

平成 22 年度
食品試験研究成果情報

第 23 号

平成 23 年 3 月



農 研 機 構
食品総合研究所



ま え が き

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所において平成22年度に実施した食品分野の研究を対象に、「普及に移しうる成果」ならびに「その他参考となる成果」を選定した。

「普及に移しうる成果」は5課題で、「食中毒菌迅速多重検出システムの実用化と開発培地の優位性検証」、「無機元素組成によるカボチャの原産国判別」、「アクリルアミド分析のためのほうじ茶標準物質」、「SSR マーカーを用いたコメの高精度品種鑑定法」、「グルタチオンを利用したグルテンフリー米粉パンの製造基盤技術」である。

「その他参考となる成果」として12課題、他の推進会議で承認された成果情報から食品試験研究に関連する4課題を「関連資料」として掲載した。

これらの成果情報が、農業・食品分野における研究や技術開発に少しでもお役に立てれば幸甚である。

平成23年3月

独立行政法人
農業・食品産業技術総合研究機構
食品総合研究所
所長 林 清

成果情報の分類

成果情報は、その活用面からみた性質に応じて、「技術」「研究」「行政」の３種類とするが、「技術」と「行政」に係わる成果で、一体で記載した方がいい内容のものは「技術及び行政・普及」のように記載する。

成果情報の種類と区分の基準表

		主要研究成果の区分	
		普及に移しうる成果 【普及】	その他参考となる成果 【参考】
主要研究成果の種類	【技術】	〔対象〕 農業者・普及センター・農協・メーカー・消費者・検査機関・事業者など 〔内容〕 主に農業・食品産業上の技術革新に関するもので、生産技術等として普及・活用される成果	
		生産及び農村の現場や食品関連の製造・流通業者において、実用的に利用され得る技術等	今後の発展が見込まれる、有望な素材技術、プロトタイプ等
	【研究】	〔対象〕 試験研究機関（独立行政法人・都道府県・民間・大学等）など 〔内容〕 主に科学的な技術・情報に関するもので、学術的に高度で、有効な新手法、新知見等の成果	
		科学的価値及び質が高い新知見として研究の場等で活用され得る新技術、新手法等	今後の研究発展が見込まれる参考知見、手法等
	【行政】	〔対象〕 農林水産省・地方農政局等・都道府県（行政部局）など 〔内容〕 主に行政施策の手法に関するもので、行政施策の改善に、極めて有効または参考になる成果	
		事業・制度への具体的提案や政策判断、技術指針、事業実施の場で使われ得る新知見、新手法等	政策等への参考知見、手法等

平成22年度 食品試験研究成果情報

1) 普及に移しうる成果

1. 食中毒菌迅速多重検出システムの実用化と開発培地の優位性検証【技術・普及】…………… 4
食総研・食品安全研究領域・食品衛生ユニット
2. 無機元素組成によるカボチャの原産国判別【技術及び行政・普及】…………… 6
食総研・食品分析研究領域・分析ユニット
3. アクリルアミド分析のためのほうじ茶標準物質【技術・普及】…………… 8
食総研・食品分析研究領域・状態分析ユニット
4. SSRマーカーを用いたコメの高精度品種鑑定法【技術・普及】…………… 10
食総研・食品素材科学研究領域・穀類利用ユニット
5. グルタチオンを利用したグルテンフリー米粉パンの製造基盤技術【研究・普及】…………… 12
食総研・食品素材科学研究領域・蛋白質素材ユニット

2) その他参考となる成果

1. 発芽玄米のマウスの不安軽減効果【研究・参考】…………… 14
食総研・食品機能研究領域・栄養機能ユニット
2. 効率的な消費者の情報理解のための情報提示方法【研究・参考】…………… 16
食総研・食品機能研究領域・食認知科学ユニット
3. 非澱粉性多糖類の澱粉消化性に対する抑制効果【研究・参考】…………… 18
食総研・食品機能研究領域・食品物性ユニット
4. 国産めん用小麦の主要赤かび病毒の製粉前後での動態解析【研究・参考】…………… 20
食総研・食品安全研究領域・化学ハザードユニット
5. 血糖値の非侵襲測定技術の開発とその食品分野への応用【技術・参考】…………… 22
食総研・食品分析研究領域・非破壊評価ユニット
6. 炊飯米の良質性に関する多面的品質評価方法【技術・参考】…………… 24
食総研・食品素材科学研究領域・穀類利用ユニット
7. 加速度伝達率を用いたイチゴ果実の振動損傷予測モデル【技術・参考】…………… 26
食総研・食品工学研究領域・流通工学ユニット
8. 青果物のスーパー・パーシャルシール鮮度保持包装技術【技術・参考】…………… 28
食総研・食品工学研究領域・食品包装技術ユニット
9. 澱粉原料からのサイクロデキストラン製造技術の開発【技術・参考】…………… 30
食総研・微生物利用研究領域・発酵細菌ユニット
10. ポストゲノム研究で明らかになった新たな麹菌のアミノペプチダーゼ群【研究・参考】…………… 32
食総研・微生物利用研究領域・糸状菌ユニット
11. 糸状菌のかび毒デオキシニバレノール(DON)生産誘導物質の解明【研究・参考】…………… 34
食総研・微生物利用研究領域・微生物評価ユニット
12. L-アラビノースからのキシリトール発酵生産【研究・参考】…………… 36
食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・機能分子設計ユニット

3) 関連資料(他の推進会議で承認された成果情報)

1. 稲わらを湿式貯蔵しながら常温水酸化カルシウム前処理を行う「RT-CaCCO法」【技術・参考】… 38
食総研・食品素材科学研究領域・糖質素材ユニット
2. テンサイとバレイショを混合するバイオエタノール製造技術「MIX-CARV法」【技術・参考】… 40
食総研・食品素材科学研究領域・糖質素材ユニット
北農研・寒地バイオマス研究チーム、北農研・寒地地域特産研究チーム

3. 連続フィード培養によるリグノセルロース糖化酵素の効率的生産システム【技術・参考】	42
食総研・食品素材科学研究領域・糖質素材ユニット	
4. 担子菌エノキタケFv-1株宿主-ベクター系の構築【研究・参考】	44
食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・生物機能利用ユニット	
5. セルラーゼによる稲わらのホロセルロース糖化性を大幅に高める菌株の同定【研究・参考】	46
東北農研・寒冷地バイオマス研究チーム	
6. 抗ペプチド抗体を用いる主要な小麦 α -アミラーゼインヒビターの検出法【研究・普及】	48
東北農研・パン用小麦研究東北サブチーム	
7. 遺伝子発現を利用したニラの鮮度評価法【研究・参考】	50
野菜茶研・野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム	
8. トマトのリコペンの最適抽出溶媒の選定とこれを用いた簡易迅速定量法【技術・参考】	52
野菜茶研・野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム	
9. β -CD/SPRシステムによる緑茶カテキン類の苦渋味強度の検出【研究・参考】	54
野菜茶研・野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム	

1) 普及に移しうる成果

【成果情報名】 食中毒菌迅速多重検出システムの実用化と開発培地の優位性検証

【要 約】 食中毒未然防止を目的として、複数の食中毒菌を簡易・迅速に同時検査する手法を開発し、実用化した。本技術で開発した前培養培地のサルモネラ検出に関する妥当性確認試験を行った結果、従来法の培地に比べて検出率が優れている。

【キーワード】 食中毒菌検査、簡易迅速検査法、妥当性確認

【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

【分類】 技術・普及

【背景・ねらい】

食品製造業者自らが食中毒菌検査を実施したいという要望は強く、簡易・迅速な検査技術開発が望まれている。しかし、実際の食品での活用を想定して、前処理から検出まで全ての工程を含んだ検出法作成と実用性評価までを行った検査技術は少ない。当研究室では食中毒の未然防止や検査コストおよび時間と労力の削減を目的として、一度の工程で複数の食中毒菌（大腸菌 O157, サルモネラ, リステリア）を簡易迅速に検出する手法を開発し、2010 年 1 月に実用化・市販された。本技術の普及・促進のために、検出率の信頼性を明らかにし、サルモネラ検出率について開発培地の妥当性確認試験を実施する。本技術は食品製造現場での自主検査としての活用と共に、従来法（公定法）に比べ、開発培地による検出率の向上が期待できる。

【成果の内容・特徴】

1. 主要な 3 種の食中毒菌（大腸菌 O157, サルモネラ, リステリア）を開発培地で同時前培養した後、培養液から簡易に核酸を粗抽出し、特異的遺伝子の有無を PCR 法で複数同時検出する技術である。その検出感度は、食品 25g 中にいずれかの食中毒菌の生菌が 1 個存在すれば検出できる。
2. 開発された手法を元に、本技術の試作キットを用いた保存試験をはじめ、60 種類以上の食材適応試験、第 3 者機関での検出感度比較試験、凍結保存検体からの回収試験など、多岐に渡る試験から有効性が確認され、2010 年 1 月に食中毒菌多重検出キット [TA10]（多重）として市販され、普及を図っている（図 1）。
3. AOAC ガイドラインに準じた加熱および凍結損傷させたサルモネラの牛挽肉からの回収試験による妥当性確認試験結果（図 2）から、本開発培地は米国食品医薬品庁で推奨する前培養培地の Lactose broth (LAC) や Universal Preenrichment broth (UP) と比較して、検出率が有意に高く、本開発培地の優位性が明らかである。

【成果の活用面・留意点】

1. 従来の培養法では食中毒菌の検出に多大な労力と時間だけでなく熟練の技術と経験を要する。本手法では、単一の培地での培養、簡易遺伝子抽出、PCR 反応という一連の作業で複数の食中毒菌を検出できる。また、本検出法がキットとして供給されることから、実用性評価を伴いながら、遺伝子検査法の製造現場への技術普及に貢献できる。
2. 多くの食品製造現場での簡易・迅速な自主衛生管理手法としての活用や食中毒事故発生の際の原因菌特定のための検査への活用が期待できる。また、本キットは培地、簡易遺伝子抽出、PCR 反応の 3 つに分かれているが、それぞれ個別での活用や応用も期待できる。特に、培地での検出率妥当性評価試験結果から、開発培地の優位性が認められ、従来法（公定法）に比べ検出率の向上も期待できる。
3. 多数の食材において概ね良好な結果が得られており、本キットの適応範囲は幅広いと考えられるが、実際の活用においては、あらかじめ接種試験などの予備試験を行うことによる検出感度や技術の確認が必要である。

[具体的データ]

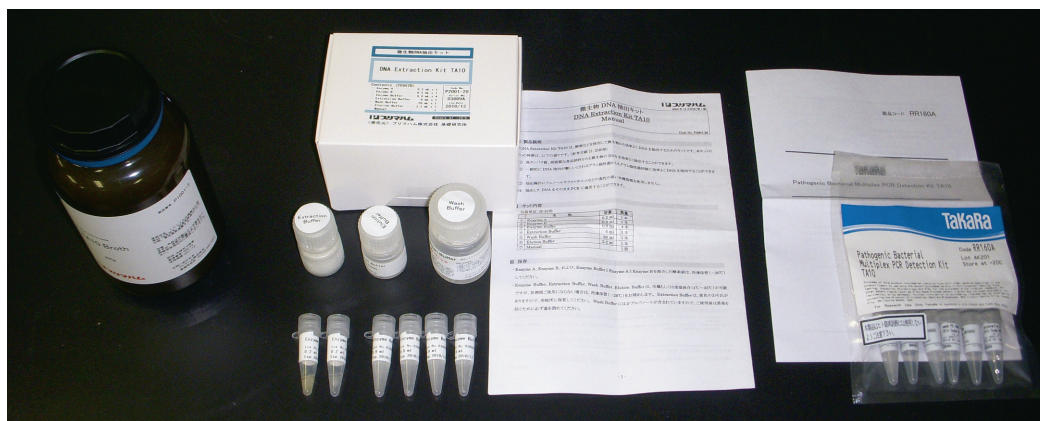


図 1. 製品化された 食中毒菌多重検出キット[TA10] (多重)
陽性コントロールが追加され、より実用的に改良された.

表 1. 加熱および凍結損傷させたサルモネラの牛挽肉中からの検出率比較
開発培地は他の従来法の培地と比較して統計学的有意に高い検出率を示す.

		LAC	UP	TA10
加熱損傷	サルモネラ検出数(各 260 検体中) (接種菌数:0.24~0.74MPN/g)	133	165	189
凍結損傷	サルモネラ検出数(各 280 検体中) (接種菌数:0.009~0.44MPN/g)	156	188	189

開発培地: TA10, 従来法培地: LAC (Lactose broth), UP (Universal preenrichment broth)
MPN, Most probable number

統計学的解析による有意差検定結果

	LAC vs UP	LAC vs TA10	UP vs TA10
加熱損傷	7.55	24.7	4.68
凍結損傷	7.24	7.73	0.00

3.84以上であれば有意水準0.05で有意差ありと統計学上判断

(川崎 晋)

[その他]

研究課題名: 有害微生物の検出及び同定技術の開発と評価 (川崎、川本)

中課題整理番号: 321-a-00-001-00-J-10-01

予算区分: 交付金 (一般研究費) ・ 委託プロ (食品総合・生産工程)

研究期間: 2003-2010 年度

研究担当者: 川崎 晋、川本 伸一

発表論文等: 1) 川本ら「微生物の多重検出方法」, 特許第 4621919 号

2) Kawasaki, S. *et al.* (2005) *J. Food Prot.*, **68**, 551-556.

3) Kawasaki, S. *et al.* (2009) *Foodborne Pathogens and Disease.*, **6**, 81-89.

4) Kawasaki, S. *et al.* (2010) *Foodborne Pathogens and Disease.*, **7**, 549-554.

【成果情報名】無機元素組成によるカボチャの原産国判別

【要 約】 日本産とニュージーランド産及びメキシコ産カボチャ種子の無機元素組成から原産国を的中率 85 %で判別できる判別モデルを開発した。また、メキシコ産とニュージーランド産及びトンガ産カボチャを二群判別モデルによりの中率 95%で分類できる。

【キーワード】 カボチャ、産地判別、無機元素、マニュアル

【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

【分類】 技術及び行政・普及

【背景・ねらい】

JAS 法に基づく産地表示の信憑性調査及び産地偽装の抑止のため、産地判別技術の確立が必要となっている。カボチャの輸入量は国内流通量の 4 割程度で、主な輸入先はニュージーランド (NZ) とメキシコ (MX) 両国で 95%前後を占める (2007~2009 年実績)。国産品と輸入品の流通時期は分かれているが、その端境期では競合する。また、2005 年に MX との間で経済連携協定 (EPA) が結ばれ、MX 以外の外国産カボチャを関税がゼロとなった MX 産と偽って申告されるおそれがある。そこで、カボチャ種子中の無機元素組成を誘導結合プラズマ発光分析装置や誘導結合プラズマ質量分析装置で測定し、その組成から「日本産と外国産間」及び「MX 産と MX 産以外の外国産 [NZ 産、トンガ (TG) 産] 間」の原産国を科学的に判別する技術を開発する。

【成果の内容・特徴】

1. MX 産—MX 産以外の外国産間判別モデルとして、2 元素による三群及び二群判別モデルを構築した。両モデルの線形判別式と、MX 産と NZ 産、TG 産カボチャの、モデル構築用の産地が既知試料による的中率 (分類的中率)、モデル検証用の産地が未知の試料による的中率 (予測的中率) を表 1 に示す。NZ 産の的中率が低い三群判別モデルと比べると、二群判別モデルでは 95%の的中率で判別できる。

2. 日本 (JP) 産—外国産間判別モデルとして、モデル構築用試料の測定結果の線形判別分析により、各国産間 [JP-MX、JP-NZ、JP-TG、MX-NZ、MX-TG] の 5 判別モデルを構築した (図 1)。この中で、JAS 法に基づく日本国内での産地表示の信憑性調査への使用を想定して、外国産品を輸入量の大半を占める NZ 産と MX 産に対象を限定して、日本産—外国産間判別技術として実用化する。6 元素による JP-MX 判別モデル (表 2 ①) 及び 8 元素による JP-NZ 判別モデル (表 2 ②) で判別を行い、この両判別モデルで国産品と予測された試料は国産品、どちらか一方または両判別モデルで外国産と予測された試料は外国産と判別する JP-MN・NZ 間判別モデル (表 2 ③) により、日本産と外国産カボチャを予測的中率 85 %と、産地表示の信憑性調査に使用には十分な中率で判別できる。

3. 産地を伏せたカボチャ 6 試料を使用して 3 試験室で当該判別技術により日本産—外国産判別試験を行った結果、全ての試験室で全試料を正しく判定できた。

【成果の活用面・留意点】

1. 本技術を用いた日本産と外国産カボチャの判別法については、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が作成され、それによる検査が実施されている。

2. 日本産と外国産カボチャの判別モデルは、外国産を NZ 産と MX 産に限定して構築したので、この判定モデルで外国産カボチャが必ずしも外国産と予測されない場合もある。

3. NZ、MX、TG の他に、ニューカレドニア (仏)、韓国、中国などからカボチャが輸入されているので、これらの原産国に対応できる判別モデルに更新する必要がある。

4. 種子を判別材料として用いるので、種子を取り除いた販売形態で流通するカボチャ生鮮品の判別には使えない。

【具体的データ】

表 1 外国産－外国産間判別モデルとそれらによる分類的中率及び予測的中率

判別対象	原産国	判別モデル（線形判別式）	分類的中率	予測的中率	合計
三群判別 モデル	メキシコ	$17.0[\text{Mo}]+18.3[\text{Ba}]-23.7$	94% (15/16)	94% (15/16)	90% (37/41)
	ニュージーランド	$9.77[\text{Mo}]+20.2[\text{Ba}]-14.2$	79% (11/14)	79% (11/14)	
	トンガ	$5.42[\text{Mo}]+5.52[\text{Ba}]-3.57$	100% (11/11)	100% (11/11)	
二群判別 モデル	メキシコ	$3.31[\text{Sr}]+15.9[\text{Mo}]-26.4$	100% (16/16)	94% (15/16)	95% (39/41)
	メキシコ以外	$1.79[\text{Sr}]+6.49[\text{Mo}]-5.89$	96% (24/25)	96% (24/25)	

- ・ [Mo]、[Ba]及び[Sr]は、それぞれの元素の試料中の濃度 (mg/kg) を示す。
- ・ 各判別モデルにおいて、試料中の無機元素濃度をそれぞれ代入したとき、最大の解が得られたモデルを有する国をその試料の原産国と分類又は予測する。

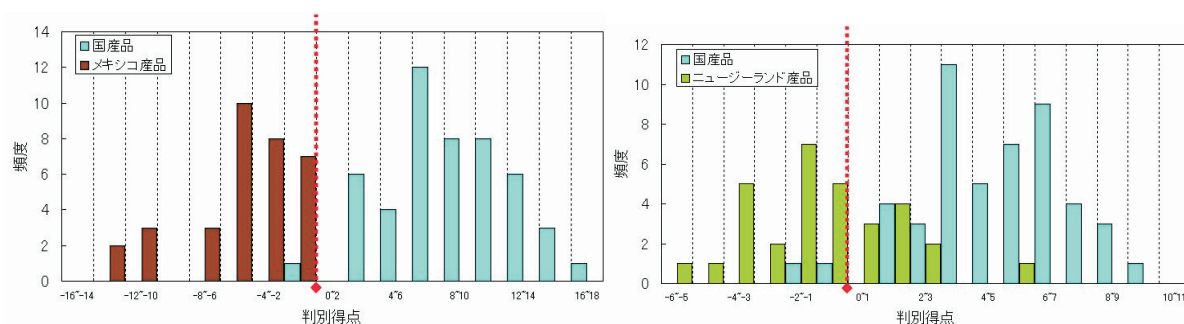


図 1 日本産とメキシコ産及び日本産とニュージーランド産判別モデルによるモデル構築用試料の判別得点のヒストグラム

グラフ中の赤点線は判別得点 0 の判別基準を示す。

表 2 日本産－外国産間判別モデルのモデル検証用試料の予測的中率 (%)

モデル名	国産	外国産		全体
		メキシコ産	ニュージーランド産	
①JP-MX 間判別モデル	90 % (27/30)	88 % (7/8)		89 % (34/38)
②JP-NZ 間判別モデル	90 % (27/30)		78 % (7/9)	87 % (34/39)
③JP-MX・NZ 間判別モデル	87% (26/30)	82 % (14/17)		85 % (40/47)

JP-MX 間判別モデル：6 元素（P、Ni、Zn、Rb、Sr 及び Mo）による

JP-NZ 間判別モデル：8 元素（P、K、Ca、Ni、Zn、Rb、Sr 及び Ba）による

（堀田博）

【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

中課題整理番号：324-b

予算区分：委託プロ（食品プロ）

研究期間：2006～2008 年度

研究担当者：門倉雅史、法邑雄司、堀田博

発表論文等：1)渡邊ら(2007) 関税中央分析所報 47: 15-23

2)渡邊ら(2008) 食科工 55(12): 637-639

3)門倉ら(2010) 食科工 57(2): 78-84

【成果情報名】 アクリルアミド分析のためのほうじ茶標準物質

【要 約】 代表的なアジア型食品のひとつである緑茶（ほうじ茶）のアクリルアミド分析の内部質管理に使用できる組成標準物質を作成した。試験室の質保証向上とアクリルアミド分析法の改良に利用できる。

【キーワード】 アクリルアミド、ほうじ茶、標準物質

【担当】 食総研・食品分析研究領域・状態分析ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8033

【区分】 食品

【分類】 技術・普及

【背景・ねらい】

アクリルアミドは、高温加熱によるメイラード反応の一部として、もともと食品中に含まれるアスパラギンと還元糖の反応によって食品中に生ずる物質であり、動物試験では神経の形態への影響や遺伝毒性、発がん性が認められている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合（JECFA）での評価の結果、その毒性と食品からの暴露量からすると、アクリルアミドがヒトの健康に悪影響を及ぼす懸念があるとされている。国際的に、アクリルアミドの摂取に寄与する主な食品として、フライドポテト、ポテトチップス、コーヒー、ビスケット、パンがあげられている。この摂取量推定の根拠となった食品のアクリルアミド含有量に関するデータの大部分は、欧州や北米から報告されたものであるが、日本でも摂取量推定を行ったところ、日本人も欧米人とほぼ同程度の量のアクリルアミドを摂取していると推定されている。

日本やアジア地域で食される食品は欧米の食品とは異なるものが多いことから、アジア独特の食品についても、精確にアクリルアミド濃度を測定し、必要に応じ低減策を検討していくことが重要である。また、そのための分析の内部質管理（内部精度管理）に利用できる日本やアジアの食品をマトリックスとした標準物質の供給が望まれていることから、ほうじ茶の標準物質を開発したものである。

【成果の内容・特徴】

1. 頒布している組成標準物質は表 1 に示した参考値が付与された 2 種類で、ともに約 30 g のほうじ茶葉の粉末がアルミ積層チャック付スタンディング袋に真空封入されており、5℃以下で冷蔵保存されている（写真 1）。
2. 参考値は、NFRI-AA001a は 8 試験室、NFRI-AA001b は 6 試験室による共同試験により報告された測定値を統計的に処理して決定し、不確かさは、共同試験で得られた測定値の標準不確かさの 2 倍（包含係数 $k=2$ ）の拡張不確かさとしている（表 1）。
3. 本標準物質の製造工程（参考値付与の工程を除く）を図 1 に示している。製造時にアクリルアミド試薬の添加は行っていない。
4. 標準物質 NFRI-AA001b の製造には、摘採した茶葉を一日生葉のままコンテナに貯蔵して、アクリルアミドの生成要因となるアミノ酸含量を増加させる処理を行っている。

