

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

## 平成 27 年度～平成 29 年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要

- 1 学校法人名 別府大学      2 大学名 別府大学
- 3 研究組織名 食物栄養科学部
- 4 プロジェクト所在地 大分県別府市北石垣 82
- 5 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
- 6 研究観点 地域に根差した研究

## 7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
米元 俊一	発酵食品学科	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数
- 9
- 名

- 9 該当審査区分
- 理工・情報
- 生物・医歯
- 人文・社会

## 10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
米元 俊一	発酵食品学科・教授	新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発	新規農産物・発酵食品・香粧品の評価と提案【目的②】【目的③】
岡本 啓湖	発酵食品学科・教授	醸造食品分野での新規解析法の確立	新規醸造微生物及び新規食品の開発【目的①】【目的②】
大坪 素秋	発酵食品学科・教授	新規加工・発酵醸造食品の機能性評価	アンチエイジング効果、免疫力向上などの健康増進効果の評価【目的④】
木村 靖浩	食物栄養学科・教授	発酵微生物が産生する抗炎症性機能成分の探索	免疫調節作用を有する機能性発酵醸造食品の開発【目的④】
高松 伸枝	食物栄養学科・教授	大分県産発酵食品製造過程における低アレルギー化に関する基礎的研究	食品中のアレルギータンパク質の解析【目的④】
林毅/陶山明子 (新規)	発酵食品学科・准教授	機能性タンパク質の同定及び機能解析	食品中の機能性タンパク質の解析【目的①】【目的④】
吉井文子(新規)	発酵食品学科・教授	新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発	フレーバー成分の解析による新たな利用法の確立【目的②】【目的③】
藤原 秀彦	発酵食品学科・准教授	発酵食品製造における汚染微生物検出法の確立	微生物汚染の早期発見と防除【目的①】【目的⑤】
仙波 和代	食物栄養学科・教授	発酵食品の生体への影響	発酵食品の予防医学への寄与【目的④】

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

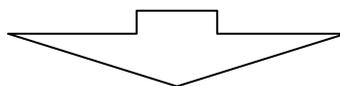
(共同研究機関等)	所属・職名	プロジェクトでの課題	プロジェクトでの役割
高下 秀春	三和酒類(株) 三和研究所 所長	麦焼酎の香味に関する研究	麦焼酎の嗜好度の向上【目的①】【目的②】【目的③】
畑辺 由治	(株)JA フーズおおい た 社長	カボスの香味に関する研究	カボス香味の向上【目的②】【目的③】【目的④】
藤居 徹	藤居酒造株式会社 社長	新規酵母に関する研究	新規酒類の開発【目的①】【目的②】【目的③】
佐藤 哲成	大分県味噌醤油工業 協同組合	新規食品に関する研究	新規醸造品の開発【目的②】【目的③】【目的④】【目的⑤】
小手川 強二	フンドーキン醤油 株式会社 社長	新規食品に関する研究	新規醸造品の開発【目的②】【目的③】【目的④】【目的⑤】
山城 繁樹	株式会社山忠 研究所長	新規食品に関する研究	新規食品の開発【目的③】

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>別紙にて記した。

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
機能性タンパク質の同定 及び機能解析	発酵食品学科・准教授	林 毅	食品中の機能性タンパク質 の解析

(変更の時期:平成29年4月1日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
九州大学・学術研究員	発酵食品学科・准教授	陶山 明子	食品中の機能性タンパク質 の解析
木更津高専・教授	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確立

## 11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

### (1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

本プロジェクトの「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」は、大分県の農水産物や香粧原料について、科学的視点からそれら生物資源の有効利用方法を検討し、素材特性を最大限に生かしながら加工・製品化まで食品や香粧品の幅広い新規開発に取り組み、さらには他の研究機関との各種共同研究を通じて、地域や産業の活性化に寄与する研究をめざすものである。

大分県では、長年にわたり中枢となる生物系の大学研究機関が無かったため、発酵・醸造・加工食品業界での科学的分析情報が少ないのが現状である。この現状を打破するためにも、別府大学はリーダーシップを発揮できる環境を整備・充実させ、これらを基盤に県下の食品業界を科学的観点に基づく研究・開発に取り組めるよう導くことを任と考へ本研究プロジェクトを組織する。具体的には本プロジェクトにおける取り組みの目的は以下の5点に示すことができる。

【目的①】「大分酵母」等、最適の新規微生物の開発:大分県にはまだない「大分酵母」等有用微生物の分離を成功させる。

【目的②】 発酵・醸造食品の分析法によるデータの現状把握:香りも含めた新規分析法を確立する。

【目的③】 新規農水産加工品・香粧製品の開発:範疇を農水産物全般及び香粧原料へと拡大し、開発に繋ぐ。

【目的④】 新規食品・香粧品を科学的に評価する方法の確立:免疫調節作用やアンチエイジング効

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

果も評価法を確立する。

【目的⑤】 微生物汚染の早期発見と防除法の開発:特に腐敗防止のための防除は必須である。

最終的に本プロジェクトにより、本学が地域におけるこれら研究分野の拠点となり研究をリードすること、また食品業界のみならず、保健・医療・香粧分野に於いても産業の活性化と発展に貢献できることを目的としてこの研究を推進した。

## (2) 研究組織

本研究プロジェクトに携わる研究者は本学内が 9 名、学外が 6 名の計 15 名で構成した。詳細は以下の通りである。上記のテーマであるが、3 つの課題に纏めることができる。1 つは香り関係(担当 2 人:米元、吉井)、2 つ目は微生物関係(担当 3 人:岡本、藤原、陶山)、3 つ目が機能性関係(担当 4 人:大坪、木村、仙波、高松)で研究代表者の米元が総括するという体制を取った。また報告会を毎月 1 回定期的に開催(2~3 名発表)し質疑応答し内容を深めた。またこのプロジェクトに参加しない大学院の教員、大学院学生も発表会に参加し質疑応答し議論した。2 年目 5 月に研究者の林毅が死去の為、その後藤原秀彦が研究を引き継いだ。3 年目に新任の陶山明子が赴任し、藤原から引き継ぎ研究を進めた。時間的な制約がある中で研究をやり遂げた。3 年目に香り関係の研究を強化するために吉井文子が参加して香りの研究を進めた。この間、中間発表会を開催し学外のアドバイザーからアドバイス等も頂いた。指摘点はその後の研究にできるだけ生かした。2 年目以降、今回のプロジェクトの延長として企業や大分県の公設試験研究機関との共同研究も始まり分析技術や分析機器を使用し研究を進めた。2 年から 3 年目には分析技術の紹介や焼酎の商品化や特許取得、「大分県ハーブ六次産業化プロジェクト」などで大分県などの外部組織との連携も実現することができた。主要な装置、設備の利用管理に関しては研究者やメーカーによる説明会開催や技術的サポートをプロジェクトメンバーで共有、また大学内外の個別相談に対応した。

### 【学内】

別府大学食物栄養科学部発酵食品学科 教授 4 名、准教授 2 名

別府大学食物栄養科学部食物栄養学科 教授 3 名、准教授 0 名 (学内 計 9 名)

### 【学外】

三和酒類株式会社 三和研究所、株式会社 JA フーズおおいた、藤居酒造株式会社、大分県味噌醤油工業協同組合、フンドーキン醤油株式会社、株式会社山忠 各 1 名 (学外 計 6 名)

## (3) 研究施設・設備等

研究施設の建物としては、別府大学 36 号館発酵食品学科教育研究棟及び 35 号館食物栄養学科教育研究棟及び別府大学大学院食物栄養科学研究科実験室で行った。

本事業の助成により整備した各種分析機器は、①匂いかぎ付ガスクロマトグラフ GC/MS システム (GC-MS-O と略する) (発酵食品学科教育研究棟 4 階 生体機能分子学実験室)、②島津プロテインセンサー (発酵食品学科教育研究棟 4 階 細胞工学実験室) ③糖及びアミノ酸分析システム (発酵食品学科教育研究棟 4 階 細胞工学実験室) ④3 レーザー細胞解析機 (MACSQuant Analyser 1、ミニサンプル付き) (発酵食品学科教育研究棟 3 階・微生物学実験室)、⑤電気泳動・画像解析システム一式 (食物栄養学科教育研究棟 4 階・醸造環境学実験室) ⑥光脳機能イメージングシステム (NIRS と略する) (発酵食品学科教育研究棟 36 号館 521:実験のために大分香りの博物館より移動した)であるがそれぞれ使用時間は①は 2600 時間、②は 448 時間、③は 1500 時間、④は 33 時間、⑤は 2400 時間、⑥は 650 時間の稼働時間の実績であった。これらの研究設備は上記の建物に設置され、プロジェクト参加研究者 9 名、大学院学生 2 名、大学院教員、学生約 100 名が有効に使用した。

(4) 研究成果の概要 ※下記、13 及び 14 に対応する成果には下線及び \* を付すこと。

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

以下研究成果報告書を参照。

**【香り関係】**

1. プロジェクトでの研究課題: 新規農産物・発酵食品・香粧品の分析・開発【目的②】【目的③】

プロジェクトでの役割: 新規農産物・発酵食品・香粧品の評価と提案【目的②】【目的③】

① 本格焼酎の香味に関する研究【目的②】【目的③】

本格焼酎の嗜好を個人の感性・嗜好に関わる脳内情報を脳血流変化量にもとづいた NIRS(Near Infra-Red Spectroscopy)信号で検出できないかを検討したものである。パネリストに外部刺激として本格焼酎の香りを嗅いでもらい、パネリストが飲みたいと感じた時の脳血流変化とそうではないときの脳血流変化の違いについて調べた。その結果、パネルごとに反応の差はあったが、香りに対する反応の違いが NIRS 信号として反映され、パネリストによりそれぞれパターンが違うが共通して反応する部分があり、商品の嗜好性の判定への使用の可能性が示唆された。特に前頭葉の眼窩前頭皮質の脳血流量変化が大小、部位は異なるものの、匂いにより血流量が変化することが確認できた。この領域は情動、報酬価値、食べ物等に対する主観的な喜びの経験、忌避を仲介する役割を持ち、焼酎の香りがここに作用したのではないかと考えられた。また、嗅覚のみでの酒質評価をもとにしたプロファイルを作成し、これによりヒトの好む香りの傾向を年代別、性別ごとに表した。結果として、年齢、性別を問わず酒質に対する評価は大きく変わらないことが明らかになった。ただ焼酎酒質の嗜好度については NIRS による血流量の変化の差はみとめられるが、今後検討の余地があった。

②カボスの精油の香気成分【目的②】【目的③】

GC-MS-O によりカボスは収穫時期により香りと成分が変化することが分かったが、みじん切りの生カボスの皮の精油成分の変化について検討した。その結果、水蒸気蒸留と同様であったが、一般的にβ-ミルセン、メリモネンの量が蒸留製品と比較し少なかった。また官能評価、NIRS 結果でも水蒸気蒸留は加熱臭が生カボス皮の香りは青臭く新鮮であり、NIRS については皮の方が血流量の変化が大きく明らかに差が認められた。対照のユズとの比較で香り成分、NIRS による脳血流量の変化、香りアンケートでも大きく違い、今後競合するユズとの差別化のデータになると考えられた。

