

平成12年度事業報告  
平成13年度事業計画

## は　じ　め　に

近年、既存産業の成熟化や経済のグローバル化が進展する中で、本道の基幹産業などが輸入自由化や生産コストの増加の影響を受けるなど、社会経済情勢は大きく変化しています。

このような状況の下、本道経済の自立的・持続的な発展を目指すためには、技術力の向上などによる経営基盤の高度化や活性化を図り、消費者の多様なニーズにいち早く対応し、本道の特性を活かした創造的で付加価値生産性の高い産業群を創出することが重要です。

当センターは、平成4年2月の開設以来、本道の工業生産額の約4割を占める食品工業分野の技術力の向上等を図るため、生産者及び企業等に身近で信頼される試験研究・技術指導機関として各種の支援を行ってきました。

平成12年度においては、馬鈴薯の加工利用に関する新技術開発、食品加工副産物を活用した水産食品の開発、酵母の遺伝子情報解析と簡易検出に関する研究など北海道の基幹農水産物の新規用途開発やバイオテクノロジーなどの先端技術を応用した試験研究に取り組むとともに、乳用廃用牛の新規加工技術の開発など産学官連携による共同研究を行ってきました。

また、これまでの研究成果等について、研究発表会、講習会などを開催することにより普及を図るとともに、企業等の依頼に応じて研究職員の派遣による技術指導を行うなどをして技術移転の促進に努めてきました。さらに、各地域からの課題や要望などを踏まえた「移動食品加工研究センター」の開催などにより食品加工に関する地域の技術課題の解決に努めてきたところです。

今年度においては、新たに寒冷地に最適な新規乳酸菌による優良道産品ワインの安定醸造、デンプン系素材の新規改質技術の開発と加工適正評価に関する研究、深層水の食品加工への利用研究、食品の安全性や保健機能の向上に有効な乳酸菌に関する共同研究などに取り組むとともに、北海道とカナダ・アルバータ州との姉妹提携20周年の事業として、新たな牛肉加工食品の開発を目指して同州との共同研究事業を実施することとしております。

また、当センターは本年度開設10周年を迎えるところですが、これからも一層、身近で信頼される試験研究・技術指導機関として努力していきたいと考えておりますので、今後とも各種事業の積極的なご利用を改めてお願いいたしますとともに、ご意見ご要望をお気軽にお寄せいただきますようお願いいたします。

平成13年4月

北海道立食品加工研究センター 所 長 齊 藤 国 和

# 事業報告・事業計画

## 目 次

1	試験研究	
1-1	研究テーマ一覧	2
1-2	経常研究	
	加工食品部	6
	・農産食品科	
	・畜産食品科	
	・水産食品科	
	発酵食品部	30
	・調味食品科	
	・発酵食品科	
	応用技術部	42
	・食品工学科	
	・生物工学科	
	3研究部共通	55
1-3	共同研究	56
	・一般共同研究	
	・民間等共同研究	
	・創造的研究	
	・事業化特別研究	
	・重点領域研究	
1-4	海洋技術開発促進事業	88
1-5	特別研究	90
1-6	受託研究	92
1-7	北海道・アルバータ州食品加工技術共同研究開発事業	100
2	技術普及・指導	
2-1	食品加工相談室	102
2-2	食品工業技術高度化対策指導事業	103
2-3	移動食品加工研究センター	104
2-4	技術講習会	105
2-5	技術研修生の受入れ	106

2-6	試験測定検査機器及び加工機械の開放	107
2-7	依頼試験分析	108
2-8	食品加工リサーチプラザ	109
2-9	技術情報の提供	110
2-10	その他	111

- 1 技術審査
- 2 展示会・紹介展
- 3 講習会などへの講師派遣
- 4 学会誌投稿
- 5 学会における発表
- 6 出願済工業所有権
- 7 視察実績

### 3 付録

付-1	機構図	123
-----	-----	-----

【食品化学】

- 1 1-1 (10-12) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 2 1-2 (11-13) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 3 1-3 (12-14) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

# 試験研究

【食品化学】

- 4 1-4 (15-17) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 5 1-5 (18-20) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

【食品化学】

- 6 1-6 (21-23) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 7 1-7 (24-26) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 8 1-8 (27-29) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

【食品化学】

- 9 1-9 (30-32) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 10 1-10 (33-35) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 11 1-11 (36-38) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

【食品化学】

- 12 1-12 (39-41) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 13 1-13 (42-44) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 14 1-14 (45-47) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

【食品化学】

- 15 1-15 (48-50) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 16 1-16 (51-53) 突進型アーマーの性能向上に関する研究
- 17 1-17 (54-56) 突進型アーマーの性能向上に関する研究

【食品化学】

# 1 試験研究

## 1-1 試験研究テーマ一覧

### 1-2 経常研究

実施年度 P

#### 【農産食品科】

- |                           |           |    |
|---------------------------|-----------|----|
| 1 生ラーメンの保存性向上に関する研究       | 完 (10~12) | 6  |
| 2 シール性を有する強化オブラートの開発      | (11~13)   | 8  |
| 3 農産加工品中の加熱臭低減化および除去技術の開発 | (12~13)   | 10 |
| 4 馬鈴薯の加工利用に関する新技術の開発      | (12~14)   | 12 |
| 5 中華麺の変色要因の解明とその抑制技術の開発   | 新 (13~14) | 14 |

#### 【畜産食品科】

- |                            |           |    |
|----------------------------|-----------|----|
| 6 腸管でのミネラル吸収を促進する新規食品素材の研究 | 完 (11~12) | 16 |
| 7 新しい製造技術による食肉製品の開発        | (12~13)   | 18 |
| 8 牛乳成分を利用した和風食品の開発         | 新 (13~14) | 20 |

#### 【水産食品科】

- |                        |           |    |
|------------------------|-----------|----|
| 9 水産食品の微量金属の機能性に関する研究  | 完 (10~12) | 22 |
| 10 水産物の生殖組織を利用した食品の開発  | 完 (10~12) | 24 |
| 11 食品加工副産物を活用した水産食品の開発 | (12~13)   | 26 |
| 12 未利用海藻を活用した機能性飲料の開発  | 新 (13~15) | 28 |

#### 【調味食品科】

- |                                |           |    |
|--------------------------------|-----------|----|
| 13 味噌用優良酵母の検索                  | 完 (10~12) | 30 |
| 14 食品中の乳酸菌による有害微生物阻止に関する試験研究   | 完 (10~12) | 32 |
| 15 道産味噌の高品質化に関する試験研究           | 新 (13~14) | 34 |
| 16 寒冷地に最適な新規乳酸菌による優良道産ワインの安定醸造 | 新 (13~15) | 35 |

#### 【発酵食品科】

- |                                 |           |    |
|---------------------------------|-----------|----|
| 17 低温処理を応用した食品のシェルフライフの延長に関する研究 | (12~14)   | 36 |
| 18 発酵食品製造用酵母の乾燥スターター化に関する研究     | (12~14)   | 38 |
| 19 発酵食品中の香気物質に関する研究             | 新 (13~15) | 40 |

#### 【食品工学科】

- |  |         |    |
|--|---------|----|
| 20 食品加工機械の制御方法に関する試験研究<br>— ゆらぎ制御の食品工業への応用について — | (12~14) | 42 |
| 21 においセンサを用いた「香り」の客観的評価に関する研究                    | (12~13) | 44 |

- 22 でんぷん系素材の新規改質技術の開発と加工適性評価に 新 (13~15) 46  
 関する研究

—機械的処理によるでんぷん系粉体素材の改良技術に

関する研究—

【生物工学科】

- 23 魚類コラーゲンおよびその分解酵素に関する研究 完 (10~12) 48  
 24 植物性食品由来乳酸菌の腸細胞付着因子に関する研究 完 (10~12) 50  
 25 酵母の遺伝子情報解析と簡易検出に関する研究 (12~13) 52  
 26 でんぷん系素材の新規改質技術の開発と加工適性評価に 新 (13~15) 54

関する研究

—核磁気共鳴によるでんぷんの状態解析と食品加工への

応用—

【3研究部共通】

- 27 北海道近海の深層水の食品加工への利用 新 (13) 55

1-3 共同研究

・一般共同研究

- 28 超強力小麦粉を用いた各種パン類、麺類の開発 (11~13) 56  
 29 地域水産資源からの機能分子の探索と食品開発 完 (10~12) 58  
 30 赤ワインに含有されるリスベラトロール類縁物質を増やす 完 (10~12) 60  
 研究

・民間等共同研究

- 31 ホタテガイ遺伝子の基礎解析 完 (12) 62  
 32 ホタテ貝殻カルシウムを用いた食品の日持ち向上効果に 完 (12) 64  
 関する研究  
 33 赤ワインのマロラクティック発酵微生物の解析 完 (12) 66  
 34 サケ・マス類の退色防止に関する研究 完 (12) 68  
 35 光パルス殺菌の食品製造における応用研究 完 (12) 70  
 36 魚皮由来コラーゲンを添加した食品の開発 (12~13) 72  
 37 ホタテガイ集団の遺伝構造解析 新 (13) 74

・創造的研究

- 38 食品中の抗酸化成分の生体内メカニズム解明と食品への (11~13) 76  
 応用に向けた研究

—酸化的ストレスによる遺伝子発現に関しRT-PCR

法による解明—

－水産物からのスクリーニングと培養動物細胞による  
活性評価法の検討－

・事業化特別研究

39 遺伝子工学技術を利用した食品微生物制御技術の高度化に 完 (11~12) 80  
関する研究

－北海道ラーメンの細菌学的品質に関する研究－

－魚卵製品における細菌菌種の遺伝子工学手法を用いた  
解析および工程改善－

・重点領域研究

40 乳用廃用牛の新規加工技術の開発 (11~13) 84

41 食品の安全性向上や保健機能の向上に有効な新しい乳酸菌 新 (13~14) 86  
に関する研究

**1－4 海洋技術開発促進事業**

42 深層水の有効利用の研究開発 完 (11~12) 88

**1－5 特別研究**

43 発酵食品の香気及び機能性の強化に関する研究 (10~13) 90

**1－6 受託研究**

44 アロニア果実の有用物質の特性解明および生産・利用技術 完 (10~12) 92

45 北海道産小麦の中華麺用ブレンド技術及び製麺技術の開発 完 (11~12) 94

46 難消化性成分の機能性を活かした米の新規用途技術開発 完 ( 12 ) 96

47 耐塩性乾燥酵母を用いた味噌発酵用ドライスターターの開発 完 ( 12 ) 98

**1－7 北海道・アルバータ州食品加工技術共同研究開発事業**

48 保存性牛肉スナック食品の開発と健康食品市場に向けての 新 ( 13 ) 100  
応用



## 1. 研究の目的と概要

近年流通システムの変化により生ラーメンは販売環境が多様化し、全国への出荷の他に贈答品、お土産品として市場が拡大したため、保存性に一層の向上が求められている。そこで、本研究では生ラーメンの保存性改善を目的として、流通における生ラーメンを取り巻く様々な要因を包装材料や販売環境などの視点から検討を行った。特に店頭において商品価値を下げている生ラーメンの包装袋内結露に注目し、発生要因の解明、添加物による改良効果、さらに包装形態による差異について検討を行った。

予定される成果

(例)・保存性の優れた生ラーメンの開発

## 2. 試験研究の方法

## (1) アルコールの影響調査 (試験1)

アルコール無添加 (No. 1) と、アルコール2% (No. 2)、プロピレングリコール(PG) 2% (No. 3)、アルコール1% PG 1% (No. 4) を、添加したラーメンを試作し、これらをポリプロピレンの袋に詰めた後、恒温器内の蛍光灯の直下に置き、強制的に結露を発生

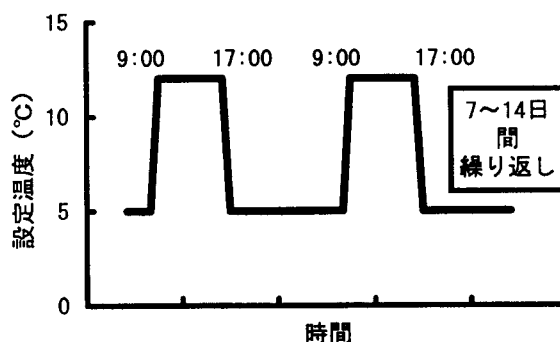


図1 設定温度条件

させる環境に保存した (図1)。保存期間は14日間とし、麺の水分と袋内に結露した水分量 (結露水量)、さらに袋内の上部と下部の麺についても水分を測定した。

## (2) 包装形態の影響調査 (試験2)

添加物によらない物理的な処理による方法として包装形態を変更させたものおよび、包装前に急速冷却を行ったラーメンを試作した (表)。いずれの試験区も、アルコールを2%添加したラーメンを用いた。これらの試作ラーメンについて (1) と同様の条件で10日間の保存試験を実施した。

表 試験2の条件

サンプル	条件
No. 9	箱詰めしたもの
No. 10	アルミ蒸着袋に内包したもの
No. 11	包装前に急速冷却したもの
No. 12	無処理

## 3. 実験結果

(1) 試験1の結果を図2、3に示す。いずれの試験区においても、結露は保存期間中ずっと発生した。特にアルコールを添加したものに著しい発生が見られた。PG配合のものは結露の発生が比較的抑えられたが、袋の下部において麺線が接着するという、いわゆる

る「麵溶け」現象が強く現れた。

(2) 試験2の結果を図4、5に示す。箱詰めとアルミ蒸着袋で包装したものは、ほとんど結露が発生しなかった。急速冷却処理は保存日数が短期の場合には効果があった。このことから、結露発生は温度変化と光によるエネルギーが関与することが判明した。

#### 4. 要約

包装袋内の結露発生条件について、各種の検討を行った。その結果、結露自体にはアルコールが強く関与すること、発生の要因は温度変化と光エネルギーの相互作用によることがわかった。

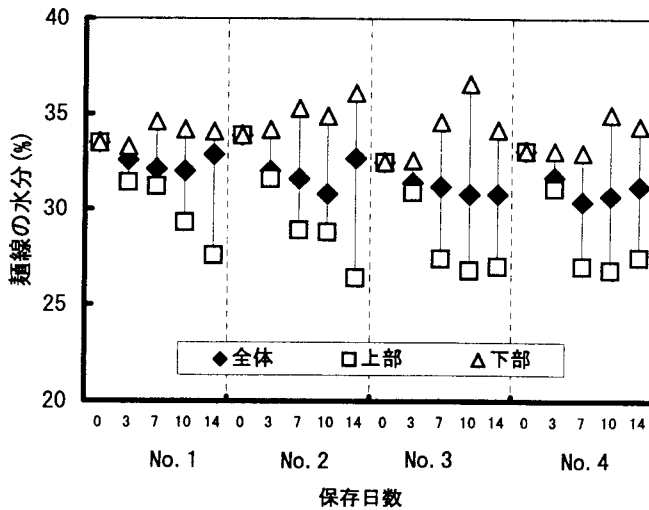


図2 部位別による水分の変化(試験1)

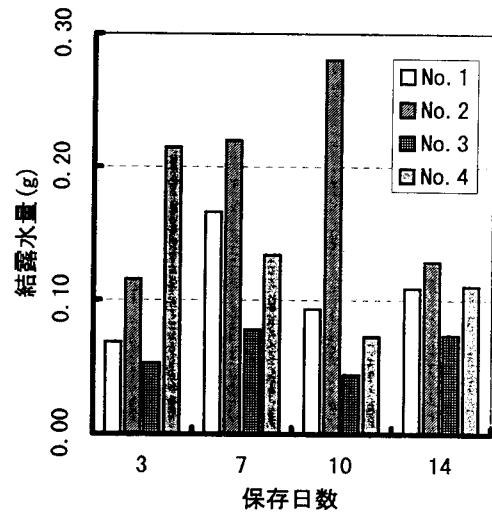


図3 結露水量の変化(試験1)

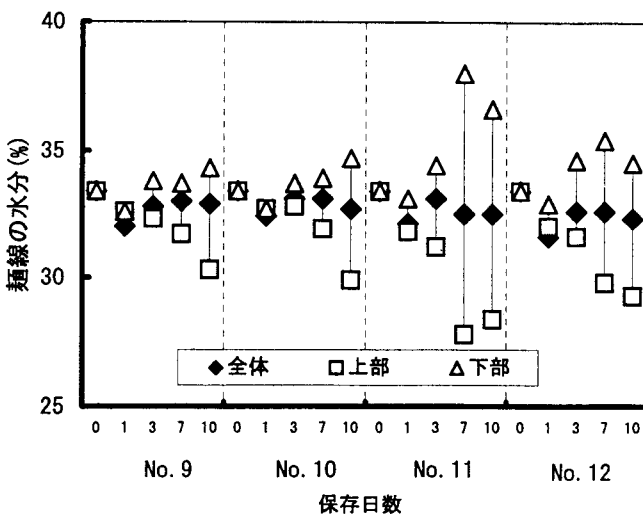


図4 部位別による水分の変化(試験2)

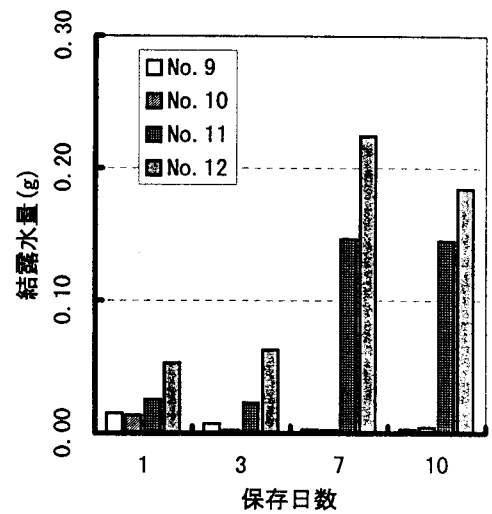


図5 結露水量の変化(試験2)

## シール性を有する強化オブラートの開発 (H11~13)

加工食品部 農産食品科 岩下敦子 山木一史 中野敦博 榎賢治  
応用技術部 食品工学科 清水英樹 河野慎一 熊林義晃 山崎邦雄

### 1. 研究の目的と概要

オブラートはデンプンから製造される安価で安全な優れた可食性フィルムである。しかし、ポリエチレンフィルム等に比較して加工性（特にシール性）が低いことから、利用の範囲が制限されている。そこで、道産馬鈴薯デンプンの需要拡大、付加価値向上を目的として、シール性付与および物性を強化したオブラートを開発する。

#### 予定される成果

インスタント食品等の小袋包装に利用するなど、廃棄物の少ない製品の開発が可能となる。また、そのまま飲用可能な薬品分包用包材としての利用等が期待できる。

### 2. 試験研究の方法

マイクロカプセル分散オブラートの試作基礎試験

#### 1) アルギン酸マイクロカプセルの大量調製方法

- ・大量調製用電動スプレー噴霧時のアルギン酸溶液濃度条件

アルギン酸 0.5、1.0、2.5、5.0%濃度溶液を電動スプレーで噴霧した。

- ・ゲル化剤の選定

アルギン酸ナトリウム製品のハイマニュロン酸タイプ（マニユゲル GMB）およびハイグルロン酸タイプ（マニユコール DMF）にてマイクロカプセルを調製。

- ・糖包摂化マイクロカプセルの調製

1%アルギン酸溶液に糖（澱粉加水分解物：エスイーP）を 0.5、1.0、5.0、10、20、30、50%添加、噴霧し、マイクロカプセルを調製。

- ・保存方法の検討（冷蔵・冷凍・通風乾燥・真空凍結乾燥）

調製したアルギン酸マイクロカプセルを自然濾過水洗浄後、冷蔵・冷凍・通風乾燥(70℃)をおこないマイクロカプセル形状を実体顕微鏡にて観察した。

#### 2) マイクロカプセルサイズ、形状の顕微鏡観察方法物性試験方法の確立

血球測定用の改良 Neubauer 型計数板上にマイクロカプセル溶液を滴下し、観察した。

#### 3) 試作フィルムの各種物性測定方法の確立

フィルム厚測定、引っ張り試験法、耐水性試験法、耐油性試験法、圧着性試験法、熱シール温度耐性試験法、柔軟性試験法を確立した。

### 3. 実験結果

#### 1) アルギン酸マイクロカプセルの大量調製方法

噴霧可能なアルギン酸濃度は上限 1%であった。1%アルギン酸濃度時に糖は 1%添加まで噴霧可能であったが、負荷の少ない至適噴霧条件は、アルギン酸ナトリウム 0.5%、糖 0.5%であった。また、アルギン酸ゲルを硬化させるための、塩化カルシウム溶液濃度

は 1.5%~3%であり、塩化カルシウム溶液層を攪拌しながら、アルギン酸ゲルを噴霧することで、効率の良いマイクロカプセルの調製が可能となった。

マニユゲル GMB とマニユコール DMF では、マニユゲル GMB がより硬度が高く、硬化が早く細かなマイクロカプセル調製に適していた。

カプセル形状を保ちながら長期保存するために、冷蔵、冷凍、通風乾燥を試みたが、すべての方法でマイクロカプセルの変形が起こり、保存方法の再検討が必要であった。

## 2) マイクロカプセルサイズ、形状の顕微鏡観察

観察の結果、10 $\mu$ ~の球形のゲルが形成されていた。

## 3) 試作フィルムの各種物性測定方法の確立

### ①フィルム厚測定

デジマティックマイクロメーターによりフィルムの厚さを測定する。

### ②引っ張り試験法

幅15mm,長さ100mmにカット成型した試作フィルムをレオメータープランジャー No.21 により固定し、破断強度・伸張率を測定する。

### ③耐水性試験法

②と同型の試作フィルムの下部 30mm を蒸留水 (20°C) に漬け崩壊 (溶解) するまでの時間を測定する。

### ④耐油性試験法

②と同型の試作フィルムをオリーブ油中に 4 8 時間浸漬後引っ張り試験により強度を測定する。

### ⑤圧着性試験法

試作フィルム (10cm 四方) を 2 枚重ね合わせ、ハイプレッシャージャッキにはさみ込み加圧し圧着性の有無を確認する。

### ⑥熱シール温度耐性試験法

温度コントロール付き加熱シーラーにより、熱シール性を確認する。

### ⑦柔軟性試験

馬鈴薯澱粉単独のオブラートを対照品として、なめらかさ、柔軟性について官能検査法により比較評価する。

## 4. 平成13年度計画

・アルギン酸マイクロカプセルを大量調製し、工業的規模の試作をおこないシール性等各種物性を測定する。

・各種増粘多糖類を添加したオブラートを調製し各種物性を測定する。

## 1. 研究の目的と概要

道内産の野菜および果菜類を食品素材として、菓子、氷菓および飲料などの加工品に利用したいという要望がある。これらの農産物には、加熱によって生じる好ましくない臭気が発生する問題や揮発性硫黄化合物が存在することにより利用用途が限定されているのが現状であった。本研究の目的は、食品中の揮発性硫黄化合物に起因する臭気成分を構造変換することによって、フレーバーを改善することであり、本年度は、酸化による変換を検討した。

予定される成果

- ・野菜類および果菜類を原料とした新しい食品素材が開発される。

## 2. 試験研究の方法

- (1) グルコースオキシダーゼ：天野エンザイム(株)製のハイデラーゼ 15 (GOD-A と略) およびオリエンタル酵母工業(株)製のグルコースオキシダーゼ (GOD-O) を用いた。GOD-A にはカタラーゼ活性が混合されているが、GOD-O 中にはカタラーゼ活性はほとんど含まれていなかった。
- (2) 反応混合液：10%グルコースを含むクエン酸緩衝液 (pH5.0) 中に、ジブチルスルフィドが 100  $\mu$ g/ml になるように添加し、30℃で 10 分間保温した。さらにグルコースオキシダーゼを 7.3U/ml になるように添加し、30℃で振とうさせた。
- (3) 分析方法：反応混合液中 2ml に酢酸エチル 2ml を加えて抽出し、FID 付きキャピラリーガスクロマトグラフィーで定量した。

表1 試験区

試験区名	酵素	活性
対照	無添加	—
GOD-A	ハイデラーゼ15	グルコースオキシダーゼ、カタラーゼ
GOD-O	GOD	グルコースオキシダーゼ

## 3. 実験結果

グルコースオキシダーゼは、グルコースを基質としてグルコン酸を生成する反応を触媒する酵素であり、これまで食品中の脱糖、酸素除去およびグルコン酸生成の目的で利用されてきた。酵素反応の副産物として過酸化水素も生成するが、グルコースオキシダーゼに混合されているカタラーゼ活性により、過酸化水素は速やかに水分子に分解される。酸化剤である過酸化水素を利用して、刺激的な臭気を与えるスルフィド類を臭気の弱いスルホキシド類およびスルホン類へ酸化させ

ることで、食品のフレーバーを改善することは可能かどうか検討した。

酵素反応によって生じた過酸化水素によるジブチルスルフィドの減少とその酸化物（ジブチルスルホキシド、ジブチルスルホン）を測定した（図2および3）。カタラーゼ活性が含まれている GOD-A 区では、180 分の反応によって、ジブチルスルフィドは 16.0%減少したが、酵素無添加の対照区の減少傾向と同様であることとジブチルスルホキシドが  $3.7 \mu\text{g/ml}$  しか生成されていないことから、蒸発による減少であった。カタラーゼ活性を含まない GOD-O 区では、ジブチルスルフィドが 92.8%減少した。酸化物としてジブチルスルホキシドが  $94 \mu\text{g/ml}$  生成し、ジブチルスルホンは生成しなかった。18 時間の反応後の GOD-O 区では、ジブチルスルフィドは検出されず、ジブチルスルホキシドとともにジブチルスルホンの生成が見られた（ジブチルスルホキシド  $38.5 \mu\text{g/ml}$ 、ジブチルスルホン  $19.6 \mu\text{g/ml}$ ）。

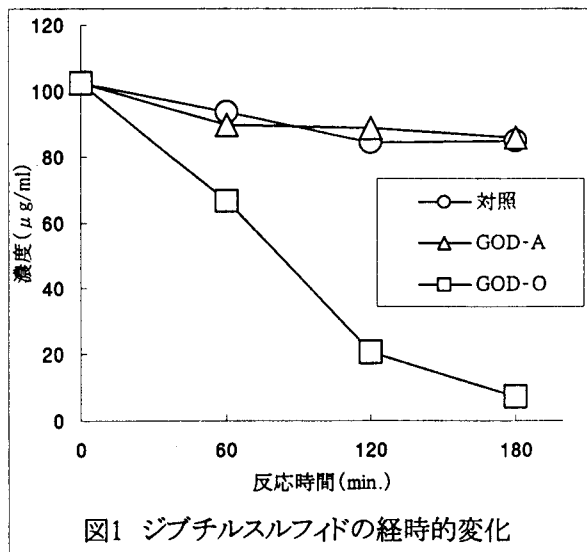


図1 ジブチルスルフィドの経時的変化

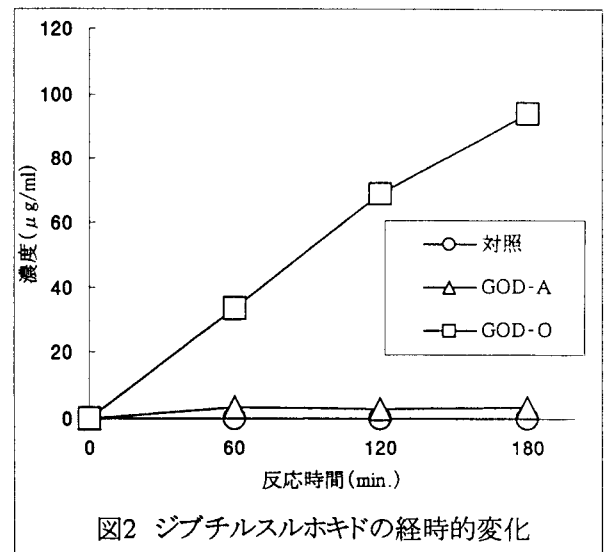


図2 ジブチルスルホキシドの経時的変化

カタラーゼを含まないグルコースオキシダーゼを利用することにより、スルフィド類を低減させることが可能となったが、選択的な酸化反応でないために他の成分への影響を考慮しなければならなかった。また利用した過酸化水素は、カタラーゼまたはペルオキシダーゼを添加して、完全に除去する必要があった。

#### 4. 平成13年度計画

- (1) 揮発性硫黄化合物を選択的に低減させる方法を検討する。
- (2) 野菜類および果菜類汁液に応用し、改善されたかどうか評価する。

## 1. 研究の目的と概要

馬鈴薯は本道の基幹作物であるが、これまで加工利用に関する研究はでんぷんを主役として行われてきており、蛋白質に着目した研究事例は少ない。本研究では馬鈴薯の蛋白質に焦点を当て、馬鈴薯蛋白質の酵素処理による機能性の発現やポテトジュース中の蛋白質の回収・利用について検討した。

- ・ 予定される成果                   健康機能性の高い新たなポテト加工品の開発  
  でんぷん廃液中の蛋白質の利用技術の開発

## 2. 試験研究の方法

### (1) 蛋白質の酵素処理後の抗酸化性の評価

男爵を剥皮、ボイルして、裏ごしし、ポテトの半量の蒸留水を添加、均質化して裏ごしポテトを調製した。また、男爵をミキサーで破碎し遠心分離（7000rpm、15分）して、でんぷん、パルプ等を除去しポテトジュースを調製した。それぞれにプロテアーゼ、パンクレアチン（天野）を0.1%添加し、45℃で8時間処理し、経時的にサンプルを採取して抗酸化活性（β-カロチン退色法）及び非蛋白態窒素含量を測定した。抗酸化活性はBHA5mg%溶液の酸化阻止率を100とした時の試料の酸化阻止率で評価した。非蛋白態窒素は10%トリクロロ酢酸可溶性窒素含量を測定した。

### (2) ポテトジュースからの蛋白質の分離回収

加熱、pH調製、エタノール、酵素（パパイイン、ブロメライン（日本バイコン）パンクレアチン（天野））により蛋白質の分離を行った。加熱分離については、ジュースを60,70,80,90℃（達温）に加熱した。pH調製についてはジュースを塩酸で2.0~5.0まで0.5刻みと馬鈴薯蛋白質の等電点電気泳動（図1）で最大バンドが出現した付近のpH4.75に調製した。エタノールについては終濃度10~30%の間で5%刻みに調製した。酵素はそれぞれ0.05%添加し45℃で30分、1、2、3時間処理した。いずれも凝集物を遠心分離（3000rpm,10分）で回収し、処理前および蛋白回収後のジュースの蛋白質含量より回収率を算出した。また、分離回収物を洗浄後、凍結乾燥し、一定重量の蛋白質含量を測定して分離回収物中の蛋白質含量を算出した。

## 3. 実験結果

### (1) 酵素処理後の裏ごし加水ポテトとポテトジュースの抗酸化活性

裏ごしポテトの酸化阻止率はプロテアーゼ処理を2時間行った場合、急激に高まり、5、8時間処理では処理前より低下した。また、非蛋白態窒素含量は2時間後に大きく増加した（図2）。ポテトジュースの酸化阻止率はプロテアーゼ処理時間が2、5時間の場合高く、8時間ではやや低下した。非蛋白態窒素含量は2時間後に増加し、その後は漸増した。裏ごしポテト、ポテトジュースとも2時間のプロテアーゼ処理で抗酸化活性が高まり、非蛋白態窒素も2時間後に大きく増加していることから抗酸化性の増加には一部の非蛋白態窒素の関与

が示唆された。また、酵素パンクレアチンで処理した場合も同様の傾向が認められた。

## (2) ポテトジュースからの蛋白質の分離回収

加熱処理では高温ほど回収率が高く、90℃（達温）で回収率は88.9%であった（表1）。pH調製ではpH3.0に調製した場合、60.8%で最も回収率が高かった（表2）。回収率はpH3.0を境として高pH側で徐々に低下した。等電点付近のpH4.75では調製24時間後で26.2%であった。エタノールによる回収率は、終濃度30%が最も高く、66.3%であった。また、酵素による回収はパンクレアチンが最も回収率が高く、25.5%であった。分離回収物中の蛋白質含量は、加熱分離（90℃）84.3%、pH調製分離（pH 3.0）80.3%、エタノール分離85.0%、酵素（パンクレアチン）分離58.4%であった。

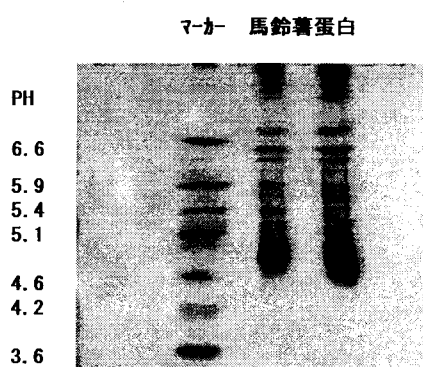


図1 馬鈴薯蛋白質の等電点電気泳動

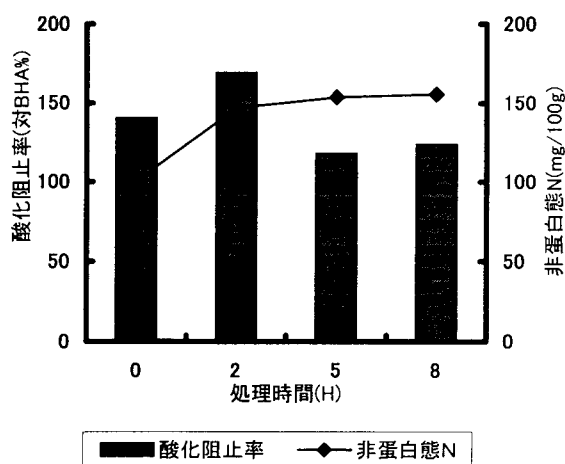


図2 裏ごしホトの酵素(プロアーゼ)処理による抗酸化力の変化

表1 加熱による蛋白質の分離回収率

温度℃	60	70	80	90
分離回収率(%)	24.8	58.1	84.9	88.9

表2 pH調製による蛋白質の分離回収率

pH	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	4.75	5.0
調整後時間								
1	48.9	59.9	60.8	54.4	30.4	22.3	15.6	6.5
24	50.6	59.8	60.1	53.7	38.3	34.2	26.2	25.0

## 4. 平成13年度計画

馬鈴薯蛋白質の酵素処理による機能性の変化について解明を続ける。また、ポテトジュース中の蛋白質の分離（限外濾過膜分離等）または分解による利用方法の検討をさらに進め、分離方法別の蛋白質の機能特性等の諸性質を調べる。



