究期間：2006～2007年度

研究担当者：久城真代、中川博之、長嶋 等

発表論文等：1) Kushiro M. et al. (2007) *Mycotoxins* 57(2):95-104

2) Kushiro M. et al. (2006) *Curr. Pharm. Anal.* 2:289-297

[成果情報名] カンピロバクター食中毒菌の迅速種同定法の開発

[要約] カンピロバクター属菌の特定遺伝子の多型を利用して遺伝子検査による簡易迅速な種同定法を開発した。従来、本菌の種同定には熟練の技術と時間を要したが、本法により簡易迅速化が期待できる。

[キーワード] カンピロバクター、食中毒菌、PCR-RFLP

[担当] 食総研・食品安全研究領域・食品衛生ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8067

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

カンピロバクター属菌は胃腸炎の原因として世界中で頻発しており、ギランバレー症候群など重篤な後遺症を引き起こす難病との関連性も指摘されている。日本においても、細菌性食中毒の中では発生件数・患者数共にここ最近1位となっている。しかし、カンピロバクター食中毒として代表される *Campylobacter jejuni* 以外の種における環境分布や感染発生頻度の正確な情報は把握できないのが現状である。本菌の疫学調査が必要とされるが、本菌検出には微好気（酸素濃度数%）環境という特別な培養条件が必要であり、熟練の技術を要する。このため、高精度かつ疫学調査へ応用が可能な簡易種同定手法が望まれていた。

本研究では、米国農務省東部研究所との共同により多数の菌株を収集し、各々の特定遺伝子配列を決定し系統樹を作成した。この遺伝子配列を解析したところ、ある制限酵素にて部分配列を処理することで種を同定できることを見いだした。本法により、本菌の同定に必要な労力と時間を大幅に削減でき、疫学調査への応用が期待できる。

[成果の内容・特徴]

1. カンピロバクター属の *gyrB* 遺伝子多型を調べるため、PCR 増幅かつ塩基配列決定のためのプライマーを作成した。
2. 米国農務省東部研究所との共同により多数の菌株を収集し、各々の株の *gyrB* 遺伝子配列を決定し進化系統樹を作成した（図1）。その結果、近縁種に代表されるヘリコバクターなどと大きくクラスターが分かれ、かつ、カンピロバクター属の種間も 16S-rDNA 塩基配列解析による系統樹に比べより明瞭に分離できた。
3. 2.の塩基配列解析情報を基にカンピロバクター属の *gyrB* 遺伝子を共通に増幅できる PCR プライマー群を新たに作成した。
4. PCR 増幅産物の塩基配列解析により、2種の特定の制限酵素を用いた消化で、カンピロバクター属の12種を区別・同定できると推定した。
5. 実際に、増幅産物の制限酵素消化実験で予想通りの切断片パターンが得られ（図2）、PCR-RFLP によるカンピロバクター属の迅速種同定法に活用できることを確認した。

[成果の活用面・留意点]

1. 従来の本菌の種同定には、多数の性状試験を微好気環境下で必要とし多大の労力と時間を要していたが、本開発手法により迅速化・簡略化を図ることが出来る。
2. 今回決定した塩基配列の種々間相同性は最も高いところで90%以下であった。このことから、PCR-RFLP 以外への検査法へ応用が期待できる。
3. カンピロバクターについては主要な食中毒菌である *C. jejuni*、*C. coli* についての疫学情報等が多いが、その他の菌種についてはまだ詳細な情報が把握できていない。本法は、これらの情報収集の簡易化・加速化に利用できる。

[具体的データ]

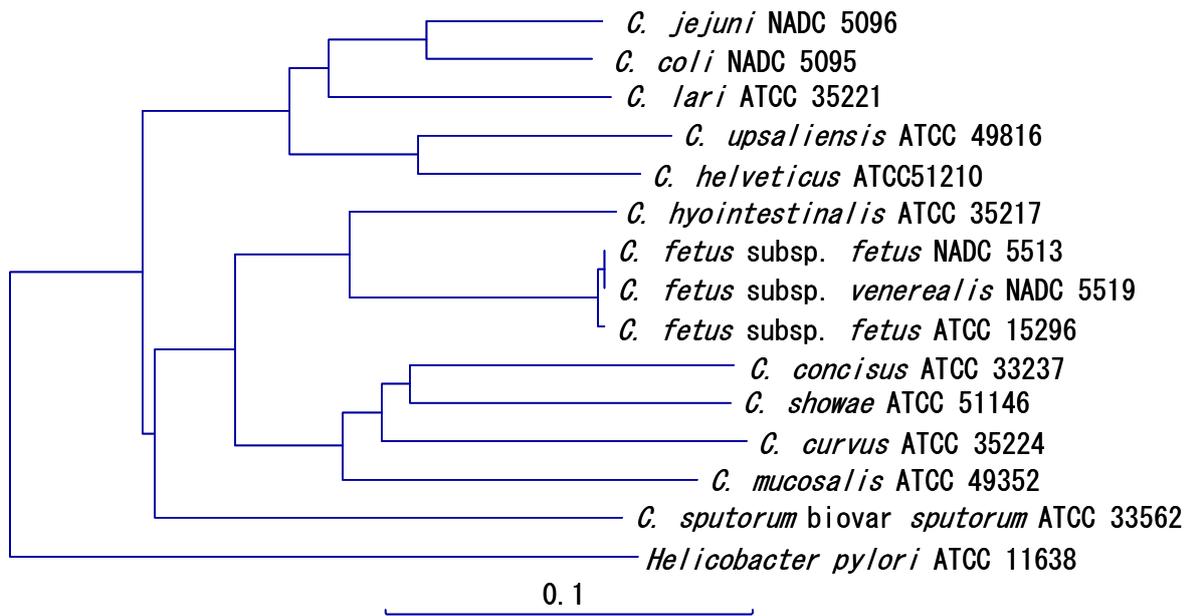


図1. 特定遺伝子 (*gyrB*) 配列 (内、約1kb) から作成したカンピロバクター属菌の進化系統樹 (CLUSTAL Wの解析による)。

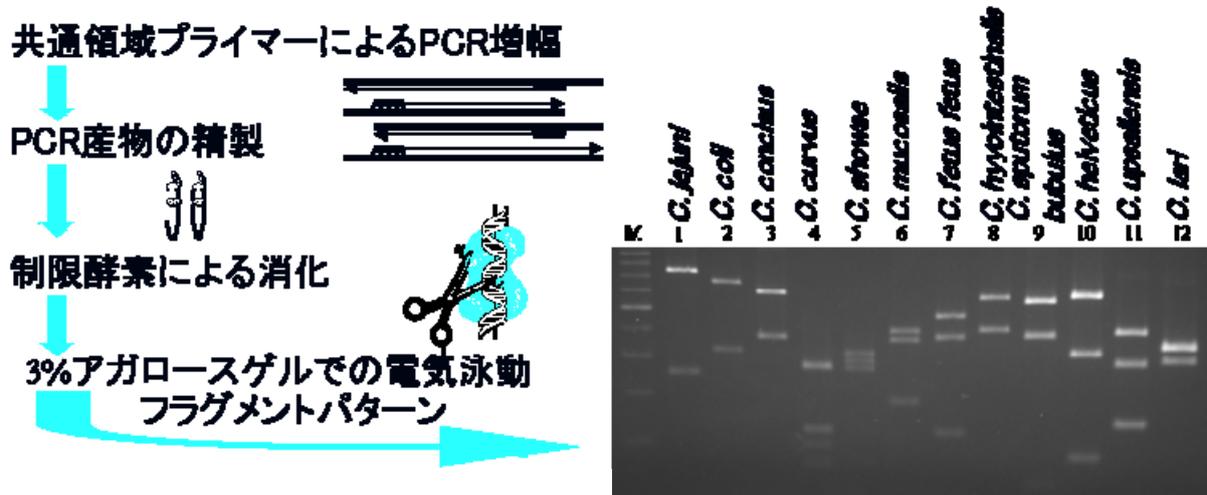


図2. 特定の制限酵素を用いると種ごとのフラグメントパターンが異なることを発見、迅速同定が可能.

[その他]

研究課題名：危害要因の簡易・迅速・高感度検出技術の開発

課題 ID：321-a

予算区分：交付金(一般研究費)

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：川崎晋、川本伸一

[成果情報名] DNAと合成脂質分子から形成される繊維構造

[要約] DNAと合成脂質分子を水中で混ぜるだけで、ナノメートルスケールのらせん状繊維構造が得られた。原子間力顕微鏡による観察の結果、DNAの鎖長によってらせんのピッチが異なる繊維が形成されることを見いだした。

[キーワード] DNA、脂質、ナノファイバー、自己集合

[担当] 食総研・食品分析研究領域・成分解析ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7089

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

ナノテクノロジーでは、生体分子の優れた性質を手本とすることが一つの戦略となっている。例えば、DNAはあらゆる生物に共通した遺伝情報を担う物質であり、その重要な機能や構造は、四種類の核酸塩基が決まった相手とペアを作る（アデニン-チミン、グアニン-シトシン）性質による。また、脂質は細胞膜を形成する物質で、液体中で自然に脂質分子同士が集合するという性質をもつ。DNAと脂質の性質を組み合わせた合成脂質分子を用いて従来に無いナノスケールの構造を造り出し、その機能を探索することを目的とし、今回はDNAと合成脂質分子から形成されたナノ構造体の解析を行った。

[成果の内容・特徴]

1. 長鎖オリゴメチレン鎖の両末端にチミジル酸を連結した化合物 **1** を合成した（図1）。この化合物 **1** と、アデニンのみが10個繋がったオリゴDNA **2**（図1）を水溶液中で混合し **1**、**2** の濃度をそれぞれ $1.8 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 、 $1.8 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ とした。この水溶液を加熱して溶解した後、そのまま室温で放置した（このサンプルを **1+2** と表す）。これを少量（ $< 1 \mu\text{L}$ ）取り、高配向熱分解黒鉛（HOPG）基板上に載せ、原子間力顕微鏡（AFM）により観察した。その結果、**1+2** は高さ 6.4 nm、長さ数 100 nm の繊維構造（ナノファイバー）を形成していることがわかった（図2）。
2. このナノファイバーの縦断面の表面形状を測定した結果、表面に周期的な凹凸構造が観察され、その周期は 11 nm であった（図3 a, b）。CD スペクトル測定の結果から、このファイバーは右巻きのらせん構造を形成していることが示唆され、AFM で得られた凹凸構造は、右巻きらせんのピッチに相当しているものと推察された。同様に、アデニンをそれぞれ 20、30、40 個もつオリゴDNA **3**、**4**、**5**（図1）についても、化合物 **1** と水溶液中で混合・加熱することによりナノファイバー構造を形成することがわかり、**1+5** の場合ではらせん構造を明確に観察することができた（図3 g）。また、断面形状を測定すると、**1+2** の場合と同様に周期的な凹凸構造が観察でき、興味深いことに、そのピッチは **1+3** で 18 nm、**1+4** で 24 nm、**1+5** で 40 nm となり、**1** に加えるオリゴDNAの長に応じて変化することがわかった（図3c~h）。これらのナノファイバーは、オリゴDNA中のアデニンと化合物 **1** 中のチミンがペアをつくりながら分子同士が集合し、形成されたものと推察している。

[成果の活用面・留意点]

1. 顕微鏡でDNAの違い（鎖長、塩基配列など）を画像化する技術は、まだほとんど開発されていない。本結果は、DNAの鎖長の違いをらせん構造体のピッチの違いとして画像化できることから、DNAを顕微鏡で分析するための新たな方法として期待される。
2. 今後は、さまざまな鎖長や塩基配列をもつDNAを用い、その時に得られるナノ構造体との関係を詳しく解析し、顕微鏡技術によるDNA分析への応用をはかる。

[具体的データ]

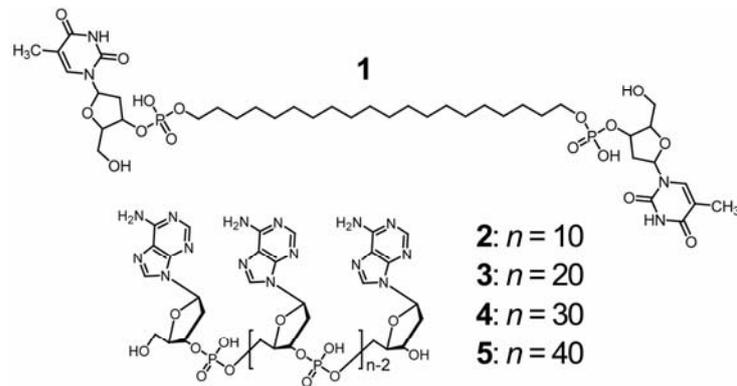


図 1 合成脂質分子 **1** とオリゴアデニル酸 **2-5** の分子構造。

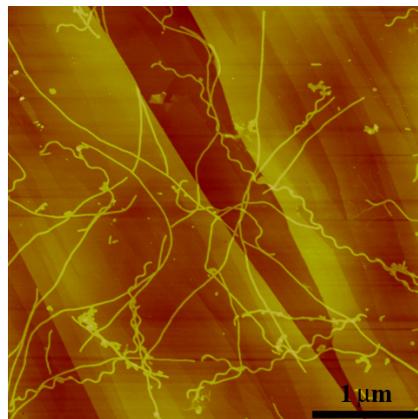


図 2 **1+2** から形成したナノファイバーの AFM 像。

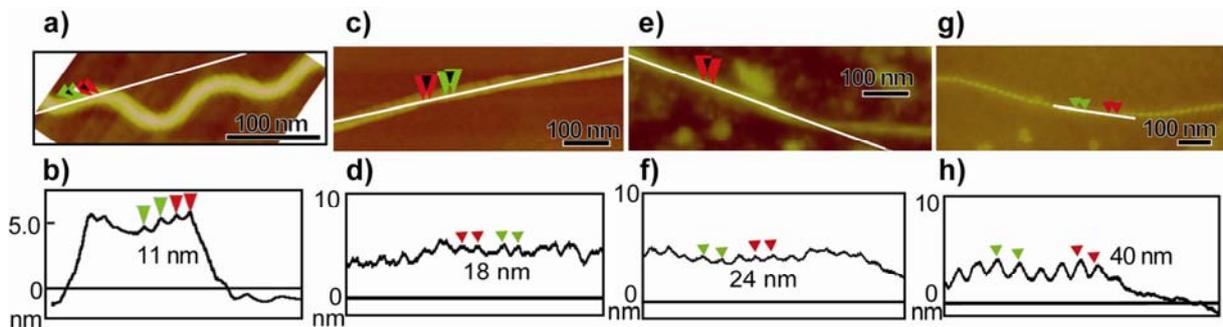


図 3 合成脂質分子 **1** と鎖長の異なるオリゴアデニル酸から得られたナノファイバーの AFM 像（上段）と断面プロファイル（下段）。a, b) **1+2**、c, d) **1+3**、e, f) **1+4**、g, h) **1+5**。

[その他]

研究課題名：ナノファイバー構造を利用した新規分析技術の開発

課題 ID：313-f

予算区分：さきがけ・食品ナノ・科研費

研究期間：2007～2010 年度

研究担当者：岩浦里愛、吉川佳広（産総研）、亀山真由美、清水敏美（産総研）

発表論文等：Iwaura R *et al.* (2007) *Org. Biomol. Chem.* **5**:3450-3455

[成果情報名] 各種飯用米の老化性の評価

[要約] 一般の飯用米に用いる各種品種の糊化粘度特性の評価から、冷やご飯のなりやすさを表す米飯の老化性推定値を求めた。老化性推定値（表層老化度）は、品種による老化性の違いを数値化でき、品質の指標として有望であると考えられた。

[キーワード] 米飯の品質、老化性、食味、業務用途

[担当] 食総研・食品素材科学研究領域・穀類利用ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8045

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

米飯の冷やご飯のなりやすさを表す老化性は、一般に使用する米飯の食味に影響し、また、お弁当やおにぎりなどの加工・業務用途における重要な品質の指標の一つである。従来のお米に関する老化性試験では、評価に労力と時間を必要とするため、簡便かつ短時間での測定で、米飯の品質特性を表す老化性を推定できる評価技術が求められている。

[成果の内容・特徴]

1. 全国の稲育種研究チームの育成米および市場に流通する米を用いて、当研究室で開発した新型 RVA（ライスマスター）（図1）により、精米粉約 3.5g、19 分間の糊化粘度特性の測定から米飯に関する老化性推定値を評価した。
2. 新型 RVA（ライスマスター）の測定から求められる表層老化度（RetroIndex）は、品種により違いがあり、例えば、低アミロース米である「シルキーパール」や「スノーパール」は低く、次いで「ミルキークイーン」であった。他方、一般飯用米の中の表層老化度（RetroIndex）の値にも違いが見られ、「ほしのゆめ」は高く、「コシヒカリ」（北陸農研セおよび作物研）や「ひとめぼれ」は低かった。（図2）
3. 本研究では、米飯の老化性の評価と同時に、米の食味に関連する特性を明らかにする目的から、成分であるタンパク質含量およびアミロース含量、RVA による糊化粘度特性値、テンシプレッサーによる米飯粒の物性値、炊飯食味推定値、味度値等の各種物理・化学特性を評価した。その評価項目の中で、食味の官能評価と正の相関があるとされる米飯粒表層の物性値バランス度-H/H1 は、「コシヒカリ」（北陸農研セ）や「ひとめぼれ」で高かった。（図1）
4. 韓国の飯用米では、表層老化度（RetroIndex）は「Dasan」や「Chechung」が低く、他方、「Jinpum」が高く、日本産米に比べ、値が高い傾向が見られた。米飯粒表層の物性値バランス度-H/H1 は、良食味米系統である「Odae」や「Ilpum」が高かった。
5. 新型 RVA（ライスマスター）による測定から得られる指標、表層老化度（Retro Index）は、米飯の老化性を推定する品質指標のひとつとして有望であると考えられる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本成果情報は、育種段階での品種・試験系統米の高品質系統の選抜情報や品質情報として利用できる。
2. 本成果情報は、流通・消費段階での米飯の老化性の指標として活用できる。

[具体的データ]