③サフランの香気成分に関する研究【目的②】【目的③】

竹田市玉来は国内最大級のサフラン生産地であり、雌しべの先端の赤い部分を乾燥させたものが一般的に「サフラン」と呼ばれて商品化されているが、雄しべや花弁は大量に廃棄されていた。この雄しべ、花弁の持つ香りの有効利用を考えるものが目的である。結果として、雌しべと雄しべと花弁において特有の香気成分が確認出来た。さらに各部位、乾燥、抽出法により特徴のある香り成分が検出された。このことから、生の雄しべや花弁部分も廃棄するのではなく香料として用いる事が出来る可能性が考えられた。しかし、生と乾燥の香りで相当異なっており、乾燥による香気成分への影響が大きく乾燥では雄しべ、花弁の活用は限定的であった。また雄しべ、花弁を利用した、線香、アロマジェル、飲料、食品などについて試作し評価し良好な提案も行った。

④大分県ハーブ六次化プロジェクトの締結【目的③】

竹田市のサフランの研究と大分県農林水産研究指導センターとの香りの共同研究(カボス、カボスブリ、しいたけ、冠地鶏)を進めた。また別府市の鉄輪温泉の蒸し湯に使用されているセキショウの香気成分の季節、乾燥について検討し、アロマ製品の商品化提案も行った。カボス、サフランの香り分析についても同様に行った。特に、カボスブリに関しては魚臭さが減少しており、原因を検討し、今後のカボスブリの販売促進等に応用できると考えられた。大分の農水畜産物の香りの分析と商品開発について概ね達成したと考えられる。

2. プロジェクトでの研究課題: 大分県の特産品であるシチトウの分析とこれに基づく新規利用法の検討【目的②】【目的③】

プロジェクトでの研究の役割: フレーバー成分の解析による農産物の新たな利用法の確立【目的②】【目的③】

① シチトウの香り成分の分析【目的②】

大分県の特産品である七島イ(以下、量表以外の新規利用法も検討するため、シチトウと呼ぶ)の香気成分を GC-MS-O で分析した。その結果、乾燥したシチトウの香りは、ヘキサナールの青臭さに加え、みずみずしさに起因するベラトールと甘さを与えるデカン酸エチルの存在により、やや穏やかな香りとなっていると推定できた。比較のため、イグサの乾燥品も同様に分析したところ、イグサでもヘ

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

キサナールが検出され、ヘキサナールの青臭さに加え、ユーカリプトールと  $\alpha$ カンファーのショウノウ様香気が加わり、含硫化合物の存在も示唆された。

② シチトウの香り成分の抽出と抽出物の特性及び利用法の検討【目的②】【目的③】

植物精油等の抽出に広く用いられている水蒸気蒸留法を利用したが、シチトウの精油はほとんどとれず、精油部は焦げた不快臭を示した。一方、芳香蒸留水はやや良い香りを示した。熱湯抽出物は美しい黄金色で香りが良い。また、シチトウの色素は緑茶の色素とは異なり、親水性が高いエタノールに抽出されやすく、フラボノイド系色素などポリフェノール系のものを多く含む可能性が示唆された。そこで、抗酸化の可能性を知るためシチトウの熱湯抽出物の DPPH ラジカル消去活性を調べたところ、緑茶と同程度の活性を認めた。またシチトウのインセンスへの利用を検討した。【目的③】さらにシチトウの香り成分の再構成と化粧品への利用を検討した。成分の比率は、各成分が添加される濃度を参照した。このまま利用することはできないが、混合比率を変化させること、ベースノートとなるような成分を添加すること、アルデヒド類を別の成分に代替するなどを検討し、調香師と相談し化粧品としての可能性が考えられた。シチトウの香り成分分子の特性を検討した。

③ ヒジキの香り成分の分析 【目的②】

大分県産の乾燥ヒジキの香り成分を GC-MS-O で分析した。その結果、乾燥したヒジキの香りは、ヘキサナールやヘキセナールの青臭い香りの成分に加え、2,6-ノナジエナールのさわやかな香り、酢酸の酸臭、エステル甘い香りが含まれていることがわかった。途中から研究者に加わったが大分のシチトウの香り分析とその応用を行い概ね目的は達成した。

【微生物関係】

3. プロジェクトでの研究課題: 醸造食品分野での新規解析法の確立【目的①】【目的②】

プロジェクトでの役割: 新規醸造微生物及び新規食品の開発【目的①】【目的②】

(1) 「大分酵母」等、最適の新規微生物の開発: 大分県にはまだない「大分酵母」等有用微生物の分離【目的①】

① 九州内で大分県を除く全ての県が独自の清酒用酵母を保有している中、大分県酒造組合では大分県内で得られる生産物から協会酵母に匹敵するような高いエチルアルコール生成能を有し、且つ協会酵母と性質を異にする新酵母を模索していた。そこで大分県酒造組合との共同研究より、大分県酒造組合加盟酒造会社 18 社の酒粕、3 社の生酏より協会酵母との特性比較を基本姿勢として、新酵母の分離・同定・選抜を行い、更に得られた菌株を用いて各種製法により得られた試醸清酒の成分分析、官能検査により清酒用大分酵母の選抜を行った。これらの結果からハ-4 が清酒大分酵母 No. 1、KET002 が No. 2 と命名された。また No. 2 を用いて試験販売し完売した (H28 年)。

② 棚田の特産物として香り米を栽培し、その焼酎としての商品化の開発を開始【目的②】

別府大学には大分県、大分農業文化公園と協定締結した「大分農業文化公園棚田プロジェクト」があり、学生主体の夢米(ゆめ)棚田チームが大分農業文化公園内の棚田で作物の栽培を中心に年間を通じた活動を行っている。大分農業文化公園は標高が高く昼夜の気温差の大きい環境のため、学生達は栽培可能な珍しい水稻品種を探し、香り米(Aromatic Rice)に行き着いた。そこで香り米の新たな利用法として、焼酎麹(*Aspergillus kawachii*)と焼酎酵母(焼酎協会酵母 S-2)を用い、掛米に香り米及びヒノヒカリ米(対照)を加える三段仕込みの焼酎製法による本格焼酎の研究を始めた。掛米としての香り米の最適条件を見出すために、エステル系香り成分を主とする清酒醪用(*Aspergillus oryzae*)及び清酒用協会酵母 901 を用い、更に添加率を減少させることで市場に受け入れられる香り米添加本格米焼酎の製造方法を検索した。その結果、米焼酎の製造には *A. oryzae*、協会清酒酵母 901 を用い、3 段仕込みで第 1 回の製造焼酎ではヒノヒカリ焼酎、10% 香り米焼酎、1% 香り米焼酎で製造した。様々な検討の結果、平成 28 年には常圧水蒸気蒸留による 1% 香り米添加、本格焼酎「夢香米」の商品化に成功し、大分香りの博物館での販売となった。また香り米の品種(長稈、短稈)の相違が焼酎に与える影響を調べ、この結果より平成 30 年に向けての新たな本格焼酎「夢香米」の誕生に繋がった。

③ 本学科卒業生等をリサーチアシスタントとして採用し、技術者及びシステム構築技師としての指導を行なう。【目的①】【目的②】

大分県下醸造業界及び食品業界に高度な解析・開発方法を推進させることであった。GC 分析・解析オペレータ育成システムに従い、HPLC 分析・解析オペレータ育成システムを開始し、学生によるマ

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

ニュアル作成し、HPLC 分析・解析オペレータ育成システムを推進した。

以上、新規微生物の開発、分析技術の確立、オペレータ育成、商品化等、概ね目的は達成した。

#### 4. プロジェクトでの研究課題: 微生物汚染の早期発見と防除【目的①】【目的⑤】

プロジェクトでの役割: ①「大分酵母」等有用微生物の分離【目的①】

環境中に存在する酵母には病原性を有していたり、膜を産生したりして醸造には適していない属・種が多く存在する。また、一般的に醸造に用いられている *Saccharomyces cerevisiae* でもアルコール耐性能や、アルコール生成能等の差異により醸造に適している株、適していない株等が存在する。本研究では、アルコール製造に適した *S. cerevisiae* を簡便にスクリーニングする手法を開発することを目的とした。その結果、協会酵母、熊本酵母、ワイン酵母のゲノム情報を元に、AWA1、BIO6、SSU1、FLO1 の 4 つの遺伝子を増幅するプライマーを設計した。前述の酵母の他に、IFO から購入した *S. cerevisiae* や他属酵母、また本研究室で環境中から分離した酵母をターゲットに、MultiPlex PCR 法を実施した。なお、この際 DNA 抽出の手間を省くためにコロニー PCR にて実験を行った。その結果、効率よく *S. cerevisiae* を選別することができた。また、醸造に適した酵母に関しては、前述の 4 つの遺伝子のうち 2 つ以上を有している株が多いことが明らかとなったことから、醸造に適した *S. cerevisiae* を簡便にスクリーニングする手法が確立された。応用例として今回は *S. cerevisiae* をターゲットとして実験を行なったが、検出する DNA を工夫することで様々な応用が可能となる。例えば、【目的⑤】の微生物汚染に関して、主に発酵に関わる微生物種以外の「汚染」微生物が普遍的に有している遺伝子をターゲットとして本手法を適用すれば微生物汚染の発見に応用ができる。

#### ② 微生物汚染の早期発見と防除法の開発【目的⑤】

発酵には微生物を用い、製品ができるまで一定の日数がかかるためその間に他微生物の混入により微生物汚染が起こる可能性が否定できない。そこで本研究では、そのような微生物汚染の早期発見と防除法の開発を目的とした。その成果、汚染させるターゲットとして、ぬか床及びヨーグルトを用いた。大腸菌培養液、酵母培養液、納豆を混入させ、DNA 抽出後、PCR-DGGE 法にて菌叢の解析を行った。しかしながら、ぬか床、ヨーグルト両者ともに良質な DNA の抽出がされておらず、DNA 抽出に課題が残った。①と②で概ね目的は達成した。

#### 5. プロジェクトでの研究課題: 機能性タンパク質の同定及び機能解析【目的①】【目的④】

プロジェクトでの役割: 食品中の機能性タンパク質の解析【目的①】【目的④】

#### ① *Zymomonas mobilis* アルコール高生産株が産生するタンパク質の解析【目的①】【目的④】

モデル微生物としてテキーラの醸造菌である *Zm. mobilis* が産生するタンパク質について二次元電気泳動及びプロテインシーケンサーを用いた未知タンパク質分析系を確立した。対数増殖期まで生育した *Zm. mobilis* を集菌して-80℃で凍結・常温で溶解処理を行った後、超遠心分離(50,000rpm、30分)した上清をサンプルとした。そのサンプルを二次元電気泳動した後 PVDF 膜に転写し、ポンソーSで染色しタンパク質を分離した。150 個程度のタンパク質を検出した。そのうち高発現タンパク質は 30 個程度であった。高発現タンパク質 18 サンプルについてプロテインシーケンサーで N 末端アミノ酸解析を行った結果、それぞれ 8~24 アミノ酸の配列を決定できた。データベースによる解析で 17 サンプルについてタンパク質が同定できた。そのうち 8 種類のタンパク質はグルコース代謝を担っているエントナー・ドウドロフ(ED)経路と解糖系を構成している酵素であった。さらに、低発現タンパク質について同様に解析したところ少ないタンパク質量(~1 pmol)でも 10 残基程度は問題なくアミノ酸配列を読み取ることが出来ることが分かった。さらに少なくとも 8 残基を正確に読むことが出来れば、遺伝子データベースにて相同タンパク質が特定され、未知タンパク質を同定できることが明らかとなった。