## 1. 研究の目的と概要

多機能性食品素材の開発を目的として、元来整腸作用を持つ食物繊維にリン酸基を導入することにより、ミネラル吸収促進作用という別の機能の付加を検討した。

前年度はグアガム加水分解物 (GGH) へのリン酸基の導入方法と、得られたリン酸化GGH (P-GGH) の *in vitro* でのCa塩の沈殿阻止効果、また成長ラットでのCa吸収促進効果について実験を行い、一定の成果を得た。これを受けて今年度は *in vivo* でのCa吸収促進に対しての盲腸発酵の関与とCa疾病に対する病状改善効果を調べる目的で盲腸切除 (CCX) ラットと卵巣摘出 (OVX) ラットを用いて実験を行った。

予定される成果

- ・ Ca や Mg などのミネラル吸収促進効果を持ち、かつ整腸作用や大腸ガン予防などの基礎的生理作用を併せ持った新規食物繊維の実用化と、それが添加された新規機能性加工食品の開発が上げられる。

## 2. 試験研究の方法

実験1 (CCXラット) : SD系雄ラット (5週齢、初体重100g) を1週間予備飼育後、24匹にCCXを施し、残りの18匹を偽手術群 (Sham) として1週間回復期間をおいた。これらをそれぞれ無繊維食 (FF)、P-GGH食、GGH食群に分け、10日間の試験飼育を行った。試験飼育中は炭酸CaをCa源として含む飼料 (Ca:4.5g/kg diet) をラットに与え、見かけのCa吸収率および終了後の骨強度等を測定した。また不溶性、可溶性Ca分析により消化管内Ca動態を解析した。

実験2 (OVXラット) : SD系雌ラット (5週齢、初体重100g) を1週間予備飼育後、30匹にOVXを施し、残りの24匹をSham群として5日間回復期間をおいた。これらをそれぞれ無繊維食 (FF)、P-GGH食、GGH食群に分け、42日間の試験飼育を行った。試験飼育中は炭酸CaをCa源として含む飼料 (Ca:2.0g/kg diet) をラットに与え、見かけのCa吸収率および終了後の骨強度等を測定した。また不溶性、可溶性Ca分析により消化管内Ca動態を解析した。

## 3. 実験結果

CCX実験 : Ca吸収率は、第1週でControl・CCXのGGH群に比べてP-GGHと偽手術のGGH群で有意に高い結果を得た (図1)。また骨中Ca量も同様の結果を得 (図2)、骨強度についても有意差はなかったもののP-GGH群において高い傾向が得られた。さらに回腸におけるCaの可溶化率がControl群やGGH群と比べてP-GGH群で有意に多くなっていた (データ未提示)。以上よりP-GGHによるCa吸収亢進作用は盲腸発酵にはよらず、回腸におけるCa可溶化率の上昇が深く関わっていることが示唆された。

OVX 実験：Ca 吸収率は6週間で経時的に低下したが、OVX ラットでは Sham に比べこの低下は大きかった（図3）。P-GGH、GGH 摂取はこれらの低下を大きく改善したが、この改善作用は P-GGH で GGH より有意に高かった。骨 Ca 量、骨強度は Ca 吸収の結果を反映しており（データ未提示）、P-GGH 摂取は OVX によるこれらの低下をほぼ完全に防止した。

#### 4. 要約

水溶性食物繊維である GGH にリン酸基を導入することにより in vitro においてリン酸 Ca 沈殿の形成阻害能を持つ P-GGH を得ることに成功し、さらに P-GGH が in vivo において Ca 吸収亢進能を持つこと、導入したリン酸基が Ca の可溶化、吸収亢進に重要な役割を持っていることを示した。これにより、食物（P-GGH）の摂取によって疾病の進行を改善出来ることを示すとともに、他の水溶性食物繊維に対するリン酸基の導入による機能性の付与の可能性を示した。

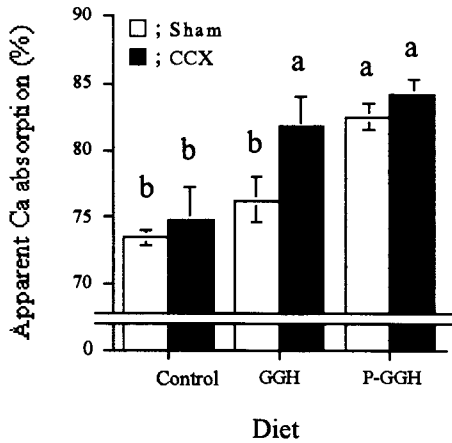


図1 CCXラットによる出納試験

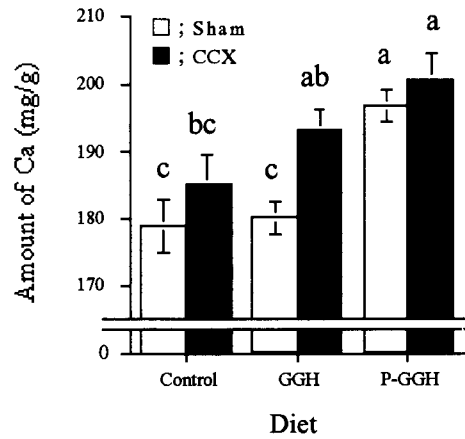


図2 CCXラットによる骨中Ca濃度

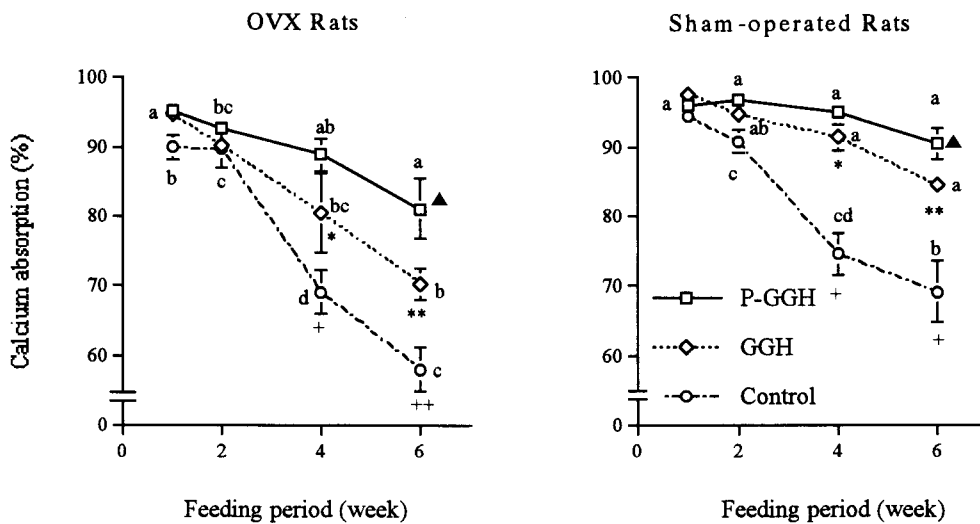


図3 OVXラットによる出納試験

## 1. 研究の目的と概要

我が国の食肉加工品の生産量は最近の10年間は50万t台前半で0～7%成長で推移しており、伸び悩みの傾向にある。この原因としては、各食肉加工メーカーが販売量の拡大をはかるべく新製品開発を目指すなかで、ヒット商品が生まれていないのが大きな要因である。これらの状況から、もはや従来型の製造技術での試行錯誤では決定的なヒット商品の開発は不可能で、これからの開発は伝統的製法にとられない、新規な加工技術の開発に取り組んで行く必要がある。本年度は水産加工業で使用されていたホットプレート加熱装置を用いた食肉のシート状食品の試作を試みた。

予定される成果：既存の製品には無い、新規な形状、食感を持った食肉加工品の開発

## 2. 試験研究の方法

### 1) ホットプレート加熱装置

ホットプレート加熱装置(図1)とは、温度設定可能なヒーターを組み込んだ二枚のプレート板で加熱対象物を挟圧加熱処理する装置で、水産練り製品等の表面焼成に使用されていた。本研究では食肉製品製造に本装置を応用し、プレート板間のクリアランスを5mm以下にして加熱する際の処理条件、処理肉の品質を検討した。

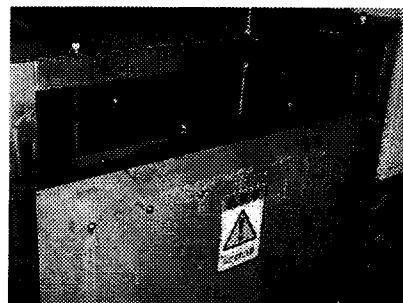


図1 ホットプレート装置(プレス中)

### 2) 供試食肉

牛もも肉、豚もも肉、鶏もも肉の三種類で何れも道産品を使用した。

牛もも肉、豚もも肉は残骨、リハ節を点検除去し、脂肪は完全に除去して赤肉部位のみに整形し500g/本程度の大きさにカットした。鶏もも肉は除骨肉よりさらに皮と脂肪を除去して試料とした。

### 3) 塩漬剤の配合割合および方法

牛もも肉、豚もも肉は食塩 8.00%、亜硝酸 Na0.06%、リン酸塩 3.50%を含有する調味液を原料重量対比 20%注入し、同液に浸漬して3日間静置分散した。鶏肉は食塩 5.70%、亜硝酸 Na0.018%を含有する調味液に一晩浸漬して浸透をはかった。塩漬処理はいずれも5℃冷蔵庫内で行った。

### 4) 加熱処理

塩漬肉をホットプレート加熱装置で条件(プレート板温度、クリアランス、時間)を変化させながら処理し、昇温速度、製品品質等を評価した。なお、比較対照区はスモークハウス(独アサ社製)で定法により燻煙加熱を行った。

### 5) 加熱肉の評価及び加熱昇温特性

加熱製品の品質評価は色調をハタ表色法、一般成分値の各々の項目は公定法により測定した。また、保水性を加圧濾紙重量法により、その他切断応力、PH値、歩

留り（加熱重量/塩漬重量）を測定比較した。官能審査は 15 名の主婦を対象に嗜好性を比較した。また、走査型電子顕微鏡により製品の微細構造の比較観察を行った。

ホットプレート加熱の昇温特性はペルコーダ（東亜電波工業 INR6061）と直径 1.0 mm の熱電対を用いて測定した。

### 3. 実験結果

ホットプレート加熱処理ではプレート板温度、ヒーター板間のクリアランス、加熱時間が大きく製品の品質に反映した。温度 80 °C で 30 秒程度の加熱ではスライム状の製品ができ、107 °C、15 分程度の加熱ではジャッキー風の乾燥品ができた。本処理により屑肉状の小肉塊も圧着して一枚の製品とする事ができる。80 °C の加熱では通常スモーク仕上げ製品とほぼ同等の成分のスライムの製造ができる等の特徴があった。さらに注目される品質特性として、通常豚肉と比較して結着性の劣る牛肉、鶏肉が特徴的な強いゲル形成を示したことがあげられた。このことは走査型電子顕微鏡による微細構造の観察結果、スモーク品と比較してプレート加熱品が挟圧加熱によるとみられる緻密な構造を形成していること(図 2)

及び官能評価の肉質の項目で「歯ごたえ、シャキキ感、ゴム状の弾力」等の評価と密接に関連していると推察した。

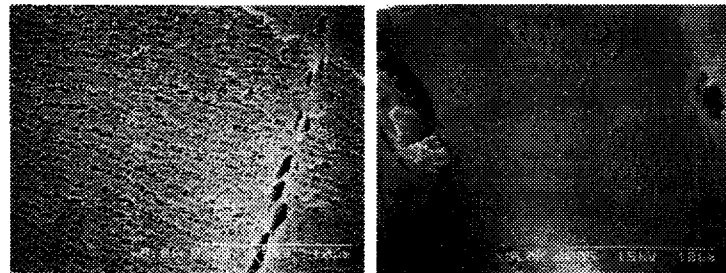


図2 豚肉加工品の微細構造比較写真(左:スモーク品 右:プレス品) [倍率:5000倍]

ジャッキーの試作ではプレート板温度 107 °C、クリアランス 3 mm の条件のとき、13 分間の加熱で乾燥食肉製品の水分

活性規制値 0.87 をクリアできた(図 3)。ヒーター板温度を 80 °C と 107 °C としたときの、クリアランスと 75 °C 到達所要時間の関係を測定した(図 4)。食品衛生法で食肉製品は「加熱殺菌条件を 63 °C 30 分間あるいはそれと同等以上の効果を有する方法で行う」ことが規定されているが、本条件と同等の殺菌効果の加熱条件は 75 °C では 10 秒以下となり、本加工法の実際製造時の温度の目安と考えた。クリアランスが 2 ~ 3 mm で所要時間が増加する傾向がみられ、迅速な昇温にはクリアランス 3 mm 以下が適当であると考えられた。プレート温度 80 °C、クリアランス 3.0 mm では 75 °C 到達時間は 1 分程度、プレート温度 107 °C では 10 秒程度のため、殺菌条件の時間を含めても、1 分程度の処理時間に納まることがわかった。

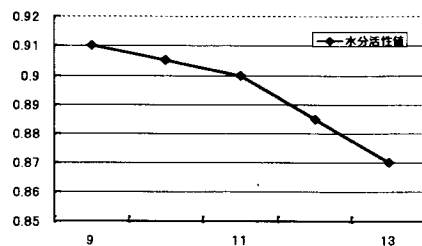


図3 加熱時間と水分活性値

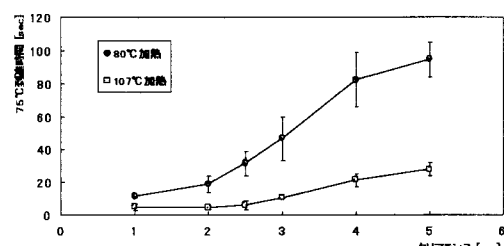


図4 クリアランスと75°C到達所要時間

### 4. 平成 13 年度計画

ホットプレート加熱法では前述の通り様々な種類の製品製造の可能性が考えられる。平成 13 年度は更にこの実用化へ向けた研究を継続する。

## 1. 研究の目的と概要

北海道で漁獲される水産物で貝類（カキ、アサリ）、軟体動物（イカ、タコ）、海藻類や魚類の加工残滓には鉄、銅、亜鉛などの微量金属が多く含まれていると考えられる。特に亜鉛は酵素系において重要な働きをしており、欠乏すると皮膚炎や貧血、生殖機能及び味覚・臭覚機能の低下などが知られている。また、銅は生体内では多くの銅結合タンパク質の構成成分であり、骨異常、神経障害が欠乏症として知られ、一方では過剰障害としてウイルソン病が報告されている。

本研究では、水産物及びその加工食品に含まれる微量金属含量を明らかにするとともに、その存在形態やバイオアッセイ等による微量金属が健康機能に及ぼす影響を明らかにし、健康の維持・増進など機能性に優れた水産食品を開発する。

実用又は予定される成果

- ・安全で健康機能に優れた微量金属を含む水産食品の開発

## 2. 試験研究の方法

### (1) イカ肝臓の酵素分解におけるメタロチオネインの分子量変化

スルメイカ肝臓に 0.5%の蛋白分解酵素（パパインW-40）を加え、37℃で3時間酵素分解した後、等量の 50mM トリス塩酸緩衝液（pH 8.5）を加え2分間ホモジナイズし、遠心分離（10,000×g、15分）を2回行い抽出液を得た。次にセファックスG-50をガラスカラム（2.5×75cm）に充填し、50mM トリス塩酸緩衝液（pH 8.5）にて平衡化した後、平均流速 39 ml/h で抽出液のゲル濾過を行った。得られた各フラクションの微量金属（Cu、Cd）を原子吸光分光光度計により測定して酵素分解における分子量変化を検討した。また、無処理のスルメイカ肝臓についても同様にゲル濾過を行った。

### (2) 細胞に及ぼすメタロチオネインの影響の検討

スルメイカ肝臓を酵素分解後加熱処理し、次に等量の蒸留水を加え、上記と同様に処理した抽出液の低分子画分（図2のFr. 2,3）及び無機微量金属（塩化銅、塩化カドミウム）の混合溶液を試料として用いた。

接着細胞としてヒト胎児空腸・回腸細胞株（Intestine407）を使用し、それぞれ定められた条件で継代培養した。培養は嫌気培養（5%CO<sub>2</sub>、37℃）で行った。

細胞に及ぼすメタロチオネインの影響は Intestine407 を 96 穴マイクロプレートに 200 μl ずつまき 24 時間前培養後、前年度と同様に死細胞数と全細胞数を FACLS 法により測定し、細胞の生残率を算出して検討した。

## 3. 実験結果

### (1) イカ肝臓の酵素分解におけるメタロチオネインの分子量変化

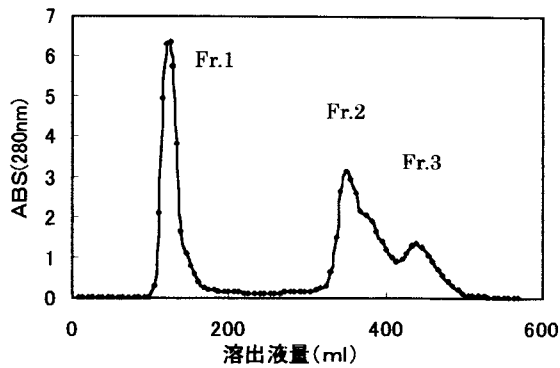


図1 イカ肝臓抽出液のゲル濾過クロマトグラム  
(無処理)

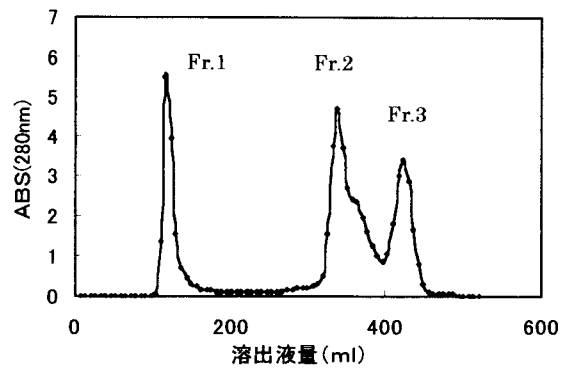


図2 イカ肝臓抽出液のゲル濾過クロマトグラム  
(酵素処理)

イカ肝臓のゲル濾過クロマトグラム（無処理、酵素処理）を図1、2に示した。各フラクションの微量元素（Cu、Cd）については、Fr.1及びFr.2に微量元素が認められたが、Fr.3では検出されなかった。また、酵素分解により分子量4万付近の高分子メタロチオネイン（Fr.1）の一部が分子量2～3千前後に低分子化（Fr.2）されていることが明らかとなった。このことから、イカ肝臓を酵素分解した場合、その多くは低分子メタロチオネインの形態で存在するものと推察される。

#### (2) 細胞に及ぼすメタロチオネインの影響の検討

細胞に及ぼす無機微量元素及びイカ肝臓抽出液（メタロチオネイン）の影響を図3に示した。細胞に対する生残率は無機金属混合溶液ではいずれの濃度においても生存率が100%以上であったのに対して、イカ肝臓からの低分子メタロチオネインでは7 $\mu$ g/gで生存率が50%以下であった。一般に無機金属を摂取した場合には、肝臓中でタンパク質と結合してメタロチオネインを形成し無毒化しているが、本試験から細胞レベルではメタロチオネインは無機金属より細胞に影響を与えた。しかし、イカ肝臓抽出液にはメタロチオネイン以外にペプチドやアミノ酸など他の成分が含まれていることから、これらの成分が細胞の生残率に影響を与えている可能性も考えられる。

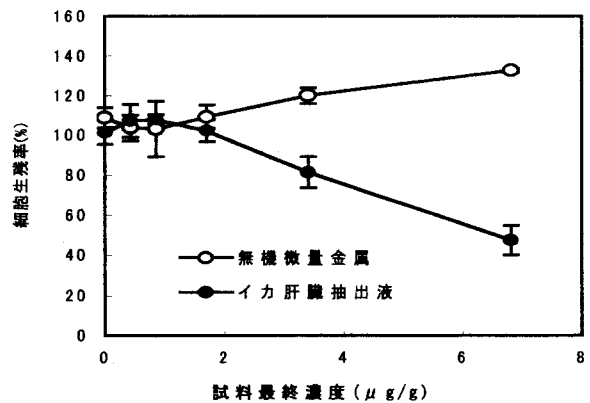


図3 細胞に及ぼすメタロチオネインの影響

#### 4. 要約

水産物内臓の微量元素含量は、Feがサケ内臓、Cuがイカ肝臓、Znがカキ内臓に多く、Cdはホタテ中腸腺やイカ肝臓に多く含まれていた。イカ肝臓には高分子のメタロチオネインが多く含まれ、酵素分解により低分子化が認められた。また、細胞レベルでは、メタロチオネインは無機金属より細胞に影響を与えた。

## 1.研究の目的と概要

水産物の生殖組織には潜在的に存在するいくつかの健康機能性が明らかにされつつある。特に卵巣組織にはEPA、DHA、ビタミンE、アミノ酸などの各種成分がバランスよく豊富に含まれていることから、これらを利用することによって天然に近い形で新規の機能性食品の開発が可能であると考えられる。この研究では水産物の生殖組織（精巣、卵巣）を利用して新規の機能性を有した食品を開発することを目的とする。

今年度はスケソウタラ卵巣の水溶性抗酸化成分を活用した食品を開発するために、水溶性抗酸化成分の熱安定性、大量調製法を検討した。また、食品形態の一例としてゼラチン食品の試作を行った。

実用又は予定される成果

- ・ 活性酸素種を消去する機能を活かした健康機能性に優れた魚卵食品の開発
- ・ 生殖組織から抽出した抗酸化食材の開発

## 2.試験研究の方法

### (1) スケソウタラ卵巣水抽出物の低分子量画分 (LMWF) の熱安定性

スケソウタラ卵巣に蒸留水を加えホモジナイズし、遠心分離で得られた上清を限外ろ過（分画分子量 10,000）後、溶出した低分子量画分 (LMWF) を各温度（40, 60, 80, 100℃）で1時間加熱処理して5℃で保存した。それぞれの加熱処理した LMWF の抗酸化活性を測定し、LMWF の熱安定性を調べた。抗酸化活性は 10%イワシ油乳化物、水抽出物、酸化促進剤から成る反応液を 37℃で 90 分間反応させた後、チオバルビツール酸反応生成物法(TBA 法)で酸化度合いを測定し、抗酸化活性を評価した。金属キレート作用による酸化抑制効果は酸化鉄とアスコルビン酸を、ラジカル消去能による作用は 2,2'-Azobis(2-aminodinopropane) Dihydrochloride を酸化促進剤として使用した。

### (2) スケソウタラ卵巣水溶性 LMWF の大量調製

凍結保存したスケソウタラ卵巣に5倍容の蒸留水を加えホモジナイズ(8,500rpm × 3 min)し、得られたホモジネートを冷却遠心分離(10,000g × 15 min, 4℃)した。得られた上清を限外ろ過装置（使用膜モジュール：日東電工 NTU-3250（分画分子量 20,000）、流速：10L/min、温度：42℃）に供し、分子量 20,000 以下の透過液を得た。溶出液をエバポール（加熱温度 0.5kg/cm<sup>2</sup>、真空度 73mmHg、蒸発温度 30℃）で濃縮した。濃縮物を凍結乾燥してスケソウタラ卵巣水溶性 LMWF 乾燥物を得た。

(3) スケソウタラ卵巣水抽出物のゼリー状食品の開発

水 50ml、クエン酸 2.5g、水あめ 100g、グラニュー糖 75g、ソルビトール 2.5g をスケソウタラ卵巣 500mg あるいは 2.9g を鍋で 2～3 分煮詰め、沸騰直前に加熱を中止した。ゼラチン (AP-300, Lot No. 47, 宮城化学工業) 17.5g と水 25ml を 30 分間膨潤し、70℃で溶解した。それぞれ溶解したものを混合し、型に充填して冷蔵庫で 17～20 時間放置して凝固した。型から取り外し、コーンスターチ (ギャバンスパイス株式会社) を噴霧した。

3.実験結果

(1) スケソウタラ卵巣水抽出物 LMWF の熱安定性

LMWF を各温度 (40, 60, 80, 100℃) で 1 時間加熱処理して抗酸化活性を調べた結果を図 1 に示す。LMWF は各温度で 1 時間処理したことによる LMWF の持つ金属キレート作用およびラジカル消去能の活性にどの温度でも変化が認められず、処理温度 100℃までは加熱による抗酸化活性に与える影響は認められなかった。

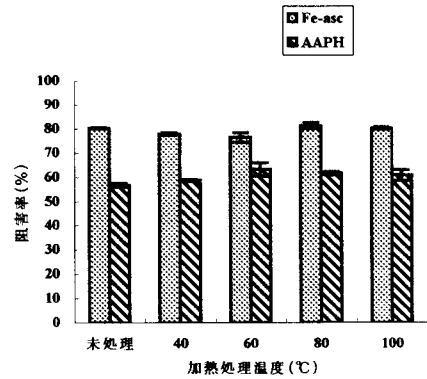


図 1 スケソウタラ LMWF の熱安定性

(2) スケソウタラ卵巣水溶性 LMWF の大量調製

実験室スケールで LMWF を調製した場合、原料 100g から凍結乾燥粉末が 2.2g 得られたが、400 倍にスケールアップした場合には原料 40kg から凍結乾燥粉末 747g が得られた。スケールアップにより実験室スケールと比較して最終収量が 15%減少した。

	実験スケール	ラージスケール
原料	100g	40kg
遠心分離上清	320ml	70L
限外ろ過ろ液	296ml	42L
エバポール濃縮液	—	10.5L
凍結乾燥粉末	2.2g	747g

(3) スケソウタラ卵巣水抽出物のゼリー状食品

スケソウタラ卵巣水抽出物を含有したゼラチン食品を試作した。水抽出乾燥粉末は水産物特有の生臭さ (魚臭) が強く感じられるが、ゼラチンに含有させることによって魚臭が低減されることが明らかになった。

4.要約

スケソウタラ卵巣水抽出物の LMWF は通常の加熱処理では抗酸化活性に変化が認められなかった。また、ラージスケールで LMWF を調製すると原料重量に対して 1.9%の凍結乾燥粉末が得られた。また、ゼラチンに混合することによって魚臭 (生臭さ) が低減できることが明らかになった。



## 1. 研究の目的と概要

道内におけるイクラ生産量は約1万トン（生産額300億円）で、北海道の主要水産加工品であるが、低塩化による保存性の低下や品質の劣化などの問題がある。また、ホタテガイの外套膜、生殖巣や魚皮はほとんど廃棄されている。

北海道内の醸造副産物は、酒粕が年間1.6万トン、醤油滓は年間約4千トン発生している。酒粕は漬物など食品加工副原料として利用されているが、価格が低迷し用途が限られている。一方、醤油滓では高塩分であるため処理費用が増大し、いずれも問題となっている。

そこで有用な酵素が含まれている醸造副産物を利用し、水産食品の食感、風味の改善および日持ち向上などの加工技術ならびに製品の開発を行うことを目的として試験を行った。

<期待できる成果>

- ①. 食品加工副産物の利用による廃棄物の減量化
- ②. 水産食品の品質改良

## 2. 試験研究の方法

### (1) 材料

板粕、吟醸粕、醤油滓及びサケ卵（道内産で卵膜が硬めのもの）を用いた。

### (2) 試料調製と保存

塩イクラはサケ卵を10℃の飽和食塩水に攪拌しながら1分間浸漬後、水切りして調製した。

板粕、吟醸粕、およびこれらと醤油滓を2：1に混合し、フードプロセッサーで混合した。板粕は蒸留水を加えて吟醸粕と同じアルコール濃度とした。塩イクラを飽和食塩水で湿らせたガーゼで包み、先に調製した粕床に埋め込み5℃で保存した。

### (3) イクラの硬度（破断強度）測定

レオメーター（サン科学(株) CR-200D）で破断試験を行った。プランジャーは直径10 mm円筒型のものを用い、試料台上昇速度は毎分60 mmとした。

## 3. 実験結果

イクラの保存試験を行ったところ、冷蔵1週間で魚卵が硬化し始めた、特に板粕処理した場合には卵膜の硬化が著しく進行した。一方、醤油滓を加えることでイクラの硬化が大幅に抑制された。また吟醸粕で漬け込んだものについては、未処理のものに比べわずかに硬さが上昇した程度であった。このことから、酒粕を使用する場合は、板粕よりも吟醸粕が適すると考えられた。また、吟醸粕の場合も醤油滓を加えることで軟化が認められた（図参照）。醤油滓処理によってイクラの卵膜が軟

化される現象は、醤油製造に用いる麹が高プロテアーゼ活性の菌株であり、醤油滓にプロテアーゼ活性が残存しているためと考えられた。

イクラ保存試験で風味や色調を観察した結果、酒粕には魚臭マスキング効果が認められ、醤油滓を使用することにより、イクラを軟化すると同時に醤油の風味が付与された。醤油滓にも特有の香りがあるが、酒粕を利用することによってマスキングされた。したがって、吟醸粕と醤油滓を混合して用いるのが、最適であると考えられた。また、通常5℃程度の温度帯では数週間しか日持ちしないイクラが、風味や色調が良好な状態で2ヶ月以上保存可能であった。

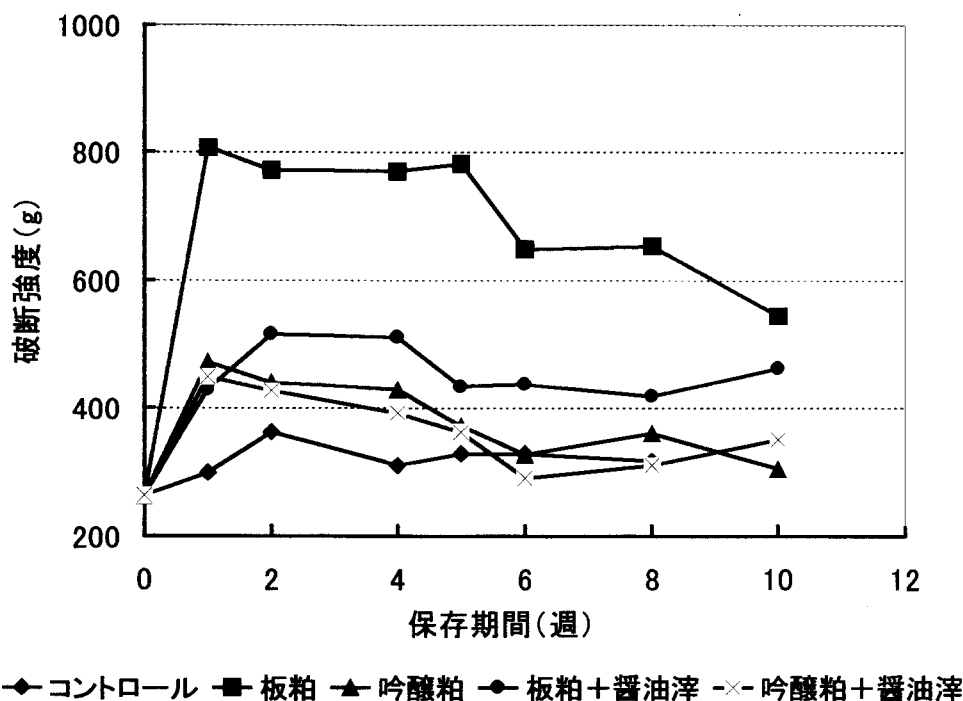


図 醸造副産物による処理がイクラの硬さに与える影響

#### 4. 平成13年度計画

今後、醤油滓のプロテアーゼの活用法について、使用のタイミングや添加量など処理工程を改善する予定である。また、塩イクラではなくサケ卵を直接処理するなど材料面でも検討を進める。

## 1 研究の目的と概要

味噌の製造に利用される有用微生物として酵母があり、酵母は、未熟臭・温醸臭の除去や芳香性の付与に効果を示す。酵母の生成する香気成分の中には、抗酸化性などの機能性を有するものがあるという報告もあり、優良酵母を選択利用することは味噌の品質向上につながる。本研究では、道産味噌の更なる品質向上の一方法として、北海道独自の優良味噌用酵母を選択し、それを味噌醸造に利用することを目標とする。優良味噌用酵母の検索には、味噌用酵母を正確かつ迅速に菌株レベルで分離・同定する技術が必要である。この技術を確立することは微生物汚染防除の面からも極めて有効であるにもかかわらず、現在はまだ確立されていない状況にある。そこで、昨年度はRFLP法(Restriction Fragment Length Polymorphism; 制限酵素断片長多型)を用いて、味噌用酵母の分類技術についての検討を行った。その結果、味噌用酵母をいくつかのグループに分けることはできたが、すべての菌株間に差異を見いだすことはできなかった。本年度は、RFLP法で得られたDNA断片を更に別の方法で検出し、味噌用耐塩性酵母の菌株レベルでの識別の可能性について検討した。

### \*予定される成果

- ・優良味噌用酵母利用による道産味噌の品質向上
- ・味噌用酵母の迅速かつ簡便な分離・同定技術の確立

## 2 試験研究の方法

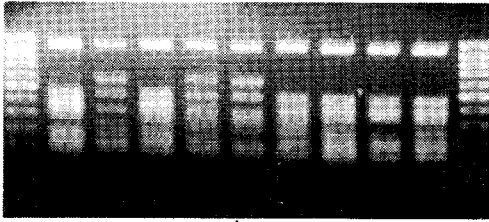
- 1) 供試菌株：味噌の主発酵酵母である *Zygosaccharomyces rouxii* 9株 ((財)発酵研究所より購入したIFO 1876、1130、0525、0505、0523、0439の6株と当センター所有の3株)を用いて試験を行った。(以下R1~R9と略す。)
- 2) 制限酵素による切断DNA断片：各菌株の制限酵素による切断断片は、昨年度調製した試料を用いた。昨年度は3種類のプライマーセット(ss、18s、25sとする)で増幅された産物を17種類の制限酵素で切断した結果、47通りの切断パターンを得ている(平成11年度事業報告参照)。これらの切断断片試料をフェノール/クロロホルム抽出によって精製した後電気泳動した。
- 3) ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)：低分子量のバンドを精度よく検出するために、スプレデックスポリマーNAB(エルクローム社)を添加したポリアクリルアミドゲルを、検出したいDNA断片の分子量に合わせて、6~15%のゲル濃度で作製した。電気泳動は、ゲル濃度に合わせて、80~150Vの定電圧で、90~120分泳動し、泳動後、サイバークリーン染色を行い、得られた検出パターンを菌株毎に比較した。

## 3 結果

RFLP法によって得られた47試料をポリアクリルアミドゲル電気泳動した結果、5試料で味噌用酵母をいくつかのグループに分類することが可能であった。それは、18sプライマー

[写真 1]

