

北海道産キノコの保健機能性の評価と嗜好品に適した加工方法の検討

渡邊 治, 太田智樹

Study on the Health Functionality of Mushrooms Produced in Hokkaido and Manufacturing Method for Snacks

Osamu Watanabe and Tomoki Ohta

This study was conducted to investigate the health functions of mushrooms produced in Hokkaido and to develop related processing techniques for functional sweets and snacks.

Three types of mushrooms were examined for health functionality in terms of antioxidant/fibrinolytic activity, and their polyphenol content. *Flammulina velutipes* was found to have particularly high antioxidant activity, and its low polyphenol content suggests that a component other than polyphenol contributes to this activity. *Lyophyllum shimeji* exhibited particularly high fibrinolytic activity, which decreased only slightly with heating. This suggests that processed foods containing the mushroom may help prevent blood clot formation. In the study of processing techniques, the color of the aqueous extract of *Pleurotus salmoneostramineus* was evaluated under different extraction conditions. The results showed that extraction with weakly acidic water optimizes the vivid color of the mushroom, making it suitable for use in the manufacture of ice cream and other products.

Future work will involve the promotion of techniques to grow and process these mushrooms toward the commodification of new snacks and other processed foods leveraging their health functions and flavors.

北海道特用林産統計¹⁾によると、H26年の北海道のキノコ生産量は1万9千907トン、生産額は117億7千万円で、ここ2年間は低下傾向にあり、新たな需要開拓が必要な状況となっている。また、北海道の食品工業における付加価値率ⁱⁱ⁾は26.7%と全国平均の32.8%に比べると6.1ポイントも低い水準にとどまっており、農産物やキノコ類等の1次産品が高次加工されていない状況がうかがえる。

キノコ類はこれまで、免疫賦活化、血圧上昇抑制、皮膚の保湿作用等多くの機能性¹⁻³⁾が明らかとなっており、メタボリックシンドロームに象徴される生活習慣病対策等に関するキノコ類を利用した健康食品が多く開発されている。特に近年は、機能性が付与されたヨーグル

トやポリフェノールを強調したチョコレート、ドクターズスイーツ等、嗜好品でありながら健康に配慮した特徴を持っているスイーツへの消費者の関心は高まっている。

本研究では、キノコの新たな利用価値の創出を図り、道内キノコ業界、食品加工業界の新規需要開拓を推進することを目的とし、スイーツ等の嗜好品に利用可能な加工技術を開発することとした。また、消費者の健康に対する関心が高まる中、将来的な動物レベル、ヒトレベルでの試験を見据えて、キノコの保健機能性について試験管レベルでの情報を取得・提供することとした。機能性としては、消費者の関心の高い「アンチエイジング」というキーワードから抗酸化活性、また日本人の死因ⁱⁱⁱ⁾

の上位を占める脳梗塞や心筋梗塞の原因である血栓を防止する観点からフィブリン溶解活性について検討した。その上で、キノコの色合い等を損なわず、かつ保健機能性を低減させないような加工法を検討した。

実験方法

1. 供試キノコおよび試料調整方法

実験試料には北海道立林産試験場（現北海道立総合研究機構森林研究本部林産試験場）保有のトキイロヒラタケ (*Pleurotus salmoneostramineus*) Psm10株, エノキタケ (*Flammulina velutipes*) Fv82およびFv92株, ホンシメジ (*Lyophyllum shimeji*) 1969株の凍結乾燥物およびそれらの蒸留水抽出物を用いた。抽出物は、凍結乾燥した

キノコを粉砕し、粉砕物から蒸留水で2時間抽出し、得られた抽出液を再度凍結乾燥した。なお、抽出温度については、抽出物の加工食品への利用や殺菌等、加工工程および抽出工程における加熱による成分への影響を検討する目的で、25℃ならびに95℃とした。

また、フィブリン溶解活性においては、加熱時間と加熱温度の影響について検討するため、トキイロヒラタケおよびホンシメジの25℃抽出液をあらためて95℃で1分、5分、10分、15分、30分、60分、120分加熱した試料と、同抽出液を45℃、65℃、75℃、95℃で30分加熱した試料を実験に供した。さらにキノコ自体の低温殺菌によるフィブリン溶解活性への影響について検討するため、トキイロヒラタケ、エノキタケ、ホンシメジを生の状態