#### ② 麴作成時において *Aspergillus kawachii* が産生するタンパク質の解析【目的④】

麦麴作成時において焼酎白麴菌 *A. kawachii* が産生するタンパク質について二次元電気泳動及びプロテインシーケンサーを用いた未知タンパク質分析系を確立した。麴菌の細胞壁は細菌と比べてかなり頑丈な構造であるため、*Zm. mobilis* と同様のタンパク質抽出方法では菌の破碎効率が悪く、二次元電気泳動で十分なタンパク質を分離・精製できないことが明らかとなった。また麦のタンパク質が混入することで二次元電気泳動での分離が悪くなることが明らかになった。そこで、前処理として凍結乾燥した焼酎麴をビーズクラッシャーで破碎し、ふるいにかけて麦を除去し、麴菌の破碎物を回収し

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

た。その後 *Zm. mobilis* と同様の方法でタンパク質を抽出した。二次元電気泳動を行った結果、タンパク質の分離に成功した。

### ③ 吟醸香の高い大分酵母の育種【目的①】【目的④】

大分県酒造組合との共同研究で分離した大分酵母 No.1 と No.2 を元に吟醸香の高い酵母を育種した。吟醸香の主要成分はリンゴ様の香りを示すカプロン酸エチルとバナナ様の香りを示す酢酸イソアミルである。カプロン酸エチルは脂肪酸合成経路において生合成されたカプロン酸とエタノールがエステラーゼによって結合することで生成するため、カプロン酸エチルを増加させるためには、基質であるカプロン酸を増加させることが必要である。そこでメタンスルホン酸エチルを用いた突然変異処理を行い、脂肪酸合成酵素を特異的に阻害する薬剤セルレニンに耐性がある酵母を育種して 1 段仕込みを行いフルーティーな香りが高まった酵母を複数選抜した。GC-MS-O を用いて香り成分を分析した結果、酢酸イソアミルとオイリーなナッツの香り・ワイン粕様の甘い香りを有するデカン酸エチルを高生産する株や、カプロン酸エチルを高生産する株が得られたことが確認できた。これらの酵母について DNA シーケンサーにより脂肪酸合成酵素遺伝子に変異が入っているかどうか確認した。また、育種した吟醸香の高い酵母と大分県産酵母のタンパク質発現の違いを二次元電気泳動により解析したところ、発現に大きく差のあるタンパク質が見つかったため、同定を行った。①②③で概ね目的は達成した。

#### 【機能性関係】

### 6. プロジェクトでの研究課題: 新規加工・発酵醸造食品の機能性評価【目的④】

プロジェクトでの役割: アンチエイジング効果、免疫力向上などの健康増進効果の評価【目的④】

#### ① ヒトの培養細胞でのアンチエイジング効果を評価する方法の確立 【目的④】

発酵食品中にアンチエイジング効果を有する機能性成分が含まれているか評価するために、ヒトの培養細胞の系を用いて、アンチエイジングに中心的役割を果たすミトコンドリアの健康度や DNA 障害予防に関するマーカーを利用して、アンチエイジング効果を評価する方法の確立を目指した。そのためにヒトの培養細胞を用いて蛍光顕微鏡やフローサイトメーターを駆使して、ミトコンドリアを分子マーカーで蛍光標識して可視化することでアンチエイジング効果を評価する系を確立し、ミトコンドリアの形態や機能をもとにミトコンドリアの健康度を評価できるヒト HeLa 細胞を樹立できた。また、本研究の過程で、ミトコンドリア機能維持に関する遺伝子が関与する小児疾患のスクリーニングについて報告した (Mol. Genet. Metab. 2016)。

#### ② アンチエイジング効果を定量的に評価する系の確立【目的④】

ミトコンドリアの形態や機能をもとにミトコンドリアの健康度を評価する方法は定量的に欠けるため、ミトコンドリア内の活性酸素種や膜電位を測定してアンチエイジング効果を定量的に評価する系を追求した結果、平成 28 年度に購入した【3 レーザー細胞解析機】を利用することで確立できた。

#### ③ DNA 障害予防効果に関する研究【目的④】

ヒトの培養細胞を用いて、DNA 障害予防効果を評価する方法の確立を目指した。蛍光タンパク質を用いて、DNA 障害予防の指標となる染色体末端のテロメアのヘテロクロマチンの状態を生細胞でモニターできる系を確立できた。①②③で概ね目的は達成した。

### 7. プロジェクトでの研究課題: 免疫調節作用を有する機能性発酵醸造食品の開発【目的④】

プロジェクトでの役割: ①発酵微生物が産生する抗炎症性機能性成分の探索-マウス炎症性大腸炎における発酵大麦エキス投与の効果-【目的④】

わが国で患者数が年々増加の一途をたどっている潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患 (IBD) においてマクロファージの活性化、Th1 及び Th17 ヘルパー T 細胞の免疫応答亢進による TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  や IL-17A などの炎症性サイトカインの過剰な産生が IBD の粘膜組織傷害への中心的な役割を担うと考えられている。そこで、腸内環境を改善して腸管免疫機能を調節すること、アルコール摂取時の酸化ストレスを軽減し、炎症性サイトカイン産生を抑制して肝機能を保護することなどが示されている発酵大麦エキス (FBE、アルコケア<sup>®</sup>、三和酒類株) の作用に着目し、FBE をデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) により誘導した急性大腸炎マウスに投与したときに大腸炎の症状が改善されるかを検討した。その結果、FBE の投与は、急性大腸炎マウスの大腸炎の症状 (下痢・血便の程度大腸長の短縮) を軽減し、大腸組織炎症性サイトカインの TNF- $\alpha$  レベルを低下させた。FBE は、大腸組織 TNF- $\alpha$  量を低下させたことから、大腸組織に浸潤したヘルパー T 細胞あるいはマクロファージの活

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

性化を抑制して、大腸炎を軽減する可能性が示唆された。

②発酵微生物が産生する抗炎症性機能性成分の探索-マウス炎症性大腸炎における甘酒投与の効果-【目的④】

飲む点滴と言われる甘酒はグルコース、オリゴ糖、アミノ酸・ペプチド、ビタミンなどを豊富に含み、麹菌 (*Aspergillus oryzae*) による発酵産物がプレバイオティックス的要素を併せもち腸内環境を整えることが知られている。そこで①の実験と同じ急性大腸炎モデルマウスを用いて甘酒投与により大腸炎の症状が改善されるかを検討した。その結果、甘酒の投与は、急性大腸炎マウスの大腸炎症状(体重減少、下痢・血便の程度、大腸長の短縮)を軽減した。しかし、大腸組織炎症性及び抗炎症性サイトカイン濃度には測定値の個体差、大腸病理組織学的検査において甘酒投与群及び対照群間に大差は認められなかった。しかし、対照マウスでは炎症性細胞の浸潤が筋層にまで及び、内輪筋の断裂が 3/4 例で認められたのに対し甘酒投与マウスでは 0/4 例であった。さらに腸上皮再生の亢進が対照マウスで 1/4 例で認められたのに対し甘酒投与マウスでは 3/4 例で認められた。以上のように甘酒の投与は、大腸炎の症状を軽減する可能性が示された。達成度について①②の結果で可能性を示唆する段階であった。

8. プロジェクトでの研究課題:発酵食品の生体への影響【目的④】

プロジェクトでの役割:発酵食品の予防医学への寄与【目的④】

① 発酵大麦エキスの新規機能性の探索【目的④】

焼酎の製造に伴って、蒸留工程後に焼酎蒸留粕が排出される。現在、海洋投入は全面禁止であるが焼酎蒸留粕には豊富な糖類、ミネラル、タンパク質などが含まれているため、その有効利用を目的とした研究開発が盛んに行われている現況がある。今回は、株化樹状細胞を大麦発酵エキス(アルコケア)添加培養液で培養し、その培養上清をメタボローム解析することで、新規機能の探索を行った。

アルコケア添加培地ではグルコース-6-リン酸(G6P)量が増加していた。これはアルコケア中にグルコース(Glu)量が多く存在していたからであるが、アルコケア由来の G6P の多くがペントースリン酸系に利用されていることが、リブローズ-5-リン酸(Ru5P)の増加より推定できた。ペントースリン酸経路は最終的には核酸や脂肪酸の合成と関わっているが、その他にも過酸化物の無害化(抗酸化作用)、過酸化水素生成と処理(殺菌)、P450 酵素による解毒、NADPH オキシダーゼでスーパーオキシドをつくり細菌を破壊する NO 産生などにも関わっている。アルコケア添加ではこれら全ての作用が亢進していると推定できた。さらに、アルコケアをマウス脾臓細胞に添加すると IL-6 を低下させることから Th2 応答を低下させ Th1 応答優位の免疫状態にすることは既に報告している。本研究に使用した細胞は免疫系の中核である樹状細胞であるが、アルコケア添加によりペントースリン酸経路が活性化し、NADPH が産生され、産生された NADPH がアルギニンに作用することで、さらに NO 産生も亢進すると推測できた。達成度は可能性を示唆する段階であった。

② 別府市特有の「湯の花」の機能解析と商品開発【目的④】

明礬温泉の「湯の花」(ミョウバン)はその製造方法が独特であるため、重要無形民俗文化財として国に指定されている。現在そこで採取される「湯の花」は、家庭用入浴剤が大半であるが、文化庁文化財部伝統文化課の資料によれば、以前は薬として飲用・塗布などがなされていた。どのような症状に対して有効なのか詳細は不明ではあるが、薬効効果があるのは事実である。よって本研究ではどのような薬効効果があるのか探索を行った。また 1920~1971 年まで「ブロー氏液」として日本薬局方にミョウバン(アルミニウム系)洗浄液が記載されていた。抗菌性の高さ、抗生物質の耐性菌の問題から、耳鼻科領域において再び脚光をあげ始めており、「湯の花」の効能において微生物への抗菌活性を示唆されている。「湯の花」は微生物に対する抗菌活性を有するだろうと推測し、黄色ブドウ球菌に対する抗微生物活性の検討を行った。さらに黄色ブドウ球菌が原因で生じるアトピー性皮膚炎に関してモニタリング調査を行い、さらに免疫細胞(樹状細胞)への影響を DNA アレイを用いて検討を行った。またこれらの結果よりアトピー性皮膚炎に有効であろう化粧水とクリームの商品を開発した。0.5 g/100ml以上のミョウバン濃度において、黄色ブドウ球菌の増殖スピードが激減し、黄色ブドウ球菌の増殖抑制が認められた。またモニタリングでは、皮膚トラブルを抱え、ミョウバンを買い求めた7名の症例について調査を行った。その結果全ての症例において改善傾向を認めた。また株化樹状細胞に「湯の花」を添加し、遺伝子発現を網羅的に解析した結果、免疫系分子である *Irak4* の発現が、コントロールの約 142 倍の増強を認めた。以上のことをふまえ、特許を出願し、別府市明礬温泉会社と

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

もに、化粧水とクリームの商品開発を行った。現段階では医薬部外品とまではできていないが、今後詳細な研究を積み上げることで、免疫活性を利用した医薬部外品の開発に取り組んだ。特許も取得し商品化もできて概ね達成したと考える。