【成果の活用面・留意点】

1. 本標準物質は、ほうじ茶など焙煎食品のアクリルアミド分析法の改良と、分析を行う試験室の質保証向上に利用できる。
2. 配布を希望する機関には、原則として 1 機関 1 セットを提供する。
3. 本標準物質を使用して内部質管理を行った結果を指定様式にて報告を受けることで、今後のアクリルアミド分析の質管理と方法の改良のための研究情報として活用する。

[具体的データ]

表 1 製造したアクリルアミド組成標準物質の付与値（参考値）

記号	アクリルアミド含有濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 乾重量)
NFRI-AA001a	560 ± 160
NFRI-AA001b	1490 ± 350

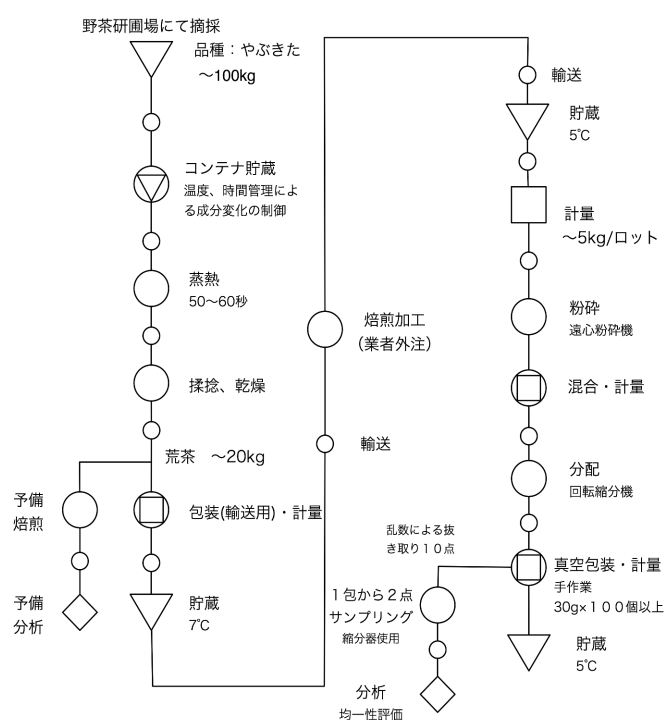


図 1 アクリルアミド標準物質の製造工程

写真 1 頒布する標準物質

(小野裕嗣、吉田 充)

[その他]

研究課題名：汚染実態の把握に資する分析データの信頼性確保システムの確立及びリスク分析のための情報の収集・解析

中課題整理番号： 321b

予算区分：基盤

研究期間：2006-2010

研究担当者：小野裕嗣、吉田 充

発表論文等：小野裕嗣、「V 標準物質の作成と頒布 1. 茶葉のアクリルアミド」、食糧—その科学と技術—、46 巻、p119 (2008)

【成果情報名】 SSR マーカーを用いたコメの高精度品種鑑定法

【要 約】 従来法に比べ精度および信頼性を向上させたコメ品種鑑定法を提供する。鑑定に用いる DNA マーカーは、ヒトの DNA 鑑定に用いられるものと同水準である。

【キーワード】 コメ、イネ、品種鑑定、品種識別、SSR マーカー

【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

【分類】 技術・普及

【背景・ねらい】

JAS 法による精米・玄米への品種表示義務のみならず、平成 22 年より施行された米トレーサビリティー法により、米穀の流通時における品種等の情報管理はより厳密なものとなりつつある。コメにおける品種管理を正確に行うには、DNA による識別が不可欠であり、従来から様々な手法を用いて技術開発がなされている。現在の技術水準では、SSR (Simple Sequence Repeat、またはマイクロサテライト) マーカーが最も実用性・信頼性が高く、中でも 4 塩基の反復単位を持つ SSR マーカーが検出精度面から有利であり、ヒトにおける DNA 鑑定にも利用されている。そこで、このヒト DNA 鑑定にも用いられる 4 塩基反復 SSR を利用して、精度および信頼性を向上したコメ品種鑑定法を開発する。本手法は、農産物では初めて 4 塩基反復 SSR マーカーを実用的に利用した実施例である。

【成果の内容・特徴】

1. 抽出 DNA から 4 塩基反復 SSR を含む領域を増幅し、その増幅長を Genetic Analyzer (シーケンサー) でフラグメント解析することにより、品種間の SSR の反復数の違いを精度よく検出する (図 1)。
2. 4 塩基反復 SSR マーカーとしては染色体上に散在する 24 種を用い、そこから得られる SSR 反復数の多型をパターン化し、基準と比較を行うことで品種を同定する (表 1)。
3. 現在までに、主要 48 品種 (うるち、もち及び醸造用を含む生産量上位) については、基準となる多型パターンを取得済みであり、これらの分析が可能である (表 2)。
4. 本手法で用いる 4 塩基反復 SSR マーカーは、現在農産物で主流に用いられている 2 塩基反復のものと比較して、スタッターピーク (SSR マーカーにおいて本来の検出ピーク周辺に生じる副産物) が少なく、また、検出機器の測定誤差 (± 1 塩基) の影響を受けにくいため、精度・信頼性が高い (図 2)。

【成果の活用面・留意点】

1. 多型パターンをデータベース化した主要 48 品種については、その品種鑑定を高精度に行うことが可能である。
2. コメ (精米・玄米) だけでなく、その加工品である米飯、あるいはイネ組織 (葉、茎など) についても、分析可能な DNA が抽出できれば、本手法を用いて品種鑑定を行うことが可能である。
3. 本手法における 24 マーカーによる分析を用いても、「ヒノヒカリ」と「森のくまさん」、「ほしのゆめ」と「ふっくりんこ」などの同一の多型パターンを示す品種群が存在しており (表 2)、それらの相互識別には、他のマーカーを利用する必要がある。
4. 品種ごとの多型パターンは主要 48 品種以外にも順次データベース化を続けており、最終的に 300 品種以上を予定している。

[具体的データ]

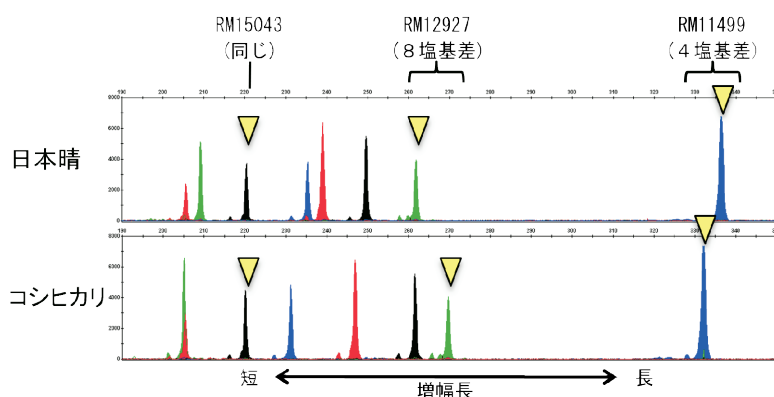


図1. 日本晴とコシヒカリにおける8マーカーの泳動例(マーカー名はRM__と表記).

RM15043(黒):2品種で同じ
RM12927(緑):コシヒカリが8塩基(2反復)長い
RM11499(青):コシヒカリが4塩基(1反復)短い

表1. 図1の結果のパターン化(日本晴の増幅長をAとしてその差を±表記、マーカーの並び順は図1と同一)

マーカー名	RM17039	RM14137	RM15043	RM10000	RM16604	RM15764	RM12927	RM11499
日本晴	A	A	A	A	A	A	A	A
コシヒカリ	A	A-4	A	A-4	A+8	A+12	A+8	A-4

表2. 基準となる多型パターンを取得済みの品種

分析済み品種							
(うるち)	きらら397	夢つくし	日本晴	おぼろづき	チヨニシキ	(もち)	(醸造用)
コシヒカリ	つがるロマン	ハナエチゼン	アケボノ	森のくまさん*	秋の詩	ヒヨクモチ	山田錦
ひとめぼれ	まっしぐら	ふさこがね	夢しずく	ふっくりんこ**	あきまさり	ヒメノモチ	五百万石
あきたこまち	キヌヒカリ	ふさおとめ	彩のかがやき	まなむすめ	なすひかり	こがねもち	美山錦
ヒノヒカリ*	こしいぶき	ササニシキ	ゆめみづほ	ハツシモ	朝日	はくちようもち	
はえぬき	あさひの夢	めんこいな	ミルクークイーン	きぬむすめ		わたぼうし	
ななつぼし	ほしのゆめ**	あいちのかおり	てんたかく	ゆめぴりか		風の子もち	

*, **同じ記号の品種は、同一の多型パターンを示す。

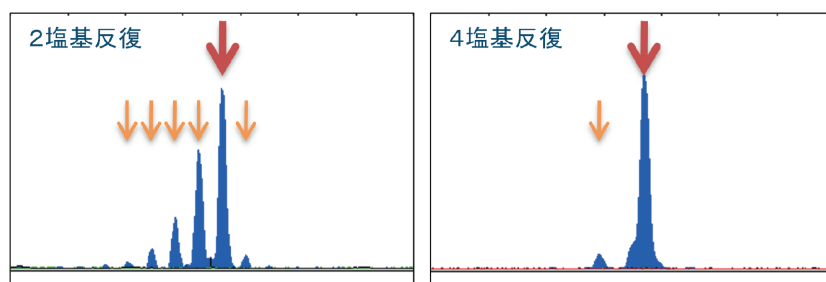


図2. 2塩基反復と4塩基反復のSSRの分析例.
2塩基反復では本来のピーク(大矢印)の他に、多数のスタッターピーク(小矢印)が検出されるが、4塩基反復ではほぼ単一のピークとなる。

(岸根雅宏)

[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

中課題整理番号：324b

予算区分：基盤

研究期間：2009～2010年度

研究担当者：岸根雅宏

【成果情報名】 グルタチオンを利用したグルテンフリー米粉パンの製造基盤技術

【要 約】 米粉にグルタチオンと水を添加して混合し、乾燥酵母と砂糖を加えて発酵させるだけで、グルテンや増粘剤の添加をせずに生地を膨らませることができる。市販の米粉を原料に 100%米粉パンをつくるための基盤技術である。

【キーワード】 米粉パン、グルタチオン、グルテンフリー

【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

【分類】 研究・普及

【背景・ねらい】

食料自給率の低下が、農業・食品分野で克服すべき喫緊の課題のひとつに挙げられている。1965年には生産額ベースで86%、カロリーベースで73%あった食料自給率は長期的な漸減傾向を示し、2009年にはそれぞれ70%、40%にまで低下している。米は国内で自給可能な数少ない穀物のひとつであるため、米粉を原料としたパンの開発は食料自給率を高めるための切り札として期待される。また、小麦アレルギーやセリアック病など、小麦粉の摂取に起因する疾患の存在からグルテンフリー食品の開発が求められている。

そこで本研究では、グルテンや小麦粉を原料に用いずに米粉パンを製造するための基盤技術の開発を目的とする。

【成果の内容・特徴】

1. 米粉に水とグルタチオンを加えて混合し、数時間から一晩室温で放置する。これに乾燥酵母と砂糖を添加して発酵させると、グルタチオンを添加しない米粉生地は発酵ガスを保持することができず膨らまない（図1A）が、グルタチオンを添加した生地は膨らむ（B）。焼成したパンを比べると、グルタチオンを添加した米粉パンは発酵時の膨らみを維持している（C、D）。
2. 生地を膨らませるのに必要なグルタチオンの量は、280gの米粉に対して0.75g程度であり、この条件でパンの容積比は無添加に比べ2.4倍になる（図2）。
3. パンの構造を電子顕微鏡で観察すると（図3）、グルタチオンを添加した米粉パンは、小麦粉パンと同様の多孔構造をもつ。このことから、発酵により生じた炭酸ガスを、生地が保持する働きをもつことがわかる（×30倍）。より微細な構造（×1000）を観察すると、小麦粉パンやグルタチオンを添加しない米粉パンでみられる澱粉粒の構造が消失し、滑らかな表面構造をもつ。また、グルタチオンを添加した米粉パンでは発酵中の生地が卵白を泡立てたメレンゲのような性状であり、小麦粉パンの生地とは状態が異なる。これらのことから、グルテンの作用がなくても、炭酸ガスを保持する構造を米粉生地にもたせることができる。

【成果の活用面・留意点】

1. 本研究では米粉パン生地を膨化するための基盤技術を開発した。実用化には処方や工程の改良により味や香り、食感等を向上させる必要がある。
2. 本研究で用いた純度の高いグルタチオンは米国では食品添加物として取り扱われるが、日本では医薬品に区分される。そこで、国内で実用化するには、精製したグルタチオンと同等の製パン効果をもつ代替物の開発が必要である。
3. 小麦粉やグルテンを原料としたパンは食塩の添加を要するが、グルタチオン添加米粉パンは食塩の添加を必要としないため、減塩食品への応用が期待される。

[具体的データ]



図1 米粉パンでの無添加条件とグルタチオン添加の比較 生地（上段）とパン断面（下段）

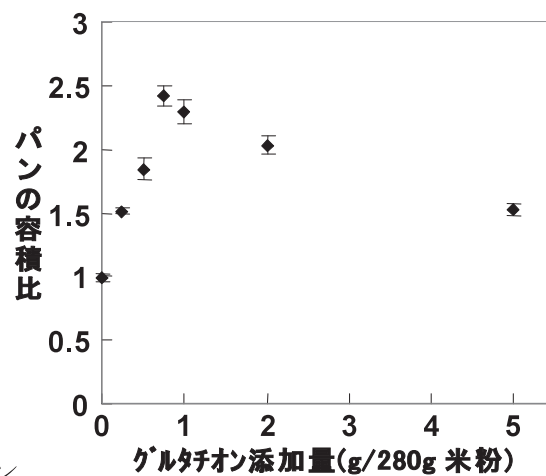


図2 グルタチオン添加によるパンの膨潤

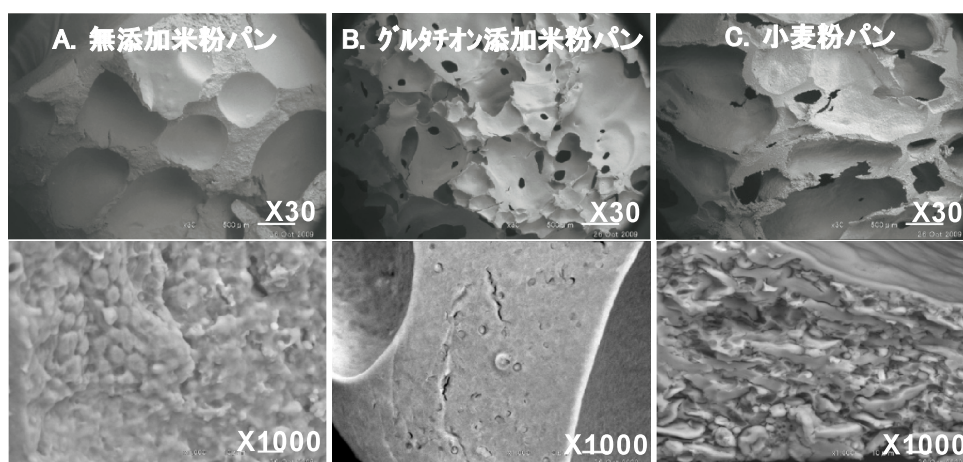


図3 無添加米粉パン、グルタチオン添加米粉パン、小麦粉パンの微細構造の比較

(矢野裕之)

[その他]

研究課題名：先端技術を活用した食品の加工利用技術の開発

中課題整理番号：313d

予算区分：基盤

研究期間：2009～2010年度

研究担当者：矢野裕之

発表論文等：Yano H (2010) J. Agr. Food Chem. 58(13):7949-7954

2) その他参考となる成果

【成果情報名】 発芽玄米のマウスの不安軽減効果

【要 約】 発芽玄米の摂取により新奇環境に曝された時のマウスの移動距離が短くなり、発芽玄米の摂取はマウスの環境順化能力を高める。

【キーワード】 発芽、GABA、玄米、オープンフィールドテスト

【担当】 食総研・食品機能研究領域・栄養機能ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8083

【区分】 食品

【分類】 研究・参考

【背景・ねらい】

近年、社会構造が複雑になり、過剰なストレスにより、うつ病やパニック症候群などの精神疾患を罹患する人口が多くなっている。このような背景から、精神疾患の予防や改善が期待される食品の開発が望まれている。一方で、米は自給率が高い農産物である。そのため、米の更なる活用は、自給率の向上に不可欠である。本研究は、精神疾患の予防のための食品の開発に寄与することを目的とするとともに、米の自給率向上のために、発芽処理により機能性を付加した米の機能性を、繰り返しのオープンフィールドテストにより明らかにする。

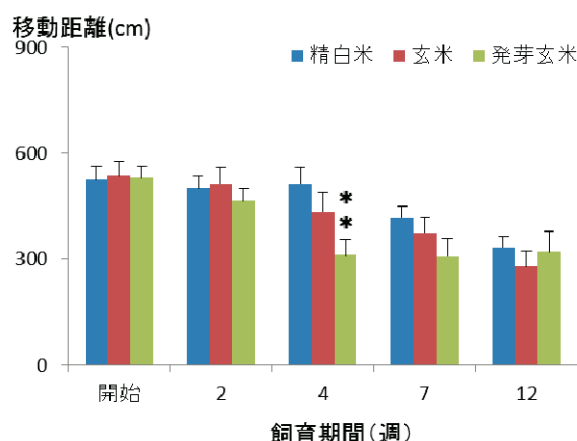
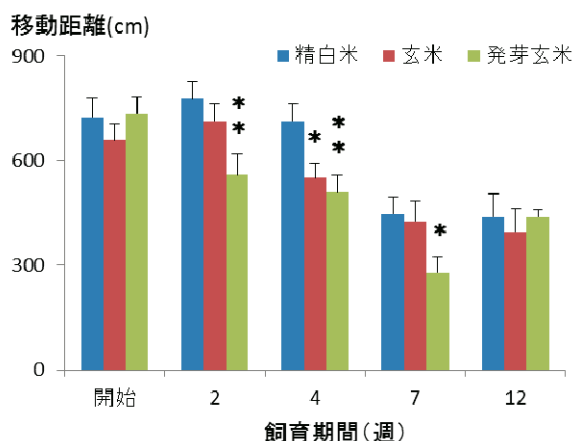
【成果の内容・特徴】

1. マウスは新奇の環境に曝されると、不安状態から活発に活動し、移動距離は増加し、長時間同じ環境に曝され、繰り返し試行されることで、移動距離は減少する。新奇環境に曝された時の、マウスの情動変化を評価する手法であるオープンフィールドテストを繰り返し試行することにより、発芽玄米（30分、72時間）を摂取したマウスは、2、4、7週間目で新奇環境に曝された直後の移動距離が精白米に比べて有意に減少する。このことから発芽玄米の摂取は、マウスの新奇環境への順化を高めているものと推察される（図1）。
2. 一方、発芽玄米と同程度の量のγ-アミノ酪酸（GABA：発芽玄米で顕著に増加することが知られている）を添加した飼料（GABA0.02%）では、同様の効果は認められない（図2）。このことから、マウスの新奇環境への早期順化効果は、GABA単独によるものではなく、玄米の発芽処理により生成された成分または玄米に既に含まれている成分と複合的に作用した結果であると考えられる。

【成果の活用面・留意点】

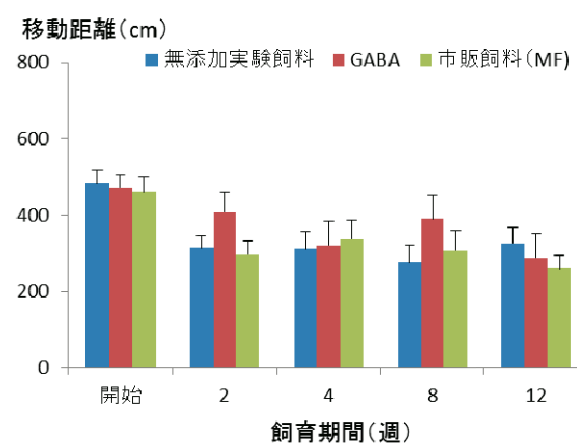
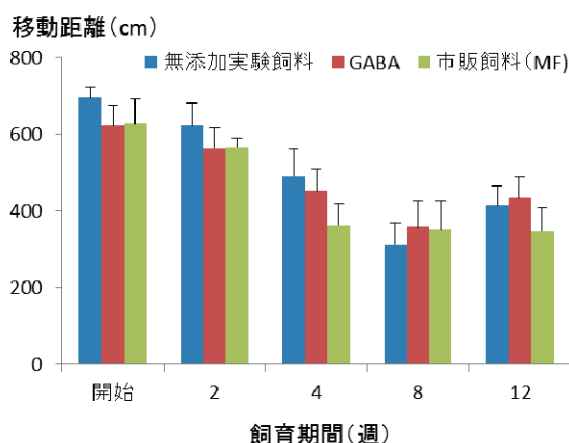
1. 米だけでなく、ヒエやアワなどの雑穀やこれまであまり利用の多くない蓮の種子などの食用の種子にも、発芽処理をすることで同様の効果を期待できる可能性がある。
2. 発芽玄米の機能性が明らかになったことで、米の消費拡大が期待できる。

[具体的データ]



新奇環境に曝された直後（0～1 分） 新奇環境に慣れ始めた頃（2～3 分）
 図 1 精白米、玄米または発芽玄米を 20% 含む飼料を摂取したマウスのオープンフィールドテストにおける移動距離の変化 (n=10)

は精白米に対する有意差を示す (: $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$)。



新奇環境に曝された直後（0～1 分） 新奇環境に慣れ始めた頃（2～3 分）
 図 2 発芽玄米と同程度の GABA を含む飼料（0.02%）を摂取したマウスのオープンフィールドテストにおけるマウスの移動距離の変化 (n=10)

（白井展也）

[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

中課題整理番号：312f

予算区分：委託プロ（信頼機能プロ）

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：白井展也、鈴木平光（女子栄養大）、鈴木啓太郎、大坪研一（新潟大）

発表論文等：Shirai *et al.* (2010) *Food Sci. Technol. Res.*, **16** (6) 621-626.

