

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2014 Vol.56 No.11

11

論 説

- コタラヒムブツの免疫系に対する作用
- 柿渋や渋柿廃棄物を利用した放射性元素の除去技術の開発
Development of adsorptive removal technology of radioactive elements from environment using persimmon tannin and astringent persimmon wastes
- 柿渋でウイルス対策 柿タンニンによる強力なウイルス不活化作用
- 環状イソマルトオリゴ糖・メガロ糖の生産
- ヒト腸内菌叢のフィトエストロゲン代謝の多様性
- キシラン分解酵素の基質特異性 — ヘミセルロースの利用へ向けて —
- 流動層造粒工程の効率化 — 気液二相バインダ (アクアガスバインダ) の利用 —
- 寒締め (冬期低温処理) によるホウレンソウの品質成分向上
- 農と食の連携促進のためのWebマニュアル
— 新品種・新技術を核とした経営の確立と地域再生 —

解 説

- いい文章の特許明細書を求めて

連 載

- “地域密着でキラリと光る企業”
日本で初めて動力式精米機を創造した『株式会社サタケ』
- “薬膳” の知恵 (84)



論 説

- ☐ コタラヒムブツの免疫系に対する作用
..... 芳野 恭士 1
- ☐ 柿渋や渋柿廃棄物を利用した放射性元素の除去技術の開発
Development of adsorptive removal technology of radioactive
elements from environment using persimmon tannin and
astringent persimmon wastes
..... 井上 勝利 8
- ☐ 柿渋でウイルス対策
柿タンニンによる強力なウイルス不活化作用
..... 坂口 剛正, 上田 恭子, 川端 涼子 17
- ☐ 環状イソマルトオリゴ糖・メガロ糖の生産
..... 舟根 和美, 小林 麻里子, 大脇 静香, 鈴木 龍一郎, 一ノ瀬 仁美 25
- ☐ ヒト腸内菌叢のフィトエストロゲン代謝の多様性
..... 田村 基 33
- ☐ キシラン分解酵素の基質特異性
ー ヘミセルロースの利用へ向けて ー
..... 前原 智子, 藤本 瑞, 金子 哲 43
- ☐ 流動層造粒工程の効率化
ー気液二相バインダ (アクアガスバインダ) の利用ー
..... 五月女 格 53

Contents

2014 年 11 月号

論 説

- ☐ 寒締め（冬期低温処理）によるホウレンソウの品質成分向上
..... 青木 和彦 63

- ☐ 農と食の連携促進のための Web マニュアル
－ 新品種・新技術を核とした経営の確立と地域再生 －
..... 河野 恵伸 71

解 説

- ☐ いい文章の特許明細書を求めて
..... 宮部 正明 78

連 載

- ☐ “ 地域密着でキラリと光る企業 ”
日本で初めて動力式精米機を創造した『株式会社サタケ』
..... 田形 暁作 85

- ☐ “ 薬膳 ” の知恵 (84)
..... 荒 勝俊 90

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料
コクベース

new 発酵調味料
D&M
ディアントエム

ゼラチン&小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベース
ラクティックイーストエキス
乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳酵母エキスです。

DM **大日本明治製糖株式会社**
食品事業部

〒103-0027 東京都中央区日本橋1-5-3 日本橋西川ビル7F TEL (03) 3271-0755

コトラヒムブツの免疫系に対する作用

芳野 恭士 (YOSHINO Kyoji) *

* 沼津工業高等専門学校 物質工学科

Key Words : コトラヒムブツ・サラシア・腸管免疫・細胞性応答・液性応答・抗炎症・抗アレルギー

はじめに

Salacia reticulata は、インドやスリランカに自生するサラシア属の植物の一種であり、スリランカではコトラヒムブツと呼ばれている。サラシア属植物は、古くから天然薬物としてその根あるいは幹が、主に糖尿病の予防や初期治療に用いられてきた^{1, 2)}。現在では、サラシア属植物の様々な保健作用が報告されており、著者も平成 17 年より行ってきたコトラヒムブツの保健作用に関する研究の一端を、以前に本誌で紹介したことがある³⁾。その注目すべき保健作用の一つに、動物の免疫系に対する作用が挙げられる。スリランカでは、民間薬として、コトラヒムブツの根などが淋病や皮膚病に用いられてきた⁴⁾。これらの疾病や糖尿病の合併症に共通する症状に炎症があり、炎症には免疫系が深く関与している。これまでに、著者のものも含めて、動物の腸管免疫系への影響、アレルギー反応への影響、炎症に対する抑制作用等が報告されているので、以下にそれぞれの効果についてまとめて紹介する。

1. 腸管免疫系に対する作用

サラシア属植物の摂取で体感する効果の一つに、便性の改善が挙げられる⁵⁾。腸管は便の形成に関わっているだけでなく、その表面積が広いことから体外と体内の重要な接触面となっている。そのため、腸管には体内免疫系全体の 60 ~ 70% の細胞や抗体から構成されている主要な免疫機構がある。

サラシア属植物のエキスをラットに経口投与した場合、小腸上皮細胞において多数の免疫関連遺伝子、中でも 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞関連遺伝子の発現が高まることが報告されている⁶⁾。また、インフルエンザウイルスに感染させたマウスにサラシア属植物のエキスを経口投与すると、細胞性免疫応答に関連して脾臓と肺でナチュラルキラー (NK) 細胞の活性が上昇し、咳の減少や肺炎による組織障害の軽減が認められる⁷⁾。ところで、食物繊維やオリゴ糖は、プレバイオティクスとして乳酸菌などの腸内細菌の増殖を促進して腸内環境を改善するとともに⁸⁾、腸管免疫系を活性化するものと考えられている⁹⁾。例えば、シイタケの β -1, 3-グルカンに、Th1 細胞の活性化により誘導される NK 細胞の活性化作用がある¹⁰⁾。コトラヒムブ

ツの場合、その幹および葉には、食物繊維がそれぞれ 76.3 および 45.4 g/100 g 含まれており¹¹⁾、食物繊維の含量が多い素材の一つである。また、その α -グルコシダーゼ活性阻害作用のために、腸管内で吸収されなかった糖質が腸下部の細菌により資化される可能性があり、プレバイオティクスとしての機能を持つことが期待される。

そこで著者らは、コタラヒムブツの葉および幹の微粉碎物を 0.5% (w/w) または 1.0% (w/w) となるように通常飼料に添加し、マウスに 28 日間摂取させたときの腸管免疫系への影響について検討した¹²⁾。まず、コタラヒムブツの葉および幹の投与の前に、マウスの腸内菌をヒトのそれに近づける試みを行った。一般に、ヒトの乳酸菌では *Bifidobacterium* 属が多いのに対して、マウスでは *Lactobacillus* 属が多いとされている^{6, 13)}。そこで、飼育前の 3 日間、*Bifidobacterium longum* BB536 と *Lactobacillus casei* YIT 9029 をそれぞれ含む市販のプレーンヨーグルトをマウスに与えた。その後、コタラヒムブツの葉および幹を 28 日間摂取させ、腸管について数種のサイトカイン類や抗体類のレベルを測定し、コタラヒムブツの試料を摂取させなかった対照群マウスと比較した場合の、それぞれの変動の傾向をまとめたものを図 1 に示す。

コタラヒムブツの葉および幹の投与により、マウス小腸のサイトカインであるインターロイキン-4 (IL-4) のレベル、さらにはイムノグロブリン E (IgE) や IgG といった抗体レベルが対照群に比較して低下する傾向が見られた。体液性抗体応答において、Th2 細胞関連サイトカインである IL-4 は IgE や IgG を産生する B 細胞を活性化するが、コタラヒムブツはこれらの系を抑制する傾向があった。一方で、IgA を産生する B 細胞の活性化に関わるサイトカインとして知られる IL-5、IL-6 および IL-10 のマウス小腸レベルは、コタラヒムブツの葉および幹の投与により対照群に比較して上昇する傾向が

見られた。マウス小腸の IgA レベルも、コタラヒムブツの葉および幹の投与により対照群に比較して上昇する傾向が見られた。これらのことから、コタラヒムブツの葉または幹の摂取は、Th2 細胞が誘導する体液性抗体応答のうち、腸管での主要抗体であるとともにアルツス型のアレルギーに関与する抗体としても知られる IgG やアナフィラキシー型のアレルギーに関与する抗体である IgE の産生系を抑制し、一方で、体外で抗原の侵入を抑制、失活させる分泌型抗体の IgA の産生系を高めるものと考えられた。IL-10 は、Th2 細胞のほかマクロファージ (M ϕ) や制御性 T (Treg) 細胞等によって産生される。IL-10 レベルの上昇は、Treg 細胞の分化を促すことで免疫寛容を誘導し、IgE や IgG の産生に関係する Th2 細胞または B 細胞の活動を抑制したものと予想される。

次に、Th1 細胞関連サイトカインである IL-12 とインターフェロン- γ (IFN- γ) のマウス腸管でのレベルは、コタラヒムブツの葉および幹の投与により対照群に比較して上昇する傾向が見られた。これらのサイトカイン類は、細胞性免疫応答を惹起する作用があり、そのため M ϕ や NK 細胞等が活性化され、ウイルス感染細胞等に対する免疫応答が高まるものと予想される。この結果は、これまでに報告されているサラシア属植物のラット小腸に対する効果⁶⁾と一致している。IL-12 により活性化された M ϕ により、IL-6 や IL-10 が産生されたものと予想される。IL-12 や IFN- γ といった前炎症性サイトカインにより Th1 細胞が活性化されると、M ϕ 等が産生する活性酸素といったメディエーターにより炎症が生じる可能性がある。また、腸管には、Th1 細胞および Th2 細胞に関連する主要な免疫系以外に、Th17 細胞が関与する特異な炎症系がある。樹状細胞が産生する IL-6 は Th17 細胞を活性化することが知られており、コタラヒムブツの葉または幹の投与

でマウス小腸の IL-6 レベルは対照群に比較して上昇する傾向を示した。しかし、マウスの腸管の酸化ストレスの指標である過酸化脂質レベルは、コトラヒムブツの葉または幹の投与で対照群に比較して低下する傾向が見られた。Th17 細胞が産生するとされる IL-17 の小腸レベルも、コトラヒムブツの葉または幹の投与で、対照群に比較して低下する傾向が見られた。これらの結果から、コトラヒムブツの葉または幹の投与では、Th1 細胞が関与する細胞性免疫応答は上昇するものの、炎症は誘発されないものと考えられる。炎症反応

の抑制は、IL-10 により活性化された Treg によるものであることが予想される。以上の結果は健常なマウスの腸管に対するコトラヒムブツの効果であり、過剰な細胞性免疫応答による接触皮膚炎を起こしたマウスに対する効果については次の項に述べる。また、腸管とは異なり、コトラヒムブツの幹の投与では健常マウスの肝臓における炎症あるいは免疫に関連する遺伝子の発現は変化しないことも知られており、コトラヒムブツの腸管免疫系への影響は他の臓器とは異なる可能性がある¹⁴⁾。

コトラヒムブツの腸管に対するこのような効果は、主にプレバイオティクスとしての作用によるものと考えられる。これまでに、サラシア属植物をヒトに投与すると、糞便中のアンモニア量が減少しその pH が低下することが報告されており¹⁵⁾、腸内菌により単鎖脂肪酸が産生されたことが推測される。また、ヒトの腸内菌叢で *Bifidobacterium* 属の増加と *Clostridium* 属の減少が見られる¹⁶⁾。ラットへの投与の場合は、腸内菌叢で *Firmicutes* 門の比率が減少し、*Bacteroidetes* 門の比率が増加する。

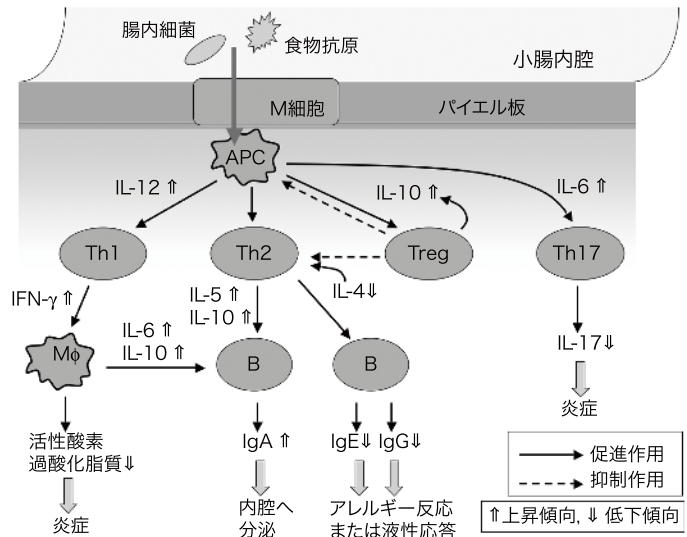


図1 コトラヒムブツの葉および幹の経口投与によるマウス腸管免疫系への影響

Bacteroidetes 門の細菌は、乳酸菌よりも強い免疫賦活作用があり IgA の産生を高める。著者も、マウスにコトラヒムブツの葉を 7 日間投与すると、糞中の乳酸菌数が対照群に比較して増加することを認めている。

2. IV 型アレルギーに対する作用

近年、コトラヒムブツの葉や *S. oblonga* の根に、リウマチ性関節炎¹⁷⁾ やカラゲニン誘発ラット踵浮腫¹⁸⁾ に対する抗炎症作用があることが報告されている。リウマチ性関節炎は、Gell-Coombs のアレルギー分類法ではⅢ型（アルツス型）のアレルギーとされているが、強い炎症を伴う遅延型の反応という点でⅣ型アレルギーとも関連が深い¹⁹⁾。Ⅳ型アレルギーは、Th1 細胞により惹起される細胞性免疫応答によって起こる遅延型の反応であり、結核病変、移植拒絶反応、うるしや化学薬品で起こる接触皮膚炎などのように激しい炎症を伴うのが特徴である。我々は、コトラヒムブツと *S. oblonga* の葉または幹の水抽出物について、マウス接触

皮膚炎抑制作用とその作用に寄与する含有成分の報告を行っている²⁰⁾。

S. oblonga の葉およびコタラヒムブツの葉と幹の水抽出物をマウスに経口投与したところ、既知の抗炎症剤であるヒドロコルチゾンに比較すると弱いものの、いずれにおいても投与量に依存した接触皮膚炎抑制作用が見られた。特に 200 および 400 mg/kg 体重の投与量でアレルギー群に比較して有意な抑制効果が認められ、その効果はコタラヒムブツの葉で強い傾向があった。このことから、コタラヒムブツは正常なマウスの腸管においては細胞性応答を高めるが、過剰な細胞性応答に対しては抑制作用を示すことがわかる。

接触皮膚炎をはじめとするⅣ型アレルギーでは、活性化された Th1 細胞が産生する前炎症性サイトカインによるマクロファージ等の免疫細胞の活性化が起こる。活性化されたマクロファージ等の食細胞は、アレルゲンを破壊するために活性酸素を産生する。活性化されたマクロファージもまた、前炎症性サイトカインを産生、分泌する。しかし、免疫細胞により過剰産生された活性酸素が漏出すると、周囲の正常細胞が傷害を受けて炎症が惹起されるものと考えられる。そこでコタラヒムブツの葉と幹水抽出物を経口投与した場合の、接触皮膚炎発症マウス耳介中の前炎症性サイトカインとして、IL-12 と γ -IFN のレベルを測定した。接触皮膚炎発症マウスの耳介中 IL-12 および γ -IFN レベルは、健常マウスに比較して有意に上昇したが、コタラヒムブツの葉および幹の水抽出物の経口投与は、これらサイトカインのレベルの上昇を投与量依存的に抑制する傾向が見られた。葉と幹水抽出物の経口投与では、接触皮膚炎抑制作用の場合と同様、葉の方が効果が強い傾向が見られた。接触皮膚炎の発症過程において重要な役割を果たすこれらのサ

イトカイン類の産生、分泌の抑制は、コタラヒムブツの葉や幹水抽出物の経口投与による接触皮膚炎抑制作用の一部に寄与しているものと考えられる。接触皮膚炎マウスの耳介に対するコタラヒムブツの効果の傾向を、図2にまとめた。

コタラヒムブツの葉と幹の水抽出物では、葉の方が接触皮膚炎抑制作用が強い傾向が見られた。コタラヒムブツの葉の水抽出物には、幹よりも多くのポリフェノール成分が含まれている²¹⁾。コタラヒムブツの葉には、フラボノイドのマンギフェリンやカテキン類の (-)-エピカテキン (EC) および (-)-エピガロカテキン (EGC) が、またその幹にはマンギフェリンが含まれることが知られている^{21, 22)}。そこで、コタラヒムブツの葉および幹水抽出物の投与量 400 mg/kg 体重中に含まれる量のマンギフェリンまたはカテキン類について、マウスへの経口投与を行った。葉水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンと EC の経口投与では有意な接触皮膚炎抑制作用が見られたが、EGC では有意な作用は見られなかった。幹水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンでも、有意な接触皮膚

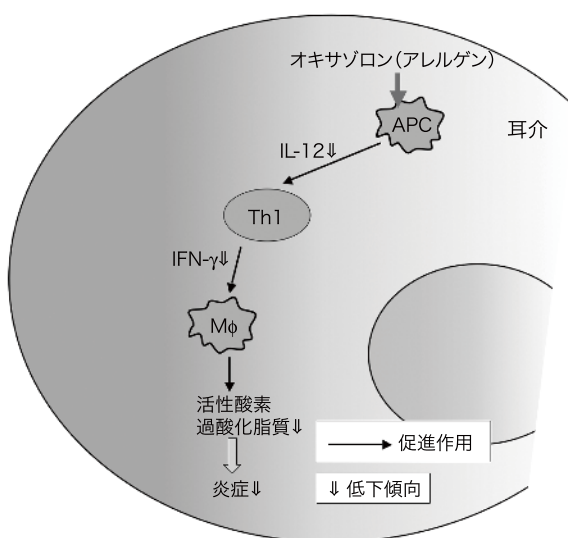


図2 コタラヒムブツの葉および幹水抽出物の経口投与によるマウス耳介接触皮膚炎への影響

炎抑制作用が見られた。従って、コタラヒムブツの葉および幹水抽出物の経口投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用に、そのポリフェノール成分であるマンギフェリンと EC が寄与しているものと考えられた。これらの成分の活性酸素消去作用といった抗酸化作用がその効果に関与している可能性があり、サラシア属植物に抗酸化作用があることも報告されている^{11, 22-25)}。コタラヒムブツの葉の利用は、根や幹に比較して再生が早い植物そのものへの傷害が少なく、すむことや、苦味が少なくその水浸出物を茶として摂取するのに適していることなどの利点がある。

なお、コタラヒムブツの葉および幹水抽出物は、経口投与だけでなく経皮投与でもマウスの接触皮膚炎やアラキドン酸誘発マウス耳介皮膚炎²⁶⁾に抑制効果を示すことから、食品としてだけでなく、香粧品等への添加といった活用法が期待される。

3. I 型アレルギーに対する作用

I 型アレルギーは、Th2 細胞により惹起される体液性抗体応答によって起こる即時型の反応であり、最も代表的なアレルギーとして知られている。食物や花粉、医薬品などを抗原として発症し、アナフィラキシーショックや気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻炎といった症状を起こす。我々は、コタラヒムブツと *S. oblonga* の葉または幹の水抽出物について、マウス卵白アルブミン誘発アナフィラキシー型アレルギー反応抑制作用とその作用に寄与する含有成分の報告を行っている²¹⁾。

S. oblonga の葉およびコタラヒムブツの葉と幹の水抽出物をマウスに経口投与したところ、既知の抗アレルギー剤であるジフェンヒドラミンに比較すると弱いものの、コタラヒムブツの葉と幹の水抽出物において、投与量に依存した

I 型アレルギー抑制作用が見られた。有意な抑制効果は、葉水抽出物の 400 mg/kg 体重と幹水抽出物の 200 および 400 mg/kg 体重の投与量で認められ、その効果は幹でより強い傾向があった。このことから、コタラヒムブツは正常なマウスの腸管の液性応答においても、また、過剰な液性応答に対しても抑制作用を示すことがわかる。

I 型アレルギーでは、活性化された Th2 細胞が産生する IL-4 といったサイトカインによる B 細胞の活性化が起こる。活性化された B 細胞は、各種抗体を産生する。このうち、IgE が産生されてマスト細胞表面の受容体に結合し、これに抗原が架橋結合するとマスト細胞からヒスタミン等の活性アミンが放出され、I 型のアレルギー症状が引き起こされる。そこでコタラヒムブツの葉と幹水抽出物を経口投与した場合の、I 型アレルギーマウス腹壁中の IL-4 および IgE のレベルを測定した。I 型アレルギー発症マウスの腹壁中 IL-4 と IgE のレベルは、健常マウスに比較して有意に上昇したが、コタラヒムブツの葉および幹の水抽出物の経口投与は、これらのレベルの上昇を抑制する傾向が見られた。その効果は、アレルギー抑制作用と同様、葉よりも幹水抽出物の方が強い傾向があった。I 型アレルギーの発症過程において重要な役割を果たすこれらのサイトカインや抗体の産生、分泌の抑制は、コタラヒムブツの葉や幹水抽出物の経口投与による I 型アレルギー抑制作用の一部に寄与しているものと考えられる。I 型アレルギーマウスの腹壁に対するコタラヒムブツの効果の傾向を、図 3 にまとめた。IV 型アレルギーの場合と同様、I 型アレルギーでもコタラヒムブツの葉および幹水抽出物の投与量 400 mg/kg 体重中に含まれる量のマンギフェリンまたはカテキン類について、マウスへの経口投与を行った。葉水抽出物に含まれる量の EC の経口投与では、有意ではないものの

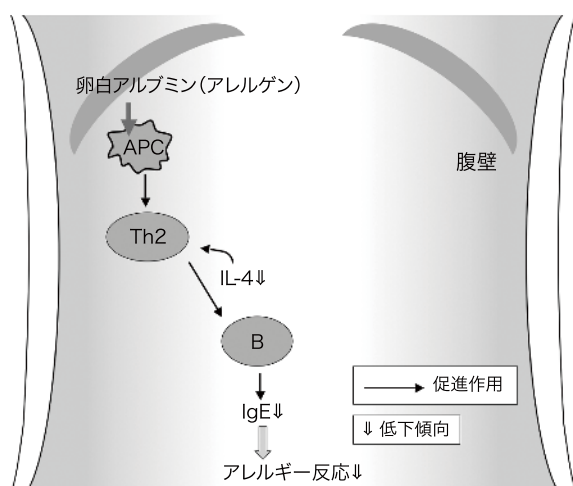


図3 コタラヒムブツの葉および幹水抽出物の経口投与によるマウスⅠ型アレルギーへの影響

Ⅰ型アレルギーを抑制する傾向が見られたが、マンギフェリンと EGC では明確な抑制作用は見られなかった。幹水抽出物に含まれる量のマンギフェリンでは、有意なⅠ型アレルギー抑制作用が見られた。従って、コタラヒムブツの葉および幹水抽出物の経口投与によるマウスⅠ型アレルギー抑制作用に、そのポリフェノール成分であるマンギフェリンと EC が寄与しているものと考えられた。特に、幹の水抽出物の作用は、それに含まれるマンギフェリンの効果が主要であると思われる。

ヒトにおける花粉症や鼻炎においても、以前に報告したモニター調査で、2 ヶ月強のコタラヒムブツの摂取により約 8 割の被験者がくしゃ

みや鼻水の改善を感じている³⁾。

おわりに

サラシア属植物の安全性は、その産地におけるこれまでの長い食習慣によって裏付けられるだけでなく、亜慢性毒性や遺伝毒性などについての確認の報告がある^{27, 28)}。著者の研究室で行ってきたマウスの実験でも、コタラヒムブツの葉や幹の抽出物 800mg/kg 体重での単回投与や、抽出物 0.01% 溶液の 2 週間の自由摂取、粉碎物を 5% の割合で飼料に添加しての 5 日間の飼育、粉碎物を 1% の割合で飼料に添加しての約 30 日間の飼育等において、いずれもマウスに外見および解剖上の異常は認められていない。また、葉 2g を 1L の水で抽出したものを 2 ヶ月間摂取したヒトでのモニター調査においても、特に体調不良等の愁訴は聞かれなかった。

今回報告したマウス免疫系に対するコタラヒムブツの影響に関して、その有効成分の一部はマンギフェリンや EC, EGC といったポリフェノールと考えられるが、これらの成分単独ではコタラヒムブツの効果を十分に説明することは困難であった。従って、これらの成分の相乗効果や相加効果を検討するとともに、今後、他の有効成分についても検索する必要があるものと考えられる。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 吉川 雅之：薬用植物の糖尿病予防成分 医食同源の観点から．化学と生物，**40**: 172-178, 2002.
- 2) M. Modak, P. Dixit, J. Londhe, *et al.*: Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **40**: 163-173, 2007.
- 3) 芳野 恭士：コタラヒムブツの多様な保健作用 . *New Food Industry* **52**: 33-42, 2010.
- 4) 吉川 雅之：Salacia 属植物の生物活性成分．第 1 回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集，2-9, 2008.
- 5) 金高 隆，古賀 邦正：腸内環境改善作用を有する食品組成物．特願 2005-217267，特開 2007- 31345.
- 6) Y. Oda, F. Ueda, A. Kamei, *et al.*: Biochemical investigation and gene expression analysis of the immunostimulatory functions of an edible Salacia extract in rat small intestine. *BioFactors* **37**: 31-39, 2011.
- 7) 小田 由里子，植田 文教，永田 幸三：腸内細菌叢調節を介したサラシア属植物エキスのインフルエンザ

- 症状軽減作用. 第5回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, 28-34, 2012.
- 8) 渡部 侑子: 腸内細菌で健康を守る. *New Food Industry* **40**: 9-16, 1998.
 - 9) S. Ishizuka: Dietary fiber: A new modulator for distribution of immune cells around intestinal crypts. *FFI Journal* **210**: 917-928, 2005.
 - 10) J. P. Fruehauf, G. D. Bonnard, R. B. Herberman: The effect of lentinan on production of interleukin-1 by human monocytes. *Immunopharmacology* **5**: 65-74, 1983.
 - 11) K. Yoshino, Y. Miyauchi, T. Kanetaka, *et al.*: Anti-diabetic activities of leaf extracts prepared from *Salacia reticulata* in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**: 1096-1104, 2009.
 - 12) 芳野 恭士, 間部 涼祐, 宮本 潤基 他: *Salacia reticulata* のマウス腸管免疫系に対する影響. *J. Technol. Educ.* **21**: 17-26, 2014.
 - 13) Y. Bouhnik, L. Raskine, G. Simoneau, *et al.*: The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate fecal bifidobacteria: a dose-response relationship study in healthy humans. *Nutr. J.* **28**: 5-8, 2006.
 - 14) R. Im, H. Mano, S. Nakatani, *et al.*: Safety evaluation of the aqueous extract Kothala Himbutu (*Salacia reticulata*) stem in the hepatic gene expression profile of normal mice using DNA microarrays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**: 3075-3083, 2008.
 - 15) 植田 文教, 池田 賢治, 高島 正伸: サラシア属植物の抽出成分の腸内環境への作用. 第1回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, 42-47, 2008.
 - 16) 小田 由里子, 植田 文教, 中村 善貞: サラシア属植物エキスの腸内細菌叢に対する作用. 第3回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, 56-62, 2010.
 - 17) Y. Sekiguchi, H. Mano, S. Nakatani, *et al.*: Effects of the Sri Lankan medicinal plant, *Salacia reticulata*, in rheumatoid arthritis. *Genes Nutr.* **5**: 89-96, 2010.
 - 18) T. S. Ismail, S. Gopalakrishnan, V. H. Begum, *et al.*: Anti-inflammatory activity of *Salacia oblonga* Wall. and *Azima tetracantha* Lam. *J. Ethnopharmacol.* **56**: 145-152, 1997.
 - 19) T. R. Mikuls, J. R. Cerhan, L. A. Criswell, *et al.*: Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **46**: 83-91, 2002.
 - 20) 芳野 恭士, 宮本 潤基, 間部 涼祐 他: *Salacia reticulata* のマウス接触皮膚炎抑制作用. *J. Technol. Educ.* **19**: 51-61, 2012.
 - 21) 芳野 恭士, 岸 由紀乃, 金高 隆 他: *Salacia reticulata* の卵アルブミン誘発I型アレルギー反応におけるマウス腹壁血管透過性亢進抑制作用. 日本栄養・食糧学会誌, **65**: 221-227, 2012.
 - 22) M. Yoshikawa, K. Ninomiya, H. Shimoda, *et al.*: Hepatoprotective and antioxidative properties of *Salacia reticulata*: Preventive effects of phenolic constituents on CCl₄-induced liver injury in mice. *Biol. Pharm.Bull.* **25**: 72-76, 2002.
 - 23) K. Krishnakumar, K. T. Augusti, P. L. Vijayammal: Hypoglycaemic and anti-oxidant activity of *Salacia oblonga* Wall. extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* **43**: 510-514, 1999.
 - 24) A. Kishi, T. Morikawa, H. Matsuda, *et al.*: Structures of new friedelane- and norfriedelane-type triterpenes and polyacylated eudesmane-type sesquiterpene from *Salacia chinensis* LINN. (*S. prnoides* DC., Hippocrateaceae) and radical scavenging activities of principal constituents. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 1051-1055, 2003.
 - 25) 芳野 恭士, 山口 真翔, 齋藤 圭祐 他: 高脂食摂取マウスにおける *Salacia reticulata* の脂質低下作用. *J. Technol. Educ.* **19**: 23-29, 2012.
 - 26) 芳野 恭士, 近藤 郁美子, 金高 隆 他: サラシア (*Salacia reticulata*) のマウス耳介皮膚における抗炎症作用. *J. Technol. Educ.* **21**: 45-51, 2014.
 - 27) A. M. Flammang, G. L. Erexson, M. S. Mecchi, *et al.*: Genotoxicity testing of a *Salacia oblonga* extract. *Food Chem Toxicol.* **44**: 1868-1874, 2006.
 - 28) A. M. Flammang, G. L. Erexson, J. M. Mirwald, *et al.*: Toxicological and cytogenetic assessment of a *Salacia oblonga* extract in a rat subchronic study. *Food Chem Toxicol.* **45**: 1954-1962, 2007.