MK R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7 R8 R9 MK

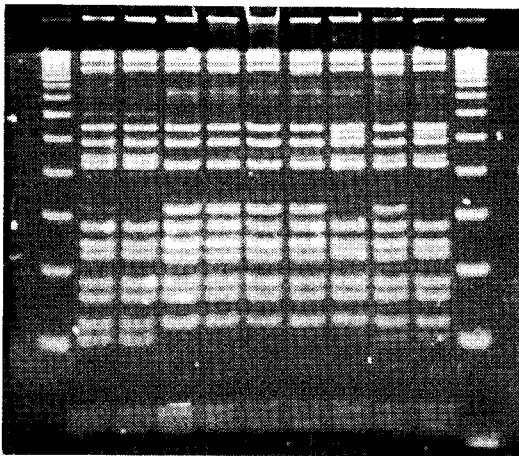


R2, R4, R5

R1, R3, R6~R9

[写真 2]

MK R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7 R8 R9 MK



R2

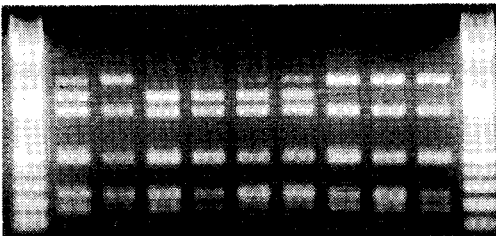
R4, R5

R3, R6, R8

R7, R9

[写真 3]

MK R1 R2 R3 R4 R5 R6 R7 R8 R9 MK



R2

R4, R5

R3, R6

R8

R1, R6

R7, R9

増幅産物を制限酵素 1) *Aci* I、2) *Hha* I、3) *Taq* I、  
4) *Tru* I で切断した試料と、25s プライマー増幅  
産物を 5) *Bfa* I で切断した試料の 5 種類であった。

これらの結果と昨年度得られたアガロースゲル  
電気泳動の検出パターン結果を組み合わせると、

1) 25s プライマー増幅産物の *Bfa* I 切断パターンの  
1.2% アガロース電気泳動(写真 1)、

2) 18s プライマー増幅産物の *Tru* I 切断パターンの  
ポリアクリルアミド電気泳動(写真 2)、

3) 25s プライマー増幅産物の *Hha* I 切断パターンの  
1.2% アガロース電気泳動(写真 3)

によって、供試した 9 菌株が、I R1、II R2、  
III R3, R6、IV R4, R5、V R7, R9、VI R8 の  
6 グループに分けられることが示された(図 1)。

#### 4 要約

優良味噌用酵母検索のために必要な味噌用酵母の  
迅速な分離・同定技術について、遺伝子工学的手法を  
用いて検討した。その結果、味噌用酵母をその他の  
酵母から識別することができ、味噌の雑菌検出に  
有用であることがわかった。一方、今回の試験菌株を  
菌株レベルで完全に識別することはできなかったが、  
一部グループ分けすることは可能であった。

図 1 味噌用酵母の分類の流れ(左図)

MK は、マーカーの略で、それぞれの写真の  
マーカーは、

写真 1 100bp DNA ladder(シグマ)

写真 2 20bp ladder(タカラ)

写真 3 200bp step ladder(プロメガ)

である。

## 1. 研究の目的と概要

人類は乳酸菌発酵食品を数千年にわたり摂取してきており、健康への寄与が科学的にも証明され安全性も保証されている。最近、大腸菌0157、黄色ブドウ球菌による食中毒が増え抗菌製品などの売れ行きが伸びているが、乳酸菌の持つ静菌・殺菌効果についても注目されてきており食品保蔵への利用研究が必要となってきた。抗菌物質を生産する乳酸菌については、欧米で乳由来乳酸菌を元に研究が進んでいるが、植物由来乳酸菌の抗菌物質についてはその研究は始まったばかりと言える。北海道においても漬物、味噌および醤油製造は重要な食品産業であり、食品の安全性に関心が高まっている中、安全で安定な食品を本道から提供し続けることが、他府県産食品に対する差別化の点からも極めて重要なアイテムとなっている。このため乳酸菌由来の抗菌物質および乳酸菌による有害微生物制御技術を構築し、本道食品にあらためて安全という付加価値をつけ加えることがきわめて有効な手段である。本試験研究では、これまで研究のほとんど行われていない植物由来の乳酸菌を用いて有害微生物の生育を制御する技術を作り出すことを目的とする。

### 予定される成果

- ・乳酸菌による食品保存技術の確立
- ・日持ちの良い食品

## 2. 研究の方法

### 供試菌株

抗菌物質検索のために使用した菌株は、当研究センターの保存菌株、*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* IF0 3247、*L. lactis* subsp. *lactis* IF0 12007、*Tetragenococcus halophilus* JCM 5888、*Bacillus subtilis* ISW 1214、*Staphylococcus aureus* IF0 14462を用いた。

### 培地

乳酸菌の生育にはGYP培地（乳酸菌マニュアル-分離から同定まで- p15、朝倉書店）を用いた。そのほかの菌の培養にはLB培地（バクトトリプトン 1%、酵母エキス 0.5%、NaCl 0.5% pH 7.3）を用いた。

### 乳酸菌の分離

乳酸菌の分離源として、市販の韓国産キムチ2種類と京都の漬物である千枚漬、柚子大根を用いた。これらのサンプルを10ppmのシクロヘキシミドおよびアジ化ナトリウムを含むGYP白亜寒天培地に塗布し、酸の生成によってハローが生じた菌を乳酸菌として分離した。

### 混合培養

キャベツ 1kg、キュウリ 300g、ニンジン 50gをミキサーにかけ粉碎した後、野菜ジュース800mlを得た。これを濾過した後、2% NaCl、0.1%グルコースを添加し、120℃15分間のオートクレーブを行い培地とした。これに、前培養した大腸菌および単離乳酸菌を $1 \times 10^5$ 個接種し、1日、2日、5日目に菌数およびpHを測定した。

### 3. 実験結果

発酵途中の味噌及び漬物それぞれを10ppmのシクロヘキシミドおよびアジ化ナトリウムを含むGYP白亜寒天培地で酸を生成した乳酸菌と考えられる菌をそれぞれ20株ずつ分離した。それぞれを、GYP液体地で培養しその培養上清をpH7に調整した後バクテリオシンの検索を行った。その結果、いずれの乳酸菌も抗菌活性を示すことがなかった。しかし、これらの漬物中には他の微生物は検出されていないことから何らかの抗菌成分があると考え、キムチ由来の乳酸菌を大腸菌との混合培養を行った。その結果、表1示すように、乳酸菌との共存により大腸菌の生育が抑制され、さらに5日後にはほとんど死滅されることが明らかとなった。一方、乳酸菌は培養5日目においても、優位に存在し大腸菌を圧倒していることが示された。この事実から、漬物などの植物素材においても乳酸菌が生育することで、安全なしかも日持ちする食品が伝統的に作られてきたことを示している。昨今、漬物が調味料漬けとなり、微生物検査で多量の大腸菌が検出されることから、今後これらの微生物を用いた発酵を見直す必要があると思われる。

表1 乳酸菌と大腸菌の混合培養

培養	培養時間 (日)	pH	大腸菌数 (CFU/ml)	乳酸菌数 (CFU/ml)
大腸菌のみ	1	5.6	$3.0 \times 10^{11}$	-
	2	4.9	$5.5 \times 10^{11}$	-
	5	4.9	$1.0 \times 10^5$	-
大腸菌+乳酸菌	1	4.3	$3.4 \times 10^9$	$3.0 \times 10^{11}$
	2	4.2	$1.8 \times 10^9$	$1.9 \times 10^{12}$
	5	4.1	$3.0 \times 10^1$	$2.3 \times 10^9$

### 4. 要約

これまで分離してきた植物由来の乳酸菌を用いて大腸菌などの有害微生物の生育を制御する微生物を探索し、植物エキス中で大腸菌の生育を抑え数日で死滅させることが明らかとなった。漬物製造においても乳酸菌の添加によって大腸菌を押さえることができると考えられた。

## 低温処理を応用した食品のシェルフライフの延長に関する研究 (H12～H14)

発酵食品部発酵食品科 柿本雅史 田村吉史  
富永一哉 田中常雄

### 1. 研究の目的と概要

食中毒事故が頻発し大型化する中で、食品業界では一層食品衛生に対する関心が高まり、多くの工場でHACCPが実践されるようになってきた。また、食品加工業者にとって販売している食品の安全性とシェルフライフの確保・延長は最も重要な課題である。しかしながら、食品の中には加熱殺菌ができないか、あるいは加熱すると食品の商品価値が著しく低下してしまうような食品もあり、この様な食品に対して加熱以外の方法で微生物を制御する技術が必要とされている。

本研究は、ハードルテクノロジーで提唱されている温和な食品保存技術の考え方に基づく研究である。微生物を半致死またはそれほど苛酷でないストレスにさらした時、微生物はストレスの程度に応じて生存状態から損傷状態、そして死滅状態に変わると考えられている。この損傷状態にある細胞は、ストレス直後では生きてるのか死んでいるのか判定出来ない状態にあるが、時間の経過や栄養条件を整えば損傷が回復し増殖を開始する。本研究は食品を凍結・冷蔵処理することにより発生する損傷菌に対し、既存の微生物制御技術を併用し損傷回復を妨げ、食品のシェルフライフを延長させる事を目的とする。

本年度は、大腸菌を接種した液体培地に凍結処理と抗菌性物質の添加を併用する事で発揮される増殖抑制効果について検討した。

#### 【実用または予定される成果】

- ・非加熱食品の微生物制御技術の開発
- ・冷凍冷蔵食品のシェルフライフの延長および品質向上

### 2. 試験研究の方法

#### 1) 凍結及び解凍条件と増殖抑制効果の確認方法

供試菌は大腸菌 *Escherichia coli* JCM1649 を用い、凍結試料には Nutrient Broth を使用した。前培養した供試菌を約  $10^4$  cfu/ml になるように試料に接種し供試菌液とした。凍結は $-30^{\circ}\text{C}$ の空冷フリーザーにて行い、解凍は $10^{\circ}\text{C}$ の恒温水槽にて行った。解凍後、バイオフィオトレコーダー (TN-112D アトバンテック社製) にて $30^{\circ}\text{C}$ 培養し、 $660\text{ nm}$ の濁度変化を測定して増殖抑制効果を判定した。

#### A : 凍結日数と増殖抑制効果の検討 (抗菌性物質無添加)

供試菌液を1、7、14日間凍結し、凍結日数と解凍後の増殖抑制効果の関係について確認した。

#### B : 凍結処理と抗菌性物質の併用効果

抗菌性物質には市販の焼成ホタテ貝殻Ca製剤 (以下ホタテCa) を用い、所定濃度

になるように試料菌液に添加した。試料菌液の凍結は1日間行い-30℃区（凍結保存区）とした。対照に1日間5℃保存した5℃区（冷蔵保存区）を設け、増殖抑制効果を確認した。

### 3. 実験結果

A：大腸菌が増殖を開始した時間は凍結日数1日で9時間、14日で約10.5時間であり大きな差はなく、単なる凍結日数の延長では凍結損傷による回復を抑制する事は出来なかった(図-1)。やはり、他の微生物制御技術を併用し損傷回復を抑制する必要がある事が認められた。

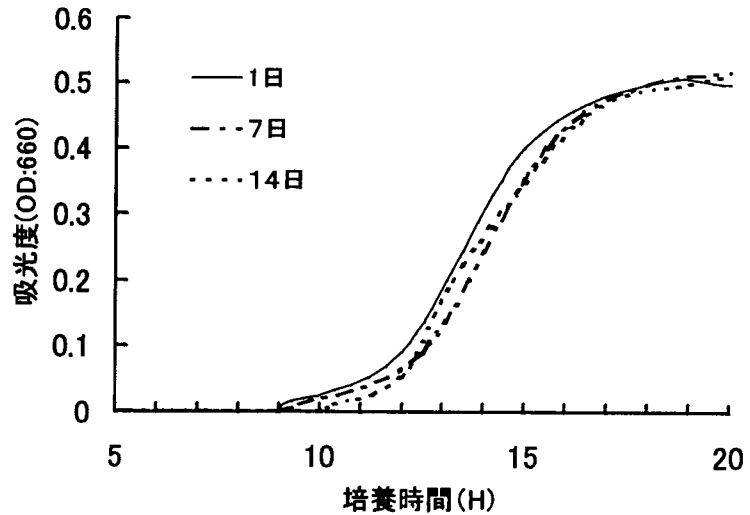


図-1凍結日数と大腸菌増殖抑制効果

B：ホタテCaとの併用試験では、対照の0.05%添加5℃区で増殖開始時間は約22時間であるのに対し、0.05%添加-30℃区では約48時間に延長することができ、増殖抑制効果が認められた(図-2)。ホタテCa

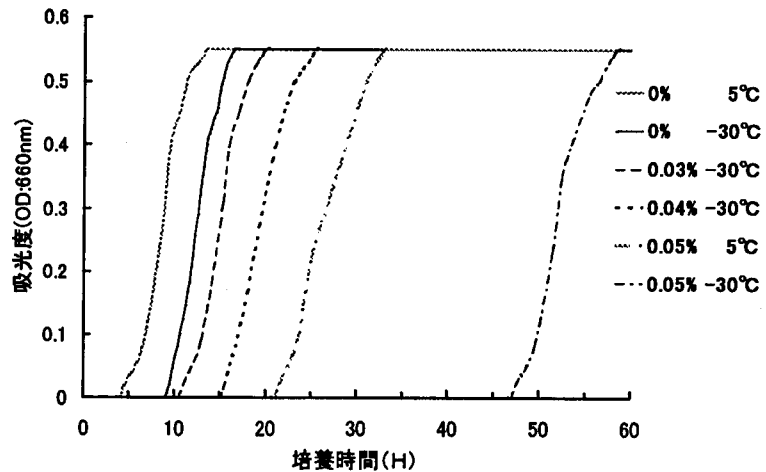


図-2 凍結とホタテCaを併用した大腸菌増殖抑制効果

の添加率が0.03、0.04%ではほとんど抑制効果が無かったのに対し、0.05%では大きな抑制効果が得られた。このことから添加率と抑制効果は、添加率の上昇と共に抑制効果が徐々に向上するのではなく、ある一定の添加率を境に一気に効果を発揮する関係にあると考えた。また5℃の冷蔵保存で同様の効果を得るためには添加量の増加が必須となるため、併用処理は抗菌性物質の減量化にも寄与する事が示唆された。

### 4. 平成13年度計画

水畜産加工食材を用い、凍結処理と抗菌性物質を併用した増殖抑制効果について検討する。



## 発酵食品製造用酵母の乾燥スターター化に関する研究 (H12～14)

発酵食品部発酵食品科 田村吉史 柿本雅史 富永一哉 田中常雄

### 1. 研究の目的と概要

酵母によって作られている発酵食品を安定に作る場合、酵母の添加と培養管理は不可欠である。製造に使用される酵母を乾燥スターター化することで、これらに関わる労力の低減とコストダウンが可能となる。本年は味噌用酵母のドライスターターの生菌数向上を主に検討した。味噌用酵母である耐塩性酵母ドライスターターの基本特許はすでに取得済みである(特許公開 2000-245439)が、改良の余地がいくつかある。生菌数の向上とパイロットスケールによる製造法の確立である。ドライスターター技術が確立すると、現在酵母に添加を行っていない工場では、手軽に酵母添加が行えるようになり、香りの高い製品が作れる。現在酵母添加を行っている工場においては培養管理から解放され、省力化が図られる。耐塩性酵母のドライスターターの実用化により、当センターが保有する酵母の乾燥スターター化技術が充実し、得意分野として確立される。乾燥酵母製造可能な工場は日甜清水工場だけであり、この点からも本道企業の発展につながる。

### 2. 試験研究の方法

酵母は、株式会社菱六所有の *Zygosaccharomyces ruxii* M2 株を用いた。

糖蜜培地組成は、糖蜜(日本甜菜糖(株)製) 15g、尿素 0.5g、ポリペプトン S 2g、NaCl 100g、純水 100ml、pH は無調整とした。塩分添加量による影響を検討する場合は、糖蜜培地組成中の NaCl を 0, 2.5, 5, 7.5, 10% に変化させた。ポリペプトン S の場合は無添加培地として糖蜜培地中のポリペプトン S を除いた。糖蜜流加による影響では、培養 2 日目に 7.5g の糖蜜添加区、初期糖蜜量 22.5g 区を設定した。

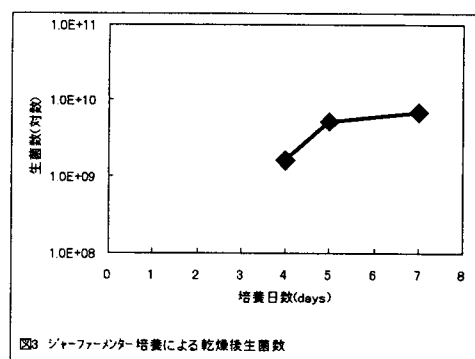
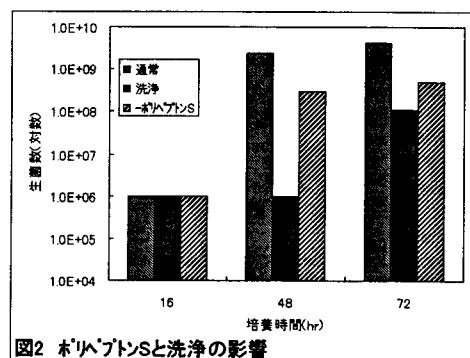
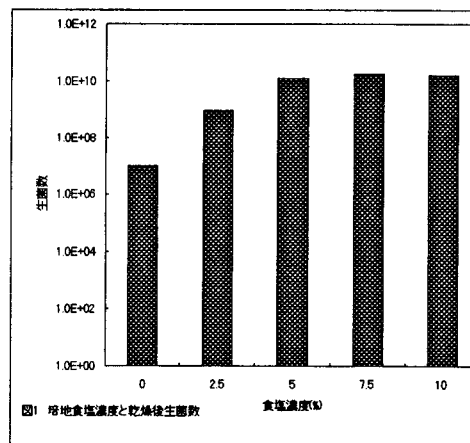
培養は 500ml 容バッフル付き三角フラスコに培地 100ml を入れ、振とう培養器により 150rpm、30℃ によって行った。また 4L ジャーファーマンターの場合は、培地 3L に消泡剤としてアデカノールを 0.1% 添加し、30℃、150rpm、1VVM によって行った。

乾燥スターターの作成方法は、培養液を遠心分離(5000rpm、10分)により上澄を除去し、濾紙による圧縮脱水によって酵母ケーキを作成する。これを約 1mm のメッシュを通して粒状に加工し、低温下で乾燥させスターターを作成した。

### 3. 実験結果

培地中の食塩濃度の影響を検討したところ、培養には食塩濃度が低い方が良いが乾燥後の生菌数を維持するには高塩分による培養が必要であった(図 1)。味噌用酵母の培養には通常生醤油培地や味噌エキス培地などが用いられている。糖蜜培地においても添加しているポリペプトン S 無しでは培養時に若干菌数が低くなり、乾燥するとその差はさらに広がる。生醤油、味噌エキスに変わる培地成分としてポリペプトン S は重要な成分であり培養ばかりでなく乾燥においても欠かせないものである(図 2)。培地中の糖分はポリペプトン S の有無による菌数増加による影響を若干受けるものの、48 時間後には単糖はなくなっていた。48 時間後には糖切れを起こしている状態となり、その後も糖がないまま培

養を続けたことになる。培養時の菌数は若干低下しているにもかかわらず、乾燥後の生菌数では糖切れしたまま培養を続けた 72 時間後の方が高い値を示している。培養液中の糖分が無くなった 48 時間後に糖を追加添加し 72 時間後に培養を終了させて菌を回収する方法で培養を行った。通常培養区と初期段階から添加する分の糖量を添加した区を対照とした。培養終了時菌数は、追加添加区が最も多く、初期添加区、通常培養区であった。乾燥後菌数は追加添加区、通常培養区、初期添加区の順となった。乾燥後の生菌数の差は培養時生菌数の差よりも大きく、糖の追加添加がドライスターターの生菌数向上に寄与することを示している（図省略）。培養後の菌体洗浄は図 2 に示しているように著しい菌数の低下を起す。洗浄によってスクロースが菌体表面から無くなることにより乾燥ダメージが大きくなったことと、洗浄により菌体内に蓄積されたトレハロースが減少したことが原因と考えられる。この結果、耐塩性乾燥酵母を高い生菌数を持ったドライスタータにするためには、食塩 10%、ポリペプトン S を含む糖蜜培地を用い流加培養し、菌体内トレハロース量を高め、菌体洗浄しないで、乾燥化することが重要であることが解った。



4L ジャージャーメンターではフラスコ試験で得られたような生菌数を持つドライスターターが出来なかった。ジャーファーメンター培養ではジャー内に空気を送り込んでいるため、泡が立つのを抑えなければならない。泡は排気口を詰まらせ培地の逆流を引き起こす。そのためジャーファーメンター培養では消泡剤を 0.1%添加した。この条件で 3 日目に培養を終了し乾燥すると生菌数は著しく低い。そこで培養期間を長く設定し菌数の推移と乾燥後菌数の推移をみた(図3)。乾燥後生菌数では、培養期間が長いほど高い菌数となっていた。しかし  $10^{10}$  個/g 以上の菌数にはなっていない。消泡剤の添加により全く泡は立たなくなったが、同時に培地中の溶存酸素量不足を起こした可能性がある。これがフラスコ試験と同様の結果が得られなかった要因と考えられる。

#### 4. 平成 13 年度の計画

耐塩性酵母の無塩培養乾燥技術の検討

下面発酵ビール酵母の培養法と乾燥法の検討

## 1. 研究の目的と概要

ゆらぎ制御は、快適性を付与したり省エネルギー化する目的で、家電製品等において実用化されている。ゆらぎ制御を食品加工機械に適用できれば、省エネルギー化の可能性や機械を使用して効率的な生産を行いながら、天日乾燥や手ごねに近い品質が得られる可能性がある。本研究は、食品の加工機械の制御にゆらぎ制御を応用することを試み、そこから得られる試料の品質について検討することを目的とする。

今年度は、通風乾燥機への応用について検討し、制御方法の検討と制御装置の製作を行った。乾燥対象として肉を用い、乾燥の基礎的データの収集を行った。

\* 予定される成果

- ・ ゆらぎ制御技術の食品分野への利用技術の開発

## 2. 試験研究の方法

通風乾燥機は、恒温室 (W2.8×D2.2×H2.3m) 内部に送風機 ((株) ヤナギヤ CF-80 軸流式 羽根直径 0.76m) と風洞 (W1.1×D0.8×H0.8m) を置き、構成した。送風機の回転速度は、インバータ (富士電機製 FVR0.75E11S-2) の周波数を設定することで調整した。周波数の設定は PC を用いて行い、20、30、40、50Hz の固定の場合と 20～50Hz 間のゆらぎ制御とを設定した。風速は、風速計 ((株) カスタム CW-20) で風洞の中心部と周辺部で平均風速を測定し、それらの平均値を測定値とした。(通風乾燥機構成 図1参照)

乾燥試料として、牛肉 (乳用廃用牛の半腱様筋) を用いた。試料は、筋繊維に平行に 2×2×5cm の角柱状に切出し、塩漬液 (食塩 8.00w/w%、亜硝酸Na 0.06w/w%) に5℃の環境で3日間浸漬した後、試験に供した。恒温室内部環境は、サラミ等の肉の乾燥を想定し、17℃・75%RH に設定した。試料は、羽根から1mの距離で風洞の底部から0.5mの高さにある金網 (10mm メッシュ) の上にのせた状態で乾燥させた。

試料の評価は、乾燥開始後 24、48、72 時間の肉の乾燥物について含水率と硬さについて行った。含水率は試料表面部 (厚み約 2mm)、試料中心部と試料断面部について乾燥法 (105℃) で測定した。硬さはレオメータ (サン科学 CR220D) を用いて測定し、3mm 圧縮した時の荷重を硬さとした。

## 3. 実験結果

図2にインバータ周波数と平均風速の関係を示した。周波数の増加に伴い風速は比例して大きくなった。周波数 20～50Hz の間でゆらぎ制御を行った場合、平

均周波数は 32.6Hz で平均風速は 2.9m/s となり 30Hz の値とほぼ同じ値となった。

図 3 にインバータの設定周波数と乾燥物の硬さの関係を示した。ゆらぎ制御の場合、48、72 時間後の硬さについて周波数固定の場合に比べて柔らかい傾向が見られた。周波数固定の場合、72 時間後の硬さについては、周波数が高いほど柔らかい傾向が見られたが、24、48 時間後については差は見られなかった。

図 4 に乾燥物の断面部と中心部の含水率の関係について示した。24、48 時間後ではいずれの含水率も周波数の違いや制御方法の違いによる差は見られなかった。72 時間後では、20、30、40Hz の含水率はほぼ同じ値であったが、50Hz とゆらぎ制御の場合は含水率はやや高めの値となった。図示していないが、表面部の含水率は周波数や制御方法に関係なく乾燥時間毎にほぼ一定の値であった。

50Hz の場合、試料表面部の水分蒸発が急速に進むことで厚い乾燥領域が形成され、内部からの水分移動が妨げられることで含水率が高いと考えられた。ゆらぎ制御の場合、平均風速は 30Hz とほぼ同じであったが、含水率の数値は 50Hz に近いことから、蒸発能力は 50Hz に近いものがあると考えられた。しかし、48、72 時間後の硬さでは、50Hz とゆらぎ制御との間に差が見とめられ、内部の水分分布や乾燥した組織の状態に違いがでている可能性があると考えられた。

#### 4. 平成 13 年度計画

##### 通風乾燥機への応用検討

(大きな試料の乾燥試験、ゆらぎ幅の設定など制御方法の検討)

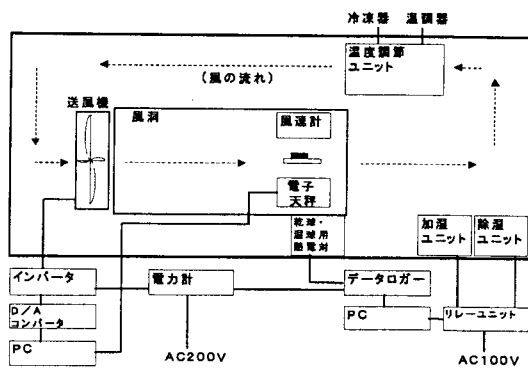


図 1 通風乾燥機の構成

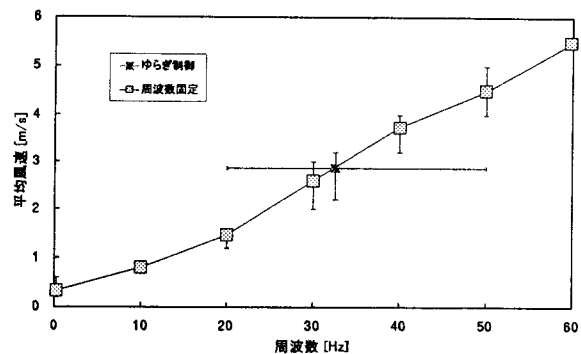


図 2 周波数と風速との関係

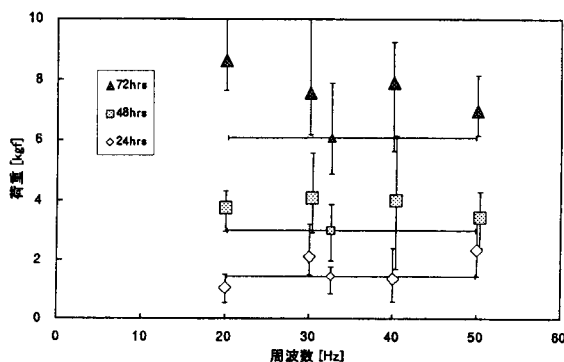


図 3 周波数と乾燥物の硬さとの関係

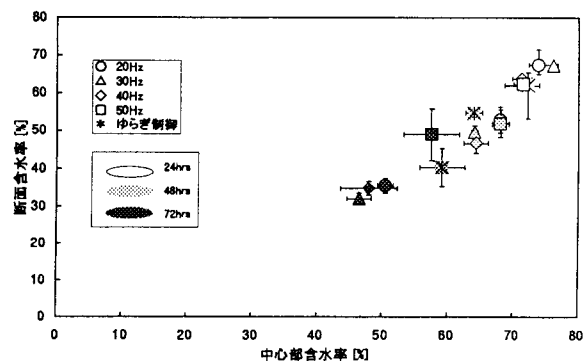


図 4 乾燥物の断面・中心部の含水率の関係

## 1. はじめに

官能評価の「香り」は主要な品質構成要素の一つである。現在「香り」の測定は人間の官能検査によって行われるのがほとんどである。官能評価は、再現性の問題、官能試験を行う手間などの問題がある。本試験では、におい識別装置を用いて「香り」を客観的に評価する事を目的とする。今年度は米を供試材料とした。米は、日本人にとって馴染みがあるため官能評価が他の食品に比べ容易であること、また、食味計により官能評価が数値化されているが、現在市販されている機器では香りの項目は考慮されておらず、研究段階であること、などの理由から本試験に供した。精白米の測定条件の調査、測定日間変動の調査を行った。

### 【実用または予定される効果】

- ・「香り」の客観的評価方法の確立
- ・官能値の「香り」の推定方法の確立

## 2. 実験方法

供試材料は「きらら397」の玄米を搗精して用いた。搗精歩留を調整し、糠臭の違いを調査した。測定は、精白米 20g をポリエステル製のサンプリングバッグに入れ、高純度の窒素ガスを封入し、サンプルバッグ内に、におい成分を飽和させ、においガスとして測定に供した。測定は1サンプルにつき4回繰り返して行った。また、測定日間変動を調査するために、0.25%酢酸溶液 250 $\mu$ l を用い同様の手順で測定に供した。装置による測定は、島津製作所製、におい識別装置 FF-1 を用いた。この装置は前処理部と検出部に分かれ、前処理部には捕集管が、検出部には6個の酸化物半導体センサが装備されている(図1)。前処理部では、本体に吸入されたにおいガスの、濃縮、乾燥、検出部への加熱追い出しが行われる。検出部では、においガスの吸着によって起こる、酸化物半導体センサの電気抵抗値の変化を測定する。この抵抗値を用いて、以下の式により測定値を算出した。

$$M = -\log(R/R_b) \quad M: \text{測定値} \quad R: \text{測定中の最小電気抵抗値} \quad R_b: \text{ベース電気抵抗値}$$

測定値は6個の各センサについて算出した。すなわち、1サンプルにつき6個の測定値が得られることになる。サンプルの比較を容易にするために、これらの測定値を用いて主成分分析を行い、その結果を2次元グラフ上に表示した。

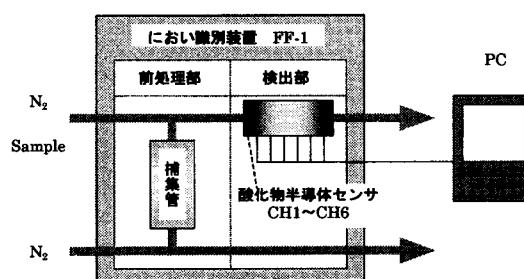


図1 におい識別装置 FF-1 の構成

### 3. 実験結果

表1に、におい識別装置による精白米の測定値を示した。各サンプルの測定値は4回の測定の平均値を示した。また、各測定値の主成分分析結果を図2に示した。搗精歩留ごとに、グループ分けでき、糠臭の識別が出来た。主成分分析のScore1には糠臭の強さに対応していると思われた。また、表1の結果より各サンプルには最大0.10(-log(R/Rb))程度の測定日間変動が認められた。

表1 におい識別装置による精白米の測定値

測定日	搗精歩留	CH1	CH2	CH3	CH4	CH5	CH6
8/30	88.0%	1.59	1.43	1.26	0.55	1.19	1.00
8/30	92.2%	1.91	1.65	1.53	0.68	1.38	1.26
8/30	93.6%	2.04	1.73	1.61	0.73	1.47	1.40
8/31	88.0%	1.61	1.47	1.24	0.59	1.22	1.09
8/31	92.2%	1.87	1.65	1.46	0.69	1.37	1.32
8/31	93.6%	1.99	1.72	1.54	0.75	1.45	1.44

そこで、安定な単一物質であると思われる酢酸を調整し、同一サンプルについて測定日を変えて測定を行った(表2)。その結果、同一サンプルの測定においても、測定日変動が認められた。測定日変動は、校正を行うことで補正可能であると思われる。校正に用いる物質は、安定な単一物質で、対象となる試料の香り成分に含まれる物質を用いることで、より適正な校正が行われると予想される。

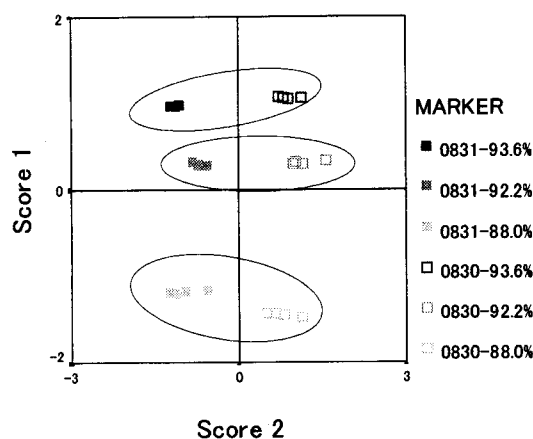


図2 精白米測定値の主成分分析結果

表2 におい識別装置による酢酸の測定結果

試料作成日	測定日	CH1*	CH2*	CH3*	CH4	CH5*	CH6*
10/5	10/5	1.04	1.12	0.87	0.54	0.82	0.71
10/5	10/6	1.10	1.16	0.93	0.54	0.88	0.76

※各チャンネルの\*は、t検定により危険率5%で測定日間に優位差が認められたチャンネルであることを示す。

### 4. 平成13年度計画

校正方法の検討

測定結果、官能評価間の相関調査

応用技術部生物工学科 長島浩二 川上 誠 中川良二 奥村幸広

## 1 研究の目的と概要

北海道の水産未利用資源の一つであるサケ・マスの皮を有効利用するために、これに含まれるコラーゲンおよびその分解酵素の一次構造を明らかにすることを目的としている。これまでに、北海道大学および当センターのグループは、サケ・マス皮コラーゲンの人工皮膚素材としての有効性を示した。また、当センターと(株)ニッピコラーゲン工業の共同研究により、同ゼラチンの新規食品素材としての可能性が示されている。本年度はシロサケ Type I コラーゲン・ $\alpha 2$  サブユニット (sCOL1A2) 全長 cDNA の取得を達成し、現在塩基配列を決定している。

< 実用又は予定される成果 >

- ・サケ皮コラーゲンの修飾やペプチド製造での利用。

## 2 試験研究の方法 (図 1 参照)

### (1) sCOL1A のヘリックス領域 cDNA 断片のクローニング

既知 COL1A の塩基配列からヘリックス領域の一部を増幅する縮重プライマーを設計し、シロサケ稚魚由来 cDNA を鋳型として PCR を行った。得られた増幅産物は pGEM-T ベクター (Promega 社) に連結後、大腸菌 XL1-blue に導入し、クローニングした。塩基配列はダイターミネーター法により決定した。