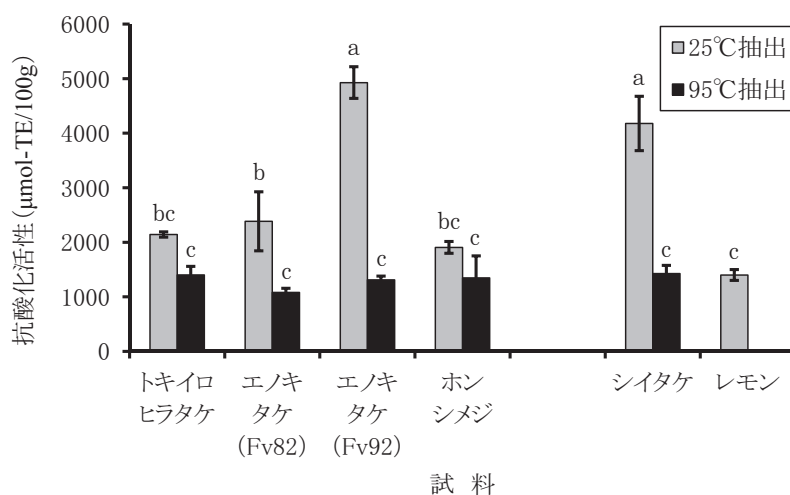


図1 キノコの抗酸化活性

各値は平均値±標準偏差で示した。
同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

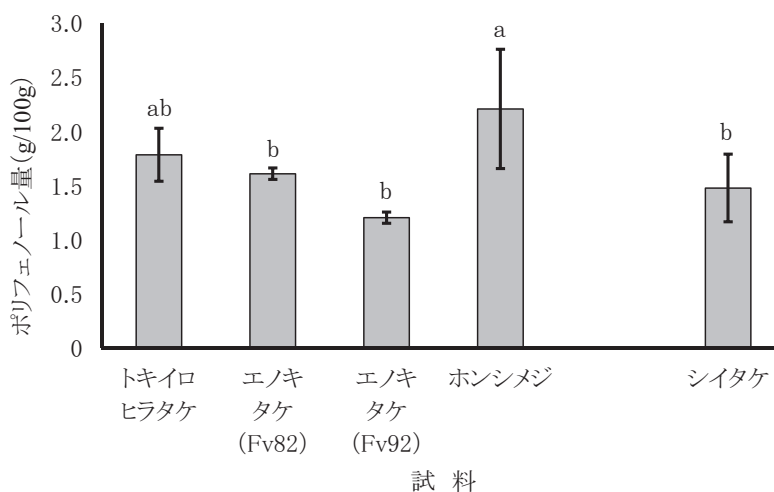


図2 キノコのポリフェノール含有量

各値は平均値±標準偏差で示した。
同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

65℃ 30分加熱した後、25℃および95℃で2時間加熱抽出し、実験に供した。

2. 保健機能性の評価

(1) 抗酸化活性の測定

抗酸化活性は、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) を用いたラジカル消去活性を測定する須田らの方法³⁾ に準じて行った。つまり、試験管に200 μ M DPPH 300 μ L, 0.1M 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) buffer 300 μ L, 50%エタノールを加えたものに先のキノコ抽出試料を最終濃度250 μ g/mLになるように加え、10分間反応後に520 nmでの吸光度を測定した。

また試料中のポリフェノール量をFolin-Denis法⁴⁾ を用い、タンニン酸量に換算して測定した。すなわち、試験管に95℃抽出試料2 mL (5～20mg/100mL) を入れ、それにFolin試薬を2 mL添加した。室温で3分間静置したのち5%炭酸ナトリウム溶液を2 mL添加し、さらに室温で1時間静置した。その後760nmでの吸光度を測定し、タンニン酸量として検量線より算出した。

(2) フィブリン（血栓）溶解活性の測定

フィブリン溶解活性は（一財）日本食品分析センターおよび日本ナットウキナーゼ協会の規格基準判定法として採用されているフィブリン分解法^{iv,v)} を用いて測定した。すなわち、試験管に0.05mol/Lホウ砂緩衝液1.4mL, 0.72%フィブリノーゲン溶液0.4mLを加え37℃で5分間加温。それに20U/mLトロンビン溶液0.1mL添加し37℃で10分加温。それにキノコ抽出試料を0.1mL添加し37℃で60分間反応させた。反応中20分ごとに5秒攪拌した。反応停止のため0.2mol/Lトリクロロ酢酸2 mL添加し、さらに37℃で20分間加温した。反応液をマイクロテストチューブに移し、15 000×gで5分間遠心処理し、上清1 mLを回収。その後275nmでの吸光度を測定し、検量線より酵素力価 (FU/g=50IUウロキナーゼ活性/g) を算出した。

また、フィブリン溶解活性に関与する成分に対する加熱時間と加熱温度の影響について、トキイロヒラタケおよびホンシメジの25℃抽出液を95℃で1分、5分、10分、15分、30分、60分、120分加熱した場合と、同抽出液を45℃、65℃、75℃、95℃で30分加熱した場合について測定した。

さらにキノコ自体の低温殺菌によるフィブリン溶解活性への影響について調べる目的で、トキイロヒラタケ、エノキタケ、ホンシメジを65℃で30分加熱した後、25℃および95℃で2時間抽出したもののフィブリン溶解活性を測定した。

3. 加工方法の検討

キノコを嗜好品に利用するために乾燥、粉末、ペースト、抽出液の形態の素材の加工法について、前述の保健機能性等を指標として検討した。加工方法の検討について表1に示すように、乾燥については通風乾燥、凍結乾燥を検討した。ペースト化については、フードプロセッサー (National MK-K47) を使用した。抽出については、抽出液の色合いに対する影響を検討する目的で、抽出溶媒（蒸留水、70%エタノール）、抽出温度（蒸留水において25℃、95℃）およびpH（2～6、13および中性）の影響を検討した。抽出時間はすべて2時間とした。

