

## 添付文書①

【研究プロジェクト名：発酵王国大分が育む地域農水産物を活用した新規加工・発酵醸造食品の高次開発・分析技術基盤の構築】

平成 29 年 9 月 1 日 金曜日 13:00～16:30 別府大学メディア教育センター

1 挨拶 学長 5分

2 研究代表者挨拶と概要 5分

3 アドバイザー紹介 アドバイザー：6社 6名 2分

三和酒類(株)三和研究所 (株)JA フーズおおいた 藤居酒造 (株)

大分県味噌醤油工業協同組合 フンドーキン醤油 (株) (株)山忠

4 研究発表 9名 15分 質疑 5分 計 20分

発表者

発酵食品学科・教授 米元俊一 新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発

発酵食品学科・教授 吉井文子 フレーバー成分の解析による新たな利用法の提案

発酵食品学科・教授 岡本啓湖 醸造食品分野での新規解析法の確立

発酵食品学科・准教授 藤原秀彦 発酵食品製造における汚染微生物検出法の確立

発酵食品学科・准教授 陶山明子 機能性タンパク質の同定および機能解析

休憩 5分

発酵食品学科・教授 大坪素秋 新規加工・発酵醸造食品の機能性評価

食物栄養学科・教授 木村靖浩 発酵微生物が産生する抗炎症性機能成分の探索

食物栄養学科・教授 仙波和代 発酵食品の生体への影響

食物栄養学科・教授 高松伸枝 食品の低アレルゲン化法の確立

5. アドバイザー講評 3分×6人 18分

6 最後挨拶 学部長 3分

7 アンケート回収

参加者

アドバイザー 6名

別府大学 食物栄養学部 15名 短大 5名 大学その他学部 5名 約 31名

各研究者の発表を行った後アドバイザーの質疑応答と最後に全体の講評を伺った。

【全体の講評】と【各研究者への質応答】は次の通りである。

【全体講評】

①当社の素材を評価していただく研究が多く、心強く思いました。もう一歩も二歩も一緒に進んでいけたらと思いました。今後、大分県の発酵食品を価値あるものに変えていくために、別府大学がどのように機能していくかというシステムを構築していくことかと思いますが、

今回の事例以外にも大分県には多くの発酵食品があるので、視野を広げて色々なものを価値化していく取り組みに変わっていくといいなと思いました。(三和酒類株式会社 高下秀春アドバイザー)

②幅広い研究を行っていて凄いなと思いました。当社は大分県内で採れる約 4 割のカボスを取り扱っておりますので、米元先生の研究で精油の抽出を水蒸気蒸留で行っていましたが、コールドプレスでも同じ方向性の結果が出るのか興味があります。また、皮だけでなく果汁も焦点に当てていただきたいという希望があります。将来的には機能性表示までこぎつけると企業的には面白いです。このような点も視野に入れていただけると今後益々広がるのではないかと思います。追記：カボスの皮の精油の香気は 29 年度で実施した。(株式会社ジェイエフーズおおいた 畑辺由治アドバイザー)

③別府大学が地域貢献を目指してされていることを伺いまして、大分県を発酵王国であると表題にさせていただいております、私は酒造会社ですが麴文化や発酵文化に携わらせていただいておりますので一緒にやらせていただく中で健康効果を商品中に盛り込めるようなチャンスが散りばめられていたなと思いました。食品である以上、特保を取得するなど障壁があり、どのように商品に落とし込めるかを感じていましたが、新たに踏み込んでやってみたいと思う研究がございましたので個別にご相談させていただきたいと思います。その際はよろしく願いいたします。(藤居酒造株式会社 藤居徹アドバイザー)

④発酵文化で醤油は高発酵食品と言われていますが、大豆と小麦にて全麴で長期にわたって発酵の微生物の代謝物が濃縮されているのではと思っています。しかし、塩分が高いため 1%~0.5%に脱塩したいいわゆる飲む醤油みたいなもので機能性があると面白いなと感じました。また、当社は香りのない醤油を開発しています。近年、醤油の香りの少ない醤油の需要が多くなっています。香りを抑える麴菌、乳酸菌、酵母を開発できればと研究していますので、今後も何かあればよろしく願いします。(大分県味噌醤油工業協同組合 堺留夫アドバイザー)