### (2) sCOL1A2 の 5' および 3' 末端領域 cDNA のクローニング

sCOL1A2 のヘリックス領域 cDNA 断片の塩基配列および C-ペプチド領域 cDNA 断片の塩基配列 (H11 年度事業報告参照) を基に 5'RACE および 3'RACE 反応を行い、それぞれ sCOL1A2 の 5' および 3' 末端領域 cDNA をクローニングした。

### (3) sCOL1A2 の全長 cDNA のクローニング

sCOL1A2 の 5' および 3' 末端 cDNA の塩基配列を基に LA-PCR を行い、sCOL1A2 の中間領域 cDNA 断片をクローニングした。RACE 反応で得られた DNA 断片と合わせて sCOL1A2 の全長 cDNA とした。

## 3 実験結果

COL1A のヘリックス領域の一部を増幅する縮重プライマーを用い、シロサケ稚魚由来 cDNA を鋳型として PCR を行った結果、約 170bp の DNA 断片が増幅された。この DNA 断片を大腸菌にクローニングし、16 クローンの塩基配列を解析したところ、10 クローンにコラーゲン関連 cDNA が含まれていた。すなわち、Type I コラーゲン  $\alpha 2$  サブユニット ( $\alpha 2$  [I] と略す) cDNA と思われるものが 1 クローン、 $\alpha 1$  [I] が 3 クローン、 $\alpha 1$  [II] が 4 クローン、 $\alpha 1$  [XIII] が 1 クローン、 $\alpha 1$  [XV II] が 1 クローンであった。本研究で用いた縮重 PCR 法は、各種生物由来コラーゲン遺伝子のクローニングに応用でき、コラーゲンの比較生物学的研究にとって有用な方法である

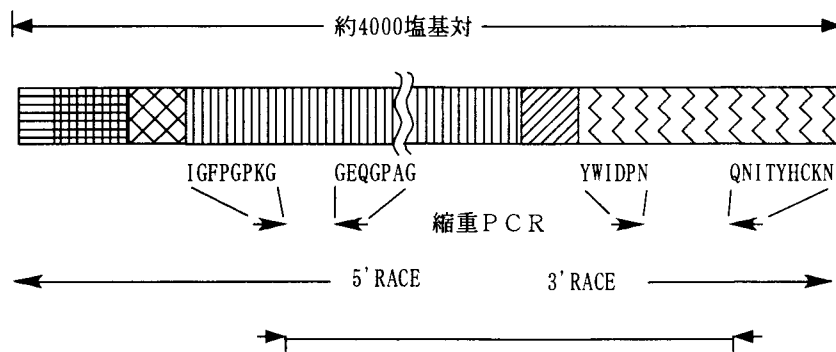








図1 シロサケコラーゲンcDNAの遺伝子増幅法(PCR)によるクローニング  
縮重プライマーの設計に用いられたペプチドのアミノ酸配列が示されている。  
IGFPGPKG, GEQGPAG, YWIDPN, QNITYHCKNはそれぞれヒトCOL1A2の  
アミノ酸番号492-499, 544-550, 1178-1183, 1266-1274に相当する。

 Signal peptide   
  N-propeptide   
  N-telopeptide  
 Helical domain   
  C-telopeptide   
  C-propeptide

と思われた。

今回新たに解析されたシロサケCOL1A2ヘリックス領域部分アミノ酸配列(45アミノ酸残基)とニジマス、カエル、イヌ、ウシ、ヒト、ネズミのそれらと比較した結果、それぞれ98, 67, 60, 58, 60, 58%のホモロジーが観察された。

昨年度報告したCOL1A2・C-ペプチド領域部分アミノ酸配列(82アミノ酸残基)の比較では、ホモロジーはそれぞれ100, 63, 68, 69, 68, 62%であった。これらの結果は表1にまとめた。C-ペプチド領域は成熟コラーゲンには存在しない領域である(コラーゲン分子の成熟過程で切り取られる)が、ヘリックス領域と同程度の保存性を示しており、C-ペプチドが何らかの重要な生理的役割を果たしている可能性を示唆している。

「試験研究の方法」の項で述べたように、縮重PCRによって得られたsCOL1A2のC-ペプチド領域とヘリックス領域部分塩基配列に基づいて5'RACEおよび3'RACE反応を行い、sCOL1A2の5'および3'末端領域cDNAをクローニングした。さらにこれらの塩基配列を基にsCOL1A2の中間領域のcDNAをクローニングした。現在、全長の塩基配列を決定している。

#### 4 要約

縮重PCRとRACE反応の組み合わせにより、シロサケTypeIコラーゲン・α2サブユニットの全長cDNA

をクローニングした。縮重PCRとRACE反応を用いたコラーゲンcDNAのクローニング法は各種生物のコラーゲン遺伝子解析に有用な方法であると考えられた。

表1 シロサケを含む各種生物間のCOL1A2ヘリックス領域およびC-ペプチド領域部分アミノ酸配列のホモロジー

	C-ペプチド領域ホモロジー%						
	1	2	3	4	5	6	7
1. ネズミ		82	79	80	61	62	62
2. ヒト	91		89	91	69	68	68
3. ウシ	93	91		93	69	69	69
4. イヌ	91	100	91		69	68	68
5. カエル	67	71	69	71		63	63
6. ニジマス	58	60	58	60	69		100
7. シロサケ	58	60	58	60	67	98	
	ヘリックス領域ホモロジー%						



## 1 研究の目的と概要

乳酸菌は腸内菌叢に影響を与え、腸内腐敗の抑制効果のあることが示され、老化防止や抗癌など健康維持に役立つと考えられている。乳酸菌の腸内腐敗の抑制機構にはいくつか考えられているが、その中の一つに腸上皮細胞表層での病原性細菌との付着の競合がある。この付着には、乳酸菌の持つタンパク因子の関与が動物由来の *Lactobacillus acidophilus* などでも報告されている。本研究は、植物性発酵食品由来乳酸菌の腸内付着因子の検索および機能を調べることを目的としている。研究最終年度の本年は、本研究により得られた乳酸菌の腸内腐敗に対する抑制効果として、大腸菌 0-157 の腸管付着阻害をヒト腸上皮培養細胞株 Caco2 を用いて試験するなど幾つかの性質を調べた。

[実用又は予定される成果]

- ・植物性乳酸菌の腸内腐敗抑制効果の示唆
- ・本菌の漬物や味噌製造用スターターとしての利用展開

## 2 試験研究の方法

乳酸菌の分離：玄米沢庵漬、野沢菜塩漬、セロリ粕漬、朝鮮漬から MRS 寒天培地を用いて分離した。

赤血球凝集反応：赤血球はウサギ血液を PBS で遠心洗浄し、調製した。試料液の 1/2 希釈系列に赤血球を加えて混和し、37℃で 30 分間放置後、凝集を判定した。

膜タンパク質の抽出と精製：菌体を遠心分離により回収し、PBS で遠心洗浄した後、5M グアニジン塩酸塩で、37℃、5 時間反応させた。遠心分離後、上清を蒸留水で透析した。活性因子はイオン交換クロマトグラフィーにより部分精製した。

Caco2 への乳酸菌付着：Caco2 細胞を 37℃の CO<sub>2</sub> インキュベーター (5% CO<sub>2</sub>) で 2 週間培養後、核酸結合性を有する蛍光剤を用いて染色した細菌を加え (最終濃度 0. D<sub>660</sub>=0.02)、37℃、30 分間培養した。培地を除き、PBS (+) で洗浄後、蛍光顕微鏡で観察した。細胞付着細菌数は、顕微鏡下での菌数をカウントし算出した。

## 3 実験結果

腸細胞付着因子を検索する第一段階として、赤血球凝集能を有する乳酸菌の分離を試み、上記漬物類から 3 種の乳酸菌を得た。これら乳酸菌は 16S rDNA 配列に基づいた同定によって、2 種は *L. sake*、残りの 1 種は *L. plantarum* の近縁種と推定した。これら乳酸菌は蛍光顕微鏡による観察から、対照として用いた *L. acidophilus* と同様にヒト腸由来細胞である Caco2 細胞に付着することが認められ、漬物由来の乳酸菌が腸細胞付着因子を有すると考えられた。

*L. plantarum* の近縁種と推定された乳酸菌の付着因子を部分精製し、本標品の

赤血球凝集に対する糖あるいは糖タンパク質阻害試験を行った結果、本因子は単純糖にはほとんど親和性を示さず、僅かにフェツイン、アシアロフェツインに対して親和性を示すことが明らかになった。

Caco2細胞に乳酸菌と同量の大腸菌 0-157 (H7、毒素陰性株) を加え、乳酸菌の付着菌数を測定した (図1)。 *L. acidophilus* では、付着数が約 70% 減少したが、漬物由来乳酸菌では約 30% の減少にとどまった。しかし、顕微鏡写真の結果から、0-157 に比べ乳酸菌の付着数がかなり多いことが解った (図2)。腸の中に常在する腸内細菌にとって、腸の運動や食物の流れに抗して腸内にとどまることは重要であり、腸壁への付着は腸内細菌にとって死活問題である。従って、本乳酸菌が Caco2 細胞付着において大腸菌 0-157 と拮抗的であるか今のところ明らかではないが、付着菌数が多いことから、少なくとも乳酸菌に一般的な酸産生などによって漬物由来乳酸菌が腸内腐敗に有効に働くと考えられた。

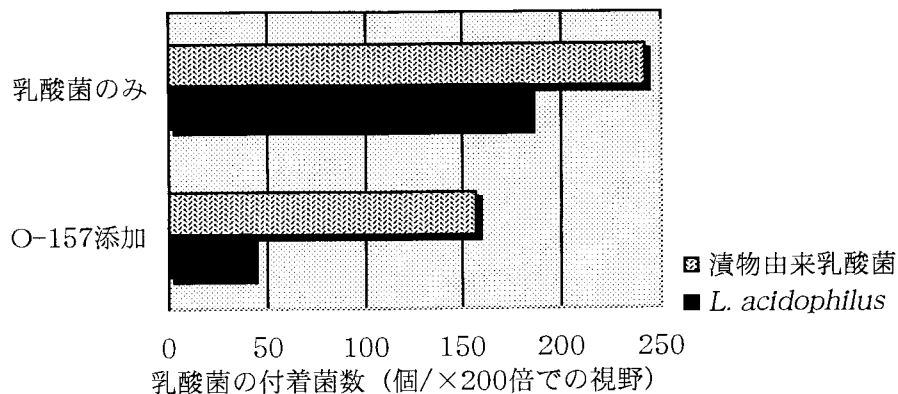


図1. 乳酸菌のCaco2細胞付着に対する大腸菌O157の影響

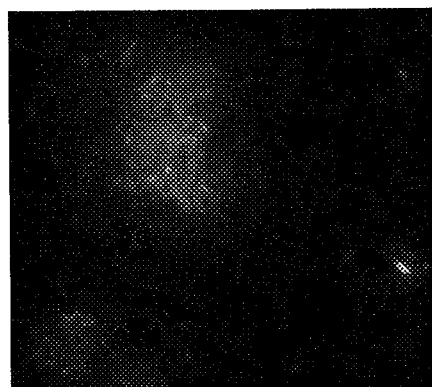


図2. 乳酸菌と大腸菌 0-157 の Caco2 細胞付着の蛍光顕微鏡観察像 (400 倍)  
漬物由来乳酸菌は赤色蛍光、0-157 は緑色蛍光で標識

#### 4 要約

幾つかの漬物からヒト腸管由来細胞 Caco2 に付着する乳酸菌を分離した。本乳酸菌は腸内腐敗の抑制に効果があると考えられた。

## 1. 研究の目的と概要

最近、遺伝情報の蓄積により、これに基づいた微生物の同定が、簡易で短時間に行えるようになってきている。食品で広く利用されている酵母に関して、食品中の微生物相を解析することは、有用酵母の生育のモニタリング技術、あるいは汚染酵母の検出などの面からも重要である。

当センターではこれまで、食品産業に関連する酵母約20種類に関してミトコンドリア小リボソームRNA(mt-ssrRNA) 遺伝子の部分塩基配列解析を行っており<sup>1)</sup>、食品中の酵母を短期間で簡便に検出・同定する技術への発展が期待されている。

本研究では、食品関連微生物の遺伝情報の蓄積を目的とし、酵母(mt-ssrRNA) 遺伝子の解析を行い、分類・同定技術に利用できる情報の抽出を行う。今年度は、上記遺伝子の部分配列から、酵母の系統樹予測を行い、この部位に存在する遺伝情報について検討した。

実用または予定される成果

- ・食品中での酵母の生育モニタリング法の開発
- ・発酵食品中の汚染酵母の簡易検出

## 2. 試験研究の方法

実験に供した菌株は、(財)醗酵研究所の保存菌株のなかから、食品産業に関連する有用酵母および汚染酵母として知られる23株のType strainを使用した(表1)。これらの酵母懸濁液(10mM Tris-HCl, pH7.5)に最終濃度1%になるようにザイモリエース20T(生化学工業)を加え、35℃4時間処理したものを増幅の鋳型とした。プライマーは平成11年度と同じもの<sup>1)</sup>を使用し、PCRは94℃30sec、50℃30sec、74℃30secの36サイクルで行った。増幅産物は2%アガロースゲル電気泳動で解析し、明瞭な増幅産物が得られたものについては、マイクロスピナラムでDNA断片を精製し、塩基配列を決定した。塩基配列のアライメントおよび近接結合法による系統樹推定には、Clustal X Ver1.8を使用した。

## 3. 実験結果

得られた塩基配列について、Clustal Xにてアライメントを行った。属内および属間における塩基配列の相違度について検討したところ、属間では相違度が大きく、属内の相

表1. 供試菌株

#01 <i>Candida intermedia</i>	IFO 0761T	#13 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	IFO 1628T
#02 <i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>hansenii</i>	IFO 0083T	#14 <i>Saccharomyces bayanus</i>	IFO 1127T
#03 <i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>favryi</i>	IFO 0015T	#15 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IFO 10217T
#04 <i>Debaryomyces marama</i>	IFO 0668T	#16 <i>Saccharomyces pastorianus</i>	IFO 1167
#05 <i>Kloeckeraspora occidentalis</i>	IFO 1415T	(Type strain of <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> )	
#06 <i>Kloeckeraspora vineal</i>	IFO 1819T	#17 <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	IFO 1130T
#07 <i>Kluyveromyces lactis</i>	IFO 1090T	#18 <i>Zygosaccharomyces mellis</i>	IFO 1615T
#08 <i>Kluyveromyces marxionus</i>	IFO 10005T	#19 <i>Zygosaccharomyces bailii</i>	IFO 1098T
#09 <i>Kluyveromyces marxionus</i> (Type strain of <i>Kluyveromyces flagilis</i> )	IFO 1735	#20 <i>Williopsis saturnus</i> var. <i>murakii</i>	IFO 0897T
#10 <i>Pichia anomala</i>	IFO 10213T	#21 <i>Williopsis saturnus</i> var. <i>saturnus</i>	IFO 1069T
#11 <i>Pichia membranifaciens</i>	IFO 10215T	#22 <i>Williopsis saturnus</i> var. <i>saturnus</i> (Type strain of <i>Hansenula beijerinckii</i> )	IFO 0941
#12 <i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	IFO 10373T	#23 <i>Zygowillipsia californica</i>	IFO 0800T

表 2. 属内における塩基配列の相違度

Debaryomyces 属	Kluyveromyces 属	Saccharomyces 属	Zygosaccharomyces 属
#01 vs #02 0 (%)	#07 vs #08 4.4 (%)	#14 vs #15 1.8 (%)	#17 vs #18 1.6
#01 vs #03 1.3	#07 vs #09 4.4	#14 vs #16 0.4	#17 vs #19 2.1
#02 vs #03 1.3	#08 vs #09 0.2	#15 vs #16 1.6	#17 vs #19 2.5
Williopsis 属	Kloeckeraspora 属	Schizosaccharomyces 属	Pichia 属
#20 vs #21 0.7 (%)	#05 vs #06 4.1	#12 vs #13 20.1	#10 vs #11 31.9
#20 vs #22 0.7			
#21 vs #22 0			

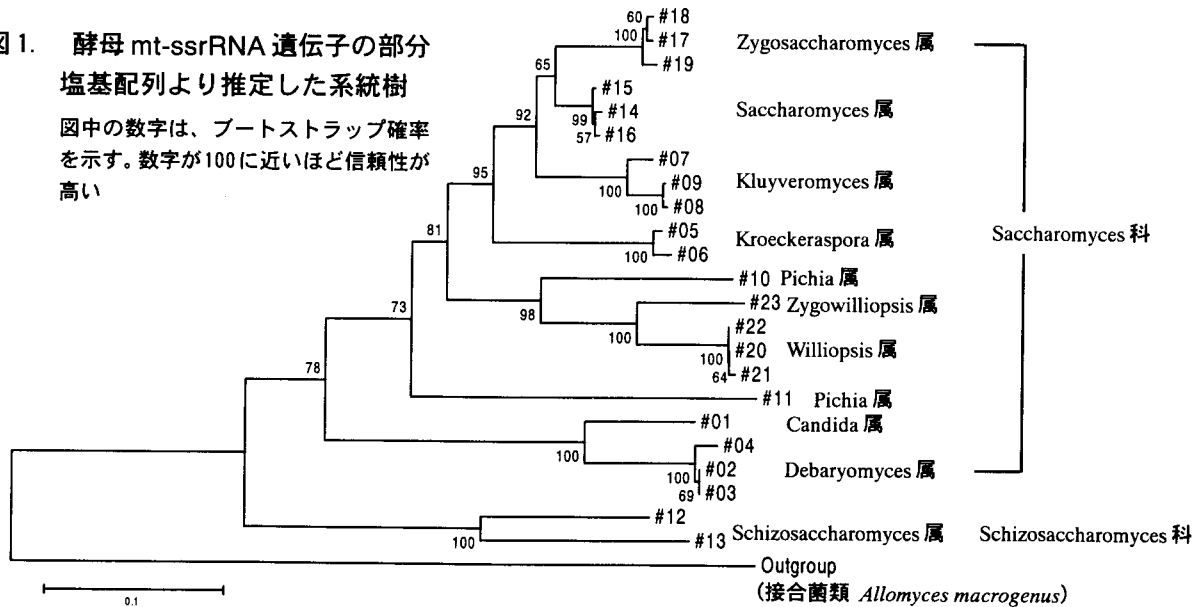
相違度(%) = 配列の異なる塩基数 / 比較した配列の合計

表 3. 属間における塩基配列の相違度

属名	Candida	Deb.	Klo.	Klu.	Pic.	Sac.	Sch.	Wil.	Zsa
Debaryomyces	14.9%								
Kloeckeraspora	31.9%	31.8%							
Kluyveromyces	32.5%	31.8%	18.9%						
Pichia	24.4%	22.8%	13.3%	13.5%					
Saccharomyces	29.2%	29.4%	14.4%	12.2%	9.9%				
Schizosaccharomyces	29.5%	29.6%	26.5%	30.5%	19.0%	28.6%			
Williopsis	32.9%	32.5%	24.9%	24.8%	10.7%	22.2%	27.9%		
Zygosaccharomyces	29.4%	29.5%	17.9%	14.5%	9.8%	9.5%	30.2%	23.3%	
Zygowilliopsis	35.9%	36.1%	26.3%	24.9%	12.9%	24.2%	28.2%	14.5%	25.0%

図 1. 酵母 mt-ssrRNA 遺伝子の部分塩基配列より推定した系統樹

図中の数字は、ブートストラップ確率を示す。数字が100に近いほど信頼性が高い



相違度は小さい傾向にあった(表 2, 表 3)。Pichia 属と Schizosaccharomyces 属では、他の属と比較して属内での配列の相違が非常に大きく、これらは異なる種に分類される可能性が示唆された。また、アライメントした配列より、近隣接合法で系統樹推定を行った(図 1)。その結果、属レベルの分類が明確な系統樹が推定できた。酵母の rRNA 遺伝子は、核内 18S および 26S rRNA 遺伝子に関して研究が進められているが、本研究で検討した mt-ssrRNA 遺伝子は、これらと比較しても属間での変動が大きく、酵母の属レベルあるいは種レベルの同定法として有用であることが示唆された。

#### 4. 平成 13 年度計画

酵母の簡易同定法としての有用性について、核内 rRNA 遺伝子解析との比較を行う

1) 北海道立食品加工研究センター平成 11 年度事業報告

## 1 研究の目的と概要

超強力小麦粉とは、カナダで1つの小麦銘柄として成立しているCanada Western Extra Strong Wheat (CWES)のような超強力小麦から得られる小麦粉のことである。この小麦粉はユニークな特徴を持っているため、カナダを中心に様々な研究が行われているが、日本では十分に検討されていないのが現状である。

本研究では、特徴的な超強力粉の性質を利用し、超強力粉そのものの新しい用途の開発、および超強力粉をブレンドすることにより用途が限定されている国産小麦の各種有効利用法を開発することを目的とする。今年度は、昨年に引き続き中華麺加工適性について検討を行った。また、麺類加工の展開として冷凍ゆで中華麺についても検討した。

## 予定される成果

(例)・超強力粉使用による高品質な麺類の開発

## 2 試験研究の方法

試験には、超強力粉として Wildcat (北海道農業試験場栽培品、テストミルによる60%粉)、国内産小麦としてホクシン(市販品)を、コントロールとして市販の中華麺用粉(外国産小麦)を用いた。

## (1) 中華麺加工適性の評価

ホクシンに種々の量の超強力粉をブレンドしゆでのびの効果を調べた。小麦粉100%、かんすい1%、食塩1%、水36%で製造した中華麺を用い、レオメーターにてゆで麺の切断試験を行った。

## (2) 冷凍ゆで中華麺の調製、評価

表の配合で製造した中華麺をゆで歩留まりが220%になるようゆでた後、ショックフリーザー(富士電機(株)USF16-2CAA)にて急速凍結を行い、冷凍後は-30℃で保存した。熱湯で45秒解凍後の麺を用いて切断試験を行い、冷凍麺を評価した。

## 3 実験結果

(1) ブレンド麺の切断強度の変化を図1に示した。ゆで直後の切断強度はブレンド比率の多少に関係なく、かなりのばらつきが見られた。10分後の切断強度(ゆでのびと考える)は、基本的にはゆで直後の切断強度

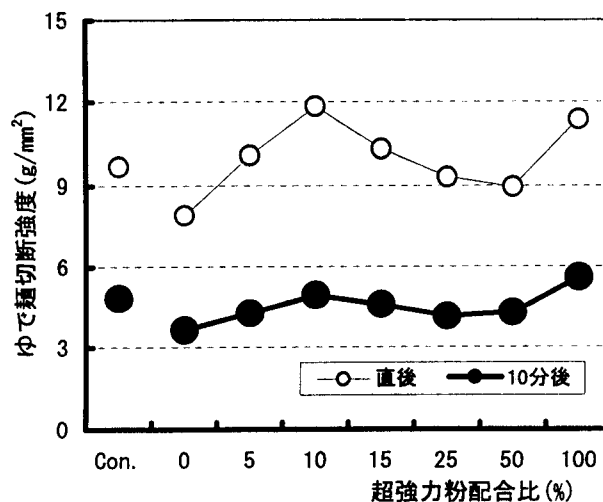


図1 ブレンド麺の切断強度の変化

と相関があるが、ブレンド比率の増加に伴い切断強度も高くなり、ゆで直後と10分後の変化の割合を考慮すると、ブレンド比率が25%以上であれば、ゆでのびには効果があると考えられた。

(2) ゆでのび抑制効果を利用するため、冷凍ゆで中華麺加工試験を行った。この試験の結果を図2と図3に示した。

生麺の切断強度と比較すると冷凍ゆで麺の切断強度は大きく低下した。冷凍麺のみに注目するとブレンド比率50%の麺(D)は、コントロールと比較して遜色なかった。ホクシンに添加物を加えたもの(B)とほぼ同じ値を示すことから、超強力粉による生地物性改良効果が表れたためと考えられた。

表 冷凍ゆで麺の配合(%)

	Con.	A	B	C	D
超強力粉	—	—	—	25	50
ホクシン	—	100	100	75	50
コントロール	100	—	—	—	—
かんすい	1	1	1	1	1
食塩	1	1	1	1	1
グルテン	1	—	2	—	—
卵白粉	1	—	1	—	—
水	35	35	36	35	35

\* 小麦粉を100としたときの比率

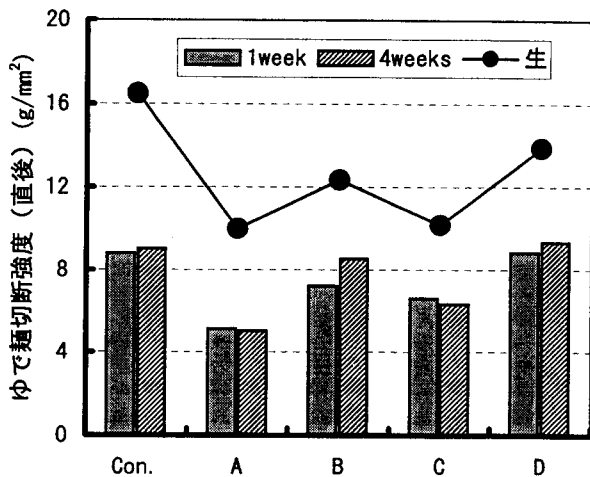


図2 冷凍麺解凍後の切断強度(直後)の変化

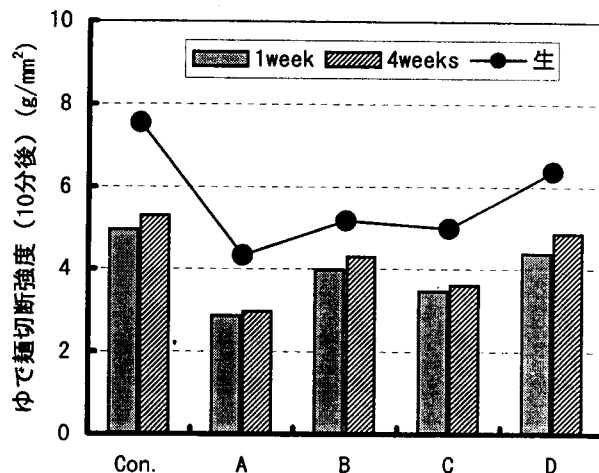


図3 冷凍麺解凍後の切断強度(10分後)の変化

#### 4 平成13年度計画

冷凍麺について継続して試験を行う。また、超強力粉はタンパク含有量が多いことから、パスタ、麩加工などへの利用についても検討を行う。さらに、超強力粉の化学成分に着目し、中華麺物性改良効果の基本特性を解析する。

(共同研究機関 北海道農業試験場)

加工食品部水産食品科 佐々木茂文、吉川修司、大堀忠志  
オホーツク圏地域食品加工技術センター 太田智樹

## 1. 研究の概要

北海道の沿岸域に生息する低利用海藻から健康機能に優れた素材を発掘し、機能性豊かな特産品の開発を目的として研究を行った。これまでの研究で褐藻類のエゾイシゲに糖尿病や肥満の予防に役立つ $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害成分の存在を見出し、その生理機能について種々検討を行ってきた。今年度はエゾイシゲの機能性を活かした食品開発を行うために、健康イメージの高い各種食品の試作を行い、その利用適性を検討した。

実用又は予定される成果

・糖尿病を予防・改善する新しい高機能食品の開発と海藻資源の利用開発

## 2. 試験研究の方法

### 1) エゾイシゲの採取、乾燥、細切、粉末化と食品の一般成分分析

三石郡三石町沿岸でエゾイシゲを採取し、天日乾燥した。乾燥したエゾイシゲを裁断機で約5mmに裁断し、約500g毎に真空包装し冷暗所で保存した。また、必要に応じて乾燥エゾイシゲをクロスビーターミルで粉碎し、粉末を調製した。一般成分分析は、水分は常圧加熱乾燥法、粗脂肪はソックスレー抽出法で、粗タンパク質はケルダール法で行った。

### 2) エゾイシゲを原料とした食品の試作

#### ① エゾイシゲ粉末の錠剤

エゾイシゲ乾燥粉末85%、結晶セルロース14%、ナタネ硬化油1%の割合で混合し、流動層造粒・乾燥を行って、直径9mmのプランジャーを使用し硬度3～5kg/cm<sup>2</sup>で錠剤厚4.1～4.2mmで打錠した。1錠当たり300mg錠剤を調製した。

#### ② エゾイシゲ抽出物のグミ状食品

水50ml、クエン酸2.5g、水あめ100g、グラニュー糖75g、ソルビトール2.5gをエゾイシゲ粉末500mgあるいは2.9gを鍋で2～3分煮詰め、沸騰直前に加熱を中止した。ゼラチン（AP-300, Lot No. 47, 宮城化学工業）17.5gと水25mlを30分間膨潤し、70℃で溶解した。それぞれ溶解したものを混合し、型に充填して冷蔵庫で17～20時間放置して凝固した。型から取り外し、コーンスターチを噴霧し、試作品とした。

#### ③ エゾイシゲの麺状食品

エゾイシゲ乾燥粉末を原料としてコンブ麺の製造方法に基づき麺状食品の試作を行った。すなわち、エゾイシゲ凍結細切物に炭酸ナトリウムと水を加え一夜静置した後、水400mlを加え、ポリトロンでペースト状にした。得られた溶解物を孔径2mmのノズル

の付いたスタッファーで水酸化カルシウム溶液(pH8)5Lに押し出し、10分間浸漬した。浸漬終了後、100℃で5分間加熱し水切りして麺状物を得た。また、粉末30gに1%炭酸ナトリウム溶液470mlを加えて一夜静置して水酸化カルシウム溶液(pH8)に押し出し、凝固した。

④ エゾイシゲ飲料

エゾイシゲ粉末2gに水、焼酎、50%エタノール、70%エタノールをそれぞれ50ml加え室温で3時間静置後、吸引ろ過してろ液を得た。この液を飲料の原液として用いた。

⑤ ドリンク状ゼリー

ゼラチン300mg (PS-5705、池田糖化工業)、エゾイシゲ粉末1g、水100mlを混合して1時間室温で膨潤攪拌した後、沸騰水浴で10分間加熱して冷却した。

3. 実験結果

① エゾイシゲの乾燥歩留まりと一般成分

エゾイシゲの乾燥歩留まりと一般成分分析の結果を表1に示す。生鮮重量 500kg を天日乾燥すると乾燥

	乾燥歩留まり		一般成分	
重量が 152kg になり、	採取重量	500kg	水分	16.1%
乾燥歩留まりは	乾燥重量	152kg	粗脂肪	3.8%
30.4%であった。昆布	乾燥歩留まり	30.4%	粗タンパク質	7.9%
の乾燥歩留まりは 16			灰分	18.1%
~17%であり、エゾイ			炭水化物	54.1%

シゲは昆布と比較すると2倍程度歩留まりが高く、利用上の優位性が示された。また、一般成分では炭水化物が54%を占め、次いで灰分が18%であった。昆布と比較すると炭水化物の占める割合が高かった。

② エゾイシゲ乾燥物を活用した試作品

エゾイシゲ乾燥物を利用した前記5種類の食品を試作した結果、色調や物性面で改良の必要性が若干認められたが、概ね利用上大きな問題点は見られなかった。また、機能面においても試作品には $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性が示され、加工による著しい機能性の低下が認められなかった。これらの試作結果からエゾイシゲを機能性食品素材として利用可能であることが明らかとなった。

4. 要約

エゾイシゲ乾燥粉末から5種類の食品を試作した結果、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有する健康性に優れた食品開発が可能であることが明らかとなった。

(共同研究機関：北海道大学水産学部、三石町)



## 赤ワインに含まれるリスベラトロール類緑物質を増やす研究 (H10~12)

発酵食品部発酵食品科 富永一哉 田村吉史 柿本雅史 発酵食品部 田中常雄

### 1. 研究の目的と概要

近年の赤ワインの消費量が急増は、赤ワインに多いポリフェノール類が心筋梗塞などの循環器系の疾患を防ぐという研究に基づいています。コレステロールが酸化して血管内皮へ沈着するのを、ポリフェノール類の一種であるリスベラトロール等が防いでいるのです。この事実を基に、北海道産ワインの成分を解析して、その魅力を明らかにしました。

リスベラトロール等はもともとブドウの皮に存在する物質で、果皮では糖質と化学的に結合した複合体(パイシード)を形成しています。醸造の過程でこの複合体が分解され、ワインに溶け出し有効成分となると見られます。そこで、この研究ではリスベラトロール及びポリフェノール類をより多く含んだ赤ワインの製造を目指します。ブドウ品種の選択や栽培方法を検討も加え、発酵や熟成方法を改善して、ワイン中での目的物質の含量をを向上させます。さらに、発酵法等の種々の条件による生成量の変化の検討して、ワイン中での抗酸化活性の発現を実証します。

#### 【実用または予定される成果】

- ・北海道産ワインの付加価値の増加
- ・国産ワイン中で道産ワインのシェアの拡大

### 2. 試験研究の方法

リスベラトロール及びパイシードの分析法は、簡便で鋭敏な HPLC 法に依りました。総ポリフェノールは、Follin-Ciocalteu 法で分析しました。抗酸化活性の測定は、DPPH ラジカル消去率を測定する方法を採用しました。 $\beta$ -グルコシダーゼ活性は、合成基質の分解を測定する方法に依りました。

### 3. 実験結果

供試した池田町産のワインについて、マロラクティック発酵 (MLF) によってリスベラトロール量が増加する傾向が明らかになりました。しかし、交配品種 IK は片親の Zweigeltrebe よりは高いリスベラトロール含量を持ちましたが、清見よりは低い値となりました。一方、総ポリフェノール量では優位に立つものもあました。ラジカル消去能を測定しますと、親株のブドウより高い値を示すものもあり機能性の高いブドウ品種が育種できたと言えます。実際、共同研究者はラジカル消去能が総ポリフェノール量と相関があるとしていて、新たな知見が得られました。MLF に関与している乳酸菌種 *Pediococcus acidilactici* と *Oenococcus oeni* に  $\beta$ -Glucosidase 活性を確認しましたが、市販されている MLF スターター乳酸菌における活性は明らかにできませんでした。直接に乳酸菌がリスベラトロー

ル増加させている証拠は得られませんでした。MLF 前後でのリスベラトロール量の変化と昨年の $\beta$ -グルコシダーゼ添加試験の結果から、乳酸菌の関与はほぼ間違いないと思われます。

表1 マロラクティック発酵前後のリスベラトロールと総ポリフェノール量

Variety	After alcoholic fermentation				After malolactic fermentation			
	Resveratrol (mg/L)			Total phenols (g/L)	Resveratrol (mg/L)			Total phenols (g/L)
	<i>trans</i>	<i>cis</i>	Total		<i>trans</i>	<i>cis</i>	Total	
Kiyomi	1.52±0.07	1.65±0.13	3.17	2.37±0.03	2.05±0.09	2.70±0.19	4.75	1.45±0.05
Zweigelt rebe	0.24±0.01	0.35±0.05	0.59	1.83±0.03	0.62±0.01	0.42±0	1.04	1.61±0.02
IK 574	0.65±0.09	0.43±0.11	1.08	1.62±0.03	0.85±0.10	0.63±0.05	1.48	1.32±0.01
IK 567	0.77±0.14	0.48±0.04	1.25	2.55±0.08	1.55±0.13	0.84±0.08	2.39	1.60±0.01
IK 594	0.47±0	0.54±0.05	1.01	2.34±0.03	0.77±0.01	1.09±0.05	1.86	1.87±0.05
IK 667	0.81±0.12	0.44±0.03	1.25	2.26±0.05	0.92±0.03	0.75±0.04	1.67	1.72±0.01
IK 612	0.47±0.02	0.45±0.01	0.92	2.32±0.05	0.83±0.07	0.85±0.08	1.68	1.77±0.02
IK 3197	0.37±0.04	0.29±0.04	0.66	2.26±0.03	0.21±0.04	0.44±0.06	0.65	1.73±0.02

Results are expressed as means ±SD of triplicate analyses.