柿渋や渋柿廃棄物を利用した 放射性元素の除去技術の開発

Development of adsorptive removal technology of radioactive elements from environment using persimmon tannin and astringent persimmon wastes

井上 勝利 (INOUE Katsutoshi) *

* 佐賀大学理工学部 機能物質化学科

Key Words : 柿タンニン・放射性物質・ウラン・セシウム・除去・吸着剤・廃棄物系バイオマス・有効利用

Abstract.

New environmentally benign adsorbents were prepared from peels of astringent persimmon generated in the production of dried persimmon fruits, persimmon extract which has been extensively used for leather tanning and as natural dyes, paints and so on as well as persimmon residue after extracting persimmon tannin. They were prepared in a simple manner by means of condensation crosslinking reaction using concentrated sulfuric acid at 373 K. The adsorbent prepared from astringent persimmon peel was found to be effective for the selective separation of uranium(VI) and thorium(IV) ions from trivalent rare earth ions. Those prepared from persimmon extract and its residue were found to be effective for the selective separation of cesium(I) from sodium(I).

はじめに

希土類元素は我が国のハイテク産業にとって欠かすことのできない金属原料であるが、その全てを中国等の諸外国に依存している。希土類元素を含む鉱石にはモナザイト、バストネサイト、ゼノタイム、並びに中国の江西省で産出されるイオン吸着鉱がある。これらの内、非常に特殊な鉱石であるイオン吸着鉱を除いて、全ての希土類鉱石にはウランやトリウムといった放射性元素が含まれている。地下から採掘された鉱石は選鉱という処理により希土類元素の含有量の大きな精鉱とその他の尾鉱（鉱滓）という部分に選別される。放射性元素はこの尾鉱の部分に移行・濃縮される。したがって希土類元素

の鉱滓中にはかなりの量の放射性元素が含まれているため、その適切な処理が課題となる。すなわち適切な処理がなされないと放射性元素による重大な環境問題を引き起こす。実際 1980 年代には、マレーシアのイポーで希土類元素の鉱山を操業していた日系企業がこの問題の処理を巡るトラブルに見舞われ、事業からの撤退を余儀なくされた¹⁾。また中国での大産地である内モンゴルにおいても放射性元素が原因とみられる健康障害が発生していることが報じられている²⁾。

2011 年 3 月の福島第一原子力発電所の事故により、セシウム 134、137 やストロンチウム 90 といった放射性核種が大量に放出され、近

隣自然环境を大きく汚染したことは周知の事実である。このような放射性元素の除去による1日も早い環境の修復が強く要望されている。

筆者はこれまでミカン搾汁残渣や海藻廃棄物等のバイオマス廃棄物を利用した環境中の有害物の除去や有価物の回収の研究を長年行ってきた。その一環として天然物である柿渋や、その抽出残渣である渋柿廃棄物を原料として水中からこのような放射性元素であるウラン、トリウム、セシウムを選択的に分離・除去するための環境調和型の分離技術の開発を行った。

ここで柿渋は若い渋柿の青い実を搾汁し、これを発酵させることにより製造され、皮なめしや日本酒中のたんぱく質や鉄分の除去、ならびに天然の染料、塗料として古くから広く利用されている。柿渋中の主要成分である柿タンニンはその構造を図1に示す複雑な構造の高分子化合物であり、ピロガロールやカテコールといったポリフェノール化合物の官能基を多

数有する³⁾。

1. 渋柿廃棄物によるウランやトリウムの吸着・除去技術の開発⁴⁾

1970年代の第1次および第2次石油ショックを契機として我が国のエネルギー政策は原子力エネルギーの方向に大きく舵を切った。このような背景から海水中からのウランの回収の研究が注目された。宮崎医科大学（現：宮崎大学医学部）の坂口と中島はタンニン酸を原料とする吸着剤が希薄濃度で存在する海水中のウランを効率的に吸着することを見出した⁵⁾。すなわちタンニン酸のようなポリフェノール化合物がウランに対して高い親和性を有していることが見いだされた。

しかしながらポリフェノール化合物を柿渋液のような様々な天然物中から純粋に近い形で抽出して吸着剤を製造することは多大のコストを要する。そこで筆者らはポリフェノール化合物の柿タンニンを多く含むバイオマス廃棄物を丸ごと原型に近い形で吸着剤に調製することを発案した。すなわち佐賀県で発生した干し柿の製造の際に発生する渋柿の皮の廃棄物を原料としたウランやトリウムの吸着剤（以後これを柿皮吸着剤と略称する）の調製を行った。吸着の活性成分となるポリフェノール化合物は親水性の水酸基を多く有するため、部分的に水に溶解し、吸着能を低下させる。このため固体の吸着剤に調製するためには、原材料中に含まれるセルロース等の高分子鎖にポリフェノール化合物を固定化させる必要がある。固定化には様々な方法が考えられるが、本研究においては濃硫酸による脱水縮合反応により、セルロースの水酸基とポリフェノール化合物の水酸基とを反応させてエーテル結合にするとという簡単な方法により固定化を行った。その概念図を図2に示す。

具体的には渋柿の皮を切断し、フラスコ中で

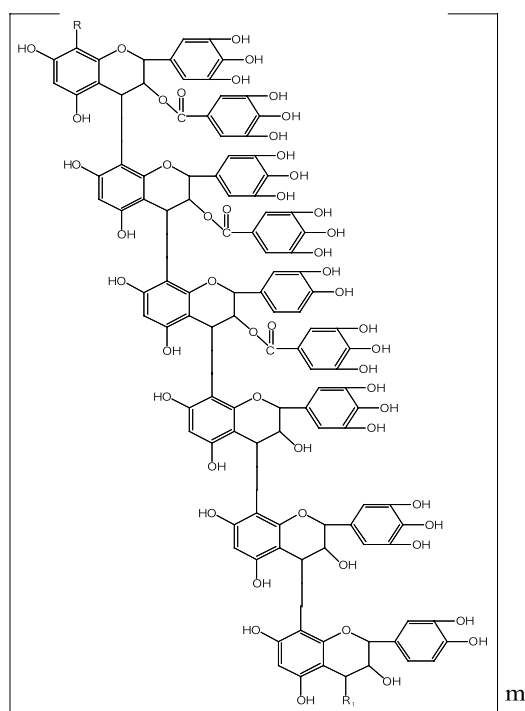


図1 カキタンニンの化学構造

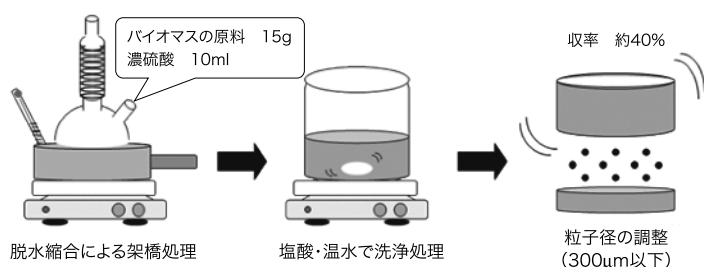


図2 濃硫酸を用いた脱水縮合反応による柿渋や渋柿廃棄物等のバイオマスの架橋処理の概念図

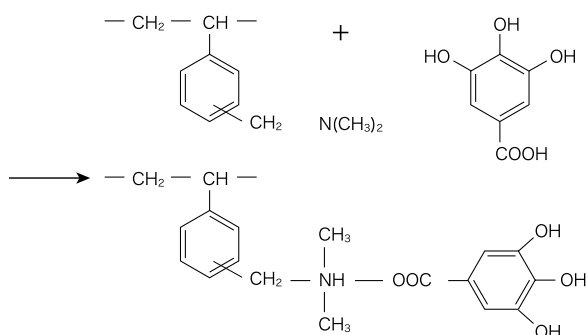


図3 弱酸性インイオン交換樹脂への没食子酸の固定化による没食子酸樹脂の調製反応

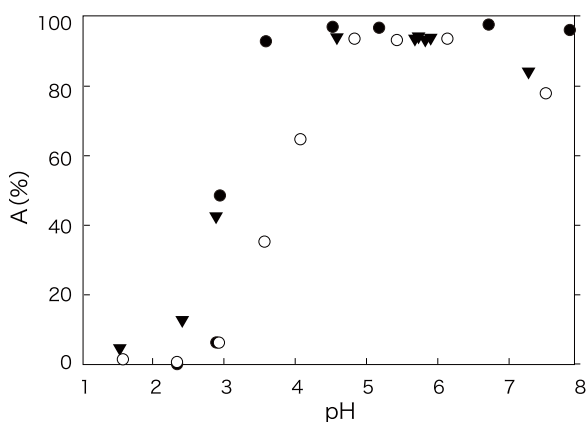


図4 柿皮吸着剤 (●), 柿渋含浸樹脂 (○) および没食子酸樹脂 (▼) によるウラン (VI) の吸着百分率 (縦軸) と吸着後の水溶液の pH (横軸) との関係

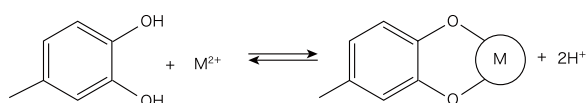


図5 2価の金属陽イオン (例えばウラニルイオン (UO_2^{2+}) のような M^{2+} の陽イオン) とカキタンニン中のカテコールの官能基との陽イオン交換反応の例

濃硫酸とともに 100℃で 24 時間加熱することにより固定化を行った。固形物を濾過して回収した後、希塩酸水溶液で洗浄して硫酸を除去し、さらに水洗、乾燥した後、乳鉢で粉状に粉碎した。このようにして調製された粉体を吸着剤として以下の吸着実験に供した。

また比較のため、柿渋液を多孔性の樹脂に含浸させることにより調製された (株) トミヤマ製の柿渋含浸樹脂、並びに図 3 の反応のようにピロガロールの構造を有する没食子酸を 3 級アミノ基の官能基を有する弱塩基性陰イオン交換樹脂 (三菱化学製 DIAION WA30) に固定化させて調製された没食子酸樹脂を使用して同様の吸着実験を行った。

図 4 に 3 種の吸着剤によるウラン (VI) イオンの吸着百分率と pH の関係を示す。いずれの場合も吸着は pH=2 ~ 5 の領域において pH の増加と共に増大している。この場合、ウラン (VI) イオンは水中においてウラニルイオン (UO_2^{2+}) として存在しているが、この現象は陽イオンのウラニルイオンが 1 例を図 5 に示すように吸着剤に含まれるピロガロールやカテコールのポリフェノール性の水酸基の水素原子と陽イオン交換して吸着されるというメカニズムで説明することができる。またこの結果より水中のウランやトリウムは pH>4 の液中から吸着した後、pH<1 の酸性水溶液に接触させることにより、吸着されたこれらの金属イオンを全て溶離 (脱着) できることが分かる。すなわち pH を適切にコントロールすることにより希薄濃度で水中に存在するこれらの放射性元素を吸着・分離・濃縮し、その後高濃度の状態で水中に再度溶

出できることが分かる。

図6に柿皮吸着剤によるウラン(VI)、トリウム(IV)および希土類元素の1種で、その中でも原子量が最も大きなルテチウム(III)の吸着百分率とpHとの関係を示す。この図では、吸着の起るpHの低い程より強力に吸着されることを意味している。したがってこれら3種の元素の内では、トリウム(IV) > ウラン(VI) > ルテチウム(III)の順に吸着が行われる。すなわちトリウムやウランといった放射性元素や希

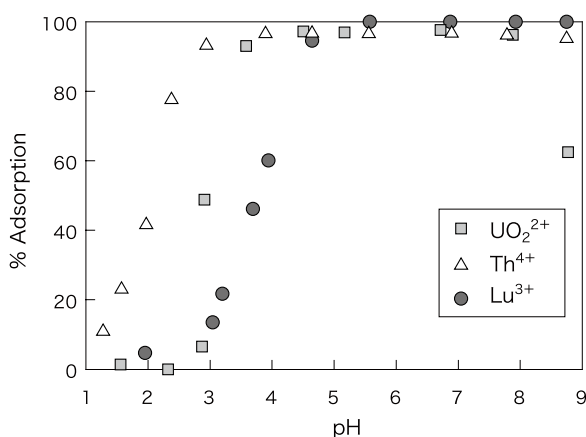


図6 柿皮吸着剤によるウラン(VI)、トリウム(IV)およびルテチウム(III)の吸着百分率(縦軸)と吸着後の水溶液のpH(横軸)との関係

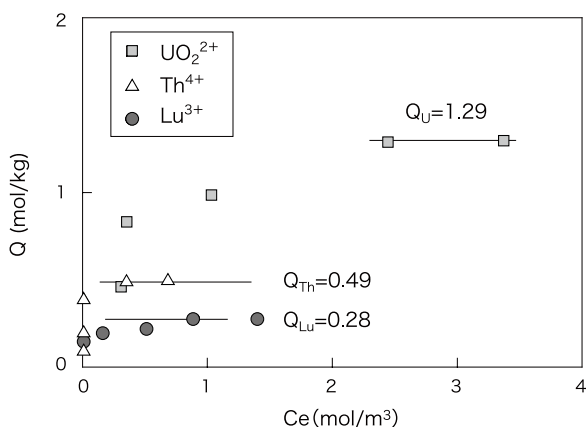


図7 柿皮吸着剤による30℃におけるウラン(VI)、トリウム(IV)およびルテチウム(III)の吸着等温線(各金属イオンの吸着量(縦軸)と吸着後の水溶液中に残存する金属イオンの濃度(横軸)との関係)

土類元素を含む鉱滓が水に溶けた場合を想定すると、本研究で開発された柿皮吸着剤を用いれば危険性の大きなトリウムやウランが希土類元素よりもより強力に吸着され、問題の水中から選択的に除去できると期待できる。

図7に柿皮吸着剤に対するウラン(VI)、トリウム(IV)、およびルテチウム(III)の30℃における吸着等温線、すなわちこれらの金属イオンの吸着量(Q)と吸着後の水中に残存する金属イオンの濃度との関係を示す。吸着量はいずれのイオンにおいても濃度の増加と共に増大し、やがて一定値に達するというLangmuir型の吸着を示している。この一定値より各金属イオンの飽和吸着量が求められる。ウラン(VI)、トリウム(IV)およびルテチウム(III)に対して、飽和吸着量はそれぞれ1.29, 0.49および0.28 mol/kgと求められた。

先に述べたように本吸着剤では水溶液のpHをコントロールすることによりウランやトリウムの吸着と溶離(脱着)が行われる。図8にこのようにpHを変化させることにより、同じ吸着剤でウランの吸着と溶離を繰り返した場合の吸着百分率と溶離百分率の変化を示す。吸着と溶離を10回繰り返してもほぼ100%の吸着と溶離が達成されていることが分かる。このようにバイオマス廃棄物由来の吸着剤と言えども優れた耐久性を有していることが分かる。

このようなバッチ実験の結果に基づき図9に示すカラムの装置を用いてウラン(VI)/ルテチウム(III)の相互分離実験を行った。図10にウラン(VI)とルテチウム(III)の混合水溶液を柿皮吸着剤を充てんしたカラムに通液した時の破過曲線、すなわちカラム出口の相対濃度(=出口濃度/入口濃度)とベッド数(=通液した液の総体積/カラムに充てんした吸着剤の体

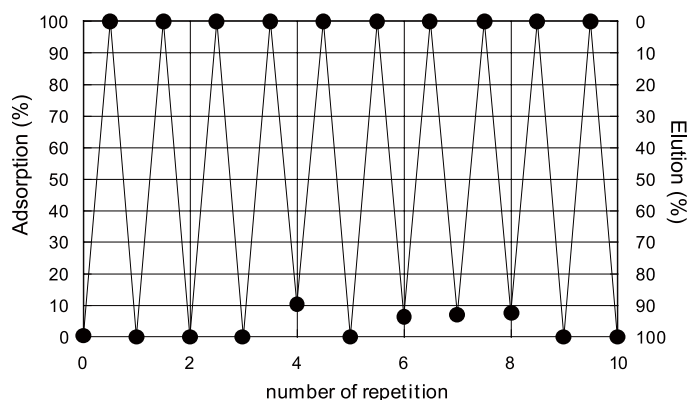


図8 柿皮吸着剤を用いてウラン (VI) の吸着と溶離を繰り返した場合の吸着百分率（縦軸左）および溶離百分率（縦軸右）と繰り返し回数（横軸）との関係

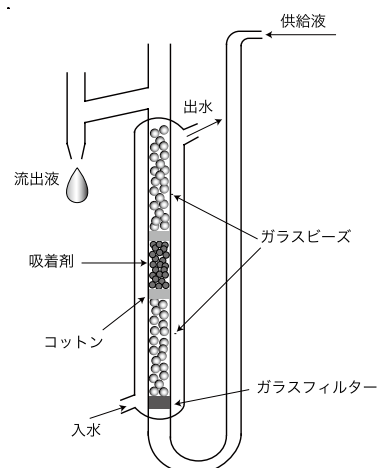


図9 吸着剤を充填したカラムの図

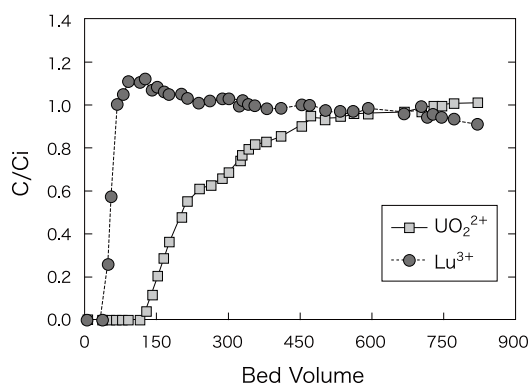


図10 図9に示したカラムにウラン (VI) とルテチウム (III) の混合水溶液を通液した場合の両金属イオンの破過曲線（入口濃度 (Ci) の対しての出口濃度 (C) の比、縦軸、とベッド体積 (=ある時間までに流出した液の体積/カラムに充填した吸着剤の体積 (通液した時間に相当)、横軸、との関係)

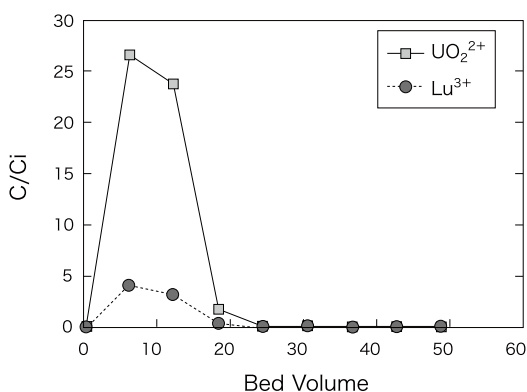


図11 図10においてベッド体積（横軸）が800以上になった時に1Mの濃度の塩酸を用いて溶離を行った時の溶離曲線（図10における供給液の濃度 (Ci) の対しての溶離の時の出口濃度 (C) の比、縦軸、とベッド体積 (=ある時間までに流出した液の体積/カラムに充填した吸着剤の体積 (通液した時間に相当)、横軸、との関係)

積、通液を始めてからの時間に相当) との関係を示す。通液の初期においてはウランもルテチウムも吸着されるため出口濃度は両者とも0となるが、吸着の弱いルテチウムはベッド体積50辺りで吸着されずに流出し始める。しかしウランは強く吸着されるためベッド体積が150近くになるまでは流出は認められない。すなわちベッド体積が150になったところで通液を停止すればウランフリーで希土類元素だけが含ま

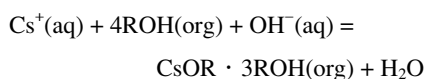
れる液が得られる。

その後、ベッド体積が800になるまで通液を続け、その後に1Mの濃度の塩酸を通液して溶離を行った時の両金属の出口における相対濃度とベッド体積との関係、すなわち両金属の溶離曲線を図11に示す。ウランは原料液の濃度と比較して25倍以上に濃縮されて溶離する。ルテチウムの溶離も見られるがウランの濃度に比

べるとわずかである。このように溶離の段階でウランの含有量の高い液を得ることができる。図6に示したようにトリウムはルテチウムに対してウランよりもより選択的に吸着されるので、より一層容易にルテチウムから分離できる。

2. 柿渋や柿渋搾汁残渣の吸着剤によるセシウムの吸着・除去

Miller と Kline は 1951 年にフェノールスルホン酸型のイオン交換樹脂 Amberlite IR-100 がセシウム (I) イオンに対して高い親和性を発現し、セシウム (I) イオンに対しての選択性がフェノールの官能基によるものであると報告している⁶⁾。1965 年に Egan ら⁷⁾ および Arnold ら⁸⁾ はフェノール化合物である 4-sec-butyl-2-(α -methylbenzyl) phenol (BAMBP) を用いて一連のアルカリ金属の溶媒抽出の研究を行い、Cs > Rb > K > Na の選択性の順序で抽出されることを報告している。前者はまたセシウム (I) イオンは次式の反応に従って抽出されることを明らかにしている。



1990 年代になり Samanta らはフェノール、レゾルシノール、カテコールといったフェノール化合物とホルムアルデヒドとを塩基性条件下で縮重合させて得られた樹脂によるセシウム (I) とナトリウム (I) イオンのイオン交換・吸着について研究し、これらの中でレゾルシノール-ホルムアルデヒド縮合樹脂がセシウム (I) イオンに対して特に強い親和性を発現することを報告している⁹⁾。

これらの既往の研究によればフェノール化合物、特にポリフェノール化合物の吸着剤を用いれば水中に希薄濃度で存在するセシウムが効率的に吸着・除去できることが期待できる。そこで筆者らは柿タンニンのようなポリフェノール

化合物を多く含むバイオマスを原料とした低コストで使い捨ての吸着剤の開発を提案した^{10,11)}。

本研究では中国山西省の晋城市柿宝科技发展有限公司より提供された柿渋粉末、および岐阜県で発生した柿渋抽出後の残渣を原料として図2に示した方法により吸着剤の調製を行った。これらの吸着剤を以後柿渋吸着剤、および柿渋残渣吸着剤と呼ぶ。

図12に柿渋吸着剤によるセシウムイオンとナトリウムイオンの吸着に及ぼす pH の効果を示す。いずれの金属イオンの場合も先に述べたウランやトリウムの吸着で見られたように吸着は pH の増加と共に増加している。これは図13に予想される吸着反応を示すように、吸着剤に含まれるポリフェノールの水酸基の水素原子とこれら金属陽イオンとの陽イオン交換反応によ