⑤大学で食品関係の研究をしていただいていたのは 20 年以上前に大分大学ですが、その後大分県内に食品の研究をして頂ける場所が無くなり、今のように別府大学に研究をしていただけるのは県内の企業としてよかったと思っていました。その後、先生方にテーマを選んでいただき研究していただき、企業ニーズに合う内容を研究テーマに取り組んでいただき、企業として大変ありがたいです。また、別府大学でしか出来ないような県内の食品のニーズや私立大学だからこそして頂けている内容もあり、ありがたいです。今年度昨年度と別府大学の学生を採用していますが、今後も卒業生を期待できる様なテーマを選んで頂けているので今後も期待しています。(フンドーキン醤油株式会社 加藤正アドバイザー)

⑥当社はひじきを取り扱っており、大分県のひじきの生産量は常に全国トップ 3 に入ります。国産の天然のひじきを取り扱っているが足りない状況ですので、大分・長崎・愛媛・山口で栽培しています。量的にはこのように補えているのですが、質的な面で研究をしていただけたらと思いました。特に吉井先生の香りの部分で、私共はひじきや海藻の香りに関する

知見を持っていないため、そういった研究をしていただき、産地によって異なる風味や海外からの輸入品と国産品の違いなどをお客様にデータを基に案内することができたらと思いました。今後ともよろしく願いいたします。(株式会社山忠 戸高義敦アドバイザー)

#### 【各研究者へ講評】

##### 【米元】

Q.多変量解析ソフトを使用されると信憑性のあるデータになると思いますが、使用されるご予定はありますか？(フンドーキン醤油(株)加藤様)

A.今後検討します。

Q.香り成分を抽出すると香りを変化していきますが、収穫前の生の状態のものと比較すると香りは異なるのでしょうか。(フンドーキン醤油(株)・加藤様)

A.香りは異なると思いますが、何らかの関係性があると考えて検討を試みています。

Q.GC-MSの機械の出力設定がされていれば“unknown”は表記されないと思いますが、なぜ表記されたのでしょうか。(三和酒類(株)・高下様)

A.原因はわからないのですが、希釈していくと“unknown”が表示されてしまいます。この件については、後ほどアドバイザーの皆様にご意見をお伺いできればと考えております。追記)今年のテーマで追試を行いある程度解消した。

Q.NiRSの検査を教室でされているようですが、視覚や聴覚の影響が無いような環境を整えて実施すると信頼性の高いデータになると思います。(三和酒類(株)・高下様)

A.今後、ご意見いただいた内容を踏まえて実施していきます。追記)今年のテーマで、より厳格な条件下でもう一回追試を行っている。

##### 【吉井】

Q.植物の採取時期によって、香気が違うのではないのでしょうか。(大分県味噌醤油工業協同組合・堺様)

A.現在は、自分で生育させて利用しているのではなく外部から入手しているもので時的な条件などは揃えられていません。植物なので季節によって香気が変更するということは十分に考えられます。追記)アドバイザーからの質問で、シチトウの収穫時期による香気の違いを指摘いただいた。生育時期による香気成分変化は興味深いですが、栽培時期を考えると収穫時期による香りの変化について研究を開始できるのは来年の5月頃となる。このことから、収穫時期による香気については、将来の課題として、現状は今年度収穫済みの乾燥品を対象として可能な実験を行う。

Q.熱水抽出とは、特別な条件で実験をされるのですか。(大分県味噌醤油工業協同組合・堺様)

A.100 度に沸騰させたお湯での抽出となります。

追記) 外部(第三者)評価の結果、アドバイザーのコメントで、熱水を利用した抽出法には温度や時間の条件を制御した方法が採られる場合があるということであった。本研究では簡便であることから沸騰した水での抽出を採用した。当面は、特別な施設や設備が必要ないため、熱湯、あるいは、数分間水で煮出す(煎じる)等の抽出方法を引き続き行うことにした。

Q.使用法として蚊取り線香などいかがでしょうか。(大分県味噌醤油工業協同組合・堺様)

A 燃やしてしまうと煙臭が強いですが、炭火の熱で間接的な加熱をする方法で良い香りが出る可能性がありますので、その際は分析を行いたいと思います。追記アドバイザーからのコメントで、シチトウのインセンスに関連して、蚊取り線香の提案をいただいた。シチトウのインセンスに他の精油あるいはその成分を添加することも検討したい。芳香に加え、虫などの忌避効果が得られれば、さらに価値が増すものとする。