表2 1997年産ワインの総ポリフェノール量とラジカル消去能

Variety	Must		After alcoholic fermentation		
	(g/L) <sup>a</sup>	(%) <sup>b</sup>	(g/L) <sup>a</sup>	(%) <sup>b</sup>	(%) <sup>c</sup>
Kiyomi	0.62	13.3	2.00	72.6	45.0
Zweigelt rebe	0.30	2.9	1.90	73.8	42.7
Wild Grape	1.34	33.0	1.72	57.0	31.8
Campbell Early	0.60	11.8	0.62	26.9	
IK 567	0.77	22.0	2.02	75.5	43.9
IK 3197	0.56	13.0	2.03	72.7	42.8
IK 4965	0.96	26.8	2.93	79.0	65.6
IK 556	0.68	10.6	2.05	61.9	37.8
IK 561	0.32	1.8	1.01	32.5	
IK 1424	0.34	1.5	0.83	30.7	
IK 589	0.31	7.7	0.79	25.3	
Pinot Noir	0.82	26.5			

<sup>a</sup> Total phenols.

<sup>b</sup> Scavenging activity (2-fold dilution of wine).

<sup>c</sup> Scavenging activity (4-fold dilution of wine).

#### 4. 要約

ワインの後熟発酵で活動する乳酸菌が産出する $\beta$ -Glucosidaseによって、ワイン中のリスベラトロールは増加する。一方、ワインのラジカル消去活性は、抗酸化能の高いリスベラトロール量よりは総ポリフェノール量に依存する傾向があり、池田町で育種した新たな品種はこの機能性のめんで優秀な品種であることが分かった。

共同研究機関：帯広畜産大学・生物資源科学科・応用生物科学講座、池田町ブドウ・ブドウ酒研究所

応用技術部生物工学科 長島浩二 川上 誠 中川良二 奥村幸広

1 研究の目的と概要

ホタテガイ漁業は、長年養殖による生産が進められ種苗に人為操作が加えられてきている。このような人為操作は生物集団の遺伝構造に負の影響を及ぼす可能性がある。すなわち、遺伝的に「似たもの同士」の集まりへと導く可能性がある。これは環境の変化への集団の適応力を失わせ、様々な弊害をもたらす結果となる。従って、遺伝的構造の解析は資源管理にとって必須なものとなっている。集団の遺伝構造解析技術としては今までアイソザイムを使った方法が一般的であったが、近年の分子生物学の発達により解像度の高い遺伝子解析方法が採用されつつある。本研究は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) を解析することによりホタテガイ集団の遺伝構造を明らかにすることを目的としている。

【実用または予定される成果】

- ・養殖ホタテガイの資源管理技術の確立

2 試験研究の方法

(1) ホタテガイ試料と全 DNA の調製

ホタテガイはサロマ産および青森産のものを用いた。ホタテガイ貝柱に Proteinase K を含む TNES-Urea 緩衝液を加えて 37℃ で 2 時間インキュベーションした後、フェノール・クロロホルム処理、エタノール沈殿により全 DNA を精製・回収した。多検体を処理する場合は、同様の緩衝液中で貝柱をインキュベーションした後、MultiScreen 96well Filtration plate (ミリポア社)を用いて回収し、

96well DNA Precipitation HL Kit (Edge Bio Systems)で精製した。

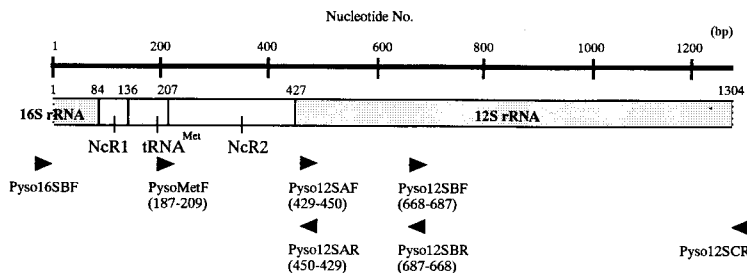


図1 日本ホタテガイミトコンドリアDNAの部分構造

(2) 部分 mtDNA の取得および NcR 領域の解析

ホタテ貝柱由来全 DNA を鋳型として、94℃・7 分の前加熱の後、98℃・20 秒、55℃・1 分、72℃・10 分の 35 サイクルで LA-PCR を行った。使用したプライマーは、既知貝類 mtDNA 間で保存されている塩基配列から設計された。NcR 領域の解析には、プライマーとして Pyso16SBF と Pyso12SAR (図 1) を用いて PCR を行った。塩基配列は、図 1 に示したプライマーを使用してダイターミネーター法により決定した。

### 3 実験結果

ホタテガイ部分 mtDNA を取得するため、サロマおよび青森産ホタテガイについて既知貝類 mtDNA 間で保存されているプライマーを用いて LA-PCR を行い、Pyso 16SBF と Pyso 12SCR のプライマーセットで約 1.3kbp の DNA 断片が増幅された。この DNA 断片の塩基配列を決定し、NCBI BLAST Server を用いてホモロジー検索あるいは、tRNAscan-SE Serch Server による構造解析を行った。その結果、本配列中に図 1 に示されているように 16SrRNA、tRNA および 12SrRNA 遺伝子がこの順序で並んで存在すること、また、それぞれの遺伝子の間には 51bp および 218bp の非遺伝子領域（それぞれ NcR1 および NcR2 と略記）が存在することが明らかになった。サロマ産および青森産それぞれ数個体についての 1.3kbp DNA の塩基配列解析結果は、NcR 領域に塩基配列の変異が集中していることを示したので、さらに各数十個体について NcR 領域の塩基配列を決定した。最終的に、総個体数 78 個体（サロマ産 40 個体、青森産 38 個体）を解析し、挿入・欠失を含めて 15 箇所に変異が見られ、17 系統の存在が確認された（図 2）。この 17 系統の内、10 系統はサロマ集団のみに 3 系統は青森集団のみに存在し、4 系統は、両地域に共通で存在していた。NcR における遺伝子多様度と塩基多様度を計算したところ、サロマ集

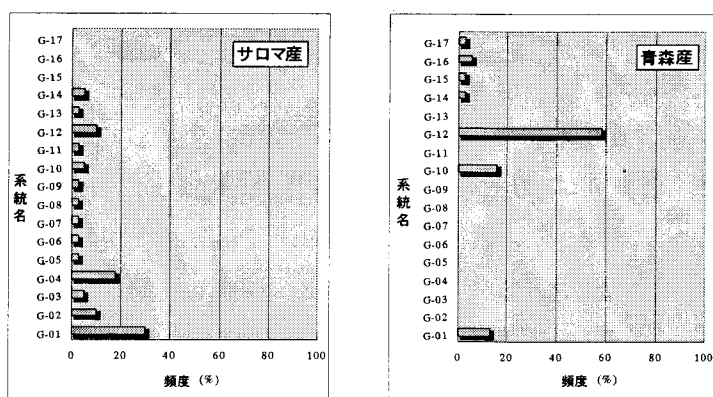


図 2 サロマおよび青森ホタテガイ集団の系統分布

団では 0.87 と 0.0069、青森集団では 0.63 と 0.0040 であった。以上の結果は NcR 領域が日本産ホタテガイ集団の遺伝的構造解析にとって有効な領域であることを示している。また、サロマ集団と青森集団の比較では、前者が遺伝的多様性に富んでいることが示唆された。

### 4 要約

日本ホタテガイ集団の遺伝構造解析技術を開発するため、PCR により部分 mtDNA を単離し構造解析を行った。本 DNA には 16SrRNA、tRNA および 12SrRNA 遺伝子がこの順序で並んで存在すること、また、それぞれの遺伝子の間には 51bp および 218bp の非遺伝子領域が存在することが明らかになった。非遺伝子領域は塩基配列の多様性に富み、その違いにより 78 個体が 17 系統に分類された。以上から、本非遺伝子領域が日本ホタテガイ集団の遺伝的構造解析にとって有効な領域であることが示された。

(共同研究機関：北海道ほたて漁業振興協会)

## 1. 研究の目的と概要

北海道ではホタテの水揚げ高から推察して年間20万トン以上のホタテ貝殻が発生している。しかし、貝殻の多くは有効に利用されず未利用資源となっており、その処理は大きな課題となっている。一部の道内企業では、ホタテ貝殻の有効利用を図るために加工処理をし食品添加物であるカルシウム強化剤を生産している。これらの商品は、用途開発が進まず販売規模は小さく、規模の拡大のための用途開発や高付加価値化を図る研究が求められている。

本研究は焼成ホタテ貝殻（以下ホタテCa）の抗菌効果に着目し、ホタテ貝殻カルシウム製剤の高付加価値化を目的とする。本年度は、食品汚染菌・食中毒菌などに対するホタテCaの抗菌力を明らかにすること共に、野菜の洗浄工程に応用した際の殺菌効果について検討した。

### 【実用または予定される成果】

- ・未利用資源であるホタテ貝殻カルシウムの有効利用化と用途・販売規模の拡大
- ・ホタテ貝殻カルシウムを利用した非加熱殺菌技術の開発

## 2. 試験研究の方法

### 1) 最小生育阻止濃度 (MIC) の測定

供試菌株はサルモネラ、黄色ブドウ球菌などの食中毒菌や食品の汚染菌として知られる細菌を用いた(菌株名は表1)。培養液は *Vivrio* には 1%NaCl 加 Nutrient Broth、*Lactobacillus*、*Leuconostoc* にはGYP培地、他の菌株には Nutrient Broth を使用した。抗菌性物質は市販ホタテCa製剤（北海道共同石灰製）を用いた。滅菌した培地7mlにホタテCa製剤を混合し所定濃度の培地を調製後、前培養した供試菌を約 $10^4$  cfu/mlになるように接種した。30℃で48時間振とう培養後、660nmの濁度を測定し生育が認められない最小の濃度を最小生育阻止濃度 (MIC) とした。比較対照のため、試薬用のCa(OH)<sub>2</sub>、CaO（共に99.9%,和光純薬社製）についても同様に測定した。

### 2) ホタテCaによるキャベツの浸漬試験

市販のキャベツを数cm大にカットし供試試料とした。試料重量の10倍容量のホタテCa製剤懸濁液に10、30分間浸漬した。殺菌効果は一般生菌数を測定し評価した。

## 3. 実験結果

ホタテCa製剤は、供試したサルモネラ、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、大腸菌O-157の食中毒菌株を含む、すべての供試菌に対し抗菌効果を示した。ホタテCa製剤のMICは、ほとんどの供試菌に対して概ね0.06~0.08%であったが、腸炎ビブリオに対しては0.11%とやや高い数値となった。対照と比較するとCa(OH)<sub>2</sub>

とはほぼ同等、CaOよりはやや劣る抗菌力であった。本ホタテCa製剤の主なカルシウム形態は水酸化物であることが想定され、これに起因する現象と考えた。さらに、ホタテCa製剤の数種の濃度について大腸菌を用い、振とう培養中の生菌数の推移を調べた(図1)。MICである0.07%では菌数減少の速度は緩慢であったが、0.1%では2時間で検出限界に近づいた。この事からもホタテCa製剤の濃度を上げると、細菌を短時間で殺菌する効果があることが示唆された。

0.15%以上の懸濁液にキャベツを30分間浸漬すると菌数は、1/100以下に低減し殺菌効果が認められた(図2)。また、ある一定濃度を超えると殺菌効果には差が無いことも確認できた。食品の日持ち向上効果の鉄則である初発菌数の低減化が可能となり、浅漬け用野菜やカット野菜などの洗浄殺菌工程への応用が期待される。

表1 供試菌株の最小生育阻止濃度(MIC%)

グラム陽性菌	試薬Ca(OH)2	試薬CaO	ホタテCa
<i>Bacillus subtilis</i> JCM1465	0.06	0.05	0.06
<i>Staphylococcus aureus</i> IFO12732 黄色ブドウ球菌	0.09	0.06	0.08
<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM1149	0.08	0.06	0.07
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> JCM6124	0.08	0.06	0.07
グラム陰性菌			
<i>Escherichia coli</i> JCM1649 大腸菌	0.06	0.05	0.07
<i>Escherichia coli</i> CR-3* 大腸菌O-157	0.06	0.05	0.07
<i>Escherichia coli</i> CE-273* 大腸菌O-157	0.06	0.05	0.07
<i>Salmonella enteritidis</i> IFO3313 サルモネラ菌	0.09	0.05	0.07
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> IFO12711 腸炎ビブリオ菌	0.11	0.08	0.11
<i>Enterobacter aerogenes</i> JCM1235	0.07	0.06	0.07

\*O-157は国立家畜衛生試験場分与株

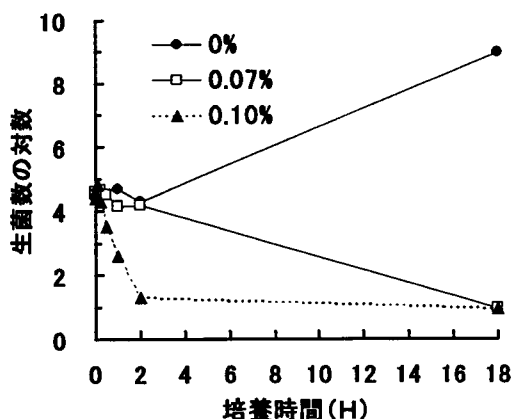


図1 ホタテCa濃度と生菌数の変化

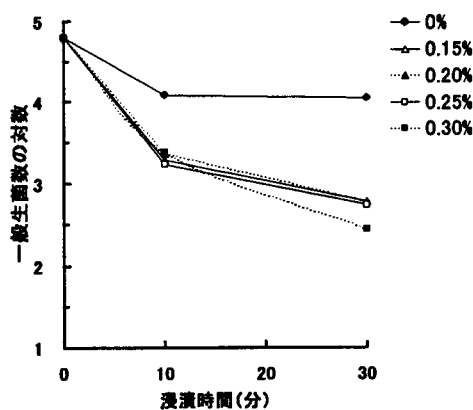


図2 ホタテCa懸濁液によるキャベツ殺菌効果

#### 4. 要約

ホタテCa製剤の高付加価値化を目的とし、抗菌・殺菌効果の検討を行った。ホタテCa製剤の食中毒菌などに対する抗菌力を明らかにする事が出来た。また、野菜の洗浄殺菌工程など、各種食品加工工程への応用が期待される結果を得た。

(共同研究機関：北海道共同石灰株式会社)

## 1 研究の目的と概要

マロラクティック発酵(MLF)は、ワイン醸造のアルコール発酵後に、乳酸菌によって引き起こされる二次発酵である。MLFによって、リンゴ酸が乳酸に分解されることで、酸味が軽減され、風味が改善されるなどの効果がある。北海道産のブドウは、その冷涼な気候により、酸度が高く、pHが低いことからMLFが進みにくいといわれているが、実際には原料や樽などに存在する乳酸菌によって、自然発生的にMLFが進行している場合が多く見られる。しかしながら、このMLFを行っている乳酸菌種については、まだほとんど解析が行われていない。そこで、北海道産赤ワインの品質をより安定に生産させることを目的としてMLFに関与する乳酸菌を分離し、遺伝子工学的手法を用いて、同定を行い、その諸性質を検討した。

\*予定される成果

- ・北海道産赤ワイン醸造におけるマロラクティック発酵の工程管理
- ・北海道産赤ワインの品質の安定

## 2 試験研究の方法

試料には、池田町ブドウ・ブドウ酒研究所が製造したワインを用いた。1999年秋に収穫されたツバイゲルト種ブドウを原料として醸造した赤ワインを、樽詰め熟成後から、定期的にサンプリングし、試料とした。

試料ワインは、適宜希釈し、291培地に播種し、20℃ 14日間嫌気培養後生菌数を測定した。また、MLFの確認のために、pH、L-リンゴ酸量、L-乳酸量を測定した。生菌数の変動に応じて、随時20~30株の乳酸菌を分離した。さらに、MLFピーク時の乳酸菌に関しては、分離菌株の同定を試みた。保存菌株を細胞壁溶解酵素(N-Acetylmuramidase SG; 生化学工業)処理後キット(Gen とるくん™酵母・グラム陽性菌用; TaKaRa)によってゲノムDNAを抽出し、16s rRNA 遺伝子全領域を増幅するPCR<sup>1</sup>を行った。PCR産物を精製後、サイクルシーケンス法<sup>2</sup>にて上流側約300bpの塩基配列を決定し、菌株間の相同性を検討した。

同定した30菌株から無作為に3菌株選択し、リンゴ酸分解能を測定した。2000年産ツバイゲルト果汁を培地とし、一定量の菌液を接種後20℃で培養し、経日的に生菌数、リンゴ酸量、乳酸量を測定した。リンゴ酸・乳酸の測定は、キット(ロシュダイアグノスティック社製)を用いた酵素法にて定量した。コントロールとして、市販株(クリスチャンハンセン社のMLFスターター乳酸菌)の分解能も同時に測定した。

\*長島浩二ら, 日本食品科学工学会誌, 45(1), 58-65(1998)

## 3 結果

試験開始後120日を越えるあたりから、乳酸菌と考えられる菌の数が飛躍的に増加し、pHの上昇が認められた(図1)。それに伴い、L-リンゴ酸は減少、L-乳酸は増加したこと

から(図2)、MLF が起こっていると判断した。

そこで、MLF ピーク時に分離した 30 菌株の同定を試みたところ、30 株すべてにおいて解析した部分の塩基配列は一致し、相同性検索によって *Oenococcus oeni* と同定された。

次に、部分塩基配列の一致した 30 株のうち無作為に 3 株選抜し、そのリンゴ酸分解能について調べた。結果を図3に示す。3 株とも菌を接種していないコントロールに比べて、時間の経過とともにリンゴ酸量が減少し、乳酸量が増加するというリンゴ酸分解能を示した。3 株の分解能にばらつきがあるのは、初発生菌数の違いと考えられるため、今回ツバイゲルト種ワインの主発酵株として分離した乳酸菌は培養温度 20℃では、市販株と同等以上の分解能を有していることが認められた。

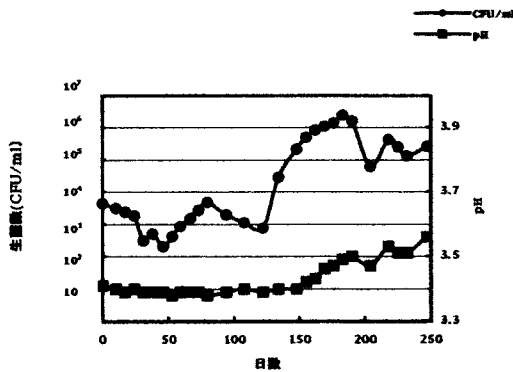


図1 生菌数と pH の変化

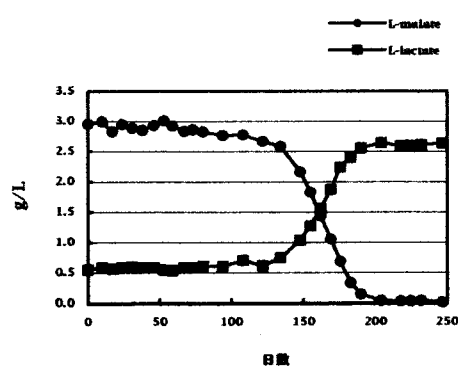


図2 リンゴ酸量と乳酸量の変化

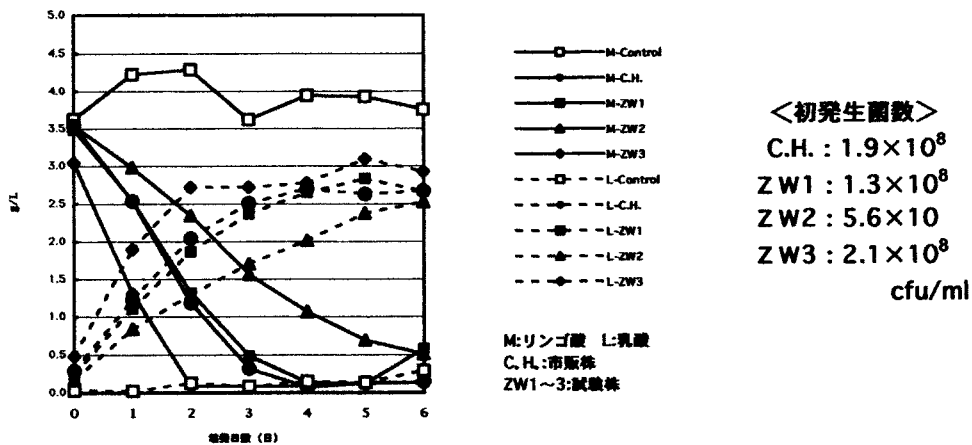


図3 L-リンゴ酸量とL-乳酸量の経日変化

#### 4 要約

ツバイゲルト種赤ワイン製造中にマロラクティック発酵(MLF)が生起していることを確認し、その主発酵乳酸菌を分離・同定した。また、同定した菌株のリンゴ酸分解能を測定したところ、培養温度 20℃では、市販株と同等以上の分解能を有することがわかった。

(共同研究機関 池田町ブドウ・ブドウ酒研究所)



## 1 研究の目的と概要

サケ・マス類は道内の主要な水産物として知られており、その品質を決める要因のひとつとして肉色があげられる。サケ・マス特有の鮮やかな赤色は消費者の購買意欲を刺激し、市場での取引価格に大きく影響を与える要因である。しかし、サケの肉色の主体であるアスタキサンチンなどのカロチノイド色素は不安定で退色しやすい性質をもち、サケ・マス類の加工、流通における退色はしばしば問題になっている。とくに流通末端の小売店などでは、蛍光灯などの照明にさらされることによりサケ・マス類の退色は著しく、賞味期限などにも影響している。本研究では、サケ・マス類の退色防止として、新規の食品用天然抗酸化物質製剤の利用と実用化を検討した。

<実用また予定される成果>

サケ・マス類の品質劣化を防止する事が可能になり、流通において退色、脂肪の酸化が起こらないことにより、北海道産のサケ・マス類の高付加価値化が望める。

## 2 試験研究の方法

### 1) 抗酸化活性の評価

抗酸化物質の抗酸化活性は、リノール酸を基質として生成する過酸化脂質をロダン鉄法で測定することにより評価した。抗酸化活性試験に供した抗酸化物質は、ヘリアント（ヒマワリ種子抽出物）、ヘリガード（ヒマワリ種子、茶抽出物）、カラーガード（ブドウ種子、茶抽出物）、アスコルビン酸ナトリウム、(+ )エピカテキン、 $\alpha$ -トコフェロール、没食子酸、ルチン、ケルセチン、BHT、BHA、クロロゲン酸、コーヒー酸の13種類を使用した。

### 2) サケの保存試験

キングサーモンの切り身をサンプルとし、10%食塩水に各抗酸化物質 0.5%を添加し室温で20時間浸漬した後、5℃、照度 6500lxの白熱灯下で7日間保存した。

### 3) 分析方法

過酸化脂質はクロロホルム-メタノールより抽出後、ロダン鉄法によって測定した。カロチノイドはアセトン抽出後、石油エーテルに転溶し470nmの吸光度からアスタキサンチンとして算出した。サケの退色は色差計を用いて a\*値、b\*値、L\*値 の変化から判断した。

## 3 実験結果

### 1) 抗酸化活性

アスコルビン酸は、低濃度(50ppm)ではほとんど抗酸化活性を示さなかったが、高濃度(500ppm)では非常に高い活性を示した。ヘリアントとヘリガードについても、

それぞれ低濃度ではそれほど高い抗酸化活性を示さないが、高濃度条件では、他の抗酸化試薬と同程度の活性を示した。ヘリアント、ヘリガードの主成分は、ヒマワリ種子より得られたポリフェノール類であり、500ppm以上の濃度で、その主成分であるクロロゲン酸などと同程度の抗酸化活性を示した。このことから、ヘリアント、ヘリガードを実際に食品に使用することにより、酸化防止の効果が十分に期待できると考えられた。

## 2) 退色防止効果

アスタキサンチン相当量と a\*値には相関関係が認められた。光照射によりアスタキサンチン等のカロチノイドは酸化分解し、おおむね 50%程度分解することが明らかとなった(表1)。アスコルビン酸はアスタキサンチン相当量の分解抑制に最も効果があったが、保存前に比べアスタキサンチン相当量の 40%以上が分解しており、サケの肉食もかなり退色していた。このためサケの退色防止の目的には今後さらに酸化防止剤の複合などの検討が必要と考えられる。

## 3) 過酸化脂質の酸化抑制効果

保存試験後の過酸化脂質の測定結果(表2)から、アスコルビン酸を含む4種類の酸化防止剤は全て、脂質の酸化抑制効果を持つことが明らかとなった。特に、ヘリガードはアスコルビン酸をうわまわる効果を示した。このことは、アスタキサンチンなどカロチノイドがある程度酸化分解しても過酸化脂質の生成が少ないということであり、脂質におけるサケの保存性向上に効果が期待されると考えられる。

表1 キングサーモンにおける  
アスタキサンチン相当量の分解率

	分解率(%)
無添加	55.1
ヘリガード	50.8
ヘリアント	53.4
カラーガード	52.5
アスコルビン酸	44.1

表2 キングサーモンにおける  
過酸化脂質の生成量

	過酸化脂質含量 (nmol)
無添加	8.69
ヘリガード	2.57
ヘリアント	5.54
カラーガード	4.60
アスコルビン酸	2.95

## 4 要約

ヒマワリ抽出物を主体とするヘリアント、ヘリガードには酸化防止効果が期待され、サケ類における過酸化脂質の生成を抑制効果が認められた。アスタキサンチンなどのカロチノイドの退色防止にはアスコルビン酸の添加が有効であったが、実用にはさらに酸化防止剤の複合などの検討が必要と考えられる。

(共同研究機関 大日本インキ化学工業株式会社)

## 1. 研究の目的と概要

加熱殺菌は最も確実な殺菌手段であるが、歯ごたえや色調の悪化、風味の劣化が生じる場合があるため、加熱殺菌処理が困難な食品が多く存在する。従来このような食品は、洗浄や薬剤によって殺菌してきた。しかし薬剤殺菌では、食品の品質を損ねない程度に殺菌しようとするれば、おのずと限界がある。光パルス技術は、キセノンガスを封入した電光管に瞬間的に高電圧をかけ、発生した光により殺菌する方法である。この方法は短時間で品質を損ねずに殺菌可能とされている。そこで、光パルスによる殺菌の効果の把握ならびに食品への応用の可能性を探るために試験を行った。

< 実用または予定される成果 >

風味や質感を損なわない非加熱食品の殺菌技術の確立。

## 2. 試験研究の方法

### (1) 試験装置

交流電源 (200V) を高圧の直流電源に変換するトランスとコンデンサよりなる。

消費電力 : 8kw 印加電圧 : 1500~3000V

ランプ部 キセノンランプ (電流密度 : 1000A/cm<sup>2</sup>) と空冷装置とパルス光反射板

### (2) 微生物に対する影響

*Escherichia coli* JCM1649, *Saccharomyces cerevisiae* JCM7255, *Aspergillus niger* ATCC16404を生育させたシャーレに光パルスを30回照射した (1回の照射時間190 $\mu$ 秒)。ランプと被照射体の距離は20cmとした。照射後、菌体もしくは胞子を回収し、常法により試料を固定、脱水、白金蒸着後、走査型顕微鏡で観察を行った。

### (3) 微生物種と殺菌効果の関係

*E. coli* ATCC11229, *Bacillus subtilis* ATCC9372, *Lactobacillus plantarum* JCM1149, *B. subtilis*芽胞 (栄研化学 : 枯草菌芽胞菌液) , *A. niger* ATCC16404と *S. cerevisiae* JCM7255菌液をシャーレに塗抹し、照射後培養して菌数を測定した。

### (4) 包装済み食品での殺菌効果

*Lactobacillus plantarum* JCM1149の菌液に浸せきしたセミドライソーセージを厚さ15~100 $\mu$ mの包装材料23種類で真空包装後、光パルスを表裏各1.8J/cm<sup>2</sup>照射した後、菌数を測定した。

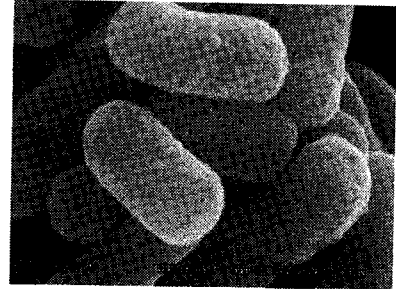
## 3. 実験結果

### (1) 微生物に対する影響

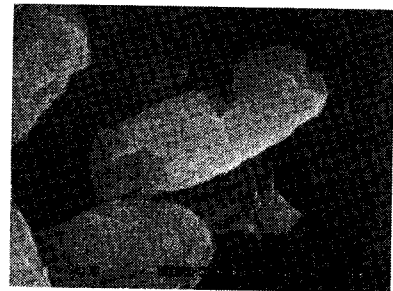
*Escherichia coli* JCM1649は光パルス照射すると、表層構造が破壊されることが判明した(図1)。同様の現象が*A. niger* ATCC16404の孢子、*S. cerevisiae* JCM7255の菌体にも見られた。光パルスの照射を受けた微生物は表層構造が破壊されて菌体内容物が漏出することにより殺菌されることが明らかになった。

(2) 微生物種と殺菌効果の関係

*A. niger*は紫外線に対し耐性が高いことで知られるが、照射エネルギーを1.2J/cm<sup>2</sup>以上とすると1桁以上菌数を低下させることができた。*B. subtilis*芽胞は薬剤と紫外線の双方に高度な耐性を示すが、照射エネルギーを0.5J/cm<sup>2</sup>以上とすると2桁以上菌数を低下させることができた。その他の微生物も、照射エネルギーを0.6J/cm<sup>2</sup>以上とすると2桁以上菌数を低下させることができた。このように光パルス殺菌は、幅広い微生物種に対し有効で短時間で殺菌可能なことがわかった(図2)。



(a) 未照射の菌体



(b) 光パルス照射後の菌体

図1 光パルス照射の菌体への影響

(3) 食品の殺菌効果

包装材の紫外線の透過率が10%以上で厚みが10~40μmの場合に殺菌効果が高くなった。また、紫外線の透過率が高い包装を用いたものは殺菌率が高くなる傾向を示した。キセノンランプの電流密度

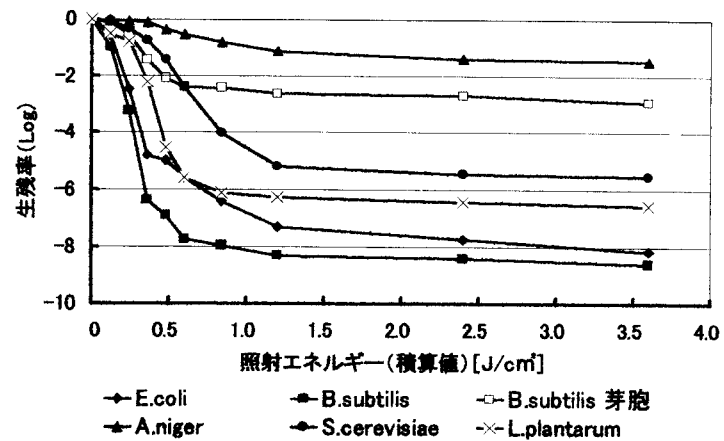


図2 微生物種と光パルス殺菌効果

を高めると、厚みが前述の範囲を超えるものや紫外線透過率が低い包装材料を使用した場合でも、殺菌可能となった。

4. 要約

光パルス照射すると、細菌の表層構造が破壊され、殺菌された。光パルス殺菌の殺菌スペクトルは広く、紫外線に対し耐性が高い*A. niger*や*B. subtilis*芽胞も殺菌可能であった。光パルス殺菌技術で包装済み食品についても、殺菌可能であることが明らかになった。

(共同研究機関 北電総合研究所)

## 1 研究の目的と概要

コラーゲン及びゼラチンは、さまざまな動物の皮膚や骨に含まれるタンパク質であり、食品をはじめ、医薬品・化粧品原料として古くから利用されている。特に食品分野においては、従来からの用途のほか、コラーゲンを酸あるいは酵素で分解し、低分子化したコラーゲンペプチドが、数年前から健康食品などへ利用されており、飲料あるいは錠菓などの製品が市場に出回っている。これらに利用されているコラーゲン及びゼラチンは、そのほとんどが牛・豚などの哺乳動物由来であるが、最近ではヨーロッパにおける狂牛病の問題から、それらに変わる（由来の異なる）コラーゲン・ゼラチン・ペプチドの製品化が望まれている。

我々は、数年前より水産加工工程において排出されるサケ・マスの皮に含まれているコラーゲンについて、その性質や利用法に関する検討を行い、コラーゲンの医用・化粧品材料としての利用法、ゼラチンの食品素材としての利用法について報告してきた。本研究では、さらに、さまざまな食品への用途に対応し得る素材を開発することを目的として、サケ皮コラーゲンペプチドの製造・利用に関する検討を行った。

予定される成果：サケ皮コラーゲンの新たな食品素材化とそれを利用した食品の開発

## 2 試験研究の方法

### ・サケ皮ゼラチンの調製

ペプチドの原料となるゼラチンは以下のように調製した。すなわち、凍結した原料皮を解凍後、食塩を用いて5℃で1週間塩蔵した。次に流水中で十分洗浄後、10倍量の水を加え、80℃で2時間抽出した。抽出液をろ過後、リパーゼ処理、活性炭処理を行い、ろ過した後に温風乾燥・粉砕することによりサケ皮ゼラチンを得た。