4. トキイロヒラタケを用いた製品試作方法

(1) クッキー

バター (30g) を室温に戻し、砂糖 (25g)、溶き卵 (15g)、ふるいにかけた粉（小麦粉とキノコ乾燥粉末合わせて60g）を加えて混ぜ合わせた。出来た生地をラップで包み、冷蔵庫で30分以上休ませた。その後生地をのばして型で抜き、オープン (EYELA, NDO-600SD) (170℃, 17～18分) で焼成した。

(2) 煎餅

白玉粉 (50g) に水を20～25mL、わさび (10g)、サラダ油 (大さじ1)、塩 (二つまみ)、キノコ乾燥粉末 (適

表1 加工方法の検討

一次加工品	食品への利用例	焼菓子	その他
乾燥品	- 乾燥キノコを粉末化して生地に混ぜ、型を成形してオーブンで焼く。 - 予め砂糖水に漬けて味を調えた後乾燥し、トッピング材やキノコチップスとして。 - このまま軽く塩で味付けて、スナックとして。	クッキー、ビスケット等	蒸しパン、アイスへのトッピング
粉碎品 (粉末)	- 菓子の生地。 - シュガーパウダーと合わせてカラーパウダーなど。	クッキー、ビスケット等	蒸しパン、ケーキ・サレ
ペースト品	- マッシュポテトと合わせて「マッシュキノコ」や、ドウやバターへの混練など。 - 卵や長芋などをつなぎに使うキノコつみれなど。	クッキー、ビスケット等	
液状品	アイスクリームミックスやチーズへの添加など、着色用途に。		アイス クリーム

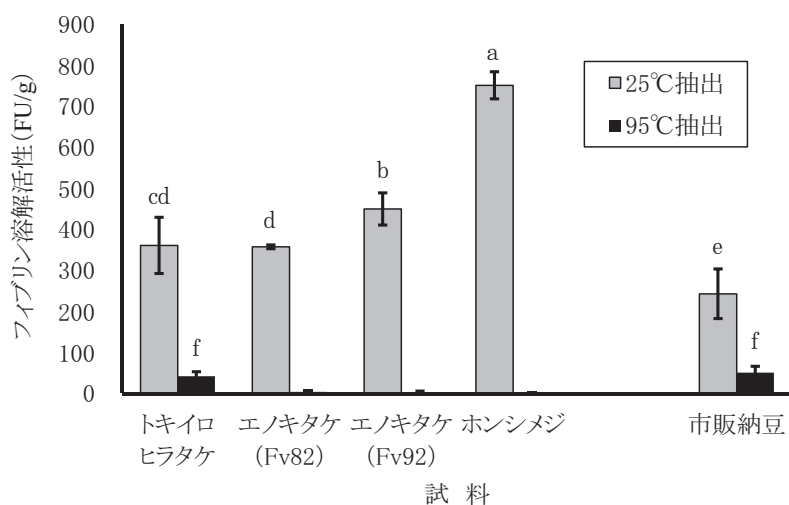


図3 キノコのフィブリン溶解活性

各値は平均値±標準偏差で示した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

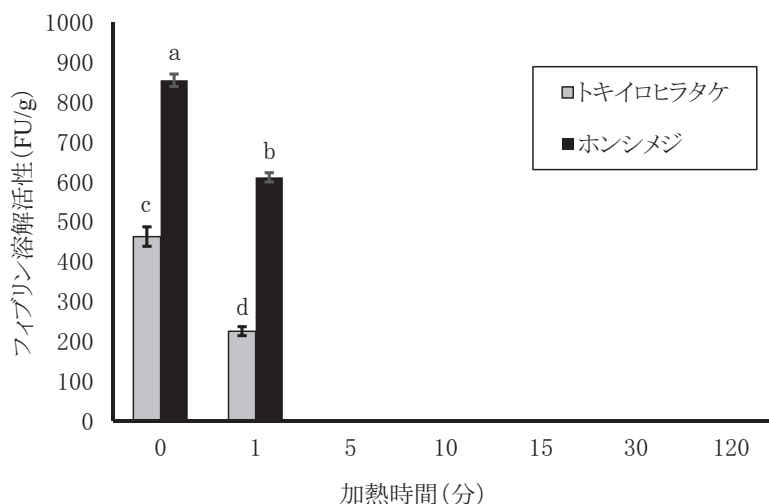


図4 キノコのフィブリン溶解活性に対する加熱時間の影響

各値は平均値±標準偏差で示した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

量)を加え、さらに、生地が耳たぶくらいの堅さになるまで水を加えて混ぜた。煎餅状に平たくした生地を、電子レンジで水分が完全に飛ぶまで加熱した。

(3) 蒸しパン

薄力粉 (45g), キノコ乾燥粉末 (5g), ベーキングパウダー (1g), グラニュー糖 (25g), 塩 (一つまみ) に牛乳58mLを加えて混ぜた。アルミカップに盛り、シロップ漬けキノコを適量トッピング。強火で10分蒸した。

(4) ケーク・サレ (フランス風塩味ケーキ)

ボウルに卵 (115g) を入れ、泡立て器でよく混ぜた。これに牛乳 (70mL) とサラダ油 (70g), 塩 (小さじ1/4強), 胡椒 (小さじ1/4強) を加えて混ぜた後、炒め玉ネギ (35g) を加えてよく混ぜた。これに薄力粉 (125g), ベーキングパウダー (5g), 粉チーズ (40g), 生キノコ、角切りにしたカボチャ、チーズを好みの量 (ブロッコリーまで含めて250g程度が目安) 加えて大きく混ぜた。この生地をクッキングシートを引いた型に1/2量入れ、角切りにしたブロッコリーを中央に並べ、その上に残りの生