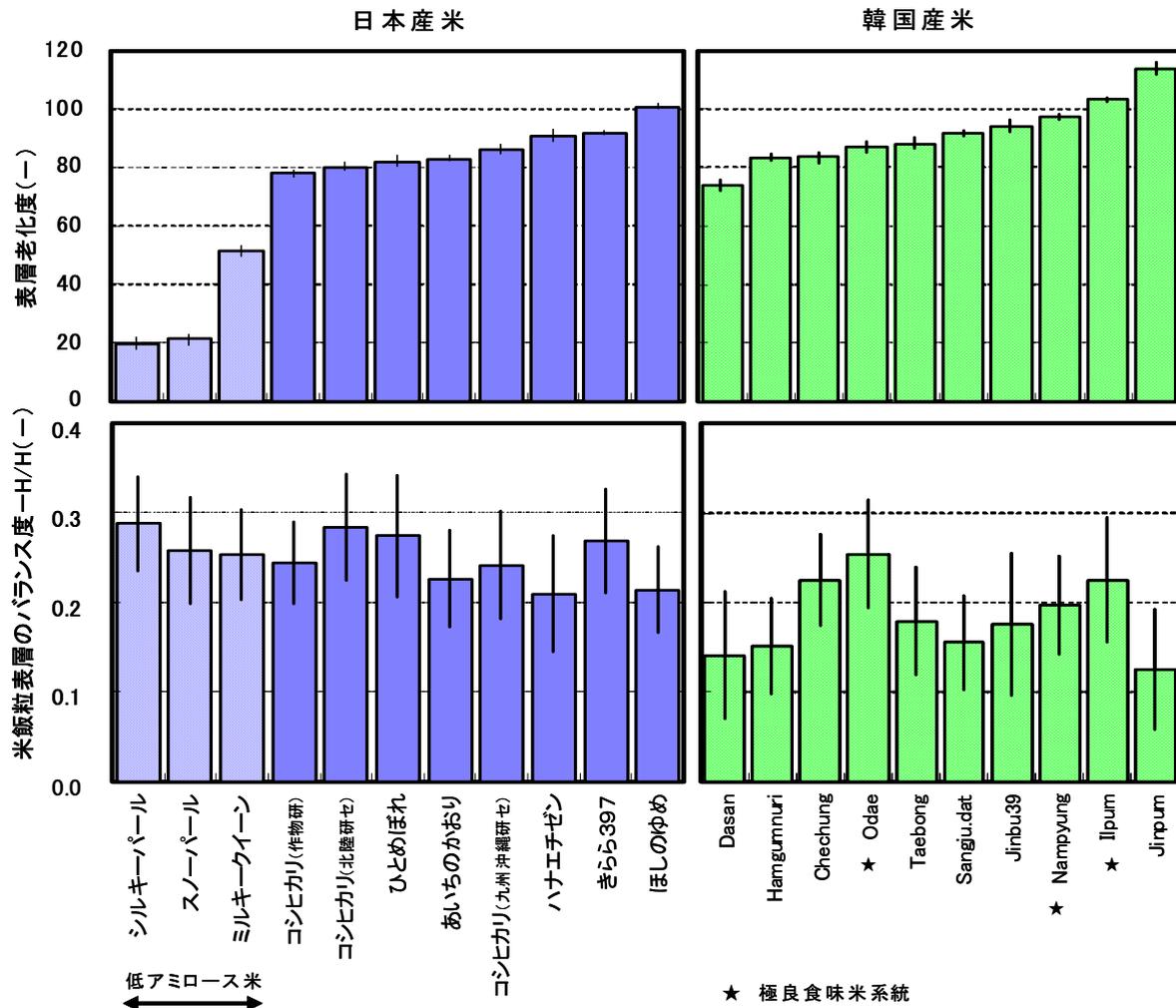


図1 新型RVA (ライスマスター)

図2 各種米の老化性推定値(表層老化度, RetroIndex)と米飯の物性値(米飯粒表層のバランス度-H/H1)

- ・表層老化度: 値が大きいほど冷やご飯になりやすい(硬くなりやすい)特性を持つ。
- ・米飯粒表層のバランス度(-H/H1): 物性試験機(テンシプレッサー)の米飯1粒による25%の圧縮試験により得られる物性値、粘り(-H1)の硬さ(H1)に対する比。

[その他]

研究課題名: 国内産および外国産米の利用特性の解明

課題 ID: 313-d

予算区分: [加工プロ]、[アグリ・ゲノム]、[その他の受託: 韓国 農村振興庁]

研究期間: 2006~2010年度

研究担当者: 鈴木啓太郎、大坪研一

発表論文等: 1) 大坪 (2006) 精米工業、221:9-13

2) 鈴木ら (2007) 日本食品科学工学会第54回大会、144

[成果情報名] いんげん豆の加工と蛋白質消化性との関係の解明

[要約] いんげん豆粉に難消化性蛋白質を見出し、レグミン（11Sグロブリン）の β -サブユニットであることを示した。加熱粗粉碎や酵素処理等の加工処理と、いんげん豆蛋白質の消化性の関係を*in vitro* ペプシン消化試験を用いて明らかにした。

[キーワード] ペプシン消化耐性、レグミン、ジズルフィド蛋白質

[担当] 食総研・食品素材科学研究領域・蛋白質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8051

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

いんげん豆は約20%の蛋白質を含み、デンプンや食物繊維が豊富で、優れた食糧資源の一つである。しかし、現在のところ我が国では主として煮豆や菓子類に利用が限られており、食品蛋白質としての特性についても不明な点が多い。本課題では、いんげん豆蛋白質の試験管内消化性を調べ、加工処理と蛋白質消化性の関係を明らかにした。

[成果の内容・特徴]

1. いんげん豆（大正金時豆）を粉碎し、組み換え体食品等での未知アレルゲンの検出指標とされる、Astwoodらの方法（*Nature Biotech.* 14, 1269-1273, 1996）を用いて、消化酵素ペプシンで15秒から60分間処理したときの消化性を調べた。加熱粗粉碎および微粒化処理の有無にかかわらず、豆粉では主要蛋白質であるファゼオリンが顕著な消化耐性を示した。100℃、10分間のペースト化によって、ファゼオリンの消化性は著しく改善される一方、分子量20kDaに高いペプシン消化耐性を示す蛋白質が見出された。
2. 20kDa難消化性蛋白質のN末端アミノ酸配列解析を行ったところ、10残基の配列が解読され、貯蔵蛋白質レグミン（11Sグロブリン）の β -サブユニットの配列と一致した。また、対角線電気泳動上によって分離された、分子間SS架橋結合をもつポリペプチドについても同様にN末端アミノ酸配列を解析した。その結果、分子量50kDa付近にレグミン α -サブユニット、20kDaに β -サブユニットに一致するポリペプチドが検出された。これらのことから、いんげん豆に微量に含まれる貯蔵タンパク質レグミンの β -サブユニットが難消化性であることが明らかになった。（図1）。
3. 蛍光試験法により、SS架橋結合の反応特性を調べ、いんげん豆20kDa難消化性蛋白質（レグミン β -サブユニット）が、そばの主要アレルゲンであるレグミンと同様に、堅固な分子内SS結合で構造が保持されていることが示唆された。
4. 全粒豆および豆粉から調製した加熱ペーストの蛋白質組成を比較した。豆粉ペーストは蛋白質量は多いが、20kDa難消化性タンパク質が検出された。一方、全粒豆ペーストでは、酵素処理の有無にかかわらず難消化性蛋白質のバンドは検出されなかった。全粒豆からの調製したペーストでは細胞由来のあん粒子と呼ばれる構造が形成されることが顕鏡観察で確認され、粒子内部に難消化性蛋白質が包み込まれているものと推定された。

[成果の活用面・留意点]

1. いんげん豆を粉碎加工することにより、あん粒子の形成を防ぎ、蛋白質利用効率が高まることが示された。
2. いんげん豆には、微量ながら消化抵抗性蛋白質が検出され、レグミン（11Sグロブリン）サブユニットと同定された。今後、いんげん豆利用用途の開発にあたって、本タンパク質の挙動を制御していく必要がある。

[具体的データ]

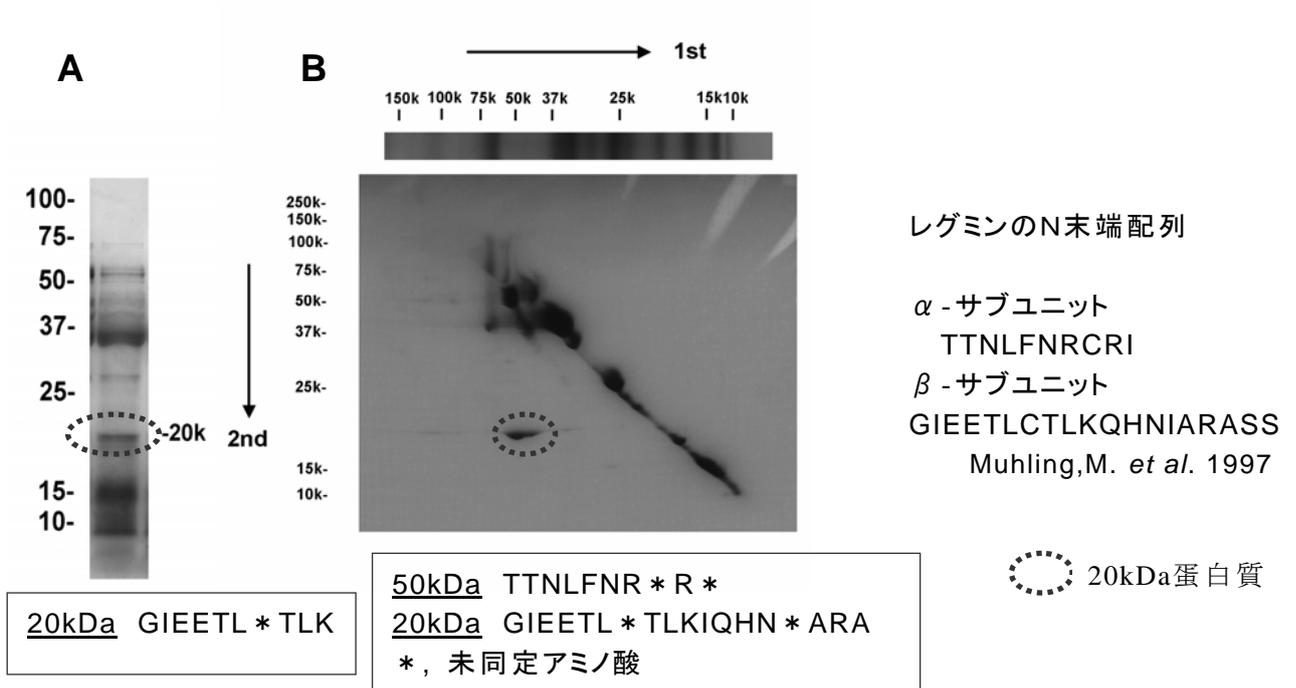


図1 いんげん豆20kDaペプシン消化耐性蛋白質 (A) およびSS蛋白質 (B) のN末端アミノ酸配列

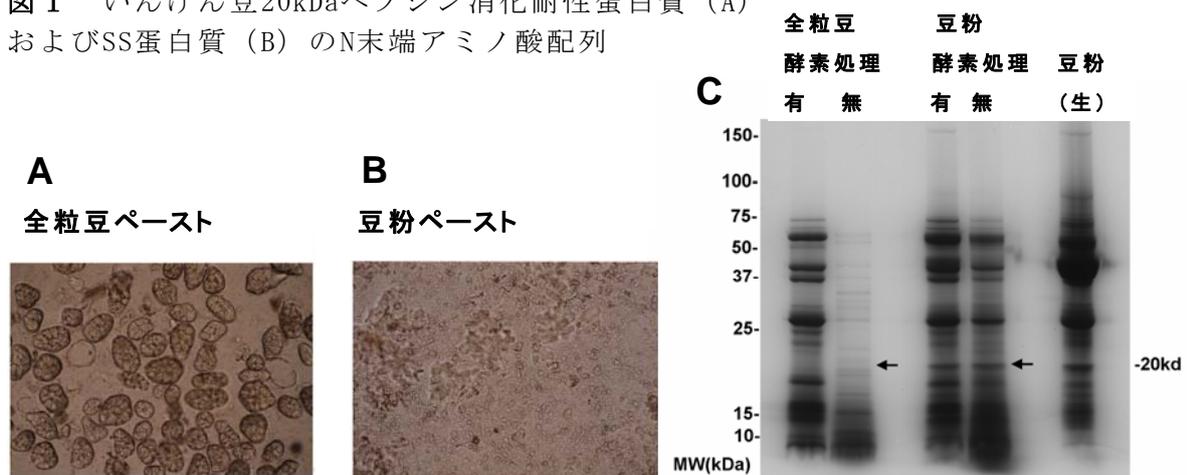


図2 脱皮豆および豆粉ペーストの顕微鏡写真 (A、B) とその蛋白質組成 (C)

[その他]

研究課題名：穀類および豆類種子蛋白質の構造および機能特性の解析

課題 ID：312-e

予算区分：安信プロ

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：門間美千子

発表論文等：

- 1) Momma (2006) *Biosci. Biotech. Biochem.* 70(12):3058-3061
- 2) Momma *et al.* (2007) *Food Sci. Tech. Res.* 13(2):166-168
- 3) Momma (2006) *Proceedings 35th UJNR Food and Agriculture Panel: CE7-11*
- 4) 門間ら (2007) *日本食品科学工学会第54回大会講演要旨集*, p.105
- 5) Momma (2007) *Proceedings 36th UJNR Food and Agriculture Panel: 213-216*

[成果情報名] チキンエキスからの機能性ジペプチドの抽出・精製とその利用技術の開発

[要約] イオン交換処理とナノろ過処理とを組み合わせ、チキンエキスから抗酸化ジペプチド（アンセリン・カルノシン）を効率的に精製・濃縮するシステムを開発した。本抗酸化ジペプチドに植物系抗酸化剤を配合した清涼飲料に脂肪代謝を促進させる等の効果があることが、臨床試験により確認された。

[キーワード] 抗酸化、アンセリン、カルノシン、ナノろ過、イオン交換、臨床試験

[担当] 食総研・食品工学研究領域・反応分離工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7323

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

食生活を通じた健康維持に対する消費者の関心は極めて高くなってきており、抗酸化成分を含む食品の消費が顕著に増加している。現在のところ注目を浴びている抗酸化成分の多くは緑黄色野菜やお茶、大豆、果物などいずれも植物に由来する成分である一方、動物由来の抗酸化成分については研究例が少ないのが現状である。近年、鶏肉にはアンセリンとカルノシンと呼ばれる抗酸化性ジペプチドが豊富に含まれており、新たな特性を持つ抗酸化食品成分として注目されつつある。本研究では、これらチキンエキス中の抗酸化性ジペプチド(Anserine-Carnosine: ACmix)に着目し、これら抗酸化性ジペプチドを効率的に精製・濃縮することのできるプロセスを開発するとともに、ACmix の生活習慣病予防効果を臨床的に検証することを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 熱水抽出したチキンエキスの ACmix を陽イオン交換カラムに吸着させ、弱アルカリ溶液で溶出させることにより、抽出液中の中性および酸性アミノ酸をほぼ完全に除去できることが明らかとなった。ついで、これらをさらに精製するためのナノろ過 (NF)膜の選抜を行うとともに、種々の操作条件下でろ過試験を行い、ACmix の精製・濃縮に適したろ過条件を選定した。これらの結果に基づき、1ヶ月あたり120 kg の精製 ACmix を生産することのできる工場規模パイロットプロセスを設置した（図1および2）。
2. 各種活性酸素によるタンパク質分解に対する阻止効果を指標として抗酸化活性を評価した結果、植物由来の脂溶性抗酸化剤（フェルラ酸等）や水溶性抗酸化剤（ビタミンC）は、それぞれ OH \cdot と ONOO \cdot に対して強い抗酸化活性を示したのに対し、ACmix は ClO \cdot に対して特異的に強い抗酸化活性を示した。
3. このことから、3種の活性酸素を抑える成分を含有する食品が理想的であると考え、3種の抗酸化成分配合の効果を、健康人志願者を対象とした臨床試験により、評価した。1瓶(50 ml)あたり、ACmix 400 mg、ビタミンC 300 mg、フェルラ酸 20 mg を含有した清涼飲料を調製し、1日あたり1本の分量で8週間服用した結果、リンパ球 DNA の損傷が減少するとともに、血中総コレステロールおよび低比重リポ蛋白 (LDL) が有意に低下するといった効果が確認された（図3）。
4. なお、精製したアンセリン・カルノシンの安全性については、マウスおよびラットを用いた試験（単回投与および反復投与）により確認済みである。

[成果の活用面・留意点]

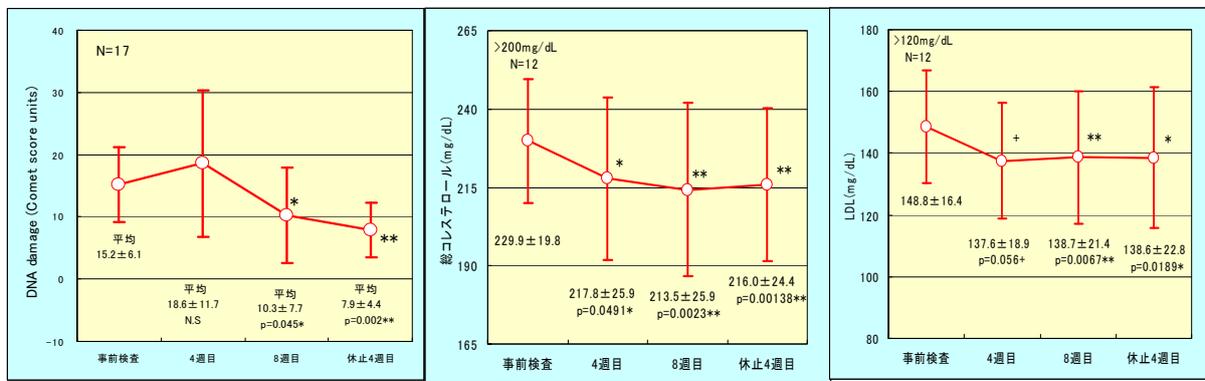
1. 長期反復投与試験(56日間)による安全性の確認、ヒト試験による至適投与量の推定を行い、抗酸化成分の組み合わせ効果をさらに明確にする予定である。
2. 本研究は、食品総合研究所と東海物産株式会社との共同研究で実施されたものである。

[具体的データ]



全自動イオン交換クロマト装置 ナノろ過装置
 図2 工場規模パイロットプラントの外観

図1 ACmix精製・濃縮プロセス



リンパ球DNAの酸化防止効果 (Comet Assay)

血中総コレステロール低下作用

血中LDL(悪玉コレステロール)低下作用

図3 アンゼリン・カルノシンの抗酸化効果の健常人での臨床試験；抗酸化飲料の設計とその効果の検証（3種の活性酸素を抑える成分を含有する食品が理想的と考え、健常人志願者を対象にチキンエキス由来の健康サポート飲料の臨床試験を行った。1瓶(50 ml)あたり、アンゼリン・カルノシン 400 mg、ビタミンC 300 mg、フェルラ酸 20 mgを含有したマンゴー飲料を調製し、1日当り1本の分量で8週間服用した。）