### ・ペプチドの調製および評価

蛋白質分解酵素であるパパイーンW-40（アマノ製薬）を用いて、調製したサケ皮ゼラチンを分解することによりペプチドを調製した。添加酵素量は、基質重量に対して0.03%とし、反応は室温で20時間とした。反応終了後、80℃で10分間加熱することにより酵素を失活し、噴霧乾燥によってペプチド粉末を得た。得られたペプチド粉末について、粒度分布、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動による分子量、溶液の粘性・透過率などを測定し、市販のコラーゲンペプチドと比較した。

### ・サケ皮ペプチドの食品への利用

調製したサケ皮ペプチドを用い、錠剤の試作を行った。

### 3 実験結果

得られたサケ皮ペプチドの分子量を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により測定した結果、分子量が約 20 万 da であった分解前のサケ皮ゼラチンが、約 4 万 da 以下の分子量まで分解されているのが確認された。ただし、4 万以下に単一のピークは認められず、ブロードなパターンを示した。また、比較として用いた 3 種の市販コラーゲンペプチドは、分子量約 2 万以下にブロードなパターンを示した。

また、ペプチド溶液の 5、25、40℃の各温度帯における粘度を表 1 に、570nm における溶液の透過率を表 2 にそれぞれ示した。ペプチド溶液の濃度は 5% とした。サケ皮ペプチド溶液の粘度は、室温以上の温度帯で 2~3 cP、5℃においても 5 cP と、市販のコラーゲンペプチドとほぼ同等の粘性を示した。また、分解前のサケゼラチンと比較すると、ゼラチン溶液は 5℃ではゲル化してしまうのに対し、ペプチドはゲル化することなく低い粘性の溶液状態であった。また、溶液の透過率は、市販品よりも低い値を示したが、これは、噴霧乾燥前にろ過工程を加えることにより回避でき、市販品と同程度の透過率が得られた。以上より、サケ皮ペプチドは、温度変化による溶液物性の変化もなく、透明な高濃度溶液の調製も容易であることから、市販品と同様に飲料などへの利用が十分可能であると考えられた。

表 1 コラーゲンペプチド溶液の粘性 (cP)

	サケゼラチン	サケペプチド	市販品 A	市販品 B	市販品 C
5℃	—	5	3	3	3~4
25℃	1.0	2~3	3	3	3
40℃	6	2~3	2	2	2~3

表 2 コラーゲンペプチド溶液の透過率 (%)

	サケゼラチン	サケペプチド	市販品 A	市販品 B	市販品 C
透過率	86.2	81.0	98.7	97.8	98.2

また、得られたペプチド粉末の食品への応用として錠剤化を試みた。ペプチド粉末単独、あるいはデンプンなどの賦形剤を加えた場合においても、粉体としての流動性が悪く直接打錠は困難であった。しかし、それらを攪拌造粒法で顆粒化（粒径約 100~600 μm）することにより流動性が改善され、錠剤化が可能となった。また、造粒時の加水・攪拌条件によって得られる顆粒の性質が異なり、それによって錠剤の物性が著しく左右された。したがって、これらの錠剤化には適切な顆粒調製条件の選択が最も重要であることがわかった。

### 4 平成 13 年度計画

- ・サケ皮ペプチドの分画精製法に関する検討
- ・ペプチドを用いた食品の試作開発

(共同研究機関：井原水産株式会社)

# 食品中の抗酸化成分の生体内メカニズム解明と食品への応用に向けた研究

—酸化ストレスによる遺伝子発現に関しRT-PCR法による解明—

(H11~13)

発酵食品部 調味食品科 池田隆幸 濱岡直裕 山木携  
副 所 長 清水條資

## 1 研究の概要

酸化物が健康に有害であるという研究結果が蓄積しており、ガンや心臓病といった日本における死因の第1位、第2位の疾病も身体内における過酸化物の生成が病変の原因となったり促進したりすると考えられている。このような状況下で、健康は今や極めて強い社会ニーズになってきており、消費者調査の結果からも健康食品への関心は極めて強いものがある。しかし、ある食品素材が健康に良いかどうかという評価方法は未だ確立していない。特に、抗酸化成分の評価については、試験管内での評価はほぼ確立しているものの、生体内におけるその作用メカニズムはほとんど知られていないというのが現状である。このメカニズムを解明することは、北海道産の食品素材の新たな評価を生み、その高付加価値化を強力に推進することが可能であると考えられる。

予定される研究成果

- ・北海道産の食品素材の高付加価値化
- ・北海道産食材の抗酸化活性評価

## 2 試験研究の方法

カルシウム結合タンパク質の一つであるカルセクエストリン（以下CSQと略す）を心臓内で特異的に発現させたトランスジェニックマウス（以下CSQマウスと略す）は若いうちから心臓肥大を呈し、短命であることが知られている。このマウスの6週令および12週令の心臓組織よりmRNAを抽出し、逆転写法によりcDNAを調製した。6週令は心臓肥大の初期、12週令は心臓肥大から心不全へと移行している状態と見なすことが出来る。また、対照として正常マウスの心臓からも同様の方法を用いてcDNAを調製した。

調製したcDNAを鋳型として、数十通りのプライマーペア（Genomix社キット）を用いてPCRを行った。続いて変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、ディファレンシャルディスプレイ法を用いてCSQマウスにおいて発現量が増加した遺伝子のバンドを切り出し、これから遺伝子DNAを溶出させた。次に、先に用いたものと同じプライマーペアを用いて、溶出させた遺伝子を再増幅し、pGEM-Tクローニングベクター（Promega社）に組み込み、大腸菌に導入した。この大腸菌よりアルカリ-SDS法を用いてプラスミドDNAを調製した。

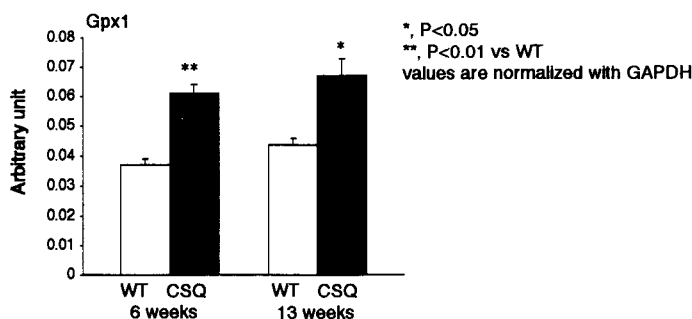
単離したDNAは、ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready KitおよびABI PRISM 373S DNA Sequencer（いずれもPE Biosystem社）を用いて塩基配列を決定した。

得られた塩基配列をもとに、アメリカNCBIのBLAST検索サービスを利用してGenBankおよびEMBLデータベースに登録されている塩基配列との比較を行い同定した。また相同性が確認された一部の遺伝子については、その遺伝子に特異的なプライマーを合成し、特異的RT-PCRをLight Cycler (Roche社)を用いて行うことにより、週令の差による発現量の違いを定量的に解析した。

### 3 結果

12種類のアンカープライマーと20種類のアービタリープライマーから任意に数種類のプライマーペアを選択し、ディファレンシャルディスプレイ法で解析した結果、これまでにCSQマウスにおいて特異的に発現している遺伝子が40種類以上、逆にCSQマウスにおいて発現が抑制されている遺伝子が20種類以上確認された。

このうち、グルタチオンパーオキシダーゼ遺伝子の発現は、CSQマウスにおいて週令が進むとより発現が増大することが注目された。一方でこれとは逆にミトコンドリアの遺伝子は正常なマウスに比べCSQマウスにおいては遺伝子発現が抑制されている結果を得た。結果の一部を図に示す。



これらの結果は、生体が心臓の収縮機能の低下による代償機能として臓器を肥大させて補おうとするために、タンパク質合成が増大するようにミトコンドリアのATP産生を活性化させたものと考えられる。ミトコンドリアは通常時においても活性酸素を1~2%産生することが知られているが、ATP産生が増大したミトコンドリアは通常より多い活性酸素を産生する。その結果、過酸化水素を水に変換するグルタチオンパーオキシダーゼを増産し活性酸素を除去するが、除去できなかった分が結果として活性酸素の影響を受けやすいミトコンドリアDNAを障害したものと考えられた。

### 4 平成13年度計画

正常時に比べ発現量に違いのあった遺伝子群について、定量的に発現量の差を解析し、これらのメカニズムについてさらに解明する。

そのうち注目する遺伝子の挙動を培養細胞においても解析し、この遺伝子の挙動を追うことで食品成分による心筋細胞への影響について検討する。

(創造的研究)



## 食品中の抗酸化成分の生体内メカニズム解明と食品への応用に向けた研究 (H11~H13)

—水産物からのスクリーニングと培養動物細胞による活性評価法の検討—

加工食品部水産食品科 佐々木茂文、吉川修司、大堀忠志

オホーツク圏地域食品加工技術センター 太田智樹

### 1. 研究の概要

様々な酸化反応によって生じる活性酸素は生体障害の大きな原因の1つで、老化や癌、動脈硬化、糖尿病に深く関与すると考えられている。食品に含まれる抗酸化成分が化学的手法により見出され、農産物を中心に多くの成分が報告されている。しかしながら、化学的手法によってスクリーニングされた抗酸化成分が生体内で活性を発揮するか不明である。そこで本研究では北海道産品、特に水産物から化学的手法で抗酸化成分のスクリーニングを行い、同時に培養動物細胞の酸化障害応答モデルを利用して生体内酸化反応を反映した生物学的手法（培養動物細胞、実験動物など）を検討し、より生体内酸化を反映する簡便な評価システムを構築することを目的とする。

・ 実用又は予定される成果

- ・ 北海道産の食品素材の高付加価値化
- ・ 生体内反応を反映した抗酸化活性評価システムの構築

### 1. 試験方法

#### 1) 水産物生殖組織の DPPH を用いた活性酸素消去能の測定

北海道内で水揚げされたスケソウタラ卵巣、ニシン精巣、サケおよびホタテの生殖組織（卵巣および精巣）に5倍容の蒸留水を加えホモジナイズ(8,500rpm × 3 min)し、得られたホモジネートを冷却遠心分離(10,000g × 15 min, 4°C)した。得られた上清を Advantec UK-10 で限外ろ過し、低分子量画分(LMWF)を得た。

0.5mM の 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH; 和光純薬工業)含有エタノール溶液 1ml に、エタノール 2ml と 0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.5, 37°C)2ml を加えた。この反応溶液に LMWF を加え、37°C で 30 分間インキュベーターした後、DPPH ラジカルに由来する 517nm の吸光値を測定し、この値の減少量より、抗酸化成分の DPPH ラジカル捕捉能を算出した。

#### 2) スケソウタラ卵巣水溶性 LMWF の抗酸化活性成分の分離精製

LMWF を分取用液体クロマトグラフィー（カラム：Superdex Peptide(ファルマシア、10 × 300mm)、移動相：水(pH3)、流速 0.5ml/min、検出器：UV280nm に供し、6画分を分取した。各画分の DPPH ラジカル捕捉能を測定して抗酸化活性を評価した。

#### 3) 培養動物細胞を利用したスケソウタラ卵巣抽出物の抗酸化活性の評価

ヒト組織球性リンパ腫細胞株 U937 を  $1 \times 10^5$  cells/ml の密度で 96 穴プレートにまき、調製した各添加試料を添加し、1時間培養後、 $200 \mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  を添加して培養

した。培養23時間後、FACLS法によって全細胞数と死細胞数を測定し、細胞生存率を求め、酸化ストレスに対する抑制効果を評価した。

### 1. 実験結果

#### (1) 水産物生殖組織のDPPHを用いた活性酸素消去能

水産物生殖組織水溶性成分のDPPHラジカル消去能を測定してIC<sub>50</sub>を算出した結果を表1に示した。ホタテ卵巣とニシン精巣のIC<sub>50</sub>は1,500μg/ml前後でほとんど消去活性が認められなかったが、それ以外はラジカル消去活性が認められ、特にスケソウタラ卵巣が63μg/mlで最も強かった。スケソウタラ卵巣抽出物をHPLCで6画分に分画して、得られた各画分のDPPHラジカル消去能を測定したところF1,2,3,5,6が20%前後であるのに対してF4は87%と著しく高かった。このことからスケソウタラ卵巣のラジカル消去能はF4に含まれる成分に起因していることが明らかになった。

表1 水産物生殖組織水溶性低分子画分のDPPHラジカル消去能

試料		IC <sub>50</sub> (μg/ml)
ホタテ	卵巣	1,494
	精巣	776
サケ	卵巣	358
	精巣	372
ニシン	精巣	1,674
スケソウタラ	卵巣	63

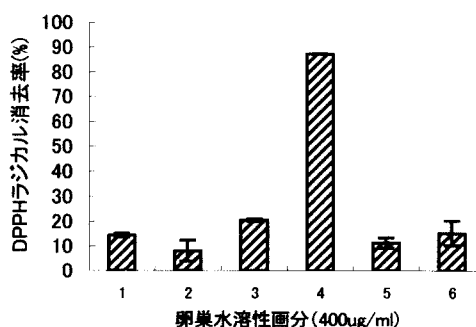


図1 スケソウタラ画分のDPPHラジカル消去能

#### (2) 培養動物細胞を利用したスケソウタラ卵巣抽出物F4の抗酸化活性の評価

F4を培養動物細胞に添加し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>によって酸化ストレスを加えて24時間培養した後の細胞の生残率を測定した結果を図2に示す。F4のみを最終濃度190、380μg/ml加えたときは変化がなく、毒性はほとんどなかった。細胞にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を200μM添加すると生残率が54%になったが、F4を添加した後にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を加えると細胞の生残率が約70%になり、培養動物細胞においてF4がH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の酸化ストレスを低減させる機能があることが認められた。

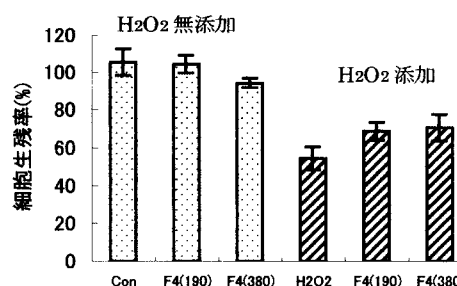


図2 スケソウタラF4の酸化ストレス抑制効果

### 3. 平成13年度計画

抗酸化活性が認められたスケソウタラ卵巣の水溶性低分子量成分の単離精製を行い、成分の構造を同定する。また、培養動物細胞での酸化ストレスの抑制メカニズムを解明する。

(創造的研究推進事業)

## 1 研究の目的と概要

ラーメンは北海道の主要工業製品の一つであり、その品質の安定化および向上は重要な課題である。ラーメンの品質劣化には酵素反応や微生物の関与が指摘されているが、詳しくは研究されていないのが現状である。本研究では、遺伝子工学的手法を用いてラーメンの保存期間中の菌相動態を解析し、優勢菌種の生理生化学的性質を検討することで、北海道ラーメンの細菌学的特徴を明らかにし、その結果を品質管理にフィードバックすることを目的としている。

<実用又は予定される成果>

- ・北海道ラーメンの品質向上とシェルフライフの延長。

## 2 試験研究の方法

### (1) 試料および細菌の分離

北海道内メーカー 5 社によって製造された市販ラーメン（生中華麺）を 25℃で 7 日間保存し、その間に定法に従って細菌を分離し、菌種を同定した。細菌の分離は、標準寒天培地および標準寒天培地に炭酸ナトリウムを添加したアルカリ培地を用いた。培養は 30℃で行った。

### (2) 遺伝子工学的手法による細菌の同定

寒天培地上に出現した細菌コロニーから長島らの方法<sup>1)</sup>に従って DNA を抽出し、これを鋳型として 16S リボソーム RNA 遺伝子を PCR によって増幅した後、その 5'末端約 300 塩基の配列を決定した。得られた塩基配列を DNA データベースと照合することで菌種を同定した<sup>2)</sup>。

## 3 実験結果

### (1) 保存期間中の細菌相の変化

A 社ラーメンの保存期間中 0, 2, 7 日目に細菌を分離し、その同定を行った。菌数は標準寒天培地およびアルカリ培地共に当然のことながら保存日数とともに増加した。菌相に関しては、表 1 に示したように、両培地において 0 日目では各種細菌が混在した状態であるが、2, 7 日目になると乳酸菌である *Aerococcus viridans* に近縁の菌種（97～99%ホモロジー、グラム陽性球菌）が優勢となった。これは、ラーメンの保存とともに乳酸菌が増加するという従来の報告<sup>3)</sup>に合致する結果であった。

### (2) 各社ラーメンの優勢菌種の解析

前述のように、ラーメン保存 7 日目には特定の菌種が増殖して優勢になることが明らかになったので、A 社他製品とその他道内 4 社製造のラーメンについても同様に 7

日間保存後、アルカリ培地を用いて菌相を解析した。メーカーによって菌数の多少はあったが、菌相では、*A. viridans* 近縁菌が優勢になるものと *Carnobacterium alterfundium* (乳酸菌、グラム陽性桿菌) 近縁菌

表1 A社ラーメン保存期間中の菌相変化

保存日数	相同性のあった菌種名	相同性(%)	コロニー数
0	<i>Aerococcus viridans</i>	99	9
	未同定菌	94	6
	未同定菌	97	1
2	<i>Micrococcus halobius</i>	95	5
	<i>Aerococcus viridans</i>	99	50
7	<i>Aerococcus viridans</i>	99	9
	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	96	17
	未同定菌	97	11
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	98	2
	<i>Staphylococcus lentus</i>	99	3
	<i>Bacillus pumilus</i>	97	2
	<i>Bacillus sp.</i>	98	2
	<i>Streptomyces diastaticus</i>	98	1
	<i>Streptomyces griseus</i>	99	1
	<i>Leifsonia poae</i>	98	1
2	<i>Aerococcus viridans</i>	97	23
	<i>Bacillus pumilus</i>	98	2
	<i>Leifsonia poae</i>	96	6
	<i>Paenibacillus velasolus</i>	97	3
	<i>Aerococcus viridans</i>	98	49

が優勢になるものに分かれた(表2)。後者の場合、優勢菌種は *C. alterfundium* とのホモロジーが85%と低く、グラム陰性桿菌であることから、*C. alterfundium* とは別属の菌と考えられた。本菌は中性付近の pH では生育せず、アルカリ培地で生育することから好アルカリ性菌と思われる。これら菌株のさらに詳しい生理生化学的性質については現在検討中である。メーカーによる優勢菌種の違いは麺へのビタミン B2 あるいはソルビットの添加・無添加に関係があるように思われた(表2)。

#### 4 要約

北海道ラーメンの品質安定化と向上を計るため、その細菌学的特徴の解明を行った。ラーメンを一定期間保存しその菌相変化を解析したところ、初期段階

表2 各社ラーメンの優勢菌種

メーカー	VB2	Sor	相同性のあった菌種名	相同性(%)	コロニー数
A社製品1	+	-	表1参照		
A社製品2	+	-	<i>Aerococcus viridans</i>	99	12
			<i>Aerococcus sp.</i>	100	1
			<i>Janibacter limosus</i>	98	1
B社	+	-	<i>Aerococcus viridans</i>	99	15
			<i>Methylobacterium sp.*</i>	92	4
			未同定菌*	100	1
			未同定菌*	93	3
			<i>Bacillus sp.*</i>	99	2
<i>Carnobacterium alterfundium*</i>	85 (G13)**	1			
C社	+	-	<i>Aerococcus viridans</i>	99	18
			<i>Corynebacterium sp.*</i>	95	6
D社	-	+	<i>Carnobacterium alterfundium</i>	85 (G13)**	13
E社	-	+	<i>Carnobacterium alterfundium</i>	85 (G13)**	24

\* コロニーの生育は遅い。 \*\* 括弧内はギャップの数を示している。

VB2:ビタミンB2, Sor:ソルビット

においては各種菌種が混在する状態であったが、最終的にはほぼ一つの菌種が優勢になった。5社6種のラーメンは、7日間保存後の菌相解析から *A. viridans* 近縁菌が優勢菌種のもものと未知のグラム陰性桿菌が優勢菌種のものに分けられた。

- 1) Nagashima K. et al., *Food Science and Technology Res.*, **6**, 115(2000)
- 2) 長島浩二ら, 日本食品科学工学会誌, **45**, 58(1998)
- 3) 日清製粉(株)中央研究所, 食品と科学, **31**, 114(1989)

(事業化特別研究、共同研究機関：衛生研究所、中央農業試験場、畜産試験場)

## 遺伝子工学技術を利用した食品微生物制御技術の高度化に関する研究 (H11～H12)

### ー魚卵製品における細菌菌種の遺伝子工学手法を用いた解析および工程改善ー

応用技術部生物工学科 川上 誠 長島浩二  
発酵食品部調味食品科 山木 携 濱岡直裕  
加工食品部農産食品科 中野敦博 山木一史

#### 1 研究の目的と概要

食品中の微生物は発酵、熟成、腐敗等に関与しており、食品の品質管理、衛生管理にとって非常に重要である。しかしながら、従来の微生物検査では汚染指標菌の菌数測定など細菌の量的な検査が主流であり、菌相の解析、菌種の同定など質的な検査は微生物の生化学的性質を利用するなど煩雑であり多くの時間要するため、あまり行われていないのが現状である。当センターでは食品工場の微生物制御のワンランクアップを図るため、遺伝子工学技術を利用して工場、現場で細菌の種類と数を簡便かつ迅速に判定できるシステムの確立を目指している。本研究では道内の主要産業の1つである魚卵製造について主要菌種の由来調査と製造工程の改善を考察する。

#### < 実用または予定される成果 >

遺伝子解析による細菌の同定により各種食品中の微生物の挙動を明らかにし、道産食品の品質と安全性のワンランクアップが期待できる。

#### 2 試験研究の方法

##### 細菌の分離

イクラ製造の各工程の中間製品、最終製品、保存試験後の製品について、標準寒天培地、CVT培地、変法フェネチルアルコール寒天培地、デソキシコレート寒天培地、特性基質培地を用いて塗抹し、24時間～48時間培養後生育したコロニーを分離した。

##### 16S リボゾームRNAの増幅および細菌の同定

生育した菌株から InstaGeneMatrix (Bio-Rad Lab.) を用いDNAを回収し、これをテンプレートとして16S リボゾームRNA遺伝子5'末端約500bpの塩基配列を決定した。得られた塩基配列を米国国立生物工学情報センター (NCBI) のデータベースと照合することにより菌種を同定した。

#### 3 実験結果

イクラ製品の一般生菌数は $10^3$  cfu/g以下であり、分離された菌種は *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Rahnella* などの海洋由来菌が主体のほか *Staphylococcus* や汚染腐敗菌として *Pseudomonas*, *Enterobacter* などが検出された。また、原卵の産地によって菌相に違いが認められた。一方、筋子製品の一般生菌数は $10^4$ ～ $10^5$  cfu/gとイクラ製品より多かったものの、分離される菌種の多くは *Staphylococcus equorum* などの乳酸生成菌が主体であり、一部汚染腐敗菌として *Enterobacter* な

どが検出された。各製造工程の菌相解析の結果から筋子の菌数がイクラに比べ高く、Staphylococcus が優勢であったのは製造中の熟成工程に起因し、熟成中に Staphylococcus が増殖し、汚染腐敗菌などの増殖を抑制するためと考えられる。また、これら Staphylococcus が熟成に大きく関与しているものと推察される。

保存試験でイクラ凍結製品を解凍後、10℃、5 日間保存した結果、菌数が急速に増加して  $10^5 \sim 10^6$  cfu/g となるサンプルが認められた。これらのサンプルは Pseudomonas, Enterobacter などのグラム陰性菌が優勢となるものと Staphylococcus などの乳酸生成菌が優勢になるものの2つのグループに分けることができる。前者は低温保存中に腐敗、変敗するのに対し、後者は pH を低下させむしろ腐敗菌を抑制する傾向が認められた。製品の品質管理上は前者のような低温性腐敗菌の把握と制御は重要であり、量的な菌数情報のみならず質的な菌種の情報はきわめて重要であると考えられる。

イクラ製造工程での低温性腐敗菌制御を目的として、塩漬、洗浄における乳酸処理を検討した結果、0.1%乳酸による洗浄で Staphylococcus には影響なしに Pseudomonas, Enterobacter などグラム陰性の低温腐敗菌が抑制されることが明らかとなった。(図1)

酸処理したイクラ製品における黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) の添加試験から、10℃、5 日間の保存期間では黄色ブドウ球菌の増殖は認められなかった。

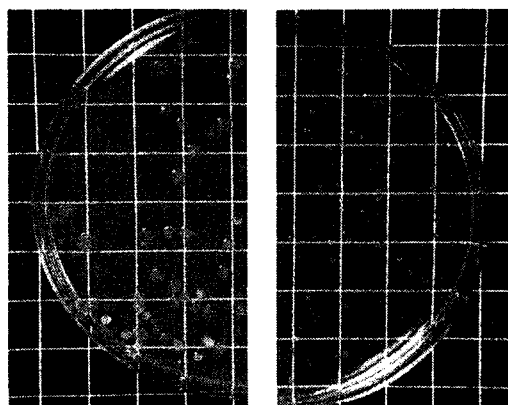


図1 酸処理による菌相の変化

左：無処理 右：0.1%乳酸処理

#### 4 要約

1. イクラなど魚卵製品は産地や製造工程によって検出される菌種が異なり、細菌の質的情報も品質管理上重要と考えられる。
2. 0.1%乳酸処理は Pseudomonas, Enterobacter などグラム陰性低温腐敗菌の抑制に働き、製造工程の改善に有効と考えられる。
3. 黄色ブドウ球菌は酸処理したイクラ製品中で増殖が認められなかった。

(事業化特別研究)

## 1. 研究の目的と概要

本研究は道内で大量に発生し、廉価に流通している乳用廃用牛肉の有効活用を目的とし、酵素処理を加えた新規乾燥食肉加工品（調味料、肉の削り節、トッピング食材）の開発を行うものである。初年度において基本的製造技術が確立されたことから、今年度は添加物および保存条件の検討を行った。さらに製品の付加価値向上を目的として、DNA 損傷を指標とした酵素分解生成物のラジカル捕捉能について評価をおこなった。

\* 予定される効果

- ・新規産業の育成および新技術の確立
- ・乳用廃用牛の利用拡大

## 2. 試験研究の方法

肉節の製造フローを図1に示す。タンパク質分解酵素はフレーバーザイム（ノボルディスクバイオインダストリー（株））を用いた。

## (1) 亜硝酸添加量の検討

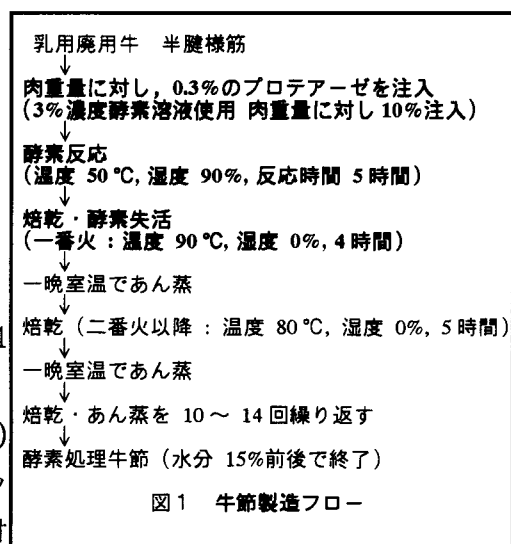
図1の酵素溶液に亜硝酸を添加し、牛肉中の最終亜硝酸濃度が0, 100, 200, 400ppmになるように酵素溶液を注入した。その後は図1に従って肉節を試作し、各段階における亜硝酸量を測定した。

## (2) 包装形態の検討

(1)の実験で試作した亜硝酸100ppm添加の肉節を手動のカツオ節削り器で0.1mm程度の厚さに削ったものを試料とした。削り節約2gを粉体用セル(d13mm×3.1mmφ)に詰め、透明のポリプロピレン製のチャック付き袋および遮光アルミ製のチャック付き袋を用いて、おのおのについて①無処理、②窒素封入、③窒素封入+脱酸素剤の3種類の包装形態をつくり、18日目まで測定を行った。保存温度は室温とした。なお、ポリプロピレン製の袋のサンプルは約7000ルクスの蛍光灯下に静置した。色差の測定はJUKI製JP7200Fを用いた。

## (3) DNA 損傷を指標とした酵素分解生成物のラジカル捕捉能

半腱様筋を数種のプロテアーゼで処理し、得られた水溶性分解物を乾燥凍結したものを試料とした。細胞についてはヒト由来培養細胞 HL-60 を用い、ラジカル発生剤 AAPH(2,2-アゾビス二塩化塩)あるいは過酸化水素を用いた。試料を溶解した



液体培地中にラジカル発生剤を添加し1時間反応させた後に細胞懸濁液を加えて2時間培養してDNA損傷を与え、その細胞の一部をコメットアッセイに供した。正常細胞とコメットした細胞の比率よりDNA損傷率を求めた。

### 3. 試験結果

#### (1) 亜硝酸添加量

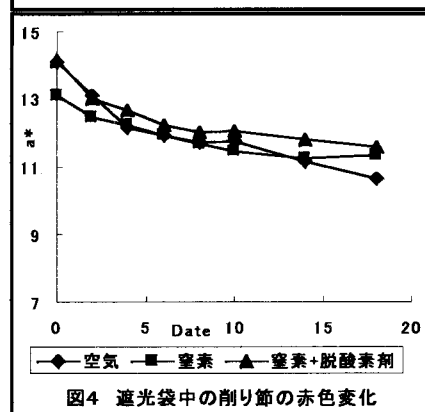
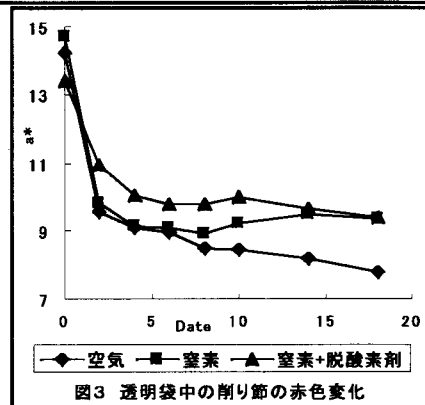
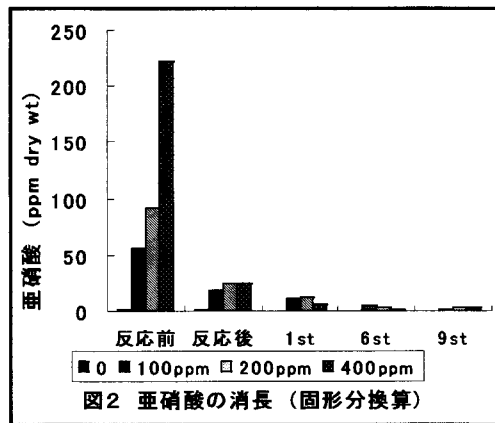
図2より亜硝酸は添加量の多少に係わらず製造工程中にそのほとんどが分解することが分かった。亜硝酸100ppmでも十分な発色が得られたことから、添加量は100ppmが適当と考えられた。

#### (2) 包装形態

透明袋による保存ではすべての試料において、保存初期にa\*の著しい減少がみられ、保存4日後で平均30%の赤色が消失した(図3)。各処理別では空気封入を行った試料より窒素封入あるいは脱酸素剤を入れた試料のほうがa\*の減少が少なかった。遮光袋による保存ではすべての試料においてa\*の減少が緩慢であった(図4)。各処理別では空気封入を行った試料より窒素封入あるいは脱酸素剤を入れた試料のほうがa\*の減少が少なかった。これらの結果から、牛肉削り節の保存は遮光袋を用いて窒素封入(+脱酸素剤)が色調保持に有効であることが分かった。

#### (3) 酵素分解生成物のラジカル捕捉能

コメット指数(低いほどラジカル捕捉能を有する)による比較の結果、過酸化水素に対してはほとんどの試料でコメット指数が80%以上であり、全体的に効果がみられなかった。その中でもProtease S、SP-10、およびPapainの1000ppmの濃度ではわずかに効果がみられ71、77、および83%であった。AAPHに対しては全体的に効果が認められ、コメット指数が50%を下回る試料もあった。その中でも特にSP-10、Protease Sの10000ppmは強い効果がみられ、20%、37%であった(図表未掲載)。



### 4. 平成13年度計画

最終年度ではこれまでの結果を踏まえた応用試験(他の部位、豚肉を用いての評価)を行う。さらに機能性物質の解明も引き続き行う。

(共同研究機関 (株)ホクビー 北海道大学)



## — 深層水の有効利用の研究開発 —

発酵食品部 田中常雄 加工食品部 大堀忠志 応用技術部 山崎邦雄  
畜産食品科 井上貞仁 食品工学科 熊林義晃 発酵食品科 田村吉史

## 1. 研究の目的と概要

深層水を利用した発酵の適否を判断する目的で味噌の加工試験を行った。また従来、深層水の畜産食品加工への利用事例が少ないことから、ベーコンの加工試験を行った。

## 【予定される成果】

・基礎データの整備と、深層水による食品の高付加価値化（差別化）。

## 2. 試験研究の方法

(1) 味噌の試作：1 試験区当り、浸漬・蒸煮大豆 2,838g を磨碎し、米麴 1,561g、精製塩 600g または深層水塩 550g、種水(水道水または深層水)320g を混合した。この時、大豆浸漬と種水に水道水を使用した試験区の中から、酵母培養液および乳酸菌培養液を添加した試験区を設けた。また、大豆浸漬・種水に深層水を使用した試験区には酵母・乳酸菌は無添加とした。これら 4 試験区の試料を容器詰めし、25℃で熟成保存して熟成 20 日目に切り返しを行った。熟成保存中、20 日ごとに発酵の進み具合や適性を観察するため、酵母数、乳酸菌数、pH、滴定酸度、ホルモール窒素を測定した。

(2) ベーコンの試作：整形した豚バラ肉を 1.2 倍量の濃縮深層水液(NaCl 濃度として約 11%)に 4 日間漬け込んだ後、深層水塩(亜硝酸ナトリウム 0.625% 含有)を肉重量に対して 2% すり込み 3 日間塩漬した。対照として、同濃度の精製塩水で漬け込んだ塩漬肉に、精製塩を用いて同様の方法で塩漬を行った。塩漬肉を加熱・乾燥・薫煙処理した後、冷却・包装した。出来上がったベーコンについて外観を観察し、嗜好試験による官能評価を行った。