9. プロジェクトでの研究課題:大分県産発酵食品製造過程における低アレルギー化に関する基礎的研究【目的④】プロジェクトでの役割:食品中のアレルギータンパク質の解析【目的④】

①柑橘類のアレルギーに関する研究【目的④】

大分県の特産物である温州みかんを含む柑橘類のアレルギーについて検討した。大分大学医学部、藤田保健衛生大学及び神奈川こども小児医療センター、あいち保健医療総合センター等の協力を得て、柑橘類に対するアレルギーをもつ患者情報を集積し、症状を引き起こす品種、発症年齢、主症状、感作源とメカニズム、自然歴が明らかとなった。柑橘類では、オレンジ類の摂取による症状誘発エピソードが最も多かったが、ほとんどの患者は柑橘類全般に対して症状をもっていた。一般的に食物アレルギーの発症は乳幼児期がピークであるため、小児科での患者集積を中心に行った結果、発症年齢は10歳前後で、花粉症の発症とともに症状を誘発するケースが主にみられた。症状は口腔周囲、あるいは食物依存性運動誘発アナフィラキシーに分かれた。さらに花粉症との関連性を明らかにするために、患者血清による免疫法及び好塩基球活性化試験を行った。その結果、主要アレルギーはprofilin及びenolase等と推定され、特にprofilinはカモガヤ花粉、シラカンバ花粉との共通抗原性が認められた。加えて、大学生に対する食物アレルギー実態調査を行い、自然歴を検討した。小児期に発症する卵、乳、小麦アレルギーは青年期には寛解しており、逆に花粉症や果物アレルギーの罹患率が上昇していた。原因果物はモモ、キウイなどが主であり、柑橘類は非常に少なかった。最近では花粉症の交差反応による果物アレルギー(花粉果物アレルギー症候群)の増加が指摘されており、これらの関連性と花粉免疫療法による果物アレルギーの改善例がみられることから、これらのメカニズムにおいても、抗原特異的IgE、IgG4、好塩基球活性化試験によって明らかにした。

②ビールアレルギーに関する検討【目的④】

一般に味噌、醤油などの発酵食品は、発酵・熟成によるタンパクの分解、アミノ酸の生成とともに、原料のアレルギーが減少、消失が知られているが、発酵飲料であるビールにおいては、アレルギーの症例報告が諸外国でなされている。本邦ではあまりなされておらず、今回ビールによるアナフィラキシー症状を来した症例について検討した。51歳女性であるが食事中にビールを摂取後、体の痒みと発疹、意識消失し、別日に再びビール摂取後に発疹、くしゃみ、呼吸症状を来した。病院にて検査の結果、特定にビールによるアレルギーと診断された。ビールの原材料は麦芽とホップであったが、immunoblotによる検討では、特定のタンパクとの結合性が認められた。分子量及び海外文献からprotein Zが考えられたが、本症例では他のビール製品は摂取可能であったことから、症状が誘発されたビールに特異的なタンパクが含有されている可能性があり、二次元電気泳動及びN末端アミノ酸配列解析を進めた。以上①②の研究により明らかになった点はあるが、商品化や応用化についてはまだであった。

<優れた成果が上がった点>

香料関係では様々な香りの成分の脳血流量の変化を見ることができ、今後の商品開発などに応用できる可能性が示唆された。また大分県竹田市のサフランは雌しべが料理用に利用されているが、残りの95%の花弁、雄しべはすべて廃棄されている。その結果、雄しべ、花弁について食品、飲料、香料(線香、香りジェルなど)など様々な商品化の可能性を見出した。「大分県ハーブ六次産業化プロジェクト協定」の締結については、大分県には、カボスをはじめ、国東市のシトウやバジル、竹田市のサフラン、杵築市の薬用植物、別府市のセキショウなど、香りに特徴のある農産物が多くある。別府大学では大分農業文化公園と共同して香りという切り口からハーブを使った香り商品の開発、広報、消費の拡大などを進め、県産農林水産物の生物資源を利用して、大分県の香り文化や香育等に取り組んでいくことになった。またこの一環として大分県農林水産研究指導センターとの香りの共同研究も進めた。シトウでは、これまで香氣成分が分析されていない乾燥シトウの香り成分分析に着手し、結果を紀要や研修会で報告することができた。様々な香り原料を使用し、飲料、食品、インセンス(お香)、化粧品(香水・オーデコロン)、バスボム、ルームコロンなどに利用できる可能性を示唆することができた。

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

微生物関係では、清酒用大分酵母は大分県産業科学技術センターにて保存されているので、大分県酒造組合員は、製造用酵母培養免許を取得している大分県産業科学技術センターに依頼すれば受取が可能になるシステムが形成された。さらに「夢香米」を凌ぐ香り米添加 2%の平成 29 年度産「夢香米」の製造が既に藤居酒造(株)により行われ、平成 30 年 3 月に発売した。別府市の特徴である観光を生かす商品となる可能性がある。開発した MultiPlex PCR はプライマーのデザイン次第で様々な微生物をスクリーニング可能であり、特定の微生物の 1 次スクリーニングキットとして商品化が期待される。本法に用いるプライマーの配列を工夫することにより、*S. cerevisiae* だけでなく複数の菌に対しても適用可能である。本法は実施者の熟練度もさほど必要にならないため、優れた手法である。微生物関係では、*Zm. mobilis* が産生するタンパク質を解析した結果 *Zm. mobilis* の塩耐性には解糖系酵素が重要であることが明らかになり、成果として論文及び学会にて発表することが出来た。また、大分県産酵母の吟醸香を高めることができた。

機能性関係では、ミトコンドリアの形態や活性酸素種や膜電位の測定をもとにミトコンドリアの健康度を評価できる実験系や DNA 障害予防効果の指標となる染色体末端のテロメアのヘテロクロマチンの状態を生細胞でモニターできる系を樹立できた。別府市特有の「湯の花」の機能解析と商品開発では、特許を出願し、別府市明礬温泉会社とともに、化粧水とクリームの商品開発を行った。アレルギーの解析結果は、患者への指導資料として活用可能である。profilin に感作したアレルギー患者は、加熱果物で摂取可能な場合がある。患者血清及び経口負荷試験による評価を行い、アレルギーがあっても摂取可能な低アレルギー化食品を開発できる。また、ビールアレルギーの解析を行うことで、大麦・ホップ由来、あるいは発酵・熟成中に生じる成分等を明らかにし、患者への食事指導へ応用することが可能である。

本研究で得られた結果により、生物資源豊かな、さらにそれを利用し発酵王国と言われる大分県において、別府大学食物栄養科学部がこれらの分野で、貢献できる端緒ができたと考えている。すなわち、今日まで大分県には県内の生物系の研究や開発を担う農学部系統の学部が無かったが、今回の事業を通じて地元企業やその他の研究機関を支える大学学部として貢献できると考えられた。就職先の地元食品企業の発展に関して、大学の存在意義である「学生の教育、研究の推進」の責任も果たしたと考えられる。

#### <問題点とその克服方法>

「本学科卒業生等をリサーチアシスタントとして採用し、技術者及びシステム構築技師としての指導を行なう。」については、本研究で確立した清酒及び焼酎等の機器分析による高度な解析・開発方法に対して、HPLC 分析・解析オペレータ育成システムのみ、途中段階である。グルコース定量、有機酸組成解析では終了年度、アミノ酸組成解析も遅れるが達成可能である。

機能性関係では、IBD を緩和・予防する機能性発酵食品の開発を目指しているが、現段階ではマウスの急性大腸炎モデルにおいて発酵大麦エキス及び甘酒の投与が有効である可能性が示唆された知見を得たのみでそれらの作用機序を明らかにできていない。ヒトへ応用するためにはさらに作用機序に関するデータの蓄積が必要となる。

発酵大麦エキスに関しては、現在、発酵大麦エキスの「寿命延長効果」を実験中であるが、それが証明されれば、人々の健康寿命延長に寄与する商品開発の可能性が期待できる。またこれらの研究では臨床的な調査が別府大学と企業だけでは限界があるので医療機関の協力が必要である。

#### <課題となった点>

香り関係では、県産農林水産物の生物資源は大いにあるが、その季節性の為、製品化が季節限定となる。広く利用の為には、提供サンプルを乾燥など、生のものから乾燥物などにする必要がある。また、乾燥過程での香りの変化には十分に注意する必要がある。最終的に季節限定の製造から年間販売型の製品化へ応用する必要がある。食料としての利用歴がないため、食としての安全性を確認しハーブティーなどの食材としての流通はクリアすべき試験が多く費用が多額になるため、現在は外部委託で抽出物の急性毒性のみの試験が完了したが化粧品などに利用するためにも、もう少し進んだ安全性の確認が必要であると考えられる。地域特産品として、香りを利用する香粧品やお香への利用も考えられる。

微生物関係では、精度の高い結果を得るために、醸造に適した *S. cerevisiae* のみが有する遺伝子

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

の選定及びプライマーの開発を行なって行く必要がある。良質な DNA 抽出に課題が残っているが塩分や酸による PCR 阻害が考えられるが、今後更なる改良を加え、検出系の確立を行なう必要がある。また、PCR-DGGE 法は実施者の熟練度が必要となるため、より簡便な手法として MultiPlex-PCR 法、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) - RFLP 分析を適用し、汚染微生物の早期発見法の確立を目指す必要がある。プロテインシーケンサーによる同定を行うためには麹菌からの抽出タンパク質量を増やす必要がある。そのためには麹菌をさらに破碎し、タンパク質の抽出効率を上げることが必要である。

機能性関係では、研究を進めていく過程で、アンチエイジング効果を有する機能性成分が含まれているか評価するためには、ヒトの培養細胞のエイジングの実験系が必須であることが明らかとなった。その克服方法として、ヒトの培養細胞のエイジングを加速する条件の確立が不可欠である。ヒトの培養細胞のエイジングを加速する条件についても検討することで、アンチエイジング効果を迅速・確実・定量的に評価できるヒトの培養細胞の実験系を確立する必要がある。

発酵微生物により将来的には IBD を緩和・予防する機能性発酵食品の開発を目指しているが、それらの作用機序は明らかでない。ヒトへ応用するためにはさらに作用機序に関するデータの蓄積が必要となる。柑橘類の大量摂取や継続摂取をすることで、新たな発症がみられないのか、柑橘類の果汁果実、果皮では共通抗原が認められるものの、その濃度は異なることから、反応の程度に差がみられる可能性はあると考えられた。またビールにおいては、発泡酒と醸造酒での差について研究する必要がある。今後は他の発酵食品に対するアレルギーについても検討を続けるとともに、発酵を利用した低アレルゲン化食品の開発に繋げる必要がある。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

研究の遂行にあたって、一ヶ月に 1 回 2~3 名程度の各研究者の発表さらに質疑応答を行い研究の進捗と方向性を確認し相互に話し合いの場をもった。その後、研究者全員が集まって意見交換をした後、代表者である米元が取りまとめて報告書にした。各メンバーの研究方針の方向に反映させた。また最終の自己評価とその対応状況は、以下、アドバイザー評価の結果も合わせて記入した。以上のように総じて大分県の生物資源の掘り起しとその活用、商品化に繋がったと考えている。全体として、本プロジェクトに係る費用対効果については、かけた費用に見合う効果あるいは、それを若干上回る効果が得られたと評価した。