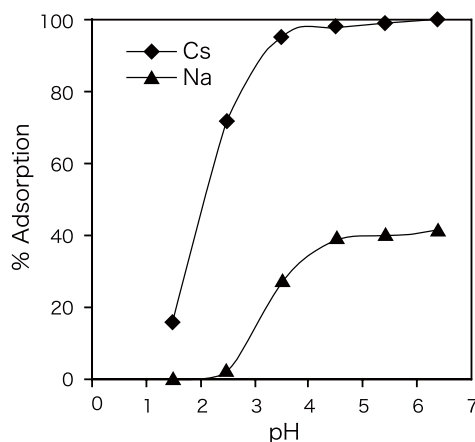


図12 柿渋吸着剤によるセシウム (I) およびナトリウム (I) イオンの吸着百分率 (縦軸) と水溶液の pH (横軸) との関係

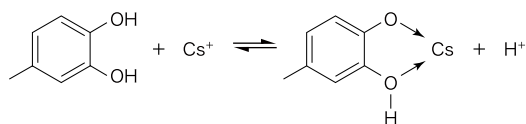


図13 ポリフェノール化合物によるセシウム (I) イオンの吸着反応の1例 (柿渋中に含まれるカテコールの官能基によるセシウム (I) イオンの吸着反応)

るものである。またセシウムはナトリウムの吸着を大きく上回っており、柿渋吸着剤がセシウムに対して高い選択性を有しており、大量のナトリウムの中から微量のセシウムを選択的に除去するのに適していることが分かる。

図 14 に柿渋残渣吸着剤とその原料である未処理の柿渋残渣によるセシウムの吸着に及ぼす pH の効果を示す。濃硫酸を用いて架橋処理することにより吸着が著しく向上することが分かる。

図 15 に柿渋吸着剤によるセシウムとナトリウムの 30℃における吸着等温線，すなわちこれらの金属イオンの吸着量 (Q) と吸着後の水中に残存する金属イオン (Ce) の濃度との関

係を示す。この場合も低濃度領域においては金属濃度の増加と共に吸着量は増大するが，高濃度領域に達すると一定値に漸近するという Langmuir 型の吸着等温線を示す。

次式で示される Langmuir の式に基づいてセシウムの飽和吸着量を求め，様々な既存の吸着剤の場合と比較した結果を表 1 に示す。

$$Ce/q = 1/(b q_{\max}) + Ce/q_{\max}$$

ここで Ce, q, b および $q_{\max}$ はそれぞれ吸着後に水中に残存する金属イオンの濃度，金属イオンの吸着量，吸着平衡定数および金属イオンの飽和吸着量である。

福島第 1 原子力発電所の事故現場で使用され

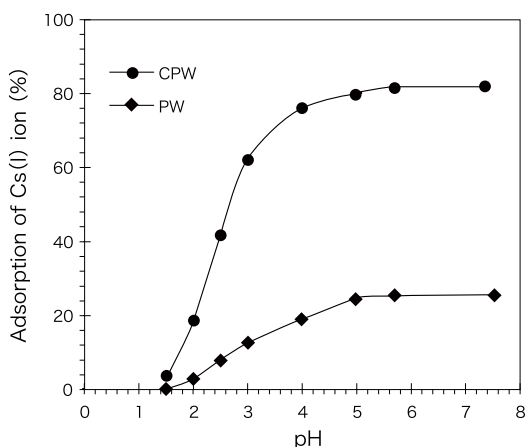


図 14 渋柿からの柿渋抽出残渣そのもの (◆) およびこれを濃硫酸を用いて架橋処理することにより調製した柿渋残渣吸着剤 (●) によるセシウム (I) イオンの吸着百分率 (縦軸) と水溶液中の pH との関係

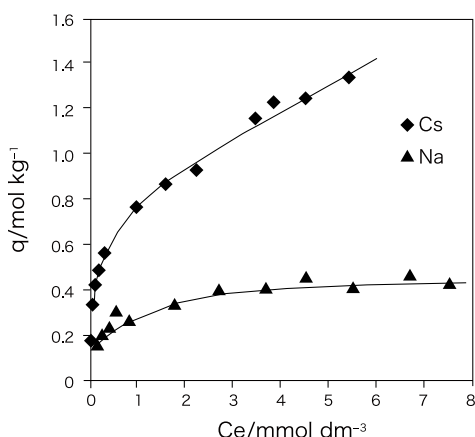


図 15 柿渋吸着剤によるセシウム (I) およびナトリウム (I) イオンの 30℃における吸着等温線 (各金属イオンの吸着量 (縦軸) と吸着後の水溶液中に残存する金属イオンの濃度 (横軸) との関係)

表 1 様々な吸着剤によるセシウム (I) イオンの飽和吸着量

吸着剤	水溶液の pH	温度 (K)	飽和吸着量 (nmol/g)	文献
柿渋吸着剤	6.1	303	1.31	本研究 10)
柿渋残渣吸着剤	5.7	303	0.76	本研究 11)
未処理の柿渋残渣	5.7	303	0.11	本研究 11)
Zeolite A	8	298	1.62	12)
Unmodified Coir pith	5	300	0.41	13)
NiHCF modified coir pith	5	300	0.70	13)
Dictyota indica biomass	5.5	303	0.23	14)
FASI derived Scinaia carnosia	5.5	303	0.67	14)
Prussian blue	7.5	310	5.38	15)

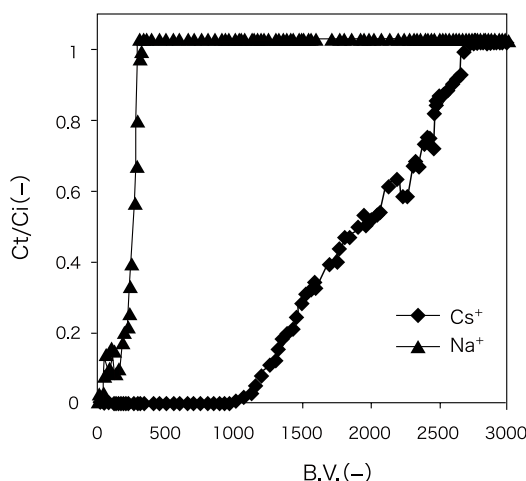


図 16 柿渋吸着剤を充填したカラムにセシウム (I) とナトリウム (I) イオンの混合水溶液を通液した場合の破過曲線 (入口濃度 (C_i) の対しての出口濃度 (C_t) の比、縦軸、とベッド体積 (=ある時間までに流出した液の体積/カラムに充填した吸着剤の体積 (通液した時間に相当)、横軸、との関係)

ている Zeorite A 程ではないが、それに迫る値となっている。

図 9 に示すカラムに柿渋残渣吸着剤を充てんして、セシウムとナトリウムの混合水溶液を通液した場合の出口濃度の経時変化、すなわち両者の破過曲線を図 16 に示す。ナトリウムは吸着されず、通液後直ちに流出されるのに対してセシウムは強く吸着されるため、90 時間までは流出しない。すなわちこのカラムを用いた 90 時間までの通液操作によりセシウムフリーの液が得られる。柿渋吸着剤についても同様の結果が得られた。

吸着後のセシウムに関しては、先に述べたウランやトリウムの吸着の場合と同様に例えば 1 mol/L の濃度の塩酸や硫酸のような酸水溶液を通液すれば高濃度の液として溶離・回収が可

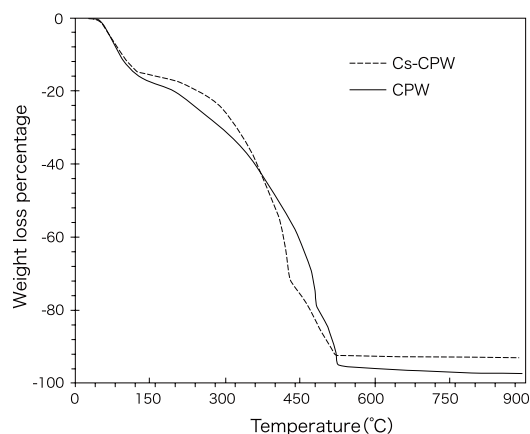


図 17 セシウム (I) イオンを吸着した柿渋残渣吸着剤を熱天秤に入れて測定した場合の重量減少百分率 (縦軸) と温度 (温度) との関係

能であるが、その後の処理を考慮すると、吸着後のこれらの吸着剤はそのまま焼却して微量体積の灰に変化させた方がコンパクトな処理となり、放射性物質の安全で長期の保管に適していると考えられる。図 17 に熱天秤を用いて測定したセシウム吸着前、および吸着後の柿渋残渣吸着剤の温度による重量変化を示す。いずれの場合も約 500°C 程度の低温で焼却、消滅し、後にセシウムや柿に含まれるミネラル分の灰が残ることが分かる。

おわりに

ポリフェノール化合物の柿タンニンを多量に含む渋柿を利用して、ウラン、トリウムやセシウムといった放射性元素を選択的に吸着・分離・回収可能な吸着剤を簡単な方法で、低コストに調製した。これらは既存の合成の吸着剤に匹敵する吸着性能を示し、後処理も簡単であるため、早期の実用化が期待できる。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 例えば <http://www18.ocn.ne.jp/~nnaf/122d.htm>
- 2) 例えば <http://www.npo-iasia.org/archives/2014/05rare-earth-elements.html>
- 3) Matsuo, T., Ito, S.: The chemical structure of Kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric.Biol.Chem.*, **42**: 1637-1643, 1978.
- 4) Inoue, K., Kawakita, H., Ohto, K., Oshima, T., Murakami, H.: Adsorptive removal of uranium and thorium with a crosslinked persimmon peel gel. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*, **267**: 435-442, 2006.
- 5) Sakaguchi, T., Nakajima, A.: Recovery of uranium from seawater by immobilized tannin. *Sep.Sci.Technol.*, **22**: 1609-1623, 1987.
- 6) Miller, H.S., Kline, G.E.: Reactions of cesium in trace amounts with ion-exchange resins. *J.Amer.Chem.Soc.*, **73**: 2741-2743, 1951.
- 7) Egan, B.Z., Zingaro, R.A., Benjamin, B.M.: Extraction of alkali metals by 4-sec-butyl-2-(α -methylbenzyl)phenol (BAMBP), *Inorg.Chem.*, **4**: 1055-1061, 1965.
- 8) Arnold, W.D., Crouse, D.J., Brown, K.B.: Solvent extraction of cesium and rubidium from ore liquors with substituted phenols, *I & EC Process Des. Develop.*, **4**: 249-254, 1965.
- 9) Samanta, S.K., Ramaswamy, M., Misra, B.M.: Studies on cesium uptake by phenolic resins, *Sep.Sci.Technol.*, **27**: 255-267, 1992.
- 10) Gurung, M., Adhikari, B.B., Alam, S., Kawakita, H., Ohto, K., Inoue, K., Harada, H.: Adsorptive removal of Cs(I) from aqueous solution using polyphenols enriched biomass-based adsorbents, *Chem.Eng.J.*, **231**: 113-120, 2013.
- 11) Pangeni, B., Paudyal, H., Inoue, K., Ohto, K., Kawakita, H., Alam, S.: Preparation of natural cation exchanger from persimmon waste and its application for the removal of cesium from water, *Chem.Eng.J.*, **242**: 109-116, 2014.
- 12) Faghihian, H., Moayed, M., Firooz, A., Iravani, M. : Evaluation of a new magnetic zeolite composite for removal of Cs^+ and Sr^{2+} from aqueous solution: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies, *Comptes Rendus Chimie*, <http://dx.doi.org/10/1016/j.crci.2013.02.006>, 2013.
- 13) Parab, H., Sudersnan, M.: Engineering a lignocellulosic biosorbent- Coir pith for the removal of Cs^+ from aqueous solutions: Equilibrium and kinetic studies, *Wat. Res.* **44**, 854-860, 2010.
- 14) Jalali-Rad, R., Ghafourian, H., Asef, Y., Dalir, S.T., Sahafipour, M.H., Gharanjik, B.M. : Biosorption of Cs^+ by native and chemically modified biomass of marine algae: introduce the new biosorbents for biotechnology application, *J. Hazard. Mater.* **B116**: 125-134, 2014.
- 15) Wang, T.H., Li, M.H., Wei, Y.Y., Teng, S.P.: 2010. Desorption of Cs^+ from granite under various aqueous conditions, *Appl. Radiat. Isot.* **68**: 2140-2146, 2010.

柿渋でウイルス対策 柿タンニンによる強力なウイルス不活化作用

A novel anti-Norovirus preventive measure:
Efficient inactivation of pathogenic viruses by
plant-derived tannins including persimmon (*Diospyros kaki*) tannin.

坂口 剛正 (SAKAGUSHI Takemasa) * 上田 恭子 (UEDA Kyoko) * 川端 涼子 (KAWABATA Ryoko) *

* 広島大学大学院医歯薬保健学研究院ウイルス学

Key Words : 柿タンニン・抗ウイルス作用・作用機序・インフルエンザウイルス・ノロウイルス

Key Words : persimmon; anti-viral; protein aggregation; influenza virus; feline calicivirus; mouse norovirus

Abstract.

Tannins, plant-derived polyphenols and other related compounds, have been utilized in many fields such as the food industry and manufacturing. In this study, we investigated the anti-viral effects of persimmon (*Diospyros kaki*) -derived tannin as well as other tannins such as those derived from green tea, acacia and gallnuts on 12 different viruses, which included surrogate viruses of human norovirus, feline calicivirus and mouse norovirus. Only persimmon tannin restricted viral infectivity in more than 4 log scale, showing strong anti-viral effects against a broad range of viruses. Other tannins were effective for some or none of the viruses. We then investigated the mechanism of the anti-viral effects of persimmon tannin, and found that viral protein aggregation with persimmon tannin seems to be a fundamental mechanism. Considering that persimmon tannin is a food supplement, it has a potential to be utilized as a safe and highly effective anti-viral reagent against human norovirus and other pathogenic viruses.

はじめに

渋柿の抽出物あるいはそれを発酵させた”柿渋”は、防腐効果や強度を増すための塗料として、漁網、釣り糸、木造建築の下塗り、うちわや和傘などの工芸品に使われてきた。また、布

の染色（柿渋染め）や民間薬、清酒を醸造する際の清澄剤としても用いられ、日本人に広く親しまれてきた。柿渋については、欧米ではあまり情報がなく、主にアジア中心に使われているようである。柿渋の主成分の柿タンニンには、

*To whom correspondence should be addressed.

Department of Virology, Institute of Biomedical & Health Sciences,

Hiroshima University, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan

TEL : +81-82-257-5157 FAX : +81-82-257-5159 E-mail : tsaka@hiroshima-u.ac.jp

連絡先 : 〒 734-8551 広島県広島市南区霞 1-2-3

広島大学大学院医歯薬保健学研究院ウイルス学

Tel : 082-257-5157 Fax : 082-257-5159 E-mail : tsaka@hiroshima-u.ac.jp

実際にいろいろな生理活性（蛋白質の凝集，抗微生物作用，抗酸化作用，抗腫瘍作用など）があることが科学的にも証明されている¹⁾。我々は，柿タンニンのウイルスに対する作用を調べて，どのウイルスも「不活化」してしまうという強力な抗ウイルス活性があることを見いだした²⁾。

ウイルスは他の微生物と大きく異なり，DNA または RNA いずれかのウイルス遺伝子と，それを取り囲むカプシドと呼ばれるウイルス蛋白質の殻から構成される，いわば「さまよえる遺伝子」である³⁾。ウイルスは細胞に感染して，宿主側の代謝酵素やリボソームなどの細胞の機能に依存して増殖する。細菌を殺すのは「殺菌」であるが，ウイルスの場合は，単なる物質（遺伝子）が細胞に入って活性化するのを防ぐという意味で，「不活化」と呼ぶ。

公衆衛生上，特に問題になっているのはヒトノロウイルスである。もともとカキなどの二枚貝の生食で発症することがよく知られていたが，二枚貝が関係しなくとも冬場の「お腹にくる風邪」の原因として，さらに食中毒の原因として広く認知されるようになった。学校給食や仕出し弁当が発生源になると大規模な集団感染がおこる。

ヒトノロウイルスは人間の腸でしか増殖しないが，便に大量に含まれ，症状が治まっても2週間前後，あるいは症状がなくても不顕性感染をおこしてウイルスを排泄することがある。一方で，1000 ゲノムコピーで10%の人が発症するというボランティアを使った実験があるように⁴⁾，ごく少量で感染・発症する。感染経路としては，ウイルスの付着した食品を摂取したり（経口感染），手にウイルスをつけて口にもっていったり（接触感染），ウイルスを含む微小水滴やほこりを吸い込むことで感染する（飛沫核感染，塵埃感染）。

ヒトノロウイルスは，一般に消毒しにくく，

エタノールや逆性石けんはあまり効果がない。一般には次亜塩素酸ナトリウムが使用されるが，刺激性があり，皮膚などの人体に直接使うものではない。それゆえ，ヒトノロウイルスに適切な消毒剤が求められている。

1. 柿タンニンの抗ウイルス作用の検証

ウイルスは最外層に脂質二重膜（エンベロープ）をもつエンベロープウイルスと，これをもたない非エンベロープウイルスに分けられる。エンベロープはエタノールによって溶解するため，エンベロープウイルスはエタノールに高感受性である。一方，非エンベロープウイルスは概してエタノールに抵抗性であり，さらに他の消毒薬によっても不活化されにくい傾向がある。それぞれから6種類ずつ，12種類（表1）のウイルスを選んで試験に用いた。

エンベロープウイルスとして，インフルエンザウイルス（ヒト，鳥由来），単純ヘルペスウイルス，水疱性口内炎ウイルス（牛，羊などに水疱性疾患をおこす），センダイウイルス（げっ歯類に肺炎をおこす），ニューカッスル病ウイルス（鳥類に感染する），非エンベロープウイルスとして，ポリオウイルス（小児麻痺），コクサッキーウイルス（手足口病，髄膜炎），アデノウイルス（風邪，結膜炎など），ロタウイルス（小児に下痢症を起こす）を用いた。問題となっているヒトノロウイルスは非エンベロープウイルスであるが，培養細胞で増殖しないために直接試験に用いることができない。その代替ウイルスとして，近縁であるネズミノロウイルス，ネコカリシウイルスを用いた（表1）。

柿タンニンとして，渋柿の絞り汁をいったん凍結乾燥したものを，10% エタノールに溶解して使用した。その他，比較のために，他の植物タンニンや同様の構造をもつ化合物を同濃度で用いた。緑茶タンニン（カテキン FP95 緑茶抽

表1 タンニン類の抗ウイルス効果

ウイルス	エンペロープ	タンニン類						
		柿タンニン	ワットルタンニン	コーヒータンニン	緑茶タンニン	ペンタガロイルグルコース	プロピルガレート	ピロガロール
ヒトインフルエンザウイルス (H3N2)	+	5.8	5.7	0.7	5.8	4.8	1.8	5.8
鳥インフルエンザウイルス (H5N3)	+	6.2	6.1	0.7	6.2	5.1	2.3	6.2
単純ヘルペスウイルス	+	5.1	4.1	0.6	4.2	4.2	0.4	5.1
水疱性口内炎ウイルス	+	4.2	3.3	0.4	4.2	3.3	1.4	4.2
センダイウイルス	+	6.6	6.0	0	6.2	6.1	5.1	6.0
ニューカッスル病ウイルス	+	5.1	5.1	0	5.1	4.2	1.3	0.06
ポリオウイルス	—	5.4	4.5	0.09	5.4	3.6	0.03	0.6
コクサッキーウイルス	—	5.2	1.4	0.1	1.5	1.5	0	0.4
アデノウイルス	—	4.3	3.2	0.2	3.2	3.3	0.4	3.1
ロタウイルス	—	5.3	5.3	0.06	5.3	5.3	5.3	5.3
ネコカリシウイルス	—	4.9	4.9	0.05	4.1	3.9	0.3	0.1
マウスノロウイルス	—	4.3	1.6	0	1.7	0.9	0.2	0.4

タンニン処理による感染価の減少を対数で表しており、4 以上（下線と太字で強調）はウイルス不活化効果があることを示す。

出物)、ワットルタンニン（アカシアタンニン）、コーヒータンニン（カフェノール P-100 生コーヒー抽出物）、ペンタガロイルグルコース（五倍子抽出・精製物）、プロピルガレート（没食子酸プロピル）、ピロガロール（焦性没食子酸）である。

試験方法は、ウイルスとタンニンを混合して（タンニンの終濃度は 0.25% (w/v)）、3 分間以上、室温に置いて反応させてから希釈して反応をとめ、ウイルスがどれくらい生き残っているかを調べた。元のウイルスの感染価（1 ml あたりの生きているウイルス数）が、タンニン処理によって 10000 分の 1 以下に低下すれば（すなわち、99.99% 以上感染抑制、対数でいえば 4 以上の低下）、その試薬はウイルスに対して有効であったと判定した。

鳥インフルエンザウイルス（H5N3）に対しては、柿タンニン、ワットルタンニン、緑茶タンニン、ペンタガロイルグルコース、ピロガロールの 5 種類のタンニンが有効であった（図

1A）。一方、コクサッキーウイルスに対しては、柿タンニンのみが有効であった（図 1B）。ヒトノロウイルスの代替ウイルスに対しては、ネコカリシウイルスにおいて柿タンニンをはじめとする 3 種類のタンニン（柿タンニン、ワットルタンニン、緑茶タンニン）で効果があったが、ネズミノロウイルスでは柿タンニンのみが有効であった（図 1C, D）。

12 種類すべてのウイルスに対する 7 種類のタンニン類の効果を総当たりで試験した結果を表 1 にまとめた。表の中の数字は試薬処理による対数の減少値を示し、有効を示す 4 以上は下線と太字で強調した。

一見して、エンペロープウイルス（表 1 の上半分）では、全般にタンニン類に感受性が高いことがわかる。これに対して、非エンペロープウイルス（表 1 の下半分）では、効きがよくないことがわかる。特に、コクサッキーウイルス、アデノウイルス、マウスノロウイルスは柿渋以外では不活化できず、丈夫なウイルスであると

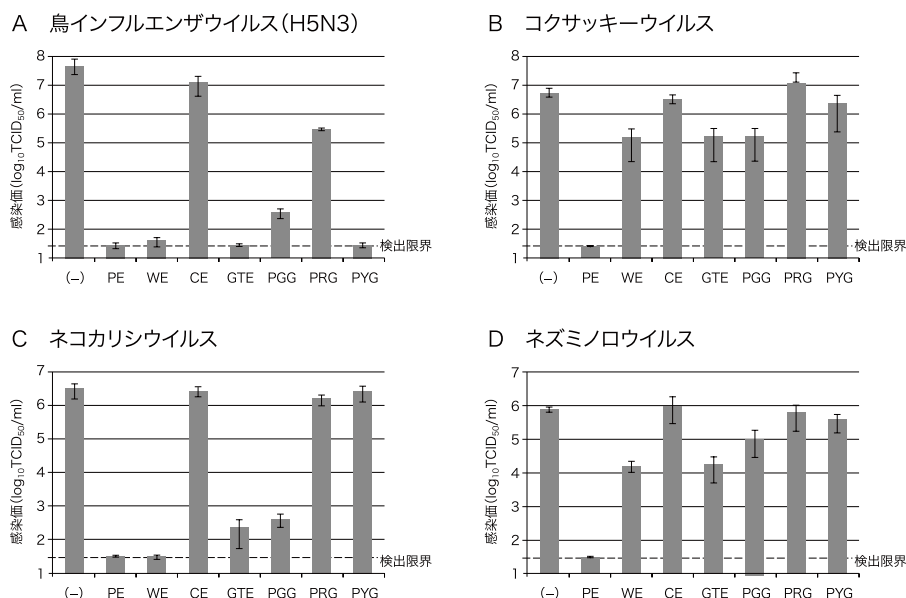


図1 ネコカリシウイルスに対するタンニン類の効果

タンニン処理後のウイルス感染価。(一) PE：柿タンニン，WE：ワットルタンニン，CE：コーヒータンニン，GTE：緑茶タンニン，PGG：ペンタガロイルグルコース，PRG：プロピロガレート，PYG：ピロガロール

考えられる。

タンニン別にみると、柿タンニンのみが、12種類のすべてのウイルスに対して抑制効果があったことがわかる。柿タンニンは、ウイルス感染価をすべて検出限界まで低下させており、完全に効いたといっても差し支えない。これに対して、他のタンニン類にはここまでの効果はない。緑茶タンニンは、柿タンニンの次に多い9種類のウイルスに対して抗ウイルス効果を示したが、アデノウイルス、ネズミノロウイルス、コクサッキーウイルスに対しては効果がみられなかった。ワットルタンニン、ペンタガロイルグルコースはそれぞれ8種類、6種類のウイルスを不活化した。一方、コーヒータンニンはどのウイルスに対しても効果がなく、このことはコーヒータンニンの主成分がクロロゲン酸で、柿タンニンや緑茶タンニンなどのようなフラボノイド骨格をもっていないことによるのかもしれない。いずれにせよ、コーヒーを飲んでもウイルス予防には役立たない。

以上の結果から、柿タンニンには広範囲のいろいろなウイルス種に対して、高い抗ウイルス効果があることが明らかとなった。この試験とは別に、ヒト免疫不全ウイルス、RS (Respiratory Syncytial) ウイルスなど複数のウイルスも調べたが、やはり柿タンニンはこれらのウイルスを不活化した。

2. 柿タンニンの抗ウイルス効果の性質

柿タンニンの抗ウイルス効果の有効濃度をヒト由来インフルエンザウイルス (H3N2) で調べたところ、終濃度 0.01% でも部分的に有効であった。反応時間では、柿タンニンとウイルスを混和後 30 秒間で効果があり、柿タンニンの抗ウイルス効果は短時間で発揮されるものと考えられる。この 30 秒間というのは反応を稀釈でとめるために時間的な余裕をみて表示しているが、実際にはもっと短時間で効果を出していると考えられた。

ウイルス感染実験では、通常、培養細胞を洗って、ウイルス接種液を添加して1時間置き、ウイルスを細胞に吸着させる。その後ウイルス接種液を除いて、細胞培養液と入れ替える。柿タンニンをその各段階(接種前, 吸着中, 接種後: 図2A)に加えて、どこ段階で阻害しているかを、インフルエンザウイルスで調べたところ、明らかに柿タンニンを吸着のときに加えたときに効果がみられた(図1B)。これはセンダイウイルスを使用しても同様であった。

インフルエンザウイルス感染では、上記の細胞への吸着段階を2つに分けて考えることができる。ウイルスが細胞表面のシアル酸に結合し(接着)、さらにエンドサイトーシスで細胞に取り込まれ、エンドソームの酸性のためにウイルス遺伝子の細胞質への移行(侵入)が起こる。前者の「接着」は4℃でも起こるが、「侵入」には37℃の温度が必要である。そこで温度を変えることで、これらを分けて、それぞれで柿渋を添加して効果を調べたところ、4℃のウイ