## 3. 実験結果および考察

(1) 味噌の試作：図 1,2 に示す通り、深層水・深層水塩使用区の酵母や乳酸菌の増殖傾向は、酵母および乳酸菌添加区とほぼ同様の傾向を示し、水道水・精製塩使用区の酵母増殖は遅く、乳酸菌の増殖は低かった。図 3 ~ 5 からも、深層水・深層水塩使用区の熟成が順調に進んでいることが示唆される。微生物にとってリン、カリウムは必須栄養源であり、リン酸イオンとマグネシウムイオンが酵母増殖に寄与しているという報告もあり、深層水中に含まれている豊富な無機成分が、発酵食品製造に有効な働きをもたらしているものと思われた。

(2) ベーコンの試作：ベーコンの発色状態は良好で、精製塩で塩漬したものと外観上、区別できない程度であった。但し、塩漬に使用した濃縮深層水液から、漬け込み中に僅かな白色沈殿が生成した。今回は NaCl 濃度を合わせて塩漬したため、濃縮深層水液には他の無機成分が過剰となり、白色沈殿が生じたものと思われる。官能評価の結果(図 6)、深層水ベーコンの方がおいしい・少しおいしいとしたパネラー(A, B)が 18 人、対照の方を支持したパネラー(D, E)が 16 人と、僅かに深層水ベーコンの方が優勢であった。

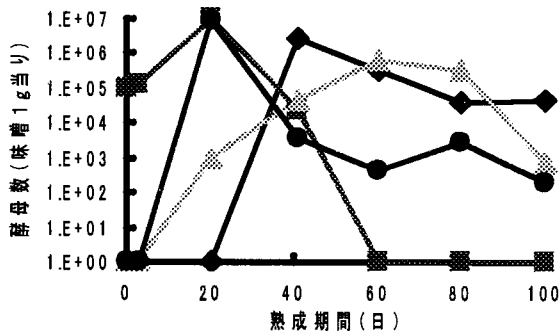


図1 味噌熟成中の酵母数の変化

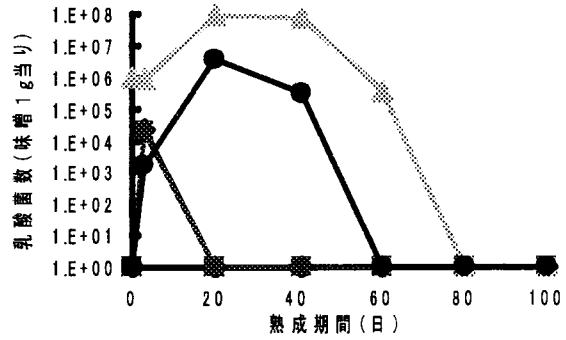


図2 味噌熟成中の乳酸菌数の変化

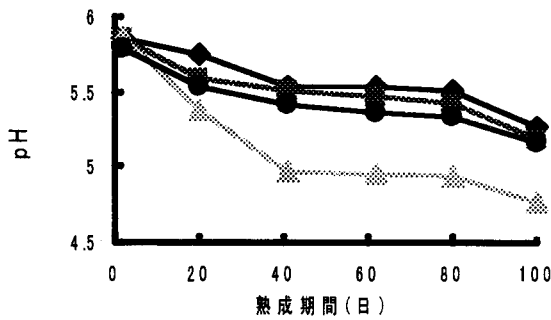


図3 味噌熟成中のpHの変化

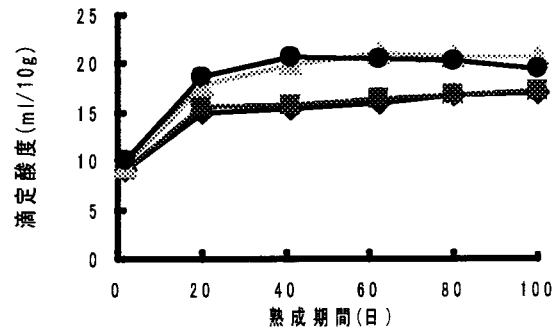


図4 味噌熟成中の滴定酸度の変化

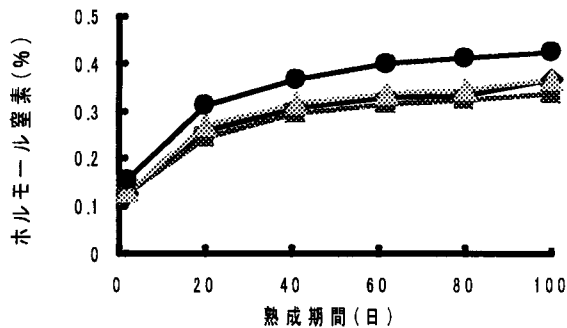


図5 味噌熟成中のホルモール窒素の変化

- ◆ 水道水・精製塩  
酵母乳酸菌無添加
- 水道水・精製塩  
酵母培養液添加
- ◇ 水道水・精製塩  
乳酸菌培養液添加
- 深層水・深層水塩  
酵母乳酸菌無添加

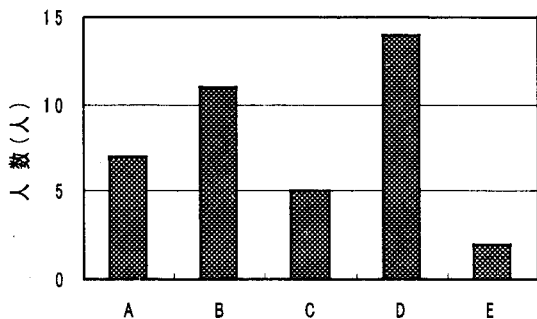


図6 深層水ベーコンの官能評価

- A: 深層水ベーコンの方がおいしい
- B: 深層水ベーコンの方が少しおいしい
- C: 両方とも同じである
- D: 対照の方が少しおいしい
- E: 対照の方がおいしい

#### 4. 要約

海洋深層水を用いて味噌とベーコンの加工試験を行った。

味噌では、深層水中に含まれている豊富な無機成分(特にカリウム、マグネシウム、リン)が、酵母や乳酸菌の発育を促進し、発酵食品製造に有効な働きをもたらすものと思われた。

ベーコンの発色状態は良好で、精製塩で塩漬したものと外観上、区別できず、官能評価の結果も良好だった。(共同研究機関：道立地質研究所、道立中央水産試験場)

発酵食品の香気及び機能性の強化に関する研究 (H10~13)  
——乳酸菌の発酵食品中のフラノン生成とその増強に関する研究——  
発酵食品部発酵食品科 富永一哉 田村吉史 柿本雅史 発酵食品部 田中常雄

## 1. 研究の目的と概要

国内ではキッコーマンの研究者が最初、醤油及び味噌の香り物質として 1978 年頃にヒドロキシ・エチルメチル・フラノン (HEMF) を発見しました。1990 年代に入って、ウィスコンシン大学でこの物質に抗腫瘍活性が存在することが指摘されました。最近では、キリンビールの研究者によってビール中にも同物質が発見され、またドイツの研究者はチーズの中にヒドロキシ・ジメチル・フラノン (HDMF) を発見していて、フラノンは発酵食品中に広く分布しています。また、スイスのネスレ社ではフラノン類の生成経路についての研究を進めています。共同研究者である熊本県工業技術センターにおいても、味噌の発酵における HEMF の生成の研究を進めていて、糖とアミノ酸が加熱によって変化した物質 (メーラード物質) がフラノンの前駆体であり、酵母がこれをフラノンに変換しているという発見をしました。

フラノン類は、カラメル様の甘い香りを持ち、味噌などの発酵食品の特徴を示す香り物質です。分析法はガスクロマトグラフ質量分析法 (GC-MS) などで確立されていて、他の生理活性物質を測定する場合より、極めて容易に分析ができます。本研究では、北海道の特産食品中である発酵乳製品、特にヨーグルトとワインにおけるフラノン類の分布を検索し、熊本県との共同研究で開発された技術を用いて、発酵食品中のフラノン類の増強に取り組みました。

### 【実用化または予定される成果】

- ・北海道産の発酵食品、特に、発酵乳製品、ワイン、味噌・醤油等の高付加価値化

## 2. 試験研究の方法

酢酸メチルを用いた抽出法により市販のヨーグルトとワインからフラノン類を抽出し、GC-MS を用いて分析しました。発酵乳製品に多く見いだされる有用乳酸菌のうち代表的なものを用いてフラノン類の生産能を測定し、ヨーグルト試験仕込み中のフラノン類の消長を調べました。ワインについても同様に、原料ブドウ及び試験仕込みをしたワインのフラノンを調べました。

## 3. 実験結果

市販ヨーグルトの分析では、分析限界をやや下回る程度の HDMF を観測しました。いくつかの試験結果から、乳の殺菌過程でフラノンの前駆体が生成していると予想されました (図 1)。また、乳酸菌にはこの前駆体からフラノンを生成する能力があることが分かりました (図 2)。従って、ヨーグルト中のフラノンを増強するには、殺菌工程で如何に前駆体の生成量増やすかと、これを効率良くフラノンに変換する乳酸菌選択することが重要であることが分かりました。現在、モデル製造工程を考

案して、小規模の商業生産設備でフラノン増強ヨーグルトの生産を試みています。

ワインの市販品を分析したところ、通常生で食べられているアメリカ原産のブドウから造られたワインに HDMF が多量に存在することが分かりました (表 1)。試験醸造の結果、果汁にはほとんど含まれていない HDMF が発酵工程の中で生成することが明らかになりました (表 2)。更に、果汁を絞る段階で適当な処理をすることにより、HDMF の生成量を増やすことが可能であることも分かりました。現在、明らかになった増強法を用いて、工場規模の仕込みを行っています。

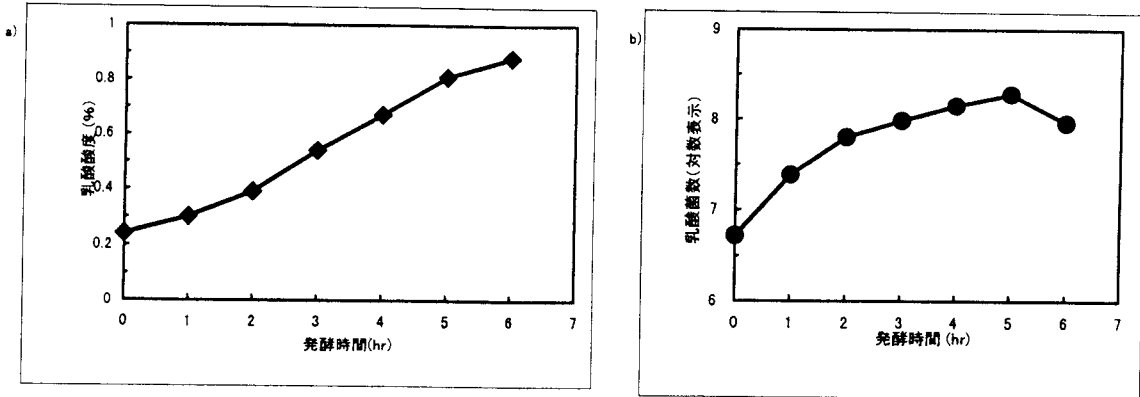


図 1. スキムミルクを使った発酵試験  
 10%スキムミルクを121°C15分間殺菌して、43°Cで発酵した。  
 使用した乳酸菌は、*Lactobacillus helveticus* (B1)と*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (510)で、殖菌量はそれぞれ1.5%。  
 a) 乳酸菌の増殖曲線。  
 b) 酸度の変化。  
 c) HDMFとHMMFの生成量の変化

表 1. 道産ワイン中のHDMF量

原料ブドウの種類	HDMF(ppm)
Niagara	1.3
Kerner	n.d.
Campbell Early	0.8
Seibel Red	n.d.
Seibel Blanc	n.d.
Portland	2.1
Delaware	2.3
Zweigeltrebe	n.d.

n.d.は検出限界以下の意味

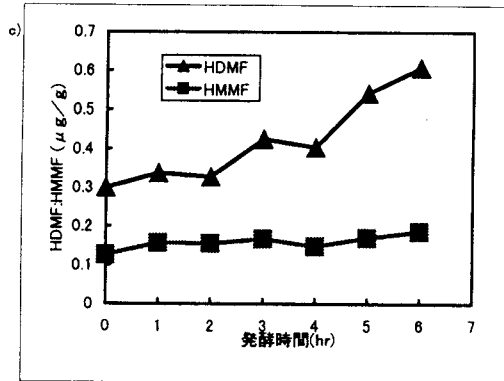


表 2. 異なった原料ブドウを用いたワインの試験仕込み

原料ブドウの種類	HDMF(ppm)	試験区
Campbell Early	0.00	未発酵
Campbell Early	0.18	発酵
Delaware	0.00	未発酵
Delaware	0.32	発酵
Kerner	0.00	未発酵
Kerner	n.d.	発酵
Niagara	0.00	未発酵
Niagara	0.59	発酵

発酵は、W3酵母を用い、20°Cで7日間行った。

n.d.は検出限界以下の意味

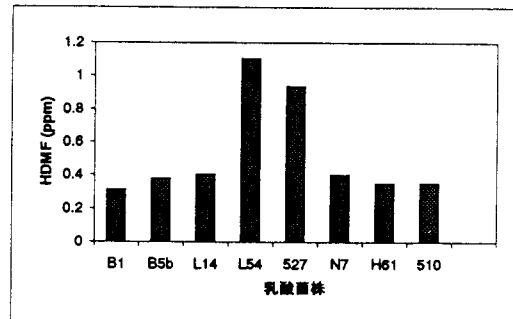


図 2. 10%スキムミルクを43°C、6時間発酵後のHDMF生成量

#### 4. 平成 13 年度の計画

フラノンを強化したヨーグルトとワインの市場性を調査し、製造技術の普及を図ります。

共同研究機関：熊本県工業技術センター、国際醸造蒸留酒センター (ICBD、スコットランド)

## 1. 研究の目的と概要

アロニア果汁の利用を目的として、第一に搾汁率の向上試験を行い、より効率的な果汁の確保を図ることとした。第二に、アロニアグミの試作試験を実施し、加工適性を解明することとした。第三に、10%果汁を想定して、保存安定性の解明と、添加糖類の分子量の大きさによるアントシアニン色素の保護効果を期待して、退色防止技術の検討を行うこととした。

### 【予定される成果】

・アロニア果汁を用いた食品開発(ゼリー、飲料など)と保存性向上技術の確立。

## 2. 試験研究の方法

(1) 搾汁率向上試験：凍結保存したアロニアを解凍してホモゲナイズし、100gを精秤後、直径90mmの濾紙(No.5A)を用いてブフナー濾斗で約30分間減圧濾過した(未処理区)。次にホモゲナイズ試料100gに対し、天野製薬(株)製のペクチナーゼG、ペクチナーゼPL及びセルラーゼT4を各々0.1g添加した(試験区1, 2, 3)。さらにホモゲナイズ試料100gとペクチナーゼG及びセルラーゼT4を各々0.1g、またペクチナーゼPLとセルラーゼT4を各々0.1g添加した(試験区4, 5)。試験区1~5、及び酵素を入れないホモゲナイズ試料100g(対照区)を、300ml容三角フラスコに入れて振とう培養器(TAITEC BR-30L)にセットし、45~50℃で振とう数約200min<sup>-1</sup>に設定して20時間反応させた。反応後、未処理区と同様に濾過し、試料重量に対する濾過液重量の比率で搾汁率を求めた。

(2) グミの試作：アロニア搾汁液100g、クエン酸5g、水飴200g、グラニュー糖150g及びソルビトール5gを加えて沸騰させ、火から下して赤ワイン25mlを加える。一方、ゼラチン(宮城化学工業(株)製 A-U, AP-300, AB-320の3種使用)35gに水50mlを加えて膨潤させて70℃の水槽で溶解し、前述のアロニア溶液が70℃ほどに下がったところに混合して型に充填した。20時間ほど冷蔵した後、型からはずし、表面をコーンスターチで被った。

(3) 10%アロニア果汁の光退色試験：蒸留水27mlに各種糖類(分子量の小さい糖類から順番に、グルコース、ソルビトール、マルトース、スクロース、トレハオース、イソマルトオリゴ糖、エスイー100(日研化学(株)製の糖アルコール))を3g、6g、9g溶かし、それらの溶液18mlをアロニア搾汁液2mlと混合して、各種糖類の10%、20%、30%溶液を作製した。それらの溶液を分光色彩計の透過型セル(蓋付)に入れ、80℃・40分間湯殺菌後、ライトボックスNEW5000上に置いて、内面を鏡にした容器をかぶせ、経時的に色調の変化を測定した。容器内の平均温度は31.1℃であった。

## 3. 実験結果及び考察

(1) 搾汁率向上試験：表1のように酵素処理による搾汁率の向上効果は認めら

れた。しかし、未処理でも70%以上の搾汁率を示しており、実用上は酵素処理を必要としないと考える。なお、セルラーゼT4処理では濾過効率が悪く、搾汁率は測定できなかった。

(2) グミの試作：試作グミの水分活性は、3種類とも0.81であり、保存性を考慮するともう少し低い値に上げることが望ましい。表2のように弾力性はAP-300、AB-320で良好で渋味もほとんど感じられず、官能審査(n=20)では良い評価を得た。

(3) 10%アロニア溶液の光退色試験：アントシアニンは、色素自体や共存する化合物とコピグメンテーションし、分子間で複合体を形成して濃色化、安定化することが知られている。本実験では、各種糖液によるコピグメンテーション効果の有無を観察した。図1のように糖濃度が高くなるに従って明度(L\*)が下がり、全ての糖類で濃色化が認められた。図2では、グルコースなどで添加糖濃度が高くなるに従って色調変化は小さく、安定化傾向がみられた。また、昨年度の粉末の光退色試験から推測して、分子量が大きいほど色素の保護効果が高いと考察したが、イソマルトオリゴ糖添加液などの色調変化はグルコースよりも大きく、高い分子量ほどアントシアニン色素の保護効果があるとはいえなかった。

表1 アロニアの酵素利用による搾汁率の比較

試験区	未処理	対照	ヘクチナーゼ		セルラーゼ		ヘクチナーゼ&セルラーゼ	
			G	PL	T4	G&T4	PL&T4	
搾汁率(%)	74.5	71.4	78.1	77.9	—	79.4	80.3	

表2 グミの官能審査

ゼラチン	弾力	渋味
A-U	3.2	3.6
AP-300	3.7	3.7
AB-320	3.6	3.8

※ 5：良い～1：悪い

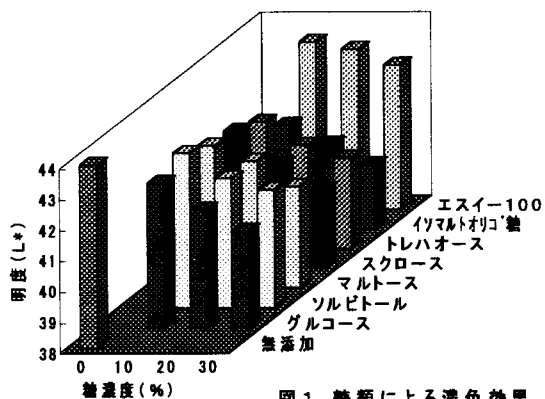


図1 糖類による濃色効果

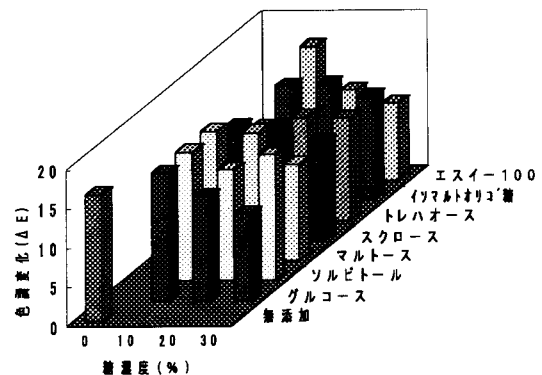


図2 10%アロニア溶液の光退色(9日目の変化)

#### 4. 要約

- (1) グミの試作加工を行い、良好な結果を得た。
- (2) 10%アロニア果汁に各種糖類を添加し、その色素の保存安定性を解明した。  
(受託研究 農林水産省/北海道農業試験場 北海道大学)

## 1 研究の目的と概要

中華麺の品質は原材料の特性及びその加工方法により決定され、主原料である小麦粉の品質は、原料小麦の品質に大きく依存している。特に北海道産小麦を原料とする場合、同一品種であっても生産年次や産地により原料小麦の品質に変動が認められる。そこで、本研究では道産小麦の新規需要（中華麺）の開拓を目的に、安定した品質の道産中華麺用小麦粉を作出するためのブレンド技術の開発と、これらブレンド粉を用いて麺色や食感に優れた中華麺の製麺加工技術を開発する。

予定される成果

(例)・道産小麦を用いた中華麺の開発 ・中華麺適性の持つ品種の育成

## 2 試験研究の方法

### (1) ブレンド試験

供試材料：①「ホクシン」と「ホロシリコムギ」のブレンド粉

②「ホクシン」と「春よ恋」のブレンド粉

それぞれテストミルによる歩留 45%の小麦粉を用いた。

ブレンド方法：9:1、8:2、7:3、6:4、5:5の比率で調製したもの

中華麺の配合割合：小麦粉 100%、かん水 1%、食塩 1%、水 33%

中華麺の分析項目：麺帯の色調変化とレオメーターによる生麺の引張試験

およびゆで麺の切断試験

### (2) 物性改良試験

供試材料：「ホクシン」と「ホロシリコムギ」（いずれも市販品）のブレンド粉(5:5)

対照として市販中華麺用粉（外国産小麦）を用いた。

改良剤：卵白粉、グルテン、パン用改質グルテン剤

中華麺の配合割合および中華麺の分析項目：(1)と同様

## 3 実験結果

(1) 麺帯色 (L\*) については、ホクシンの比率が低くなるにつれ明らかに低下し、茹麺の切断強度は逆に高くなる傾向を示した。色調と物性値に負の相関があるため、色調では問題があるが、物性値を考慮するとホクシン：ホロシリコムギが6：4または5：5がバランス的にも利用可能であると考えられた。また、生麺の物性値の結果からは、ブレンドにより対照粉に近い物性に変化することがわかった(図1)。この結果は、生地物性の向上を示しており、実用化の可能性を示唆している。

(2) 単独での使用により効果が確認された改良剤を複数組み合わせることにより、実用化に向けた物性改良試験を行った。麺帯色 (L\*) の変化はいずれも対照粉よりも良好な結果を示した。切断強度も対照粉にはわずかに及ばないが、大幅に改良され

た。製麺性、麺の色、物性値のいずれも改良されたことから、配合比をさらに工夫することにより実用化の可能性は高いと判断された（図2）。

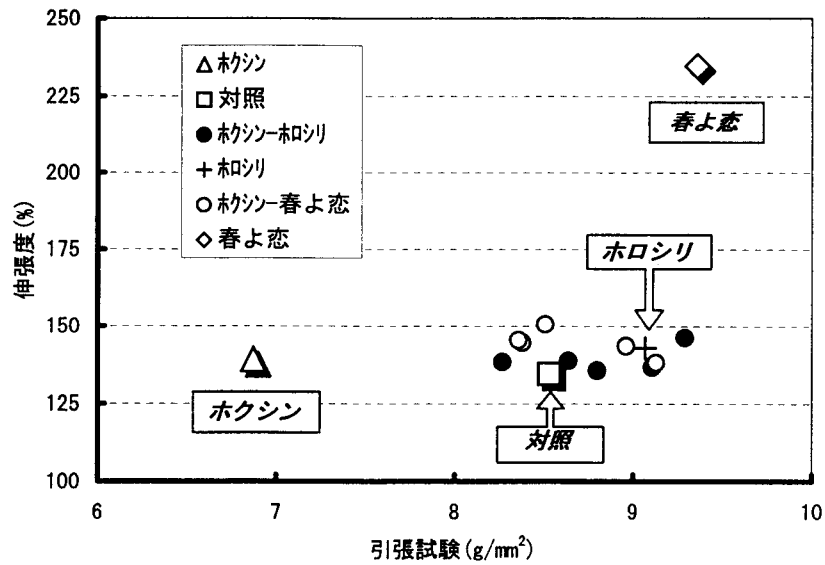


図1 ブレンド粉の種類と生麺物性の関係

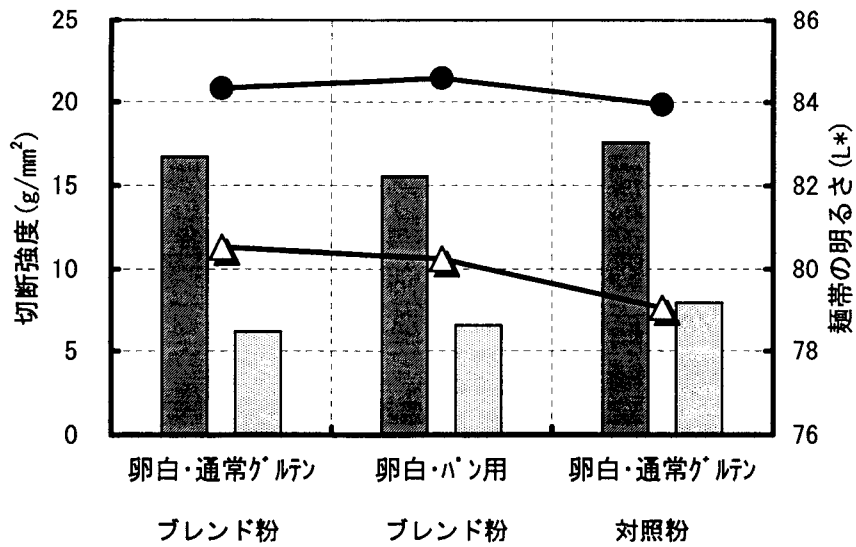


図2 複数改良剤による色と切断強度の変化

#### 4 要約

色の良好な品種と物性値の良好な品種を用いてブレンドを行い、中華麺加工適性について検討した。その結果、ブレンドにより製麺性、麺の物性値が改良された。さらに物性改良剤を用いることによって良質な中華麺が製造可能であった。

(受託研究 食糧庁) (共同研究機関 道立中央農業試験場)



## 難消化性成分の機能性を活かした米の新規用途技術開発（平成12年度）

加工食品部 農産食品科 岩下敦子 山木一史 中野敦博 楨賢治

### 1. 研究の目的と概要

米粒中には人の消化器官により消化され難い成分が数%程度含まれているが、これらの成分は人の健康に関する様々な生理機能を持つことが明らかにされつつある。

本課題では道産米の難消化性成分について検討し、現行の道産品種には難消化性タンパク質および澱粉が府県産品種より豊富に含んでいることを明らかにした（中央農業試験場）。また、これら成分の生体に対する機能性を評価・確認するためラットにおいて大腸癌リスクとの関係を研究している（中央農試・北大担当）。

当センターでは、新たな医療・健康食品用途開発のための基礎技術を確立することを共通の目的として、これら特定成分の効率的分画・精製技術の開発（平成11年度）や、新規用途開発（平成12年度）をおこなった。

#### 予定される成果

難消化性澱粉を多く含む加工処理により調製した米粉を利用して新規の機能性食品の開発が可能となる。

### 2. 試験研究の方法

#### ①難消化性澱粉含量を高める加工処理法

炊飯後、冷蔵保持し澱粉を老化させ凍結乾燥、または低温除湿乾燥し粉碎した米粉を調製した。

#### ②調製米粉の消化性

生米粉、炊飯後通風乾燥した $\alpha$ 化米粉、老化処理後凍結乾燥（FD）した米粉（以降、老化FD米粉とする）を試料として、中央農業試験場柳原らの考案した酵素分解法により消化性を測定した。

#### ③ 調製米粉を用いた新規用途開発

調製米粉を用いて錠剤型菓子を試作した。

### 3. 実験結果および考察

① $\alpha$ 化（糊化）澱粉は低温（5～10℃）におかれることで老化が進むことから、理論的には低温除湿乾燥機による10℃以下の乾燥が最も難消化性澱粉含量が高くなると予想された。しかし、炊飯米および米粉の糊化物は粘度が高く、中心部までの乾燥効率が非常に悪くなるため、低温除湿乾燥による米粉の調製は難しかった。このため、乾燥方法は真空凍結乾燥法とした。

②表1に示したように老化FD米粉において、難消化性澱粉の含有率が $\alpha$ 化（糊化）米粉の約2倍（4.4%→8.9%）に増加していることを確認した。

表1 米粉消化実験結果

	消化残存率	難消化澱粉含有率
生米粉	29.7	27.4
α化米粉	7.8	4.4
老化FD米粉	12.9	8.9

(%)

③機能性を活かした加工方法として、調製した老化FD米粉による錠剤型の菓子の配合表（表-2）、成分分析結果（表-3）および写真を示した。

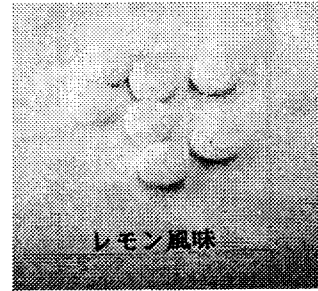
表2 錠菓配合表

<ごま風味>		<レモン風味>		<醤油風味>	
米粉(老化FD粉)	57	米粉(老化FD粉)	62.0	米粉(老化FD粉)	66.4
エタノール	13	エタノール	14.3	エタノール	15.3
エスイーP	5.7	エスイーP	4.1	エスイーP	4.4
すりごま	5.7	パルスweet	5.2	醤油	8.8
塩	0.9	水	6.2	水	4.4
水	17	レモン果汁	6.2	七味唐辛子	0.7
		レモンエッセンス	2.1		

(%)

表3 錠菓成分分析結果

	水分	灰分	脂質	タンパク質	炭水化物	Kcal
ごま	10.9%	2.03%	4.70%	8.12%	74.2%	372kcal
レモン	8.1%	1.57%	0.08%	6.67%	83.5%	361kcal
醤油	9.1%	0.19%	0.23%	7.80%	82.6%	364kcal



加水および加熱を加工工程に取り入れる製品では糊化がおこり難消化性澱粉が減少すると考えられるため、製品開発に老化FD米粉をそのまま成形する方法で錠菓を考案した。その他に機能性を活かした食品として冷菓（プラマンジェ）等への利用が考えられた。

#### 4. 要約

難消化性澱粉含量の高い米粉を調製し、その機能を活かした製品開発として錠剤型菓子の試作を行った。

（食糧庁受託研究）（共同研究機関：道立中央農業試験場・北大農学部共同研究）

謝辞 低温除湿乾燥機の試験を行うに当たり、北海道電力㈱総合研究所電気利用グループ 金野利春主査研究員のご指導・ご協力をいただいた。

## 1. 研究の目的と概要

味噌は大豆と塩に米や麦などを麴としたものを加え発酵させたものであり、熟成では麴の酵素が原料を分解し、酵母が香りや味の丸みを与え、乳酸菌が酸味の付与や塩慣れを促進する。味噌はそれぞれの地域で多様性がある。そのため、求められる特徴によって原料、原料配合、熟成期間の長さ、微生物の添加の有無などが異なってくる。熊本県では通常酵母の添加が行われない麦味噌に酵母を添加し、これまでとは違ったタイプの味噌を造り商品化している。これは酵母を添加していない地方の味噌に酵母を添加し香り豊かな味噌にすることで新たな商品となる可能性が十分あることを示している。同時に、酵母を扱ったことがない味噌企業へドライスターターの需要があることをも示している。また、現在酵母を添加している企業においても、酵母の培養管理から解放されることによるコストダウンが可能となる。このような背景から本研究では、耐塩性の味噌酵母を乾燥化しドライスターターとして、味噌もろみに添加し、香豊かな美味しい味噌を容易に製造できるようにすることを目的としている。本ドライスターターの有用性を確立することにより、現在、酵母の添加を培養液によって行っている蔵では培養管理から解放される。酵母の添加を行っていない蔵では容易に酵母の添加が行えるようになる。ドライスターターを使えば、味噌のコストダウン、省力化そして高品質化が可能になる。本研究ではドライスターターの生菌率の向上と現場における味噌仕込み試験による実用性を確認した。

## 2. 試験研究の方法

2-1 ドライスターターの生菌数の向上：数種類の培地により耐塩性酵母 *Zygosaccharomyces ruxii* M2 を培養し、乾燥化後の生菌数を測定した。

2-2 現場味噌仕込み試験：京都府3ヶ所、静岡県1ヶ所そして北海道2ヶ所の合計6ヶ所の味噌蔵で、現場味噌仕込を行った。各味噌蔵において右の表に示したような試験区を設定した。酵母、遊離アミノ酸、HEMF を測定した。

試験区分	麹歩合	酵母添加量	
A1	8	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
A2	8	9.5×10 <sup>8</sup> 個/g	
A3	15	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
A4	8	無添加	
B1	8	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
B2	8	9.5×10 <sup>8</sup> 個/g	
B3	15	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
B4	15	9.5×10 <sup>8</sup> 個/g	
B5	8	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	培養液酵母添加
B6	8	無添加	
C1	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
C2	10	無添加	
D1	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
D2	10	9.5×10 <sup>8</sup> 個/g	
D3	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	日本甜菜製糖株式会社酵母使用
D4	10	無添加	
E1	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
E2	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	通常使用酵母
E3	10	無添加	
F1	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	
F2	10	1.9×10 <sup>9</sup> 個/g	通常使用酵母
F3	10	無添加	

## 3. 実験結果

3-1 ドライスターターの生菌数の向上：食塩濃度、培地成分、糖添加方法そして菌体洗浄の培養条件を検討し、3×10<sup>10</sup>個/gの生菌数を確保することが可能となった。

3-2 現場味噌仕込み試験：京都府B社と北海道E社の酵母数、HEMF量の変化を図1～4に示した。仕込み味噌のタイプによって熟成程度は異なるが、いずれも順調に進んでいた。

B社、E社共に液体培養した酵母添加区を設定している。両社とも添加直後では培養酵母添加区においてもドライスターター添加区同様に添加量よりもかなり低い生菌数を示す。しかし熟成が進むと  $10^6$  個/g 以上に達し、すべての試験区が確実に増加してた。ドライスターターが培養液添加と遜色ない生育を示していることが明らかとなった。両社とも酵母添加区では 11 日目に HEMF が確認され、初期生成量は液体酵母添加が勝っていた。ドライスターター添加区ではいずれも培養酵母添加区の半分程度であるが、原料臭防止には充分以上の生成量である。酵母の減少が緩やかで熟成終了時まで酵母が残っていたことにより HEMF の生成も続いた。

両社ともドライスターターは培養液添加された通常使用している培養酵母には HEMF の生成でわずかに遅れたが、味噌もろみ中で充分有効に働いた。いずれの試験区においても有効にドライスターターが働いていることが確認され、十分な有用性があることが確認できた。当ドライスターターは培養酵母と置き換えられるものであることを示している。