#### <外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

平成 27 年度文科省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(平成 27 年~平成 29 年) 中間発表会についてアドバイザーとの意見交換会(添付文書①)。また外部評価者に大分大学望月聡副学長に依頼した(添付文書②)。総じてアドバイザーからは今回のプロジェクトを評価するアドバイス、意見を多くいただいた。ただ対象とするものが広範囲に存在しているので、研究テーマが多岐にわたるので個別対応ならざるを得ない。今まで香料、微生物、食品での製造、開発、商品開発、機能性関係などの諸問題点があっても相談するところが少なかったが今後、別府大学と研究活動や商品化を一緒にしたいというアドバイザーが多く、この事業の目的はある程度、成功したと感じている。

#### <研究期間終了後の展望>

それぞれの研究成果を公設試験研究機関、企業で香料、微生物、食品での製造、開発、商品開発、機能性関係において使用していただき、今後別府大学との連携を密にして研究活動や商品化に努めたい。香り関係では現在様々な県内農水畜産物の香りの分析とその応用を行っているが、研究期間終了後も、商品の提案を推し進めたい。また現在「ハーブ六次産業化プロジェクト協定」を結んでいるので香り商品の開発、広報、消費の拡大などを進め、県産農林水産物の生物資源を利用して、大分県の香り文化や香育等を取り組んでいきたい。この一環として大分県農林水産研究指導センターとの香りの共同研究(カボス、カボスブリ、きのこ、冠地鶏等)も進んでいる。シチトウの香気変化をさらに明らかにし、様々な商品化を地域連携で推進する。またヒジキのフレーバー成分の分析は、研究終了間近に着手した。様々な香り原料を今回購入の分析機器を使用し、十分に活用したい。

微生物関係では、大分県産酵母については酸度やアミノ酸度についても改良を行い、さらに良い酵

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

母を育種し、別府市の特徴である観光を生かす商品としたい。汚染微生物の早期発見において、特別なキットを用いず環境中から DNA の迅速で簡便な抽出法を見出し、様々な微生物種を判定できるキットの開発を行う。また上記の手法を用いて、九州で多用される麦味噌をターゲットとして、麦味噌の発酵・熟成過程における麦類アレルギー患者血清を用いたその反応性を検討したい。本研究プロジェクトで導入した二次元電気泳動やプロテインシーケンサーなどの機器を産学官連携で地場企業に広く活用を推進することで、本学のみならず大分県の食品産業における食品分析・研究レベルの底上げをしたい。

機能性関係では、今後は、本研究で確立したミトコンドリアの健康度やDNA障害予防に関するマーカーを指標にしてアンチエイジング効果を評価する方法を活用することで、県産の農林水産物や本プロジェクトにおいて分離した発酵微生物により製造した発酵食品中にアンチエイジング効果を有する機能性成分が含まれているか検証していく。発酵大麦エキス及び甘酒の抗炎症作用を確認するため慢性大腸炎マウスでそれらの効果を評価し、さらに抗炎症作用の機序を探索するため大腸組織に浸潤した免疫細胞を分取してそれら免疫細胞のマーカーサイトカインの mRNA を検出する実験系を確立して検討したい。また、発酵大麦エキスの「寿命延長効果」の研究と商品開発の可能性をめざしたい。別府市特有の「湯の花」の機能解析と商品開発では、現段階では医薬部外品とまではできていないが、今後詳細な研究を積み上げることで、免疫活性を利用した医薬部外品の開発に取り組んでいく計画である。「湯の花」での Irak4 は、自然免疫と獲得免疫の両者に共通する免疫分子であるが、Irak4 を特異的に増強させる分子の報告はほとんどなく、高齢者の感染症予防に有効ではないかと期待できる。アレルギーでは、柑橘類アレルギー及びビールアレルギーに関する研究は、本邦ではこれまでほとんどなされていなかったが、今後も詳細なメカニズムを追及し、経皮吸収の原理を活かした免疫活性化商品の開発に取り組む。柑橘類アレルギーは、花粉症と強い関連性がみられることから、花粉症舌下免疫療法による花粉症状緩和に伴う柑橘類アレルギーの改善効果、及び低アレルゲン食品の評価を行う。またアレルゲンを含まないビールの特性を明らかにする。柑橘類やビールのみならず、他のアレルゲン性をもつ食物の発酵を利用した低アレルゲン化に取り組む。

#### <研究成果の副次的効果>

香り関係では、今回事業を行い、特に大分県の農水畜産物の匂いを GC-MS-O を使用して分析して一定の商品化の提案ができるようになってきた。この為県内の自治体や企業から問い合わせが多くあり、一部は共同研究まで発展した。また「ハーブ六次産業化プロジェクト協定」を締結し香り商品の開発、広報、消費の拡大などを進めた。また本格焼酎「夢香米」には別府大学、別府大学夢米(ゆめ)棚田プロジェクト、大分県農林水産部地域農業振興課、発酵食品学科、藤居酒造(株)、大分香りの博物館、大分農業文化公園と多岐に渡る組織が参画し平成 29 年に夢米棚田プロジェクト六次産業推進組織を立ち上げた。さらに本格焼酎「夢香米」製造に於いて、製造元の藤居酒造(株)との共同研究で HACCP 取得を成し遂げた。微生物関係では、今回の手法について研究発表し、自治体や企業、大学研究者から問い合わせがあり、共同研究の可能性もある。機能性関係では甘酒が今までなかった生理機能性についての研究の端緒になったと考えられる。また、大分県の特産品であるカボスなどの柑橘類、発酵食品であるビールに対すると食物アレルゲンの解析ではアレルギーの罹患者は多くないが存在しており、発酵を利用した低アレルゲン化食品の開発に繋がる可能性がある。今後も産学官の連携を通じ地域おこしを行い様々な提案ができると考えられる。

#### 12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- |                    |                    |                  |
|--------------------|--------------------|------------------|
| (1) <u>GC-MS-O</u> | (2) <u>NIRS</u>    | (3) <u>清酒・焼酎</u> |
| (4) <u>麹・酵母</u>    | (5) <u>発酵大麦エキス</u> | (6) <u>抗ガン効果</u> |
| (7) <u>アレルギー</u>   | (8) <u>微生物汚染</u>   |                  |

#### 13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

<雑誌論文>

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

## 【米元】

1. \* 仙波和代、米元俊一、発酵大麦エキスの新規機能性探索, 別府大学大学院紀要, 18, 89-93, 2016
2. \* 藤原秀彦、米元俊一、発芽玄米浸漬水中から分離された乳酸菌を用いた豆乳ヨーグルトの作成, 別府大学紀要, 58, 159-162, 2017.
3. 米元俊一、世界の蒸留器と本格焼酎蒸留器の伝播について, 別府大学紀要, 58, 119-135, 2017.
4. 米元俊一、本格焼酎の酒質に及ぼす紙容器内面材の取着の影響について, 別府大学大学院紀要, 19, 93-106, 2017.
5. \* 米元俊一、小屋徳次郎、小田原綾子、梶原康博、高下秀春、小田誠、布施泰史: 麦焼酎の香気成分と NIRS による脳血流量への影響, 別府大学大学院紀要, 20, 2018. 印刷中
6. \* 米元俊一、永松未有、河野尚子、佐藤豪昭、乾雄大 : ガスクロマトグラフィー質量分析計匂いかぎ法によるカボスの熟成における香気成分の変化と光トポグラフィー装置 (NIRS) による脳血流量への影響 別府大学紀要, 59, 2018. 印刷中
7. \* 米元俊一、倉橋和也: ガスクロマトグラフィー質量分析計匂いかぎ法による別府鉄輪温泉蒸し湯の石菖の香気成分分析と光トポグラフィー装置 (NIRS) による脳血流量への影響 別府大学紀要, 59, 2018. 印刷中
8. \* 米元俊一、渡辺元樹、木元沙耶加、大野優美香: 大分竹田の *Crocus sativus* (saffron) の GC-MS 匂い嗅ぎ法と官能評価による香気成分に関する研究, 別府大学大学院紀要, 20, 2018 . 印刷中
9. \* 米元俊一: 大分県ハーブ六次産業化プロジェクトについて、aromatopia, 2016, 139 ,22-24.
10. 米元俊一: 本格焼酎の香味成分と美味しさ、日本醸造協会誌、2017,112(2)96-107.
11. \* 米元俊一: 別府大、醸造香料研究室、におい・かおり環境学会誌、2017、48(4),335.

## 【吉井】

## a) 原著論文

12. \* 吉井文子、におい嗅ぎ GC-MS を用いたシチトウイの香気分析、別府大学紀要、2017、58、137-146.

## 【岡本】

13. \* 岡本啓湖、平井龍一、日野美香、浅田貴美子、藤原秀彦、カボス (*Citrus sphaerocarpa*) 花から高確率で *Saccharomyces cerevisiae* を獲得するための最適分離初期条件、2016、別府大学大学院紀要 第 18 号 47-55
14. \* 岡本 啓湖、高橋 義樹、都甲 花織、棚田特産香り米を使用した新焼酎開発に於けるヒノヒカリ米との特性比較、2017、別府大学大学院紀要 第 19 号 79-91
15. \* Hidehiko Fujihara, Mika Hino, Kimiko Asada, Hideharu Takashita, Yasuhiro Kajiwara, Toshimasa Nakamura, Keiko Okamoto<sup>1</sup> and Kensuke Furukawa. 2014, Efficient Screening of *Saccharomyces cerevisiae* strains from Environmental Isolates that are suitable for brewing. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 78:1086-1089.

## 【藤原】

16. Kimura N, Yamazoe A, Hosoyama A, Hirose J, Watanabe T, Suenaga H, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of *Pseudomonas abietaniphila* KF717 (NBRC 110669), Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil in Japan., Genome Announc. 2015 Mar 19;3(2). pii: e00059-15. doi: 10.1128/genomeA.00059-15.
17. Suenaga H, Yamazoe A, Hosoyama A, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium *Pseudomonas putida* KF703 (NBRC 110666) Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., Genome Announc. 2015 Mar 19;3(2). pii: e00142-15. doi: 10.1128/genomeA.00142-15.
18. Suenaga H, Yamazoe A, Hosoyama A, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl-Degrading