[その他]

研究課題名：食品の持つ機能性の利用・制御技術及び機能性食品の開発

課題 ID：312-f

予算区分：食品プロ

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：鍋谷浩志、蘆原昌司、柳内延也（東海物産）、塩谷茂信（東海物産）

発表論文等：1) 柳内ら(2007)日本膜学会誌、32(4):197-202

2) 鍋谷ら(2007)「抗酸化性ジペプチドの製造方法」特許出願 2007-216243

[成果情報名] 広帯域顕微分光イメージングによる農産物の内部構造・成分分布の可視化

[要約] 対象物の内部構造を立体的に可視化する新規の計測システムを開発した。人間の目には見えない農産物・食品の内部構造や成分分布を可視化でき、食品素材の特性把握や、栽培、育種分野等における品質モニタリングに応用可能である。

[キーワード] 分光イメージング、内部構造、成分分布、可視化

[担当] 食品総合研究所・食品工学研究領域・計測情報工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-8047

[区分] 食品試験研究

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

励起蛍光マトリックス (Excitation-Emission Matrix: EEM) は、励起波長及び蛍光波長を変化させながら、対象物の蛍光強度を計測して得られる等高線状のデータである (図 1)。EEM は成分固有のパターンを持つことから、様々な波長条件で蛍光画像を撮影して各画素の EEM を取得し、画素間の EEM パターンを比較する「EEM イメージング」により、対象物における特定物質の有無やその分布を明らかにすることが可能であると考えられる。この EEM イメージングの応用により、食品や農産物内部における成分分布や内部構造の可視化と、それに基づく品質や加工特性の新規評価手法開発が期待される。

[成果の内容・特徴]

1. 試料表面をミクロン単位で連続的に切削するマイクロスライサ、任意の波長で試料を照明可能な分光照明部、並びに任意の波長で試料の断面画像を撮影可能な分光撮影部を統合し、試料中の任意の部位における EEM を計測可能な広帯域顕微分光イメージングシステムを開発した (図 2)。
2. 上記のシステムを用いて、励起波長 350-670 nm、蛍光波長 400-720 nm、波長間隔 10 nm にて大豆種子の切断面の蛍光画像を撮影して (図 3 a)、切断面の各画素における EEM を算出した (図 3 b)。
3. 各画素の EEM データに対して主成分分析を適用し、得られた主成分得点プロットを色空間に変換することにより、各画素の EEM パターンの違いを色空間における座標の違い、すなわち色の違いに変換した (図 3 c)。
4. 蛍光画像の各画素を、上記色空間における座標に応じて彩色し、大豆切断面における各部位の EEM パターンの違いを可視化した (図 4 左)。さらに、大豆種子の切削、撮影、可視化を繰り返し行い、得られた複数の 3 次元可視化画像を立体に再構築することにより、大豆種子の内部構造を立体的に可視化した (図 4 右)。
5. 大豆種子と同様の手法を用いて、小麦種子でも内部構造を立体的に可視化可能であった。

[成果の活用面・留意点]

1. 本手法を用いて各種穀類の内部構造を可視化し、品種間等で比較することにより、食品加工素材としての特性把握や、栽培、育種分野等における品質モニタリングに応用可能である。
2. 本手法は特定成分の励起・蛍光波長条件ではなく、幅広い波長帯の蛍光情報を利用するため、穀類のみならず、野菜、果実、加工食品等への応用が可能である。
3. 今後は、タンパク、デンプン、脂質等の各種成分固有の EEM パターンを明らかにして本手法に導入することにより、農産物や食品中における各種成分分布の立体可視化への展開を図る。

[具体的データ]

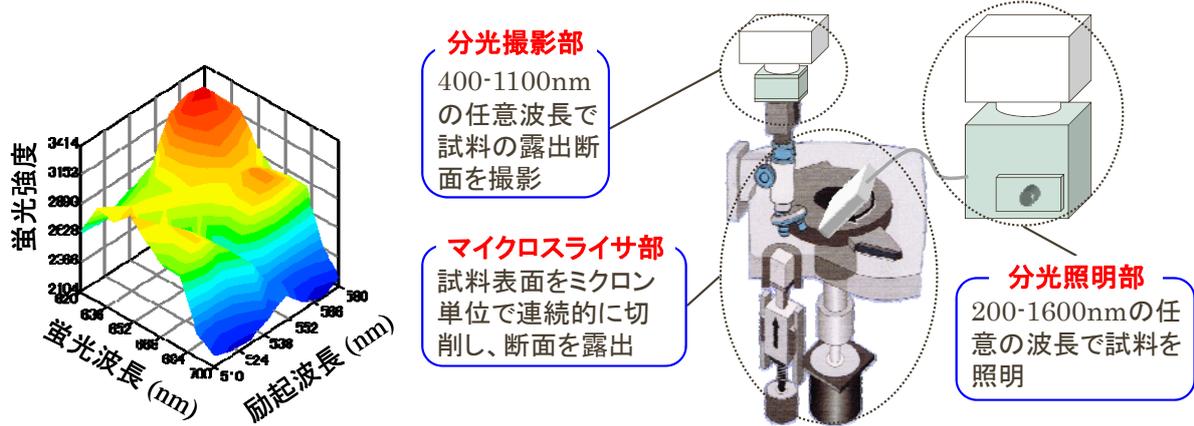


図1 ローダミンの EEM

図2 広帯域顕微分光イメージングシステム

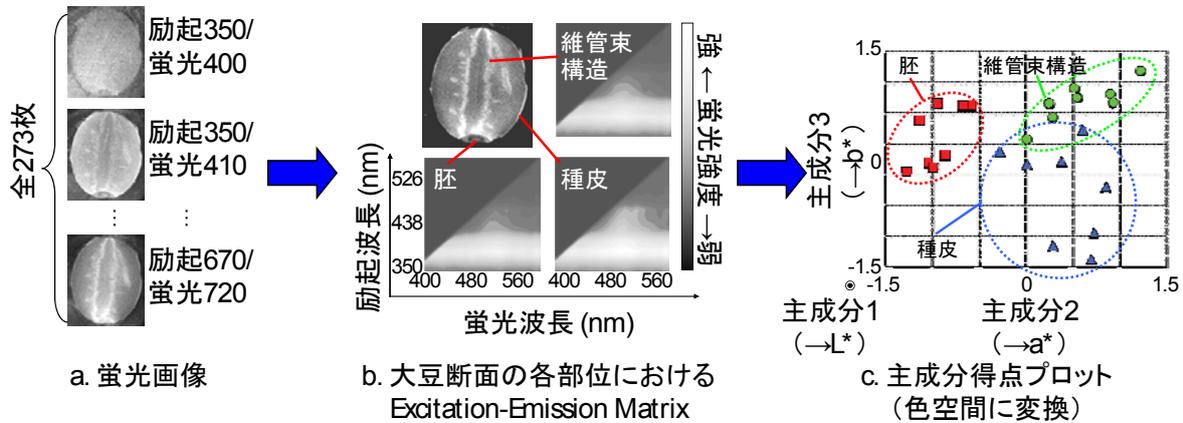


図3 可視化手順

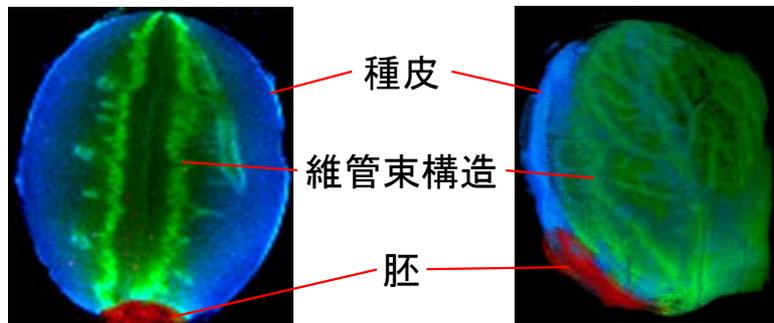


図4 大豆の内部構造可視化画像
(左：2次元、右：3次元)

[その他]

研究課題名：ハイパー・スペクトルイメージングによる種子の生理的変化の可視化
 課題 ID：313-f
 予算区分：科研費基盤 B
 研究期間：2004～2007 年度
 研究担当者：杉山純一、蔦瑞樹
 発表論文等：1)宮下ら(2004)食科工誌、**51**(12):656-664
 2)杉山ら(2005)「成分分布可視化方法および成分分布可視化装置」特許出願2007-3706914
 3)Tsuta M. et al. (2007)*Trans. ASABE*, **50** (6):2127-2136

[成果情報名] 高圧処理における新規殺菌予測モデルの開発

[要 約] 従来の曲線回帰とは異なる手法によって、高圧処理による殺菌効果を予測する速度論的な数学モデルを開発した。本モデルは従来の曲線回帰手法では予測不可能な変動する圧力条件下においても、高い精度で殺菌効果を予測可能である。

[キーワード] 予測微生物学，速度論的解析

[担 当] 食総研・食品工学研究領域・食品高圧技術ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7152

[区 分] 食品試験研究

[分 類] 技術・参考

[背景・ねらい]

食品加工において殺菌処理は必要不可欠な単位操作の一つであり、その効果を予測・推定する試みは古くから行われている。加熱処理においては片対数グラフ上で微生物数が直線的に減少する関係性から、D 値（最初の菌数を 1/10 にする時間）あるいは Z 値（D 値を 1/10 にする温度差（℃））などの概念が実用的に用いられてきている。しかし、温和な加熱処理や高圧処理の場合には、微生物の死滅は直線的ではなく、テーリング現象に代表される非線型な振舞いをすることが多い。このような非線型な挙動を記述するために、各種の数理モデルが提案され、実験データへの曲線回帰がなされてきたが、殺菌効果を予測可能とする数理予測モデルはなかった。本研究では実験結果への曲線回帰だけではなく、種々の条件下での殺菌効果を予測可能とし、実用に供することができる新たな予測モデルの開発を目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 新規殺菌予測モデルの開発

高圧処理による微生物死滅曲線を記述するための、速度論的な殺菌予測モデルを図 1 に示すように概念化して、式（1）と（2）を考案した。すなわち、処理開始直後には急速に殺菌効果を示すが、時間経過に伴い殺菌効果（速度）が低下する現象を記述するモデルである。

2. 高圧処理における殺菌速度の圧力依存性のモデル化

高圧処理における大腸菌の死滅速度と処理圧力との関係が、式（2）で記述されるような関係性を示すことが明らかとなった。すなわち、最大死滅速度の処理圧力依存性が数式化できた（図 2）。

3. 従来手法との比較

従来から提案されてきた種々の非線型モデルとの予測精度の比較を行った結果、新たに開発したモデルは一定圧力条件下における大腸菌の死滅挙動を、従来モデルによる曲線回帰手法と同等の精度で予測することができた（図 3）。

4. 変動圧力条件下における殺菌効果の予測

新たに開発したモデルは、変動する圧力条件下における大腸菌の死滅挙動を高い精度で予測することが可能であった（図 4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 対象とする細菌の種類によって、最大死滅速度の関数が異なることから、目的とする細菌毎に、最大死滅速度の温度依存性を見出す必要がある。

2. 高圧処理だけでなく、加熱処理（特に温和な条件）においても、開発したモデルは適合可能である。すなわち、最大死滅速度の温度依存性をモデル化することで、同様に予測解析が可能になると考えられる。

[具体的データ]

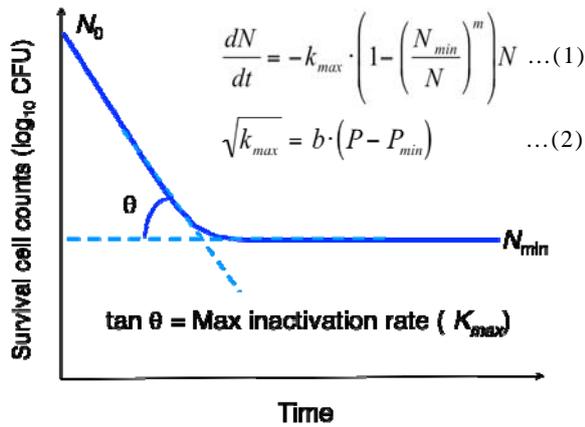


図1 高压処理による細菌死滅モデルの概念図
 N:菌数 (CFU/g or ml) N_0 : 初期菌数, N_{min} :処理後菌数, K_{max} :最大死滅速度, m : 形状係数, P :圧力, P_{min} : 有効最小圧力, b : パラメータ

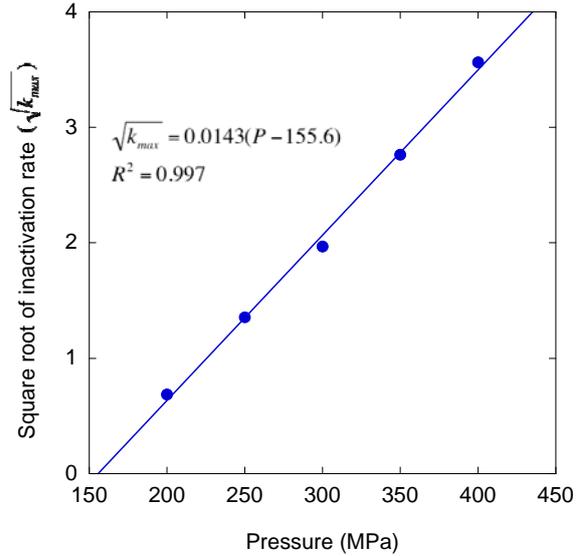


図2 最大死滅速度の圧力依存性: 最大死滅速度の平方根と処理圧力との関係

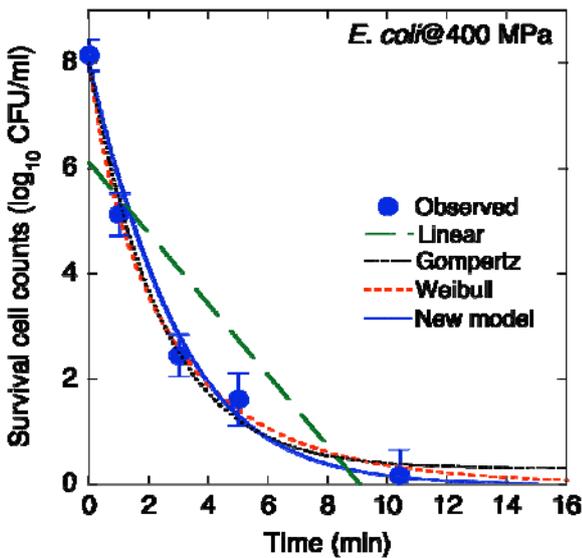


図3 各種予測モデルによる大腸菌の死滅挙動予測精度の比較

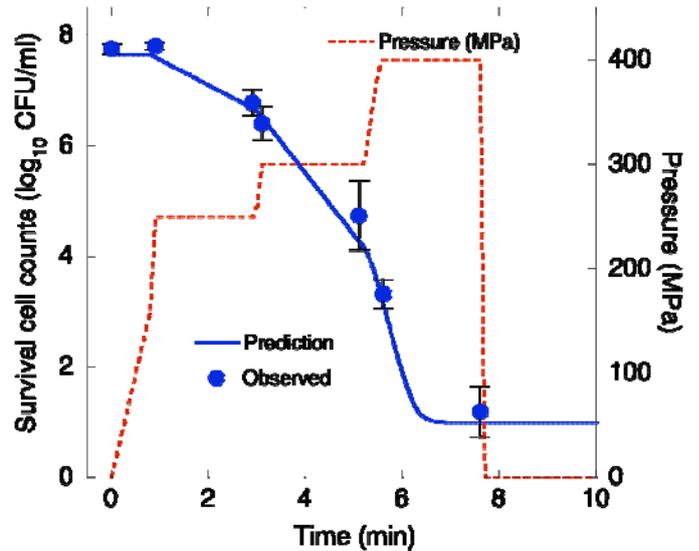


図4 変動圧力条件下における大腸菌の死滅挙動予測結果

[その他]

研究課題名: 予測モデルを活用した超高压殺菌最適化手法の開発

課題 ID: 323-e

予算区分: 技会委託 食品安信プロ

研究期間: 2006-2010 年度

研究担当者: 小関成樹、山本和貴

発表論文等: Koseki S. and Yamamoto K. (2007) *Int. J Food Microbiol.* 116(3):275-282

[成果情報名] 交流高電界技術による生乳の殺菌

[要約] 乳中タンパク質が電極表面に付着するため、これまで適用が困難であった交流高電界技術を電極構造の改良を行うことで適用可能とし、殺菌による品質劣化の少ない高品質な牛乳を製造する。

[キーワード] 交流高電界、生乳

[担当] 食総研・食品工学研究領域・先端加工技術ユニット

[代表連絡先] 電話029-838-8025

[区分] 食品試験研究

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

交流高電界技術は果汁等の高品質な殺菌方法として実用化が進んでいるが、生乳の交流高電界処理は生乳に含まれるタンパク質が電極表面に付着し、凝固するため、本技術による殺菌処理が困難であった。交流高電界処理による生乳の殺菌方法は、低温殺菌牛乳の高品質を維持しながら、ロングライフ処理と同程度の品質保持期間を有する高品質牛乳の製造方法として期待される。本研究では、電極構造の改良によって電極表面への生乳成分の付着を低減し、牛乳殺菌への交流高電界技術の適用を目指した。

[成果の内容・特徴]

1. 生乳のモデルとして、市販低温殺菌（66℃、30分）牛乳を試料とし、耐熱性菌の指標として *Bacillus subtilis* (JCM2744株) の芽胞を供試した。低温殺菌牛乳を連続式交流電界装置（図1）に流し、定常運転後に、芽胞を添加し、1分30秒後に装置出口から得られた牛乳を10mLずつ分取後、定法により残存生菌数を計数した。
2. 交流高電界装置はこれまで果汁の殺菌処理の目的で開発してきたものであるが、本研究では、牛乳に適用するために、以下の改良を行った。①交流高電界印加直前に昇温プレートによる一次加温部を追加、②交流高電界を印加する電極を水冷、③チタン電極の表面に酸化膜を蒸着。
3. 一次加温を行って材料の温度を60℃まで昇温させることにより、交流高電界の処理温度（出口温度）を最高120℃とした。
4. 電極の冷却および電極表面の酸化膜処理を行うことにより、電極表面の焦げ付きが少なくなり、牛乳の交流高電界処理が可能となった。
5. 材料の出口温度が120℃となる条件で交流高電界処理したところ、生菌数が1/1000以下に減少した。
6. 電極出口から冷却プレートまでの配管長を変えることにより、温度の保持時間を変えたところ、交流高電界処理の場合のF値（121℃の温度で菌数が1/10となる処理時間）は0.006分であり、加熱処理のF値の0.6分よりも大幅に短縮したことが分かった（図4）。つまり、交流高電界処理により、微生物の耐熱性が大幅に低下したものと考えられた。