【成果情報名】 効率的な消費者の情報理解のための情報提示方法

【要 約】 インターネットで情報を開示するときに、消費者自身が情報に対してボタンクリックなどの能動的な態度をとるよう工夫すると、情報の理解が促進され、その理解に基づいた商品の価値判断が促される。

【キーワード】 消費者行動、支払い意志法、インターネット

【担当】 食総研・食品機能研究領域・食認知科学ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-7357

【区分】 食品

【分類】 研究・参考

【背景・ねらい】

インターネットによる情報開示が進む現在、消費者がボタンクリックなどによって情報に対して能動的にアプローチするような工夫も可能である。一方で、作り手側はどのような工夫がどの程度、消費者の理解や、商品価値の評価に影響を与えるかのエビデンスがなければ、労力をかける価値があるか判断しがたい場合も多い。そこで、カーボンフットプリントや原材料に関する説明表示を、能動的に検索することが商品の価値にどのように影響するのかを検討する。

【成果の内容・特徴】

1. 151 名の実験参加者が、チョコレート、ポテトチップス、飴、ジュースのいずれかに関する情報をコンピュータディスプレイ上に提示されるのを観察し、その商品にいくら払って購入するかを尋ねる課題（支払い意志法；willingness to pay; WTP）を行なっている。
2. 実験参加者は、情報が予め画面に全て表示されている条件（受動検索条件）、もしくは知りたい情報に関してボタンクリックして検索する条件（能動検索情報：図 1 参照）のいずれかに参加している。
3. 提示される情報は、カーボンフットプリント値（CF 値）に関する情報に加え、原材料、内容量、など従来の食品表示の内容も含まれている。
4. 図 2 に実験によって得られた WTP 値の標準得点を示す。この図は受動検索条件では、CF 値は WTP 値に影響を与えないが、能動検索条件では CF 値が小さいほど WTP 値が大きくなることを示している。
5. この結果は、能動検索の場合は使用炭素量が少ない、環境にとってより好ましいと考えられる商品が、高く評価されるが、受動検索では同じ情報を与えても商品の価値判断に影響を与えないことを示している。つまり、消費者は情報に対して積極的な態度をとった場合には情報の理解が促進され、それが商品の評価に反映されやすいことを示している。

【成果の活用面・留意点】活用面の記述を入れてください。

1. インターネットのような媒体において、消費者の情報に対する態度が商品価値に影響を与える。
2. 先行研究でも能動的な態度が商品価値に影響を与えることを示したが、今回は CF 値の負の関数として支払い意志が変化したことから、消費者の態度によって情報理解が促進された上で商品価値が変化することを見出している。
3. 携帯端末などにおける能動的な態度の誘導などが効果的かどうかなど、詳細の検討は今後の更なる実験的な検討が必要である。

[具体的データ]

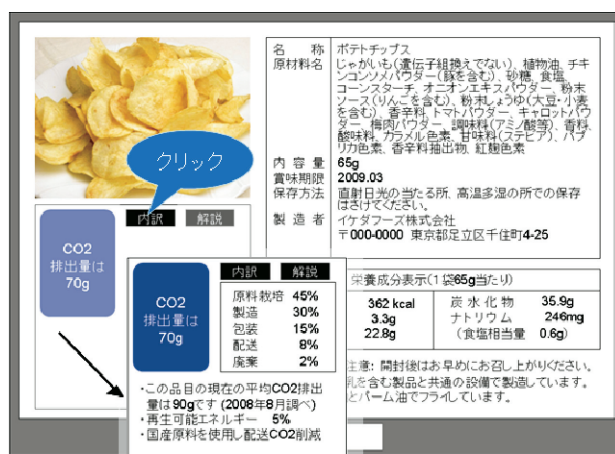


図1 実験で用いた情報提示画面

能動検索条件ではクリックすると CO2 排出量が提示される。

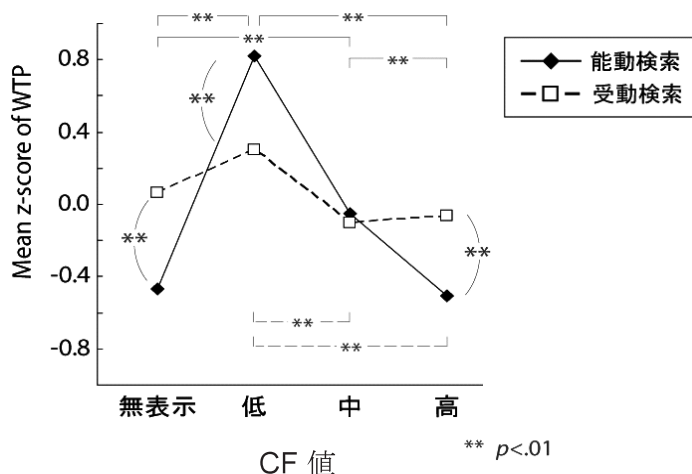


図2 カーボンフットプリント値(CF 値)が支払意志(WTP)に与える影響

能動検索時に CF 値の影響が現れることが示されている。

(和田有史)

[その他]

研究課題名：食品安全に係わるコミュニケーション手法と評価方法の開発

中課題整理番号：321b

予算区分：科研費基盤(B)

研究期間：2009～2010 年度

研究担当者：和田有史、木村敦、岡 隆（日本大）、檀一平太、鎌田晶子（文教大）、蔡東生（筑波大）

発表論文等：1) Kimura, Wada et al, 2008, *Appetite*, 51 (3), 628-634.

2) Kimura, Wada et al, 2010, *Appetite*, 55(2), 271-278.

【成果情報名】 非澱粉性多糖類の澱粉消化性に対する抑制効果

【要 約】 非澱粉性多糖類は、澱粉ゲルおよび澱粉懸濁液に添加すると澱粉の消化を抑制する。その効果は非澱粉性多糖類の種類間で違いが認められるが、物理特性との直接的な関連性は認められない。

【キーワード】 澱粉消化性、非澱粉性多糖類、粘度、粘弾性

【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

【分類】 研究・参考

【背景・ねらい】

食品に含まれる澱粉の消化酵素による分解性を抑えることによって、食後の血糖値上昇を抑制できることが知られている。そこで、食品のモデル系として澱粉と非澱粉性多糖類(NSP)の混合ゲルおよび混合懸濁液を用いて、NSPの共存が澱粉消化性に及ぼす影響と物理特性の変化が澱粉消化性の抑制作用に与える影響を明らかにすることで、澱粉消化性に対する抑制効果をもつ食品中の成分を見出し、食品の高機能化につながる加工技術提案のための知見を得る。

【成果の内容・特徴】

1. 米澱粉とコンニャクグルコマンナン(KG)、キサントガム、および寒天を混合して調製したゲルは、NSPを添加していない対照試料の澱粉ゲルよりも澱粉分解酵素による分解率が有意に低く、その抑制効果には濃度依存性が認められる(図1)。
2. 澱粉ゲルに添加したNSPの澱粉消化性に対する抑制効果は、同じ添加濃度では寒天よりもキサントガムやKGの抑制効果が高い。
3. ゲル中に含まれる澱粉の消化性は、ゲルの動的粘弾性(図2)や破断特性との間に直接的な相関関係は認められない。一方、ゲルの破碎後の粒度が小さくなると、NSPがゲルの中から浸出し、溶液の粘度が上昇するために澱粉消化性の抑制効果が高まる。
4. キサントガム、グアガム、ペクチン、KGを添加した米澱粉の懸濁液でも、すべてのNSPに澱粉消化性の抑制効果が認められる。その中でも、キサントガムの効果が顕著に高い(図3)。透析膜を用いてNSP共存下での透析外液のグルコース量を測定し、グルコース単体の量と比べると、キサントガムの共存下ではグルコース量が少ないことから(図4)、グルコースとキサントガムの相互作用により拡散が遅くなり、分解が抑制されることが推察される。
5. 添加したNSPには増粘効果があり、特にKGを澱粉懸濁液に添加すると粘度は著しく上昇する。一方、KGの澱粉消化性の抑制効果はキサントガムより劣り、グアガムおよびペクチンと同程度である。
6. 懸濁液の粘度と澱粉消化性には直接的な関連性は認められず、NSPの澱粉分解抑制作用の要因は粘度上昇によるものだけではなく、澱粉とNSPの相互作用の関与が示唆される。

【成果の活用面・留意点】

1. 食品のテクスチャー制御に使われるNSPの澱粉消化性に対する抑制作用とNSPの種類による効果の違いが明らかになり、食後の血糖値上昇を抑えるような澱粉系加工食品の開発に寄与する知見である。
2. 澱粉とNSPの混合懸濁液を調製した際に、キサントガムが示す高い澱粉分解抑制効果の作用機構については、今後分子間の相互作用の解析が必要である。

[具体的データ]

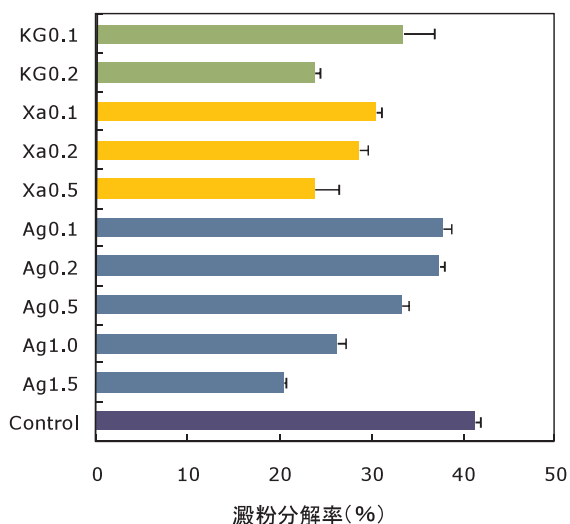


図 1. NSP を添加した澱粉ゲルの澱粉分解率
コンニャクグルコマンナン(KG:0.1、0.2%)、
キサンタンガム(Xa:0.1、0.2、0.5%)、寒天
(Ag:0.1、0.2、0.5、1.0、1.5%)を 30%の米澱
粉に添加したゲルを使用。

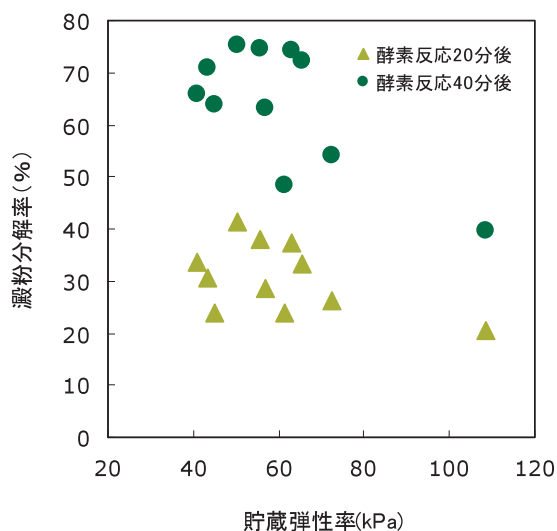


図 2. NSP を添加した澱粉ゲルの
貯蔵弾性率と澱粉分解率の関係

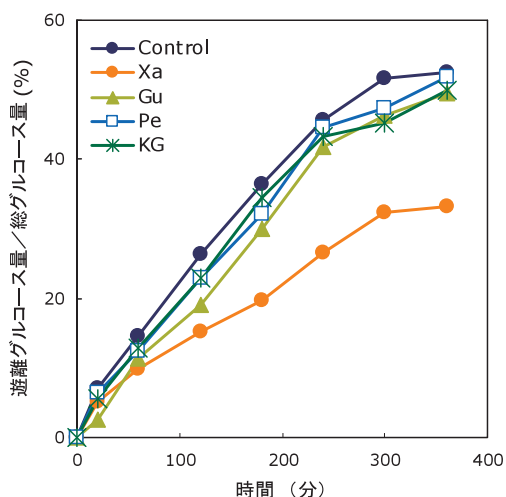


図 3. NSP を添加した米澱粉懸濁液の澱粉
分解率
キサンタンガム(Xa)、グアガム(Gu)、ペク
チン(Pe)、コンニャクグルコマンナン(KG)
を 5mg/ml の濃度で添加。

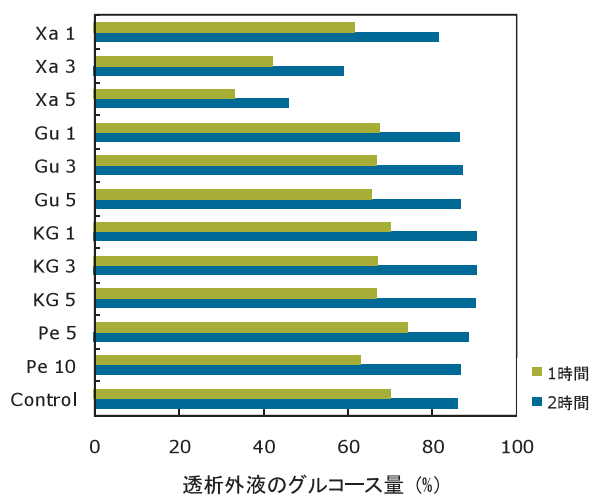


図 4. 各種 NSP 共存下での透析外液中の
グルコース量の比較
キサンタンガム(Xa:1、3、5mg/ml)、グアガム
(Gu: 1、3、5mg/ml)、コンニャクグルコマンナン
(KG: 1、3、5mg/ml)、ペクチン(Pe: 5、10mg/ml)
をグルコース+酵素反応液に添加。

(佐々木朋子)

[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

中課題整理番号：312f

予算区分：科研費、委託プロ（食品プロ）

研究期間：2007～2010 年度

研究担当者：佐々木朋子

発表論文等：1)Sasaki T. et al. (2011) Food Chem. 127(2):541-546

【成果情報名】 国産めん用小麦の主要赤かび毒素の製粉前後での動態解析

【要 約】 国産めん用小麦 1 品種を用いた主要赤かび毒素デオキシニバレノール (DON) およびニバレノール (NIV) の製粉前後の動態解析の結果、原粒の汚染度の違いにより製粉後の上質粉（ヒトの可食部）への毒素の移行度が異なる。

【キーワード】 小麦、赤かび病、デオキシニバレノール、ニバレノール、製粉

【担 当】 食総研・食品安全研究領域・化学ハザードユニット、食品工学研究領域・製造工学ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8069

【区 分】 食品

【分 類】 研究・参考

【背景・ねらい】

赤かび病は、穀粒の減収のみならず穀粒中に赤かび毒素デオキシニバレノール (DON)、ニバレノール (NIV) 蓄積をもたらすことがある。小麦の開花期と降雨期が重なりやすいわが国では生産段階で赤かび病を完全に防除することは困難である。一方、国産小麦中の DON の製粉工程での動態データは少なく、NIV はさらに情報が少ない。小麦加工段階での赤かび毒素の動態解析を行うことにより、リスク管理に必要な科学的知見の提供ならびに加工段階での汚染リスク低減技術の開発を目指す。今回、汚染度の異なる国産めん用小麦の製粉前後の毒素の動態を明らかにする。

【成果の内容・特徴】

1. DON/NIV 同時分析法は、DON 試験法（厚生労働省通知法、食安発第 0717001 号、平成 15 年 7 月 17 日）に準じた方法である。各製粉分画において DON の暫定基準値 (1.1 ppm) 近くの 1.0 ppm を含めた 3 水準の添加回収率は 70-120% の範囲内であり、併行精度は 10% 以内である（表 1）。
2. 九州沖縄農研にて人工的に毒素産生性のフザリウム属菌を接種して栽培した、めん用の軟質小麦品種であるチクゴイズミを用いた。ビューラー社のテストミルを用いて 5 kg スケールで試験製粉を行い、六種類の粉（1B～3B, 1M～3M：番号が小さいほど上級の粉）と二種類のふすま（大ふすまと小ふすま）を得た。1B, 1M, 2B, 2M を混合して上質粉（＝ヒトの可食部）を、また 3B と 3M を混合して末粉を調製した（図 1）。
3. 原粒ならびに調製した製粉分画（上質粉、末粉、大ふすま、小ふすま）の DON/NIV 含量は、低汚染粒の製粉では、上質粉での NIV 濃度は原粒より低濃度でほぼ半減しており、製粉による減毒効果が認められる（表 2）。一方で中汚染（暫定基準値近く）粒の製粉では、上質粉での DON/NIV 濃度は原粒と同程度であり、毒素の分布パーセントと製粉分画の重量パーセントがほぼ一致しており、減毒効果は小さい。中汚染粒では、小麦粒内に毒素が均一に拡散している可能性がある（表 3）。

【成果の活用面・留意点】

1. DON 試験法（通知法）に準じた方法により、各製粉分画において DON/NIV 同時分析が可能である。
2. DON の製粉前後の動態については外国産小麦では報告があり、DON は製粉後のふすまに濃縮され可食部では減毒されるというデータがほとんどであるが、今回調べた国産めん用小麦 1 品種では汚染レベルによっては、製粉が DON/NIV の除去に効果的ではない場合がある。
3. 中汚染粒の製粉での NIV の製粉前後の動態は DON に類似しており、より点数を増やして解析を行い、NIV のリスク管理のための科学的知見を集積する。

[具体的データ]

表 1. 添加回収試験における回収率と併行精度

マトリクス 添加レベル	原粒					
	0.2 ppm		0.5 ppm		1.0 ppm	
	DON	NIV	DON	NIV	DON	NIV
平均回収率(%)	107.0	103.5	96.0	79.5	100.3	80.7
併行精度(RSD (%))	5.9	4.4	3.7	3.6	1.2	2.2
マトリクス 添加レベル	上質粉					
	0.2 ppm		0.5 ppm		1.0 ppm	
	DON	NIV	DON	NIV	DON	NIV
平均回収率(%)	107.8	83.2	106.5	87.5	106.3	79.9
併行精度(RSD (%))	4.9	4.3	1.7	4.9	1.4	2.2
マトリクス 添加レベル	大ふすま					
	0.2 ppm		0.5 ppm		1.0 ppm	
	DON	NIV	DON	NIV	DON	NIV
平均回収率(%)	103.0	80.0	94.1	73.7	94.0	72.1
併行精度(RSD (%))	1.3	1.3	3.1	1.5	2.5	1.2

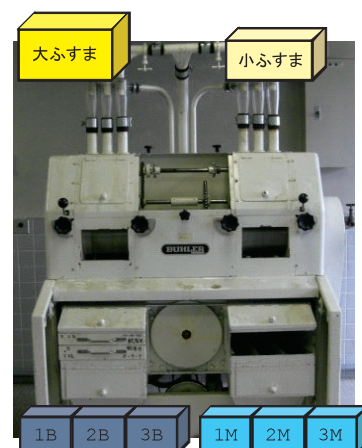


図 1. 試験製粉機 (Bühler Model MLU-302) と製粉分画

表 2. 低汚染粒の製粉結果

	重量(%)	濃度(ppm)*		分布[重量(%)X濃度(ppm)]		分布(%)	
		NIV		NIV		NIV	
原粒			0.30 ^a				
上質粉	67.0		0.12 ^b		0.089		34.0
末粉	3.2		0.15 ^b		0.004		1.7
大ふすま	27.0		0.54 ^c		0.146		56.0
小ふすま	2.7		0.84 ^d		0.022		8.3
	100.0				0.261		100.0

* 異なる英小文字は、 $P < 0.05$ (n=3) での有意差を表す

表 3. 中汚染粒の製粉結果

	重量(%)	濃度(ppm)		分布[重量(%)X濃度(ppm)]		分布(%)	
		DON	NIV	DON	NIV	DON	NIV
原粒		0.90 ^a	0.72 ^a				
上質粉	67.0	0.86 ^{ab}	0.56 ^b	0.575	0.371	69.0	65.3
末粉	3.5	0.80 ^{ab}	0.57 ^b	0.028	0.020	3.3	3.5
大ふすま	27.0	0.73 ^b	0.56 ^b	0.197	0.152	23.5	26.8
小ふすま	2.5	1.56 ^c	1.01 ^c	0.039	0.025	4.6	4.4
計	100.0			0.838	0.569	100.0	100.0

* 異なる英小文字は、 $P < 0.05$ (n=3) での有意差を表す

(久城真代)

[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

中課題整理番号：321a.2

予算区分：生産工程（かび毒）

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：久城真代、岡留博司、長嶋等

発表論文等：1) Kushiro M. (2008) Int. J. Mol. Sci. 9(11):2127-2145.

2) Thammawong M, et al. (2010) J. Food Prot. 73(10):1817-1823.

【成果情報名】 血糖値の非侵襲測定技術の開発とその食品分野への応用

【要 約】 短波長の近赤外光を手の平の小指側に照射し、組織内で拡散反射した光を測定することにより得られるスペクトルから血糖値を非侵襲的に測定し、食品のグリセミック・インデックス（GI）を得る。

【キーワード】 血糖値、グリセミック・インデックス（GI）、非侵襲測定、専用装置

【担当】 食総研・食品分析研究領域・非破壊評価ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8088

【区分】 食品

【分類】 技術・参考

【背景・ねらい】

生活習慣病の予防・治療の観点から食生活の改善に関心が寄せられ、食後の血糖値の上昇性を示すグリセミック・インデックス（GI）が注目されている。糖尿病患者及び糖尿病予備軍とよばれる人々にとって、食品の GI は良好な健康管理を行う上で重要な指標である。しかし、食品の GI を測定するには、指先から少量ではあるが数十回もの採血が必要で、被験者に大きな苦痛を与える。そのため、GI は未だ食品産業分野で広く採用されるには至っていない。そこで、近赤外スペクトルの測定により、非侵襲で血糖値を測定する方法を開発し、食品の GI 測定に応用する。

【成果の内容・特徴】

1. ヒトの近赤外スペクトル測定に適した部位として、腕、手首、手の平を選択し、血液を採取して測定した血糖値と近赤外スペクトルから得られた血糖値を比較すると、手の平（小指側）での測定値が最も良く一致する。
2. スペクトル測定部位（手の平）の温度、及びスペクトル測定プローブと測定部位との接触圧力を一定にすることが測定精度を高くする上で重要である。
3. 上述した条件を踏まえて設計・試作した血糖値測定専用の分光装置を図 1 に示す。スペクトル測定部には、光誘導パイプを中心にして半径 8.5 mm の円周上に小型タングステンハロゲンランプ 5 個が配置されている（図 2）。
4. この血糖値測定専用分光装置のスペクトル部に手の平を置き、手の平の温度、接触圧を一定にして、スペクトル測定開始ボタンを押すだけで、採血することなく（非侵襲で）ヒト血糖値を高精度に測定することができる。測定精度は誤差の標準偏差で 9.1 mg/dL である（図 3）。
5. 本技術の食品分野への応用として、食品の GI の測定を試み、基準食および検査食の血糖上昇曲線下面積と GI を表 1 に示す。3 種類の検査食（米飯、かまぼこ、ヨーグルト）の本法で算出した GI は、いずれも血液を採取して得られた血糖値に基づく値とほぼ同じである。

【成果の活用面・留意点】

1. 血糖値測定専用の分光装置は、電源スイッチを入れるだけで使用可能であり、スペクトル測定において専門の技術者を必要としない。
2. 今回の実験では被験者が一人で、開発した血糖値測定用の検量モデルは被験者専用であり、汎用性に欠ける。従って、この技術を活用する場合は対象とする被験者専用の検量モデルを予め作成する必要がある。
3. 不特定多数の者に適応可能な汎用検量モデルの開発には多くの被験者が必要であり、医療機関との共同開発が不可欠である。

[具体的データ]