ルスの「接着」中に柿渋を加えた場合に抗ウイルス効果があることがわかった。以上のことから、柿タンニンは、おそらくウイルスと作用して、ウイルスが細胞に接着するのを防ぐと考えられた。

3. 抗ウイルス効果のメカニズム

このことから、柿タンニンは細胞に作用するというよりも、ウイルスに作用していると考えられた。赤血球凝集反応は、インフルエンザウイルス表面のHA(hemagglutinin: 赤血球凝集素)蛋白質が、赤血球のシアル酸を含むレセプターと結合する反応であり、インフルエンザウイルスが宿主細胞に接着する現象を反映している。この反応を柿タンニンが阻害するかを検討したところ、柿タンニンとウイルスをあらかじめ混合した場合では、赤血球凝集阻止が認められた(図3)。

さらに非特異的蛋白質としてウシ血清アルブミンと柿タンニンを混合したのちに、抗ウイルス試験を行ったところ、ウシ血清アルブミンの濃度依存的に抗ウイルス効果が減弱し(図4)、ウシ血清アルブミンはウイルスと競合していると考えられた。すなわち、柿タンニンは蛋白質に結合して抗ウイルス能を発揮していると考えられた。

柿タンニンとウイルス蛋白質の結合が示唆されたので、これをさらに調べるために、精製インフルエンザウイルス粒子を柿タンニンで処理し、蛋白質の電気泳動を行った。柿タンニン未処理のウイルス粒子でみられたウイルス蛋白質のバンドが、柿タンニン処理によって消失し、ゲル上部のウェル部分に蛋白質の塊が新たに現れた(図5)。このことから、柿タンニンはウイルス粒子の蛋白質と結合して巨大分子を形成し、電気泳動のゲル内に侵入できずにサンプル添加部分に引っかかっていると考えられた。対

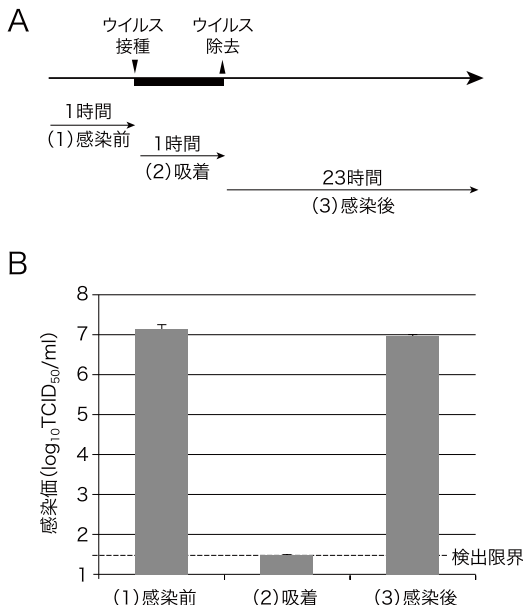


図2 (A) ウイルス感染の段階、(B) 各段階に柿渋を加えて感染実験を行い、感染後24時間後のウイルス感染価を測定した。

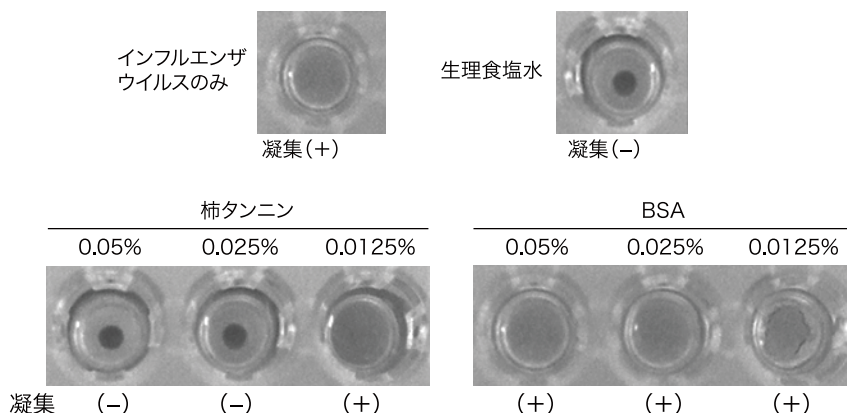


図3 柿タンニンによるインフルエンザウイルスの赤血球凝集阻止

BSA：ウシ血清アルブミン

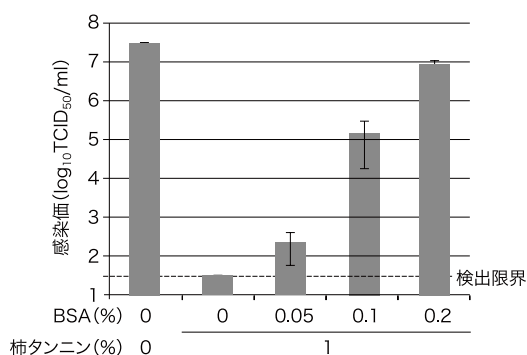


図4 ウシ血清アルブミン (BSA) による柿タンニンによる抗インフルエンザウイルス効果の阻止

照としてウシ血清アルブミンを柿タンニンで処理しても、ウイルス粒子同様のことが観察された (図5)。このウイルス蛋白質の巨大分子形成が、柿タンニン以外でも起こるかどうかを調べたところ、緑茶タンニンをはじめとして他のタンニンでは、この現象はみられなかった。以前に、緑茶タンニン (カテキン) と単純ヘルペスウイルスとの凝集 (巨大分子形成) が報告されているので⁵⁾、タンニンは潜在的に、このような蛋白質凝集能があるが、本試験の条件 (用いた試薬、濃度) では柿タンニンのみが巨大分子を形成したと考えられる。

以上から、柿タンニンがウイルスに結合して、言わば、立体障害によってウイルスの細胞への

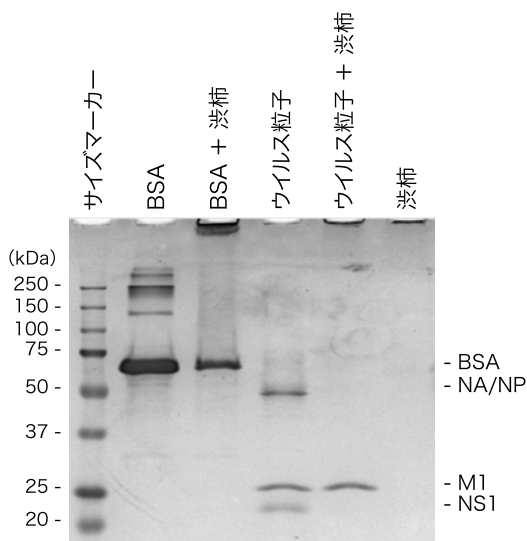


図5 蛋白質の電気泳動 (SDS-PAGE)

インフルエンザウイルス粒子あるいはウシ血清アルブミン (BSA) を柿渋で処理して電気泳動を行った。NA/NP, M1, NS1 はウイルス蛋白質名である。

接着を阻止していることが考えられた。最近、柿タンニンが細菌に効果があり、それは柿タンニンによって活性酸素が産生されるためであるという論文が発表された⁶⁾。抗ウイルス効果についても、このような機構が考えられるのかもしれない。今後の検討課題としたい。

4. 柿タンニンの構造と抗ウイルス効果

本研究では、ウイルス全般に対する柿タンニンの効果を示した。その中で問題となっているヒトノロウイルスに対しては、代替ウイルスとして、ネコカリシウイルスおよびネズミノロウイルスを用いて柿タンニンの有効性を示すことができた。最近、ヒトノロウイルスの遺伝子をRT-PCR法で検出することを指標として、ヒトノロウイルスを直接用いて、柿タンニンの抗ウイルス活性が示された⁷⁾。ヒトノロウイルスには確かに効果があると考えられる。

タンニンは、加水分解を受ける芳香族カルボン酸エステルである加水分解型タンニンと、フラボノイド骨格をもつ化合物の重合体である縮合型タンニンの2種類に分類される。緑茶タンニンは加水分解型タンニンに分類され、その主成分は、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキンガレートであり、それぞれが単量体として存在している。柿タンニンは縮合型タンニンに分類され、その主成分は緑茶タンニン同様4種類のカテキンであるが、それぞれが単量体として存在せず、1:1:2:2の比率で縮合した状態で存在している^{8,9)}。しかし、その構造は確定していない。柿タンニンと緑茶タンニンは同様の成分をもつが、その存在様式が異なる。このことが抗ウイルス試験の結果の違いに影響したと考えられる。これらカテキンは、フラボノイド骨格をもっており、これを介してウイルス蛋白質と結合することが抗ウイルス効果を出していると考えられる。同じ骨格をもつ植物の色素であるアントシアニンにも抗ウイルス効果があることが報告されている¹⁰⁾。

以前から緑茶タンニンであるカテキン類が、インフルエンザウイルスやヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルスに効果があるという報告

がなされている^{5, 11-16)}。しかし、柿タンニンの抗ウイルス能については報告がなかった。この理由として、緑茶タンニンは構造が決まっており、純品を手に入れることができるため、再現性が担保できるということがある。一方で粗精製物では再現性の保証が難しいと考える立場がある。実際に、いくつかの科学雑誌では、ある物質の抗微生物効果を検証する論文の場合、その物質が生物材料の粗精製物の場合には論文を受け付けないと投稿規定に明記してあるものがある。

柿タンニンの構造が決定されておらず、何をもって柿タンニンとするかということが明瞭ではないことは確かである。本研究で渋柿の絞り液（フリーズドライしたもの）を用いたが、これも、季節、土壌などの柿の育成条件などによって含まれる成分が変化するかもしれない、厳密な意味での再現性は担保できていない。しかし、柿タンニンの抗ウイルス効果については疑問の余地がないと考える。本試験での渋柿の絞り汁の異なるロットでも必ず効果がみられた。また、他の柿タンニン（例えば、奈良県農業試験場で作られた加水分解型の高純度柿タンニン、JAいわみ中央・島根大学の二日酔い防止ドリンク「晩夕飲力」）を用いても高い抗ウイルス効果がみられた。さらに柿の葉を用いた茶（柿の葉茶）にも抗ウイルス効果がみられた。この場合の結果は、5月に採取した葉よりも、タンニンが多い8月に採取された葉に由来する柿の葉茶に、より高い抗ウイルス効果がみられたという興味深いものであった。

柿タンニンのもとである柿渋は食品添加物でもあるので、口に入っても安全であり、食品を扱う場面でのノロウイルス対策に最適であると考えられる。例えば台所のまな板の消毒に適しているであろう。実際にエタノール製剤に柿渋を添加した消毒剤が市販され、主に業務用として飲食店の厨房、食品工場などで使用されてい

る（アルタン社「ノロエース」）。

前述の二日酔い防止ドリンクや、健康食品としてサプリメントで柿渋を摂取して、腸内にある程度の柿タンニンが存在する条件では、ノロウイルスのように腸から感染するウイルス感染を防ぐことができるのではないだろうか。な

かなか実験による検証は難しいけれども、新たなノロウイルス対策になりえるかもしれないと考える。柿タンニンの構造決定や、柿タンニンの抗ウイルス効果の作用機構など今後解決すべき課題が残されている。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Serrano, J., Puupponen-Pimia, R., Dauer, A. *et al.*: Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol. Nutr. Food Res.* **53** Suppl. 2: S310-S329, 2009.
- 2) Ueda, K., Kawabata, R., Irie, T. *et al.*: Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: strong effects of extracts from persimmon (*Diospyros kaki*) on a broad range of viruses. *PLoS One* **8**(1): e55343, 2013.
- 3) 河野 晴也：さまよえる遺伝子 生体とウイルスのかかわり。培風館，1980.
- 4) Teunis, P. F., Moe, C. L., Liu, P. *et al.*: Norwalk virus: how infectious is it? *J. Med. Virol.* **80**(8): 1468-1476, 2008.
- 5) Isaacs, C. E., Wen, G. Y., Xu, W. *et al.*: Epigallocatechin gallate inactivates clinical isolates of herpes simplex virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**(3): 962-970, 2008.
- 6) Arakawa, H., Takasaki, M., Tajima, N. *et al.*: Antibacterial activities of persimmon extracts relate with their hydrogen peroxide concentration. *Biol. Pharm. Bull.*, 2014, in press.
- 7) Kamimoto, M., Nakai, Y., Tsuji, T. *et al.*: Antiviral effects of persimmon extract on human Norovirus and its surrogate, bacteriophage MS2. *J. Food Sci.* **79**(5): M941-M946, 2014.
- 8) Matsuo, T. and Ito, S.: Mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon-dioxide treatment. 2. Chemical-structure of kaki-tannin from immature fruit of persimmon (*Diospyros-Kaki* L). *Agri. Biol. Chem.* **42**(9): 1637-1643, 1978.
- 9) Nakatsubo, F., Enokita, K., Murakami, K. *et al.*: Chemical structures of the condensed tannins in the fruits of *Diospyros* species. *J. Wood Sci.* **48**(5): 414-418, 2002.
- 10) Li, D., Baert, L., Uyttendaele, M. *et al.*: Inactivation of food-borne viruses using natural biochemical substances. *Food Microbiol.* **35**(1): 1-9, 2013.
- 11) Nakayama, M., Suzuki, K., Toda, M. *et al.*: Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols. *Antiviral Res.* **21**(4): 289-299, 1993.
- 12) Song, J. M., Lee, K. H., and Seong, B. L.: Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Res.* **68**(2): 66-74, 2005.
- 13) Song, J. M., Park, K. D., Lee, K. H. *et al.*: Biological evaluation of anti-influenza viral activity of semi-synthetic catechin derivatives. *Antiviral Res.* **76**(2): 178-185, 2007.
- 14) Fukuchi, K., Sakagami, H., Okuda, T. *et al.*: Inhibition of herpes simplex virus infection by tannins and related compounds. *Antiviral Res.* **11**(5-6): 285-297, 1989.
- 15) Nakashima, H., Murakami, T., Yamamoto, N. *et al.*: Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Res.* **18**(1): 91-103, 1992.
- 16) Yamaguchi, K., Honda, M., Ikigai, H. *et al.*: Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Antiviral Res.* **53**(1): 19-34, 2002.

環状イソマルトオリゴ糖・メガロ糖の生産

舟根 和美 (FUNANE Kazumi) *1 小林 麻里子 (KOBAYASHI Mariko) *1 大脇 静香 (OHWAKI Shizuka) *1
鈴木 龍一郎 (SUZUKI Ryuichiro) *1,2 一ノ瀬 仁美 (ICHINOSE Hitomi) *1,3

*1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所, *2 秋田県立大学, *3 信州大学

Key Words : 環状イソマルトオリゴ糖・メガロ糖・抗う蝕効果・抗プラーク作用・生産技術

はじめに

糖質は分子の大きさにより、単糖、オリゴ糖、多糖に分類されてきた。単糖はブドウ糖や果糖などの最少単位の糖質、オリゴ糖は単糖が2個から数個重合した糖質、多糖は単糖が多数重合した糖質である。オリゴ糖と多糖の間のサイズの糖質については、55年前に Thoma ら¹⁾ が、単糖が10個以上重合したオリゴ糖と多糖の中間的なサイズの糖質をメガロ糖と名付けたが、自然界に少量しか存在せず、研究も利用もほとんどされず、メガロ糖の名称は普及しなかった。糖質には環状構造を取ったものがある。最も広く知られている環状糖は、グルコース分子が6, 7, または8個 α -1,4 結合で連なった構造の環状マルトオリゴ糖、サイクロデキストリン (CD)²⁾ である。CD は環状構造の内側に種々の物質を取り込み、包接体を作る性質があり、この性質を利用して難溶性の物質を可溶化したり、不安定な物質を安定化したりなど、様々な用途で工業的に利用されている。

CD と同じく複数のグルコース分子から成る環状糖にサイクロデキストランがある。化学構造はグルコースの結合様式が α -1,6 グルコシド結合である点のみ CD と異なる (図1)。サイクロデキストランは野田産業科学研究所および

食品総合研究所の共同研究で1993年に発見された³⁾。当初サイクロデキストランは環状イソマルトオリゴ糖 (CI) である環状イソマルトヘプタオース (CI-7)、環状イソマルトオクタオース (CI-8)、環状イソマルトノナオース (CI-9) の3種類のみであると考えられていたが、後に少量ではあるが、グルコース10個以上が重合した環状イソマルトメガロ糖 (C-IMS) も生産されることが明らかになっており、現在のところ環状イソマルトヘプタデカオース (CI-17) までの生産が確認され、構造決定されている⁴⁾。サイクロデキストランは、CI と C-IMS の総称である。

CI および C-IMS は CD と比較して極めて水溶性が高く、また、う蝕菌のグルカン合成酵素を阻害して歯垢の形成を防ぐという CD には無い機能を持つ⁵⁾。これまで CI には高い包接能は見出されていないが、C-IMS である環状イソマルトデカオース (CI-10) にビクトリアブルー色素を安定化させる強い包接能が見いだされ、実用化が期待されている^{6,7)}。また、CI-10, CI-11 および CI-12 に難溶性のイソフラボンであるダイゼインおよびゲニステインの水溶性を高める性質が見出されている (舟根ら、未発表データ)。このように C-IMS はう蝕予防効果に

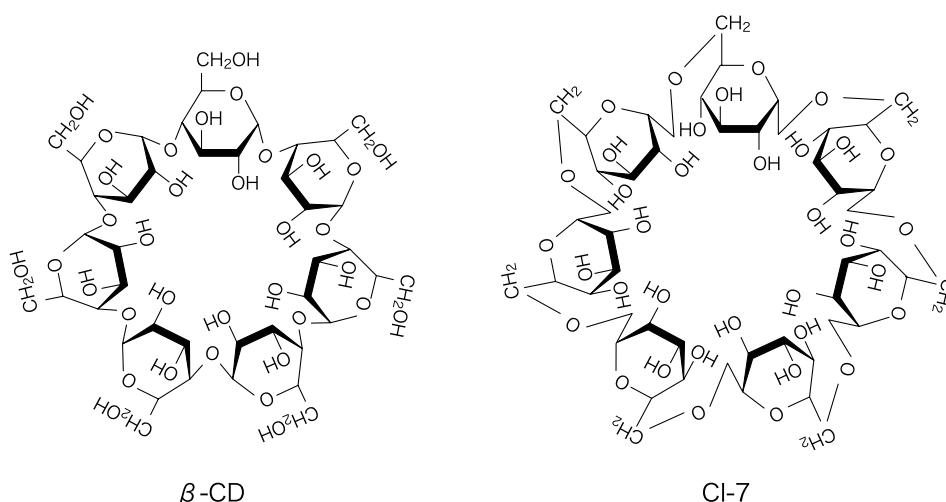


図1 βCD と CI-7 の分子構造

加えて高い包接能が示唆されており実用化が期待されているが、サイクロデキストラン生産菌は主としてCIを生産し、C-IMSの生産量が少ないために環状イソマルトメガロ糖の特性解明および利用は進んでいない。そこで、C-IMSを有効に分離・回収する方法を検討した。

1. 材料および方法

1-1. 実験材料

サイクロデキストラン生産菌は *Bacillus circulans* T-3040 株 [FERM BP-4132 (NBRC)]^{3,8)} または *Paenibacillus* sp. 598K 株 [FERM P-19604 (NBRC)]⁹⁾ を用いた。デキストランは dextran 40 (GE ヘルスケア)、澱粉はアルファ化澱粉であるマツノリン M-22 (松谷科学) を用いた。その他の試薬は市販の特級品を用いた。

1-2. サイクロデキストランの生産

B. circulans T-3040 株または *Paenibacillus* sp. 598K 株を、2%デキストランあるいは2%澱粉を添加したLB培地(1%塩化ナトリウム, 1%トリプトン, 0.5%酵母エキス)をpH 8.0に調整した培地に接種し、30℃で1～2日間振盪培

養してサイクロデキストラン生産酵素を誘導生産すると同時にサイクロデキストランを生産した。10,000 × g, 10 分間遠心して菌体を取り除き、培養上清を回収した。これをサイクロデキストラン溶液として用いる場合は121℃, 15 分間オートクレーブで加熱後冷却し、0.22 μm フィルターろ過した。

サイクロデキストランを酵素生産する場合はまず、上記培養液からサイクロデキストラン生産酵素を調製した。培養液を4℃に冷却し、遠心で菌体を除いた後、0.22 μm フィルターろ過し、これを分画分子量 10,000 の限外ろ過膜で濃縮した。デキストランからサイクロデキストランを生産する場合は環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ (Cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase, CITase; EC 2.4.1.248)^{8,9,10)} が必要で、澱粉から生産する場合は CITase のほかに澱粉から α-1,6 グルコース鎖を生成する不均化酵素 (T-3040 株由来の分子量 135 kDa 蛋白¹¹⁾ または 598K 株由来のデキストラングルカナナーゼ (DGase)¹²⁾ が必要である。上記酵素液にはいずれの酵素も含まれる。CITase と不均化酵素は、Resource Q や Mono Q (いずれも GE へ

ルスケア)などのイオン交換カラムによって分離することが出来る¹¹⁾。サイクロデキストラン生産菌を培養して調製したもののほかに、酵素遺伝子を発現させることによって得られた蛋白を酵素として用いることも出来る^{8,9,10)}。酵素液に2%デキストランまたは1%澱粉を添加して50 mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH 5.5)中で37~40℃で保温し、サイクロデキストランを酵素生産した。

1-3. サイクロデキストランの定量

サイクロデキストランは既報⁹⁾に従い、高速液体クロマトグラフィー(HPLC, CLASS-VP, 蒸発光散乱検出器システム, 島津)でAmide-80カラム(4.6×250 mm, 東ソー)を用いてアセトニトリル:H₂O = 55:45の溶媒で流速1 ml/minでCIおよびC-IMSを分離、定量した。標準CIおよびC-IMSとして精製されたCI-7, CI-8, CI-9, CI-10, CI-11, CI-12(シー・アイ・バイオ)を用いた。CI-13およびこれより高分子のC-IMSはCI-12に換算した値を用いた。

1-4. サイクロデキストラン生産酵素活性の測定

サイクロデキストラン生産酵素反応は、2%デキストラン40または2%マツノリンM-22澱粉を基質とし、50 mM酢酸ナトリウム緩衝液(pH 5.5)中で40℃で行い、100℃で10分間加熱することによって反応を停止した。生成したサイクロデキストランは、上記1-3に記載したようにHPLCでCIの生産量を定量することにより測定した。酵素活性1ユニットは、1分間に1 μmolのCI(CI-7, CI-8, CI-9の合計)を生産する酵素量とした。また、簡易法として、酵素反応液を薄層クロマトグラフィーでアセトニトリル:H₂O = 70:30の溶媒で2回展開することにより生成するCIおよびC-IMSを検出した¹¹⁾。

2. 結果

2-1. *B. circulans* T-3040株および*Paenibacillus* sp. 598K株によるサイクロデキストランの生産

これまでに発見されたデキストランからCIおよびC-IMSを生産する菌株は*Bacillus circulans* T-3040株^{3,8)}, *B. circulans* U-155株¹³⁾, *Bacillus* sp. 330株⁴⁾, 同350株⁴⁾, 同360株⁴⁾, 同860株⁴⁾, *Paenibacillus* sp. 591K株⁴⁾, 同598K株^{4,9)}の8株である。うち、T-3040株と598K株は澱粉からCIを生産することも明らかになっている^{11,12,14)}。CI生産菌株のうちCITaseが見出されているのは*B. circulans* T-3040株⁸⁾, 同U-155株¹³⁾, *Paenibacillus* sp. 598K株⁹⁾の3株のみである。デキストランを基質とした場合、T-3040株由来CITaseはCI-8を最も多く生産し、U-155株由来CITaseは反応初期にCI-7を最も多く生産するが徐々にCI-8が増えていき、598K株由来CITaseはCI-7を最も多く生産する。デキストランおよび澱粉を基質としてT-3040株および598K株の培養上清濃縮液を酵素液として反応後、生成物CIおよびC-IMSをHPLC分析した結果を図2に示す。デキストランを基質とした場合では、T-3040株酵素は顕著にCI-8を生産し(図2a), 598K株酵素はCI-7を最も多く生産した(図2b)。澱粉を基質とした場合は、T-3040株酵素反応産物のCI-8の生産量が減ってCI-7生産割合が高くなり(図2c), 598K株酵素反応産物はCI生産量に対するC-IMSの生産割合が減った(図2d)。

2-2. エタノール分画による高C-IMS含有品の調製

マツノリンM-22澱粉を原料としてT-3040株由来CITaseおよび598K株由来DGaseを用いてCIおよびC-IMSを酵素生産した。エタノー

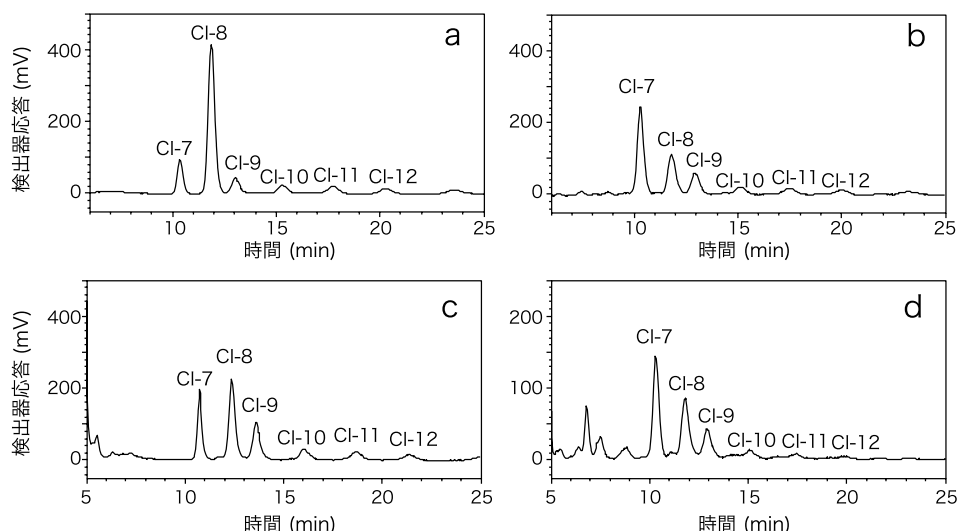


図2 *Bacillus circulans* T-3040 株および *Paenibacillus* sp. 598K 株がデキストランまたは澱粉から生産する環状イソマルトオリゴ糖 (CI) および環状イソマルトメガ口糖 (C-IMS)

a, c; *Bacillus circulans* T-3040 株 b, d; *Paenibacillus* sp. 598K 株
a, b; 基質 dextran 40 c, d; 基質マツノリン M-22 澱粉