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

- Bacterium *Cupriavidus basilensis* KF708 (NBRC 110671) Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2015 Mar 19;3(2). pii: e00143-15. doi: 10.1128/genomeA.00143-15.
19. Watanabe T, Yamazoe A, Hosoyama A, Fujihara H, Suenaga H, Hirose J, Futagami T, Goto M, Kimura N, Furukawa K., Draft Genome Sequence of *Cupriavidus pauculus* strain KF709, a Biphenyl-Utilizing Bacterium Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2015 Mar 26;3(2). pii: e00222-15. doi: 10.1128/genomeA.00222-15.
  20. Watanabe T, Yamazoe A, Hosoyama A, Fujihara H, Suenaga H, Hirose J, Futagami T, Goto M, Kimura N, Furukawa K., Draft Genome Sequence of *Pseudomonas toyotomiensis* KF710, a Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2015 Apr 2;3(2). pii: e00223-15. doi: 10.1128/genomeA.00223-15.
  21. Fujihara H, Yamazoe A, Hosoyama A, Suenaga H, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of *Pseudomonas abietaniphila* KF701 (NBRC110664), a Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2015 May 14;3(3). pii: e00473-15. doi: 10.1128/genomeA.00473-15.
  22. Fujihara H, Yamazoe A, Hosoyama A, Suenaga H, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of *Pseudomonas aeruginosa* KF702 (NBRC 110665), a Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium Isolated from Biphenyl-Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2015 May 21;3(3). pii: e00517-15. doi: 10.1128/genomeA.00517-15.
  23. Hirose J, Yamazoe A, Hosoyama A, Kimura N, Suenaga H, Watanabe T, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium *Comamonas testosteroni* KF712 (NBRC 110673)., *Genome Announc.* 2015 Oct 15;3(5). pii: e01214-15. doi: 10.1128/genomeA.01214-15.
  24. Hirose J, Yamazoe A, Hosoyama A, Kimura N, Suenaga H, Watanabe T, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Draft Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium *Pseudomonas stutzeri* KF716 (NBRC 110668)., *Genome Announc.* 2015 Oct 22;3(5). pii: e01215-15. doi: 10.1128/genomeA.01215-15.
  25. 岡本 啓湖、平井 龍一、浅田 貴美子、日野 美香、藤原 秀彦、カボス (*Citrus sphaerocarpa*) 花から高確率で *Saccharomyces cerevisiae* を獲得するための最適分離初期条件、別府大学大学院紀要、2016、No.18、p.47- 55
  26. Suenaga H, Yamazoe A, Hosoyama A, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Fujihara H, Futagami T, Goto M, Furukawa K., Complete Genome Sequence of the Polychlorinated Biphenyl-Degrading Bacterium *Pseudomonas putida* KF715 (NBRC 110667) Isolated from Biphenyl- Contaminated Soil., *Genome Announc.* 2017 Feb 16;5 (7). pii: e01624-16. doi: 10.1128/genomeA.01624-16.
  27. Suenaga H, Fujihara H, Kimura N, Hirose J, Watanabe T, Futagami T, Goto M, Shimodaira J, Furukawa K., Insights into the genomic plasticity of *Pseudomonas putida* KF715, a strain with unique biphenyl-utilizing activity and genome instability properties., *beEnviron Microbiol Rep.* 2017 Oct;9 (5):589-598. doi: 10.1111/1758-2229.12561. Epub 2017 Jul 13.
  28. 藤原 秀彦、牧井 忠、米元 俊一、発芽玄米浸漬水中から分離された乳酸菌を用いた豆乳ヨーグルトの作成、別府大学紀要、2017、No.58、 p.159- 162
- 【陶山】
29. \* 陶山明子、岡 瑞貴、毎田裕美子、米元俊一、岡本啓湖、大分県酒造協同組合、吟醸香の高い清酒用大分酵母の育種、別府大学大学院紀要 No.20 (2018) 印刷中
  30. \* 陶山明子、衛藤美加、藤原秀彦、麴に含まれるタンパク質の網羅的解析-麴作成に用いた麴菌間での比較-、別府大学紀要 No.59 (2018) 印刷中
- 【林】
31. Hayashi T, Kato T, Watakabe S, Song W, Aikawa S, Furukawa K. Respiratory chain provides salt stress tolerance by maintaining a low NADH/NAD<sup>+</sup> ratio in *Zymomonas mobilis*. *Microbiology*, 2015, 12: 2384-2394.
- 【大坪】

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

32. \* Hara K, Tajima G, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Shirao K, Ohno Y, Yasunaga S, Ohtsubo M, Hata I, Sakura N, Shigematsu Y, Takihara Y, Kobayashi M. Significance of ACADM mutations identified through newborn screening of MCAD deficiency in Japan. *Mol. Genet. Metab.* 118(1): 9–14 (2016).
33. Ohno Y, Suzuki-Takedachi K., Yasunaga S, Kurogi T, Santo M, Masuhiro Y, Hanazawa S, Ohtsubo M, Naka K., Takihara Y. Manipulation of Cell Cycle and Chromatin Configuration by Means of Cell-Penetrating Geminin. *PLoS One.* 11(5):e0155558. doi: 10.1371/journal.pone.0155558. eCollection (2016).
34. Yasunaga S, Ohno Y, Shirasu N, Zhang B, Suzuki-Takedachi K, Ohtsubo M, Takihara Y. Role of Geminin in cell fate determination of hematopoietic stem cells (HSCs). *Int. J. Hematol.* 103(3): 324–329 (2016).
35. \* Nukina K, Hayashi A, Shiomi Y, Sugasawa K, Ohtsubo M, Nishitani N. . Mutations at multiple CDK-phosphorylation consensus sites on Cdt2 increase the affinity of CRL4Cdt2 for PCNA and its ubiquitination activity in S phase. *Genes to cells* Feb 9. doi: 10.1111/gtc.12563. [Epub ahead of print] (2018).
- 【仙波】
36. Effects of Fermented Barly Extract on Antioxidant Status in JAWS II cells.  
Senba. K, Wu Xianglin, Maruoka. N, Hokazono. H, Ikebe. E, Yonemoto.T.  
Bulletin of Beppu University Graduate School No.18 p89–93 2016 (査読有)
- 【高松】
37. 小野倫太郎、本村知華子、高松 伸枝、近藤 康人、赤峰 裕子、松崎 寛司、村上 洋子、網本裕子、田場 直彦、本莊 哲、柴田瑠美子、小田嶋 博: オレンジによる食物依存性運動誘発アナフィラキシーの1例、アレルギー、2015, 64(2)149–154.
38. 高松伸枝、近藤康人、是松聖悟: 患児と家族の食の QOL を考慮した食物除去と解除の支援、日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会誌, 2015, 13(3)249–253.
39. \* Fujimori A, Yamashita T, Kubota T, Saito H, Takamatsu N, Nambu M.: Comparison of the prevalence and characteristics of food hypersensitivity among adolescent and older women. *APJCN*, 2016, 25(4)858–862.
40. \* 高松伸枝、近藤康人、柘植郁哉、宇理須厚雄: オレンジアレルギー患者血清を用いた柑橘類の交差抗原性の検討、藤田学園医学会誌、2016, 39(1)51–53.
41. \* Takamatsu N, Kondo Y, Tsuge, I, Nakajima Y, Naruse, N, Tanaka K, Inuo, C, Hayashi T, Matsuda T, Yoshikawa T, Urisu A.: Study of Cross-Reactivity Between Citrus Fruit and Pollen Allergens in Oral Allergy Syndrome and Food-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis in Japan. *The Fujita Medial Journal*, 2016, 2(1)6–11.
42. Narabayashi N, Okafuji I, Tanaka Y, Tsuruta S, Takamatsu N.: Anaphylaxis caused by casein used in artificially marbled beef: A case report. *Allergology International*, 2016, 65, 341–342.
43. \* 田中裕、松原麻理恵、津曲俊太郎、高松伸枝、栗原和幸: 温州みかんによる食物依存性運動誘発アナフィラキシーの1例、アレルギー、2017, 66 (8)1011–1015.
44. \* 高松伸枝、有田孝司、近藤康人: ビール摂取によるアナフィラキシーと診断された一例、別府大学大学院紀要、印刷中。
45. 近藤由理、高松伸枝: 食物アレルギー対策事業のニーズに関するアンケート調査、別府大学紀要、印刷中。
46. 高松伸枝: 集団給食における食物アレルギー児への対応の現状、チャイルドヘルス、2015, 17(10)9–12.
47. 高松伸枝: 日本の伝統食品うるか、食品と容器、2015, 56, 482–485.
48. 西間三馨他: アレルギーの子どもの学校生活、慶應義塾大学出版会、2015, 158–176.
49. \* 高松伸枝、近藤康人: 花粉症と関連する食物アレルギー、栄養、2017, 24, 224–228.
50. \* 高松伸枝: 食物アレルギーの栄養食事指導、日本栄養士会雑誌、2018, 61, 6–9.

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

## 【米元】

1. 米元俊一他、2017 年度版 鹿児島大学「焼酎講義」 有限会社ディスネット

## 【吉井】

2. 齊藤幸子、井濃内順、綾部早穂、吉井文子、中野詩織：嗅覚概論(第 2 版)におい評価の基礎：公益社団法人 におい・かおり環境協会、2017 :1 章におい物質、9 章においの計測

## 【高松】

3. 長浜幸子他、実践臨床栄養学実習, 第一出版(株), 2016.
4. 宇理須厚雄他、食物アレルギーの子どものためのレシピ集, (独)環境再生保全機構, 2016.
5. 大分県医師会:学校・幼稚園における食物アレルギー対応の手びき大分県版、2016.
6. 宇理須厚雄他:加工食品のアレルゲン含有量早見表 2017、平成 27 年度消費者庁政策調査費、2017.
7. 宇理須厚雄他、食物アレルギーひやりはっと事例集 2015、平成 27 年度消費者庁支出委任費、2016
8. 宇理須厚雄他:食物アレルギーひやりはっと事例集 2017、平成 28 年度消費者庁支出委任費、2017.
9. 高松伸枝他、食物アレルギーお弁当 ABC, 第一出版(株)(印刷中)
10. 海老澤元宏他:食物アレルギーの栄養食事指導の手引き 2017、厚生労働科学研究費、2018.
11. \*海老澤元宏他、食物アレルギーの栄養指導, 医歯薬出版(株)(印刷中)

## &lt;学会発表&gt;

## 【米元】

1. \*米元俊一:「焼酎の香りについて」、第 7 回九州学生本格焼酎プログラム  
平成 27 年 7 月(別府大学)別府市
2. \*米元俊一:大分県農林水産研究指導センターと「におい」に関する研修会、「”におい“研究の今とこれから」平成 28 年 3 月(別府大学) 別府市
3. 米元俊一: 別府大学・食品香料コースの取り組み、JCC/佐賀県 第 14 回セッションと大学先端技術交流会、平成 28 年 3 月 唐津市
4. 米元俊一:『本格焼酎』、日本酒造組合中央会、単式蒸留焼酎業伝統技術継承発展勉強会、平成 28 年 9 月 那覇市
5. 米元俊一:大航海時代と焼酎の伝来、別府大学鹿児島後援会、平成 28 年 10 月 鹿児島市
6. 米元俊一:沖縄県泡盛講習会、平成 29 年 2 月 うるま市
7. \*米元俊一:鉄輪温泉の蒸し湯と石菖の香り、別府大学温泉学講座、平成 29 年 11 月

## 【吉井】

8. 吉井文子:シチトウの香りの分析(展示):平成 28 年度大分香りの博物館企画展「国東半島宇佐地域 世界農業遺産と香り」2016 年 10 月 1 日~1 月 31 日(大分香りの博物館)別府市
9. 吉井文子:シチトウイ(七島蘭)の香りについて におい嗅ぎ GC-MS の利用事例:はやしセミナー 2017 年 3 月 23 日(別府大学)別府市
10. 吉井文子:平成 29 年 9 月 日本味と匂学会発表「光学異性体の匂いの差異と分子の柔軟性に関する検討」

## 【岡本】

11. \*高橋 義樹 都甲 花織 岡本 啓湖:棚田特産香り米の焼酎開発に於ける 品質比較  
第 22 回 日本生物工学会九州支部宮崎大会講演要旨集 24 2015
12. \*小野浩輝、山海志穂里、岡本啓湖:棚田特産香り米添加焼酎の製造方法に於ける香気成分の相違 第 23 回 日本生物工学会九州支部飯塚大会講演要旨集 35 2016
13. \*岡本啓湖、小野浩輝、池見俊亮、掛橋 凌、木村奨、張愚皓、仁平 拓哉、永松一馬、中村俊雅、日野美香、大分県酒造協同組合、藤原秀彦  
“大分県生産物からの清酒用大分酵母の獲得” 日本農芸化学会大会 2019