図 1 試作した血糖値測定用分光装置（1号機）

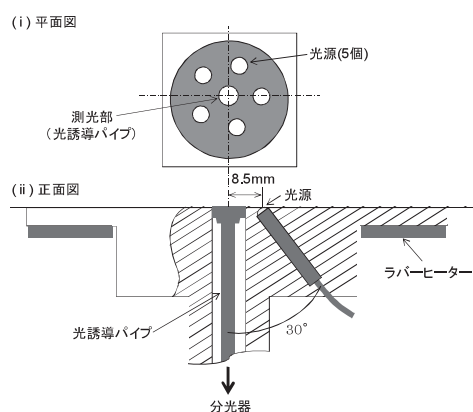


図 2 スペクトル測定部の構造

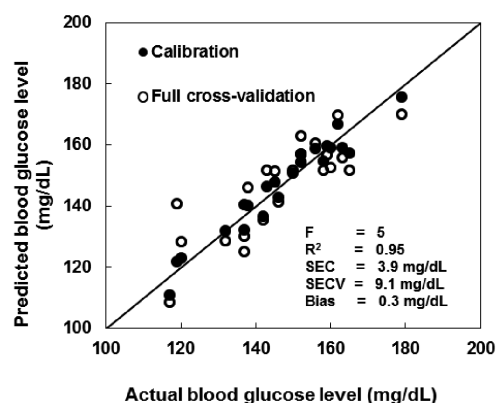


図 3 血糖値測定用 PLS 回帰モデル

表 1 各種食品のグリセミック・インデックス (G I)

食 品	面積		G I	
	実測値	近赤外値	実測値	近赤外値
グルコース	3698		100	—
米飯	2970	2590	80	70
かまぼこ	1830	2122	49	57
ヨーグルト	1418	1652	38	45

(河野澄夫、池羽田晶文)

[その他]

研究課題名：農産物・食品の機能性評価技術の開発及び機能性の解明

中課題整理番号：312e

予算区分：委託プロ（食品プロ）

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：河野澄夫、池羽田晶文、上平安紘（筑波大学大学院）、足立憲彦（（株）WACCORD）

発表論文等：1) Y. Uwadaira et al. (2010) J. Near Infrared Spectroscopy 18(5): 291-300

2) 上平安紘ら (2011) 日本食品科学工学会誌、58(3): 97-104

【成果情報名】炊飯米の良質性に関する多面的品質評価方法

【要 約】 炊飯米の良質性を評価するための炊飯米に含まれる呈味成分評価法、弾力性試験法および外観試験法である。従来の品質データに加えて、炊飯米の呈味成分含量、物理特性および外観品質に関する客観的評価・比較のための情報を提供可能である。

【キーワード】 炊飯米、品質、呈味、外観、テクスチャー

【担当】 食総研・食品素材科学研究領域・穀類利用ユニット、山形農総研セ

【代表連絡先】 電話 029-838-8131

【区分】 食品

【分類】 技術・参考

【背景・ねらい】

水稻の炊飯米の品質評価においては、食味官能試験で炊飯米の硬さ、粘り、外観、うま味、総合などの評価項目についての物理化学手法による客観的評価が重要となる。近年育成される良食味品種に関しては、従来から提案されている品質評価方法に加えて、炊飯米の味や白さ、弾力性といった要素をより高精度に推定可能な客観的評価方法が求められており、本研究では炊飯米の品質を表す客観的評価方法の開発を目的とする。

【成果の内容・特徴】

1. 評価は炊飯米を試料として、以下の測定から得られる結果を総合的に判断する(図1)。
物性測定は、物性試験機(T社製、Tensipresser MyBoy System)を用いて、炊飯米1粒を試料台に載せ、試料厚を計測後、試料厚に対する多重圧縮試験法により測定する。
外観評価は、炊飯食味計(S社製 STA-1A)を用いて、炊飯米8gを測定用治具に充填し、成型器により上下から一定の圧力をかけて円柱状に成型し、外観を評価する。
白度測定は、分光測色計(K社製 CM-600d)を用いて、炊飯米8gを成型器にて円柱状に成型し、正反射光を除去する SCE 方式で測定を行う。測定値から算出された白度(White Index: ASTM E313-73)を炊飯米の白度として評価する。
呈味成分評価は、炊飯米10gと純水20mlをトールビーカーに入れ、3分間、120往復/分の条件で振とう後、固液を遠心分離およびフィルター(0.45 μm)ろ過した上澄を抽出液として、呈味性を有するアミノ酸および糖成分をHPLC法により測定する。
2. 本評価から、炊飯米の粒感に関わる弾力性、うま味、炊飯米の光沢および白度についての特性を判断できる。
3. 「コシヒカリ」は一般粳米の評価平均値(レーダーチャートにおける1)に対して、炊飯米の外観光沢が高く、呈味成分が高い傾向が見られた。他方、「つや姫」は炊飯米の粒の弾力性があり、外観光沢と白度が高く、呈味成分の含量が高い特長がある(図2)。

【成果の活用面・留意点】

1. 評価にあたり、金属製カップによる1カップにつき精米20gでの少量炊飯法での評価が可能である。
2. 炊飯米の物性評価では、従来の低圧縮－高圧縮試験法と組み合わせることで、炊飯米の硬さや粘り具合および弾力性の詳細な解析が可能となる。

[具体的データ]

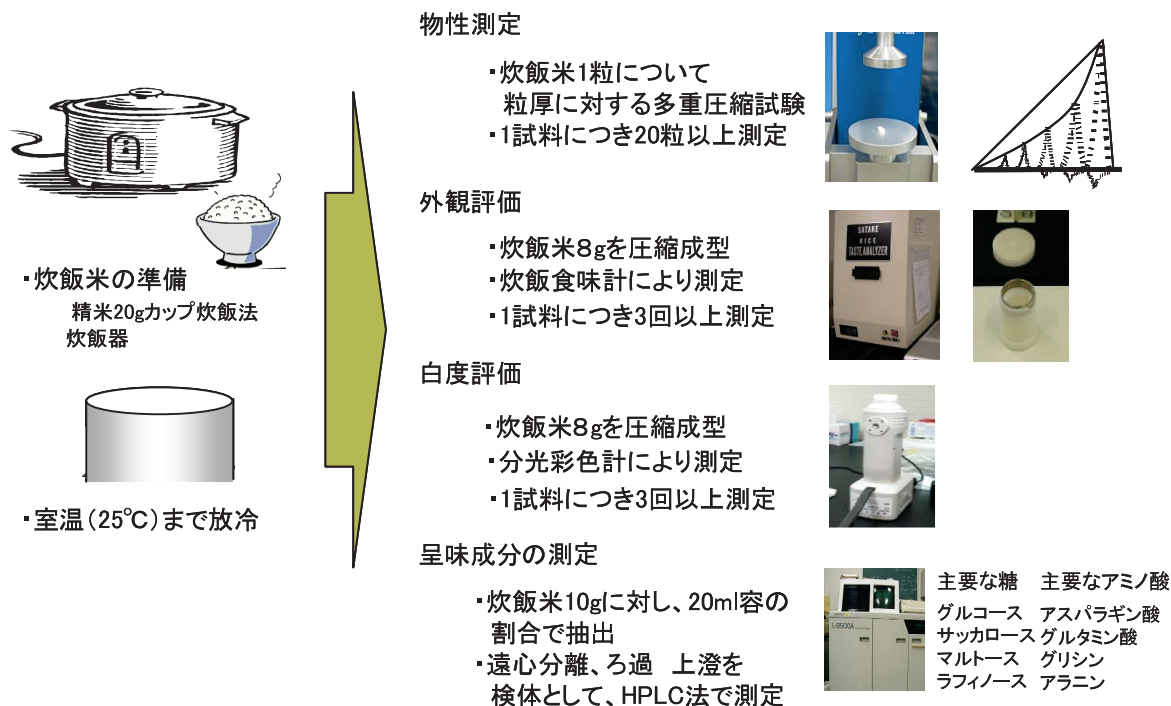
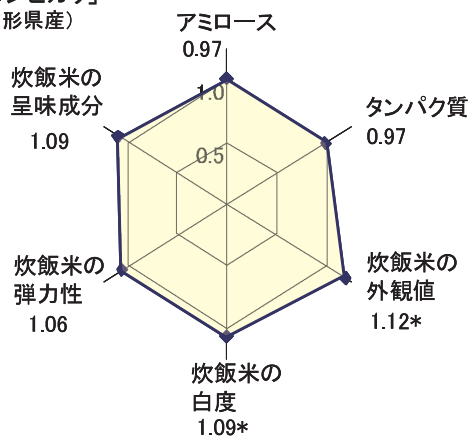


図1 炊飯米品質の測定の概要

「コシヒカリ」 (山形県産)



「つや姫」 (山形県産)

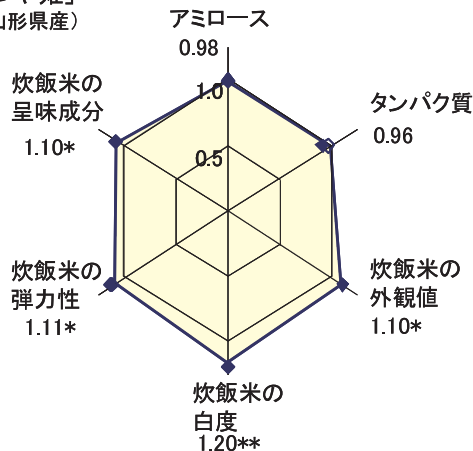


図2 炊飯米品質の比較

- ・レーダーチャートは、「コシヒカリ」および「つや姫」2009年山形県産米についての評価結果
- ・比較項目は、炊飯米の外観値、白度、弾力性、呈味性とアミロース、タンパク質含量の成分値
- ・*, ** (5%, 1%危険率): 全国の一般粳米の測定平均値(レーダーチャート1)に対して有意差あり

(鈴木啓太郎)

[その他]

研究課題名：新形質米の特性解明および利用技術の開発

中課題整理番号：313d

予算区分：交付金

研究期間：2007～2010年度

研究担当者：鈴木啓太郎、後藤元（山形農総研セ）、森谷真紀子（山形農総研セ）、浅野目謙之（山形農総研セ）

【成果情報名】 加速度伝達率を用いたイチゴ果実の振動損傷予測モデル

【要 約】 青果物の中でも特に損傷を受けやすい「イチゴ」を対象として、振動によるイチゴ果実の損傷しやすさを、振動中の果実の動きを非接触式の加速度計で測定することで簡便に予測する手法を提供する。

【キーワード】 イチゴ、損傷、振動、予測モデル、包装容器

【担当】 食総研・食品工学研究領域・流通工学ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8028

【区分】 食品

【分類】 技術・参考

【背景・ねらい】

近年、輸送環境の向上により、加速度レベルの大きい振動の発生が減少している。一方、輸送距離は拡大傾向にあるため、低加速度レベルの小さい振動が長時間作用することで発生する損傷が問題となっている。

本研究では、イチゴを対象として、低加速度レベルの小さい振動条件と包装条件が損傷程度に及ぼす影響を簡易に予測する手法を開発した。

【成果の内容・特徴】

1. 1.0G（Gは重力加速度で、 $9.8\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ ）以下の比較的低レベルの振動条件においては、加振台の振動加速度が同じであっても、振動周波数により損傷程度が大きく異なった。これは、容器もしくは果実と容器との間の共振現象によると推察される。
2. レーザ変位計を用いて非接触で包装容器中の果実の振動を解析する手法を図1に示す。この方法で計測した加速度伝達率（振動台の加速度に対する果実の加速度の比）と果実の損傷程度との間には明確な直線関係が認められ、加速度伝達率による果実の損傷予測が可能である。
3. 一般的なイチゴ用包装容器（図2）に、イチゴ果実を充填した際の加振周波数とイチゴ果実に発生する損傷程度、および加速度伝達率との関係（図3）を計測した。その結果、加速度伝達率と損傷割合の間には正の相関が見られた（図4）。このことから、加速度伝達率を測定することによって、包装容器の緩衝性能を簡易に評価できる。
4. 同様の手法で振動方向がイチゴ果実の損傷に及ぼす影響を調べた結果、損傷程度は振動方向によって異なり、前後振動 $\geq$ 左右振動 $\gg$ 上下振動であり、水平振動の影響が大きいことが示された。

【成果の活用面・留意点】

1. 実輸送試験実施前に、本手法により包装容器のスクリーニングを行うことで、従来は煩雑であった緩衝包装や輸送方法の検討における労力、コスト、時間の大幅な削減が期待できる。
2. 適切な緩衝包装設計を行うことで、流通ロスの低減、過剰包装の回避によるコストおよび環境負荷の低減が可能である。
3. トラック輸送においては、エアサスペンションの導入により、振動の水平成分が増加傾向にあることから、今後は、水平振動を含めた3次元振動が損傷に及ぼす影響についてさらに検討することが重要である。

[具体的データ]

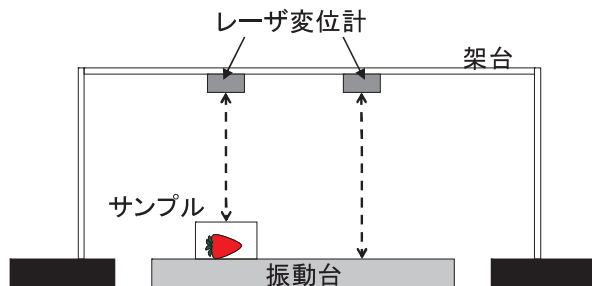


図1 加速度伝達率測定の間略図



図2 今回の研究で用いた3種の包装容器

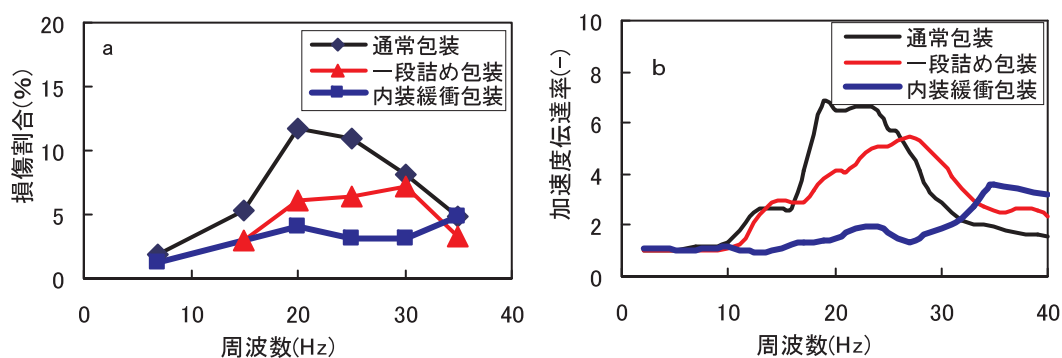


図3 振動周波数と損傷割合(a)および加速度伝達率(b)の関係
(振動条件：0.6Gの定常波、損傷割合は加振1時間後に評価)

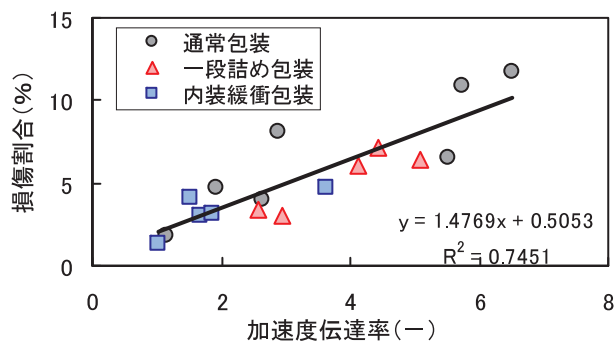


図4 加速度伝達率と損傷程度の関係

(中村宣貴)

[その他]

研究課題名：農産物・食品の流通の合理化と適正化を支える技術の開発

中課題整理番号：313c

予算区分：交付金

研究期間：2005-2009年度

研究担当者：中村宣貴、梅原仁美、岡留博司、根井大介、椎名武夫
中野浩平（岐阜大農）、前澤重禮（岐阜大農）

発表論文等：1)中村宣貴ら(2007)、農業施設、38(2)：101-108

2)中村宣貴ら(2008)、農業施設、39(1)：1-8

3)N. Nakamura et al. (2006) Journal of Food, Agriculture and Environment, 5(1),44-48

【成果情報名】 青果物のスーパー・パーシャルシール鮮度保持包装技術

【要 約】 包装袋のシール部微細孔に加え、レーザー光により袋表面に微細穿孔を開けることで、これまで難しかった輸出など長期間にわたる鮮度保持が可能となった。その結果、ニラやネットメロン等を航空便と同等の品質で船便輸送することが可能となった。

【キーワード】 微細穿孔、鮮度保持包装、輸出、レーザー光

【担当】 食総研・食品工学研究領域・食品包装技術ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8037

【区分】 食品

【分類】 技術・参考

【背景・ねらい】

青果物は、流通している時でも生きており、呼吸や水分蒸散等の生命活動を行っている。青果物の品質を保つためには、温度、湿度、酸素濃度、二酸化炭素濃度等を最適に制御する必要がある。青果物を包装し、湿度とガス環境の最適制御を行うことにより鮮度保持期間を数倍延長できるが、高品質な青果物の輸出に対応できる技術の開発には至っていないのが現状である。このため、現在広く使われている「パーシャルシール鮮度保持包装技術」をキーテクノロジーとして、最近、食品包装の分野でも用いられるようになってきたレーザー尖孔加工を、ガス透過性の制御を目的として青果物のフィルム包装に導入することにより、従来の鮮度保持包装技術では対応が難しかった、包装時に最適なガス透過性を付与できる「スーパー・パーシャルシール鮮度保持包装 (SPS)」装置を新たに開発して、青果物輸出の促進に資することを目的とする。

【成果の内容・特徴】

1. 新たに開発した SPS 包装装置は、青果物の種類や包装内重量に応じて、フィルムに開ける孔の大きさや数を瞬時にプログラム制御することで、ガス透過性を任意に調整することができる (図 1)。
2. レーザー孔を併用した SPS 包装では、開孔数に応じて袋内のガス濃度を細かく調整することができ、従来のニラのパーシャルシール包装に比べて、袋内の酸素濃度を 10 倍以上にまで高めることが可能である (図 2)。
3. 従来の JIS による強度試験では、袋全体のヒートシール強度を正確に測定できないが、微差圧計により袋内の圧力をモニタしながら破袋するまで一定速度で袋内にガスを封入し、破袋時の最大圧力を計測するという方法では、袋全体のヒートシール強度を測定可能である (図 3)。
4. PS 部のヒートシール特性を CFD (数値流体力学) により解析することで、環境温度やローラーの温度変動等がシール強度に及ぼす影響を明確にできる (図 4)。

【成果の活用面・留意点】

1. 海外輸送では国内輸送時とは異なり青果物の蒸散による袋内水滴付着で微細孔部の詰まりがかなり見られるが、レーザー孔の付加により、これを軽減することができる。
2. 今回開発したレーザー尖孔装置を併用した包装方法は、ガス透過性が飛躍的に向上し、ガス透過性の調整も精密化されたことから、これまで実現できなかったネットメロンや高糖度トマトなど多くの青果物に対応した海外輸出用の鮮度保持包装法として活用できる。
3. CFD によるヒートシール面シミュレーションによりローラーの最適な温度設定や精度の管理が行える。
4. 包装現場における包装機の運転条件 (環境温度や運転速度など) は試験機とは必ずしも同じではないのでシール特性のばらつきに留意する必要がある。

[具体的データ]

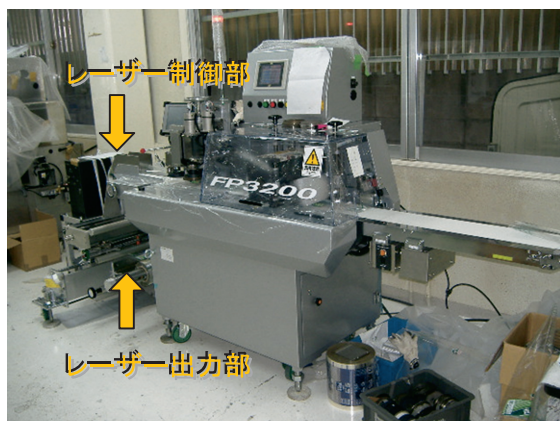


図1 レーザー尖孔装置を併用したSPS包装装置

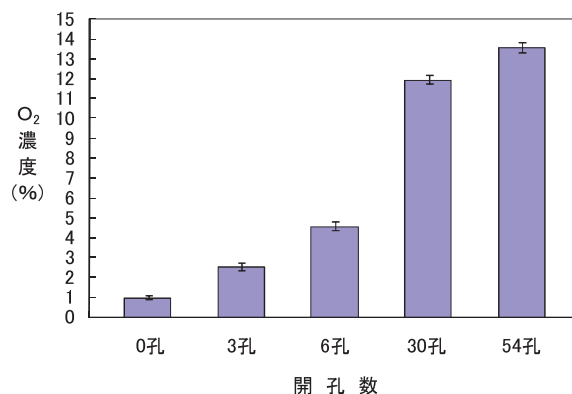


図2 SPS 包装における開口数の違いによる袋内酸素濃度の変化

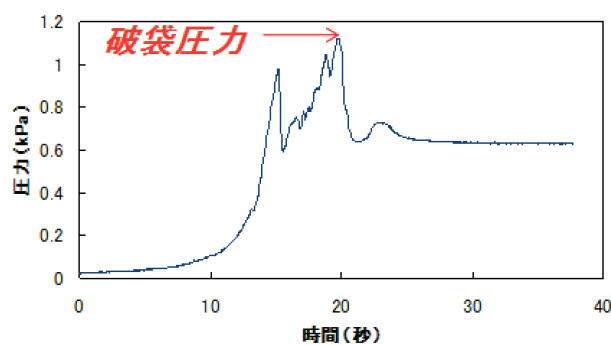


図3 SPS 包装加圧時の袋内圧力変化

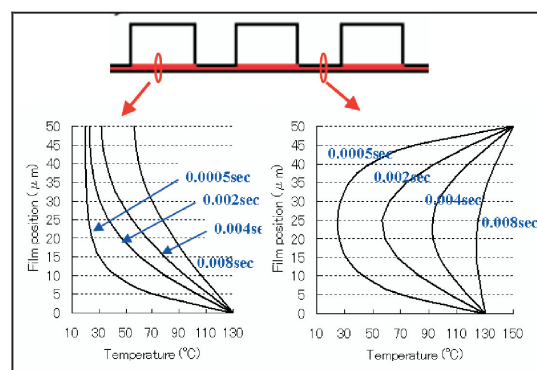


図4 微細孔部のヒートシール時における温度変化シミュレーション

(石川豊)

[その他]

研究課題名：農産物・食品の流通の合理化と適正化を支える技術の開発

中課題整理番号：313c

予算区分：実用技術

研究期間：2007～2009年度

研究担当者：石川豊、永田雅靖、鈴木芳孝（高知農技セ）、宮崎清宏（高知農技セ）

発表論文等：1) 石川豊ら（2009）日本包装学会誌 18(4)：271-279

2) 宮崎清宏ら（2010）日本食品科学工学会誌 57(7)：310-313

3) 鈴木芳孝ら（2010）日本包装学会誌 19(3)：215-222

【成果情報名】 澱粉原料からのサイクロデキストラン製造技術の開発

【要 約】 ショ糖からの歯垢形成を抑制し、難溶性物質等を環の中に取り込む包接作用を持つ機能性オリゴ糖サイクロデキストランを澱粉原料から1種類の微生物で発酵生産することが可能である。また、2種類の酵素を用いることにより酵素生産も可能である。

【キーワード】 サイクロデキストラン、環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ、デキストラングルカナーゼ

【担当】 食総研・微生物利用研究領域・発酵細菌ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8075

【区分】 食品

【分類】 技術・参考

【背景・ねらい】

サイクロデキストラン（環状イソマルトオリゴ糖、CI と省略）は、う蝕菌のグルカン合成酵素を強く阻害して歯垢の形成を抑制する機能性オリゴ糖である。また、重合度 10 以上の高分子の CI には包接作用による物質の可溶化・安定化能も確認されている。CI の生産は、ショ糖を原料として2種類の微生物酵素を用いて合成する方法が実用化されているが、原料ショ糖の半分以上を占める果糖部分が利用されず除去されるため、製品 CI の製造コスト低減が困難な状況である。そこで、より安価な澱粉から CI を生産する方法を開発している。具体的には、①CI 生産菌を澱粉含有培地で培養して CI を菌対外に生産する発酵法と、②新規酵素デキストラングルカナーゼ（DGase）と CI 合成酵素（CITase）を澱粉に作用させることにより CI を生産する酵素法である。今後反応系の最適化により、安価な CI の実用的製造技術への発展が期待される。

【成果の内容・特徴】

- (1) CI はグルコースが α -1,6 結合で環状に重合したオリゴ糖で、これまでにグルコースの数 7~17 個から成る CI-7~CI-17 が知られている（図 1）。CI 生産菌 *Bacillus circulans* T-3040 株を澱粉含有培地で培養すると、デキストランで培養した場合と同様、培地中に CI を生産する（図 2）。
- (2) T-3040 株を 2% の可溶性澱粉を含む培地で培養すると、3 日目から CI の蓄積が見られ、4 日目で澱粉の約 20% が CI-7~CI-12 に転換される（表 1）。
- (1) CI 生産菌はこれまで 3 株が知られているが、このうち *Paenibacillus* sp. 598K 株を澱粉で培養するとその培養上清から、DGase が検出される。この酵素は図 3 に示すとおり、マルトオリゴ糖から低分子と高分子のオリゴ糖を生産する不均化反応を行う。DGase は澱粉の α -1,4 結合鎖を分解して転移反応し、新たに α -1,6 結合鎖を作る反応を触媒する。
- (2) CITase を単独で作用させても澱粉やマルトオリゴ糖から CI を生産させることはできないが、*Paenibacillus* sp. 598K 株由来の DGase と *B. circulans* T-3040 株由来の CITase を同時に作用させることにより、澱粉からでもマルトオリゴ糖からでも半日以内に原料の 20% 以上を CI に転換できる（図 4）。

【成果の活用面・留意点】

- CI 生産菌を澱粉含有培地で培養するだけの簡単な方法で CI を生産することができる。4 日間以上という長い培養時間が必要となるので、発酵法を実用化するには短い培養時間で CI を生産できる変異株を取得する等、さらに開発を進める必要がある。
- 新規に発見した DGase と、CITase を同時に用いることにより、澱粉やその分解物（マルトオリゴ糖）から CI を酵素生産できる。遺伝子組み換え技術で酵素を大量生産し、短い反応時間で多量の CI を生産することができる。

[具体的データ]

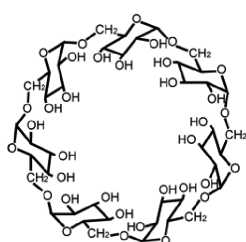


図1. グルコース7分子より成るサイクロデキストラン CI-7 の構造.