[成果の活用面・留意点]

1. 本研究で牛乳への応用が可能な連続式交流高電界装置を開発したが、連続運転可能時間が十分とは言えないため、電極構造および電界の印加方法を最適化し、牛乳の連続処理時間を更に延長させる。
2. 本装置を用いて120℃で牛乳を処理することにより、*B. subtilis* 芽胞を1/1000以下に低減することが可能となったが、今後は他の微生物の殺菌効果についても検討する。
3. 今後、交流高電界処理した牛乳の品質特性を評価するとともに、本技術で処理した牛乳を用いたチーズ等への加工特性を評価する。

[具体的データ]

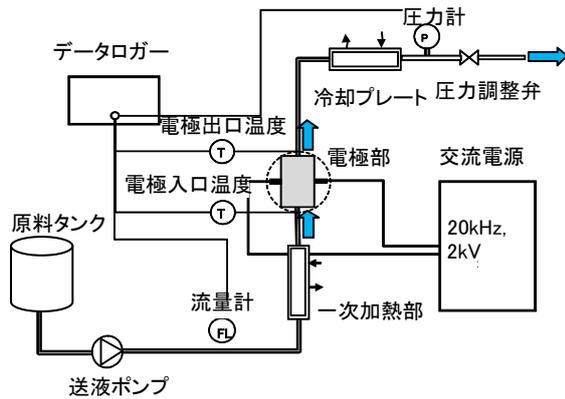


図1 連続式交流高電界装置のブロック図

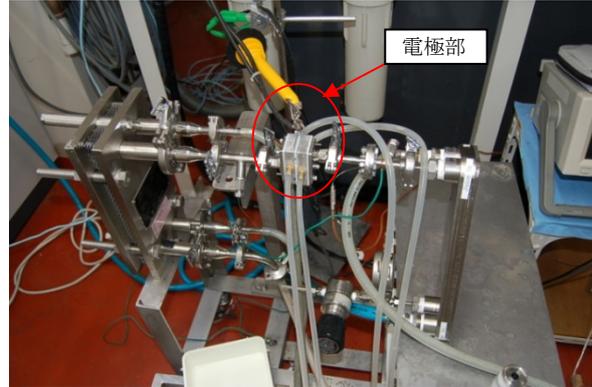


図2 連続式交流高電界処理装置の外観

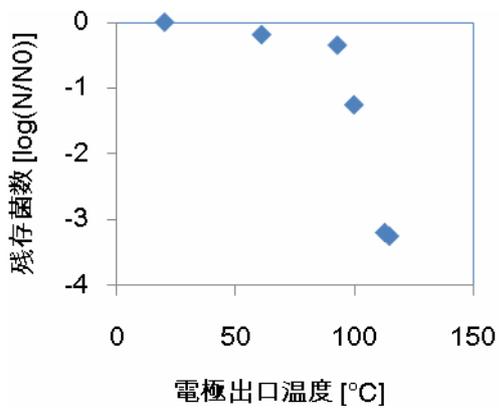


図3 牛乳中の *B.subtilis* の殺菌効果

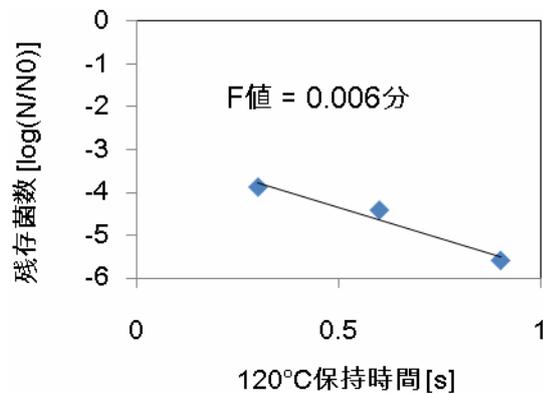


図4 交流高電界処理の保持時間と殺菌効果

[その他]

研究課題名：流通農産物・食品の有害生物の制御技術の開発

課題 ID：323-e

予算区分：食品プロ

研究期間：2006～2008年度

研究担当者：植村邦彦、小林功

発表論文等：1)植村ら(2007)食研報、71:27-32

2)井上ら(2007)食工誌、8(3):123-130.

3)井上ら(2007)食科工誌、54(4):195-199

[成果情報名] セルロース分解物が硫酸存在下で活性白土に吸着

[要約] セロビオースは水溶液中では活性白土に吸着せず、72wt%硫酸水溶液中で吸着する。グルコースは両溶液で吸着性を示さない。セルロースの濃硫酸分解物も活性白土に吸着し、その活性白土をさらに希硫酸加水分解することにより、グルコースとして溶出・回収できる。

[キーワード] セルロース、糖化、濃硫酸、活性白土、吸着

[担当] 食総研・糖質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス・変換技術

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

濃硫酸法は、セルロース系原料の糖化法として古くから知られており、多岐にわたる高度化研究が行われてきた。現在でも、酵素糖化とともにバイオエタノール製造時のセルロース糖化法として注目されている。常温での濃硫酸処理によって、セルロースは効率的に加水分解を受け、短時間のうちにセロオリゴ糖として遊離・可溶化する。しかしながら、濃硫酸法を実用的技術として完成させるためには、糖液と濃硫酸を効率的に分離し、硫酸を再利用するための技術開発が不可欠となる。このような中で、本研究では、濃硫酸存在下でセロオリゴ糖と相互作用し、強酸存在下で高い安定性を示す物質を探索する。

[成果の内容・特徴]

1. 72wt%の硫酸または水に対して各種セロオリゴ糖を溶解したものを活性白土粉末と室温下で混合し、15分間静置する。その後、遠心分離により固液分離した液層中の糖量を分析し、全体量から差し引くことにより活性白土への吸着量を計算する。セロビオースは72wt%硫酸中では活性白土に吸着するが、水溶液中では吸着が見られない(図1)。また、セロペンタオースは、両条件下で吸着性を示し、その親和性は72wt%硫酸存在下の方が高い。一方、グルコースは両条件下で吸着性を示さない。
2. 活性白土は、粘土の熱・酸処理により製造されることから、強酸存在下での加熱に耐える。活性白土に吸着したセロオリゴ糖は、溶液の硫酸濃度を低下させた際に一部溶出するほか、希硫酸溶液中でセロオリゴ糖の吸着した活性白土全体を加熱することにより加水分解を行い、非吸着性グルコースとして溶出させることが可能である。また、溶出後の活性白土は、セロオリゴ糖の吸着剤として再利用することが可能である。
3. セルロースを主成分とする濾紙粉末(濾紙粉末C、東洋濾紙)または稲わら粉末を72wt%硫酸により室温条件下で処理し、セルロースの膨潤および部分加水分解を行い、その後、活性白土を加えて混合し、15分間静置することで、セルロースの部分加水分解物が活性白土に吸着する。

[成果の活用面・留意点]

1. 各セロオリゴ糖の活性白土への最大吸着量は、活性白土1グラムあたり約30mg程度であった。本技術の実用性を高めるためには、吸着機構の解明とともに、鉱物系素材の探索や活性白土製造工程の最適化による最大吸着量の増加が必要となる。
2. セルロースの部分加水分解物の重合度が高い場合、硫酸非存在下においても活性白土との相互作用が観察され、硫酸希釈による溶出挙動も鈍いものとなる。希酸加水分解によるグルコース変換工程を加えることにより、糖の脱着・回収が効率化する(図2)。

[具体的データ]

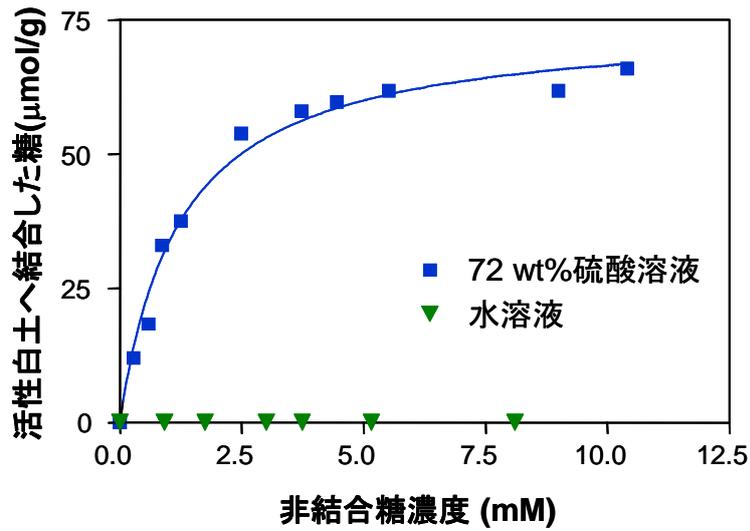


図1 活性白土へのセロビオースの吸着

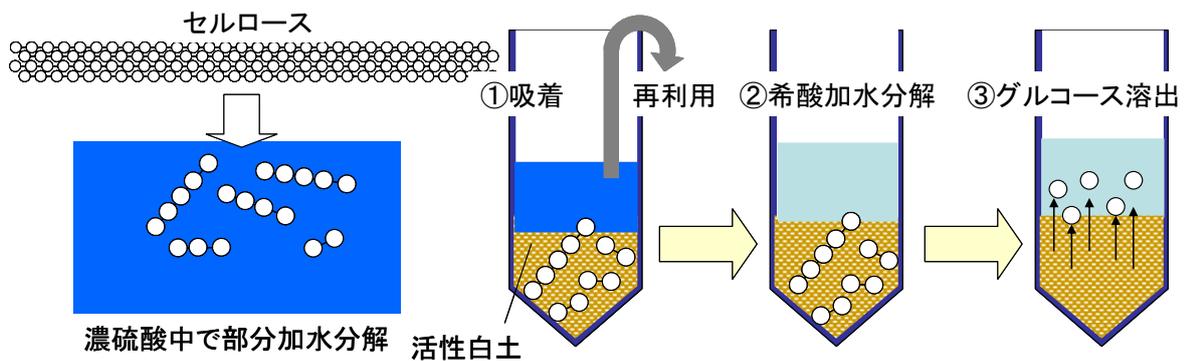


図2 本技術によるセルロースの濃硫酸糖化後の糖と硫酸の分離工程

[その他]

研究課題名：リグノセルロースの酵素分解技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：農林水産省委託プロ「地域活性化のためのバイオマス利用技術の開発」

研究期間：平成19年度～平成23年度（予定）

研究担当者：徳安健（食総研）

[成果情報名] バレイショでん粉精製カスの減容化を促進する酵素の組み合わせ

[要約] バレイショでん粉精製カスを基質とし、セルラーゼ酵素製剤とペクチナーゼ酵素製剤を同時に用いることにより、でん粉精製カスの減容化が促進される。その現象は、精製度の高いセルラーゼとペクチナーゼのみにより再現でき、投入酵素量を約 1/4 に減量できる。

[キーワード] バレイショ、絞りカス、ペクチナーゼ、セルラーゼ、直接糖化

[担当] 食総研・糖質素材ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス・変換技術

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

バイオエタノール製造原料としてバレイショ、カンショ、テンサイやそれらの茎葉等を用いた、低コストで効率的な糖化技術が求められている。その一つの方法として、コーンのドライミル方式と同様の、原料粉碎後の直接糖化技術の可能性が注目されている。しかしながら、これらの原料では、破碎処理後にペクチン等が膨潤するため、酵素糖化時の攪拌が困難となるとともに、処理時に基質濃度を上げにくくなる。本研究では、破碎処理原料の膨潤現象を制御するため、細胞壁分解酵素の使用を検討し、減容化に有効な酵素系を探索する。

[成果の内容・特徴]

1. バレイショでん粉精製カス（コナフブキ、斜里町農協澱粉工場より供与。）を 50 倍量の水で洗浄してでん粉を除去した後に水懸濁液として、試験管に分注する。これに対して市販セルラーゼ製剤（Celluclast 1.5L、ノボザイムズジャパン社）、ペクチナーゼ製剤（Pectinex、ノボザイムズジャパン社）などを加えて 50℃で 60 分酵素反応を行った後に室温下で静置し、10 分後の基質の沈降度を測定する。沈降度は、酵素を加えない試料の沈降度（時間内に殆ど沈降せず。）を 1 とし、処理後の基質不溶画分の高さを測定し、両者の比として定義し、その結果、両酵素の単独使用では殆ど沈降が起らなかったのに対して、両者を併用した際には大きく減容できる（図 1, 2）。また、両者の併用時には、酵素製剤使用量に応じて減容化度は上昇する（図 3）。
2. 各酵素製剤は、複数酵素の混合物であり、減容化に貢献しない酵素を多く含むと考えられることから、使用酵素量を減らすために、減容化に寄与する酵素の絞り込みを行なう。精製度の高いセルラーゼとして、エンド型セルラーゼ（メガザイム社）およびセロビオハイドロラーゼ I（メガザイム社）を用い、ペクチナーゼとしてポリガラクトクロナーゼ（メガザイム社）を用い、その効果を調べる。上記の二種類のセルラーゼとペクチナーゼを組み合わせることにより、前項で見られた減容化効果を再現でき、投入酵素量を約 1/4 に低減できる。

[成果の活用面・留意点]

1. バレイショ由来の繊維質をモデルとして減容化を促進する酵素の組み合わせは、バレイショの破碎物に対しても有効性を示す。バレイショでん粉精製カス自体も、減容化や有効利用技術開発が求められており、本成果の適用が有効と考えられる。
2. 今後は、繊維質の減容化機構の解明や、直接糖化工程に求められる酵素特性を考慮した条件最適化等を行う必要がある。
3. バレイショ繊維質中のセルロースやその他の多糖の糖化が効率化し、糖化液はバイオエタノール製造原料としての利用が期待される。また、減容化により、バイオマス変換廃棄物処理コストの低減に繋がることが期待される。

[具体的データ]



セルラーゼ製剤
ペクチナーゼ製剤

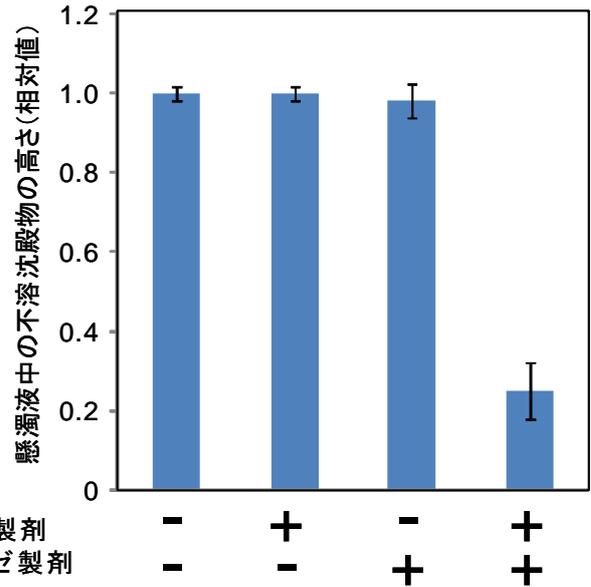


図1 バレイショでん粉精製カス懸濁液の減容化（左：酵素製剤添加、右：無添加）

図2 各酵素製剤を単独または複数種類加えた際のバレイショでん粉精製カスの減容化度（60分酵素反応後、室温で10分静置した際の懸濁液中の不溶沈殿物の高さを、酵素無添加試料（左）の値との比として表示。）

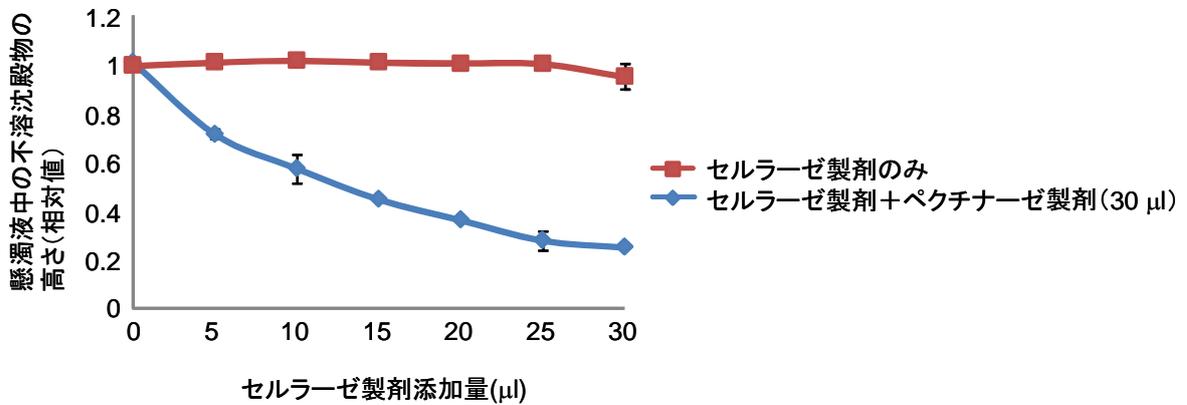


図3 セルラーゼ製剤単独またはセルラーゼ製剤とペクチナーゼ製剤を用いて処理した際のバレイショでん粉精製カスの減容化度

[その他]

研究課題名：リグノセルロースの酵素分解技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：農林水産省委託プロ「地域活性化のためのバイオマス利用技術の開発」

研究期間：平成19年度～平成23年度（予定）

研究担当者：徳安健、藤原真紀

[成果情報名] 高でん粉蓄積稲わらの糖化技術

[要約] 茎葉部にでん粉を蓄積した出穂期または成熟期の稲わら（葉鞘および稈）を原料として、100℃での加熱処理後に酵素糖化を行うことにより、迅速にグルコースやフラクトースを得られる。これらの糖の最大収率は、原料の対乾燥重量比で40%以上に達する。これらの糖は、通常のエタノール酵母が発酵できることから、現行技術によるバイオエタノール製造が可能となる。