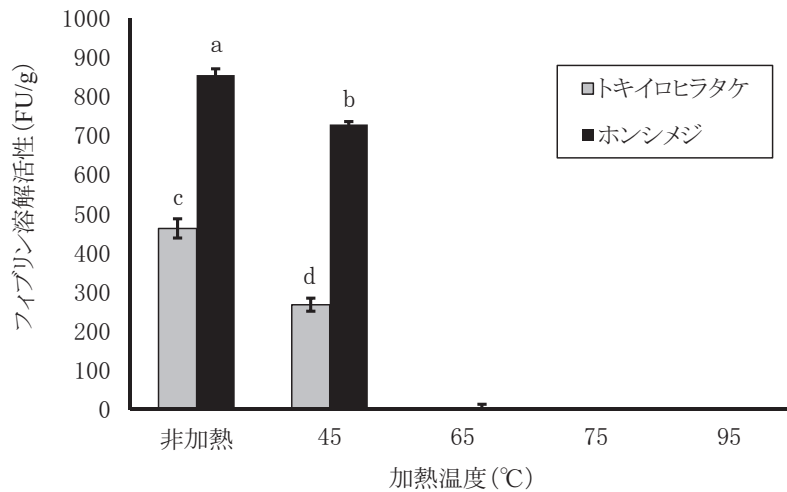


図5 キノコのフィブリン溶解活性に対する加熱温度の影響
各値は平均値±標準偏差で示した。
同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

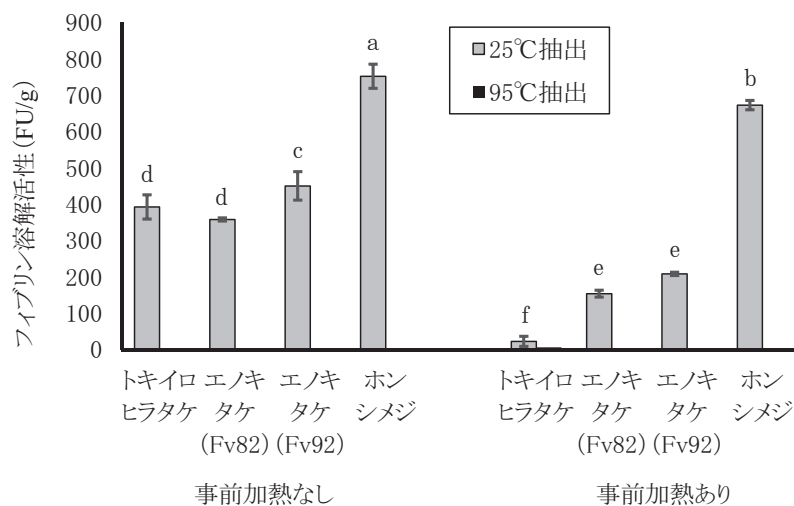


図6 キノコのフィブリン溶解活性に対する抽出前加熱処理の影響
各値は平均値±標準偏差で示した。
同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

地を入れた。これを180℃のオーブンで55分焼成した。

(5) アイスcream (氷菓)

卵 (3 個) をボウルにといて、そこに砂糖 (50g) を加えて泡立てた。別なボウルに生クリーム (200mL) を入れて、よく泡立てた。この生クリームにキノコの25℃抽出液 (20mL) を加えてよく混合した。先に用意した卵+砂糖をこの生クリーム+抽出液に混ぜ合わせ、キノコのシロップ漬けを散りばめ、容器に入れて冷やし固めた。

結果および考察

1. 抗酸化活性

キノコ抽出物の抗酸化活性を測定した結果を図1に示した。比較対照として、代表的なキノコであるシイタケと抗酸化活性を示す代表的な食素材であるレモンを用いた。トキイロヒラタケ、エノキタケ、ホンシメジ全てで抽出温度に関係なくレモンと同等かそれ以上の高い抗酸化活性を示した。さらにすべての菌種において、95℃抽

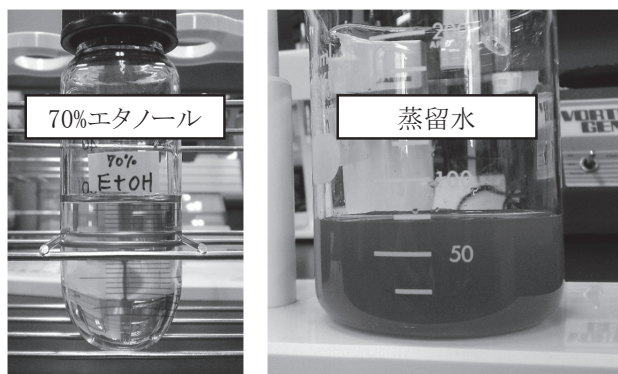


図7 トキヒロヒラタケ抽出液の色に対する抽出溶媒の影響
トキヒロヒラタケ乾燥粉末を試料とし、25℃の70%エタノール（左）および蒸留水（右）で2時間抽出したときの抽出液の色への影響を検討した。