ル分画で C-IMS の濃度を高める調製法を図 3 に示す。図 3 [2] の反応液では図 4a に示すように CI-7 と CI-8 が主成分で、C-IMS の生産量は少なく、CI:C-IMS = 4:1 (w/w) 程度であった。この反応液中の未反応の澱粉を取り除くために反応液を -20℃ で一旦凍らせた後に室温で融解し、12,000 × g, 25 分で遠心して沈殿を除去した (図 3 [3])。遠心で除去できない低分子のマルトオリゴ糖類をさらに低分子化して除去しやすくするために α アミラーゼとグルコアミラーゼを添加した (図 3 [4])。次に反応液: エタノール = 1:2 (v/v) の割合でエタノールを加えた (図 3 [5])。溶解度の高い CI および C-IMS, およびアミラーゼ分解によって生じたグルコースや低分子のマルトオリゴ糖が溶液に含まれ、わずかに残った高分子の澱粉残渣が沈殿した。デカンテーションで上清画分を集めた。これをロータリーエバポレーターで約 40 倍に濃縮し、濃縮液: エタノール = 1:3 (v/v) でエタノールを加え、沈殿を集めた (図 3 [7])。サイクロデキストランは CI, C-IMS 共に水に

対する溶解度が高いが、高分子の C-IMS は CI と比較するとやや溶解度が低くなるため、この操作で C-IMS はほとんどが沈殿するが、CI は完全には沈殿しない。グルコースやマルトース、マルトトリオースなどの低分子の単糖やマルトオリゴ糖も上清に残るため、この操作を繰り返すことによって C-IMS を沈殿として回収し、濃度を高めることができた。最終産物の HPLC 分析結果を図 4 b に示す。CI:C-IMS = 5:5 (w/w) 程度 C-IMS の割合が高まり、原液ではほとんど検出されなかった CI-13 も濃縮操作後は、はっきり検出された。エタノール沈殿をさらに繰り返すことにより、C-IMS の割合をより高めることができた。

2-3. CI と C-IMS の分離精製

エタノール沈殿法では C-IMS の割合を高めることはできるが、完全に CI を除去することはできない。そこで、C18 カラムを用いた逆相クロマトグラフィーにより CI と C-IMS を分離することとした (図 5)。CI 合成反応、凍結、

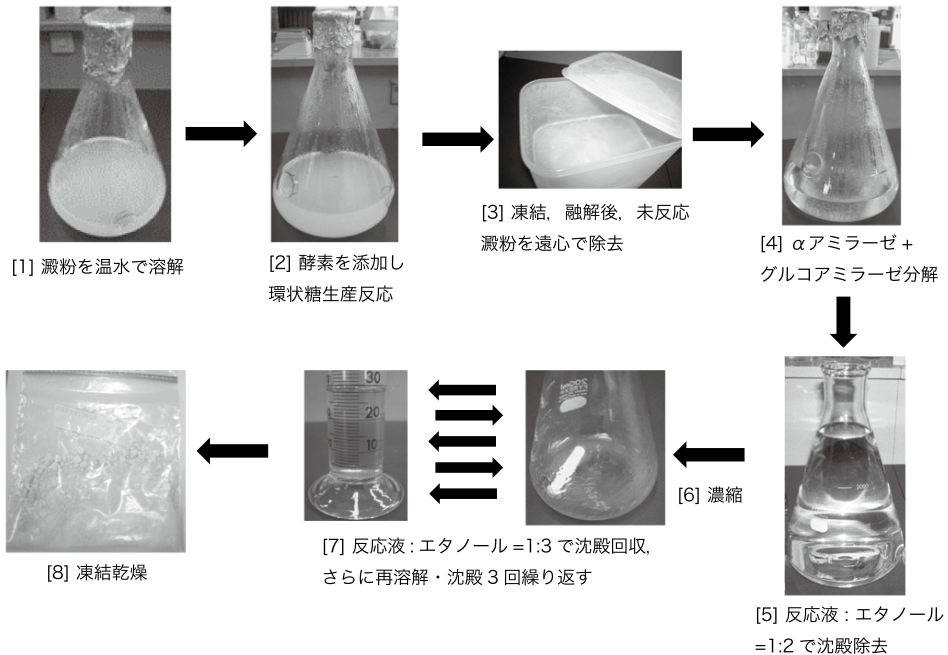


図3 エタノール分画法による高濃度 C-IMS 標品の生産方法

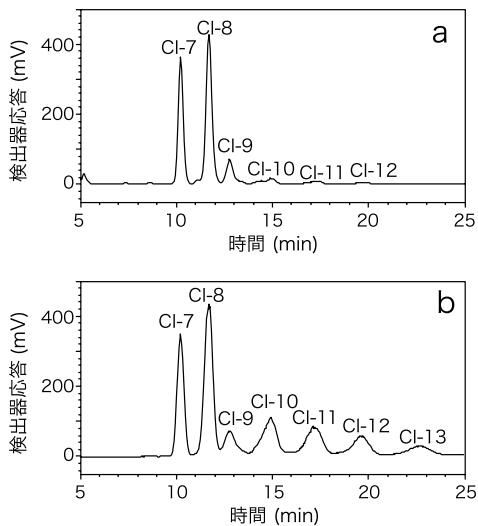


図4 *B. circulans* T-3040 株由来 CITase と *Paenibacillus* sp. 598K 株由来 DGase が澱粉から生産する CI および C-IMS(a) とエタノール分画法によって調製した C-IMS 高濃度品 (b) の HPLC 分析

未反応澱粉の遠心除去および酵素分解は上記 2-2 節と同様に行い、 α アミラーゼとグルコアミラーゼ処理を行った反応液を Preparative C18

(125 Å, Waters) カラム (55-105 mm) に供した (図 5 [2])。CI および C-IMS がカラムに吸着され、ミリ Q 水で洗浄してグルコース、直鎖のマルトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖などの還元糖を除去した (図 5 [3])。低分子の CI より高分子の C-IMS のほうが強く吸着されることから、まず 3.5% の低濃度のエタノールを流して CI を溶出させた (図 5 [4])。次にカラムに吸着している C-IMS (図 5 [5-2]) を 20% エタノールで溶出し、これをロータリーエバポレーターで濃縮、凍結乾燥し、C-IMS 標品とした (図 5 [6-2])。CI は 3.5% エタノールで溶出した画分 (図 5 [5-1]) を濃縮後、再び Preparative C18 カラムに供し、3.5% エタノールで CI を溶出、濃縮、凍結乾燥し、CI 標品とした (図 5 [6-1])。CI 標品と C-IMS 標品を HPLC で分析した結果、図 6a に示すように CI 標品には CI-7, CI-8, CI-9 のみ含まれ、C-IMS はほとんど混入していなかった。C-IMS 標品には CI はほとんど混入しておらず、有用性が期

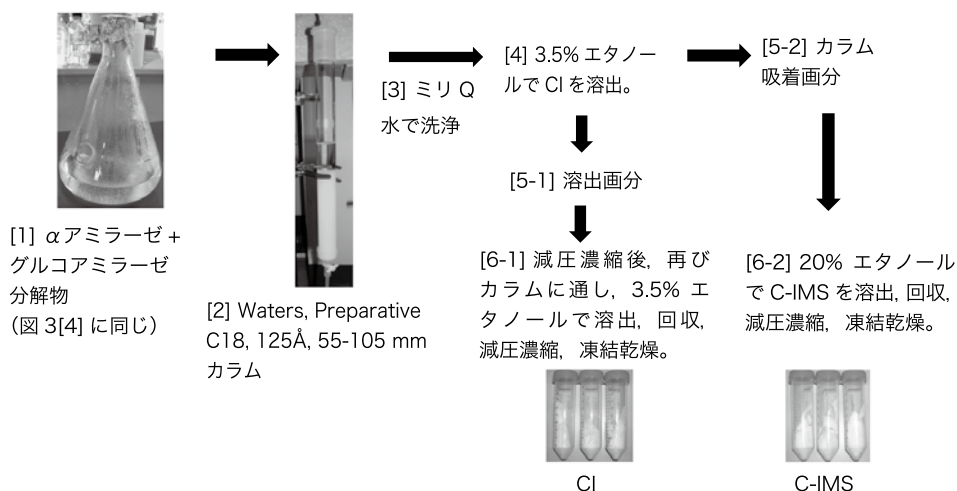


図5 ODS C18 カラム分画法による高濃度 C-IMS 標品の生産方法

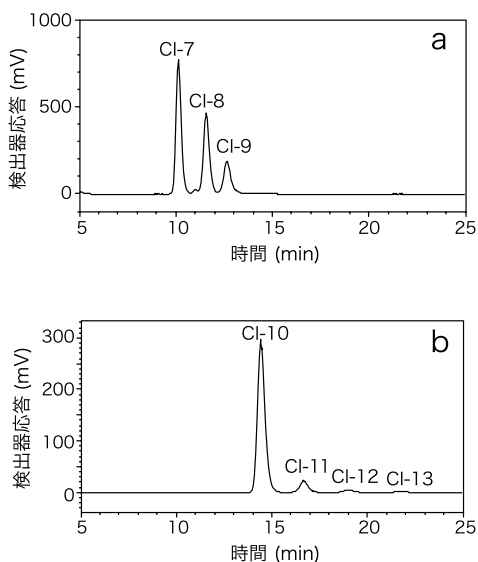


図6 高純度 CI (a) および高純度 C-IMS (b) の HPLC 分析

待されている CI-10 の割合が 50% 以上含まれていた (図 6b)。

3. 考察

これまでのサイクロデキストラン＝環状イソマルトオリゴ糖であると考えられてきた。CI 生産実用菌株である *B. circulans* T-3040 株

が生産するサイクロデキストランは CI である CI-8 が主であり³⁾, C-IMS の生産量は少ない。CI も C-IMS も生産酵素は CITase であるが, これまでは *B. circulans* T-3040 株由来の酵素⁸⁾, *B. circulans* U-155 株由来の酵素¹³⁾ および *Paenibacillus* sp. 598K 株由来の酵素⁹⁾ の合計 3 種類の CITase しか知られておらず, いずれも CI を主として生産し, C-IMS の生産量は少ない。現在市販されているサイクロデキストランは, ロイコノストク属乳酸菌をショ糖含有培地で培養して生産したデキストランを原料とし, T-3040 株の CITase を用いて生産されている。製品中の CI は図 2a とほぼ同じと考えられ CI-8 を最も多く含み C-IMS は少量である。実用化された CI 製品は, CI の抗う蝕作用を利用したものであり, これまでに甘味料や, 人やペット動物の口腔ケア製品が市販されてきた。CI はミュータンスレンサ球菌が生産するグルカンの生産を強く阻害する作用があり^{5, 15)}, その作用は CI-7 から CI-12 までほぼ同程度の効果が見出されている^{6, 7)}。デキストランを原料として作られたサイクロデキストランには未反応のデキストランが製品に含まれているが, 少量で抗う蝕効果があり, 夾雑物による効果の低

減もほとんどないことから、サイクロデキストラン含有量が10%台程度の標品でも利用することができる。しかし、包接能が見出されたCI-10をはじめとするC-IMSは含有量が少ないために、包接剤として使用するには高濃度で用いる必要があり、夾雑デキストランによって粘度が高くなる欠点がある。製品からデキストランを除く場合、デキストランもサイクロデキストラン同様溶解度が高いことから、アルコール沈殿による除去が難しい。酵素分解法を用いる場合、デキストランの低分子化に有効なデキストラナーゼはサイクロデキストランも分解してしまうために用いることができない。直鎖デキストランを末端から分解し、環状糖を分解しないエキソ型グルカナーゼを用いる場合は、夾雑デキストランが高分子であるために分解効率が悪いという欠点がある。

今回メガロ糖C-IMSを調製するにあたり、原料として澱粉を用いることとした。澱粉から生産する場合は、まず澱粉に新しい α -1,6鎖を伸張する反応が起こり、これにCITaseが作用して環状化反応がおこると考えられる。この新たに生じた α -1,6側鎖はデキストランよりも短い基質であると予測され、そのためか澱粉を基質とした場合、デキストランから生産するよりも低分子のCIの生産割合が多くなる¹¹⁾。図2で澱粉を基質とした場合は、T-3040株酵素ではデキストランが基質の場合よりもCI-7の生産割合が高くなり、598K株酵素では澱粉を基質とした場合にC-IMSの生産割合が減ったのも澱粉からは低分子のCIがよりしやすいことに起因しているためであると考えられる。しかし、澱粉を基質とした場合の利点は、サイクロデキストランを分解すること無く未反応の基質を α アミラーゼで容易に低分子化できることである。グルコアミラーゼも同時に添加することにより、大部分の澱粉残渣をグルコースま

で分解して、サイクロデキストラン標品から取り除くことができた。エタノール沈殿によりCI-10を50%以上含むまでに濃縮しても溶液の粘度はデキストランから生産した標品のようには上がらず、高濃度での使用も可能になると期待される。また、ODS C18カラムで分離することにより、CI-9以下のCIとCI-10以上のC-IMSをきれいに分離することが可能になった(図6)。エタノール沈殿によるC-IMS高濃度品はこれまでに200グラム、高純度のC-IMS標品は80グラムほどラボスケールで生産することができた。

メガロ糖は自然界には少量しか存在しないため、研究例は多くないが、最近になっていくつかの報告や、実用化例が出てきている。鷹羽らは、アミロースを環状化するポテトD-enzymeの作用で重合度17~数百のシクロアミロースが生産されることを発見し¹⁶⁾、うち重合度26のメガロ糖領域に属するシクロアミロースCA26に高い包接能が見出され¹⁷⁾、蛋白質のリフォールディング¹⁸⁾試薬として実用化されている。篠木らはラットの腸管ループを用いた試験で直鎖のイソマルトメガロ糖がケルセチンの吸収を高めたことを報告している¹⁹⁾。中村らはイソマルトシルメガロ糖およびニゲロシルメガロ糖が消化性の糖類であると報告している²⁰⁾。

サイクロデキストランについても本研究でC-IMS高濃度品や高純度品を調製することが可能になったことから、今後C-IMSの機能解明と利用法の開発につながる研究が進展していくことが期待される。

[謝辞]

この研究は、生研センターイノベーション創出事業および農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の支援のもとで行われた。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Thoma, J.A., Wright, H.B. and French, D.: Partition chromatography of homologous saccharides on cellulose columns. *Arch. Biochem. Biophys.* **85**:452-460, 1959.
- 2) Tilden E.B. and Hudson C S.: Conversion of starch to crystalline dextrins by the action of a new type of amylase separated from cultures of *Aerobacillus macerans*. *J. Am. Chem. Soc.* **63**: 2900–2902, 1939.
- 3) Oguma, T., Horiuchi, T., and Kobayashi, M.: Novel cyclic dextrins, cycloisomaltooligosaccharides, from *Bacillus* sp. T-3040 culture. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **57**: 1225-1227, 1993.
- 4) Funane, K., Terasawa, K., Mizuno, Y., *et al.*: Isolation of *Bacillus* and *Paenibacillus* bacterial strains that produce large molecules of cyclic isomaltooligosaccharides. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**: 3277-3280, 2008.
- 5) Kobayashi, M., Funane, K., and Oguma, T.: Inhibition of dextran and mutan synthesis by cycloisomaltooligosaccharides. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59**: 1861-1865, 1995.
- 6) Funane, K., Terasawa, K., Mizuno, Y., *et al.*: A novel cyclic isomaltooligosaccharide (cycloisomaltodecaose, CI-10) produced by *Bacillus circulans* T-3040 displays remarkable inclusion ability compared with cyclodextrins. *J. Biotechnol.* **130**: 188-192, 2007.
- 7) 舟根 和美：新規オリゴ糖素材サイクロデキストランの生産と応用. *Foods & Food Ingredients J. Jpn.*, **213**: 1000-1008, 2008.
- 8) Oguma, T., Tobe, K., and Kobayashi, M.: Purification and properties of a novel enzyme from *Bacillus* spp. T-3040, which catalyzes the conversion of dextran to cyclic isomaltooligosaccharides. *FEBS Lett.*, **345**: 135-138, 1994.
- 9) Suzuki, R., Terasawa, K., Kimura, K., *et al.*: Biochemical characterization of a novel cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase from *Paenibacillus* sp. 598K. *Biochim. Biophys. Acta*, **1824**: 919-924, 2012.
- 10) Oguma, T., Kurokawa, T., Tobe, K., and Kobayashi, M.: Cloning and sequence analysis of the cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase gene from *Bacillus circulans* T-3040 and expression in *Escherichia coli* cells. *J. Appl. Glycosci.*, **42**: 415-419, 1995.
- 11) Funane, K., Ichinose, H., Araki, M., *et al.*: Evidence for cycloisomaltooligosaccharide production from starch by *Bacillus circulans* T-3040. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **98**: 3947-3954, 2014.
- 12) 舟根 和美, 北岡 本光, 宮城 貞夫, 儀部 茂八：デキストラングルカナーゼ, 特開 2012-05606.
- 13) Oguma, T., Kitao, S., and Kobayashi, M.: Purification and characterization of cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase and cloning of *cit* from *Bacillus circulans* U-155. *J. Appl. Glycosci.*, doi:10.5458/jag.jag. JAG-2013_017, in press, 2014.
- 14) 舟根 和美, 北岡 本光, 川端 康之 他：サイクロデキストランの製造方法およびサイクロデキストラン合成酵素の製造方法, 特開 2008-167744.
- 15) 福島 和雄, 今井 奨:GTF 阻害剤, う蝕細菌の分子生物学, 高笠英彦監修, 今井 奨, 西沢 俊樹, 花田 信弘, 福島 和雄編, 東京, クインテッセンス出版 (株), 219-224 pp, 1997.
- 16) Takaha, T., Yanase, M., Takata, H., *et al.*: Potatao D-enzyme catalyzes the cyclization of amylose to produce cycloamylose, a novel cyclic glucan. *J. Biol. Chem.*, **271**: 2902-2908, 1996.
- 17) Gessler, K., Usón, I., Takaha, T., *et al.*: V-Amylose at atomic resolution: X-ray structure of a cycloamylose with 26 glucose residues (cyclomaltohexaicosaoase). *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **96**: 4246-4251, 1999.
- 18) Machida, S., Ogawa, S., Xiaohua, S., *et al.*: Cycloamylose as an efficient artificial chaperone for protein refolding. *FEBS Lett.* **486**: 131-135, 2000.
- 19) Shinoki, A., Lang, W., Thawornkuno, C., *et al.*: A novel mechanism for the promotion of quercetin glycoside absorption by megalosaccharide in the rat small intestine. *Food Chem.*, **136**: 293-296, 2013.
- 20) Nakamura, S., Takami, M., Tanabe, K., and Oku, T.: Characteristic hydrolyzing of megalosaccharide by human salivary α -amylase and small intestinal enzymes, and its bioavailability in healthy subjects., *Int. J. Food. Sci. Nutr.*, **65**: 754-760, 2014.

ヒト腸内菌叢の フィトエストロゲン代謝の多様性

田村 基 (TAMURA Motoi) *

* 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Key Words: フィトエストロゲン・大豆イソフラボン・植物リグナン・腸内菌叢・Equol・エンテロジオール・エンテロラクトン

1. フィトエストロゲンとは

超高齢社会を迎えて、高齢者が増加している。閉経後の女性は、女性ホルモンの減少により骨粗鬆症になりやすいため骨粗鬆症が増加している。フィトエストロゲンとは、女性ホルモンのように機能する外因性エストロゲンのことであり、植物エストロゲンとも呼ばれる。代表的なフィトエストロゲンには、大豆イソフラボンや植物リグナンがある。大豆イソフラボンや植物リグナンの乳癌予防効果、骨粗鬆症予防効果、更年期障害予防効果等の種々の効果が期待されている。

2. 食品に含まれるフィトエストロゲン

イソフラボン類は主としてマメ科の植物に分布する。植物リグナンはゴマに含まれるセサミンやアマニ種子に含まれるセコイソラリシレジンノールジグルコシドが知られている。セリ、アスパラガス、小松菜、ワサビ、ゴボウ、ゆず等にも植物リグナンが含まれている¹⁾。

ヒトの腸内には 100 兆個以上の腸内細菌が生息しているといわれている。腸内細菌は、宿主であるヒトや動物が摂取した栄養分の一部を利

用して生活し、他の種類の腸内細菌との間で数のバランスを保ちながら一種の生態系を形成している。この生態系のことを腸内フローラ（腸内細菌叢）と呼ぶ。植物リグナンからは腸内菌叢の作用で、エンテロラクトンやエンテロジオールが産生され、大豆イソフラボンの一つダイゼインからは、腸内菌叢の作用で equol が産生される。

動物食品には、エンテロラクトンや equol が微量に含まれている。例えば、スキムミルクには、エンテロラクトンが 37 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 湿重量、equol が 8 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 湿重量程度含まれ、卵にはエンテロラクトンが 2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 湿重量、equol が 8 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 湿重量程度含まれていることが報告されている²⁾。

3. 期待されるフィトエストロゲンの機能性

近年フィトエストロゲンの機能性が多数報告されている。植物リグナンからは、腸内菌叢の作用でエンテロラクトンやエンテロジオールが産生される。エンテロラクトンやエンテロジオールは哺乳類リグナンとも呼ばれている。また、大豆イソフラボンのダイゼインからは腸内菌叢の作用でダイゼインよりもエストロゲン活

性が強い equol が産生される。

日本人のエンテロラクトンの平均血清濃度は、男性で 32.6 nmol/L 女性で 22.7 nmol/L、ダイゼインの平均血清濃度は、男性で 282.5 nmol/L 女性で 246.8 nmol/L、ゲニステインの平均血清濃度は、男性で 492.7 nmol/L 女性で 501.9 nmol/L、equol の平均血清濃度は、男性で 99.1 nmol/L 女性で 57.6 nmol/L という報告がある³⁾。この報告から、日本人は植物リグナンよりもイソフラボン類をより多く摂取していると考えられる。

フィトエストロゲンと疾病や代謝に関する種々の報告がなされている。血清エンテロラクトン濃度が高い女性ほど乳がんでの死亡リスクが低いといった報告⁴⁾やエンテロリグナン(エンテロラクトンやエンテロジオール)レベルが高いヒトほど閉経後の乳癌患者の死亡率が低かったことも報告されている⁵⁾。一方、疫学研究において、大豆イソフラボンや味噌汁の摂取が乳がんリスクの低さと関連していること⁶⁾や equol の血漿濃度が高い人ほど前立腺癌の発症率が低いことが報告されている⁷⁾。疫学研究において、血清トリグリセリド濃度と尿中エンテロリグナン濃度が逆相関にあり、血清 HDL コレステロールレベルがエンテロリグナン濃度と正の相関があることが報告されている⁸⁾。また、セコイソラリシレジノールジグルコシドが含まれているアマニ粉を閉経女性に投与した結果、血清 LDL と HDL コレステロールの 4.7% の減少と血清トリグリセリドの 12.8% の減少をもたらし、閉経女性へのアマニ粉の投与は脂質代謝を改善する可能性が示唆されている⁹⁾。アメリカ人女性を対象とした疫学研究において、尿のエンテロラクトン排泄量の高さと 2 型糖尿病のリスクの低さとが相関していることも報告されている¹⁰⁾。大豆食品摂取は、脂質代謝に影響を及ぼす。大豆含有食品を摂取した高コレステロール血症者の中では equol 産生者の

LDL-cholesterol 濃度が低くなっていた¹¹⁾。

フィトエストロゲンの更年期障害予防効果や骨粗鬆予防効果も期待されている。デンマークの平均年齢 58.2 歳の閉経した女性に 76 mg/day のイソフラボンを含む豆乳を毎日二年間投与した場合、非投与群では腰椎骨密度が 4% 以上減少したのに対し、イソフラボン投与者全体では、腰椎骨密度が 1.1% 増加した。イソフラボン投与者の中で equol 産生者と equol 非産生者とに分けてイソフラボン投与の骨密度に対する効果を検討すると、equol 産生者では 2.4% の腰椎骨密度の増加が認められたのに対して、equol 非産生者ではたった 0.6% しか腰椎骨密度の増加が認められず、equol 産生者の方が非産生者に比べてイソフラボンの腰椎骨密度増加効果が高い結果となった¹²⁾。

種々のフィトエストロゲンの機能性が報告されているが、超高齢社会に向かいつつある日本においては、食品摂取による骨粗鬆予防や更年期障害予防は重要な課題である。フィトエストロゲンの中でも、エンテロラクトンや equol の機能性が高いことが多数報告されている。エンテロラクトンや equol は食品での含有率は非常に低い。エンテロラクトンは、セコイソラリシレジノールジグルコシドから腸内菌叢の代謝変換によって産生される。Equol は、ダイゼインから腸内菌叢の代謝変換によって産生されるため、フィトエストロゲンの機能性強化を考える場合は、腸内菌叢の役割は重要となる。

4. 腸内菌叢によるフィトエストロゲンの代謝

ルチンはケルセチンの 3 位の酸素にルチノースが結合した構造を有するケルセチンの配糖体である。ルチンは、ソバやオレンジ等の種々の柑橘類に含まれ、主要なフラボノイドの一つとして知られている。健常人のヒト糞便をルチンと嫌気培養した場合、反応初期には、ケル

セチンが産生し、反応が進むにつれてケルセチンが代謝されて 3-hydroxyphenylacetic acid と 3-(3-hydroxyphenyl)-propionic acid が主要な代謝物として産生される。ルチンの腸内菌叢による代謝性は個人差が大きいことが報告されている¹³⁾。筆者らの研究では、抗生物質を投与して腸内菌叢を減少させたマウスでは、抗生物質を投与しないマウスに比べて盲腸内容物中のケルセチン量は有意に高値を示した¹⁴⁾。ケルセチンのバイオアベイラビリティは腸内細菌叢によって影響を受けることが推定される。

植物リグナンからは腸内菌叢の作用でエンテロラクトンやエンテロジオールが産生される。エンテロラクトンやエンテロジオールは哺乳類リグナンとも呼ばれている。植物リグナンには、ゴマに含まれているセサミンがよく知られているが、その他にもマタイレジノール、セコイソラリシレジノール、ピノレジノール、アルクチゲニン、7-ヒドロキシマタイレジノール、イソラリシレジノール、ラリシレジノールなど種々の植物リグナンが存在する。リグナンは腸内菌叢によって代謝を受ける。健康人の女性3人と男性1人にゴマを摂取させて、血漿中のリグナン類を測定したところ、血漿エンテロラクトンやエンテロジオールの濃度はセサミン濃度よりも高い濃度であった¹⁵⁾。アマニは植物リグナンのセコイソラリシレジノールジグルコシドを豊富に含む。アマニを9人の成人女性に7日間投与した場合、尿へ排泄されたリグナンは、セコイソラリシレジノールよりもエンテロラクトンやエンテロジオール量のはるかに多かったことが報告されている¹⁶⁾。これらのことから、植物リグナンのバイオアベイラビリティには腸内菌叢が非常に重要な役割を果たしていると考えられる。一方、腸内細菌 *Clostridium saccharogumia*, *Eggerthella lenta*, *Blautia producta* と *Lactonifactor longoviformis* を定着させたラットでは、アマニからエンテロラ