表1. 可溶性澱粉含有培地で培養した *B. circulans* T-3040 株における CI 生産.

培養時間 (日)	CI(CI-7~CI-12)生産量 mg CI / g 澱粉
1	0
2	0
3	0.4
4	201.6

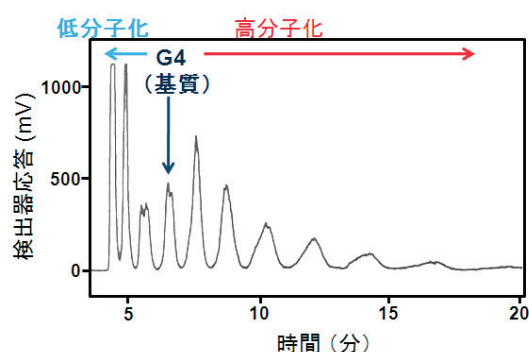


図3. グルコース4分子から成るマルトオリゴ糖であるマルトテトラオース(G4)を基質とした DGase 反応生成物の高速液体クロマトグラフ分析.

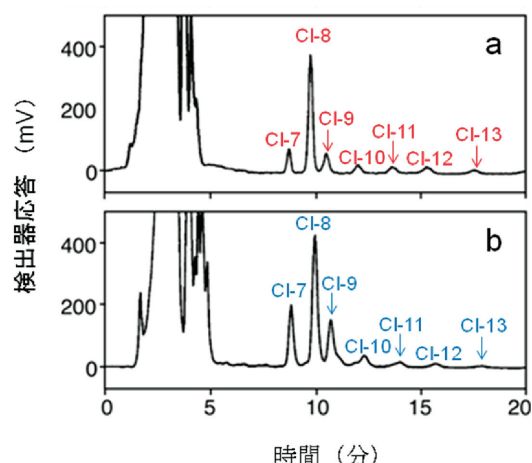


図2. デキストラン(a)または可溶性澱粉(b)で培養した *B. circulans* T-3040 株の培養上清に蓄積する CI の高速液体クロマトグラフ分析.

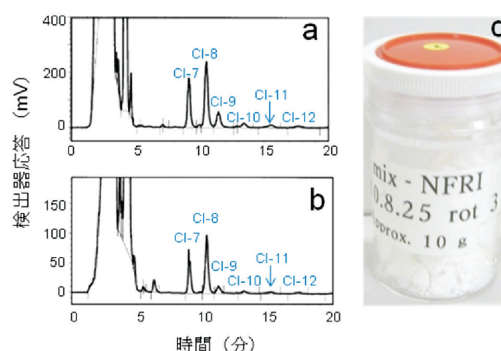


図4. 可溶性澱粉(a)またはマルトヘキサオース(b)を基質として組換え CITase と DGase を作用させて生産した CI の高速液体クロマトグラフ分析と、生産物 CI の凍結乾燥標品(c).

(舟根和美)

[その他]

研究課題名：バイオテクノロジーを利用した新食品素材の生産技術の開発及び生物機能の解明・利用

中課題整理番号：313e

予算区分：イノベーション創出、戦略的基盤技術高度化、交付金

研究期間：2006～2010年度

研究担当者：舟根和美、木村啓太郎、鈴木龍一郎、北岡本光、儀部茂八（CI バイオ）、渡嘉敷唯章（TTC）、川端康之（大阪樟蔭女大）、小林幹彦（実践女大）、藤本瑞（農生研）、木村敦夫（北大）

発表論文等：舟根ら「サイクロデキストランの製造方法およびサイクロデキストラン合成酵素の製造方法」特許公開 2008-167744

【成果情報名】 ポストゲノム研究で明らかになった新たな麹菌のアミノペプチダーゼ群

【要 約】 我が国の醸造産業で麹菌として用いられている *Aspergillus oryzae* は、醸造食品の呈味性に重要なアミノペプチダーゼを多数生産する。ゲノム情報の活用によりこれまで知られていなかった新たな麹菌酵素群が明らかとなる。

【キーワード】 麹菌、タンパク質・ペプチド分解、アミノペプチダーゼ

【担 当】 食総研・微生物利用研究領域・糸状菌ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8077

【区 分】 食品

【分 類】 研究・参考

【背景・ねらい】

Aspergillus oryzae は日本醸造学会から「国菌」と認定され、我が国の伝統的発酵食品の製造に麹菌として利用されており、産業上重要な糸状菌である。アミノペプチダーゼは、ペプチドのアミノ末端からアミノ酸を遊離する酵素であるが、麹菌の同酵素は味噌や醤油等の呈味性に深く関与していることが知られている。本菌のゲノム情報から、30 種類以上のアミノペプチダーゼ様遺伝子が見出されており、醸造工程の最適化のために、これらの遺伝子産物の醸造における役割の解明が望まれている。本研究では、これらの遺伝子産物の酵素活性や基質特異性、酵素化学的性質を明らかにし、麹菌のアミノペプチダーゼ群の全容を解明する。

【成果の内容・特徴】

1. *A. oryzae* ゲノム解析株 (*A. oryzae* RIB40) のアミノペプチダーゼ様遺伝子 34 種のうち、大腸菌あるいは麹菌を宿主として発現させた場合、アミノアシルパラニトロアニリド (Aa-pNA) あるいはペプチドを基質としてアミノペプチダーゼ活性を有する酵素は 23 種類である。
2. これらの 23 種類の酵素を基質特異性に基づいて分類すると、ロイシン等の脂溶性アミノ酸をペプチド等から遊離する活性を有する酵素が半数を占める一方、酸性アミノ酸、プロリン、グリシンを特異的に遊離する酵素は各々 1 分子種である。
3. *A. oryzae* で新たに明らかにしたプロリンを特異的に遊離するプロリルアミノペプチダーゼ遺伝子は、過剰発現させると不活性体を形成するが、抑制的な発現条件では、活性な 6 量体酵素として生産され、菌体の無細胞抽出液から精製することが可能である。
4. 精製プロリルアミノペプチダーゼは、プロリンをアミノ末端に有するジペプチドに対して最も活性が高く、テトラペプチド以上の長さの基質に対しては活性が低い (表 1)。
5. 同様に *A. oryzae* で新たに明らかにした分泌型ロイシンアミノペプチダーゼ (LapA) は、Aa-pNA 基質のうち Leu-pNA の分解活性が最も高く、次いでその約 40% の活性で Phe-pNA も分解する。本酵素はアルカリ側の pH で活性及び安定性が高い。反応の至適 pH は 8.5 付近であり、pH7.5-11 の間で pH8.5 の場合の 80% 以上の活性を示す (図 1)。
6. LapA をコードする *lapA* 遺伝子の逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) によって解析すると、アルカリ条件 (pH10.0) の培養で発現が誘導される (図 2)。

【成果の活用面・留意点】

1. 本成果はゲノム解析株を用いて得られたものであり、今後、実用菌株の当該酵素生産様式を解明していくことが必要である。
2. 遺伝子によっては、*lapA* 遺伝子のように培養条件及び酵素反応条件や安定性を考慮することにより効率的な酵素生産が可能となる。
3. 解明した麹菌の新規アミノペプチダーゼ群について、麹菌を利用した発酵食品の製造工程における熟成や呈味性等への関与を明らかにすることが必要である。

[具体的データ]

表 1 麹菌プロリルアミノペプチダーゼの各種基質に対する比活性

ペプチド基質	比活性 (U/mg)
PA	25.7
AP	N.D
PLG(NH ₂)	22.2
PPFG(8)	4.5*
PLSR(12)	2.4
Pro-pNA	18.3
Pro- <i>l</i> NA	20.0
hydroxy-Pro- <i>l</i> NA	42.4

PLSR(12): PLSRTLVSAAKK. PPFG(8): PPGFSPFR.

N.D.: no activity detected.

*は 2 残基のプロリンの加水分解による相加的な活性

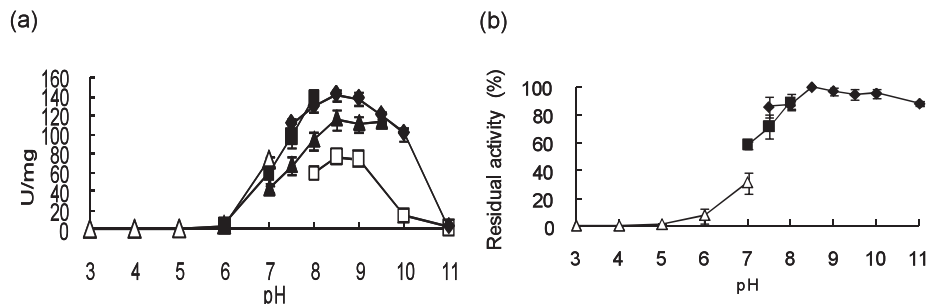


図 1 ロイシンアミノペプチダーゼ (LapA) の活性に与える pH の影響 (a) 及び安定性に与える影響 (b)

(a) 50 mM 各種緩衝液 50°C での比活性を示した。△, citrate-phosphate (pH 3-7); ■, potassium phosphate (pH 6-8); ▲, Tris-HCl (pH 7-9); □, glycine-NaOH (pH 8-11); ◆, HEPES (pH 7.5-11) (b) pH 安定性は、各 pH の緩衝液で精製酵素を 30°C 30 分間保持後の残存活性を、50 mM HEPES 緩衝液 (pH 8.5) 中での比活性を 100% として示した。

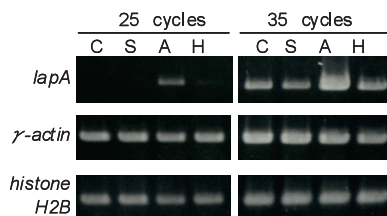


図 2 RT-PCR による *lapA* 遺伝子の培養条件による発現量の比較

A. oryzae RIB40 株を YPD 培地で 30°C 20 時間培養後、以下の条件でさらに 2 時間培養した。

C ; YPD 培地 30°C、S ; 1M NaCl 含有 YPD 培地 30°C、A ; pH10.0 調整 YPD 培地 30°C、H ; YPD 培地 40°C。γ-アクトニン及びヒストン H2B 遺伝子の発現量を比較対照とした。

(楠本憲一、服部領太、鈴木聡)

[その他]

研究課題名：麹菌プロテアーゼ等の網羅的機能解析

中課題整理番号：313e

予算区分：基盤、新技術・新分野

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：楠本憲一、鈴木聡、服部領太、松下（森田）真由美、多田功生、丸井淳一郎、古川育代、天野仁（天野エンザイム）、石田博樹（月桂冠）、山形洋平（東京農工大）、竹内道雄（東京農工大）、柏木豊（東京農工大）

発表論文等：1) Matsushita-Morita M. et al. (2010) J. Appl. Microbiol. 109(1):156-165

2) Matsushita-Morita M. et al. (2010) Curr. Microbiol. 62(2):557-564

3) Morita H. et al. (2010) Biosci Biotechnol Biochem. 74(5):1000-1006

【成果情報名】糸状菌のかび毒デオキシニバレノール(DON)生産誘導機構の解明

【要 約】 デオキシニバレノール(DON)産性フザリウム属糸状菌では、アグマチン、アスコルビン酸、大麦表皮等の添加剤がDONの産生を強く誘導する。アグマチンの効果は、DON生合成に必要な物質の供給増加であると考えられる。

【キーワード】 フザリウム属, デオキシニバレノール(DON)、アグマチン

【担 当】 食総研・微生物利用研究領域・微生物評価ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8103

【区 分】 食品

【分 類】 研究・参考

【背景・ねらい】

食品等への汚染が懸念されるフザリウム属かびの生産するかび毒の量や生産の有無は、かびが生育する環境（化学薬品、降雨、日照、宿主植物の一部など）によって大きく異なる。本研究では、フザリウム属かび遺伝子の変動を検出するDNAマイクロアレイを作成し、環境によって変動するかび毒生産に関与する遺伝子を特定し、その制御メカニズムの解明を行う。本研究により万一生育してもかび毒を生産しない条件を設定することで、かび毒汚染リスクの低減を図ることが可能となる。

【成果の内容・特徴】

1. *Fusarium asiaticum*(mo311)をPotato dextrose培地で生育させると、添加物なしでも若干のデオキシニバレノール(DON)を生産するが、大麦表皮やアスコルビン酸添加によりその生産量は増加する。一方Modified CZAPEK液体培地ではDONの生産は完全に抑制され、本培地にアグマチン(5 mM)を添加すると、DONの生産量が増加する(図1)。
2. Modified CZAPEK液体培地にアグマチン(5 mM)を添加して培養した*Fusarium asiaticum*は無添加区と変わらない増殖率を示す一方、DON生産量はアグマチン添加後3日目以降増加し、4日で最大に達する(図2)。
3. MIPS *Fusarium graminearum* genome database(FGDB)を用いて、*Fusarium graminearum*全遺伝子を搭載したDNAマイクロアレイを製作した。アレイに搭載したプローブは60-merのオリゴヌクレオチドからなり、11,619個の遺伝子をコードする43,067個である。
4. このマイクロアレイを用いてアグマチン添加により影響を受ける*Fusarium asiaticum*(mo311)の遺伝子発現解析を行ったところ、搭載11,619個の遺伝子のうち、3倍以上に誘導されている遺伝子は556個、0.3倍以下に抑制されている遺伝子は453個である。
5. アグマチン添加によって誘導される遺伝子の多くは、脂肪酸やイソプレノイドの代謝に関わる遺伝子であり、その他各種脱水素酵素、トランスポーター等に関する遺伝子が誘導される(表1)。DON生産過程の重要遺伝子(*Tri5*)の誘導は顕著ではなく(1.8倍)、アグマチン効果は、DON生合成経路関連遺伝子を直接誘導するというよりは、代謝調節によるDON生合成に必要な基質の供給増加であると考えられる。

【成果の活用面・留意点】

1. *Fusarium graminearum*全遺伝子を搭載したDNAマイクロアレイはあらゆる代謝機能の研究に用いる事が出来る。
2. DONの生産抑制の為に、今までと異なる視点での麦類等の育種戦略に活用出来る。

[具体的データ]

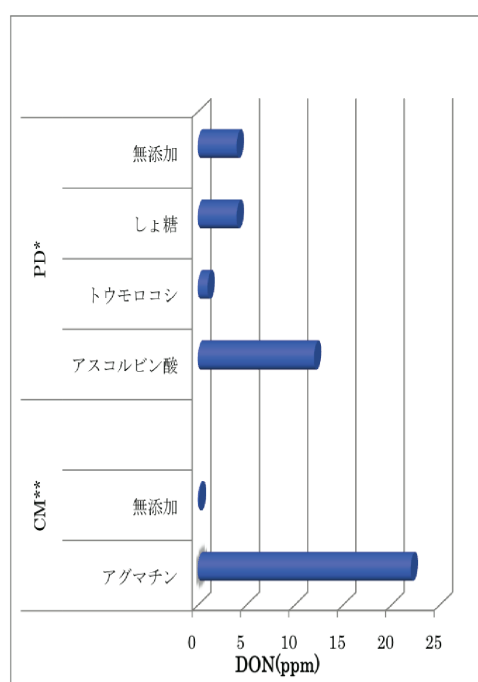


図1 各種添加物によるDON生産量の変動

*: potato dextrose medium

** : modified CZAPEK liquid medium

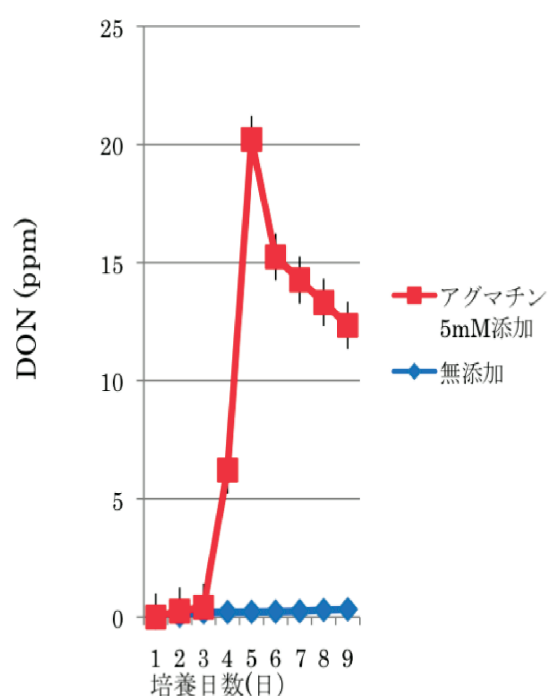


図2 アグマチン添加によるDON生産量の変化

表1 アグマチン添加により誘導される遺伝子の機能別分類

機能別分類	誘導される遺伝子数
代謝に関するタンパク質等をコードする遺伝子群	227
結合機能を持つタンパク質等をコードする遺伝子群	124
細胞内の物質移動に関する遺伝子群	127
細胞レスキュー、防衛、解毒に関する遺伝子群	93
環境との相互作用に関する遺伝子群	56

(岩橋由美子、鈴木忠宏)

[その他]

研究課題名：バイオテクノロジーを利用した新食品素材の生産技術の開発及び生物機能の解明・利用

中課題整理番号：313e

予算区分：特別交付金

研究期間：2010年

研究担当者：岩橋由美子、鈴木忠宏

【成果情報名】 L-アラビノースからのキシリトール発酵生産

【要 約】 遺伝子組換えにより代謝経路を改変した大腸菌を用いて L-アラビノースをキシリトールに変換する技術である。培養 24 時間で 10.5 g/L の L-アラビノースから 92 %の収率で 9.7 g/L のキシリトールを生産することができる。

【キーワード】 キシリトール、L-アラビノース、代謝工学、微生物変換

【担当】 食総研・食品バイオテクノロジー研究領域・機能分子設計ユニット

【代表連絡先】 電話 029-838-8061

【区分】 食品

【分類】 研究・参考

【背景・ねらい】

キシリトールは低カロリー、非う蝕作用等の現代の健康志向に適した特性を持つことから、機能性甘味料として需要が増加している。現在、キシロースを化学的に還元することによりキシリトールは生産されているが、純度の高いキシリトールを得るためには、パルプやコーンコブ等のキシロース含量が元々高い原料を使用する必要がある。一方、稲わら等の未利用・低利用バイオマス中にもキシロースが多く含まれており、これらの資源からキシリトールが効率的に生産することができるようになれば、バイオマスの有効利用にも繋がることが期待される。しかし、多くのバイオマスにはキシロースに加え、L-アラビノースも多量に含まれており、化学的還元法では L-アラビトールが副生してしまう問題がある。そこで、本研究では L-アラビノースからキシリトールを生産する技術を開発する。

【成果の内容・特徴】

1. 遺伝子組換えにより、(i) L-アラビノースを L-リブロースに変換する L-アラビノースイソメラーゼ、(ii) L-リブロースを L-キシルロースに変換する D-プシコース 3-エピメラーゼ、(iii) L-キシルロースをキシリトールに変換する L-キシルロースレダクターゼの 3 つの酵素遺伝子（図 1）を利用することにより L-アラビノースをキシリトールに変換する新たな代謝経路を大腸菌内に構築する。さらに、変換経路の代謝中間産物の消費を防ぐために、宿主菌の L-リブロキナーゼ、L-リブロース 5-リン酸 4-エピメラーゼ、L-キシルロキナーゼ遺伝子を破壊する。
2. 大腸菌の L-アラビノース代謝関連プロモータを利用することにより、基質（L-アラビノース）のみで、発現誘導物質を別途添加することなく、変換経路を構成する 3 つの酵素を同時に発現させることが可能である（図 2）。
3. この変換経路を導入した大腸菌を使用することにより、培地に加えた L-アラビノースをキシリトールに変換できる。しかし、このままではキシリトール収率（基質 L-アラビノース量に対するキシリトール収率）は 25%と低い（図 3）。
4. 収率が低い原因として、3 段階目の反応に必要な補酵素（NADH）の不足が推察される。補酵素を再生させるためにグリセロールを培地に添加することによりキシリトール収率は大幅に改善され、培養 24 時間で、10.5 g/L の L-アラビノースから 9.7 g/L のキシリトールを生産することが可能である。この場合のキシリトール収率は 92%となる（図 4）。

【成果の活用面・留意点】

1. バイオマスを原料にした効率的なキシリトール生産のためには、キシロースからキシリトールの変換も併せて行う必要がある。
2. 本菌に、さらに補酵素再生系を導入することにより、グリセロールを添加せずとも収率良く L-アラビノースをキシリトールに変換することが可能になると考えられる。

[具体的データ]

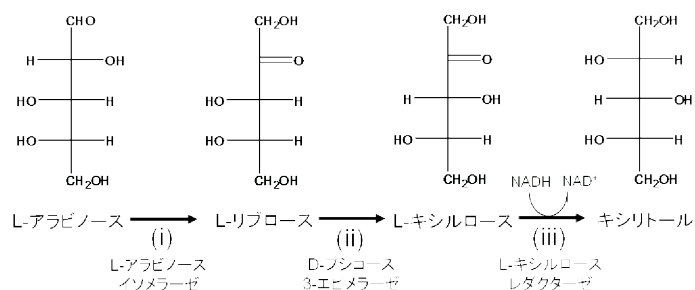


図1 L-アラビノースからキシリトールへの変換経路

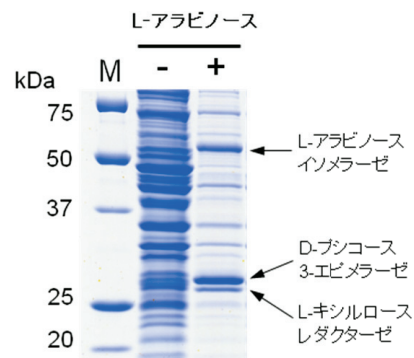


図2 遺伝子組換え大腸菌における変換酵素の発現 (L-アラビノース存在下(+)で、3つの変換酵素が発現している.M: 分子量マーカー.)