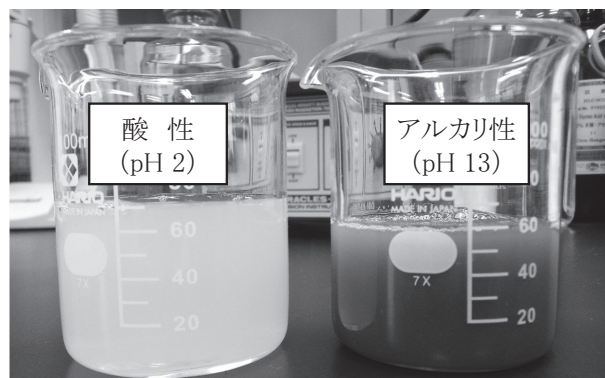


図8-1 トキヒロヒラタケ抽出液の色に対するpHの影響(1)
トキヒロヒラタケ乾燥粉末を試料とし、pH条件を変えた25℃の蒸留水（左：pH2、右：pH13）で2時間抽出したときの抽出液の色への影響を検討した。

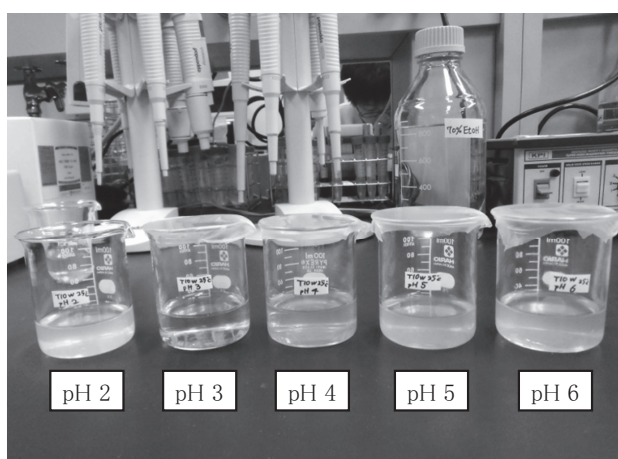


図8-2 トキヒロヒラタケ抽出液の色に対するpHの影響(2)
トキヒロヒラタケ乾燥粉末を試料とし、pH条件を変えた25℃の蒸留水（左からpH2、pH3、pH4、pH5、pH6）で2時間抽出したときの抽出液の色への影響を検討した。

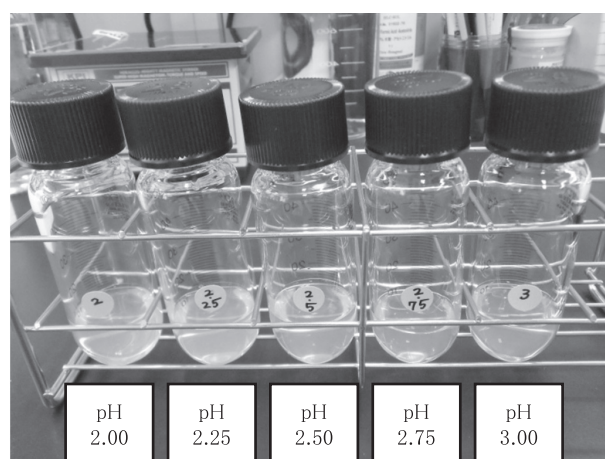


図8-3 トキヒロヒラタケ抽出液の色に対するpHの影響(3)
トキヒロヒラタケ乾燥粉末を試料とし、pH条件を変えた25℃の蒸留水（左からpH2.00、pH2.25、pH2.50、pH2.75、pH3.00）で2時間抽出したときの抽出液の色への影響を検討した。

出物より25℃抽出物の抗酸化活性が高く、キノコの種類によって抽出温度の影響が大きく異なることが明らかとなった。特にエノキタケのFv92株の抗酸化活性は高く、レモンの約3倍の抗酸化活性を示した。抗酸化活性に関わる成分としてはポリフェノールの存在が推察されることから、供試試料中のポリフェノール含有量について測定した（図2）。その測定結果は、3種のキノコの抗酸化活性の傾向と大きく異なり、エノキタケのポリフェノール含有量が最も少なかった。このことは、これらキノコの抗酸化活性に影響を与える成分としてポリフェノール以外の関与を示唆している。

以上より、キノコ抽出物は食品製造における殺菌工程や加工工程における熱処理によって抗酸化活性は低下するが、一定以上の抗酸化活性を保持しており、抗酸化活

性を有する加工食品素材として活用するのに十分な加工適性を有していると考えられた。

2. フィブリン溶解活性

キノコ抽出物のフィブリン溶解活性を測定した結果を図3に示した。比較対照として、血栓溶解活性（フィブリン溶解活性）を有する代表的な食品として納豆の市販品を用いた。トキヒロヒラタケ、エノキタケ、ホンシメジは25℃抽出物すべてにフィブリン溶解性が認められた。特にホンシメジでは市販納豆の3倍強のフィブリン溶解活性を示した。この結果から、これらキノコを原料に用いることにより、心筋梗塞や脳梗塞のような血栓が原因の一つとされる疾病の予防効果を有する新しい健康食品開発の可能性が示唆された。