[キーワード] 稲わら、高でん粉蓄積、酵素、糖化

[担当] 食総研・糖質素材ユニット（作物研・稲収量性研究チームとの共同）

[代表連絡先] 電話 029-838-7189

[区分] バイオマス・変換技術

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

稲わら茎葉には、出穂期または成熟期を中心に、シュークロース、でん粉などの糖質が蓄積されることが知られている。品種系統や栽培法などによっては、乾燥重量の20%を超える量のでん粉を茎葉に蓄積するが、このような高でん粉蓄積稲わらの糖化特性評価は行われてこなかった。本研究では、高でん粉蓄積稲わらの変換効率評価を行い、高度な前処理を行わず酵素糖化が可能であり、利用性の高いグルコースやフラクトースを数時間で生産できる技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 成熟期および出穂期の稲わら（葉鞘および稈）を70℃で乾燥後、高速振動粉碎機で処理した粉末を原料とする。この原料の水懸濁液（10%（w/v））を100℃で10分間加熱した後、50℃まで冷まし、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、β-グルコシダーゼおよびアミログルコシダーゼを含む緩衝液（pH5.0）を加えて、50℃で酵素糖化反応を行い、酵素糖化率を計算する。
2. 出穂期のハバタキ（でん粉率23.0%）および成熟期のリーフスター（でん粉率15.4%）由来の稲わら粉末を用いて、最終基質濃度を2.5%として上記と同様の反応を行う。この処理で、それぞれ乾燥重量比で40%および28%のグルコースが生産される。前者原料中の遊離フラクトース等も計算すると、乾燥重量比で43%を超える単糖を得る。これに対して、成熟期コシヒカリ（でん粉率2.4%）では、乾燥重量比で13%のグルコース生産となる（図1）。
3. 稲わら粉末を酵母培養用培地中、100℃で10分間加熱処理した後に、前記酵素と酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）培養液を加えて30℃で15時間の並行複発酵を行う。原料の酵素糖化により得られる糖質から計算した理論収量の約7割のエタノールが生成できる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本技術によれば、強酸・アルカリなどの高度な前処理を行わない効率的な単糖生産が可能となる（図2）。グルコースとフラクトースは酵母発酵性の糖質であり、現行のエタノール発酵工程をそのまま適用できることから、高でん粉蓄積稲わら原料の供給体制が整えば、直ちに実証段階に移行可能となる。
2. でん粉の含有率は同品種系統でも栽培条件により変動する。高でん粉蓄積稲わら原料を安定的に確保するためには、育種研究や栽培研究の推進が鍵となる。成熟期の葉鞘および稈にでん粉を高蓄積する食用稲が得られれば、コメの回収と稲わらの酵素糖化が両立し、稲から食料と競合しないバイオエタノール製造が可能となる。

[具体的データ]

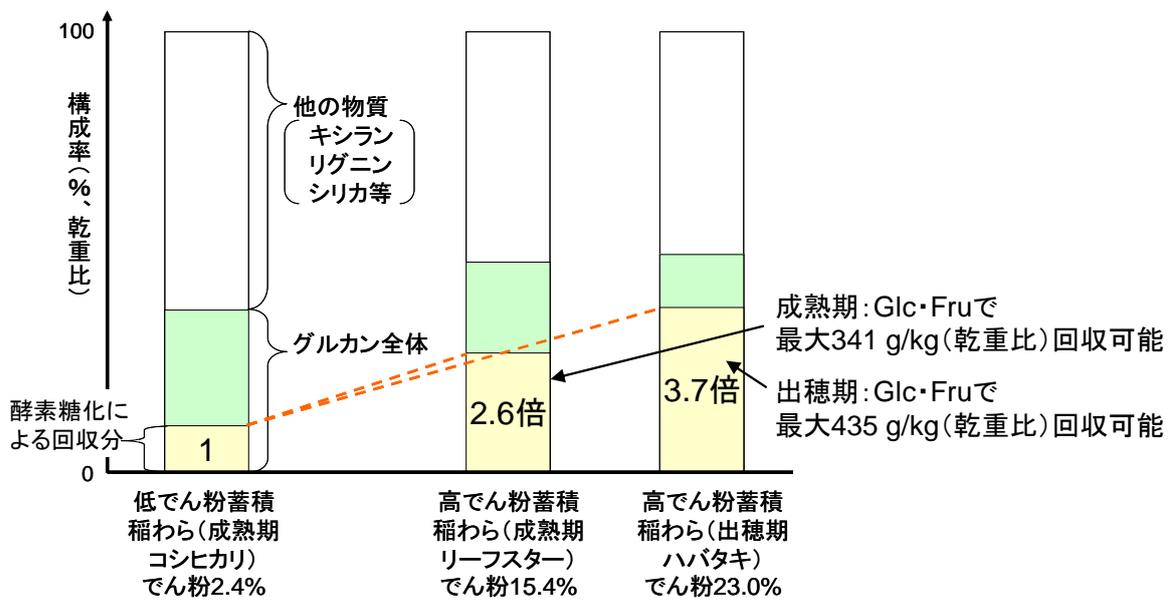


図 1 各稲わら試料のでん粉率、グルカン率と酵素糖化率（乾重比）

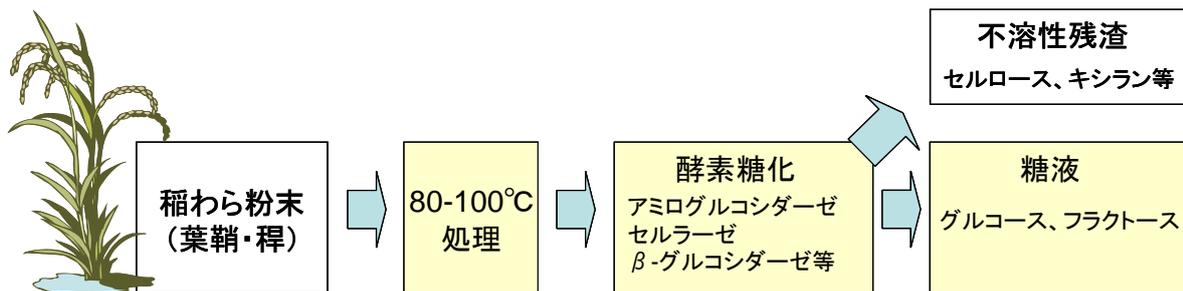


図 2 稲わら粉末を原料とした糖化技術によるグルコース・フラクトース生産

[その他]

研究課題名：リグノセルロースの酵素分解技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：農林水産省委託プロ「地域活性化のためのバイオマス利用技術の開発」

研究期間：平成 19 年度～平成 23 年度（予定）

研究担当者：徳安健（食総研）、近藤始彦、三王（荒井）裕見子（作物研）

[成果情報名] 無触媒メチルエステル化法による廃食用油からのバイオディーゼル燃料製造

[要約] 常圧の条件で過熱メタノール蒸気を油脂と接触させることにより、アルカリ触媒を用いることなく動植物油脂から脂肪酸メチルエステル(バイオディーゼル燃料)を製造する。アルカリ触媒を除去するための精製工程が不要であるためコスト低減が可能となる。

[キーワード] 無触媒、脂肪酸メチルエステル、廃食用油、バイオディーゼル燃料、過熱メタノール蒸気

[担当] 食総研・食品工学研究領域・反応分離工学ユニット

[代表連絡先] 電話 029-838-7323

[区分] バイオマス

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

動植物油脂を軽油代替燃料とするためには、その粘度を軽油に近いレベルにまで低下させる必要があるが、現状の技術としては、アルカリ触媒(水酸化ナトリウムや水酸化カリウム)を用いた脂肪酸メチルエステル(Fatty Acid Methyl Ester: FAME)への変換が主流である。この場合、反応後にアルカリ触媒を除去するための精製工程が必要であり、コスト低減の障害となっている。また、遊離脂肪酸はアルカリ触媒と反応して石けんを生成するため、従来のアルカリ触媒法を用いて廃食用油等の遊離脂肪酸を含む脂質を処理する際には、前処理として遊離脂肪酸を除去する脱酸工程が必要である。これらの問題を克服するため、触媒を用いることなく FAME(バイオディーゼル燃料)を製造する技術を開発する。

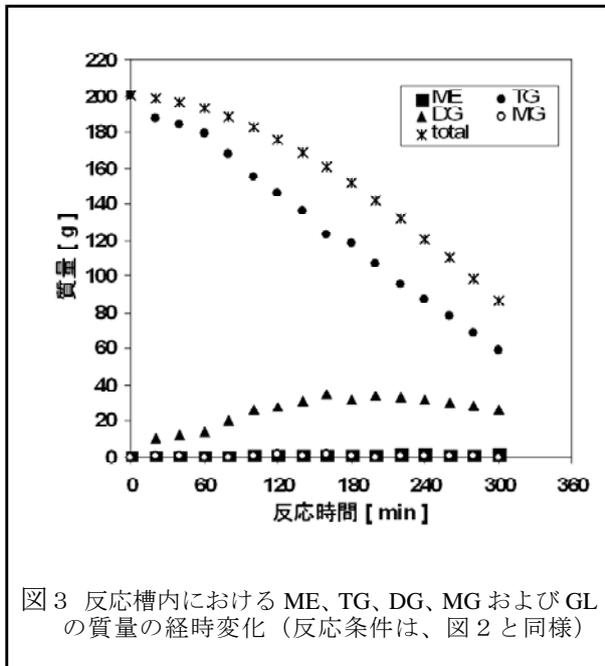
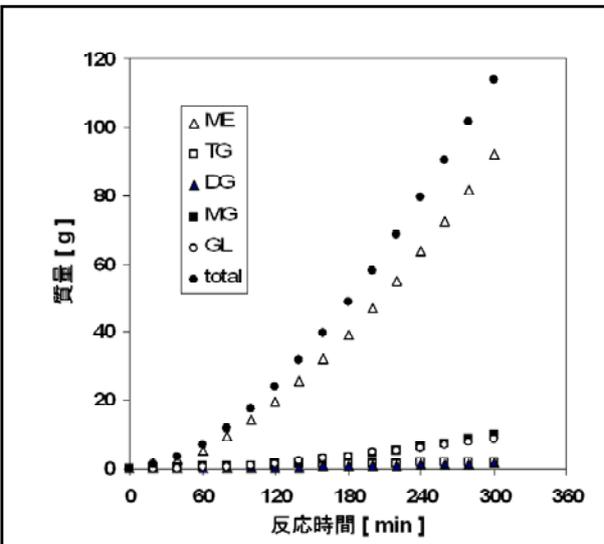
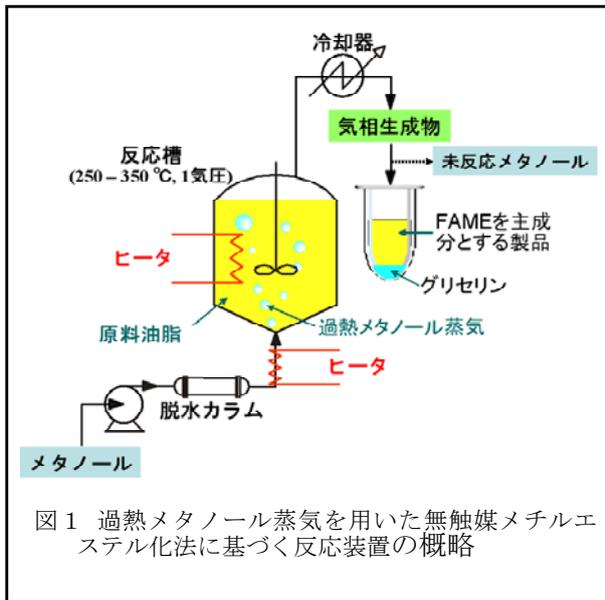
[成果の内容・特徴]

1. 常圧の条件下で過熱メタノール蒸気を反応槽に吹きこむことにより、気泡と油脂との界面でのエステル交換反応(FAMEの生成)を促進させる。生成した FAME は未反応のメタノール蒸気とともに反応槽から流出し、冷却器により凝縮され回収される(図1)。回収された反応生成物から、メタノールを除去することにより、グリセリンが相分離し、FAMEを主成分とする製品(FAME含有率: 80~95%)が得られる。
2. 図2および図3には、ベンチスケールの反応装置に200gのパーム油を仕込んで反応を行った際の、反応槽から流出した反応生成物および反応槽内における各成分の質量をそれぞれ示した。反応の進行とともに反応槽内のトリグリセリドが減少するとともに、FAME含量80%以上の反応生成物が反応槽外に流出し、反応時間300minの時点で原料の半分近くが FAME として回収されていることが分かる。また、反応槽内における FAME の蓄積は観察されず、生成した FAME は直ちに反応槽外に流出していた。
3. 本研究で開発した方法においては、触媒を除去するための精製工程が不要となるため、バイオディーゼル燃料を製造する際のコストが大幅に削減されるものと期待される。ベンチスケールの反応装置での結果をもとに、この方法を年間生産量5000t規模の装置に適用した場合を想定して生産コストの試算を行ったところ、45.5円/kgとなった(アルカリ触媒を用いた方法での、文献値は75.2円/kg)。
4. 本研究で開発した方法においては、遊離脂肪酸も併せて FAME に変換することができ(オレイン酸を原料とした際の反応生成物中の FAME 含有率は74%)、しかも反応速度が大きい(表1)。このため、廃食用油に適用した際に、遊離脂肪酸を除去するための脱酸工程が不要となる上、歩留まりが最大で4%程度向上するものと期待される。

[成果の活用面・留意点]

1. 反応の効率化に向けて、油脂と過熱メタノール蒸気との接触機構の改良や運転条件の最適化を、反応速度論的な解析に基づいて検討する必要がある。

[具体的データ]



反応のタイプ	反応速度定数 [min ⁻¹]
FFAのエステル化反応によるFAMEの生成	0.0095
TGのエステル交換反応によるFAMEの生成	0.0034

表1 遊離脂肪酸(FFA)のエステル化反応とトリグリセリド(TG)のエステル交換反応との比較

[その他]

研究課題名: バイオディーゼル燃料の生産技術の開発

課題 ID: 224-c

予算区分: 委託プロ (バイオマス (変換技術))

研究期間: 2007-2008 年度

研究担当者: 鍋谷浩志、菘原昌司、相良泰行 (東大)、荒木徹也 (東大)、山根浩二 (滋賀県立大)、後藤雅史 (鹿島建設)、多田羅昌浩 (鹿島建設)、宮野寛 (鹿島建設)、倉持和博 (鹿島建設)、芋生誠 (鹿島建設)、吉村美毅 (鹿島建設)、佐藤隆裕 (鹿島建設)、小川浩司 (鹿島建設)

発表論文等: Joelianingsh *et al.* (2007) *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **40** (9):780-785

[成果情報名]「べにふうき」緑茶からのメチル化カテキンの効率的な抽出方法

[要約]家庭等で飲用する場合「べにふうき」緑茶葉から60%以上のメチル化カテキンを抽出するには、100倍量以上の水で煮沸しながら5分以上煎じる必要がある。一方、食品メーカー等でエキス抽出する場合、温度を90℃以上、倍率を20倍以上、時間を9～15分とすれば同じ抽出率が得られる。

[キーワード]べにふうき、緑茶、メチル化カテキン、抽出率

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム

[代表連絡先]電話 0547-45-4964

[区分]野菜茶業・茶業、食品

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

「べにふうき」などに多く含まれるメチル化カテキンであるエピガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)-ガレート (EGCG3"Me) 及び飲料製造中に生成する熱異性体であるガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)-ガレート (GCG3"Me) は抗アレルギー作用などの機能性を有することが確認されている。「べにふうき」を緑茶飲料として利用する際に、メチル化カテキンを効率的に摂取するための最適抽出条件を明らかにし、「べにふうき」緑茶の有効利用に資する。

[成果の内容・特徴]

1. 一番茶（早摘み）、一番茶（適期摘み）、二番茶の中では、煮沸抽出では二番茶の、熱水静置抽出では一番茶（早摘み）のEGCG3"Me抽出率が高い（表1）。
2. 家庭等で飲用する場合、「べにふうき」緑茶葉からメチル化カテキンを60%以上抽出するためには、100倍量以上の水で煮沸しながら5分以上煎じる必要がある。熱水を注いでそのまま5分静置した場合は約30%、一晩冷蔵庫で抽出した場合は約14%の抽出率にとどまる（表1）。
3. 食品メーカー等が「べにふうき」緑茶葉からメチル化カテキン含量の多いエキスを熱水で攪拌抽出する際、70～95℃の抽出温度、20～50倍の抽出倍率、3～15分の抽出時間の範囲内では、温度を90℃以上、倍率を20倍以上にし、時間を9～15分という条件を選択すれば同じ抽出率が得られる（図1）。

[成果の活用面・留意点]

1. エキス抽出法に関しては食品工業にも応用できる。
2. アレルギー性鼻炎の症状改善効果の認められた1日あたり34mgのメチル化カテキン（日本臨床栄養学会誌（2005）27(1),33-51）を摂取するためには、茶葉中のメチル化カテキン含量が1.5%であれば、3.8gの茶葉を約400mlの水で煮沸しながら5分以上煎じる必要がある。
3. 実験に使用したのは蒸留水であり、硬水を使用して抽出する場合は、抽出率が下がるので注意を要する。

[具体的データ] 表1 茶期、抽出条件の異なる「べにふうき」緑茶葉からのメチル化カテキン抽出率

茶期・抽出条件	EGCG3"Me抽出率 (%)	メチル化カテキン (異性体含む) 抽出率 (%)
一番茶(早摘み) 煮沸抽出1分	25.1	25.1
一番茶(早摘み) 煮沸抽出5分	68.3	70.7
一番茶(早摘み) 煮沸抽出10分	76.8	83.4
一番茶(早摘み) 煮沸抽出30分	65.6	84.9
一番茶(適期摘み) 煮沸抽出1分	25.1	25.4
一番茶(適期摘み) 煮沸抽出5分	57.9	60.8
一番茶(適期摘み) 煮沸抽出10分	65.3	73.3
一番茶(適期摘み) 煮沸抽出30分	69.4	91.5
二番茶 煮沸抽出1分	27.5	27.5
二番茶 煮沸抽出5分	57.6	60.2
二番茶 煮沸抽出10分	76.7	82.7
二番茶 煮沸抽出30分	81.6	100.0
一番茶(早摘み) 熱水静置抽出1分	19.7	19.7
一番茶(早摘み) 熱水静置抽出3分	42.3	42.3
一番茶(早摘み) 熱水静置抽出5分	49.6	49.6
一番茶(適期摘み) 熱水静置抽出1分	12.3	12.3
一番茶(適期摘み) 熱水静置抽出3分	25.3	25.3
一番茶(適期摘み) 熱水静置抽出5分	32.8	32.9
二番茶 熱水静置抽出1分	7.7	8.0
二番茶 熱水静置抽出3分	34.4	34.4
二番茶 熱水静置抽出5分	32.7	32.7
一番茶(早摘み) 4°C16時間抽出	14.0	14.0
一番茶(適期摘み) 4°C16時間抽出	13.4	13.4
二番茶 4°C16時間抽出	19.8	19.9