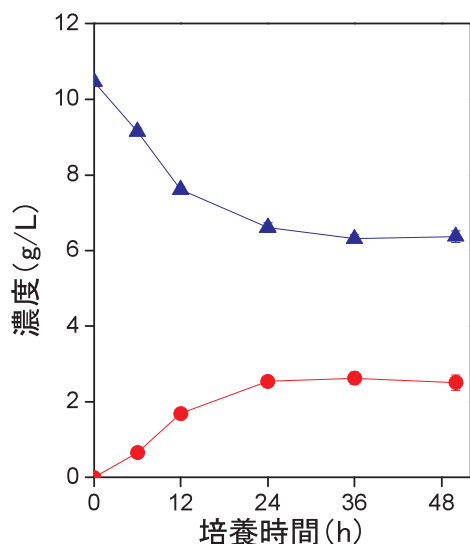


図3 変換経路を導入した大腸菌による L-アラビノースからキシリトールへの変換 (▲: L-アラビノース、●: キシリトール)

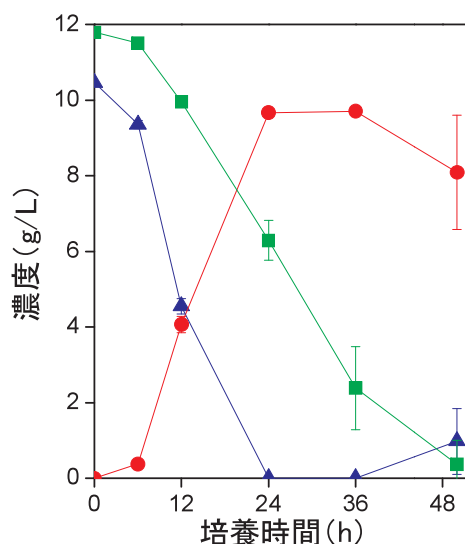


図4 グリセロール添加時の L-アラビノースからキシリトールへの変換 (▲: L-アラビノース、■: グリセロール、●: キシリトール)

(榊原祥清)

[その他]

研究課題名: 微生物代謝工学を用いた希少糖生産方法の開発

中課題整理番号: 313e

予算区分: 基盤

研究期間: 2006~2010 年度

研究担当者: 榊原祥清

発表論文等: Sakakibara Y. *et al.* (2009) *J. Biosci. Bioeng.* 107 (5) 506-511.

3) 関連資料

【成果情報名】稲わらを湿式貯蔵しながら常温水酸化カルシウム前処理を行う「RT-CaCCO 法」

【要約】稲わらの繊維質に対する常温・7 日間の水酸化カルシウム処理は、120℃・1 時間処理と同等の効果を発揮する。CaCCO 法を常温で行う RT-CaCCO 法では、湿式貯蔵中に前処理が進み、ショ糖や澱粉の分解を抑えつつ繊維質の酵素糖化効率が向上する。

【キーワード】稲わら、ショ糖、澱粉、バイオエタノール、RT-CaCCO

【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 029-838-7189

【区分】バイオマス

【分類】技術・参考

【背景・ねらい】

稲わらを原料としてバイオエタノールを製造するためには、発酵性糖質の流亡や分解を極力抑えるとともに、変換工程におけるエネルギー投入を抑えた効率的な変換技術の開発が必要となる。そこで、稲わら原料中の繊維質や易分解性糖質から発酵性糖質を回収するための水酸化カルシウム ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 前処理技術「CaCCO (Calcium Capturing by Carbonation) 法」(平成 21 年度バイオマス研究成果情報)における熱投入を抑えるため、常温処理の有効性を評価し、新技術を開発する。

【成果の内容・特徴】

1. CaCCO 法は、粉碎稲わら原料を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 懸濁液と反応させた後、炭酸ガスで中和し、中和後の塩である炭酸カルシウムを反応槽内に残す前処理技術であるが、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との反応を 120℃・1 時間行うことにより、繊維質に対する酵素糖化効率の向上を図る。それに対して、稲わら繊維質を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 懸濁液 ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ /原料比=0.2) 中で室温・7 日間処理した際にも、120℃・1 時間と同等の酵素糖化率の向上が観察され、RT (Room Temperature)-CaCCO 法としての技術が確立した(図 1)。水中で室温処理すると、微生物汚染が進み、前処理効率が低下することが問題となる。
2. 稲わらの RT-CaCCO 法処理において、室温 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 前処理時における易分解性糖質(ブドウ糖、果糖、ショ糖、澱粉及び β -1,3-1,4-グルカン)の安定性をモデル化合物を用いて評価すると、還元性をもつ遊離糖は徐々に分解されるが、ショ糖、澱粉及び β -1,3-1,4-グルカンは大部分が維持される(図 2)。
3. 稲わら(コシヒカリ)を原料として、RT-CaCCO 法による前処理及び酵素糖化を行うことにより、原料中の六炭糖(ブドウ糖+果糖)回収率 76.0%、キシロース回収率 65.2%を達成する。炭酸ガスによる中和の前に石臼による湿式粉碎工程を導入した場合、それぞれの値は 86.3%及び 72.6%に向上する。

【成果の活用面・留意点】

1. RT-CaCCO 法を用いると、120℃の高温処理が省けることから、熱処理コスト及び前処理設備費の低減が可能となる。
2. 稲わらやコーンストーバー等の草本系原料の多くは含水率が高いことから、急速に腐敗するが、現在、低コスト湿式貯蔵技術は存在せず、バイオマス変換技術実用化への大きな障壁となっている。本前処理技術は、高い pH での貯蔵により腐敗を抑制することから、サトウキビバガス、コーンストーバー等の繊維質、稲やサトウキビの地上部全体のような、ショ糖や澱粉を含む繊維質系原料などに対しても適用性が高い。
3. 今後、原料特性に対応した RT-CaCCO 法の実用化に向けて、粉碎コストや加水量を抑えつつ、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 懸濁液との混合を効率的に行うための最適粉碎・混合条件の決定が必要である。

[具体的データ]

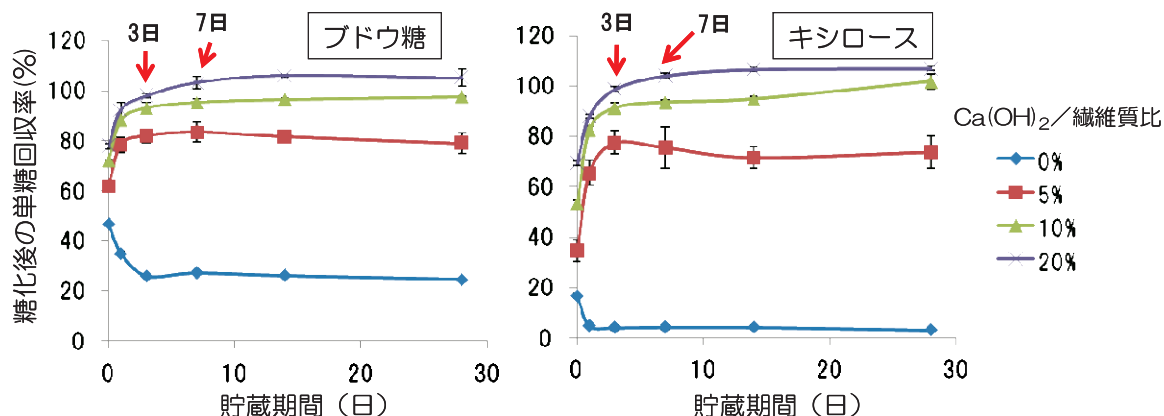


図1 脱澱粉・脱遊離糖処理を行った後の稲わら（コシヒカリ）繊維質を室温（25℃）で Ca(OH)_2 処理した際の貯蔵期間と前処理効果との関係

（各 Ca(OH)_2 濃度で稲わらを各期間、室温貯蔵した後、HCl 水溶液で中和し、水洗浄して得た繊維質をセルラーゼ・ヘミセルラーゼ製剤により酵素糖化し、得られたグルコース及びキシロースを定量。単糖回収率は、 Ca(OH)_2 /繊維質比=20%の条件で 120℃・1 時間処理した後に、同様に評価した試料の糖化率に対する比として表記した。）

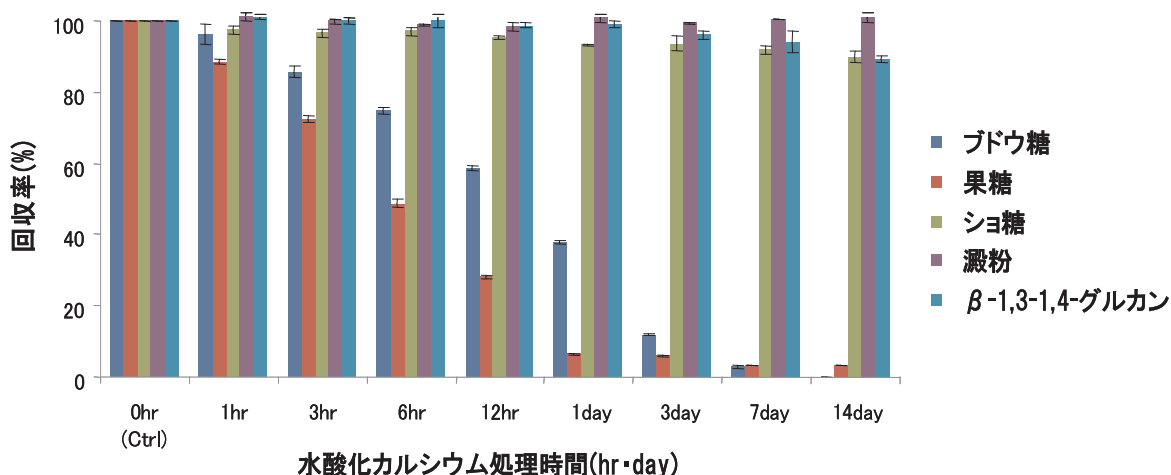


図2 0.5%水酸化カルシウム溶液中での室温保存時における各糖質の回収率変化(糖質1%)

(徳安健)

[その他]

研究課題名：未利用バイオマス及び資源作物を原料とした低コスト・高効率バイオエタノール変換技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：委託プロ（バイオマス）

研究期間：2007 年度～2010 年度

研究担当者：徳安健、池正和、朴正一、城間力、Muhammad Imran Al-Haq、荒金光弘

発表論文等：城間力ら： *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 2943-2949.

【成果情報名】テンサイとバレイショを混合するバイオエタノール製造技術「MIX-CARV 法」

【要約】テンサイ・バレイショの両磨砕物を混合し、CARV 法を用いて粘性低下処理と澱粉液化・並行複発酵を行うことにより、テンサイの単独使用時に必要な搾汁やシックジュース調製工程を省くとともに、高濃度のエタノールを生産できる。

【キーワード】テンサイ、バレイショ、バイオエタノール、MIX-CARV

【担当】食総研・食品素材科学研究領域・糖質素材ユニット、北農研・寒地バイオマス研究チーム、北農研・寒地地域特産研究チーム

【代表連絡先】電話 029-838-7189

【区分】バイオマス

【分類】技術・参考

【背景・ねらい】

我が国では、テンサイ由来のシックジュースからのバイオエタノール製造技術が実証段階にある。しかしながら、この製造技術では、製糖工場のシンジュース濃縮設備を併用できる反面、濃縮時の熱エネルギー投入が不可欠となる欠点を有する。そこで、テンサイの搾汁液の熱濃縮を省略するため、「CARV (Conversion After Reduction of Viscosity) 法」(平成 20、21 年度バイオマス研究成果情報)の改良技術を開発する。その際には、比較的低い糖濃度のテンサイ磨砕物へ澱粉系素材を混合して糖液濃度を上昇させるとともに、加熱を伴う澱粉液化工程の導入により微生物汚染リスクの低減を考慮した変換工程とする。

【成果の内容・特徴】

1. 開発された新変換工程 (MIX-CARV 法) は以下のとおりである。
 - 1) テンサイ「北海 87 号」及びバレイショ「コナフブキ」を、それぞれ湿式グラインダー処理により無加水磨砕することにより、表 1 の成分組成を示すテンサイ磨砕物(SBM)、バレイショ磨砕物(PM)及び両者の 1:1 (重量比) 混合物 (MIX) を得る。
 - 2) 磨砕物について、ラピッド・ビスコ・アナライザー (Newport Scientific 社) により、ペクチナーゼ製剤、ヘミセルラーゼ製剤及びセルラーゼ製剤の混合酵素を加えて 50℃、160 回転で攪拌すると、SBM では殆ど粘性低下しないのに対して、PM 及び MIX で粘性低下がみられる (図 1)。
 - 3) 2L 容量のジャーファーマンター内に SBM 及び PM を各 300 g 投入した後、前項と同じ酵素製剤で 50℃・4 時間の粘性低下処理 (攪拌速度 200 rpm) を行い、さらに耐熱性 α -アミラーゼ製剤を投入して 95℃・30 分間の澱粉液化処理を行う。その後、グルコアミラーゼ製剤、硫安 (磨砕物 1 g に対して 4 mg) 及びアルコール酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0224 株) を加え、30℃・攪拌速度 60 rpm で並行複発酵を行う。
2. 図 2 に示すとおり、デキストリン量は初期に増加した後、迅速に消失し、ショ糖はブドウ糖と果糖に分解されつつ消失する。ブドウ糖と果糖は一旦増加し、ブドウ糖よりも遅れて果糖が消失する。また、培養 48 時間後のエタノール濃度は 14.2%(v/v)となり、発酵性糖質 (ショ糖、遊離還元糖、澱粉及びセルロース由来) の量から計算した理論収率の 92.4%に達する。

【成果の活用面・留意点】

1. MIX-CARV 法によれば、原料磨砕装置、澱粉液化装置、発酵槽と蒸留装置があれば主プロセスが完成する。
2. 蒸留残渣の高度利用方法及び処理方法は、プロセス全体の環境負荷及び製造コストに大きく影響を及ぼす。プロセスの完成に合わせた高度化研究が必要となる。

[具体的データ]

表 1 テンサイ磨砕物 (SBM)、パレイショ磨砕物 (PM) 及び両者の 1:1 混合物 (MIX) の主要成分組成

成分	SBM	PM	MIX
可溶性糖質			
シヨ糖	70.5±1.59	0.2±0.02	28.4±0.69
ブドウ糖	0.5±0.00	1.5±0.01	1.1±0.01
果糖	0.3±0.00	1.5±0.01	1.0±0.01
澱粉	1.0±0.27	77.4±1.37	46.6±0.10
セルロース	2.0±0.04	1.8±0.01	1.9±0.02
リグニン	7.1±0.31	2.1±0.08	2.8±0.26
灰分	2.7±0.10	4.0±0.30	3.2±0.20

乾物重量に対する%として計算(平均値及び標準偏差を記載、n=3)。

SBM、PM 及び MIX の含水率は、それぞれ 76.7%、68.4%及び 72.2%。

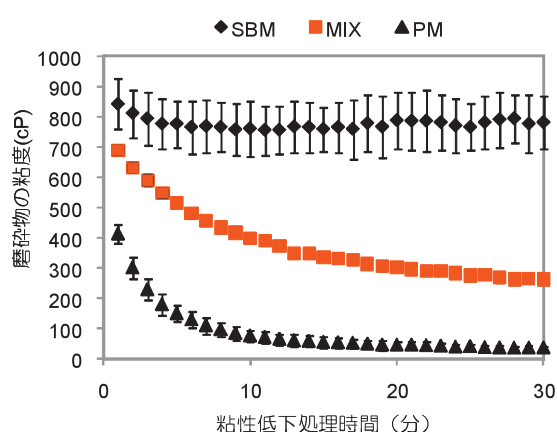


図 1 ラピッド・ビスコ・アナライザーによる各磨砕物の酵素処理時における粘性低下特性
(酵素製剤：ペクチナーゼ製剤、ヘミセルラーゼ製剤及びセルラーゼ製剤の混合物、処理温度 50℃, n=3)

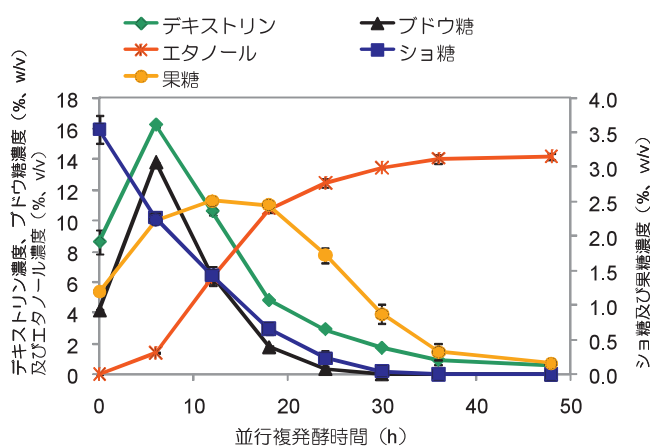


図 2 磨砕物混合試料 (MIX) の粘性低下・澱粉液化後の並行複発酵試験における各成分の消長
(グルコアミラーゼ製剤存在下で *Saccharomyces cerevisiae* 使用。n=2)

(徳安健)

[その他]

研究課題名：未利用バイオマス及び資源作物を原料とした低コスト・高効率バイオエタノール変換技術の開発

課題 ID：224-b

予算区分：委託プロ (バイオマス)

研究期間：2007 年度～2010 年度

研究担当者：徳安健、ユンミンスウ、朴正一、荒金光弘、池正和、田宮誠司、高橋宙之

発表論文等：ユンミンスウ、朴正一、荒金光弘、池正和、田宮誠司、高橋宙之、徳安健： *Biosci. Biotechnol. Biochem.*(2011) (doi:10.1271/bbb.100744) .

【成果情報名】連続フィード培養によるリグノセルロース糖化酵素の効率的生産システム

【要約】誘発した突然変異株を用いて、可溶性糖質を連続的に添加しながらリグノセルロース糖化酵素の生産を行う技術（連続フィード培養）は、安価な原料からの酵素生産を安定的に行うことができ、酵素生産コストの低減が期待される。

【キーワード】リグノセルロース、糖化酵素（セルラーゼ）生産、バイオエタノール

【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 029-838-7189

【区分】バイオマス

【分類】技術・参考

【背景・ねらい】

稲わらなどの原料を用いて 100 円/L 以下の低コストでバイオエタノールを製造するためには、リグノセルロース糖化酵素の生産コストを大幅に低減し、また、多様な原料や前処理法に適した糖化酵素カクテルを生産・供給していくことが必要である。そこで、エタノール変換プロセスに応じて生産酵素組成を調節可能な、効率的糖化酵素システムを開発する。

【成果の内容・特徴】

1. セルラーゼ高生産株 *Trichoderma reesei* ATCC66589 を親株とし、紫外線照射により誘発した変異株 M2-1 および変異株 M3-1 は、グルコースを唯一の炭素源とする培地でもセルラーゼを生産する（表 1）。
2. M2-1 および M3-1 を用い、セルロースを原料としてセルラーゼの大量生産を行った場合、原料あたりのセルラーゼ生産効率はそれぞれ 257 および 281 濾紙分解ユニット (FPU)/g-炭素源であり、親株(237 FPU/g-炭素源)と比較して、約 1～2 割高い。
3. 可溶性糖質であるグルコースとセロビオースの混合液を連続的に添加（混合比 6:1、添加速度約 45g/日）しながら、M2-1 を培養した場合、主要酵素活性は直線的に増加し、原料あたりのセルラーゼ生産効率およびセルラーゼ生産速度はそれぞれ 210 FPU/g-炭素源および 130 FPU/L/hr となる（図 1）。
4. グルコース、セロビオースの 2 種混合液（混合比 6:1）およびグルコース、キシロース、セロビオースの 3 種混合液（混合比 3:3:1）を用い、添加速度約 45g/日で M3-1 を培養した場合の生産酵素活性を比較すると、セルロース分解酵素活性はほぼ同等であるのに対し、ヘミセルロース分解活性は 3 種混合液を用いた場合が 2 倍以上高い（図 2）。

【成果の活用面・留意点】

1. 突然変異株 M2-1 および M3-1 を用いることで、通常株ではセルラーゼ生産を抑制するグルコース培地において糖化酵素の誘導が可能となる。また、これらの突然変異株を、可溶性炭素源を連続的に添加しながら培養することで、安定的かつ効率的な糖化酵素生産が可能となる。
2. 添加する可溶性炭素源の種類や混合比を変化させることで、生産される酵素群の組成を調節できる。ただし、生産される各酵素タンパク質の比率などをより厳密に調節するためには、添加液組成の他に、添加のタイミングや添加速度などの条件を検討し、厳密にコントロールする必要がある。

[具体的データ]

表1 異なるグルコース濃度のフラスコ培養における突然変異株のセルラーゼ生産性

菌株	親株			M2-1			M3-1		
グルコース (mg/ml)	20	50	100	20	50	100	20	50	100
タンパク質 (mg/ml)	0.20	0.21	0.27	0.59	0.67	0.74	0.97	0.64	0.44
活性* (mU/ml)	N.D.*	N.D.	N.D.	53	49	48	110	54	26

グルコースを炭素源とする培地（100ml in 500ml フラスコ）に 10^7 個の胞子を植菌し、28℃、180rpm、5日間培養を行った。

* pNP-ラクトシド加水分解活性(CBHI 活性)、N.D.:検出限界以下

菌株: *Trichoderma reesei* M2-1

添加糖質(炭素源): グルコース+セロビオース(6:1)

炭素源添加速度: 約 45 g/day

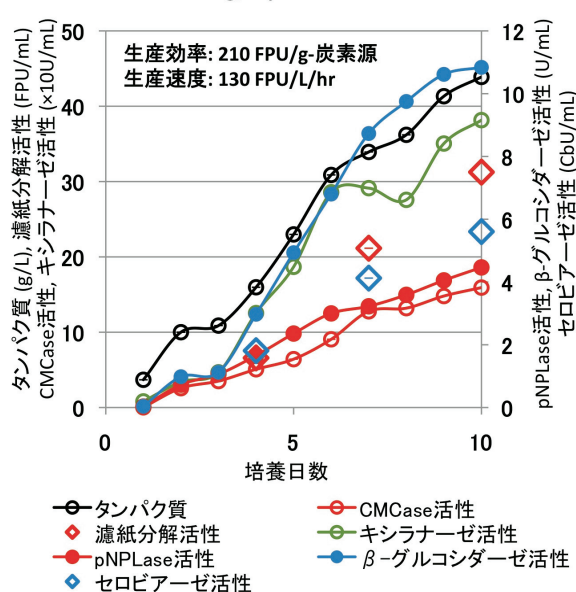


図1 可溶性基質（グルコース+セロビオース）の連続添加によるセルラーゼ生産

菌株: *Trichoderma reesei* M3-1

添加糖質(炭素源): グルコース+セロビオース(6:1)

グルコース++キシロース+セロビオース(3:3:1)

炭素源添加速度: 約 45 g/day

培養日数: 7 days

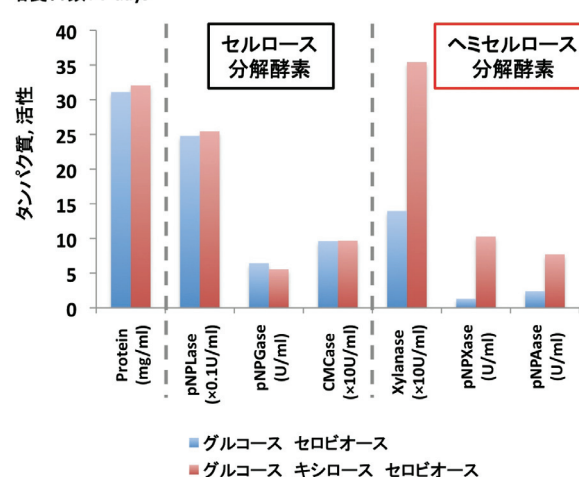


図2 連続添加基質の組成の違いが生産酵素組成へ与える影響

(池正和)

[その他]

研究課題名: 未利用バイオマス及び資源作物を原料とした低コスト・高効率バイオエタノール変換技術の開発

課題 ID: 224-b

予算区分: 委託プロ (バイオマス)

研究期間: 2007年度~2010年度

研究担当者: 池正和、徳安健

発表論文等: 池正和ら: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*(2010) 87, 2059-2066.