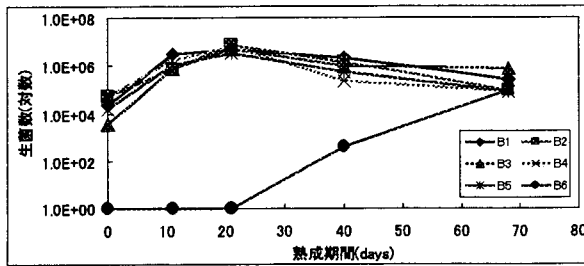


図1 B社熟成中の酵母数変化

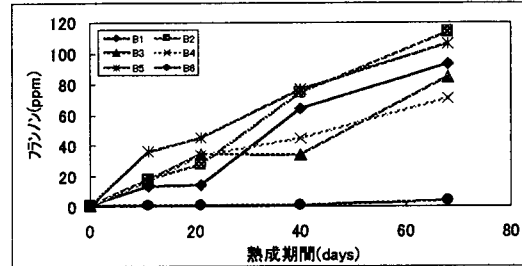


図2 B社熟成中のフラノン変化

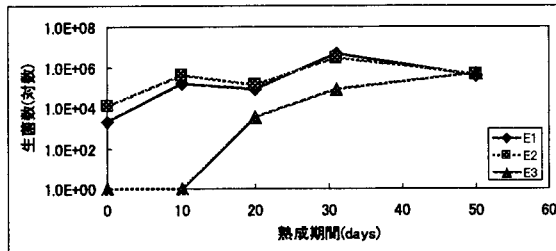


図3 E社熟成中の酵母数変化

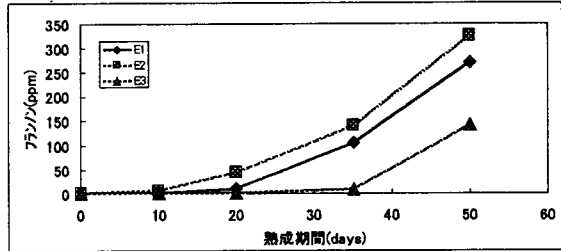


図4 E社熟成中のフラノン変化

#### 4. 要約

高い生菌数を持つ耐塩性酵母のドライスターターを開発した。さらに本ドライスターターの品質向上のため生菌数の向上方法を検討し、高い生菌数を持つドライスターターの製造条件を作り上げた。次いで、ドライスターターを味噌もろみに添加すると確実にもろみ中で働き、味噌らしい香りの付与を行っていることを示した。

(受託研究 食品産業センター)

(共同研究機関：北海道大学大学院農学研究科応用菌学分野 (株菱六))

## 2 技術普及・指導

### 2-1 食品加工相談室

食品製造企業等が行う新製品開発、新技術導入などの各種技術相談に応じる窓口として「食品加工相談室」を開設する。

- 1 相談内容 食品加工に関すること
- 2 申し込み 随時
- 3 相談方法 電話、来所、文書いずれの方法でも可能
- 4 相談窓口 江別市文京台緑町589番地4 食品加工研究センター内

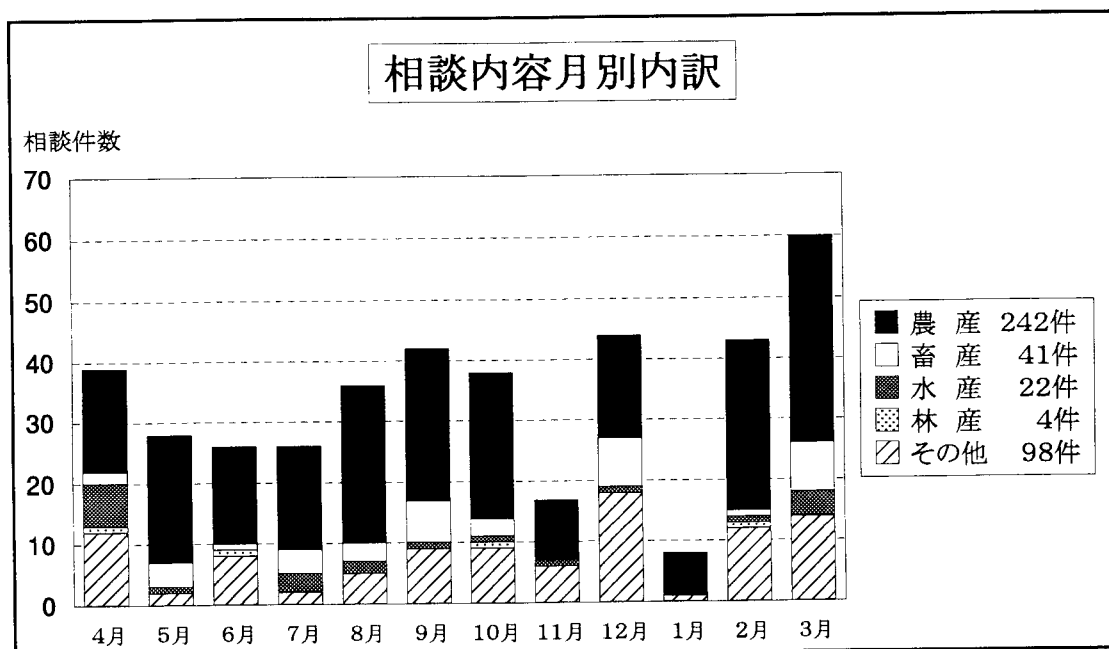
#### 【平成12年度報告】

相談件数については、総数 407 件となっており、相談方法別にみると電話が最も多く、食品製造企業等から気軽に相談が持ち込まれている。

また、相談内容については、加工方法、品質・評価、装置機械などの食品加工技術全般にわたる内容となっており、全道各地から相談が持ち込まれた。

- 1 相談件数 総数 407 件
- 2 月別相談状況

区分\月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
相談件数	39	28	26	26	36	42	38	17	44	8	43	58	407
面接	19	12	12	12	13	17	9	6	17	2	11	20	150
電話	18	14	11	13	19	22	23	7	26	6	32	34	225
文書	0	2	0	0	2	3	3	0	0	0	0	3	13
E-Mail	1	0	3	0	2	0	2	4	1	0	0	1	14
その他	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2	5



## 2-2 食品工業技術高度化対策指導事業（現地技術指導）

食品製造企業等が行う新製品開発等を支援するため、各企業等からの依頼を受けて、研究員を派遣し、食品加工技術についての助言や指導を行う。

- 1 指導地域 道内各地
- 2 指導対象 道内食品製造企業、食品加工研究グループ等
- 3 申し込み 随時
- 4 指導依頼の方法 電話または文書
- 5 指導を行う者 センター研究員
- 6 費用 無料

### 【平成12年度報告】

全道各地において、124件延べ127日間、研究員を派遣し、製品開発、製造技術、保存技術、品質管理等についての助言や指導を行った。

- 1 指導件数 124件
- 2 指導日数 127日
- 3 支庁別指導状況

区分	指導件数	指導日数	区分	指導件数	指導日数
石狩支庁	36	36	宗谷支庁	4	4
渡島支庁	4	5	網走支庁	6	6
檜山支庁	1	1	胆振支庁	10	10
後志支庁	20	21	日高支庁	—	—
空知支庁	10	10	十勝支庁	12	12
上川支庁	18	19	釧路支庁	—	—
留萌支庁	3	3	根室支庁	—	—
			合計	124	127

## 2-3 移動食品加工研究センター

道内各地域で「移動食品加工研究センター」を開催し、講習会や技術相談、技術指導等を集中的に行う。

- 1 開催内容 (1)講習会  
(2)研究成果発表会  
(3)意見交換会  
(4)個別技術相談会  
(5)現地技術指導 他
- 2 開催時期等 開催時期、場所、内容等については、各支庁等と協議の上、決定する。

### 【平成12年度報告】

8支庁管内において、「移動食品加工研究センター」を開催し、講習会、研究成果説明会や技術相談、技術指導などを行った。

開催支庁	開催地	開催年月日	テーマ
渡島支庁	函館市	13. 3. 9	「地域資源を活用した新商品の成功例について」
檜山支庁	北檜山町	12. 11. 10～12. 11. 11	「道産米の用途開発～ペーパー状食品への加工～」
上川支庁	美瑛町	13. 1. 29～13. 1. 30	「チーズ製造技術について」 「飲むヨーグルトの作り方について」
留萌支庁	留萌市	13. 2. 26～13. 2. 28	「食品の衛生と表示について」 「食品の機能性について・・・骨粗鬆症から便秘まで」
宗谷支庁	稚内市	12. 11. 13～12. 11. 14	「道内他地域の食品開発状況について」 「地域特性を活かした新しい食品の開発」
日高支庁	浦河町	13. 3. 21～13. 3. 22	「地場産品を利用した商品開発事例」 「食品のおいしさと鮮度保持技術」 「食加研で取り組んだ食品加工・評価技術の紹介」
釧路支庁	釧路市	13. 2. 14～13. 2. 15	「最近話題の機能性食品について・・・カルシウムを中心に」 「サケ皮コラーゲンの性質と利用について」
根室支庁	中標津町	12. 7. 18	「深層水と食品加工研究センターの取り組み」 「水産物に含まれる機能成分」

## 2-4 技術講習会

食品加工に関する新しい製造技術等について、外部講師やセンター研究員による講習を行う。

### 1 食品加工高度技術講習会

- (1) 開催場所 食品加工研究センター
- (2) 対象者 食品製造企業等の研究者、技術者等
- (3) 開催回数 年間1回（1回の講習期間－2日程度）
- (4) 開催方式 座学及び実技講習

### 2 地域食品技術講習会

- (1) 開催場所 食品加工研究センター
- (2) 対象者 市町村立等食品加工（研究）施設の技術指導者等
- (3) 開催回数 年間1回（1回の講習期間－2日程度）
- (4) 開催方式 座学及び実技講習

### 【平成12年度報告】

次のとおり技術講習会を開催した。

#### 1 食品加工高度技術講習会

講習会の名称	開催年月日	参加者数
食品成分分析技術講習会	12.11.16～12.11.17	49

#### 2 地域食品技術講習会

講習会の名称	開催年月日	参加者数
微生物管理技術講習会	12.10.3	16



## 2-5 技術研修生の受入れ

食品製造企業等の技術者の資質向上を図るため、随時、研修生を受け入れる。

- 1 研修内容 食品加工に関する技術の修得
- 2 申し込み 随時
- 3 研修期間 原則として6ヶ月以内
- 4 費用 無料（ただし、研修に関する試料、消耗品などは企業負担）

### 【平成12年度報告】

26企業31名の研修生を当センターに受け入れ、各種食品加工技術の向上を図った。

	研 修 項 目	研 修 期 間
1	ホタテ軟体部のエキシ化技術の修得	12. 4. 1～12. 8. 18
2	蛍光ディフレンシャルディスプレイ装置を用いた遺伝子解析技術の取得	12. 4. 1～12. 6. 30
3	ホタテミトコンドリア遺伝子DNAの調整、及びミトコンドリア遺伝子DNAの制限酵素切断パターンの解析	12. 4. 1～12. 9. 30
4	チーズ製造技術の修得	12. 4. 1～12. 9. 30
5	マルトース価、損傷澱粉及び粒度分布の測定技術の習得	12. 4. 1～12. 10. 31
6	サザンブロット及びコロニーハイブリダイゼーションに関する技術の取得	12. 4. 1～12. 7. 19
7	微生物培養及び画像データ収集技術	12. 4. 1～12. 5. 31
8	培地による微生物検査、及びその他衛生管理技術について	12. 4. 1～13. 3. 31
9	培地による微生物検査、及びその他衛生管理技術について	12. 4. 1～13. 3. 31
10	種の全般的な性能の改良について	12. 5. 17～13. 1. 26
11	食品の微生物検査及び栄養成分分析技術の修得	12. 5. 22～12. 7. 22
12	食品及び医薬品に係る微生物管理技術の修得	12. 5. 22～12. 8. 31
13	微生物菌体内タンパク質の遺伝子配列解析に関する技術について	12. 6. 1～13. 3. 31
14	微生物菌体内タンパク質の遺伝子配列解析に関する技術について	12. 6. 1～12. 11. 30
15	装置処理水における界面活性力の測定技術について	12. 6. 1～12. 11. 30
16	電気泳動法を用いた食肉加工品中の異種蛋白の同定について	12. 7. 3～12. 12. 28
17	食品中の微生物相解析技術について	12. 6. 19～13. 3. 15
18	食品の衛生管理技術について	12. 7. 1～12. 12. 31
19	砂糖類を利用した食品の乾燥・粉砕・成形等に関する技術について	12. 7. 1～12. 11. 30
20	イオン交換繊維による脱金属法について	12. 7. 1～12. 12. 31
21	ジャガイモを使った加工食品の開発について	12. 7. 17～12. 12. 31
22	植物病原菌抑制メカニズムの解明に関する技術について	12. 7. 18～12. 12. 31
23	縦型スキンナーを用いて剥皮した豚の内質評価に関する技術について	12. 7. 24～12. 11. 30
24	微生物検査に伴う技術について	12. 8. 1～12. 9. 30
25	微生物管理に係る技術について	12. 8. 9～12. 10. 31
26	ワイン成分の分析技術について	12. 10. 1～13. 3. 31
27	牛乳受入に係る分析検査技術について	12. 9. 28～13. 3. 17
28	植物病原菌抑制メカニズムの解明に係る技術について	12. 9. 28～13. 3. 27
29	イオン交換繊維による脱金属法及びホタテ内臓成分分析技術について	12. 11. 1～13. 3. 31
30	チーズに由来する呈味及び匂い物質の同定について	12. 12. 1～13. 3. 31
31	食品の一般栄養分析、及び付帯する一般分析技術等について	13. 1. 15～13. 3. 31
	合 計	31名（26企業）

## 2-6 試験測定検査機器及び加工機械の開放

食品製造企業等の研究開発を支援するため、試験測定検査機器や加工機械を開放する。

### 1 主な開放機器

- (1) 試験、測定及び検査機器      ガスクロマトグラフ質量分析計、核磁気共鳴装置、透過型電子顕微鏡、走査型電子顕微鏡、X線回折装置、近赤外分光分析計、高速液体クロマトグラフ、粒度分布測定装置、F値測定装置、原子吸光分光光度計、自記分光光度計 他
- (2) 加工機械      チーズ製造装置、エクストルーダー、超高压処理装置、薄膜真空蒸発装置、膜分離装置、遠赤外線減圧・常圧乾燥機、マイクロ波減圧乾燥機、噴霧乾燥機、加圧・減圧かくはん試験機、試料粉碎機、超遠心粉碎機 他
- (3) オープンラボラトリー施設      全自動食塩定量装置、全自動セニ分析装置、アルコールアナライザー、水分活性測定装置、K値測定装置 他
- (4) バイオテクノロジー開放試験室      クリーンベンチ、高压滅菌機、バイオリアクター装置、恒温恒湿装置、顕微鏡及び画像解析装置 他

2 利用金額      2,400～50,900円/日

### 【平成12年度報告】

設備使用実績は次のとおり。

(単位：日)

試験測定 検査機器	加工機械	オープンラボ ラトリー施設	バイオテクノロジー開放試験室	合計
13	59	4	—	76

## 2-7 依頼試験分析

食品製造企業等からの依頼により、試験分析を行う。

- 1 依頼試験 一般生菌数、大腸菌群、耐熱性菌数、PH測定、粘度測定、色測定、比重測定、屈折率測定 等
- 2 依頼分析 灰分分析、水分分析、たんぱく質分析、脂質分析、繊維分析、食塩分析、アルコール分析、脂肪酸組成分析、アミノ酸組成分析、有機酸組成分析、無機質分析 等
- 3 手数料金額 2,300～54,820円/件

### 【平成12年度報告】

次のとおり試験分析を行った。

区 分	申 込 件 数	試験分析件数
試 験 分 析	58	181

## 2-8 食品加工リサーチプラザ

食品工業における業種や技術別の共通課題を検討するとともに、産官の研究者や技術者の交流を図るため、各種研究会を開催する。

### 【平成12年度報告】

技術別、業種別に食品加工リサーチプラザを開催した。

区 分	研 究 会 名	開 催 年 月 日	出 席 者 数	開 催 地
食品加工 リサーチ プラザ	冷凍食品技術研究会	12. 7. 27	19	江別市
		12. 10. 25	15	〃
		13. 1. 25	50	札幌市
	新技術セミナー	13. 2. 14	70	江別市
	食品バイオ研究会	12. 11. 29	30	〃
		13. 2. 14	90	〃
	北方系機能性植物研究会	12. 7. 4	35	札幌市
		12. 12. 5	120	〃
		13. 3. 14	19	〃
	アロニア研究会	12. 6. 9	26	江別市
		12. 8. 30	24	〃
		12. 12. 7	22	〃
		13. 3. 27	31	〃
	豆くらすたあ	12. 5. 18	23	札幌市
		12. 7. 21	16	〃
		12. 9. 13	14	当別町
		12. 11. 21	17	札幌市
12. 12. 20		20	〃	
13. 1. 17		18	〃	
13. 2. 9		19	〃	

## 2-9 技術情報の提供

### 【平成12年度報告】

- 1 技術情報誌「食加研だより」の発行  
センターの業務案内、研究報告を中心とした技術情報を主な内容として、3回発行し、関係機関、団体などに提供した。
- 2 食品加工研究センター研究報告書の発行  
平成12年度研究成果発表会において、試験研究成果発表会要旨集を発行した。
- 3 図書・資料室の開放  
国内外の食品工業関係専門誌、大学・国公設試験研究機関から提供を受けた図書、報告書類を一般に開放する。  
＜図書・資料室利用時間＞  
月曜日～金曜日 9：00～17：00  
ただし、祝祭日、年末年始は休館。

## 2-10 その他

### 1 技術審査

国、団体等からの依頼を受けて、製品の品質や新開発技術の内容について、審査を行った。

内 容	依 頼 者	部 別 審 査 件 数			
		加 工 食品部	発 酵 食品部	応 用 技術部	計
推奨申請に係る技術審査（1次）	(社)優良道産品推奨協議会	12			12
推奨申請に係る技術審査（2次）	(社)優良道産品推奨協議会	10	32		42
研究開発助成に係る技術審査	(社)北海道中小企業振興基金協会	1	1		2
高度技術開発委託及び研究開発助成に係る技術審査	(財)道央テクノポリス開発機構			4	4
研究開発支援に係る技術審査	(財)北海道科学・産業技術振興財団			1	1
技術開発補助に係る技術審査	北海道経済部	1		1	2
新産業創出奨励に係る技術審査	北海道経済部	3		1	4
合 計		27	33	7	67

### 2 展示会・紹介展

センターの試験研究と技術開発成果を展示会等に出展し、技術の普及振興及び交流を図った。

展 示 会 等 の 名 称	主 催 者	開催地	開催期間
平成12年度研究発表会	食品加工研究センター	札幌市	12. 4. 27
2000試験研究機関おもしろ祭り	北海道	札幌市	12. 7. 25
サケと私たちの暮らし～食卓のサケ～展	(財)千歳青少年教育財団 千歳サケのふるさと館	千歳市	12. 9. 9 ～ 11. 30
バイオジャパン2000	(財)バイオインダストリー協会	東京都	12. 9. 26 ～ 28
2000えべつ消費者まつり	江別市	江別市	12. 10. 7
ものづくりフェスタ in 江別 2000	ものづくりフェスタ in 江別2000実行委員会	江別市	12. 10. 28
インターナショナルトレードショー 北海道産業フェア	国際青年会議所世界会議札幌大会	札幌市	12. 11. 7 ～ 11
2001年北海道技術・ビジネス交流会／特許流通フェア北海道	北海道通商産業局、(財)北海道地域技術振興センター	札幌市	13. 1. 19 ～ 20
豆 食品札幌所巡り	札幌圏豆くらすたあ	札幌市	13. 3. 18 ～ 20

### 3 講習会などへの講師派遣

市町村、団体等からの依頼を受けて、センター研究員を講師として派遣した。

講習会等の名称	派遣日	派遣地	依頼者	派遣者
北大先端科学技術共同研究センター機能水プロジェクト	4. 20	札幌市	機能水プロジェクト	柿本雅史
空知学校給食連絡協議会栄養士部会研修会	6. 5	砂川市	空知学校給食連絡協議会	池田隆幸
北海道機械工業会 食品機械研究会	6. 26	江別市	北海道機械工業会	熊林義晃 柿本雅史 阿部 茂
製パン講習会	6. 27	斜里町	斜里町農業振興センター	山木一史
農業低温科学研究会食品部会第7回セミナー	7. 13	帯広市	農業低温科学研究会	山木一史
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	7. 25~27	砂原町	北海道食品産業協議会	長島浩二 中川良二
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	8. 8~10	留萌市	北海道食品産業協議会	柿本雅史 中川良二 岩下敦子 奥村幸広
夏期酒造講習会	8. 24~25	札幌市	北海道酒造組合	下林義昭 富永一哉 柿本雅史
愛別町特産品(きのこ)加工に関する研修会	8. 29	愛別町	愛別町特産品研究会	岩下敦子
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	8. 29~31	中標津町	北海道食品産業協議会	田村吉史 川上 誠
北網圏農業談話会・オホーツク農業技術情報連絡協議会 共催シンポジウム	9. 1	訓子府町	北網圏農業談話会・オホーツク農業技術情報 連絡協議会	横 賢治
第3回製麺講習会	9. 6	札幌市	木田製粉(株)	山木一史
北海道フードシステム研究会	9. 8	江別市	(社)北海道冷凍食品協会	清水條賢
清酒貯蔵・出荷管理講習会	9. 14	札幌市	北海道酒造組合	柿本雅史
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	9. 19~21	江別市	北海道食品産業協議会	長島浩二 川上 誠 吉川修司
チーズ講習会	9. 26	天塩町	北留萌地区乳製品加工研究会	田村吉史 川上 誠
札幌商工会議所 バイオ＆食品工業研究会	9. 29	札幌市	機能性食品の開発とバイオマス利用研究分科会	本堂正明
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	10. 17~19	江別市	北海道食品産業協議会	長島浩二 川上 誠 吉川修司
地域特産品研究部会	10. 19	滝川市	江部乙農産加工研究会	田中常雄
平成12年度中央及び後志ブロック保健所生活衛生課 食品健康係研修会	10. 20	江別市	滝川保健所	柿本雅史
冷凍食品技術研究会	10. 25	江別市	(社)北海道冷凍食品協会	阿部 茂
新型乾燥粉砕機テスト評価	11. 2	枚方市	三宝運輸(株)	岩下敦子
氷室を活用した「びばい雪蔵 漬け物」の開発	11. 9	美瑛市	美瑛自然エネルギー研究会	富永一哉
北海道水産加工促進連絡協議会研修会	11. 9	江別市	水産加工促進連絡協議会	大塚忍志

講習会等の名称	派遣日	派遣地	依頼者	派遣者
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	11. 14~16	余 市 町	北海道食品産業協議会	長島浩二 柿本雅史 川上 誠 中川良二 奥村幸広
高齢化対応食品開発検討委員会	11. 20	旭 川 市	(株)旭川産業高度化センター	田中常雄
農産加工食品の見本市	11. 21	札 幌 市	北海道農政部	横 賢治
第1回ばいれいしょフォーラム	11. 22	千 歳 市	北海道アグリフーズ	清水修資 横 賢治 中野敦博
札幌商工会議所 バイオ&食品工業研究会	11. 22	札 幌 市	食品加工新技術利用研究分科会	本堂正明
醸造技術交流会研修会	11. 28~30	江 別 市	北海道地ビール連絡協議会	富永一哉 柿本雅史
新型乾燥粉砕機テスト評価	1. 9	枚 方 市	三宝運輸(株)	岩下敦子
衛生管理講習会	1. 11	江 別 市	ホクレン札幌食肉高度加工場	吉川修司
栽培漁業セミナー	1. 22	札 幌 市	(株)北日本海洋センター	長島浩二
食品加工技術普及講座 微生物検査講習会	1. 23~25	江 別 市	北海道食品産業協議会	長島浩二 川上 誠 吉川修司
JICA農畜水産物安全管理コース	1. 25~26	江 別 市	酪農学園大学	本堂正明 大堀忠志 佐々木茂文 吉川修司
食品加工研修会	2. 1	江 別 市	食海士shari企画協議会	大堀忠志
第16回北方圏国際シンポジウム「公開講座オホーツク ふるさとの海」	2. 5	紋 別 市	紋別市	長島浩二
日本学術会議第3回公開シンポジウム	2. 9	札 幌 市	栄養・食糧科学連絡委員会	渡邊 治
HACCP専門講習会	2. 13	岩 見 沢 市	岩見沢保健所	吉川修司
JICA食品保健行政コース 技術協力研修	2. 14~15	江 別 市	札幌市保健福祉局	井上貞仁 柿本雅史
知床らうす深層水の利活用学習会	2. 23	羅 白 町	羅白町	吉川修司
道北地区酒造研究会	3. 6	旭 川 市	旭川酒造研究同志会	下林義昭 富永一哉
平成12年度高分子学会北海道支部会議	3. 12	帯 広 市	高分子学会北海道支部	清水英樹
平成12年度国内産麦技術情報交換会	3. 13	千 葉 市	食糧庁	山木一史
食品加工指導者養成講座	3. 13~14	中 頓 別 町	中頓別町 農産物加工研究施設	阿部 茂 吉川修司 川上 誠 濱岡直裕
道央テクノポリス圏地域等バイオ研究交流会研究発表会	3. 14	恵 庭 市	(財)道央テクノポリス開発機構	柿本雅史
高齢化対応食品開発検討委員会	3. 19	旭 川 市	(株)旭川産業高度化センター	池田隆幸
JICA食肉及び食肉加工品の保蔵技術コース	3. 21~23	江 別 市	(社)北方圏センター帯広国際センター	井上貞仁



4 学会誌投稿

発 表 題 目	投 稿 者	投 稿 誌 名
キクイモ塊茎由来レクチンの清酒酵母に対する凝集特性	中川 良二 八十川大輔 奥村 幸広 長島 浩二	日本醸造協会誌
キクイモカルス由来レクチンによる泡なし酵母の選択分離	中川 良二 八十川大輔 奥村 幸広 長島 浩二	日本醸造協会誌
Molecular Characterization of a Mitochondrial DNA Segment from the Japanese Scallop ( <i>Patin opecten yessoensis</i> ): Demonstration of a Region Showing Sequence Polymorphism in the Population.	(佐藤 希実) 長島 浩二	Marine Biotechnology
Mechanisms of the Antioxidant Activity of a High Molecular weight Fraction of whey.	(L. M. Tong) S. Sasaki (D. J. McClements) (E. A. Decker)	J. Agri. Food Chem., 48, 1473~1478 (2000)
Impact of Emulsifiers on the oxidative stability of Lipid Dispersions High in Omega-3 Fatly acid.	(E. A. Pecker) (D. J. McClements) (J. R. Mancuso) (L. M. Tong) (L. Mei) S. Sasaki (S. G. Zeller) (J. H. Flatt)	Symposium Series No. 7 88 Omega-3 Fatly Acid :Chemistry, Nutrition and Health Effects Led d by F. Shahidi and J. W. Finley
Improving effect of feeding with a phosphorylated guar gum hydrolysate on calcium absorption impaired by ovariectomy in rats.	渡邊 治 (原 博 ) (青山 頼孝) (葛西 隆則)	Biosci. Biotechnol. Biochem.

発 表 題 目	投 稿 者	投 稿 誌 名
超強力粉を利用しておいしいパン・中華麺をつくる	(山内 宏昭) (高田 兼則) 山木 一史	化学と生物
ブナサケを用いたカツオ節様加工食品の開発と商品化	阿部 茂 (立花 信雄) (田中 雅章)	日本食品科学工業学会誌
フラクトオリゴ糖含有ヤーコンビネガールの製法	本堂 正明 奥村 幸広 山木 携	日本食品科学工業学会誌
高圧処理イヌリナーゼ酵素剤を用いたフラクトオリゴ糖の生産	本堂 正明 奥村 幸広 山木 携 (小野寺秀一) (塩見 徳夫)	日本食品科学工業学会誌
チーズホエーからの食酢製造	田村 吉史	Milk Science

※ 投稿者欄の（ ）書きは、当センター以外の投稿者

## 5 学会における発表

発 表 題 目	発 表 者	発 表 日	学 会 名
キクイモカルスおよび塊茎由来レクチンの発現とその性質の違い	中川 良二 奥村 幸広 川上 誠 長島 浩二	H12. 4. 2	日本農芸化学会
水分散系での高度不飽和脂質の酸化に及ぼす乳化剤の影響	(久保内宏晶) (甲斐 秀仁) 佐々木茂文 (松田 孝二) (宮下 和夫)	H12. 4. 2	日本水産学会
エマルジョン中での油脂の酸化に及ぼす乳化剤の影響	(久保内宏晶) (甲斐 秀仁) 佐々木茂文 (松田 孝二) (宮下 和夫)	H12. 4. 2	日本農芸化学会
Effects of Emulsifiers on the Oxidative Stability of polyunsaturated Lipids in aqueous phase.	(H. Kubouchi) (H. Kai) S. Sasaki (K. Miyashita)	H12. 4. 26	American Oil Chemical Society
腸管と細菌の相互作用に関する2、3の知見 ―ヒト腸上皮細胞株Caco-2を使って―	中川 良二	H12. 5. 9	食品研究交流シンポジウム
ホタテガイミトコンドリアDNAの解析と遺伝子多型	(佐藤 希実) 長島 浩二	H12. 5. 20	マリンバイオテクノロジー学会
Degenerated PCRによる魚類 Type I コラーゲン・サブユニットcDNA断片の増幅および塩基配列解析	長島 浩二 中川 良二 奥村 幸広 川上 誠	H12. 5. 24	マトリックス研究大会
各種電解水のモヤシ製造工程への利用	柿本 雅史 中野 淳博 田村 吉史 富永 一哉 田中 常雄	H12. 6. 17	日本食品保蔵科学会

発 表 題 目	発 表 者	発 表 日	学 会 名
黄色ブドウ球菌検査培地の改良 (第2報)	吉川 修司 (浅野 行蔵) 田村 吉史	H12. 7. 22	日本農芸化学会 北海道支部
サケ鼻軟骨由来コンドロイチン硫酸の新規機能性	中川 良二 長島 浩二	H12. 9. 13	生命工学連合部 会北海道・東北 地方部会
Thiol Antioxidants Modulate Hepatocyte Growth Factor Signaling in Cardiac Myocytes.	(Kazumi Kitta) (Regina M. Day) Takayuki Ikeda (Jeffrey R. Blumberg) (Yuichiro J. Suzuki)	H12. 10. 16	10th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International
北海道産赤ワインのマロラクティック発酵微生物の検索	山木 携 (井関 渉 ) (川口 政憲) 池田 隆幸	H12. 11. 17	日本ブドウ・ワイン学会
植物由来乳酸菌のヒト腸上皮細胞株 Caco-2への付着	中川 良二 奥村 幸広 川上 誠 長島 浩二	H13. 2. 9	生命工学研究総合推進会議ニューバイオ技術検討会
耐塩性酵母を用いた味噌発酵用ドライスターターの開発	田村 吉史	H13. 3. 9	中小食品産業・ベンチャー育成技術開発支援事業成果発表会
キクイモカルス由来レクチン (HTA) の細胞死過程における発現と変動	中川 良二 奥村 幸広 川上 誠 長島 浩二	H13. 3. 24 ~25	日本植物生理学会

発 表 題 目	発 表 者	発 表 日	学 会 名
酵母のミトコンドリア小リボソーム RNA遺伝子の解析	奥村 幸広 中川 良二 川上 誠 長島 浩二	H13. 3.25	日本農芸化学会
乳廃牛を用いた新規乾燥食肉製品の開 発	阿部 茂 井上 貞仁 (西邑 隆徳) (滝澤 克則)	H13. 3.29	日本食肉研究会

※ 発表者欄の ( ) 書きは、当センター以外の発表者

6 出願済工業所有権「特許」

発 明 の 名 称	出 願 年 月 日 出 願 番 号	登 録 年 月 日 特 許 番 号
果実酒およびその製造方法	4. 12. 16	8. 11. 21 特許第2683178号
水産発酵ゲル化食品およびその製造方法	5. 6. 30	8. 9. 5 特許第2556813号
大豆の軟化法	5. 12. 22	9. 6. 20 特許第2663101号
生分解性を有する成形品用原料の製法と生分解性を有する成形品の製法	6. 2. 7	10. 1. 30 特許第2741476号
キクイモ由来レクチン及びその分離精製法	6. 10. 19	9. 6. 13 特許第2660175号
水産発酵食品およびその製造法	6. 10. 25	9. 5. 2 特許第2640088号
海洋生物を原料とした代用皮膚	7. 6. 26	9. 12. 26 特許第2731833号
アルコール飲料の製造法	7. 7. 31	10. 9. 25 特許第2829716号
乳酸菌乾燥粉末の製造方法	8. 4. 25	11. 6. 4 特許第2935101号
魚類ゼラチンの製造方法	9. 4. 4	10. 12. 18 特許第2864459号
黄色ブドウ球菌の検出培地	9. 6. 26 特願平 9-184505号	
豆乳入りアイスクリーム及びその製造方法	9. 11. 10 特願平 9-342332号	
冷凍食品の離水防止剤	9. 12. 5	11. 10. 1 特許第2985953号
カドミウムを除去した魚介類エキスの製造方法	10. 3. 30	11. 5. 28 特許第2933309号
魚類コラーゲンの製造方法	10. 8. 11 特願平10-239584号	

発 明 の 名 称	出 願 年 月 日 出 願 番 号	登 録 年 月 日 特 許 番 号
エンドグルカナーゼをコードする遺伝子	10. 9. 30 特願平10-377864号	12. 7. 21 特許第3089245号
カルシウム吸収を促進する多糖類食品素材およびその製造方法	10. 11. 26 特願平10-353968号	
耐塩性酵母の乾燥菌体スターター及びその製造方法	11. 3. 2 特願平11- 54779号	12. 6. 16 特許第3079096号
肥満及び糖尿病予防を目的とする食品素材	11. 6. 3 特願平11-194845号	
甘味飲料	11. 7. 6 特願平11-191261号	12. 6. 16 特許第3076908号
細菌検出方法	11. 7. 23 特願平11-208647号	13. 3. 30 特許第3172917号
ホタテガイ系統解析方法	12. 5. 16 特願2000-148570号	
$\alpha$ -グルコシダーゼ阻害物質	13. 1. 18 特願2001-45778号	

## 7 視察実績

平成12年度の視察者は、47団体、737人でセンター業務内容の説明、各施設の案内、懇談、意見交換等により普及指導に努めた。

### ○ 月別視察状況

区分 \ 月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月
視察件数	4	1	6	5	1	5	6
視察人数	19	4	167	92	3	134	134

区分 \ 月	11月	12月	1月	2月	3月	計
視察件数	4	2	4	6	3	47
視察人数	64	7	13	64	32	737