クトンを産生したが、無菌ラットではアマニからはエンテロラクトンもエンテロジオールも産生せず、エンテロラクトンは、セコイソラリシレジノールジグルコシドから複数の腸内細菌の働きで産生されることが明らかとなった¹⁷⁾。成人男女各5人にアマニを同じ量を投与して、血清エンテロラクトン濃度を測定したところ、エンテロラクトン濃度が高いヒトと低いヒトでは10倍以上の違いが認められ、腸内菌叢のエンテロラクトン産生能は非常に個人差が大きいことが示唆されている¹⁸⁾。血清エンテロラクトン濃度が低い男性は、腸内菌叢の中で特に、*Lactobacillus-Enterococcus* group の菌群が少なかったことが報告されている¹⁹⁾。

Equol は消化管内で腸内菌叢の作用により、大豆イソフラボンの一つダイゼインから、ジヒドロダイゼインを経由して生成する。しかし、equol 産生能は、ヒトによって個人差が大きく、50～70%のヒトは、equol 産生能が非常に弱いことが知られている。equol 産生に關与する腸内菌叢の個々人の違いがこれら equol 産生能の個人差を生み出していると考えられている。Equol 産生に關与する腸内菌叢が、イソフラボン類の機能性発現を含めて生体内で重要な役割を担っていると考えられている。Equol 産生者は欧米人では、25～35%と低いことが報告されている²⁰⁾。一方、日本人の equol 産生者は、50～60%と欧米人に比べて高いことが報告されている^{21, 22)}。日本人と欧米人の equol 産生性の違いの明確な理由は不明である。しかし、腸内細菌叢は食事の影響を受けることから²³⁾、食生活の違いによる腸内環境の差異が日本人と欧米人の equol 産生性の違いに関係しているのかもしれない。

筆者らはヒト糞便希釈液を *in vitro* で大豆イソフラボンのダイゼインと嫌気培養し、培養物の抽出物を HPLC で解析し、equol 産生性の高いヒト糞便もしくは equol 産生性の無いヒト

糞便を同定した。Balb/cA 無菌雌マウスにこれらの equol 産生性の高いヒト糞便希釈液もしくは equol 産生性の無いヒト糞便希釈液を投与し、equol 産生性の高いヒトフローラマウスと equol 産生性の無いヒトフローラマウスを作製した。作製したヒトフローラマウスに滅菌した 0.1% ダイゼイン添加食を給餌し、血漿イソフラボン類解析や盲腸内容物の代謝産物の解析を行ったところ、equol 産生性ヒトフローラマウスには、血漿中に equol が検出されたが、equol 非産生性ヒトフローラマウスには equol が検出されなかった。ヒト腸内菌叢の equol 産生性はヒトフローラマウス腸内でも再現可能であった。これらのマウスの盲腸内容物の代謝産物の解析では、いずれのマウスにおいてもエンテロラクトンやエンテロジオールが検出された。しかし、equol 産生性ヒトフローラマウスでは、equol 非産生性ヒトフローラマウスに比べてエンテロラクトン濃度が有意に高値を示した。これらの結果は、腸内菌叢の equol 産生性の有無がイソフラボン類の代謝性に影響を及ぼすだけでなく、リグナン代謝にも影響を及ぼす可能性を示唆している。

5. フィトエストロゲンを代謝変換する腸内細菌

近年、種々の腸内細菌がフィトエストロゲンを代謝変換することが報告されている。我々が食品として摂取するポリフェノール類は、腸内菌叢の作用で様々な代謝変換を受けて低分子化合物に変換される場合がある。ケルセチンは、フィトエストロゲンに属するポリフェノール類であるが²⁴⁾、ケルセチンの配糖体であるルチンからは *Bacteroides uniformis* と *Bacteroides ovatus* 等の腸内細菌の作用でケルセチンを産生することが知られている²⁵⁾。一方、ヒト由来の腸内細菌 *Eubacterium ramulus* はケルセチン

を代謝して、3,4-dihydroxyphenylacetic acid と phloroglucinol を産生する²⁶⁾。

大豆イソフラボンの配糖体であるダイジンは、腸内細菌による変換を受けて最終的に、equol や *O*-desmethylangolensin を産生する (図 1)。ダイジンから equol や *O*-desmethylangolensin への反応には複数の腸内細菌が関与していることが報告されている。ダイジンからダイゼインへの反応は、糖の加水分解反応であり、この反応には種々のビフィズス菌が関与する。ビフィズス菌が β -グルコシダーゼの作用でダイジンをダイゼインに変換する。この変換能を有する菌は、*Bifidobacterium bifidum* MB 254, *Bifidobacterium breve* MB 234, *Bifidobacterium longum* MB 219 等が報告されている²⁷⁾。また、*Lactobacillus paraplantarum* KM, *Enterococcus durans* KH, *Streptococcus salivarius* HM のような乳酸菌も β -グルコシダーゼの作用でダイジンをダイゼインに変換する²⁸⁾。大腸菌 *Escherichia coli* HGH21 が、ダイジンからダイゼインを産生することも報告されている²⁹⁾。ダイゼインからジヒドロダイゼインへの反応は還元反応であり、フラボノイド骨格の二重結合を還元する反応である。ジヒドロダイゼン産生菌には、筆者らが健常人の糞便から分離した *Clostridium* sp. strain TM-40³⁰⁾ や Hur らが分離した strain HGH6²⁹⁾ 等があり、いずれの菌も嫌気条件下でダイジンからジヒドロダイゼインを産生することが可能である。ジヒドロダイゼインの代謝変換は、ジヒドロダイゼインから equol や *O*-desmethylangolensin を産生する経路に大別される (図 1)。ジヒドロダイゼインから *O*-desmethylangolensin を産生する腸内細菌は、strain HGH 136³¹⁾、strain SY8519³²⁾、*Eubacterium ramulus*³³⁾ 等が知られている。また、ジヒドロダイゼインから equol を産生する腸内細菌は、筆者らが健常人の糞便から分離した *Slackia* strain TM-30³⁴⁾ の他に、*Eggerthella*

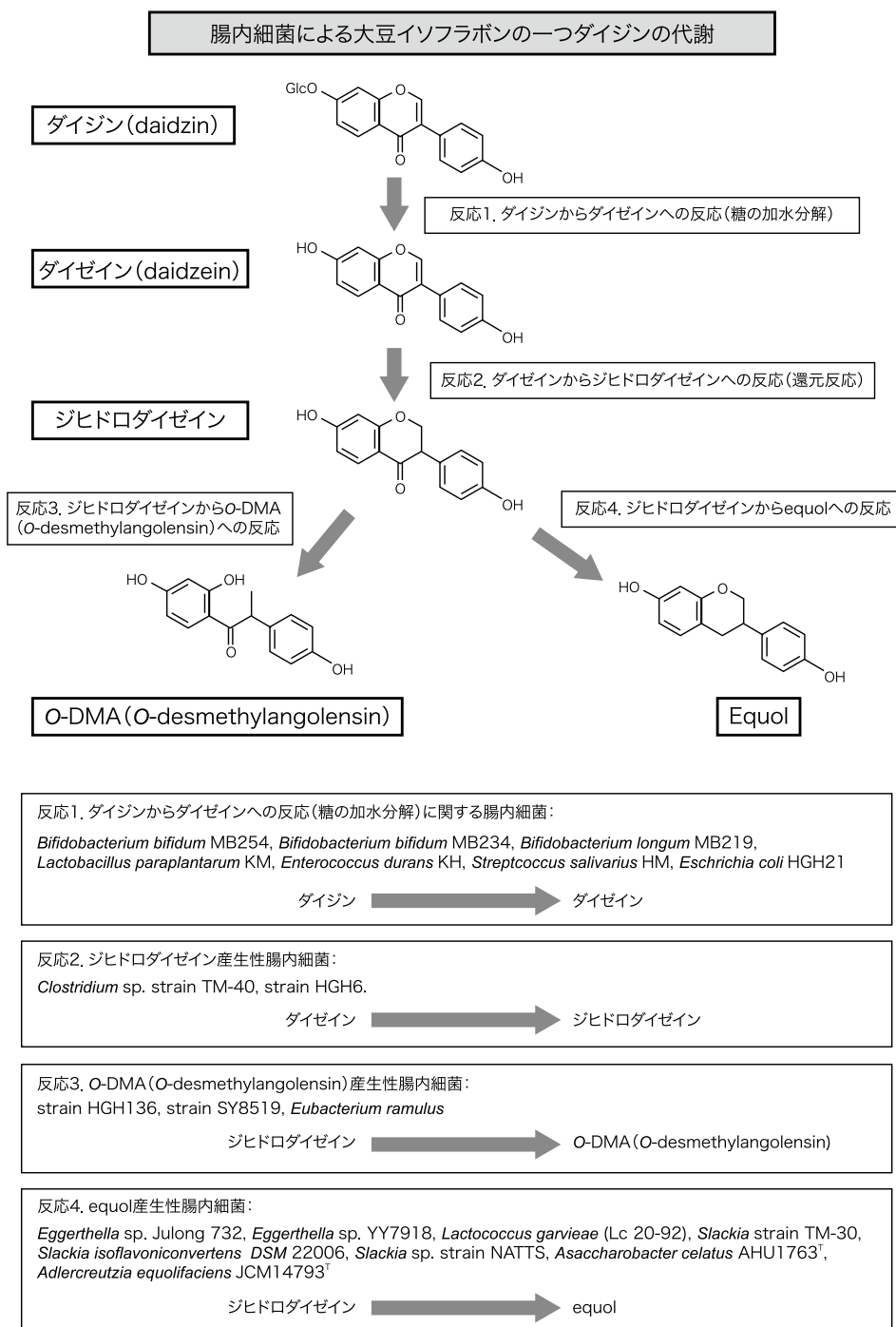


図 1

sp. Julong 732³⁵⁾, *Eggerthella* sp. YY7918³⁶⁾,
Lactococcus garvieae (Lc 20-92)³⁷⁾, *Slackia*
isoflavoniconvertens DSM 22006³⁸⁾, *Slackia*

sp. strain NATTS.³⁹⁾, *Asaccharobacter celatus*
 AHU1763^{T 40)}, *Adlercreutzia equolifaciens*⁴¹⁾ 等
 の種々の腸内細菌が知られている。これらの

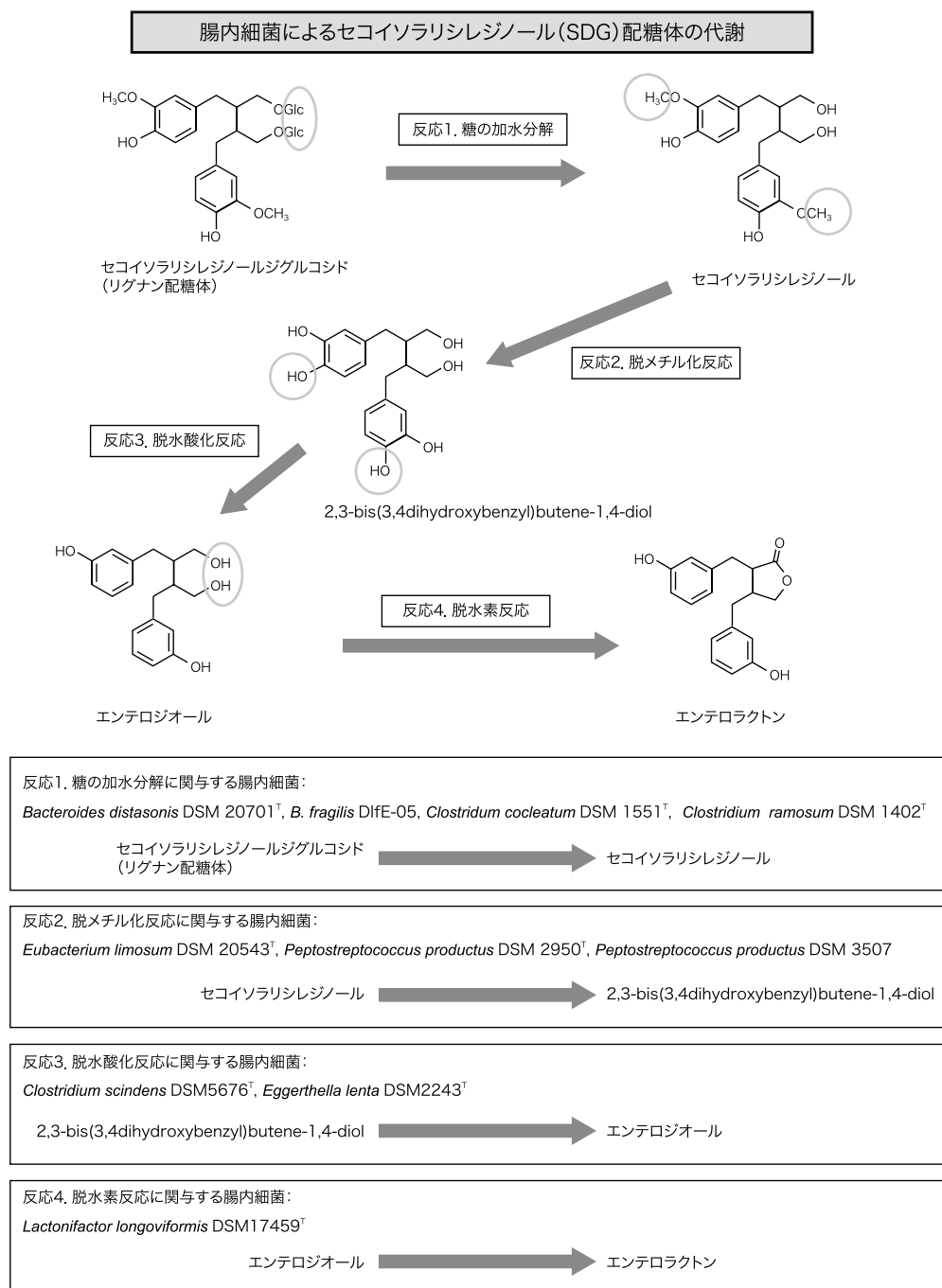


図2 (参考文献 42)

equol を産生する腸内細菌の中で, *Eggerthella* sp. Julong 732 はジヒドロダイゼインから equol を産生するが, 他の腸内細菌は, ダイゼインから直接 equol を産生することが可能である。

アマニ種子等に含まれる植物リグナンの配糖体であるセコイソラリシレジノールジグルコシドは, 腸内細菌による変換を受けて最終的に, エンテロラクトンを産生する (図2)。

セコイソラリシレジノールジグルコシドからセコイソラリシレジノールへの変換には糖の加水分解反応に関与する腸内細菌 *Bacteroides distasonis* DSM 20701^T, *Bacteroides fragilis* DIfE-05, *Clostridium cocleatum* DSM 1551^T, *Clostridium ramosum* DSM 1402^T が関与している。セコイソラリシレジノールから 2,3-bis (3,4dihydroxybenzyl) butene-1,4-diol への変換には脱メチル化反応に関与する腸内細菌 *Eubacterium limosum* DSM 20543^T, *Peptostreptococcus productus* DSM 2950^T, *Peptostreptococcus productus* DSM 3507 等が関与している。2,3-bis (3,4dihydroxybenzyl) butene-1,4-diol からエンテロジオールへの変換には脱水酸化反応に関与する腸内細菌 *Clostridium scindens* DSM5676^T, *Eggerthella lenta* DSM 2243^T 等が関与している。

エンテロジオールからエンテロラクトンへの変換には、脱水素反応に関与する腸内細菌 *Lactonifactor longoviformis* DSM 17459^T が関与していることが知られている⁴²⁾。

ヒト糞便菌叢のエンテロラクトン産生性には個人差があることが報告されている¹⁸⁾。エンテロジオールからエンテロラクトンを産生する腸内細菌の活性の個人差が、ヒト糞便菌叢のエンテロラクトン産生性の個人差に関連しているかもしれない。しかし、エンテロラクトン産生性の個人差を解明するためにはエンテロラクトン産生菌の代謝活性に及ぼすヒト腸内菌叢の影響の解析等の詳細な検討が必要となってくるだろう。ダイジンやセコイソラリシレジノールジグルコシドについては、腸内細菌による代謝変換の研究が比較的進んでいるが、他の多くのフィトエストロゲンの腸内細菌による代謝については解明されておらず、今後この分野での研究の発展が期待される。

6. 腸内でのフィトエストロゲン代謝変換に影響する食品素材

ゴマに含まれるセサミンは植物リグナンの一つであるが、*in vitro* のヒト糞便を用いた培養試験において、セサミンからもエンテロラクトンが産生することが確認されている。セサミンの機能性を検討するにはエンテロラクトンの機能性も考慮する必要がある⁴³⁾。

セコイソラリシレジノールジグルコシドは、アマニ等に含まれる植物リグナンであるが、ヒト試験において、セコイソラリシレジノールジグルコシドを含むアマニ抽出物を閉経した女性に投与した場合、セコイソラリシレジノール、エンテロジオール、エンテロラクトンが効率的に吸収されたことが報告されている⁴⁴⁾。アマニは、エンテロジオール、エンテロラクトンを摂取するための有用な食品素材と言える。

7-ヒドロキシマタイレジノールも植物リグナンの一つであるが、ヒト試験において、閉経した女性への7-ヒドロキシマタイレジノールを8週間投与した場合、7-ヒドロキシマタイレジノールは素早く吸収されて体内でエンテロラクトンに変換されたことが報告されている⁴⁵⁾。この試験において、7-ヒドロキシマタイレジノールを摂取した閉経した女性において、更年期症状の1つホットフラッシュの頻度が減少したことも報告されている。植物リグナンの摂取が女性ホルモン様作用を発揮した可能性が示唆される。

女性は閉経後に女性ホルモンの量が減少することや更年期において様々な障害が発生することが知られている。Equolには弱いエストロゲン活性があるため、equolによる更年期障害予防効果や閉経後の骨粗鬆症予防効果が期待されている。しかし、equol産生能は、ヒトによって個人差が大きい。ヒト試験で、大豆イソフラボン 60 mg を毎日3カ月間投与した場

合、10人の equol 非産生者の中で二人が equol 産生者に変化したことから⁴⁶⁾、腸内菌叢の種類によっては、大豆イソフラボンの長期摂取が equol 非産生性菌叢を equol 産生性菌叢に変え得る可能性も示唆されている。一方、食事の内容が equol 産生性に影響を及ぼす可能性が示唆されている。ヒト試験において、ベジタリアンと非ベジタリアンとでは equol 産生性が異なり、ベジタリアンでは equol 産生者の割合が 59%であったのに対して、非ベジタリアンでは、equol 産生者の割合が 25%であった⁴⁷⁾。また、別のヒト試験では、脂質の摂取量がより少なく、炭水化物の摂取量がより多いヒトの方が equol 産生が高いこと⁴⁸⁾や多価不飽和脂肪酸、ビタミン A、ビタミン E の摂取は equol 産生者で高かったことも報告されている⁴⁹⁾。疫学調査において、大豆と緑茶の摂取が equol 産生者で高い傾向があること⁵⁰⁾やコーヒーや肉の摂取が equol 産生と関連があることを示した報告もある⁵¹⁾。Equol 産生活性が強いヒトでは、多価不飽和脂肪酸の摂取量が多く、腸内菌叢における *Clostridium coccoides*-*Eubacterium rectal* group の菌数が少なく、Sulfate-reducing bacteria の菌数が多かった⁵²⁾。

Equol 含有食品を投与したヒト試験が報告されている。S-equol サプリメント SE5-OH 40

mg/day を閉経した女性に 8 週間投与した場合、イソフラボンを投与した場合よりもホットフラッシュの頻度を減少させ、更年期障害改善に寄与したことが報告されている⁵³⁾。現在のところ、equol 非産生者を産生者に変える有効な手段が見出されていない。Equol 非産生者の場合は、equol 含有食品を直接摂取するのも equol を利用する方法の一つであると考えられる。

おわりに

腸内菌叢が肥満の寄与因子の一つであることが明らかとなりつつある。腸内菌叢は宿主であるヒトの摂取した栄養分の一部を利用していることから、食品は腸内菌叢に強い影響力を有する。宿主の健康維持を考える上では、食品と腸内菌叢との相互作用の解明は重要となる。大豆イソフラボンの腸内菌叢の代謝物 equol には弱いエストロゲン活性があるため、equol による更年期障害予防効果や閉経後の骨粗鬆症予防効果が期待されている。しかし、イソフラボンから equol を産生する能力は、個人差が大きいことが問題である。腸内で腸内菌叢の equol の産生を高める食品は、これからの超高齢社会において新しいアンチエイジング素材（腸内フィトエストロゲン代謝改善食品）と言えるだろう。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Peñalvo JL, Adlercreutz H, Uehara M *et al.*: Lignan content of selected foods from Japan. *J. Agric. Food. Chem.*, **56**, 401-409, 2008.
- 2) Kuhnle GG, Dell'Aquila C, Aspinall SM *et al.*: Phytoestrogen content of foods of animal origin: dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *J. Agric. Food. Chem.*, **56**, 10099-10104, 2008.
- 3) Morton MS, Arisaka O, Miyake N *et al.*: Phytoestrogen concentrations in serum from Japanese men and women over forty years of age. *J. Nutr.*, **132**, 3168-3171, 2002.
- 4) Guglielmini P, Rubagotti A, Boccardo F: Serum enterolactone levels and mortality outcome in women with early breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast. Cancer. Res. Treat.*, **132**, 661-668, 2012.
- 5) Buck K, Zaineddin AK, Vrieling A *et al.*: Estimated enterolignans, lignan-rich foods, and fibre in relation to survival after postmenopausal breast cancer. *Br. J. Cancer.*, **105**, 1151-1157, 2011.
- 6) Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M *et al.*: Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *J. Natl. Cancer. Inst.*, **95**, 906-913, 2003.

- 7) Akaza H, Miyanaga N, Takashima N *et al.*: Comparisons of percent equol producers between prostate cancer patients and controls: case-controlled studies of isoflavones in Japanese, Korean and American residents. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, **34**, 86-89, 2004.
- 8) Peñalvo JL, López-Romero P: Urinary enterolignan concentrations are positively associated with serum HDL cholesterol and negatively associated with serum triglycerides in U.S. adults. *J. Nutr.*, **142**, 751-756, 2012.
- 9) Lucas EA, Wild RD, Hammond LJ *et al.*: Flaxseed improves lipid profile without altering biomarkers of bone metabolism in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**, 1527-1532, 2002.
- 10) Sun Q, Wedick NM, Pan A *et al.*: Gut microbiota metabolites of dietary lignans and risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in two cohorts of U.S. women. *Diabetes. Care.*, **37**, 1287-1295, 2014.
- 11) Clerici C, Setchell KD, Battezzati PM *et al.*: Pasta naturally enriched with isoflavone aglycons from soy germ reduces serum lipids and improves markers of cardiovascular risk. *J. Nutr.*, **137**, 2270-2278, 2007.
- 12) Jackson RL, Greiwe JS, Schwen RJ: Emerging evidence of the health benefits of *S*-equol, an estrogen receptor beta agonist. *Nutr. Rev.*, **69**, 432-448, 2011.
- 13) Rechner AR, Smith MA, Kuhnle G *et al.*: Colonic metabolism of dietary polyphenols: influence of structure on microbial fermentation products. *Free. Radic. Biol. Med.*, **36**, 212-225, 2004.
- 14) Tamura M, Suzuki H, Shinohara K: Effects of intestinal microflora on the bioavailability of dietary quercetin in adult mice *Food. Sci. Technol. Res.*, **6**, 291-293, 2000.
- 15) Peñalvo JL, Heinonen SM, Aura AM *et al.*: Dietary sesamin is converted to enterolactone in humans. *J. Nutr.*, **135**, 1056-1062, 2005.
- 16) Nesbitt PD, Lam Y, Thompson LU: Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed. *Am. J. Clin. Nutr.*, **69**, 549-555, 1999.
- 17) Woting A, Clavel T, Loh G *et al.*: Bacterial transformation of dietary lignans in gnotobiotic rats. *FEMS. Microbiol. Ecol.*, **72**, 507-514, 2010.
- 18) Saarinen NM, Smeds AI, Peñalvo JL *et al.*: Flaxseed ingestion alters ratio of enterolactone enantiomers in human serum. *J. Nutr. Metab.*, doi: 10.1155/2010/403076., 2010.
- 19) Holma R, Kekkonen RA, Hatakka K *et al.*: Low serum enterolactone concentration is associated with low colonic *Lactobacillus-Enterococcus* counts in men but is not affected by a synbiotic mixture in a randomised, placebo-controlled, double-blind, cross-over intervention study. *Br. J. Nutr.*, **111**, 301-309, 2014.
- 20) Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM *et al.*: Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **217**, 335-339, 1998.
- 21) Arai Y, Uehara M, Sato Y *et al.*: Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. *J. Epidemiol.*, **10**, 127-135, 2000.
- 22) Tousen Y, Uehara M, Abe F *et al.*: Effects of short-term fructooligosaccharide intake on equol production in Japanese postmenopausal women consuming soy isoflavone supplements: a pilot study. *Nutr. J.*, **12**, doi: 10.1186/1475-2891-12-127, 2013.
- 23) Wu GD, Chen J, Hoffmann C *et al.*: Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science.*, **334**, 105-108, 2011.
- 24) Ruotolo R, Calani L, Brighenti F *et al.*: Glucuronidation does not suppress the estrogenic activity of quercetin in yeast and human breast cancer cell model systems. *Arch. Biochem. Biophys.* doi:10.1016/j.abb.2014.03.003., 2014.
- 25) Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J: Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal *Bacteroides* from humans. *Biochem. J.*, **248**, 953-956, 1987.
- 26) Braune A, Gütschow M, Engst W *et al.*: Degradation of quercetin and luteolin by *Eubacterium ramulus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5558-5567, 2001.
- 27) Raimondi S, Roncaglia L, De Lucia M *et al.*: Bioconversion of soy isoflavones daidzin and daidzein by *Bifidobacterium* strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **81**, 943-950, 2009.
- 28) Chun J, Kim GM, Lee KW *et al.*: Conversion of isoflavone glucosides to aglycones in soymilk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food. Sci.*, **72**, M39-M44, 2007.
- 29) Hur HG, Lay JO Jr, Beger RD *et al.*: Isolation of human intestinal bacteria metabolizing the natural isoflavone glycosides daidzin and genistin. *Arch. Microbiol.*, **174**, 422-428, 2000.
- 30) Tamura M, Tsushida T, Shinohara K: Isolation of an isoflavone-metabolizing, *Clostridium*-like bacterium, strain TM-40, from human faeces. *Anaerobe.*, **13**, 32-35, 2007.