【成果情報名】担子菌エノキタケ Fv-1 株における遺伝子組換え法の構築とベクター改良

【要約】エノキタケの形質転換に有用なベクターを作製するとともに、制限酵素を用いた形質転換を行うことで、効率的にエノキタケの遺伝子組換え体を得る事ができる。更に強力なプロモーターを用いることで異種遺伝子の高発現を実現する。

【キーワード】エノキタケ Fv-1 株、形質転換、*gpd* プロモーター

【担当】食品総合研究所・生物機能利用ユニット

【代表連絡先】電話 029-838-8022

【区分】バイオマス

【分類】研究・参考

【背景・ねらい】

エタノール生産能、糖化酵素生産能をもつエノキタケ Fv-1 株は、本菌だけで酵素生産・糖化・発酵を同時に行うことが可能であり、連結バイオプロセスによるバイオエタノール生産菌として有用である。しかしながらペントースからのエタノール生産能は低く、また連結バイオプロセスによるエタノール生産には糖化酵素の添加が必要であることから、Fv-1 株の能力を形質転換により改善する必要がある。エノキタケの遺伝子組換えについては報告が少なく、また胞子を用いた形質転換の方法では、一連の操作に長い時間を有するため非現実的であった。そこで本研究では、効率的な Fv-1 株の遺伝子組換え法を構築し、異種遺伝子を導入することによる菌株の改良技術を開発する。

【成果の内容・特徴】

1. エノキタケ Fv-1 のもつ *trp* (tryptophan synthetase) 遺伝子のプロモーター配列を取得し、*trp* プロモーターを利用して遺伝子を発現させる遺伝子組換え用ベクターである pFvT を作製する(図 1A)。本ベクターは pUC ori を持ち、*Escherichia coli* 内で複製することが可能である。また *E. coli* 由来のハイグロマイシン耐性遺伝子(*hph*)を有しており、形質転換体をハイグロマイシン添加培地上で選抜することができる。
2. Fv-1 の菌糸からプロトプラストを約 10^8 /ml 個になるよう調整し、形質転換へと使用する。形質転換の際、pFvT の *hph* 及びプロモーター配列内を切断しない制限酵素(*KpnI*, *BglII*, *PstI*)を用い、restriction enzyme mediated-integration (REMI)法による形質転換効率への影響を検討した。これにより、取得できる形質転換体数を顕著に増加させることが可能となる(表 1)。
3. 高発現型のプラスミドを構築するため、Fv-1 株の *gpd* (glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase) プロモーター配列を取得し、*gpd* プロモーターを利用して遺伝子を発現させることが可能な遺伝子組換え用ベクターである pFvG を作製する(図 1B)。さらに *gpd* プロモーターにより *hph* を発現できる pFvTgh 及び pFvGgh (図 1C, D)を作製し、形質転換体の選抜効率の検討を行った。この結果、*gpd* プロモーターにより *hph* を発現させた場合では、*trp* プロモーター使用時と比べ、約 3 倍のハイグロマイシン耐性形質転換体を取得することが出来た(表 2)。さらに、各々の形質転換体の *hph* 発現量を RT-PCR により比較した結果、*gpd* プロモーターで *hph* を発現させた場合では、*trp* プロモーターを用いた場合より *hph* の発現が高いことが認められる(図 2)。これにより、エノキタケ Fv-1 において、*gpd* プロモーターは遺伝子の高発現に効果的であることが示された。

【成果の活用面・留意点】

1. 短期間でかつ効率的に、エノキタケ Fv-1 株に異種遺伝子を導入し、菌株を改良することが可能となる。
2. 今後、Fv-1 株の代謝工学によりペントース利用効率の改善や、強力な糖化酵素を発現する菌株の開発が期待される。

[具体的データ]

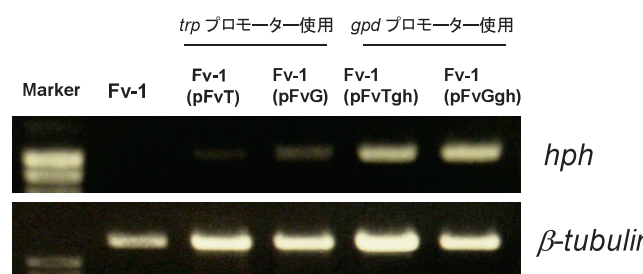
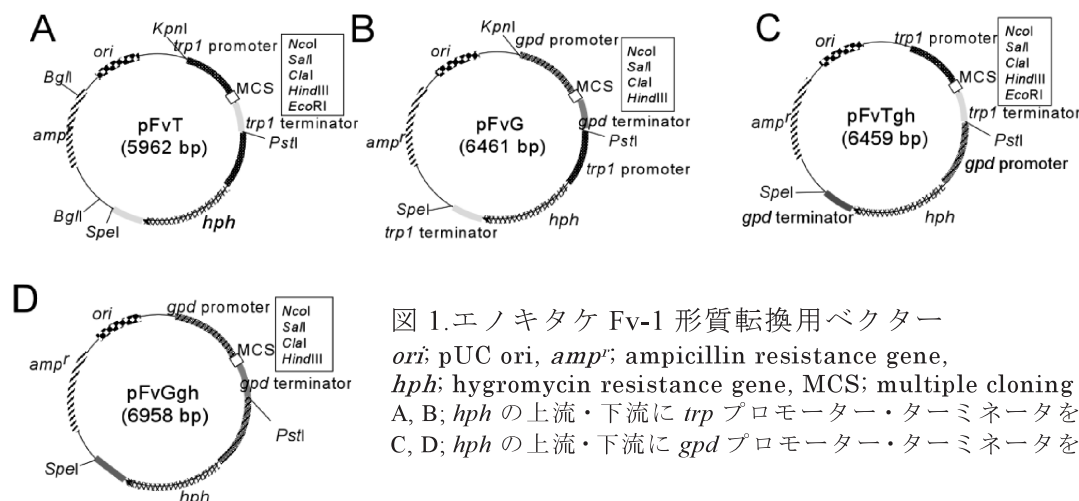


図 2. 各形質転換体における *hph* の発現
β-tubulin; positive control
hph; hygromycin resistance gene
 各形質転換体をランダムに 3 つ選
 択し、Total RNA 抽出後、RT-PCR
 によって *hph* 発現量を比較した。

表 2. プロモーターと形質転換体数の関係

		形質転換体数	
DNA形状		Circular	Linear
Plasmid	使用プロモーター		
pFvT	<i>trp</i>	11.3±2.6	11.3±6.6
pFvG	<i>trp</i>	12.3±2.5	10.7±6.9
pFvTgh	<i>gpd</i>	28.3±1.3	24.7±8.4
pFvGgh	<i>gpd</i>	33.3±2.9	27.7±11

表 1. pFvT を用いた形質転換実験における制限酵素の添加効果

		形質転換体数			
制限酵素		なし	<i>Bgl</i>	<i>Kpn</i>	<i>Pst</i>
DNA形状					
Circular		0.7±1.2	7.3±1.2	18.3±6.1	25.7±7.1
Linear		4.4±0.6	12.7±6.4	20±8.7	21.7±7.1

表 1 :

制限酵素 ; REMI 法を適用する際に使用した制限酵素 (50 U) を示す。

DNA 形状 ; 形質転換を行う際の plasmid DNA の形状を示す。"Circular" は制限酵素による切断を行わず、plasmid そのままを形質転換実験に使用したことを示し、"Linear" は、REMI 法に使用する各々の制限酵素により予め plasmid を切断後、形質転換実験に使用したことを示す (制限酵素なし/Linear; *Pst*I により予め切断)。実験は 3 回行い、その平均値を示した。

表 2 :

*Pst*I (25 U) を用いた REMI 法による形質転換実験の結果を示す。実験は 3 回行い、その平均値を示した。

(金子哲)

[その他]

研究課題名 : 代謝工学による whole crop の直接発酵に適した担子菌の開発

中課題整理番号 : 224-b

予算区分 : 委託プロ (バイオマス)

研究期間 : 2007 年 ~ 2010 年度

研究担当者 : 金子哲、前原智子、水野亮二、一ノ瀬仁美

発表論文等 : Maehara T. et al. (2010) Biosci Biotechnol Biochem. 74(5):1126-8

Maehara T. et al. (2010) Biosci Biotechnol Biochem. 74(12):2523-5.

[成果情報名]セルラーゼによる稲わらのホロセルロース糖化性を大幅に高める菌株の同定

[要約]各地から腐朽菌ハタケチャダイゴケを採取し、セルラーゼによる稲わらのホロセルロース糖化性を大幅に高める菌株を選定した。多糖類分解酵素の生産性が低く、リグニン分解酵素の生産性が高い菌株が、糖化性を高める上で重要であることがわかる。

[キーワード] 稲わら糖化率、腐朽菌、リグニン分解

[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 024-593-5151

[区分]バイオマス、東北農業・基盤技術（流通加工）

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

稲わらは現在、反芻胃の状態を正常に保つ目的で濃厚飼料と共に給餌されているが、高分子リグニンが多く、物理的強度も高いため消化に多大な時間がかかり栄養価値自体は極めて低い。また稲わらをバイオ燃料生産の素材として用いる場合にも、高分子リグニンはセルラーゼの作用を阻害することから障害となる。稲わら中の高分子リグニンを腐朽菌によって分解し、その消化性をあげる試みは以前より行われてきたが、糖化効率が低いこと、稲わらの高温高压滅菌処理（121℃15 分オートクレーブ処理）に要するコストが高いことが実用化に至る一つの障害となっている。この問題点を解決するためには、稲わらの糖化率を大幅に高め、雑菌汚染にも強い菌株を使用することが重要である。

そこで、稲わらの糖化率を改善することが既に知られている腐朽菌（ハタケチャダイゴケ）を各地より新たに収集し、その内でも特に糖化率上昇作用の強い菌株を同定すること、また、低コスト化をねらい 60℃15 分の常圧蒸気殺菌処理と組合せた腐朽処理の効果を明らかにすることを目的とした。

[成果の内容・特徴]

1. 60℃15 分間の常圧蒸気殺菌処理のみを行った稲わらの糖化率は7%であるが、ハタケチャダイゴケの特定菌株（ID 1・6, 16）を接種して35日腐朽処理を行うことにより、糖化率を約40%以上に上昇させることが可能である。この上昇率は稲わらの腐朽処理研究によく用いられるヒラタケ、カワラタケ等の他菌種を用いた場合と比べて顕著に高い（図1、表1）。なお糖化率は、腐朽稲わらを市販セルラーゼ（Celluclast1.5L+Novo188）で分解し、以下の式によって示すものである：
$$\frac{\text{遊離還元糖重量(g)}}{\text{遊離還元糖重量(g)} + \text{分解後残渣乾燥重量(g)}} \times 100(\%)$$
2. ハタケチャダイゴケ菌株（ID 2）による25日間の腐朽処理によって、高分子リグニン含量は16%から12%まで低下し、糖化率は10%から55%まで上昇する（図2）。
3. 糖化率の上昇度合いはハタケチャダイゴケ菌株間で大きく異なる。全国から収集した各菌株が稲わら中に生産する各種酵素量と各々の稲わら糖化率の関係をみると、多糖類分解酵素（エンド型セルラーゼ）の生産量と糖化率は逆相関になり（図3）、エキソ型セルラーゼ、エンド／エキソ型キシラナーゼも同様な結果が得られる（データ非表示）。それに対して、高分子リグニン分解酵素（Mn-ペルオキシターゼ）と稲わら糖化率は弱い正の相関を示す。これらの結果から、稲わら腐朽を目的とする菌株を選定するにあたっては、第一に多糖類分解酵素の生産性が低い種であること、次に高分子リグニン分解酵素の生産性が高い種であることを指標に選定することが重要である。

[成果の活用面・留意点]

1. 現在、湿重量 10kg 規模での稲わらの腐朽処理が可能であるが、産業化を図るためには少なくとも稲わらミニロールの処理ができる規模の技術開発が必要である。

[具体的データ]

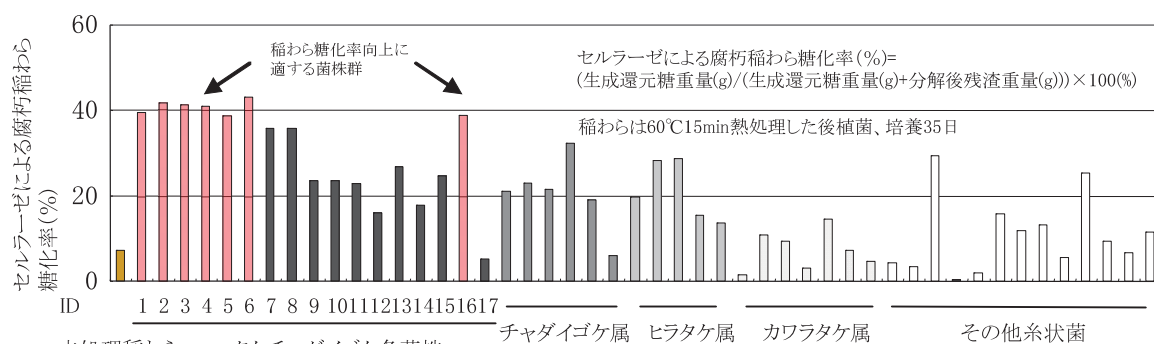


図1 各種腐朽菌による稲わら糖化率(セルラーゼによる還元糖生成量)の評価結果

表1 新規に採取したハタケチャダイゴケ菌株

ID	採取地	菌株名	由来	腐朽稲わら糖化率(%)
1	調布市	TY-1	新規単離	39.5 ± 2.3
2		TY-2	新規単離	41.7 ± 0.3
3	八戸市	HT-5	新規単離	41.4 ± 2
4		HT-6	新規単離	40.9 ± 1.3
5	福島市	FK-1	新規単離	38.6 ± 1.6
6		FK-2	新規単離	43.1 ± 0.8
7	吉祥寺市	KS-1	新規単離	35.8 ± 4.1
8		KS-2	新規単離	35.7 ± 2.1
9	香芝市	NR-4	新規単離	23.6 ± 2
10		NR-5	新規単離	23.5 ± 0.8
11	利根町	TN-6	新規単離	22.9 ± 0.4
12		TN-8	新規単離	16 ± 2.1
13	山形市	YG-7	新規単離	26.7 ± 4.8
14		YG-8	新規単離	17.8 ± 1.6
15	不明	AW-03	秋田木質研	24.7 ± 0.6
16	不明	ATCC36910	ATCC	38.8 ± 2.3
17	不明	IFO9076	NBRC	5.2 ± 1.2
未処理稲わら				7.1 ± 0.4

ATCC: American Type Culture Collection
NBRC: 製品評価技術基盤機構

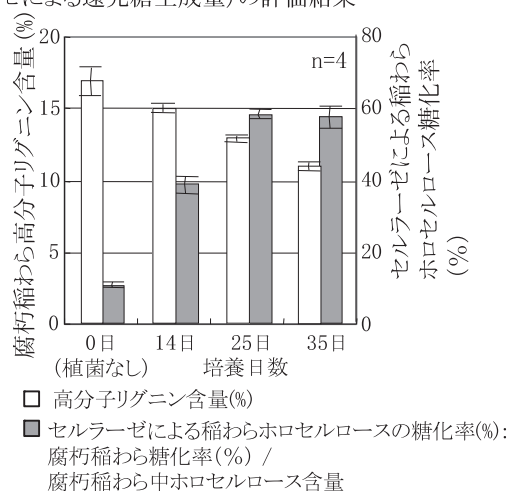


図2 腐朽稲わら的高分子リグニン減少率と腐朽稲わら糖化率上昇効果

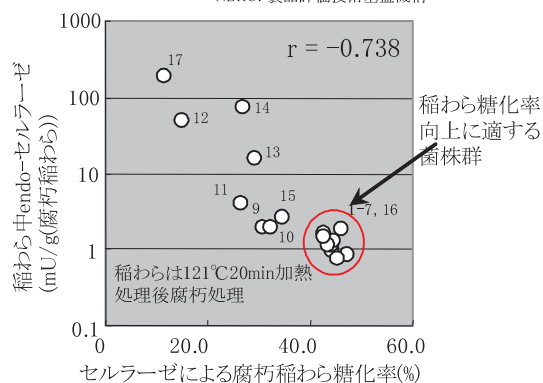
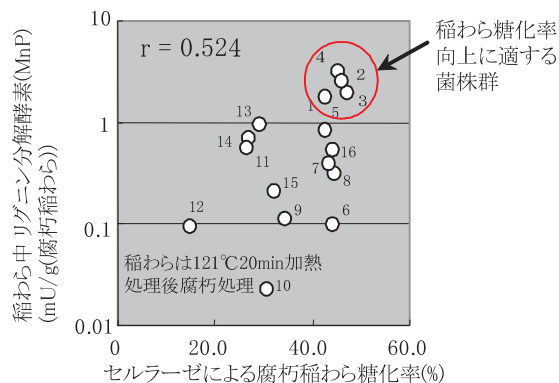


図3 ハタケチャダイゴケ17菌株が稲わら中に分泌する酵素量と腐朽稲わら糖化率の相関



[その他]

(山岸賢治)

研究課題名：寒冷地における未利用作物残さ等のカスケード利用技術の開発

中課題整理番号：411b

予算区分：基盤、委託プロ（バイオマス）

研究期間：2006-2010 年度

研究担当者：山岸賢治

[成果情報名]抗ペプチド抗体を用いる主要な小麦 α -アミラーゼインヒビターの検出法

[要約]小麦アレルゲンの一種である小麦 α -アミラーゼインヒビターについて、エピトープを含む部分ペプチドに対する抗体を作製することにより、種類が異なる α -アミラーゼインヒビターやそのエピトープを検出できる。

[キーワード]アレルギー、酵素免疫測定、イムノブロットイング、エピトープ、コムギ

[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・基盤技術、作物

[分類]研究・普及

[背景・ねらい]

小麦アレルゲンタンパク質の一種である α -アミラーゼインヒビター (α -AI) には、分子量が 13~15kDa のサブユニットで構成される単量体、二量体、四量体があり、それぞれアミノ酸配列が異なるため、小麦アレルギー患者により、反応する α -AI の種類が異なることが知られている。一方、単量体や二量体の小麦 α -AI には、唾液や膵液の α -アミラーゼを阻害することから、血糖値上昇抑制効果が期待されている。しかし、種類が異なる α -AI の分別定量は容易でなく、さらに α -AI のエピトープ（ヒト IgE 抗体が結合する部位）を検出する方法も未だないため、 α -AI のアレルギー・代謝研究は進んでいない。

そこで、小麦 α -AI のエピトープを含み、かつアミノ酸配列が異なる箇所のペプチドを複数合成して、それに対する抗体を作製することにより、単量体と二量体の小麦 α -AI やそのエピトープ、および四量体の小麦 α -AI を別々に検出する方法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 単量体 (0.28 型) および二量体 (0.19 型、0.53 型) の小麦 α -AI のエピトープである AVLRLDC を含む 13-mer の抗原ペプチド NGSQVPEAVLRLDC を合成し、キャリアタンパク質に結合後、ウサギに投与することにより、抗 0.19 型抗体が得られる。同様に、四量体小麦 α -AI のうち、主要なアレルゲンである CM16 の 15-mer 部分ペプチド CRIETPGSPYLAKQQ から、抗 CM16 抗体が得られる (表 1)。
2. 抗 0.19 型抗体は単量体と二量体の α -AI に結合するが、四量体の CM16 には結合せず、抗 CM16 は単量体と二量体の α -AI には結合しない (表 1)。
3. 本抗体を用いるイムノブロットイング法 (図) や酵素免疫測定法 (エライザ) により、異なる品種・系統の小麦種子に含まれる α -AI 量を比較できる。
4. 小麦 α -AI がプロテアーゼによって分解されても、そのエピトープが未分解の場合は、アレルギー反応性が残る。抗 0.19 型抗体は、単量体・二量体 α -AI エピトープのみのペプチド AVLRLDC にも結合するため、エピトープの分解を酵素免疫測定法で確認できる (表 2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 本抗体の検査法を用いることにより、 α -AI 含有量が少ない、または逆に α -AI 含有量が多い小麦品種・系統のスクリーニングに活用できる。
2. 本抗体を用いることにより、純度が高い単量体・二量体 α -AI や CM16 の調製が容易になる。
3. 消化管内における α -AI やそのエピトープの分解過程の解析が可能になるため、 α -AI のアレルギー・代謝研究に活用できる。

[具体的データ]

表 1 主要な小麦 α -AI のアミノ酸配列（抜粋）と得られた抗体の結合性

α -AI の種類	25 ↓	アミノ酸番号 ↓	45 ↓	抗体結合性	
				抗 0.19 型	抗 CM16
0.19 型 二量体		LRLQCNGSQVPEAVLRDCCQQ		○	×
0.53 型 二量体		*K*****		○	×
0.28 型 単量体		VK***V*****		○	×
CM16 四量体		EQQA*RIETPGSPY*AKQQCC		×	○

*:0.19 型二量体と同じアミノ酸、下線: 抗原ペプチド、二重下線: エピトープ

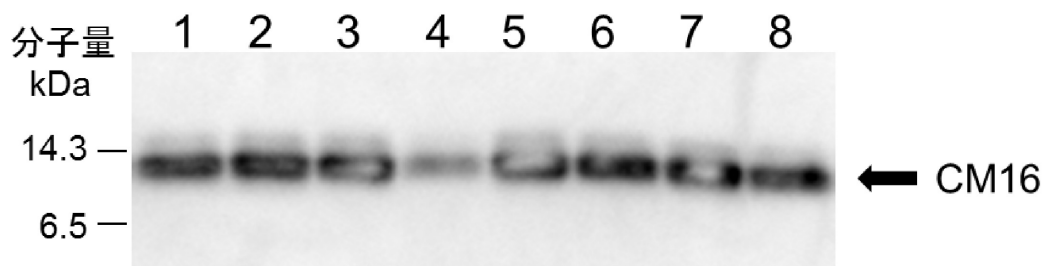


図 小麦種子の α -AI 含有量比較例（イムノブロッティング）

1～8: 異なる小麦品種・系統の種子抽出物、抗体 2,000 倍希釈で使用

表 2. 抗 0.19 型抗体による α -AI エピトープ分解の確認（酵素免疫測定法）

試料	吸光度 (450nm)	使用微生物プロテアーゼ
エピトープ AVL RDC 0.15 μ M	0.123	A: <i>Bacillus licheniformis</i> 由来
小麦粉抽出物	0.066	B: <i>Streptomyces griseus</i> 由来
プロテアーゼ処理小麦粉抽出物 A	0.000	抗体 200 倍希釈で使用
プロテアーゼ処理小麦粉抽出物 B	0.008	※エピトープが分解すると吸光度が低下する

（老田 茂）

[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

中課題整理番号：311c

予算区分：基盤

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：老田 茂

発表論文等：老田(2010)、日本食品科学工学会誌、57(11)、489-491.