500mgの「べにふうき」緑茶葉から50mlの蒸留水中で抽出した。一番茶は早摘み及び適期摘みの茶葉、二番茶は適期摘みの茶葉を製茶して使用した。抽出率は、各条件抽出時メチル化カテキン含量の供試原料に含まれるEGCG3"Me量に対する比率で表した。一番茶早摘み、二番茶は30,45,60,90,120秒蒸熱後製造した茶、一番摘期摘みは30,45,60,90,120,150秒蒸熱後製造した茶を用い、値は各供試原料からの抽出率の平均値で表した。

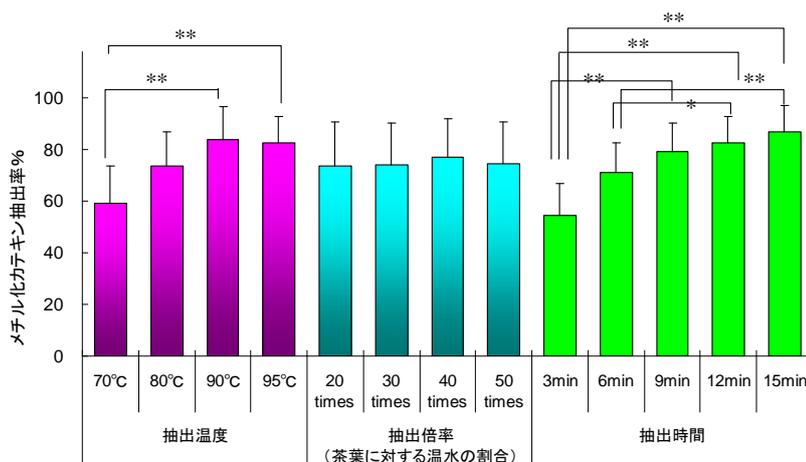


図1 抽出温度、抽出倍率、抽出時間の違いによる「べにふうき」緑茶からのメチル化カテキン抽出率

「べにふうき」緑茶葉は一番茶～秋冬番茶までを合組した2002年の茶を使用した。

抽出温度(70,80,90,95°C)、抽出倍率(20,30,40,50倍)、抽出時間(3,6,9,12,15分)をそれぞれ変えた試料を80点作成し、値は、各条件抽出液のEGCG3"Me+GCG3"Me含量の供試原料中EGCG3"Meに対する比率(平均値)とSDを表す。

*,** ; それぞれの値の間で有意差有り (P<0.05,0.01;turkey 多重比較による)

[その他]

研究課題名 : 野菜・茶の免疫調節作用、生活習慣病予防作用を持つ機能性成分の評価法と利用技術の開発

課題ID : 312-b

予算区分 : 基盤研究費

研究期間 : 2000~2007年度

研究担当者 : 山本(前田)万里、物部真奈美、廣野久子、渋谷郁雄(アサヒ飲料)、篠田有希(アサヒ飲料)、山本知広(アサヒ飲料)、鈴木優子(アサヒ飲料)

発表論文等 : Maeda-Yamamoto et al.(2005) Food Science and Technology Research,11(3):248-253

山本ら(2007) 茶業研究報告,104:43-50

[成果情報名]チャのメチル化カテキン生合成酵素 CsOMT の cDNA 単離と特性

[要約]「べにふうき」生葉から単離した cDNA から推定されるメチル化カテキン生合成酵素 CsOMT(*Camellia sinensis* O-methyltransferase)は 27.6KDa の分子量を持ち、EGCG に反応して 3 種のメチル化カテキンを生成する。

[キーワード]べにふうき、メチル化カテキン、O-メチルトランスフェラーゼ

[担当]野菜茶研・野菜・茶機能性研究チーム

[代表連絡先]電話 0547-45-4964

[区分]野菜茶業・茶業、食品

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

「べにふうき」茶葉中の epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate (EGCG³Me)等のメチル化カテキンは強い抗アレルギー作用を持ち、作用機作、代謝などが明らかになってきている。しかし、なぜ特定の品種だけがメチル化カテキンを多量に含有するのかなど解明されていない部分も多い。

「べにふうき」生葉中のメチル化カテキン生合成酵素を明らかにすることで、メチル化カテキンの生合成経路の解明、メチル化カテキン高含有品種の特性解明やメチル化カテキンの合成制御技術の開発に結びつける。

[成果の内容・特徴]

1. 「べにふうき」生葉から RACE-PCR 法で単離した cDNA から推定されるメチル化カテキン生合成酵素 CsOMT(*Camellia sinensis* O-methyltransferase)のアミノ酸配列は、タバコ、パセリ、ブドウで報告されているカフェオイル-CoA-O-メチルトランスフェラーゼと 89%以上の高い相同性を持つ (図 1)。
2. CsOMT の cDNA は 245 アミノ酸をコードする 735 塩基からなっている (図 1)。
3. CsOMT の cDNA を大腸菌に導入して発現させた酵素の分子量は 27.6KDa である (図 2)。
4. 基質として EGCG350mM を、メチル基供与体として SAM (S-adenosylmethionine) 800mM を用い、大腸菌発現粗酵素 1ml と 37°Cで一晩反応させると、EGCG の約 40%が EGCG³,5^{di}Me に、約 7%が EGCG³Me に、約 2%が EGCG⁴Me に変換される。基質に対する SAM の割合を 2 倍及び 5 倍に変えると、EGCG³Me の生成量はほとんど変化しないのに対し、EGCG³,5^{di}Me の生成量は約 2.5 倍及び 4.5 倍に増加する (図 3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本酵素を用いてメチル化カテキンの生合成 (バイオリクターレベル) が可能となり、生葉中ではほとんど検出されない EGCG³,5^{di}Me を生成させることができる。EGCG に対する SAM の割合を 5 倍以上にしても EGCG³,5^{di}Me 生成量は極端に増加しない。

[具体的データ]

CsOMT	1	MAIINGEGEQLNRHCEVGVGKSLLSQSDALYQYILETSVYPREPEPMKELREVTAKHPWNIMT	60
<i>N. tobacum</i>	1	MAIINGENG---RHCEVGVGKSLLSQSDALYQYILETSVYPREPEPMKELREVTAKHPWNIMT	57
<i>P. crispum</i>	1	MASNGEESK---HSEVGVGKSLLSQSDALYQYILETSVYPREPEPMKELREVTAKHPWNIMT	56
<i>V. vinifera</i>	1	MAIINGEAG---RHCEVGVGKSLLSQSDALYQYILETSVYPREPEPMKELREVTAKHPWNIMT	57
CsOMT	61	TSADBEQQLNMLLKLINAKNTMEIGVYFGYSLLATLALPDDGKILAMDINRDNFEIQLP	120
<i>N. tobacum</i>	58	TSADBEQQLSMLLKLINAKNTMEIGVYFGYSLLATLALPDDGKILAMDINRDNFEIQLP	117
<i>P. crispum</i>	57	TSADBEQQLNMLLKLINAKNTMEIGVYFGYSLLATLALPDDGKILAMDINRDNFEIQLP	116
<i>V. vinifera</i>	58	TSADBEQQLNMLLKLINAKNTMEIGVYFGYSLLATLALPDDGKILAMDINKENYDEIQLP	117
CsOMT	121	IIEKAGVAHKIDREKGPALPALLDQMIEDGKIHGSGDFIFVDADKDNLYNYHKRLIDLVKV	180
<i>N. tobacum</i>	118	VIEKAGLAHKIEKREKGPALVLLDQMIEDGKIHGSGDFIFVDADKDNLYNYHKRLIDLVKV	177
<i>P. crispum</i>	117	IIEKAGVGHKIDREKGPALVLLDQMIEDGKIHGSGDFIFVDADKDNLYNYHKRLIDLVKI	176
<i>V. vinifera</i>	118	VIEKAGVAHKIDREKGPALVLLDQMIEDGKIHGSGDFIFVDADKDNLYNYHKRLIDLVKV	177
		motif A	
CsOMT	181	GGLIGYDNTLWNGSVVAFPPDAPRKYVRYRDFVIELNKALAADPRIEIOMLPVGDGITL	240
<i>N. tobacum</i>	178	GGLIGYDNTLWNGSVVAFPPDAPRKYVRYRDFVIELNKALAADSRIEICQLPVGDGITL	237
<i>P. crispum</i>	177	GGLIGYDNTLWNGSVVAFPPDAPRKYVRYRDFVIELNKALAADPRIEIOMLPVGDGITL	236
<i>V. vinifera</i>	178	GGLIGYDNTLWNGSVVAFPPDAPRKYVRYRDFVIELNKALAADPRIEIOMLPVGDGITL	237
		motif B	motif C
CsOMT	241	CRRVC	245
<i>N. tobacum</i>	238	CRRIS	242
<i>P. crispum</i>	237	CRRIS	241
<i>V. vinifera</i>	238	CRRLS	242

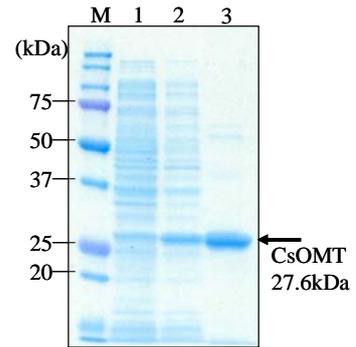


図2 CsOMT の cDNA を大腸菌で発現させて得られた酵素の電気泳動パターン
M:分子量マーカー、1:IPTG (Isopropylthiogalactoside)非誘導粗酵素
2: IPTG 誘導粗酵素 3: 精製酵素

図1 「べにふうき」茶葉から単離した cDNA から推定されるメチル化カテキン生成酵素 CsOMT のアミノ酸配列

CsOMT;本酵素、*N.tobacum* *P.crispum* *V.vinifera* はタバコ、パセリ、ブドウのカフェオイル-CoA-O-メチルトランスフェラーゼ(CCoAOMT)、白抜きで示したアミノ酸配列は4種間で完全に一致した個所を示し、モチーフA,B,Cはメチル基供与体であるSAM結合ドメインを表す

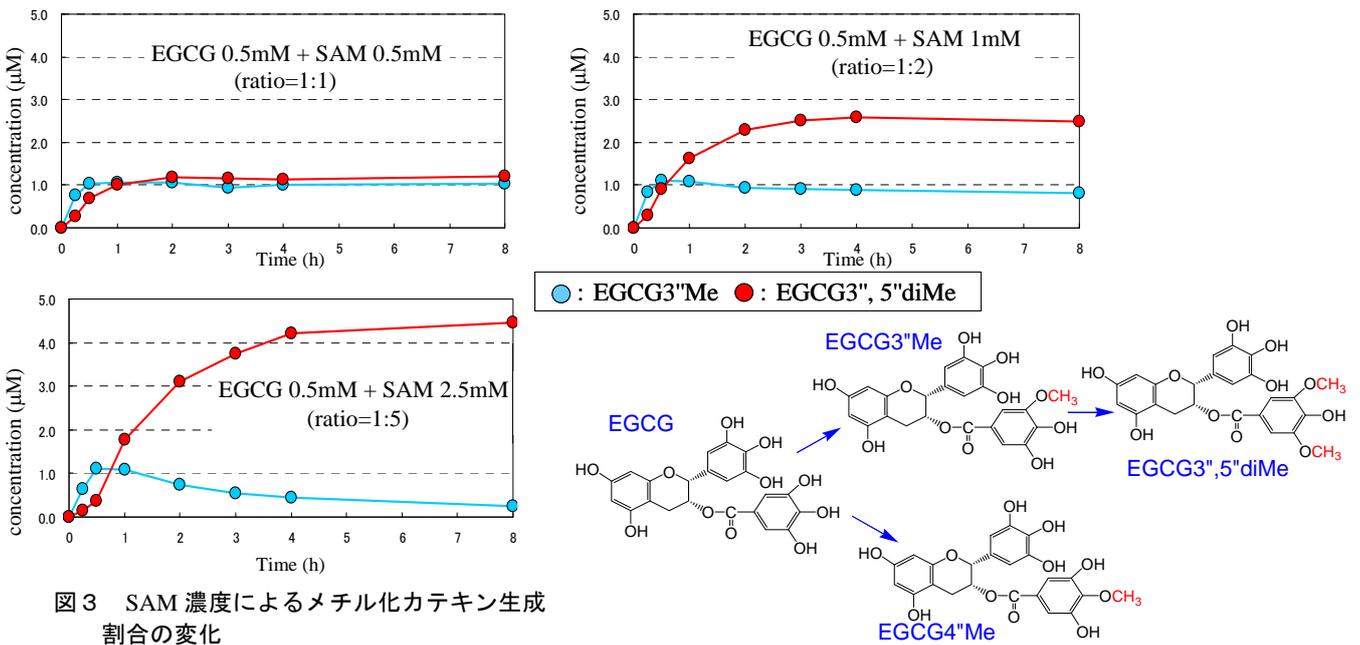


図3 SAM 濃度によるメチル化カテキン生成割合の変化

[その他]

研究課題名：野菜・茶の免疫調節作用、生活習慣病予防作用を持つ機能性成分の評価法と利用技術の開発

課題 ID : 312-b

予算区分 : 基盤研究費

研究期間 : 2003~2007 年度

研究担当者：山本（前田）万里、切田雅信（アサヒビール）、本間大樹（アサヒビール）

発表論文等：山本ら(2006)「メチル化カテキン生成酵素をコードする遺伝子」特開 2006-141242

[成果情報名]ホウレンソウ葉表面に観察される白色顆粒

[要約]ホウレンソウの葉の表裏に観察される白色顆粒は、球形で直径は 0.1 ~ 0.2mm である。本顆粒は品種に関わらず発生し、有機酸などを含む水溶液が脂溶性の膜に包まれたものである。顆粒中には糖やアミノ酸はほとんど含まれない。

[キーワード]顕微鏡観察、有機酸、異物、成分組成

[担当]野菜茶研・野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム

[代表連絡先]電話 059-268-1331

[区分]野菜茶業・野菜品質・機能性

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

ホウレンソウ葉には白色顆粒が観察され、農薬や昆虫の卵、砂粒等異物と誤解されがちである。従来はシュウ酸カリウムの結晶などと説明されてきたが、灌水や降雨の後にも存在し、また球状構造を維持することからも水溶性の高い成分の結晶としては説明がつかない。本顆粒の正体を明らかにし消費者に正確に伝える必要がある。

[成果の内容・特徴]

1. 白色顆粒はホウレンソウの葉の表裏両面に存在する(写真1)。本顆粒は直径 0.1 ~ 0.2 mm の球形であり、葉の表面と筒状の構造でつながっている(写真2)。また、ホウレンソウの品種や病害虫に関わりなく発生し、特に若い葉において高密度に観察される。
2. 白色顆粒を乾燥すると重量が 90 %程度減少する。
3. 白色顆粒は水には溶けないが、クロロホルム/メタノール溶液中では破壊される(写真3)。また、高濃度の硫酸アンモニウム溶液中では変形する。これらのことから、白色顆粒は水溶性物質の結晶ではなく、半透性で脂溶性の膜が水溶液を包んで風船のように膨らんだものである。
4. 遊離糖、アミノ酸、有機酸の含量について、顆粒と顆粒を採取した葉身との間で比較した結果、顆粒中には糖、アミノ酸はほとんど含まれず、シュウ酸などの有機酸が含まれる(図1)。顆粒中のシュウ酸含量は、葉身中の含量よりやや高い程度である。

[成果の活用面・留意点]

1. 本成果は消費者からの相談などの場面で活用する。
2. 白色顆粒はホウレンソウ植物体由来であるが、生成メカニズムや植物生理学的な意義については未解明である。
3. 白色顆粒は指などで触れれば簡単に落ちる。本顆粒が付着したホウレンソウ葉をそのまま食したとしても、顆粒由来のシュウ酸の摂取量は無視できる量である。

[具体的データ]



写真1 ホウレンソウ葉の表面に観察される白色顆粒



写真2 白色顆粒の実体顕微鏡写真
*矢印は0.5 mmを示す。

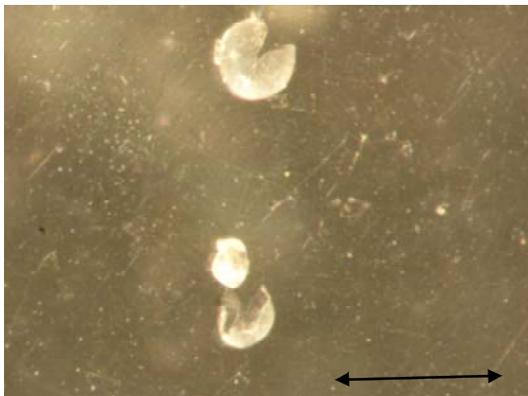


写真3 クロロホルム/メタノール溶液に浸せきした白色顆粒
*矢印は0.5 mmを示す。

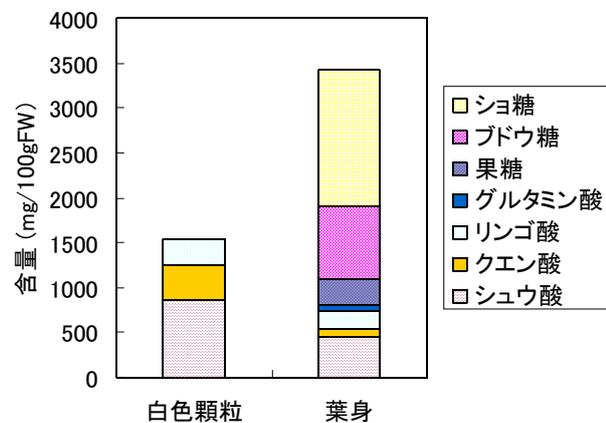


図1 ホウレンソウの葉身と白色顆粒の成分比較

[その他]

研究課題名：野菜・茶の食味食感評価法の高度化と高品質流通技術の開発

課題 ID：311-g

予算区分：交付金プロ（品質評価法）

研究期間：2004～2006年度

研究担当者：堀江秀樹

発表論文等：堀江(2008)園学研、7:135-138

[成果情報名] 日本品種と中国およびベトナム産チャにおける葉緑体 DNA 塩基配列の差異

[要約] 主要な日本チャ品種の葉緑体 *rbcL-accD* 領域の塩基配列は、「からべに」を除き 2 種類のタイプに分類される。一方で、中国およびベトナム産栽培チャでは多数のタイプが存在するため、この領域は日本品種と中国産およびベトナム産栽培チャの識別に利用できる。