また、フィブリン溶解活性に対する熱の影響を検討し



左) 無添加、右) キノコ入り

傘の部分がキノコ入り

図9 トキイロヒラタケ入りクッキー試作品

原料：バター 30g, 砂糖 25g, 卵 15g, 粉（小麦粉+トキイロヒラタケ粉末）60gを混合し、形成したのち、オーブン（170℃, 17～18分）で加熱。

た結果、トキイロヒラタケにおいては95℃での加熱により1～5分の間に活性が消失した（図4）。また45℃120分加熱で活性が約60%に低下し、65℃加熱で活性が消失した（図5）。ホンシメジにおいてはトキイロヒラタケ同様に95℃での加熱により1～5分の間に活性が消失したこと（図4）、45℃30分加熱で活性の低下はあまり見られなかったが、65℃加熱では活性が消失したことから（図5）、トキイロヒラタケおよびホンシメジのフィブリン溶解活性に関与する成分の熱安定性が低いことが明らかとなった。

次に、キノコ自体の低温殺菌によるフィブリン溶解活性への影響について検討した結果、トキイロヒラタケにおいては、食材の低温殺菌によってもフィブリン溶解活性がほぼ失活すること、エノキタケやホンシメジにおいては、同殺菌によって、それぞれ45%および90%程度の活性（25℃抽出）が保持されることが示された（図6）。食品製造における加工適性を考える場合、キノコ抽出液のフィブリン溶解活性の熱安定性を考慮した上で加工食品素材として活用する必要がある。

3. 加工方法の検討

加工方法の違いによる色合いの変化について、エノキタケは色合いの変化が条件を変えても見られなかったため、以下、トキイロヒラタケについての場合を記載する。

通風乾燥は乾燥温度が30℃ 24時間、50℃ 24時間の両条件において色合いが濃赤となり熱による退色は見られなかったが、原形を留めておらず、粉末化しての利用が前提と考えられた。凍結乾燥物の色調はやや薄めであったがキノコの形を残したまま乾燥されており、凍結乾燥



奥) 無添加

左) 30%添加、右) 10%添加

図10 トキイロヒラタケ入り煎餅試作品

原料：白玉粉50g, 水20～25mL, わさび10g, サラダ油大さじ1, 塩2つまみ, トキイロヒラタケ粉末 適量を混合し、形成したのち、電子レンジ（水分が飛ぶまで）で加熱。

の特徴として復水性に優れていることから、粉末としての利用のほか、糖液等に浸して味付けをした上でスイーツのトッピング素材等の用途で利用が考えられた。また、加熱して下味をつけたキノコをフードプロセッサーでミンチ状にしたキノコペーストは短時間での加熱では退色が少なく、水分含量も多いため、加工工程における加熱時間が比較的短いソフトクッキーや餡等への用途が期待できる。

抽出溶媒については70%エタノールと蒸留水を用い、25℃の抽出温度で検討したが、エタノールでは黄色の抽

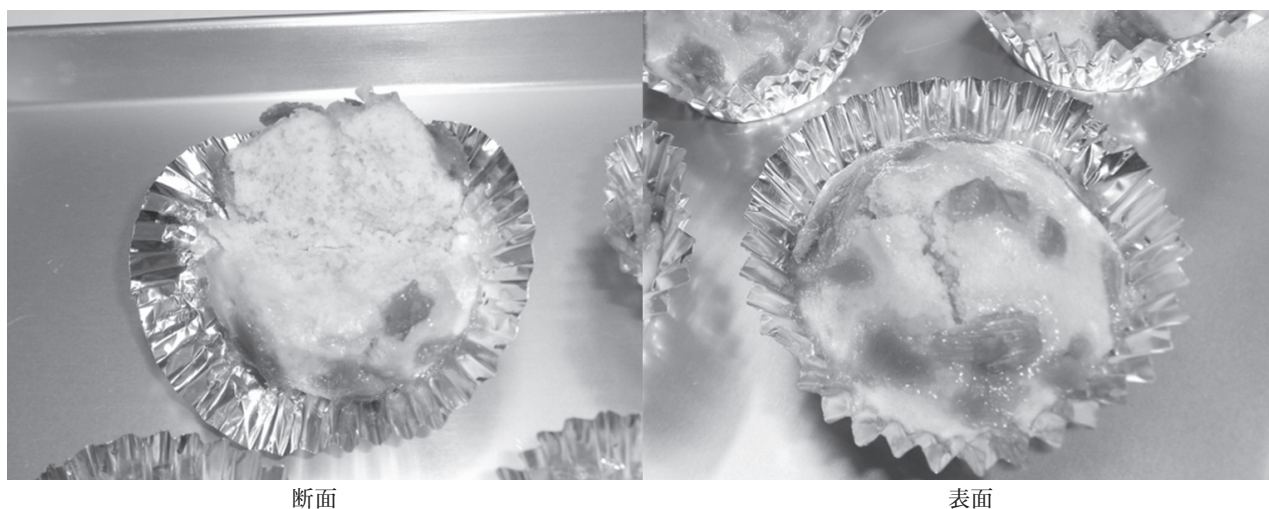


図11 トキイロヒラタケ入り蒸しパン試作品

原料：粉（薄力粉＋トキイロヒラタケ粉末）50g，ベーキングパウダー 1g，グラニュー糖25g，塩一つまみ，牛乳58mL，シロップ漬けトキイロヒラタケ適量（トッピング）を混合し，カップに盛ったのち，強火で蒸す