その他、アドバイザーからのコメントで、大分県のヒジキの生産量は常に全国トップ3であるが、その質の一つである香りに関する研究への期待が寄せられた。実際にヒジキの香気成分についての知見は少ないので、シチトウに加えて、県産品のヒジキのフレーバー成分の分析を、匂い嗅ぎ付き GC-MS を利用して研究期間内に行う予定である。

#### 【岡本】

Q.清酒大分酵母として KET002 とハー4 を獲得されたとのことですが、清酒協会酵母 9 号との違いを主にされていますが、清酒大分酵母の獲得の方向性は何だったのですか。(三和酒類(株)・高下様)

A.清酒大分酵母の獲得として、自然界からの酵母獲得を目指していましたが、自然界からは酵母獲得が出来ませんでしたので、大分県酒造組合の蔵元さんからの酒粕からの酵母獲得に目的が変わりました。清酒製造に使用されたのが清酒協会酵母 9 号ですので、この変異した酵母を見つける必要があります。その方法として一つは DC 染色性の違いで見つけました。清酒協会酵母 9 号の DC 染色性は-ですので、+となる酵母でなければいけません。研究の結果、ハー4 は DC 染色性+で明らかに清酒協会酵母 9 号と違います。しかし KET002 の DC 染色性は-ですので、この点では清酒協会酵母 9 号に類似すると考えられますが、今回発表しました特性で、酸度が高く清酒協会酵母 9 号とは明らかに違います。

Q.二つの酵母は清酒大分酵母として望ましいということですね。(三和酒類(株)・高下様)

A.KET002 とハー4 は *Saccharomyces cerevisiae* ですので、清酒酵母と同族ですので使えます。またハー4 は清酒協会酵母 9 号と DC 染色性では違いますので、清酒協会酵母 9 号の

変異した酵母と考えられますが、特性は清酒協会酵母 9 号に近いことが分かりました。また KET002 は清酒協会酵母 9 号と DC 染色性は同じですが、特性が大きく違いますので、この点につきましては今後遺伝子レベルの解析が必要と考えられます。何れも清酒用大分酵母開発委員会により清酒大分酵母No.1 としてハー4、清酒大分酵母No.2 として KET002 が認定されました。

Q.清酒用大分酵母開発委員会で清酒酒大分酵母の開発をしているのは聞いていたけど、見つけた話は聞いていない。委員長は小松さんですね。小松委員長から聞いていないですが、どうなっているのですか。(藤居酒造(株)・藤居様)

A.清酒用大分酵母開発委員会での研究成果発表は昨年で終わっています。その後も共同研究は続いているのですが、委員会に呼ばれていませんので、どのようになったか私も知りませんでした。今回の発表のために委員長の小松さんにお電話して、今回の清酒用大分酵母開発委員会により清酒大分酵母No.1 としてハー4、清酒大分酵母No.2 として KET002 の認定と、H28 年に清酒用大分酵母No.2 の試験販売 (1.8L×300 本) を (株)小松酒造場で完売したと聞きました。大分県酒造組合の高木専務理事にお電話で問い合わせしましたが、事実でした。また清酒大分酵母No.1, No.2 の使用取り決めも決められるように聞きました。

Q.(株)小松酒造場で製造されたのは純米酒ですか。(藤居酒造(株)・藤居様)

A.純米酒です。

#### 【藤原】

Q.電気泳動の結果を見ると、4 種類の遺伝子検出の必要はなく、2 種類だけでも良いのではないのでしょうか。(三和酒類(株)・高下様)

A.その可能性はあります。ただ、2 種類ですとエラーも多くなる可能性がありますので、一応 4 種類を用いるのが無難かもしれません。

#### 【陶山】

Q.二次元電気泳動とプロテインシーケンサーでタンパク質の活性評価はできますか。(フンドーキン醤油(株)・加藤様)

A.タンパク質の活性評価はできません。二次元電気泳動でできることは、様々なタンパク質が混ざっているサンプルから個々のタンパク質を分離することです。分離後に多彩な検出方法や技術を用いて、サンプル間のタンパク質量の比較や特定のタンパク質の同定が可能です。

Q.プロテインシーケンサーでは、アミノ酸のつながっている数はどのくらいまで分析できますか。(フンドーキン醤油(株)・加藤様)