[キーワード] チャ、葉緑体 DNA、塩基配列

[担当] 野菜茶研・野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム

[代表連絡先] 電話 0547-45-4982

[区分] 野菜茶業・茶業

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

緑茶については原産国表示が義務付けられており、その表示を検証する技術の開発が求められている。葉緑体 DNA は細胞内でのコピー数が多いため、製茶葉より抽出した DNA から容易に PCR で増幅が可能である。本研究成果では、葉緑体 DNA の塩基配列中に、日本品種と外国産茶、特に輸入の大半を占める中国産およびベトナム産茶（ただし現地の品種・系統を使用したもの）を識別可能な差異を見出すことを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. 解析に用いた *rbcL-accD* 領域は、葉緑体 *rbcL* 遺伝子の 3'末端側約 60 bp、*accD* 遺伝子の 5'末端側約 930 bp、両遺伝子間の非コード領域約 530 bp を含む。この領域では 12ヶ所の一塩基多型 (SNP)、1 個の simple sequence repeat (SSR) および 2ヶ所の insertion/deletion polymorphism (In/Del) が見出される。SNP のうち 4ヶ所は非コード領域に、残り 8ヶ所は *accD* コード領域に存在する。SSR は非コード領域に、2ヶ所の In/Del はいずれも *accD* コード領域に存在する。*rbcL* コード領域には多型は存在しない。
2. 表 1 に示すように、分析した 21 の日本品種のうち、日本在来チャより選抜された 18 品種は、配列中に見出された 2つの SNP により 2つのタイプに分類される。葉緑体 DNA は母性遺伝するため、これらの品種を種子親とする品種も同様のタイプであると考えられる。日本品種のうち、インドのアッサム地方より導入されたアッサム変種を種子親とする「はつもみじ」および「べにほまれ」の 2 品種も、これら 2つのタイプに分類される。中国湖北省より導入された中国変種を種子親とする「からべに」は別のタイプに分類される。
3. 日本品種に比べ、分析に用いた 28 個体（品種 6つを含む）の中国産在来栽培チャおよび 7 個体のベトナム産在来栽培チャでは、日本で見出された 2つに加え多数のタイプが見出される（表 2）。以上より、葉緑体 *rbcL-accD* 領域は、日本品種と中国産およびベトナム産在来栽培チャの識別に利用可能である。
4. 中国雲南省で採集されたチャでは、近縁種の *Camellia taliensis*、*C. irrawadiensis* に特徴的な In/Del のうち 1つまたは 2つを有する個体が見出される（表 2、表 3 のタイプ VI, VII）。

[成果の活用面・留意点]

1. 一般的な日本品種は 2つのタイプに分類されるため、市販緑茶について、これ以外のタイプを検出した場合、日本品種ではない品種がブレンドされている可能性が高い。「からべに」については、少量（平成 16 年の時点では全国で 0.3 ha 程度、総茶園面積の 0.00061%）ではあるが栽培されているため、検出される可能性がある。
2. 日本品種の持つ 2つのタイプは、日本品種に固有のものではなく、外国産茶でも見出されるものである。従って、これら 2つのタイプのみが検出されたとしても、日本品種 100% で構成されることを保証するものではない。

[具体的データ]

表1 日本品種の葉緑体 *rbcL-accD* 領域の塩基配列による分類

タイプ	実験に用いた品種	左に掲げた品種を種子親とする品種 ¹⁾
Ia	やぶきた、あさぎり、あさひ、ごこう、こまかげ、きょうみどり、さみどり、はつもみじ	めいりよく、おくひかり、おくみどり、さやまかおり、やまかい、みねかおり、みなみかおり、さえみどり、さわみずか、みねゆたか、みえ緑萌1号、あさのか、山の息吹、香駿、さきみどり、むさしかおり、そうふう、ゆめわかば、ゆめかおり、はるもえぎ、つゆひかり、さいのみどり
II	あさつゆ、さやまみどり、うじひかり、やまとみどり、かなやみどり、くりたわせ、まきのはらわせ、なつみどり、やえほ、たかちほ、ひめみどり、べにほまれ	ゆたかみどり、おおいわせ、べにふうき、ほくめい、松寿、摩利子、はるみどり
III	からべに	

¹⁾: 栽培面積の多い品種および1990年以降に種苗登録された品種のみを示す

表2 分析したチャで見出された多型とそれに基づく分類

タイプ	多型部位															Accession No
	280 ¹⁾	349	495	503	528	645	692	703	764	954	1038	1107	1218	1328	1375	
I a	C	C	C	T	(T) ₁₁	T	G	G	G	G	A	G	sin	sin	G	AB207869
b	・ ²⁾	・	・	・	(T) ₁₄	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	AB231630
II	・	・	・	・	・	・	A	・	A	・	・	・	・	・	・	AB231628
III	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	C	・	・	・	・	AB231629
IV a	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	A	・	・	・	AB231631
b	・	・	・	・	(T) ₁₃	・	・	・	・	・	・	A	・	・	・	AB231632
c	・	・	・	・	(T) ₁₄	・	・	・	・	・	・	A	・	・	・	AB231633
V a	・	・	・	・	(T) ₁₃	C	・	・	・	・	・	A	・	・	・	AB231634
b	・	・	・	・	(T) ₁₄	C	・	・	・	・	・	A	・	・	・	AB231635
VI a	・	・	・	・	(T) ₁₂	・	・	A	・	A	・	A	ta/ir	・	T	AB231636
b	・	・	・	・	(T) ₁₃	・	・	A	・	A	・	A	ta/ir	・	T	AB231637
c	・	・	・	・	(T) ₁₅	・	・	A	・	A	・	A	ta/ir	・	T	AB231638
VII	T	T	T	・	(T) ₁₇	・	・	A	・	A	・	・	ta/ir	ta/ir	T	AB231639
VIII	・	・	・	G	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	・	AB306664

多型部位のうち528位はSSR、1218および1328はIn/Del、他はSNP

■: 非コード領域、■: *accD* コード領域

¹⁾: 「やぶきた」の塩基配列における位置を表す

²⁾: ・は塩基配列がIaタイプのそれに一致することを表す

sin, ta/ir: In/Delがシネンシス、またはタリエンシス/イラワジエンシス型であることを示す

表3 産地ごとの各タイプの検出数

産地	タイプ													
	Ia	Ib	II	III	IVa	IVb	IVc	Va	Vb	VIa	VIb	VIc	VII	VIII
日本	8		12	1										
中国	7		2			1	2	1	2	4	6	1	1	1
ベトナム	2	1			1	3								

[その他]

研究課題名: 農産物や加工食品の簡易・迅速な品種識別・産地判別技術の開発

課題ID: 324-a

予算区分: 委託プロ (食品プロ)

研究期間: 2007年度

研究担当者: 氏原ともみ、林宣之

発表論文等: Ujihara et al. (2007) Tea Research Journal, 104: 15-23

[成果情報名]ウシラクトフェリンは培養骨芽細胞による骨様組織の形成を促進する

[要約] ウシラクトフェリンはヒト骨肉腫細胞の骨芽細胞分化を促進し、細胞外マトリックスへのカルシウム沈着による骨様組織の形成を促す。

[キーワード]骨組織再生、石灰化、コラーゲン、骨形成サイトカイン

[担当]畜産草地研・畜産物機能研究チーム

[代表連絡先]電話 029-838-8687

[区分]畜産草地

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

近年の再生医学の発展に伴い、培養細胞・骨形成サイトカイン・細胞外マトリックスを組み合わせた様々な人工骨の形成方法が考案されている。牛乳・初乳中に多く含まれる多機能蛋白質であるラクトフェリンが、局所で骨組織の再生を促進するサイトカインとして利用可能か、培養骨芽細胞を用いて検討する。

[成果の内容・特徴]

1. MG63 細胞はヒト骨肉腫由来の株化細胞である。コンフルエントに達した MG63 細胞にデキサメサゾンを投与することにより、コラーゲンの産生量とアルカリフォスファターゼの活性が上昇し、骨芽細胞様の細胞に分化が誘導される。さらに培養を継続すると非コラーゲン性の骨基質蛋白質であるオステオカルシンが生成され、コラーゲンマトリックスにカルシウムが沈着する（石灰化）ことで骨様組織が形成される。
2. MG63 細胞の培養液にウシラクトフェリンを最終濃度 $1 \mu\text{M}$ で添加すると、コラーゲンマトリックスへのカルシウムの沈着（図 1 A）・オステオカルシンの生成（図 1 B）が促進される。
3. MG63 細胞の培養液へのラクトフェリン添加（最終濃度 $1 \mu\text{M}$ ）により、アルカリフォスファターゼの比活性が上昇する（図 2 A）。また、コラーゲン産生量も増大する（図 2 B）。

[成果の活用面・留意点]

1. ラクトフェリンは抗菌作用、消炎・鎮痛作用を併せ持ち、アレルギー性が極めて低いことが既知の骨形成サイトカインと比較して有利な点である。
2. 水溶液としてラクトフェリンを投与した場合の効果は一過性であるので、有効濃度のラクトフェリンを持続的に標的部位に供給する方法を開発する必要がある。

[具体的データ]

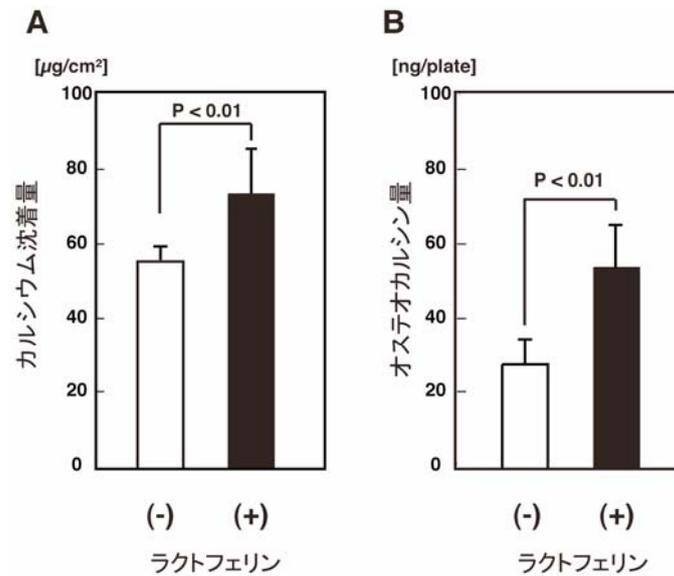


図1 ウシラクトフェリンは、MG63 細胞によるカルシウムの沈着 (A) およびオステオカルシンの生成 (B) を促進する。

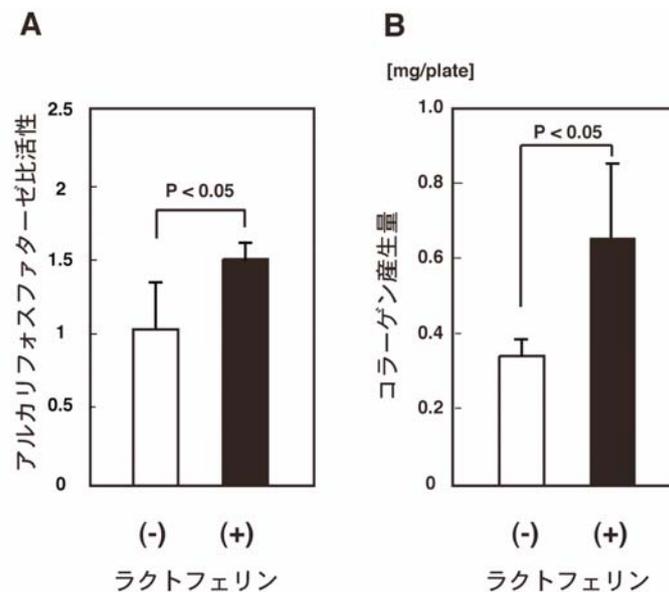


図2 ウシラクトフェリンは、MG63 細胞のアルカリフォスファターゼ比活性 (A) を上昇させ、コラーゲン産生を促進する (B)。

[その他]

研究課題名：プロバイオティック乳酸菌等を活用した機能性畜産物の開発

課題 ID： 312-d

予算区分：科研費 (若手研究 B)

研究期間：2006 年～2010 年度

研究担当者：高山喜晴、水町功子

発表論文等：Takayama et al. (2008) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72(1): 226-230

[成果情報]小麦胚芽を用いた γ -アミノ酪酸(GABA)の効率的生産法

[要約]小麦胚芽を GABA 合成酵素源とし、グルタミン酸ナトリウム量、ピリドキサルリン酸量、反応液 pH、反応温度および反応時間を最適化することにより GABA を効率的に合成できる。合成した GABA をスプラウトへ施用することで、GABA 高含有スプラウトを生産できる。

[キーワード] γ -アミノ酪酸 (GABA)、小麦胚芽、スプラウト

[担当]北海道農研・野菜・茶機能性研究チーム、機能性利用研究北海道サブチーム、パン用小麦研究チーム、寒地地域特産研究チーム、寒地バイオマス研究チーム

[代表連絡先]電話 011-857-9260、電子メール seika-narch@naro.affrc.go.jp

[区分]北海道農業・畑作、野菜茶業・野菜品質・機能性

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

γ -アミノ酪酸 (Gamma Amino Butyric Acid (GABA)) は、神経伝達物質作用を示すアミノ酸であり、生体内ではグルタミン酸脱炭酸酵素 (GABA 合成酵素) によってグルタミン酸から生合成される。この GABA には血圧降下作用、精神の安定化作用 (抗ストレス作用) 等の生理作用が報告されている。現在 GABA 関連食品が数多く市販されているが、その原料価格は高く、GABA は高額で取引されているのが現状である。そこで、GABA 合成酵素活性があるとされる小麦製粉工程で得られる小麦胚芽を利用して、従来品より安価な GABA の生産技術を開発し、生産した GABA の施用による GABA 高含有野菜スプラウトを生産する。

[成果の内容・特徴]

1. GABA 生成率は市販小麦胚芽が 99.7%と最も高く、次いで小ブスマ 94.3%、米ぬか 69.7%である。GABA の生成量はグルタミン酸量に依存し、100 g/l (グルタミン酸 Na として 114.9 g/l) 添加することによって、66.2 g/l の GABA が得られる。また GABA の生成量はピリドキサルリン酸量に依存し、100 mg/l 以上添加することによって、99%以上の生成率が得られる (表 1)。
2. 小麦胚芽中の GABA 合成酵素活性は反応液 pH5.8 で最も高く、反応温度 40°C で最も高い (表 2)。
3. GABA の生成率は反応 3~4 時間ではほぼ 100%となり約 45 g/l の GABA が得られる。その後、生成率はほぼ 100%を維持するが反応 7 時間以上では反応液の酸化、雑菌の増殖等による反応液の色、風味の劣化が起こる (表 3)。
4. 水耕栽培のカイワレダイコン、ブロッコリー、ソバおよびダッタンソバのスプラウトは給水のみの場合でも 1~10 mg/100gFW の GABA を含有するが、10 g/l の濃度に調整した GABA 液を 50 ml、16 時間水耕施用することで約 40~80 mg/100gFW に増加する (図 1)。

[成果の活用面・留意点]

1. 合成反応及び GABA 液の分離に際し攪拌機、恒温器、遠心機等の機材が別途必要となる。
2. 本成果における GABA 生産に関わる原料コストは GABA 1 kg あたり 3808 円である。

平成 19 年度北海道農業試験会議 (成績会議) における課題名及び区分

「小麦胚芽を利用した γ -アミノ酪酸の効率的生産方法とスプラウトへの応用」(研究参考)

[具体的データ]

表1 酵素源、グルタミン酸量及びピリドキサルリン酸量がGABA生成に及ぼす影響

	酵素源			グルタミン酸量 (g/l)				ピリドキサルリン酸量 (mg/l)				
	小麦胚芽	小ブスマ	米ぬか	60	80	100	200	0	5	20	100	300
Glu-Na残存量 (g/l)	0.2	4.0	20.2	0.3	0.5	4.6	143.1	57.3	29.8	4.0	0.2	0.4
GABA生成量 (g/l)	44.7	40.6	28.3	44.9	56.3	66.2	48.8	7.7	26.3	38.8	44.7	46.3
GABA生成率 (%)	99.7	94.3	69.7	99.6	99.5	95.9	35.9	18.1	59.1	94.1	99.7	99.5

生成率は, MW: Glu-Na=169.13, Glu=147.13, GABA=103.12から算出した.

表2 反応液のpH及び温度がGABA生成に及ぼす影響

	反応液pH										反応温度 (°C)				
	4.0	4.5	5.0	5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.5	7.0	30	35	40	45	50
GABA合成酵素活性 (U)	17	47	127	163	188	210	243	187	36	18	71	112	263	187	193

反応温度40°Cで1分間に1mgのGABAを生成する酵素量を1Uとした. pH調整には35%食添用塩酸を用いた.

表3 反応時間がGABA生成に及ぼす影響

反応時間 (時間)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Glu-Na残存量 (g/l)	59.6	18.7	5.6	1.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
GABA生成量 (g/l)	3.5	29.2	40.0	43.5	44.7	45.1	46.2	46.9	45.8
GABA生成率 (%)	5.6	61.1	87.7	97.7	99.5	99.7	99.8	99.8	99.8
反応液の評価 (色・風味)	◎	◎	◎	◎	◎	○	△	×	×

◎:非常に良好、○:良好、△:やや劣る、×:劣る

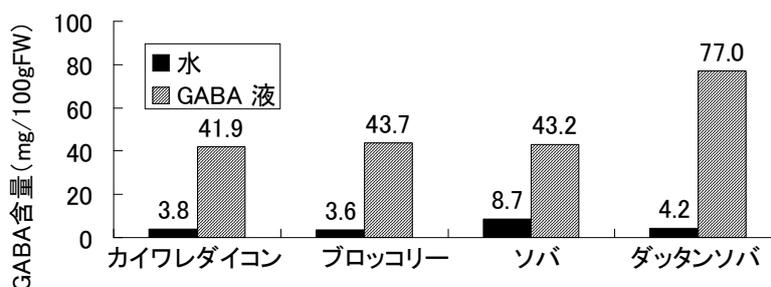


図1 GABA施用がスプラウトのGABA含量に及ぼす影響

注)水:給水のみ、GABA液:50 ml(濃度10 g/l)のGABA液を16時間施用した.