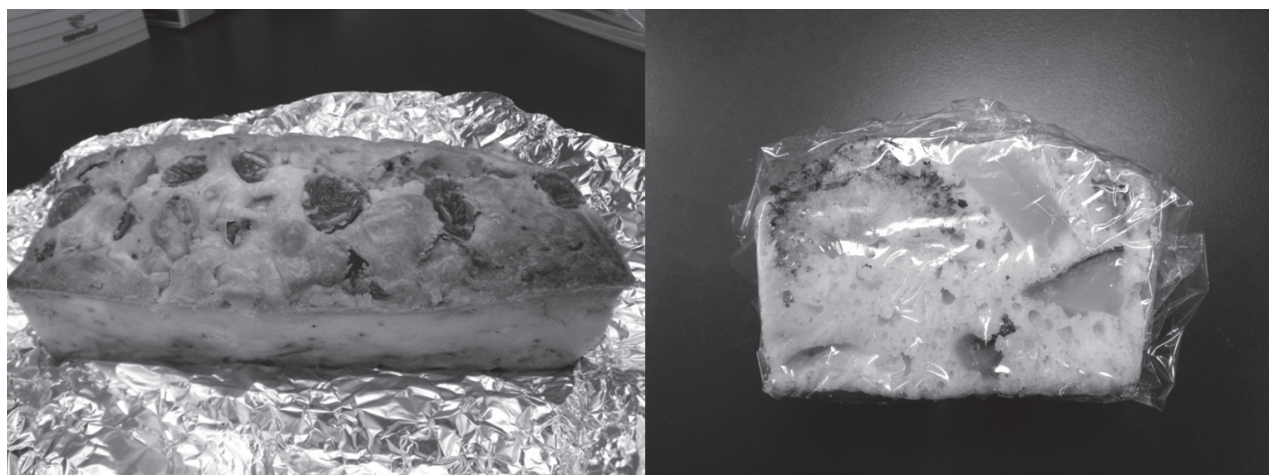


図12 トキイロヒラタケ入りケーキ・サレ試作品

原料：卵115g，牛乳70mL，サラダ油70g，塩小さじ1/4強，胡椒小さじ1/4強，玉ねぎ35g，薄力粉125g，ベーキングパウダー 5g，粉チーズ40g，生キノコ，カボチャ，チーズ，ブロッコリー（以上野菜を合わせて250g程度），を混合し，形成したのち，オーブン（180℃，55分）で加熱。



アイスクリーム・ミックス

アイスクリーム

図13 トキイロヒラタケ入りアイスクリーム試作品

原料：卵 3 個，砂糖50g，生クリーム200mLを混合し，形成したのち，フリーザーで冷凍

出液となり、蒸留水についてはトキイロヒラタケ特有の鮮やかな赤色を帯びた抽出液が得られた（図7）。抽出温度については、25℃と95℃を検討した。25℃抽出においては前述のとおり鮮やかな赤であり、温度を上げると黄色みを帯びた。抽出pHにおいては、強酸性（pH2）で黄色、強アルカリ性（pH13）で灰色となった（図8-1）。酸性側の色合いは着色用途としての可能性があるため、pHを2～6までの間で変えて抽出を行った。その結果、図8-2に示したようにpHが2と3の間に色合いの変化ポイントがあったため、さらにその間でpHを変えて抽出を行った。その結果、図8-3に示したようにpH2.75とpH3の間で抽出液の色が黄色から赤へ大きく変化していることが明らかとなった。これによりトキイロヒラタケから鮮やかな赤色の抽出液を得るためには、温度は25℃程度、pHは3～7程度の水を用いることが必要なのが明らかとなった。この抽出液の用途として、着色を目的としたアイスクリームミックスやクッキー、スポンジケーキの生地への添加が考えられる。

4. トキイロヒラタケを用いた製品試作

(1) クッキー

無添加品の色合いが乳白色であるのに対して、添加品は焼成前の生地が鮮やかなとき色で、焼成すると薄茶色であった（図9）。また風味は、焼成直後の温かいうちは特に無添加品との違いを感じないが、冷めてくるとキノコ特有のアミノ酸由来と思われる旨味を感じた。

(2) 煎餅

クッキー同様、無添加品の色合いは乳白色。添加品は、

10%添加で淡いとき色、30%添加で茶色となった（図10）。風味についてもクッキーと同様に、冷めてくるとキノコ特有の風味が出てきた。

(3) 蒸しパン

添加品は、生地も蒸した後もきれいなとき色を示した（図11）。またキノコの風味については、温かい間だけではなく、冷めても蒸しパンとして違和感がなかった。

(4) ケーク・サレ

ケーク・サレはキノコを他の具材の野菜類と一緒に入れるため、使い方としては生食の場合と変わらない。またきのこの味がケーク・サレの塩味と合うため、全く違和感が無い。ただ焼成温度が高いため、具材のキノコの色が退色してしまっていた（図12）。