A.分析に用いるタンパク質の純度が高ければ、20 個以上のアミノ酸の配列を分析・決定することができます。なお 8 個程度のアミノ酸配列が決定できれば、タンパク質が同定できます。

Q.こくや味についてはクルード (いろいろな物質が混ざっている) 状態でしか判断できていないのが現状です。例えば酵母エキスがそうです。今回の手法でこくや味に関するペプチドが分離・分析できるといいですね。(フンドーキン醤油㈱・加藤様)

A.アミノ酸の数が少ないものであれば二次元電気泳動の代わりに HPLC で分離した方が適していると思います。アミノ酸の数が多いものであれば今回の手法のとおり二次元電気泳動で分離することが可能だと思います。分離できればプロテインシーケンサーによるタンパク質の同定は容易であると考えています。

Q.二次元電気泳動からプロテインシーケンサーまでの一連の実験はどのくらい時間がかかりますか。(三和酒類㈱・高下様)

A.二次元電気泳動に 2 日かかります。プロテインシーケンサーはアミノ酸 1 個を分析するのに 1 時間かかりますので、アミノ酸を 20 個分析する場合には 20 時間かかります。

Q.この実験は機能性タンパク質の評価まで全体的につながっていきますか。(三和酒類㈱・高下様)

A.麴の分析を例に挙げると、①材料の違い (米、麦、芋など) ②麴菌の種類の違い (黄麴菌、黒麴菌、白麴菌など) ③麴を作るときの温度の違い、などで味や香りが違います。これは味や香りを作り出す酵素 (タンパク質) の種類や量の違いです。今回の分析法で①~③の条件が違う麴を分析することで、それぞれの麴の味や香りの違いを生み出しているタンパク質を同定し評価することが可能です。

またそれぞれの麴に特徴的なタンパク質があれば分離・同定できますので、機能性タンパク質を評価することが可能です。

## 【大坪】

Q.アンチエイジングの指標としてのミトコンドリアは老化とともにどうなるのか。(三和酒類㈱・高下様)

A.老化とともに心臓、筋肉、脳などの細胞のミトコンドリアの機能の低下が認められる。ミトコンドリアの DNA がミトコンドリアの発生する活性酸素種によって傷つき、ミトコンドリア DNA の傷が蓄積され、ミトコンドリアの数が減少することがミトコンドリアの機能低下の主な原因と考えられている。ミトコンドリアを健康に保つことにより活性酸素種によるミトコンドリア DNA の傷を低下させ、高齢者の健康維持につながると考えている。

【木村】

Q.腸炎が起こると下痢が発生するのか？（フンドーキン醤油㈱・加藤様）

A.下痢は腸炎の一般的な臨床症状の一つである。炎症症状が進行すると血便も生じる。

Q.アルコケアに急性腸炎を抑える作用があるとのことは興味深い結果だ。その結果の資料を是非いただきたい。（三和酒類㈱・高下様）

A. その結果資料を電子メールで送付した（平成29年9月4日）。

【仙波】

Q.今回は直接今後に繋がる結果は出なかったとのことですが、最近の治験で面白い結果が出たものなどご存知ですか。（三和酒類㈱・高下様）

A.今回は実験期間が短かったですが、マウスには半年ほど摂取させる予定ですので、今回とは違う結果が出ると思います。

【高松】

Q.ビール・発泡酒・第三のビールとありますが、今回はどれが対象ですか。また、ビールの飲む量などが関係するのでしょうか。（三和酒類㈱・高下様）

A.ビールが対象でした。量的なものではなく、特定のビールに反応が起こるところからビールによって原材料のホップが異なるため、ホップの一部の成分が原因ではないかと考えています。

Q.症例は国内で何件ありますか。（大分県味噌醤油工業協同組合・堺様）

A.今回が初めての症例です。

Q.オレンジアレルギーは柑橘類全て可能性がありますか。また、加工品は加熱変容され食物アレルギーは発症されないのでしょうか。（㈱ジェイエイフーズおおいた・畑辺様）

A.オレンジのみでなく、グレープフルーツやその他の柑橘類なども可能性があります。加工品は発症されにくいです。大豆アレルギーの方でも味噌や醤油は食すことが可能です。ただし、生揚げ醤油はアレルギーが残るようです。