[その他]

研究課題名: 野菜・茶の免疫調節作用、生活習慣病予防作用を持つ機能性成分の評価法と利用技術の開発

課題ID : 312-b

予算区分 : 都市エリア事業

研究期間 : 2005~2007年度

研究担当者: 瀧川重信、鈴木達郎、橋本直人、山内宏昭、遠藤千絵、斉藤勝一

発表論文等: 鈴木ら (2007) 「GABA、ビタミンU、タウリン、カルノシン Tyr-Pro およびまたはL-カルニチンを高濃度に含有する食用植物体及びその製造方法」 特開 2007-89572

[成果情報名]エゴマ種子タンパク質の抽出と栄養特性

[要約]エゴマ種子タンパク質の多くは緩衝液か食塩水で抽出可能で、トリプシンインヒビター活性がほとんどなく、消化性も良好なため、エゴマ搾油残渣はタンパク質食材としての利用が有望である。

[キーワード]エゴマ、種子タンパク質、アミノ酸組成、消化性

[担当]東北農研・寒冷地特産作物研究チーム

[代表連絡先]電話 019-643-3414

[区分]東北農業・流通加工

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

エゴマは東北地域で全国の約60%に相当する120haが作付けられており、エゴマ油はアレルギー抑制効果があると考えられている α -リノレン酸やルテオリンを特異的に高含有する。エゴマ種子の搾油残渣は現在そのまま廃棄されているが、タンパク質を約20%も高含有することから、タンパク質食材として利用するため、エゴマ種子タンパク質の特性を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 脱脂エゴマ種子を20 mmol/L トリス塩酸緩衝液、0.5 mol/L 食塩水、70%エタノールおよび3% 酢酸を用いて順次抽出すると、ほとんどのタンパク質は緩衝液と食塩水で抽出される(表1)。
2. エゴマ種子の緩衝液と食塩水抽出のタンパク質の構成アミノ酸に大きな差はなく、グルタミン(酸)、グリシン、アスパラギン(酸)、アルギニン、バリンが多く、メチオニンとヒスチジンが少ない(表2)。
3. エゴマ種子の緩衝液抽出および食塩水抽出のタンパク質は、ブタのペプシンで主に構成される人工胃液でいずれも30秒以内に速やかに消化される(図1)。
4. エゴマ種子の緩衝液と食塩水で抽出のタンパク質は、ダイズ種子を同様に抽出したタンパク質と異なり、トリプシンインヒビター活性はほとんど認められない(表3)。

[成果の活用面・留意点]

1. エゴマ搾油残渣をタンパク質食材に利用する場合、残留する不飽和脂肪酸の酸化防止か除去が必要である。また、搾油残渣そのままの状態では食感が良くないため、細かく粉砕したり、タンパク質を抽出してから、他の食品に加える必要がある。
2. エゴマ種子は搾油されるだけでなく、エゴマ餅やエゴマ味噌などの形でこれまでも食されている。

[具体的データ]

表1 エゴマ種子のタンパク質抽出量

抽出液	抽出量 (mg/g)
20 mmol/L リン酸緩衝液	59.4
緩衝液+0.5 mol/L 食塩	74.6
70%エタノール	4.1
3%酢酸	0.5
合計	138.6

※タンパク質抽出量は脱脂前の種子重量あたりで表示

表2 エゴマ種子タンパク質のアミノ酸組成

アミノ酸	構成比 (%)	
	緩衝液抽出	食塩水抽出
Asx	10.1	8.8
Thr	4.2	3.5
Ser	7.0	7.0
Glx	16.9	18.9
Gly	13.9	12.4
Ala	8.1	7.9
Val	9.7	9.9
Met	微量	微量
Ile	3.7	3.7
Leu	6.7	6.6
Tyr	2.9	2.9
Phe	3.1	4.1
Lys	5.2	4.1
His	微量	微量
Arg	8.7	10.6

表3 エゴマタンパク質のトリプシン様活性
およびトリプシンインヒビター活性

タンパク質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	活性(%)
トリプシン	25	100 ①
エゴマ緩衝液抽出	400	27.3 ②
エゴマ食塩水抽出	400	6.3 ③
ダイズ緩衝液抽出	100	35.8 ④
ダイズ食塩水抽出	100	16.4 ⑤
①+②		88.1
①+③		134
①+④		49.3
①+⑤		16.0

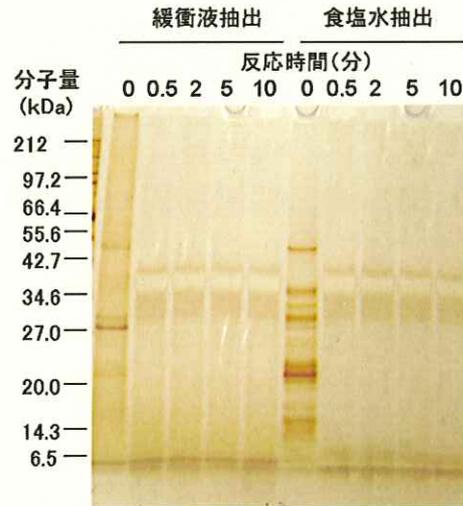


図1 エゴマ種子タンパク質の人工胃液による消化

[その他]

研究課題名：寒冷地における地域特産作物の優良品種の育成及び利用技術の開発

課題 ID：311-f

予算区分：基盤（所内活性化）

研究期間：2007 年度

研究担当者：老田 茂、澁谷幸憲、木村俊之、二瓶直登（福島農総セ）、棚橋 紺（福島農総セ）

[成果情報名] 1-デオキシノジリマイシン高含有桑葉エキスの食後血糖値上昇抑制効果

[要約] 桑葉から調製した1-デオキシノジリマイシン高含有桑葉エキスは、食前の摂取で食後血糖値の上昇とインスリンの分泌を抑制し、一ヶ月以上連続摂取しても低血糖を起こさない。

[キーワード] 桑、食後血糖値、糖負荷試験、1-デオキシノジリマイシン

[担当] 東北農研・寒冷地バイオマス研究チーム

[代表連絡先] 電話 019-643-3414

[区分] 東北農業・流通加工

[分類] 研究・普及

[背景・ねらい]

2型糖尿病の発症予防および進展遅延のためには食後の急峻な血糖値の上昇をコントロールする事が最も肝要である。 α -グルコシダーゼ阻害物質 (α -GI) は、腸管における糖の吸収を遅延させ、食後の高血糖及びインスリン過分泌を抑制する。これにより2型糖尿病発症を予防しうることが示され、 α -GI 食品が注目されている。桑葉は古来糖尿病の治癒効果が謳われ、強力な α -GI 活性を有することが判明している。しかし、一般に桑葉は品質のばらつきが大きく、効果が弱い。このため、桑葉が有する強力な α -GI 物質である1-デオキシノジリマイシンに着目した桑葉エキスの有効摂取量を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

1. 7～8月の桑の枝先端から20cm以内の桑葉を50～80%のエタノール水で抽出し粉末化する。このエキスを元に試験食を製造する(図1、表1)。
2. ヒトへのショ糖負荷試験において、桑葉エキスは用量に依存し、0.8g以上の摂取により負荷後(食後)の血糖値上昇を抑制し、その結果インスリン値の上昇も抑制する(図2)。
3. 有効投与量である1.2gの桑葉エキスの健常なヒトへの毎食前の38日間の連続摂取では、有害事象は観察されず、低血糖を起こさない(図3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本桑葉エキスの製造法は特許出願を行っている。
2. 本試験は「しんいちのせ」を使用した。汎用品種である「一ノ瀬」、「改良鼠返」などは同様の製品が製造可能である。
3. 1-デオキシノジリマイシンは膵臓へ働きかけるものではないと考えられている。
4. 本成果は桑エキスが糖尿病予防食材として有望であり、その機能性を科学的に示したものであるが、商品の効能を謳うものではない。
5. 安全性に関しては今後の一層の検討が必要である。

[具体的データ] 表1 桑葉エキス試験食概要

原料組成 (500 mg / カプセル)

桑葉エキス (416.5 mg),
ゼラチン (75 mg) 二酸化ケイ素 (8.5 mg)

栄養成分表 (/100 g)

カロリー 310 kcal タンパク質 20 g 脂質 0 g
炭水化物 58 g ナトリウム 90 mg
1-デオキシノジリマイシン 1.5 g



図1 桑葉エキス試験食

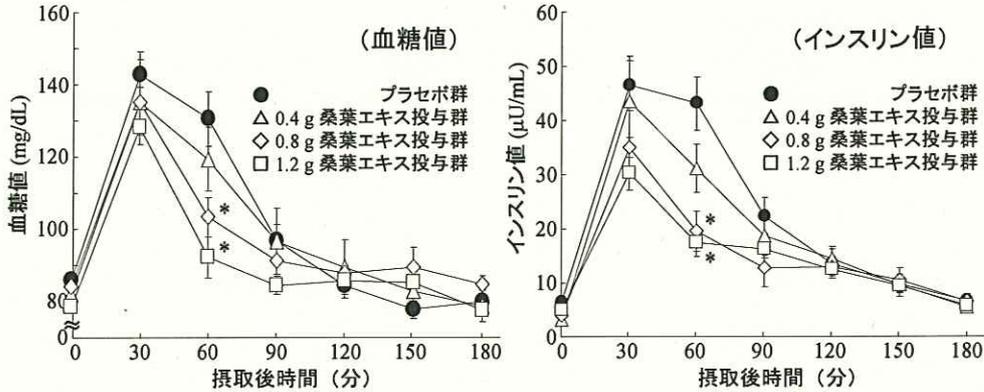


図2 ショ糖負荷条件における桑葉エキスが血糖とインスリン値に与える影響

健康人 24 人を 4 群に分け、各群 0g (プラセボ群)、0.4g、0.8g、1.2g の桑葉エキス試験食と 50g のショ糖を同時に経口投与した。投与後経時的に採血し血糖値、インスリン値を測定した。データは平均値±標準誤差 (n=6) で示す。

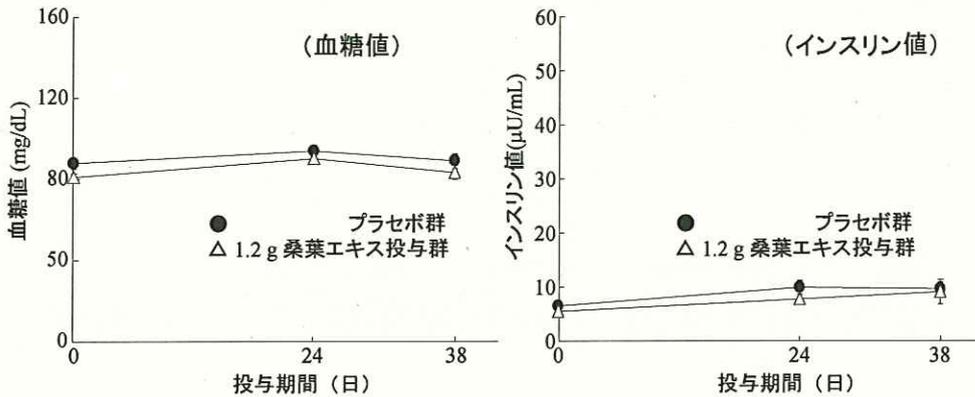


図3 桑葉エキスの長期間摂取が血糖値とインスリン値に与える影響

健康人 12 人を 2 群に分け、0g (プラセボ群)、1.2g (投与群) の桑葉エキスを毎食前 38 日間連続投与した。0、24、36 日後に採血し血糖値、インスリン値を測定した。データは平均値±標準誤差 (n=6) で示す。

[その他]

研究課題名: 寒冷地における地域特産作物の優良品種の育成及び利用技術の開発

課題 ID: 311-f

予算区分: 委託プロ (食品プロ)

研究期間: 2006~2007 年度

研究担当者: 木村俊之、仲川清隆 (東北大)、小島芳弘 (ミナト製薬)、及川眞一 (日医大)、宮澤陽夫 (東北大)

発表論文等: 1) 宮澤ら (2007) 「1-デオキシノジリマイシンを高含有する組成物の製造方法」

特許公開 2007-063233

2) Kimura T. et al. (2007) *J.Agric.Food.Chem.* 55:5869-5874

[成果情報名]小麦アレルゲン・リポドトランスファープロテインを検出できる抗ペプチド抗体

[要約]小麦の水溶性アレルゲンタンパク質であるリポドトランスファープロテイン(LTP)の部分ペプチドを抗原とする抗体は、小麦とライ麦の LTP と特異的に結合し、2ng 以上の精製小麦 LTP を検出できる。

[キーワード]小麦アレルギー、LTP、抗ペプチド抗体、イムノプロット、酵素免疫測定

[担当]東北農研・パン用小麦研究東北サブチーム

[代表連絡先]電話 019-643-3414

[区分]東北農業・流通加工、作物・冬作物

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

日本における食品アレルギー患者の約 10%が小麦アレルギー患者であるため、小麦は食品への表示義務があるアレルギー原材料 5 品目の一つに指定されている。食品中の小麦タンパク質の混入を検出するためのキットが市販されているが、主に水難溶性アレルゲンタンパク質であるグリアジンの抗体を用いて検出しているため、水溶性アレルゲンタンパク質であるリポドトランスファープロテイン (LTP) は検出できない。LTP は分子量約 9kDa の塩基性タンパク質で、種々の穀類や野菜、果樹などに広く含まれている。そこで、小麦 LTP を特異的に検出するため、小麦 LTP の部分ペプチドを抗原とする抗ペプチド抗体を作製し、その特性を明らかにする。

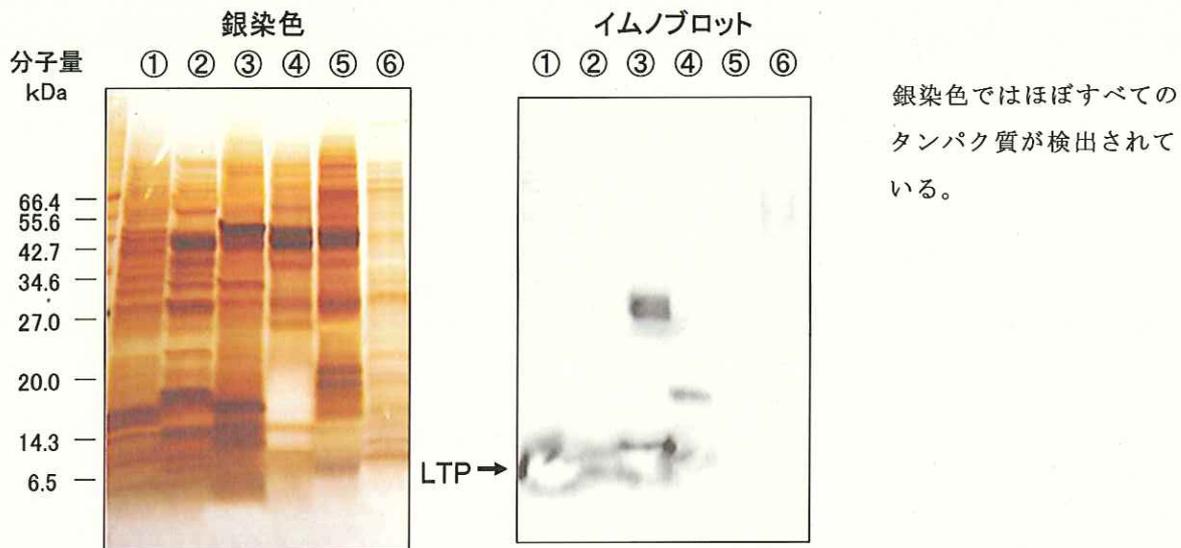
[成果の内容・特徴]

1. 小麦 LTP の 17~27 番アミノ酸からなる部分ペプチド (VQGGPGPSGQC) を合成してキャリアタンパクに結合させた後、ウサギ 1 羽に免役し、全血を Protein-A カラムで精製することにより、5.75mg/mL の抗体 (免疫グロブリン G) が 42mL 得られる。
2. 本抗体と各種穀類種子の水抽出タンパク質 20 μ g ずつを用いてイムノプロットを行うと、抗体は小麦とライ麦の LTP に強く結合し、約 30kDa のライ麦タンパク質や約 20kDa のエン麦タンパク質にも交差反応するが、米やトウモロコシの水抽出タンパク質には交差しない (図 1)。また、本抗体はニンジンやリンゴの水抽出タンパク質にも交差しない。
3. 本抗体を麦類水抽出タンパク質 5 μ g ずつと反応させると、小麦とライ麦の LTP のみが検出され、1 μ g の小麦およびライ麦の水抽出タンパク質と反応させても LTP の検出が可能である (図 2)。
4. 本抗体は酵素免疫測定法により、2ng 以上の精製小麦 LTP を検出できる (図 3)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本抗体は食品に混入する微量の水溶性小麦タンパク質の検出に応用できる。
2. 本抗体はライ麦の LTP にも反応するため、ライ麦が混入する可能性がある食品の小麦水溶性タンパク質の検出では注意を要する。

[具体的データ]



①小麦、②大麦、③ライ麦、④エン麦、⑤米、⑥トウモロコシ

図1 抗小麦 LTP 抗体の各種穀類種子水抽出タンパク質に対する交差性
タンパク質各 20 μ g ずつを電気泳動し、抗体を 5,000 希釈して使用

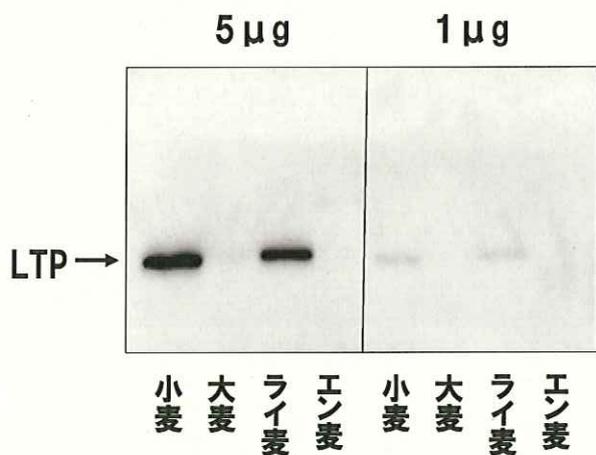


図2 麦類水抽出タンパク質のイムノブロット
タンパク質 1 および 5 μ g ずつを電気泳動
1 μ g でも小麦とライ麦で LTP が検出できる

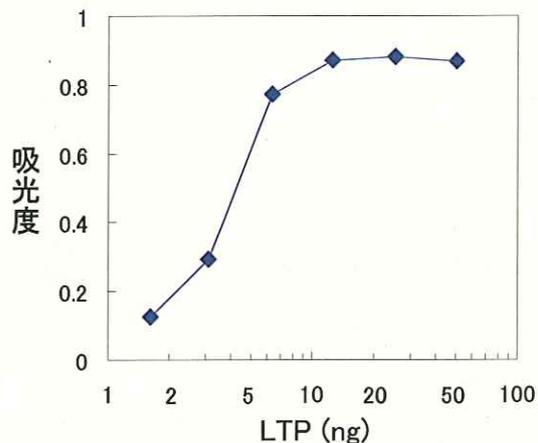


図3 精製小麦 LTP の酵素免疫測定
抗原をプレートに直接吸着させて測定

[その他]

研究課題名：実需者ニーズに対応したパン・中華めん用等小麦品種の育成と加工・利用技術の開発

課題 ID：311-c

予算区分：基盤研究費、重点研究強化

研究期間：2006～2007 年度

研究担当者：老田 茂

発表論文等：老田(2007)、特願 2007-265281