老田(2010)、特願 2010-121244.

[成果情報名] 遺伝子発現を利用したニラの鮮度評価法

[要約]ニラの収穫後に起きる遺伝子発現の変化を明らかにして、貯蔵に伴って発現が特徴的に変動する遺伝子を特定し、RT-PCR で半定量的に検出することにより、ニラの収穫後の鮮度評価を行うことができる。

[キーワード]鮮度評価、遺伝子発現、RT-PCR、マルチプレックス、ニラ、黄化

[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 059-268-4635

[区分]野菜茶業・野菜品質・機能性、食品

[分類]研究・参考

[背景・ねらい]

消費者が野菜を購入する際に鮮度は重要な評価項目である。しかし、現状では野菜の鮮度の定義や評価法は定まっていない。多くの場合、鮮度は外観や物性、品質成分の変化等で評価されるが、栽培時期によって収穫時の成分含量や物性値は一定ではないため、野菜の生理状態を反映した鮮度評価は困難である。

野菜の流通や貯蔵に伴い、切断傷害や流通中の水分ストレス、暗黒ストレスなどによって様々な生理変化が起こる。この過程では、まず遺伝子が発現し、それが酵素活性の変化となって成分含量や物性が変化していく。そこで、収穫後に特異的な発現変化を示す遺伝子を特定するとともに、これらの遺伝子を鮮度のマーカーとして利用して鮮度低下を評価できる方法を開発する。さらに、PCR 装置を有する研究施設であればどこでも鮮度評価が実施できるように、マルチプレックス RT-PCR 化する。

[成果の内容・特徴]

1. ニラを 10℃で貯蔵して 6 日後に葉先の一部に黄化が認められた試料と、貯蔵前の試料から RNA を抽出して、サブトラクション法で発現量の異なる遺伝子を濃縮し、塩基配列が明らかになったのは 216 クローンである。
2. 他の植物種の既知遺伝子と類似性のある 27 個の遺伝子について、ノーザンブロット法により貯蔵に伴う発現変化を調べ、それぞれの遺伝子の増減のタイミングによりグループ分けする。各グループから 1 つずつ遺伝子を選び、RT-PCR によってそれらを検出するプライマーを設計する。
3. さらに、各遺伝子の発現を、1 本の PCR 反応で異なった位置に検出できるようにプライマーの塩基配列（表 1）や濃度等を調整すると、マルチプレックス RT-PCR によって、半定量的に鮮度低下の進行を簡易に可視化することができる（図 1）。
4. この方法を利用して、外観に黄化が見られる前に、鮮度低下の兆候を ALT_A85、ALT_F04 クローンの発現として検出できる（図 2）。鮮度保持包装により黄化が抑制されているニラでは、これらのクローンの発現が抑制される。
5. RNA の抽出から結果が得られるまでおよそ半日で解析できる。

[成果の活用面・留意点]

1. 本法のプライマーセットはニラの鮮度評価専用であるが、同様の研究手法は他の品目に応用可能である。

[具体的データ]

表1 ニラの各クローンの検出に用いるプライマーセットと増幅されるフラグメントの長さ

ニラ クローン	類似した配列を持つ植物種 酵素・タンパク質	センス側塩基配列 アンチセンス側塩基配列	増幅される フラグメント長
ALT_R68 706 bp	<i>Solanum tuberosum</i> alcohol dehydrogenase	TCgTgAACACATTGgAAAgCAgATA TTgAggATCAACACCgATAgAggAg	515 bp
ALT_A85 421 bp	<i>Cucumis melo</i> pathogen-related protein	ACTCAgTTTTACTCCCTCgACTTTT gCATATgCACAATCATAcGCAAATC	396 bp
ALT_F04 399 bp	<i>Ipomoea nil</i> cysteine protease	CCAgTAgTTCAAggggTTTgAAAgg ACTCTgTggTCAggCCTTTgTTTT	318 bp
ALT_F24 308 bp	<i>Prunus persica</i> endo-1,4-beta-glucanase	gggCAAAATCTTgCACATAAAgTCC CATggCTCTACAgAgCAACAATgA	206 bp

RNA抽出 → cDNA合成 → マルチプレックスPCR

PCR program
96°C 2 min
96°C 0.5 min
64°C 1 min
72°C 1.5 min
72°C 7 min
4°C ∞

30cycles

図1 鮮度評価のための実験手順の概要

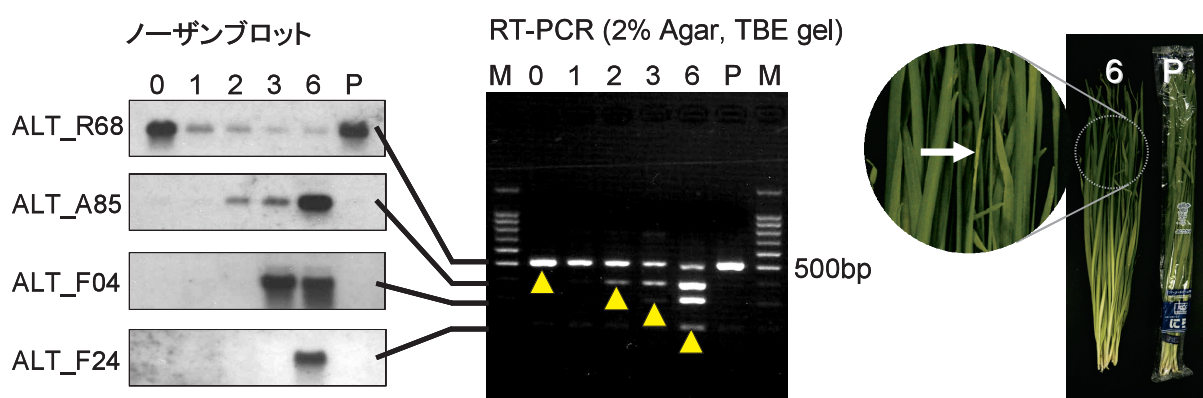


図2 各クローンのノーザンブロット(左)とRT-PCR(中)による検出の対応

0～6は10℃での貯蔵日数。Pは鮮度保持包装で10℃6日貯蔵後。Mはマーカー。RT-PCR中の△印は各クローンが検出されたサンプルと位置を示す。この試料では、貯蔵6日目に葉先の一部が黄化したが(拡大写真の矢印)、Pは黄化していない(写真右)。

(永田雅靖)

[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：311g

予算区分：実用技術

研究期間：2007～2009年度

研究担当者：永田雅靖

発表論文等：永田「青果物の鮮度評価方法および鮮度評価用プライマーセット」特願2010-117512

[成果情報名] トマトのリコペンの最適抽出溶媒の選定とこれを用いた簡易迅速定量法

[要約] ジエチルエーテル：メタノール=7：3 (v/v) はトマトに含まれるリコペンを最も高い効率で抽出できる有機溶媒である。本溶媒による抽出液の 505 nm の吸光度と既知の吸収係数からリコペンが迅速に定量できる。

[キーワード] トマト、リコペン、簡易迅速定量法、抽出溶媒、吸収係数

[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 059-268-4636

[区分] 野菜茶業・野菜品質・機能性、食品

[分類] 技術・参考

[背景・ねらい]

桃色系や赤色系トマトに含まれるリコペンは抗酸化能がβ-カロテンよりも2倍、ビタミンEよりも100倍以上高いと言われ、機能性成分として注目されているだけでなく、熟度評価にも利用されている。

トマトに含まれるリコペンを定量する際に用いる抽出溶媒としては、これまでに様々な有機溶媒の使用が報告されているが、溶媒によっては抽出効率が異なるなどの事例が認められる。一方、リコペンの測定法に関しては、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が汎用されているが、操作が煩雑な上に、測定に長時間を要することから簡易かつ迅速な測定法の開発が求められている。その点、トマトの色素組成は比較的単純なことから、抽出液の吸光度を用いて簡易迅速に定量出来る可能性が高い。そこで、抽出効率が高い有機溶媒を選定するとともに、分光光度計を用いる簡易迅速定量法を開発する。

[成果の内容・特徴]

1. 従来の簡易迅速定量法で抽出溶媒として使用されてきたアセトン：n-ヘキサン=4：6 (v/v) など n-ヘキサンを含む溶媒やβ-カロテンの抽出に使用されるエタノールでは抽出効率が低く、ジエチルエーテル：メタノール=7：3 (v/v) が最も抽出効率が高い (表1)。
2. 分析機器は可視域 (505nm) の吸光度の測定が可能な分光光度計があれば良く、測定は5分以内で終了可能である (図1)。既知のリコペンの吸収係数 (濃度1%かつ光路長1cmの時に505nmで3150) を用いて次式により定量値を算出する。

$$\text{トマトのリコペン含有量 (mg/100g)} = 20 \times \frac{(\text{505nmの吸光度})}{(0.315 \times \text{試料重 (g)})}$$

3. 熟度や品種の異なる桃色系および赤色系トマトに本法を適用した定量値は、HPLCを用いる妥当性の高い定量値 (伊藤らの方法2009) と相関が高い (n=37、相関係数=0.98) (図2)。

[成果の活用面・留意点]

1. 有機溶媒を使用するため、抽出操作はドラフト内で行い、安全に配慮して実験を行う。
2. 抽出および吸光度測定操作では揮発性の高い有機溶媒を使用するので、25℃以下の一定の室温下で実施する。抽出液を回収したメスフラスコは4℃以下で保存し、総容量を100mLに調整するとき室温 (22～25℃) に戻す。吸光度を測定する際は、蓋付きのセルの使用により有機溶媒の揮発を防止する。
3. リコペン含有量の高いトマトでは、抽出損失をできるだけ少なくするために、抽出回数を増やす必要がある。
4. 本法は桃色系、赤色系トマトに適用できる。

[具体的データ]

表1 各種有機溶媒のリコペン抽出効率

有機溶媒	抽出効率*	従来の使用例
ジエチルエーテル:メタノール=7:3(v/v)	100	柑橘のカロテノイド抽出で使用(HPLCを用いて測定)
アセトン:n-ヘキサン=4:6(v/v)	57	トマトのカロテノイドおよびクロロフィルの同時簡便迅速定量法で使用
n-ヘキサン:アセトン:エタノール=2:1:1(v/v/v)	81	スイカのリコペンの簡便迅速定量法等で使用
アセトン	93	トマトのβ-カロテンおよびクロロフィルの抽出等で使用
テトラヒドロフラン	95	トマトのカロテノイドの抽出で使用(HPLCを用いて測定)
エタノール	21	園芸農産物等のβ-カロテンの抽出で使用(HPLCを用いて測定)

* 抽出効率はジエチルエーテル:メタノール=7:3(v/v)を100とした時の相対値(n=3)

図1 トマトに含まれるリコペンの簡易迅速定量法の手順

- 1, トマトをミキサーにかけて破碎
- ↓
- 2, 約3gを褐色の蓋付き遠沈管(容量50mL)に量り取る。
- ↓
- 3, 抽出溶媒(ジエチルエーテル:メタノール=7:3(v/v))を35mL加え、ホモジナイザーを用いて破碎する。
- ↓
- 4, 静置後、抽出液を褐色のメスフラスコ(100mL)に移す。
- ↓
- 5, 抽出溶媒15mLを遠沈管に加え、抽出液が無色になる(果肉が白くなる)まで3と4の手順を繰り返す。
- ↓
- 6, 100mLに調整後、孔径0.2μmのディスパーサブルフィルターでろ過する。
- ↓
- 7, 2倍希釈し、蓋付きのセルを使用して505nmの吸光度を測定(0.05~0.8の範囲)する。
吸光度と試料重を成果の内容・特徴2の計算式にあてはめて定量値を算出する。

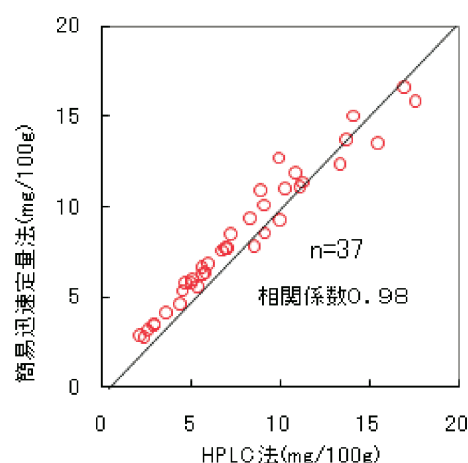


図2 HPLCを用いた妥当性の高い定量法と簡易迅速定量法による定量値の相関

(伊藤秀和)

[その他]

研究課題名: 野菜の安全性評価法の高度化技術の開発

中課題整理番号: 323c

予算区分: 委託プロ(食品プロ)

研究期間: 2007~2009年度

研究担当者: 伊藤秀和、堀江秀樹

発表論文等: Ito, H. and Horie H. (2009) Bull. Natl. Inst. Veg. & Tea Sci. (8):165-173

[成果情報名] β -CD/SPR システムによる緑茶カテキン類の苦渋味強度の検出

[要約] センサーチップ上に β -シクロデキストリン (β -CD) を固定した表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置は、ヒトが緑茶主要カテキン類に対して感じる苦渋味強度の傾向と同じように、ガレート型カテキンに対して持続性のある大きな応答を示す。

[キーワード] シクロデキストリン、表面プラズモン共鳴、カテキン類、苦渋味、味覚センサー

[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 0547-45-4101

[区分] 野菜茶業・茶業、食品

[分類] 研究・参考

[背景・ねらい]

味覚センサー装置は、味を客観的に数値化できるために、様々な食品や医薬品の味評価に利用されている。緑茶の渋味とうま味もそれぞれ多段階に格付けすることが可能である。市販の味覚センサーは、脂質と高分子素材からなるセンサー膜の膜電位変化を味情報として検出する。一方、実際のヒトの味認識では、味細胞表面のタンパク質と味物質の相互作用が開始段階となっている。この分子認識メカニズムを応用し、味物質に対応するレセプター機能を有する味覚センサーシステム（レセプター型味覚センサー）を開発するならば、より高精度な味センシングが可能になると考えられる。そこで、緑茶カテキンの苦渋味をターゲットとして、レセプター型味覚センサーを開発する。

[成果の内容・特徴]

1. カテキン類に対して包接現象が報告されている CD 類がレセプターとして効果的である。
 β -CD は、緑茶浸出液中の主要カテキン類 (EGCG、ECG、EGC、EC) のうち、ガレート型カテキン (EGCG、ECG) に対して大きな結合定数を持ち、総じて小さな結合定数を持つ γ -CD よりもレセプターとして適している (表 1)。 α -CD は、これらのカテキン類を包接しない。
2. β -CD は、6 位の水酸基のひとつをアミノ基に変換した誘導体として、SPR 用のセンサーチップ（カルボキシル基を有するデキストランを金薄膜上に結合させたもの）に固定できる (図 1)。
3. ガレート型カテキンに対する β -CD/SPR システムの応答は、非ガレート型カテキンに対するものより大きい (図 2-a)。このシステムの閾値は、ガレート型および非ガレート型カテキンに対して、それぞれ 0.1 mM 以下および約 1 mM である。したがって、 β -CD/SPR システムの感度は、ヒトの味覚（その閾値は、EGCG、ECG、EGC、EC に対して、それぞれ 0.44、0.41、1.2、1.6 mM）と同等以上である。
4. β -CD/SPR システムのフローセル内に各カテキン水溶液を流した後に、pH 6.6 の 0.1 M リン酸緩衝液（ヒトの唾液に相当）を流すと、0.05 mM 以上のガレート型カテキン水溶液に対してのみ SPR 応答が観測される (図 2-b)。ガレート型カテキン/ β -CD 複合体の高い安定性に起因するこの現象は、ガレート型カテキンに特徴的な後味に相当すると解釈される。

[成果の活用面・留意点]

1. 緑茶主要カテキン類に対する β -CD/SPR システムの応答は、ヒトが感じるそれらの苦渋味強度と同様の傾向を示す。
2. 本システムは、レセプター分子を他の化学構造に変えることにより、他の味物質を検出することが可能である。

[具体的データ]

表 1 重水中における β -CD、 γ -CD とカテキン類の結合定数 ($\times 10^2 \text{ M}^{-1}$)

	EGCG	ECG	EGC	EC
β -CD	295 $\pm$ 52	322 $\pm$ 51	5.80 $\pm$ 0.37	8.13 $\pm$ 0.49
γ -CD	6.10 $\pm$ 0.22	15.0 $\pm$ 0.6	0.83 $\pm$ 0.16	1.16 $\pm$ 0.18

結合定数は $^1\text{H-NMR}$ 滴定法によって算出された (pD 7.0、300 K)。

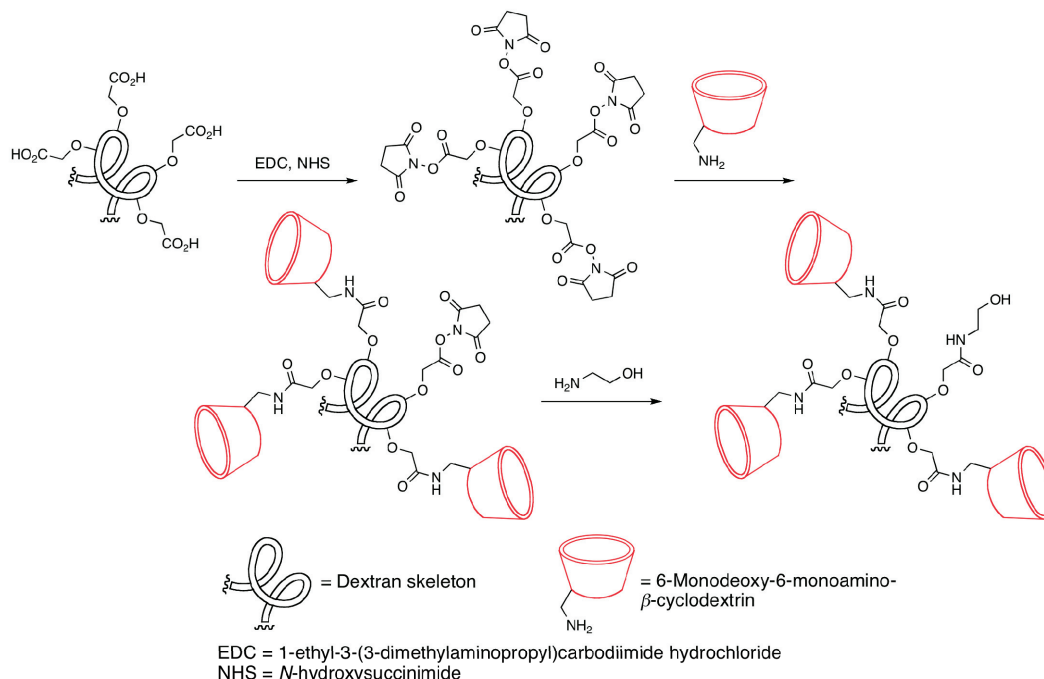


図 1 SPR 装置のセンサーチップ上への β -CD の固定

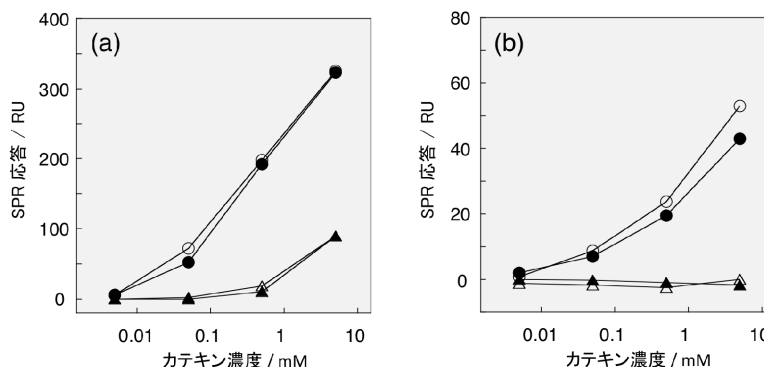


図 2 各カテキンの濃度と SPR 応答の関係

(a)カテキン水溶液の流入開始 50 秒後の SPR データ、(b) カテキン水溶液に続き、0.1 M リン酸緩衝液流入開始 20 秒後の SPR データ．縦軸の値は SPR シグナルの 0.1° のシフトを 1000 RU と定義して示されている．●, EGCG; ○, ECG; ▲, EGC; △, EC.

(林宣之)

[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

中課題整理番号：311g

予算区分：所内プロ（次世代味覚センサ）

研究期間：2008～2009 年度

研究担当者：林宣之、氏原ともみ、陳榮剛（INSENT）、平岡正光（INSENT）、池崎秀和（INSENT）

発表論文等：Hayashi N. et al. (2010) J. Agric. Food Chem. 58:8351-8356

**食品試験研究成果情報
第23号**

平成 23 年 3 月 30 日 印刷 平成 23 年 3 月 31 日 発行

〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

食品総合研究所

印刷所 佐藤印刷株式会社

本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針の判断の基準を満たす紙を使用
しています。

本誌より転載・複製する場合には食品総合研究所の許可を得て下さい。