(5) アイスクリーム

色調は、きれいなとき色を示した（図13）。しかしキノコの風味が大変強く、クセのあるものとなった。

以上のことから、特にトキイロヒラタケについては、焼成（加工）温度が低いとききれいなとき色を出すことが可能であるが、温度が高くなると茶色を呈すること、また、品温が温かいとキノコの風味は気にならず、スイーツとして美味しいが、品温が低いとキノコの風味が大変強いクセとして出てくることが明らかとなった。これより、トキイロヒラタケの使い方としては、乾燥粉末を生地に添加して加熱加工することが、最もキノコの色合いを生かせる方法と思われた。また、試作品のうち蒸しパンの抗酸化活性を測定したところ、乾燥粉末無添加のものと比較して、トキイロヒラタケとホンシメジを添加し

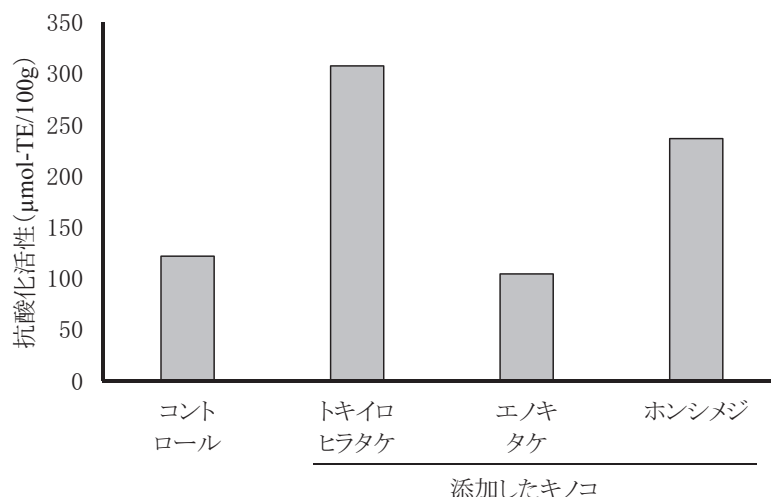


図14 試作蒸しパンの抗酸化活性

たもので、抗酸化活性が高くなった。フィブリン溶解活性のような熱で失活する機能性を加工品に付与することは難しいが、抗酸化活性のようにある程度熱に耐性を持つと考えられる機能性については、乾燥粉末を添加することで付与できることが明らかとなった（図14）。

要 約

これまでキノコは健康食品としての利用が進んできたが、本研究では機能性を有するスイーツ等嗜好品に着目し、機能性の検証とそれに適した加工技術の開発を目指した。

3種のキノコの保健機能性として、抗酸化活性、フィブリン溶解活性、ポリフェノール含量について温度条件の影響も加え、それぞれのキノコの保健機能性の特徴を把握した。供試キノコのうち、エノキタケは特に抗酸化活性が高いが、含まれるポリフェノール量が少ないため、抗酸化活性に対するポリフェノール以外の成分関与が示唆された。ホンシメジはフィブリン溶解活性が特に高く、加熱による活性の低下も少ないため、加工品による血栓予防効果が期待できる結果であった。また、加工方法の検討では、トキイロヒラタケについては特にその彩りを活かすために抽出条件による抽出液の着色状態について評価した。彩りを活かすためには弱酸性域の水抽出が適していることを示すとともに、アイスクリーム等の製品イメージを示すことができた。

今後は、それぞれのキノコの機能性や旨味を活かしたキノコの嗜好品等の新規加工品の製品化に向けて、栽培技術や加工技術の普及を図っていく。

引用文献

- 1) 津志田藤二郎 (2005). 野菜, 「食品の機能性分析」, 津志田藤二郎編, 流通システム研究センター, 東京, pp.3-131.
- 2) Lee, J., Oka, K., Watanabe, O., Hara, H., and Ishizuka, S. (2011), Immunomodulatory effect of mushrooms on cytotoxic activity and cytokine production of intestinal lamina propria leukocytes does not necessarily depend on B-glucan contents. *Food Chemistry*, **126**, 1521-1526.
- 3) 渡邊治 (2010). キノコの保健機能性解明並びに機能性食品の開発, *New Food Industry*, 東京, **52**, 11-22.
- 4) 篠原和毅編 (1999). 「食品の機能性評価マニュアル集」, 農林水産省農林水産技術会議事務局, つくば, pp.16-18.
- 5) 見目明継監修 (1997). 「五訂日本食品標準成分表分析マニュアル」, 科学技術庁資源調査会食品成分部会, 東京, pp.137-140.

引用URL

- i) 平成26年北海道特用林産統計
<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/rrm/grp/04/tokusan/tokusantoukei26.pdf>
(2017.3.1)
- ii) 北海道の食品工業の現状
<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/kz/sss/shkhn/27genjo.pdf> (2017.3.1)
- iii) 2015年人口動態調査
http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei15/dl/10_h6.pdf (2017.3.1)
- iv) 分析法簡易フローチャート, ナットウキナーゼ活性度
<http://www.jfrl.or.jp/bunsekiflow/files/228.pdf>
(2017.3.1)
- v) ナットウキナーゼ活性度測定法
http://j-nattokinase.org/jnka_nk_english.html
(2017.3.1)