## 【藤原】

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

14. 渡邊崇人、藤原秀彦、廣瀬遵、末永光、木村信忠、木質バイオマスからの有用物質生産に向けた環境汚染物質分解菌が持つ芳香族化合物分解代謝系の利用、第 275 回生存圏シンポジウム 生存圏ミッションシンポジウム、2015、京都
15. 廣瀬 遵、平井 晋哉、横井 春比古、木村 信忠、末永 光、渡邊 崇人、山副 敦司、藤原 秀彦、古川 謙介、*Pseudomonas stutzeri* KF716 のビフェニル・サリチル酸 分解系をコードする可動性遺伝因子の解析、日本農芸化学会大会、2015、岡山
16. 藤原 秀彦、小石 早希、安部 周斗、山副 敦司、細山 哲、下平 潤、木村 信忠、末永 光、廣瀬 遵、渡邊 崇人、二神 泰基、後藤 正利、古川 謙介、ビフェニル分解菌の分解遺伝子群の欠失と再編成、日本生物工学会大会、2015
17. 廣瀬 遵、藤元 勇樹、原田 幸音、菅本 和寛、横井 春比古、松本 朋子、末永 光、藤原 秀彦、古川 謙介、キメラ型ビフェニルジオキシゲナーゼによるフラボンの変換、日本生物工学会大会、2015
18. 廣瀬 遵、米村 凌、横井春比古、山副敦司、細山 哲、末永 光、木村信忠、渡邊崇人、二神泰基、後藤正利、藤原秀彦、古川謙介、*Pseudomonas putida* KF703 のビフェニル、サリチル酸および安息香酸分解経路をコードするゲノミックアイランドの解析、環境バイオテクノロジー学会大会、2015、東京
19. 木村信忠、山副敦司、細山 哲、廣瀬 遵、渡邊崇人、末永 光、藤原秀彦、二神泰基、後藤正利、古川謙介、ビフェニル/PCB 分解菌 *Pseudomonas balearica* KF707 株の完全長ゲノムシーケンス解析、環境バイオテクノロジー学会大会、2015、東京
20. ビフェニル分解菌の分解遺伝子群の欠失と再編成現象、藤原秀彦、小石早希、安部周斗、山副敦司、細山 哲、下平 潤、木村信忠、末永 光、廣瀬 遵、渡邊崇人、二神泰基、後藤正利、古川謙介、日本生物工学会大会、2015、鹿児島
21. 末永 光、藤原秀彦、山副敦司、細山 哲、下平 潤、木村信忠、廣瀬 遵、渡邊崇人、二神泰基、後藤正利、古川謙介、ビフェニル/PCB 分解能力を高頻度に転移・欠失する *Pseudomonas putida* KF715 株のゲノム再編成現象、日本農芸化学会大会、2016、北海道
22. 廣瀬 遵、寺野貴洋、横井春比古、末永 光、木村信忠、渡邊崇人、二神泰基、後藤正利、藤原秀彦、古川 謙介、*Pseudomonas aeruginosa* KF702 のビフェニル・サリチル酸・安息香酸分解経路をコードするゲノミックアイランドの再編成、日本農芸化学会大会、2016、北海道
23. 渡邊崇人、藤原秀彦、廣瀬 遵、末永 光、木村信忠、リグニン由来化合物の生産のための環境汚染物質分解菌の利用、第 307 回生存圏シンポジウム「生存圏ミッションシンポジウム」、2016、京都
24. 渡邊崇人、藤原秀彦、末永光、木村信忠、廣瀬 遵、二神泰基、後藤正利、古川謙介、ビフェニル/PCB 分解細菌のリグニン由来芳香族化合物代謝酵素の探索と同定、日本生物工学会大会、2016、富山
25. 廣瀬 遵、寺野貴洋、横井晴比古、末永 光、木村信忠、渡邊崇人、二神泰基、後藤正利、藤原秀彦、古川謙介、同一サイトで分離された PCB 分解性細菌 (KF 株)10 菌株のビフェニル分解系 *bph* 遺伝子の多様性、環境微生物系学会合同大会 2017、2017、宮城
26. 藤原秀彦、中尾 桜、東 沙紀、末永 光、木村信忠、渡邊崇人、廣瀬 遵、二神泰基、後藤正利、古川謙介、ビフェニル分解特性を高頻度に転移・欠失する *P. putida* KF715 株のゲノム再編成能に寄与する遺伝因子、環境微生物系学会合同大会 2017、2017、宮城
27. 岡本啓湖、小野浩輝、池見俊亮、掛橋凌、木村奨、張 愚皓、仁平拓哉、永松一馬、中村俊雅、日野美香、藤原秀彦、二階堂雅士、大分県酒造協同組合蔵元酒粕からの清酒用大分酵母の獲得、日本農芸化学会大会、2018、愛知

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

28. 廣瀬 遵、米村 凌、末永 光、木村信忠、渡邊崇人、宮武宗利、横井春比古、二神泰基、後藤正利、藤原秀彦、古川謙介、PCB/ビフェニル分解性シュードモナス細菌の安息香酸分解系トランスポゾン欠失株の諸性質、日本農芸化学会大会、2018、愛知

【大坪】

29. Suzuki-Takedachi K, Ohno Y, Kurogi T, Santo M, Yasunaga S, Ohtsubo M, Naka K, Takihara Y. Analysis of molecular role for Geminin in self-renewal and differentiation of HSCs. The 77th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 2015 年 10 月 18 日(金沢)

30. Ohno Y, Suzuki-Takedachi K, Kurogi T, Santo M, Yasunaga S, Ohtsubo M, Naka K, Takihara Y. A new strategy for manipulating expression and activity of Geminin, a cell-fate determinant for HSCs. The 77th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 2015 年 10 月 18 日(金沢)

31. 竹立(鈴木)恭子、大野芳典、黒木利知、安永晋一郎、山藤幹茂子、舩廣善和、花澤重正、大坪素秋、仲一仁、瀧原義宏 DNA 複製とクロマチンリモデリングを制御する Cell-penetrating(CP-) Geminin の開発 日本分子生物学会年会 2015 年 12 月 2 日(神戸ポートアイランド)

32. 大野芳典、竹立(鈴木)恭子、山藤幹茂子、郭芸、菅野雅元、白須直人、安永晋一郎、大坪素秋、仲一仁、瀧原義宏、低線量率被ばくに対する造血幹細胞の分子応答、第 59 回放射線影響学会総会 2016 年 10 月 26 日(広島)

33. 大野芳典、竹立(鈴木)恭子、山藤幹茂子、郭芸、菅野雅元、白須直人、大坪素秋、仲一仁、安永晋一郎、瀧原義宏 造血幹細胞の低線量率放射線被ばくに対する分子応答の解析 日本分子生物学会年会 2016 年 12 月 2 日(パシフィコ横浜)

34. 大野芳典、竹立(鈴木)恭子、山藤幹茂子、郭芸、菅野雅元、白須直人、安永晋一郎、大坪素秋、瀧原義宏 低線量率放射線が造血に与える影響 日本分子生物学会年会 2017 年 12 月 7 日(神戸ポートアイランド)

35. 竹立(鈴木)恭子、大野芳典、山藤幹茂子、白須直人、大坪素秋、安永晋一郎、瀧原義宏 造血幹細胞の細胞周期と分化の制御における Geminin の分子機能 日本分子生物学会年会 2017 年 12 月 7 日(神戸ポートアイランド)

【林】

36. 2016 年 3 月 日本農芸化学会 2016 年度大会 加藤剛、渡壁理、宋原準、相川靖穂、林毅 *Zymomonas mobilis* の呼吸鎖の塩耐性への関与に関する解析

37. 2015 年 12 月 微生物学の新たな発展、ゲノムから機能・実用に関する九州シンポジウム加藤剛、渡壁理、宋原準、相川靖穂、林毅 「*Zymomonas mobilis* 呼吸鎖の新規生理機能の解析」

38. 2015 年 10 月 第 67 回日本生物工学会(鹿児島) 加藤剛、渡壁理、宋原準、相川靖穂、林毅 「呼吸鎖の新規生理機能の解析: *Zymomonas mobilis* の呼吸鎖は低 NADH/NAD 比の維持により塩耐性を付与している」

39. 2015 年 9 月 九州における蛋白質の構造と機能に関する九州シンポジウム(大分) 林毅 「呼吸鎖の新規生理機能の解析: *Zymomonas mobilis* の呼吸鎖は低 NADH/NAD 比の維持により塩耐性を付与している」

40. 第 22 回 日本生物工学会九州支部宮崎大会講演要旨集 24 2015

【高松】

41. \* 高松伸枝: 臨床現場からみる食物依存性運動誘発アナフィラキシー(FDEIA)、日本体力医学会シンポジウム 11、2017 年 9 月 17 日(松山大学)松山市

42. 高松伸枝: 食物アレルギーに関連した栄養士・管理栄養士認定制度における PAE の関わり、日本小児アレルギー学会 エドゥケーター企画 2017 年 11 月 18 日(ホテル東日本)宇都宮市

43. 高松伸枝: PAE 過疎地域でのちいさな活動、日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会ワークショップ、2017 年 7 月 23 日(ピアザ淡海)大津市

44. \* Takamatsu N, Fujimori A, Nagai A, Kubota T, Tezono K. : Past and Present Symptoms of Food

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

Allergy in University Students , The European Society for Clinical Nutrition and Metabolism(ESPEN), 2015.

45. Narabayashi N, Okafuji I, Tanaka Y, Tsuruta S, Takamatsu N. :Individuals Allergic to Cow's Milk Should be Vigilant When Consuming Beef Because It May be Injected Beef. XXIV World Allergy Congress (WAC 2015), 2015.