- 31) Hur HG, Beger RD, Heinze TM *et al.*: Isolation of an anaerobic intestinal bacterium capable of cleaving the C-ring of the isoflavonoid daidzein. *Arch. Microbiol.*, **178**, 8-12, 2002.
- 32) Yokoyama S, Niwa T, Osawa T *et al.*: Characterization of an *O*-desmethylangolensin-producing bacterium isolated from human feces. *Arch. Microbiol.*, **192**, 15-22, 2010.
- 33) Schoefer L, Mohan R, Braune A *et al.*: Anaerobic C-ring cleavage of genistein and daidzein by *Eubacterium ramulus*. *FEMS. Microbiol. Lett.*, **208**, 197-202, 2002.
- 34) Tamura M, Hori S, Nakagawa H: Intestinal bacterium TM-30: an *S*-equol-producing bacterium isolated from human feces is involved in estrogen metabolism *in vitro* *Food. Sci. Technol. Res.*, **20**, 309-316, 2014.
- 35) Kim M, Kim SI, Han J *et al.*: Stereospecific biotransformation of dihydrodaidzein into (3*S*)-equol by the human intestinal bacterium *Eggerthella* strain Julong 732. *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**, 3062-3068, 2009.
- 36) Yokoyama S, Suzuki T: Isolation and characterization of a novel equol-producing bacterium from human feces. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 2660-2666, 2008.
- 37) 内山 成人, 上野 友美, 鈴木 淑水: 新規エクオール産生乳酸菌のヒト糞便からの単離・同定. *J. Intestinal. Microbial.* **21**, 217-220, 2007.
- 38) Matthies A, Blaut M, Braune A: Isolation of a human intestinal bacterium capable of daidzein and genistein conversion. *Appl. Environ. Microbiol.*, **75**, 1740-1744, 2009.
- 39) Tsuji H, Moriyama K, Nomoto K *et al.*: Isolation and characterization of the equol-producing bacterium *Slackia* sp. strain NATTS. *Arch. Microbiol.*, **192**, 279-287, 2010.
- 40) Minamida K, Ota K, Nishimukai M *et al.*: *Asaccharobacter celatus* gen. nov., sp. nov., isolated from rat caecum. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **58**, 1238-1240, 2008.
- 41) Maruo T, Sakamoto M, Ito C *et al.*: *Adlercreutzia equolifaciens* gen. nov., sp. nov., an equol-producing bacterium isolated from human faeces, and emended description of the genus *Eggerthella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **58**, 1221-1227, 2008.
- 42) Clavel T, Henderson G, Engst W *et al.*: Phylogeny of human intestinal bacteria that activate the dietary lignan secoisolariciresinol diglucoside. *FEMS. Microbiol. Ecol.*, **55**, 471-478, 2006.
- 43) Liu Z, Saarinen NM, Thompson LU: Sesamin is one of the major precursors of mammalian lignans in sesame seed (*Sesamum indicum*) as observed *in vitro* and in rats. *J. Nutr.*, **136**:906-912, 2005.
- 44) Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L *et al.*: Metabolism of secoisolariciresinol-diglycoside the dietary precursor to the intestinally derived lignan enterolactone in humans. *Food. Funct.*, **5**, 491-501, 2014.
- 45) Udani JK, Brown DJ, Tan MO *et al.*: Pharmacokinetics and bioavailability of plant lignan 7-hydroxymatairesinol and effects on serum enterolactone and clinical symptoms in postmenopausal women: a single-blinded, parallel, dose-comparison study. *J. Am. Coll. Nutr.*, **32**, 428-435, 2013.
- 46) Tanaka M, Fujimoto K, Chihara Y *et al.*: Isoflavone supplements stimulated the production of serum equol and decreased the serum dihydrotestosterone levels in healthy male volunteers. *Prostate. Cancer. Prostatic. Dis.*, **12**, 247-252, 2009.
- 47) Setchell KD, Cole SJ: Method of defining equol-producer status and its frequency among vegetarians. *J. Nutr.*, **136**, 2188-2193, 2006.
- 48) Rowland IR, Wiseman H, Sanders TA *et al.*: Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans: influence of habitual diet on equol production by the gut microflora. *Nutr. Cancer.*, **36**, 27-32, 2000.
- 49) Setchell KD, Brown NM, Summer S *et al.*: Dietary factors influence production of the soy isoflavone metabolite *S*-(-)equol in healthy adults. *J. Nutr.* **143**, 1950-1958, 2013.
- 50) Miyanaga N, Akaza H, Takashima N *et al.*: Higher consumption of green tea may enhance equol production. *Asian. Pac. J. Cancer. Prev.*, **4**, 297-301, 2003.
- 51) Ozasa K, Nakao M, Watanabe Y *et al.*: Association of serum phytoestrogen concentration and dietary habits in a sample set of the JACC Study. *J. Epidemiol.* **15**, Suppl., 2, S196-S202, 2005.
- 52) Bolca S, Possemiers S, Herregat A *et al.*: Microbial and dietary factors are associated with the equol producer phenotype in healthy postmenopausal women. *J. Nutr.*, **137**, 2242-2246, 2007.
- 53) Jenks BH, Iwashita S, Nakagawa Y *et al.*: A pilot study on the effects of *S*-equol compared to soy isoflavones on menopausal hot flash frequency. *J. Womens. Health. (Larchmt.)*, **21**, 674-682, 2012.

キシラン分解酵素の基質特異性

— ヘミセルロースの利用へ向けて —

前原 智子 (MAEHARA Tomoko) *¹ 藤本 瑞 (FUJIMOTO Zui) *² 金子 哲 (KANEKO Satoshi) *¹

*¹ 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品バイオテクノロジー研究領域 生物機能利用ユニット, *² 独立行政法人農業生物資源研究所農業生物先端ゲノム研究センター 生体分子研究ユニット

Key Words : α -L-arabinofuranosidase · α -glucuronidase · hemicellulose · hemicellulase · xylan · xylanase

はじめに

近年、環境問題への配慮から、低酸素社会をめざしたバイオマス利用の必要性が叫ばれている。年間生産量約 1,500-2,000 億トンといわれる植物細胞壁は、地球上に最も多く存在するバイオマス資源である。食料と競合しないリグノセルロース系バイオマス（植物細胞壁）を原料とした燃料生産や、ファインケミカル、化成品、食品素材等を作り出すバイオリファイナリーの研究が盛んに行われているが、植物細胞壁成分全てを余すことなく利用するバイオマス利用技術は、現在までに開発されていない。とくに、発酵原料として適していない五炭糖を多く含むうえ、複数の構成糖からなるヘテロ多糖であるヘミセルロースは、植物細胞壁多糖の 20-30% を占めるにもかかわらず、積極的な利用用途開発へ向けた研究があまり行われていないのが現状である。

これまでにヘミセルロースの一部は、オリゴ糖、食物繊維、増粘多糖類等の機能性食品素材として利用されてきており、関連する研究も多く実施されている^{1,2)}。なかでもアラビノキシロオリゴ糖やキシロオリゴ糖は人の消化管において、*Lactobacilli*, *Bifidobacteria* といった善玉菌とされるバクテリアの生育を刺激し、人や動

物の腸内環境を改善する効果があることが指摘されており、プレバイオティクス素材として、近年、その機能に注目が集まってきている³⁻⁶⁾。

ヘテロ多糖であるヘミセルロースは、多くの分岐構造を持ち、構成糖の種類や量比が植物種や植物の生長段階・部位により異なることが知られている。こうした不均一性がヘミセルロース研究の大きな障壁となっているが、裏を返せば、このヘミセルロースの不均一性を十分に理解することこそが、ヘミセルロースの利用を促進するうえで最も重要なことと捉えることができる。筆者らは、極めて厳密に基質を選択する機構（基質特異性）を有する分子である酵素が、どの様にヘミセルロースの構造を認識しているかを詳細に解析することにより、ヘミセルロースの利用を促進することを目指している。

本稿では、最も賦存量が多いヘミセルロースであるキシランに関して、その分解酵素系や、筆者らが明らかにした酵素の基質特異性のメカニズムについて紹介する。

1. キシラン

ヘミセルロースとは、「水や 0.2% 程度の NaOH 溶液に不溶であるが、4 ~ 5% NaOH 溶

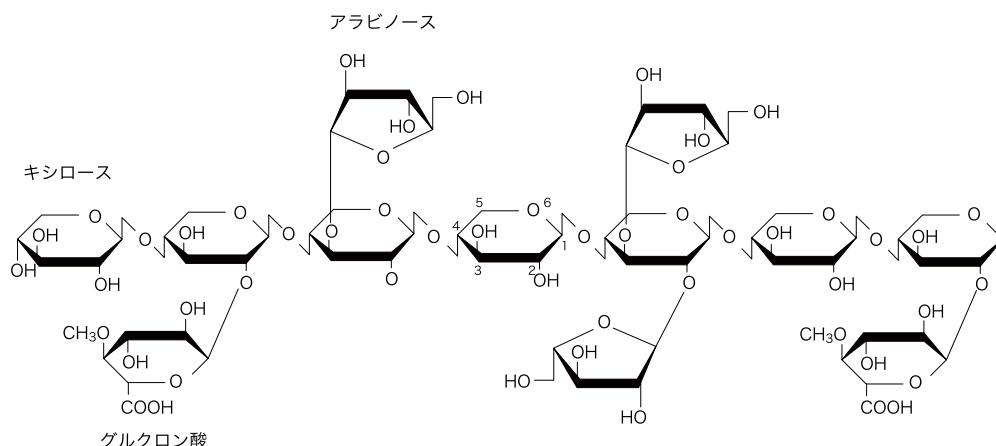


図1 代表的なキシランの構造

液に溶ける植物細胞壁性の炭水化物で、薄い無機酸と共に加熱するとセルロースと比べてはるかに容易に加水分解され、ペントースとヘキソースを生ずるもの」と定義されている⁷⁾。

天然に最も多く存在するヘミセルロースはキシランであり、セルロースに次いで地球上に2番目に多く存在するバイオマス資源として知られている。キシランの代表的な構造を図1に示したが、 β -1,4結合のキシロース鎖を主鎖とし、L-アラビノフラノースが α -1,3-結合で、グルクロン酸が α -1,2-結合で分岐している。微量ではあるが、L-アラビノフラノースが α -1,2-結合と α -1,3-結合で同じキシロース残基に結合した構造も存在することが知られている。また、多くのキシランでは、主鎖キシロースの水酸基がアセチル基で保護されていることが示されている。

2. キシラナーゼ

キシラナーゼ (Xylanase, EC 3.2.1.8) は、キシラン主鎖のキシロース間 β -1,4-結合をランダムに加水分解するエンド型酵素である。各々の酵素のアミノ酸配列の類似性から糖加水分解酵素ファミリー (Glycoside Hydrolase family; GH)⁸⁾

⁹⁾ のGH5, 8, 10, 11, 30, 43に分類されているが、これまでに報告のあるキシラナーゼのほとんどはGH10またはGH11に分類されている。

キシラナーゼをキシランに作用させた場合に得られる分解産物は、GHファミリーの基質特異性の違いにより、異なる構造を示す (図2)¹⁰⁻¹⁵⁾。

2-1. GH10 キシラナーゼ

我々は、放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86株由来GH10キシラナーゼ (SoXyn10A) について、基質特異性のメカニズムの解析を行った¹⁶⁾。図2に示す様に、GH10キシラナーゼによって切り出される分解産物では、キシラン側鎖の種類がアラビノースかグルクロン酸かによって主鎖の長さが異なる。そのため、GH10キシラナーゼがどのように側鎖の違いを認識しているのか興味をもたれた。結晶に様々なオリゴ糖をソーキングし、結晶構造解析を行ったところ、本キシラナーゼは5個のキシロースを認識する活性部位 (サブサイト-3 ~ +2) を有していることが示された (図3)。サブサイトとは糖加水分解酵素の基質結合部位、基質が結合する溝 (クレフト) のことであり、結合する各々の糖残基に番号をつけて区別する。糖鎖の切断部位を中心として非還元末端側

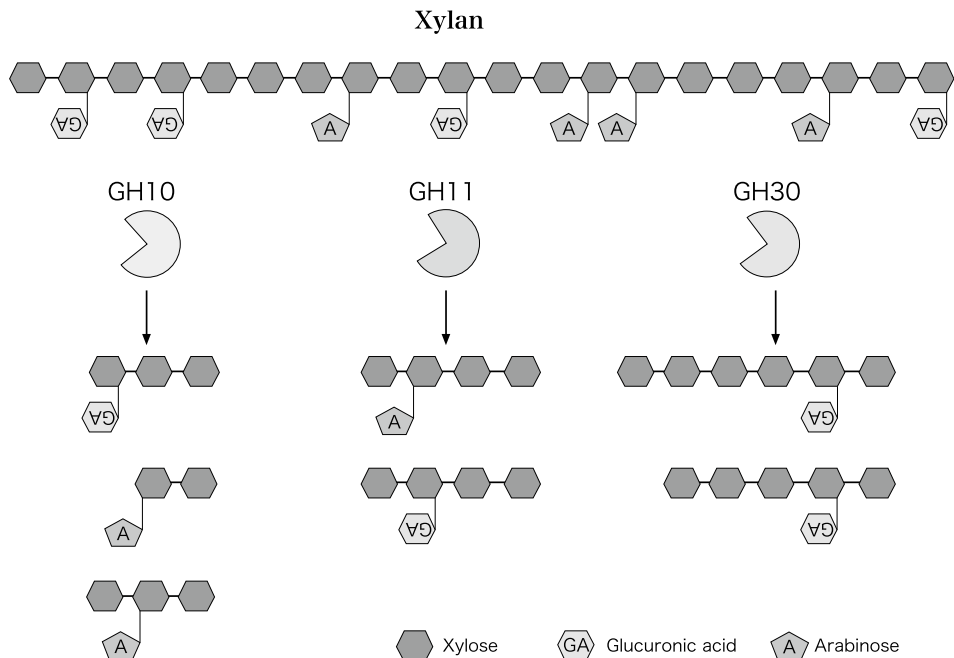


図2 GH10, 11, 30 キシラーゼによって得られる代表的なキシラン分解産物

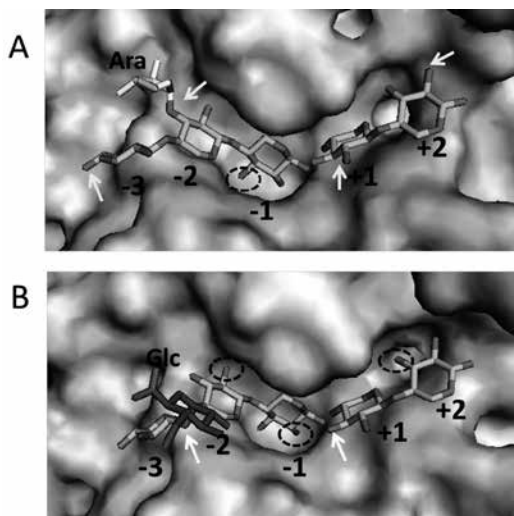


図3 SoXyn10A の基質結合クレフトにおける基質認識

A：アラビノース側鎖を持つキシロオリゴ糖結合構造 (PDB code 1V6V), B：グルクロン酸側鎖を持つキシロオリゴ糖結合構造 (1V6X)

SoXyn10A の基質結合クレフトにおいて、キシロース残基は隣のキシロース残基と約 120° 回転した状態で結合しており、アラビノース側鎖を持つキシロース残基はサブサイト -2 へ (図 3A), 4-*O*-Me-グルクロン酸側鎖を持つキシロース残基はサブサイト -3 へ (図 3B), それぞれ結合している様子が観察された¹⁶⁾。側鎖を有するオリゴ糖の結合様式を参考に各サブサイトにおけるキシロースの結合の様子を詳細に観察したところ、サブサイト +2, -1, -2 に位置しているキシロースの 2 位水酸基部分はクレフトの両壁や底部方向を向き、 α -1,2-結合で繋がるグルクロン酸側鎖がクレフトへ侵入可能なスペースがないこと (図 3B, 点線囲み), またサブサイト +1 と -3 に位置するキシロース残基の 2 位水酸基は、溶媒面を向いていることからグルクロン酸側鎖を酵素の外側に向けて保持可能であることが判明した (図 3B, 矢印)。一方、 α -1,3-結合でアラビノース側鎖が繋がるキシロース残基の 3 位水酸基の向きに注目すると、サブサイ

をマイナス, 還元末端側をプラスとし, 切断部位から離れるほど番号数字が大きくなる¹⁷⁾。

ト-1では壁面を向いていたものの、サブサイト+2, +1, -2, -3に位置する3位水酸基は溶媒面を向いていた(図3A, 矢印)。これは、サブサイト+2, +1, -2, -3に位置するキシロース残基が α -1,3-結合のアラビノース側鎖を有することができることを示している。

このように、SoXyn10Aはアラビノースかグルクロン酸かといった側鎖の糖の種類を積極的に認識している訳ではなく、酵素反応による生成物の構造は、側鎖を有するキシロース残基がどのサブサイトに入れるか否か、といった立体障害により決定されていることが理解できる。他のGH10キシラナーゼについてもSoXyn10Aと同じ構造の反応生成物を生産することから、SoXyn10Aに見られる側鎖認識機構はGH10キシラナーゼに共通のメカニズムであると考えられた。

2-2. GH11 キシラナーゼ

GH11キシラナーゼでは、真核生物由来のものについて、基質認識に関する研究報告がある^{18,19)}。GH11キシラナーゼの活性部位にはサブサイトが6個(-3~+3)存在している。GH10の場合と同様に各サブサイトにおけるキシロースの2位水酸基の方向を観察すると、サブサイト-3, +2, +3に位置するキシロースの2位水酸基は溶媒面を向き、サブサイト-2, -1, +1はクレフトの壁面を向いていた。このためサブサイト-3, +2, +3に位置するキシロース残基には、 α -1,2-結合したグルクロン酸側鎖が存在するこ

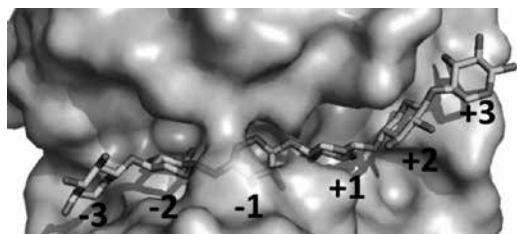


図4 GH11キシラナーゼの基質結合クレフトにおける基質認識

とが可能である(図4)。同様に、キシロース残基の3位水酸基もサブサイト-3, +2, +3では溶媒面を向き、サブサイト-2, -1, +1ではクレフト壁面を向く。従って、サブサイト-3, +2, +3に位置するキシロース残基には α -1,3-結合したアラビノース側鎖が存在可能であると予想された(図4)。

3. アラビノフラノシダーゼ

アラビノフラノシダーゼ(α -L-Arabinofuranosidase, EC 3.2.1.55)は、アラビノース含有多糖、またはオリゴ糖のL-アラビノフラノシル結合を加水分解する酵素であり、糖加水分解酵素ファミリーのGH3, 43, 51, 54, 62に分類されている。

3-1. GH51 及び GH54 アラビノフラノシダーゼ

GH51 及び GH54 アラビノフラノシダーゼは、1残基のアラビフラノースが結合できるポケットを活性部位に有しており、キシラナーゼで観察された様な、多糖と結合するクレフト構造は持たないことが示されている(図5A, 5B)^{20,21)}。両酵素の基質結合ポケットは良く似た構造であ

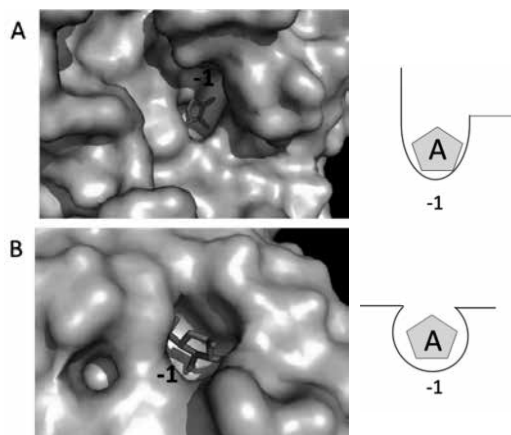


図5 GH51,54アラビノフラノシダーゼの基質結合ポケットにおける、アラビノース結合構造

A: GH51 (PDB code 1PZ2), B: GH54 (1WD4)

るが、その基質特異性は異なっており、GH51 アラビノフラノシダーゼは多糖へはほとんど作用しないが、GH54 アラビノフラノシダーゼは多糖に作用することができる²¹⁾。しかしながら、そのメカニズムの違いは未解明である。

3-2. GH43 アラビノフラノシダーゼ

GH43 アラビノフラノシダーゼは、特徴の異なる 3 種類の酵素 (exo-1,5-arabinofuranosidase, AXHm2,3s (図 6A), AXHd3 (図 6B)) が報告されている。

Exo-1,5-arabinofuranosidase は α -1,5- 結合のアラビノフラノース間の結合を特異的に加水分解する酵素であり、アラビノキシランに作用しないことから、キシラン分解系酵素には含まれないと考えられる。従って本稿では詳細な説明は割愛する²²⁾。

AXHm2,3s は、アラビノキシランに特異的に作用することが知られている。立体構造の解析から、図 6A に示すように、その活性部位は少なくとも 3 つのキシロースが結合するクレフト構造と、その底にアラビノース結合ポケットを

持つことが示されており、このことがアラビノキシランに特異的に作用できる要因と考えられている²³⁾。

AXHd3 は、通常のアラビノフラノシダーゼが作用できない同一のキシロース残基の 2 位及び 3 位にアラビノース側鎖が繋がった部分に特異的に作用する酵素として報告された (図 6B)。本酵素はキシロースの 2 位と 3 位に 2 重にぶら下がるアラビノース側鎖のうち、3 位のアラビノシル結合のみを分解するが、アラビノース 1 つのみが分岐する部分には作用できないという非常に珍しい特性をした酵素である²⁴⁻²⁶⁾。図 5, 図 6A に示すように別のアラビノフラノシダーゼは 1 個のアラビノース残基に対するポケット構造を有するため、同一のキシロース残基の 2 位及び 3 位にアラビノース側鎖が繋がった部分には作用できないのに対し、本酵素は活性部位である 3 位水酸基に結合しているアラビノースに対する結合ポケット (サブサイト -1) のすぐ隣に、2 位水酸基に結合しているアラビノース側鎖が収まるポケットを有する。このため、AXHd3 は 2 位と 3 位に 2 重に分岐する部分に特異的に作用する。

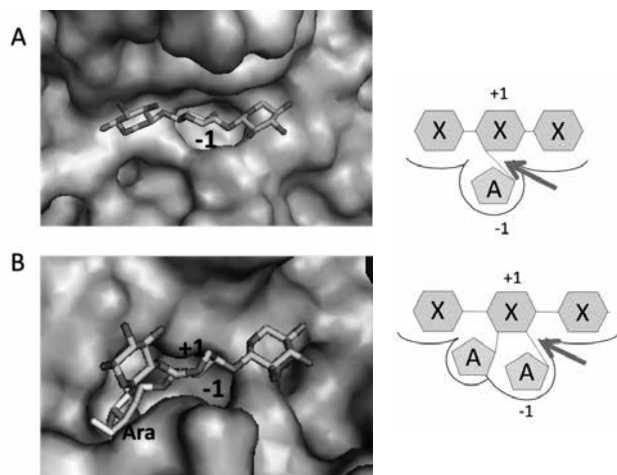


図 6 GH43 アラビノフラノシダーゼの活性部位構造

A: GH43 アラビノフラノシダーゼ AXHm2,3s と xylotriose の結合構造 (PDB code 3C7F), B: GH43 アラビノフラノシダーゼ AXHd3 と質結合領域 arabinoxylotriose の結合構造 (3ZXK)

3-3. GH62 アラビノフラノシダーゼ

GH62 アラビノフラノシダーゼは、アラビノキシランに良く作用し、その他のアラビノース含有基質にはほとんど作用しないことが知られていたが、酵素の立体構造が解明されていなかったことから、そのメカニズムは最近まで不明であった。我々は放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) 由来アラビノフラノシダーゼ (ScAraf62A) を取得し、結晶構造解析及びその基質特異性を検討した²⁷⁾。本酵素 (ScAraf62A) はアラビノース側鎖を有する wheat arabinoxylan, corn hull arabinoxylan,

表1 *S. coelicolor* 由来 GH62 アラビノフラノシダーゼの基質特異性

Substrate	Relative activity (%)	Unit/mg
Wheat arabinoxylan	100	0.18
Corn hull arabinoxylan	96	0.17
Oat spelts xylan	55	0.10
Birchwood xylan	0	
Arabinan	0	
Debranched arabinan	0	
Larch arabinogalactan	0	
Gum arabic	0	

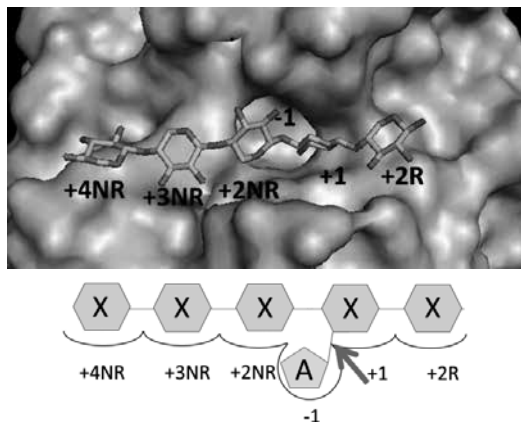
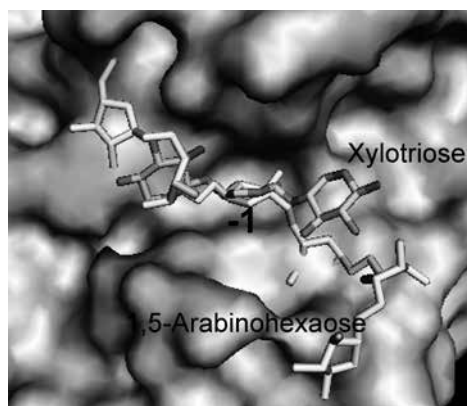