46. 2017年 日本小児臨床アレルギー学会3件、日本アレルギー学会2件、日本小児アレルギー学会2件、日本栄養改善学会1件、西日本小児アレルギー研究会1件

47. 2016年 日本小児アレルギー学会1件、日本栄養食糧学会1件、日本栄養改善学会1件、日本小児科学会1件

48. 2015年 日本アレルギー学会2件、日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会1件、日本栄養改善学会学術総会1件、日本小児アレルギー学会2件

【仙波】

49. 2015年9月1日 産学官交流大会講演

「別府地獄蒸し料理は加齢マウスの記憶力を増加させる」

50. サイエンス・インカレ 2018

「別府湯の花の皮膚に対する効果」(研究室の学生が発表)

【木村】

51. 川上凌人、木村靖造 DSS 誘導性慢性大腸炎マウスにおけるイノシン酸及びグアニル酸投与の効果 第3回日本栄養改善学会九州・沖縄支部学術総会、2015年8月22日(別府)

52. 木村靖造 核酸系旨味物質による抗炎症作用について—慢性大腸炎マウスにおける核酸系旨味物質投与果— 第12回九州栄の効養学研究会、2015年11月14日(別府)

特許出願

1. 湯の花が溶解された溶液、それを用いた感染症予防液(出願番号:特願 2017-24738)

出願日 2017年2月27日 出願人:学校法人別府大学 発明者:仙波和代

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

大学ホームページに掲載

【米元】

1. \*平成28年7月 大分ハーフ六次化プロジェクトの締結 大分県庁にて

2. \*平成29年8月 竹田市ヘサフラン香気成分報告 大分県竹田市にて

3. \*平成29年10月 大分農業文化公園にてサフラン植栽実習とアロマ実習 大分県農業文化公園にて

4. \*平成29年11月 竹田市でのサフラン収穫実習 大分県竹田市にて

【吉井】

5. 吉井:個人のホームページを作成しその中で公開する予定

【陶山】

6. 陶山:平成28年11月平成29年度第2回合同研究成果発表会(食品・健康分野)で研究成果を発表 於:大分大学

【仙波】

7. 仙波 2016年3月1日 産学官連携会議にて報告

8. 仙波 2017年7月13日 大分 OBS ラジオ放送にて内容公開

【岡本】

9. 岡本 \* 別府大学ホームページトップクス掲載

タイトル「5年間のシークレット研究の末、獲得された清酒大分酵母」

タイトル「おおいた食品産業企業会ミニ展示会での発表<本格焼酎「夢香米」に HACCP 導入

タイトル「別府大学六次産業で生まれた本格焼酎「夢香米」に HACCP 導入」で 2017年10月24日に掲載

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

<p>タイトル「本格焼酎「夢香米」製造における HACCP 導入 で発表しました。」で 2017 年 11 月 22 日に掲載</p> <p>10. *平成 27 年度清酒用大分酵母開発第 3 回委員会での平成 27 年度研究の発表 池見俊介, 岡本啓湖:「大分県酒造組合選抜酵母による小仕込み製造清酒の品質及び酵母菌の特性比較」 2015 年 10 月 20 日</p> <p>11. *清酒用大分酵母開発委員会・清酒生産技術委員会合同会議での清酒用大分酵母開発に関する研究発表 小野 浩輝, 難波 桃子, 岡本啓湖「大分県酒造組合選抜酵母(ハ-4,KET002)の小仕込み製造 清酒の清酒酵母会 9 号との品質及び特性比較」 2016 年 10 月 27 日</p> <p>12. 平成 28 年 4 月 12 日 TOS テレビ大分(4:50~7:00 TOS ゆ~わくワイド)出演 ゆ~ナビ別府大学(特集 180 秒)サブタイトル【別府大学ブランド焼酎「夢香米」】</p> <p>13. 平成 28 年 4 月 13 日 (朝刊)読売新聞「別府大学生が焼酎を開発」「香り米ブレンド先輩から研究受け継ぐ」掲載</p> <p>14. 平成 28 年 4 月 22 日 (夕刊)今日新聞「大分香りの博物館で別府大学ブランド焼酎販売 2 年の試行錯誤で完成 引き継がれた想いが「夢香米」に」に掲載</p> <p>15. 平成 28 年 5 月 18 日 TOS テレビ大分(4:50~7:00 TOS ゆ~わくワイド)6 時代ニュースに出演 別府大学ブランド焼酎「夢香米」</p> <p>16. 平成 28 年 5 月 20 日 (6:00 わくわくトンボテレビ)出演【別府大学ブランド焼酎「夢香米」】</p> <p>17. 平成 28 年 5 月 24 日 シティー情報おおいた 2016 年 6 月号 編集部の最近コレ気にナッテマスに「大学生もスゴイぞっ! 別府大学 分析と研究の集大成」掲載</p> <p>18. 平成 28 年 7 月 14 日 (朝刊)合同新聞「香り米焼酎完成 爽やかな甘さに 別大生らが報告」に掲載</p> <p>19. 平成 28 年 7 月 5 日 (夕刊)今日新聞「市長に夢香米完成を報告 4 月から別府大学オリジナル焼酎販売」に掲載</p> <p>20. 平成 28 年 10 月 6 日 (夕刊)今日新聞「衛生管理法の実践者を育成 品質保証のポイント学ぶ 別府大学で第 1 回目の講習会」に掲載</p> <p>21. 平成 28 年 10 月 19 日 (夕刊)今日新聞「香り米焼酎の試飲会 先輩らの意志継ぎ学生 2 人が醸造」で掲載</p>
--

#### 14 その他の研究成果等

<p>【米元】</p> <p>1. 三和酒類(株)との共同研究</p> <p>2. *大分県農林水産研究指導センターと【カボス等の香気成分】【カボスブリの香気成分】【シイタケの香気成分】【冠地鶏の香気成分】について</p> <p>3. *竹田市 サフランの香気成分とその香製品の商品化に関する研究</p> <p>【藤原】</p> <p>4. フンドーキン醤油株式会社及び、株式会社サーマスとの共同研究 「好熱菌農業資材散布による、ゆず木及び果実に及ぼす影響」</p>
---

法人番号	441002
プロジェクト番号	S1513008L

## 15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

## &lt;「選定時」に付された留意事項&gt;

地域産品を発展的に新規高付加価値商品にすべく、地域企業と協働して事業を推進してほしい。

## &lt;「選定時」に付された留意事項への対応&gt;

留意事項については、27年度最初にプロジェクトを立ち上げるにあたって、研究者に1～2年度に研究し、3年次には良い結果が出たら商品化あるいは製品の機能性を補強するとかなど地域産品を発展的に新規高付加価値商品にすべく、地域企業と協働して事業を推進してほしいと研究者全員にお願いした。

今回の研究では夢香米の焼酎の開発はもちろんであるが、その他様々な素晴らしい研究成果は、具体化し社会に、企業に還元するように努めた。その結果上記に述べて様な商品化、機能性、高付加価値化が提案できたと考えている。今後も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を通じて大分県の農水産物や香粧原料について、科学的視点からそれら生物資源の有効利用方法を検討し、素材特性を最大限に生かしながら加工・製品化まで食品や香粧品の幅広い新規開発に取り組みたい。更に企業や公設の研究機関との各種共同研究を通じて、地域や産業の活性化に寄与したいと考えている。

本プロジェクトにより、本学が地域におけるこれら研究分野の拠点となり研究をリードするとともに、食品業界のみならず、保健・医療・香粧分野に於いても産業の活性化と発展に貢献できたと考えている。

## &lt;「中間評価時」に付された留意事項&gt;添付文書①

- 1 大分の農産物を研究成果を発表して頂きたいとの要望があった。
- 2 将来的には機能性表示までこぎつけていただきたい。
- 3 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った。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あり、個別にご相談させていただきたい。
- 4 醤油は飲める醤油、香りのない醤油を開発したいので香りを抑える麹菌、乳酸菌、酵母を開発したい。
- 5 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る。
- 6 香りの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提供したい。

## &lt;「中間評価時」に付された留意事項への対応&gt;

いずれも企業にとっては重要な問題であるので、今後各研究者と企業との間で個別に解決していき、私立大学戦略的研究基盤の研究成果を広め、更に地域に根差した研究を進め、地域資源の活性化に努めたい。

法人番号	441002
プロジェクト番号	s1513008L

## 16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要)

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備 考
		法 人 負 担	私 学 助 成	共同研 究機関 負担	受託 研究等	寄付金	その他( )	
平成 二十七 年度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	38,699	15,706	22,993				
	研究費	3,190	1,717	1,473				
平成 二十八 年度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	27,155	9,052	18,103				
	研究費	4,087	2,755	1,332				
平成 二十九 年度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	0						
	研究費	3,389	2,570	819				
平成 年 度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	0						
	研究費	0						
平成 年 度	施 設	0						
	装 置	0						
	設 備	0						
	研究費	0						
総 額	施 設	0	0	0	0	0	0	0
	装 置	0	0	0	0	0	0	0
	設 備	65,854	24,758	41,096	0	0	0	0
	研究費	10,666	7,042	3,624	0	0	0	0
総 計	76,520	31,800	44,720	0	0	0	0	

法人番号

441002

## 17 施設・装置・設備の整備状況（私学助成を受けたものはすべて記載してください。）

《施設》（私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。）（千円）

施設の名称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
別府大学36号館 (発酵食品学科教育研究棟)	H14	2,884m <sup>2</sup>	25	305			
別府大学35号館 (食物栄養学科教育研究棟)	H18	2,232m <sup>2</sup>	26	129			

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

m<sup>2</sup>

《装置・設備》（私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。）

（千円）

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h			
(研究設備)							
白いかぎ付きガスクロ質量分析GC/MSシステム	H27	G7038A	1	2600 h	21,924	12,117	私学助成
プロテインシーケンサー	H27	PPSQ-31B	1	565 h	11,124	7,183	私学助成
糖及びアミノ酸分析システム	H27	LC-20AD	1	265 h	5,651	3,693	私学助成
3レーザー細胞解析機	H28	MACS Quant Analyser 10	1	33 h	11,880	7,920	私学助成
電気泳動・画像解析システム	H28	CHEE Mapper XAチラーシステム	1	2400 h	9,774	6,516	私学助成
光脳機能イメージシステム	H28	WOT-100-16DVC1	1	650 h	5,501	3,667	私学助成
(情報処理関係設備)				h			
				h			

## 18 研究費の支出状況

（千円）

年度	平成 27 年度		
小科目	支出額	積算内訳	
		主な使途	金額
教育研究経費支出			
消耗品費	2,493	消耗品購入	2,493
光熱水費	0		0
通信運搬費	0		0
印刷製本費	0		0
旅費交通費	34		34
報酬・委託料	0		0
計	2,527		2,527
アルバイト関係支出			
人件費支出 (兼務職員)	104		104
教育研究経費支出	0		0
計	104		104
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)			
教育研究用機器備品	559		559
図書	0		0
計	559		559
研究スタッフ関係支出			
リサーチ・アシスタント	0		0
ポスト・ドクター	0		0
研究支援推進経費	0		0
計	0		0

年 度		平成 28 年度		
		法人番号		441002
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	2,124	消耗品購入	2,124	試薬類、実験器具
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	0		0	
報 酬・委 託 料	540		540	
(学 生 生 徒 指 導 費)	14		14	
計	2,678		2,678	
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)	83		83	時給730円, 年間時間数115時間 実人数3人
教 育 研 究 経 費 支 出	0		0	
計	83		83	
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教 育 研 究 用 機 器 備 品	1,326		1,326	溶存酸素計, GC用検出器
図 書	0		0	
計	1,326		1,326	
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	0		0	
研究支援推進経費	0		0	
計	0		0	

年 度		平成 29 年度		
		法人番号		441002
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	2,186		2,186	試薬類、実験器具、消耗図書
光 熱 水 費	0		0	
通 信 運 搬 費	0		0	
印 刷 製 本 費	0		0	
旅 費 交 通 費	50		50	学会参加に伴う旅費
報 酬・委 託 料	191		191	HE染色標本作製、アドバイザー謝金(外部)
(学 生 生 徒 指 導 費)	47		47	学生学科参加旅費および参加費
(修 繕 営 繕 費)	416		416	実験機器修理
計	2,890		2,890	
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人 件 費 支 出 (兼 務 職 員)	69		69	時給730~1,000円, 年間時間数74.5時間 実人数2人
教 育 研 究 経 費 支 出	10		10	アドバイザー謝金(大学非常勤講師)
計	79		79	
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教 育 研 究 用 機 器 備 品	420		420	多目的スピンドウンミキサー、香水水蒸気蒸留装置 他
図 書	0		0	
計	420		420	
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント	0		0	
ポスト・ドクター	0		0	
研究支援推進経費	0		0	
計	0		0	