図7 GH62 アラビノフラノシダーゼと xylopentaose 結合構造 (PDB code 3WN2)

oat spelts xylan 等のキシランからアラビノースを遊離するが, arabinoxylan と同様に α -1,3- 結合アラビノース側鎖を持つ arabinan (主鎖はアラビノフラノースで構成されている) には作用しない (表 1)。

結晶構造解析の結果, ScAraf62A の活性部位は少なくとも 5 残基のキシラン主鎖を認識するクレフトと, そのクレフトの底に側鎖のアラビノースを認識するポケットを有することが示された (図 7) ²⁷⁾。

この構造をベースに ScAraf62A と arabinan の主鎖との結合モデル図を作製することで, 本酵素が arabinan に作用しない理由を説明することができる。Arabinan は, アラビノースが α -1,5 結合したアラビノース主鎖に α -1,3- 結合でアラビノース側鎖が存在する。この側鎖アラビノース

図8 ScAraf62A の基質結合クレフトにおける xylotri-1,5-arabinohexaose 結合モデル図 ²⁷⁾

スが本酵素のサブサイト -1 位のアラビノース結合ポケットに収まるように 1,5-arabinohexaose の構造モデルを本酵素の基質結合クレフト上のキシロオリゴ糖に重ねたところ, arabinan 主鎖のねじれた構造は, ScAraf62A の基質結合クレフトへフィットできないことが判明した (図 8)。このように ScAraf62A は, キシラン主鎖を認識するクレフト構造によって他のアラビノース含有多糖との識別を行い, アラビノキシランに特異的に作用する性質を示すことが明らかとなった。

また, クレフト周辺に位置するアミノ酸の変異体解析によっても, 本酵素がクレフト構造によりキシラン主鎖を認識することで, アラビノキシランに特異性を示すメカニズムが確認された。

4. グルクロニダーゼ

グルクロニダーゼ (α -Glucuronidase, 3.2.1.131) は, グルクロン酸含有多糖, またはオリゴ糖の α -グルクロノシル結合を加水分解する酵素であり, GH4, GH67, GH115 に分類されるものがこれまでに報告されている ²⁸⁻³⁰⁾。GH67 グルクロニダーゼは, 非還元末端キシロースに分岐する

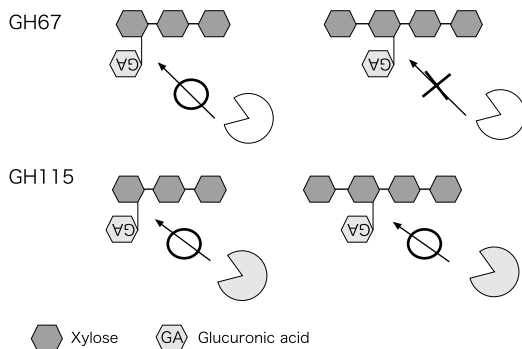


図9 GH67, GH115 グルクロニダーゼの基質特異性

が結合できるポケット構造の活性部位を持つ。非還元末端以外の（グルクロン酸側鎖をもたない）キシロース残基は、本酵素に結合することができないため、GH67 グルクロニダーゼはキシラン主鎖の末端以外のキシロース残基に分岐したグルクロン酸残基には作用できない。一方、GH115 グルクロニダーゼは、多糖に作用することが可能であるが（図9）、その構造はGH67と大きく異なっており、キシラン結合クレフトを有することが知られている（図11）³⁰⁾。

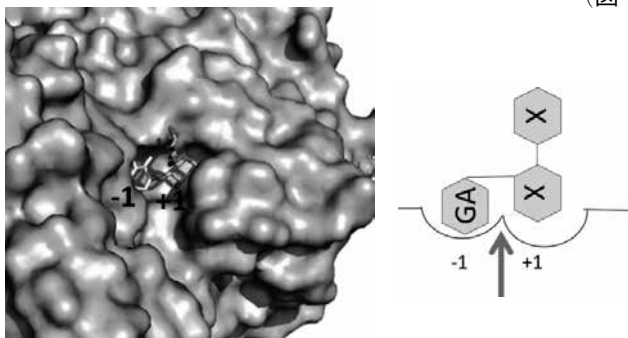


図10 GH67 グルクロニダーゼ活性部位構造 (PDB code 1K9F)

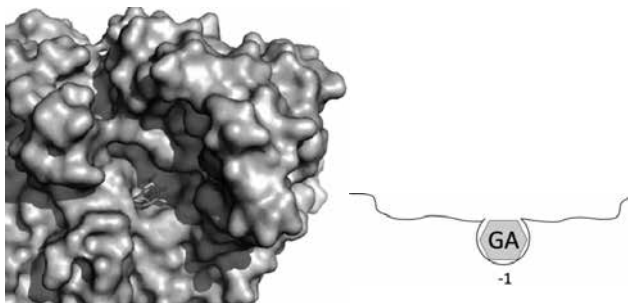


図11 GH115 グルクロニダーゼ活性部位構造 (PDB code 4C91)

グルクロン酸側鎖にのみ作用し、多糖に作用することはできないことが知られている（図9）。図10にその基質結合ポケットの構造を示した。GH67 グルクロニダーゼは、GH51, GH54 アラビノフラノシダーゼに観察されたように、非還元末端キシロースと側鎖グルクロン酸のみ

おわりに

これまでの研究により、ヘミセルラーゼの基質特異性を決定している活性部位の構造と基質の分岐構造との関係に対する理解が進んできた。本稿では、いくつかのキシラナーゼ、アラビノフラノシダーゼ、グルクロニダーゼについて簡単に紹介したが、この他にも基質特異性の異なる酵素が多数存在している。今後、さらに多くのヘミセルラーゼについて、その基質特異性が解明されれば、複数のヘミセルラーゼを意図的に組み合わせることで、ヘミセルロースから狙った構造のオリゴ糖のみを選択的に生産するなど、ラショナルデザインの実現が期待できるだろう。また、多糖の分岐構造は食品のテクスチャーを左右する要因の一つであることから³¹⁾、種々のヘミセルラーゼを用いたラショナルデザインは、ヘミ

セルロースの新たな利用法を開拓するうえでも有用である。ラショナルデザインによるヘミセルロース構造の制御は、ヘミセルロース研究において足枷となってきたヘミセルロース構造の不均一性を取り除くものである。生産物の物性や機能性などの評価を合せて行うことで、これ

までにない新たな食品素材をヘミセルロースから創出することが期待できる。

また、ヘミセルロースは自然界において、植物細胞壁成分の中で最も初期に分解されると考えられている。ゲノム解析が容易となってきた現在では、微生物におけるヘミセルラーゼの分布と基質特異性の理解（各々の微生物がどのような種類のヘミセルラーゼを有するか）は、自然界において個々の微生物が植物細胞壁の分解にどのように貢献しているかを理解することにつながる。人や動物の腸内環境中に生息するプロバイオティクスがどのように食物繊維を分解し生育しているのかといった研究もその一例である。腸内細菌 *Bifidobacterium* はアラビノキシロオリゴ糖をその生育に利用することができるといわれており、ゲノム上に複数のヘミセルラーゼ（アラビノフラノシダーゼ）を有しているこ

とが報告されている³²⁻³⁴⁾。ビフィズス菌やアラビノフラノシダーゼに限らず、腸内細菌叢の持つヘミセルラーゼが、どのように植物細胞壁（食物繊維）を認識、分解して利用しているのか、各々の腸内細菌による食物繊維の利用とヘミセルラーゼの関係は大変興味深く、今後の発展が望まれる。筆者らの研究成果であるヘミセルラーゼの基質特異性のメカニズム解明は、こうした分野の発展にも大いに貢献するものである。

以上のように、ヘミセルラーゼの基質特異性を詳細に解明することは、ヘミセルロースを利用するうえで、非常に重要な研究である。今後もヘミセルラーゼの作用機構を詳細に解明し、その特徴を理解していくことで、ヘミセルロース利用の促進に向け、微力ながら貢献していきたいと考えている。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 早川 幸男・小林 昭一 監修, (社) 菓子・食品新素材技術センター編集, 食品素材事業部幹事会, よくわかる食品新素材, (株) 食品化学新聞社
- 2) Otieno DO., Ahring BK.: The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydr Res*, **360**: 84-92, 2012.
- 3) Okazaki M., Fujikawa S., Matsumoto N.: Effect of xylooligosaccharide on the growth of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria Microflora*, **9**:77-86, 1990.
- 4) Sanchez JL., Marzorati M., Grootaert C., Baran M., van Craeyveld V., Courtin CM., Broekaert WF., Delcour JA., Verstraete W., van de Wiele T.: Arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) affect the protein/carbohydrate fermentation balance and microbial population dynamics of the Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem. *Microbial Biotechnology*, **2**:101-113, 2009.
- 5) Vázquez MJ., Alonso JL., Dominguez H., Parajó JC.: Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends in Food Science & Technology*, **11**:387-393, 2000.
- 6) Broekaert WF., Courtin CM., Verbeke K., Van de Wiele T., Verstraete W., Delcour JA.: Prebiotic and other health-related effects of cereal-derived arabinoxylans, arabinoxylan-oligosaccharides, and xylooligosaccharides. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **51**:178-194, 2011.
- 7) Schulze E.: Zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der pflanzlichen Zellmembranen. *Ber Dtsch Chem Ges*, **24**: 2277-2287, 1891.
- 8) Henrissat B.: A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem J*, **280**:309-316, 1991.
- 9) Cantarel BL., Coutinho PM., Rancurel C., Bernard T., Lombard V., Henrissat B.: The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Res*, **37**:D233-238, 2009.
- 10) Kusakabe I., Ohgushi S., Yasui T., Kobayashi T.: Structures of the arabinoxylo-oligosaccharides from the

- hydrolytic products of corn cob arabinoxylan by xylanase from *Streptomyces*. *Agric Biol Chem*, **47**:2713-2723, 1983.
- 11) Yoshida S., Kusakabe I., Matsuo N., Shimizu K., Yasui T., Murakami K.: Structure of rice-straw arabinoglucuronoxylan and specificity of *Streptomyces* xylanase toward the xylan. *Agric Biol Chem*, **54**:449-457, 1990.
 - 12) Katapodis P., Vrsanská M., Kekos D., Nerinckx W., Biely P., Claeysens M., Macris BJ., Christakopoulos P.: Biochemical and catalytic properties of an endoxylanase purified from the culture filtrate of *Sporotrichum thermophile*. *Carbohydr Res*, **338**: 1881-1890, 2003.
 - 13) Kolenová K., Vrsanská M., Biely P.: Mode of action of endo- β -1,4-xylanases of families 10 and 11 on acidic xylooligosaccharides. *J Biotechnol*, **121**: 338-345, 2006.
 - 14) St. John FJ., Rice JD., Preston JF.: Characterization of XynC from *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* strain 168 and analysis of its role in depolymerization of glucuronoxylan. *J Bacteriol*. **188**:8617-8626, 2006.
 - 15) Vršanská M., Kolenová K., Puchart V., Biely P.: Mode of action of glycoside hydrolase family 5 glucuronoxylan xylanohydrolase from *Erwinia chrysanthemi*. *FEBS J*, **274**:1666-1677, 2007.
 - 16) Fujimoto Z., Kaneko S., Kuno A., Kobayashi H., Kusakabe I., Mizuno H.: Crystal structures of decorated xylooligosaccharides bound to a family 10 xylanase from *Streptomyces olivaceoviridis* E-86. *J Biol Chem*, **279**:9606-9614, 2004.
 - 17) Davies GJ., Wilson KS., Henrissat B.: Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolases. *Biochem J*, **321**:557-559, 1997.
 - 18) Vardakou M., Dumon C., Murray JW., Christakopoulos P., Weiner DP., Juge N., Lewis RJ., Gilbert HJ., Flint JE.: Understanding the structural basis for substrate and inhibitor recognition in eukaryotic GH11 xylanases. *J Mol Biol*, **375**:1293-1305, 2007.
 - 19) Wan Q., Zhang Q., Hamilton-Brehm S., Weiss K., Mustyakimov M., Coates L., Langan P., Graham D., Kovalevsky A.: X-ray crystallographic studies of family 11 xylanase Michaelis and product complexes: implications for the catalytic mechanism. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, **70**:11-23, 2014.
 - 20) Hövel K., Shallom D., Niefind K., Belakhov V., Shoham G., Baasov T., Shoham Y., Schomburg D.: Crystal structure and snapshots along the reaction pathway of a family 51 α -L-arabinofuranosidase. *EMBO J*, **22**: 922-932, 2003.
 - 21) Miyanaga A., Koseki T., Matsuzawa H., Wakagi T., Shoun H., Fushinobu S.: Crystal structure of a family 54 α -L-arabinofuranosidase reveals a novel carbohydrate-binding module that can bind arabinose. *J Biol Chem*, **279**:44907-44914, 2004.
 - 22) Fujimoto Z., Ichinose H., Kaneko S.: Crystallization and preliminary crystallographic analysis of exo- α -1,5-L-arabinofuranosidase from *Streptomyces avermitilis* NBRC14893. *Acta Crystallogr F*, **64**:1007-1009, 2008.
 - 23) Vandermarliere E., Bourgois TM., Winn MD., van Campenhout S., Volckaert G., Delcour JA., Strelkov SV., Rabijns A., Courtin CM.: Structural analysis of a glycoside hydrolase family 43 arabinoxylan arabinofuranohydrolase in complex with xylotetraose reveals a different binding mechanism compared with other members of the same family. *Biochem J*, **418**:39-47, 2009.
 - 24) van den Broek LA., Lloyd RM., Beldman G., Verdoes JC., McCleary BV., Voragen AG.: Cloning and characterization of arabinoxylan arabinofuranohydrolase-D3 (AXHd3) from *Bifidobacterium adolescentis* DSM20083. *Appl Microbiol Biotechnol*, **67**:641-647, 2005.
 - 25) Sorensen HR., Jørgensen CT., Hansen CH., Jørgensen CI., Pedersen S., Meyer AS.: A novel GH43 α -L-arabinofuranosidase from *Humicola insolens*: Mode of action and synergy with GH51 α -L-arabinofuranosidases on wheat arabinoxylan. *Appl Microbiol Biotechnol*, **73**:850-861, 2006.
 - 26) McKee L S., Peña MJ., Rogowski A., Jackson A., Lewis RJ., York WS., Krogh KB., Viksø-Nielsen A., Skjot M., Gilbert HJ., Marles-Wright J.: Introducing end-xylanase activity into an exo-acting arabinofuranosidase that targets side chains. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **109**:6537-6542, 2012.
 - 27) Maehara T., Fujimoto Z., Ichinose H., Michikawa M., Harazono K., Kaneko S.: Crystal structure and characterization of the glycoside hydrolase family 62 α -L-arabinofuranosidase from *Streptomyces coelicolor*. *J Biol Chem*, **289**:7962-7972, 2014.
 - 28) Nurizzo D., Nagy T., Gilbert HJ., Davies GJ.: The structural basis for catalysis and specificity of the *Pseudomonas*

- cellulosa* α -glucuronidase, GlcA67A. *Structure*, **10**:547-556, 2002.
- 29) Fujimoto Z., Ichinose H., Biely P., Kaneko S.: Crystallization and preliminary crystallographic analysis of the glycoside hydrolase family 115 α -glucuronidase from *Streptomyces pristinaespiralis*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, **67**:68-71, 2011.
- 30) Rogowski A., Baslé A., Farinas CS., Solovyova A., Mortimer JC., Dupree P., Gilbert HJ., Bolam DN.: Evidence that GH115 α -glucuronidase activity, which is required to degrade plant biomass, is dependent on conformational flexibility. *J Biol Chem*, **289**:53-64, 2014.
- 31) 國崎 直道, 佐野 征男: 食品多糖類, 乳化・増粘・ゲル化の知識. 幸書房, 東京, 1, 2001.
- 32) VanLaere KMJ., Beldman G., Voragen AGJ.: A new arabinofuranohydrolase from *Bifidobacterium adolescentis* able to remove arabinosyl residues from double-substituted xylose units in arabinoxylan. *Appl Microbiol Biotechnol*, **47**:231-235, 1997.
- 33) Pastell H., Westermann P., Meyer AS., Tuomainen P., Tenkanen M.: *In vitro* fermentation of arabinoxylan-derived carbohydrates by bifidobacteria and mixed fecal microbiota. *J Agric Food Chem*, **57**:8598-8606, 2009.
- 34) Lagaert S., Pollet A., Delcour JA., Lavigne R., Courtin CM., Volckaert G.: Substrate specificity of three recombinant α -L-arabinofuranosidases from *Bifidobacterium adolescentis* and their divergent action on arabinoxylan and arabinoxylan oligosaccharides. *Biochem Biophys Res Commun*, **402**:644-650, 2010.

流動層造粒工程の効率化

— 気液二相バインダ（アクアガスバインダ）の利用 —

五月女 格 (SOTOME Itaru) *

* 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

Key Words：インスタントスープ・過熱水蒸気・水溶性粉末・液滴・食品加工技術・顆粒・アクアガス

はじめに

インスタントスープや飲料などの湯や水に溶かして飲む粉末食品は、顆粒状に造粒されることが多い。これらの食品は微粉末の状態では、湯や水に溶かす際にランピングと呼ばれるダマや溶け残りを生じやすいという問題があるが、粉末を粒子径の大きな顆粒に造粒することにより、ダマにならず溶けやすくなるからである¹⁻⁵⁾。一般的に粉末は、粒子径が小さくなるほど凝集性が強くなり、湯や水に分散せずに凝集塊を形成しやすくなり、溶解させることが困難になる。また微粉末は流動性も低いいため、機械による計量や充填の際にもトラブルを発生しやすい⁶⁻⁸⁾。抹茶やココアパウダーは粒子径が非常に小さいことから、凝集性が強く分散させづらいが、近年は冷たい水や牛乳にも良く溶ける造粒された製品が流通している。

粉末の造粒には様々な方法が用いられているが、広く使用されている方法の一つに流動層造粒が挙げられる。流動層造粒では気流により浮遊している粉末に液体バインダを噴霧し、粒子を架橋して顆粒を形成する。一般的にバインダには水あるいは高分子水溶液が用いられる。水溶液等のバインダを使用する造粒法は流動層造粒を含め湿式造粒と呼ばれるが、これらの造粒

法では形成された顆粒の含水率はバインダの添加により高くなっているため、造粒後は顆粒の乾燥が必要となる。乾燥された顆粒は、バインダ液中の溶質あるいはバインダ液にて溶解した粒子の一部によって架橋され形状が保持される⁹⁻¹⁰⁾。このように顆粒の形成にはバインダの水分が重要な役割を担っているが、一方でバインダ添加量が増加すると顆粒の乾燥に要する時間が長くなり、乾燥工程における加熱が顆粒の品質に及ぼす影響が大きくなる¹¹⁾。したがって、流動層造粒においては可能な限り少ないバインダ添加量で顆粒を形成することが望ましいといえる。

造粒におけるバインダ添加量を削減する方法として、水蒸気をバインダとして使用する方法が提案されている。これは、粉末に対して水蒸気を噴射して凝縮させ、粒子を凝縮水により架橋して顆粒を形成するという方法である。バインダを液滴として噴霧する場合と比較して、水蒸気を粒子に凝縮させる方法では、粒子表面が比較的均一に濡れた状態となり、粒子同士が結着する確率が高くなり効率よく造粒が進行すると考えられる¹²⁾。実際に水蒸気をバインダとして使用している造粒方法としては、自由落下している低密度な粉末に水蒸気を吹き付けて造

粒を行なうスチームジェット造粒と呼ばれる方法についての報告例がみられるが¹³⁻¹⁶⁾、全般的に研究報告例は少ない。また著者が流動層造粒のバインダとして水蒸気を粉末に噴霧してみたところ、顆粒は速やかに形成されるものの、粗大粒が形成されやすく、粒子径の制御が難しいという性質が確認された。

一方、著者は近年、過熱水蒸気中に微細な水滴を分散させた加熱媒体により、食品加工を行なうシステム開発に携わってきた¹⁷⁻¹⁸⁾。この加熱媒体は高圧の水蒸気と熱水をノズルから噴射することにより生成され、アクアガスという名で商標登録されている。このアクアガスを流動層造粒におけるバインダとして使用したところ、液体バインダを使用する方法と比較して、少ないバインダ添加量で顆粒が形成され、更に水蒸気をバインダとして使用する方法と比較して、粗大粒の発生が抑制され、均一な顆粒が形成されることが判明した。本稿ではアクアガス技術について、またアクアガスを用いた流動層造粒についての研究成果について紹介する。

1. 過熱水蒸気について

アクアガスとは 115 ～ 120℃ の過熱水蒸気中に、約 100℃ の微細な熱水滴を分散させた加熱媒体であるが、まずそのベースとなっている過熱水蒸気について紹介する。過熱水蒸気とは水の沸点（大気圧下では約 100℃）以上の温度の水蒸気を指す（図 1）。水を加熱すると約 100℃ で沸騰し飽和水蒸気が発生する。この飽和水蒸気をさらに加熱すると過熱水蒸気を得られる。過熱水蒸気の特徴としてまず挙げられるのが高い熱伝達性であるが、これは水蒸気の凝縮伝熱と放射伝熱による。水蒸気で食品の加熱を行うと、はじめに食品表面において水蒸気の凝縮が起きるが、このときに水蒸気から放出される大量の凝縮潜熱が食品に伝わるため、食品表面の

温度は急速に上昇する。水蒸気の凝縮潜熱は大気圧下では $2256 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ とされており、水の比熱 $4.2 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ と比較するとその大きさが分かる。

また過熱水蒸気の特徴として、その乾燥特性が挙げられる。過熱水蒸気中に食品を投入すると、前述したようにまず食品表面は凝縮水により覆われ濡れた状態になる。しかしながら水蒸気により食品が加熱されその温度が上昇してくると、食品への水蒸気の凝縮は止まり逆に食品から水分が蒸発するようになり、やがて食品は乾燥する。これは食品の温度が低い状態では食品表面から内部へ大量の熱が伝達されるため、水蒸気からの対流と輻射による熱伝達を補う形で凝縮伝熱が起こるが、食品の温度が高くなると食品表面から内部への熱伝達は小さくなり、水蒸気から対流と輻射で食品に伝達された熱が食品の水分蒸発に使用されるようになるためである¹⁹⁾。

過熱水蒸気の食品加工特性はその温度域によって変化する。調理器具の構造によっても異なるが 100℃ 付近では飽和水蒸気と似た食品加工特性を示し、120℃ 程度になると蒸す状態と

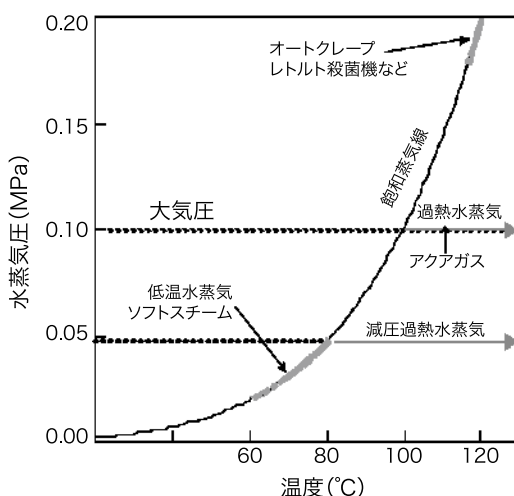


図 1 飽和水蒸気圧曲線と水蒸気を利用した様々な食品加工方法

焼く状態の中間的な加工特性となり、おおよそ150℃以上になると“焼き調理”的な加工特性を示すようになる。また過熱水蒸気には低酸素雰囲気での加熱や乾燥が行なえるという特徴がある。これは、オーブンや乾燥機内部の空気が水蒸気で置換されるためであるが、特に脂質を多く含む食品の調理においては、加熱中の脂質の酸化を抑制できるという利点がある。また近年では、減圧下における低い温度の過熱水蒸気を利用した食品素材の乾燥に関する研究も盛んに行なわれており²⁰⁾、新たな乾燥方法として注目されている。

2. アクアガスについて

2-1. アクアガス開発の背景

アクアガスは当初、農産物のブランチング処理のために開発された²¹⁾。ブランチングとは、野菜などを冷凍あるいは冷蔵保存する際に、野菜自身が持っている酵素や微生物の働きにより品質が変化することを防ぐため、加熱により酵素の失活や殺菌を行う操作を指す。ブランチングは従来、主に茹で処理により行われてきたが、茹でる際の食材の吸水や食材から湯への成分の溶出、大量に出る煮汁の処理などの解決が求められてきた。過熱水蒸気を用いることによりこれらの問題は解決することが、既往の研究より明らかになっていたが、エネルギー効率や食材の乾燥などの問題が新たに発生していた。これに対して、過熱水蒸気と微細水滴を併用して、食材の水分を調製しながら加熱しようとするのがアクアガスの考え方である。

2-2. アクアガス発生装置・加熱装置

次にアクアガスの発生方法について紹介する。図2にアクアガス発生装置の概略図を示す。アクアガス発生装置は主に、水を通すための細管と、その細管を加熱するためのヒータ、

あるいはスチームジャケットからなる。アクアガスは、細管の一端からポンプで水を圧送し、細管内で加熱され沸騰した水と水蒸気を細管の他端に接続されたノズルから噴射することにより発生させる。ノズル内の水蒸気圧は、使用条件により異なるが0.2～0.4 MPa程度に制御されノズル内温度は設定圧力における飽和温度となる。ノズル内の飽和水蒸気は、等エンタルピ的に（断熱的に）膨張し加熱チャンバ内に供給されることにより過熱水蒸気となる。熱水はノズルから噴出する水蒸気により微粒化されて、過熱水蒸気中に分散される。微細水滴は過熱水蒸気の熱を奪い蒸発するので、加熱チャンバ内に別途設置されたヒータにて過熱水蒸気温度を維持しながら連続的に微細水滴を噴霧することにより過熱水蒸気と水滴が混在した状態を維持することできる。またアクアガス発生装置への水の供給速度とノズル内圧を制御することにより、アクアガスの水蒸気と水滴の比率を制御することが可能である²²⁾。アクアガス発生装置は図3に示すバッチ式のオーブンや、連続式のトンネルオーブンに取り付けられて、オーブンの加熱室内にアクアガスを供給する。またアクアガス発生装置は、後述するように造粒機に接続して粉末に水蒸気と水滴を噴霧するなど、様々な方法で使うことが可能である。

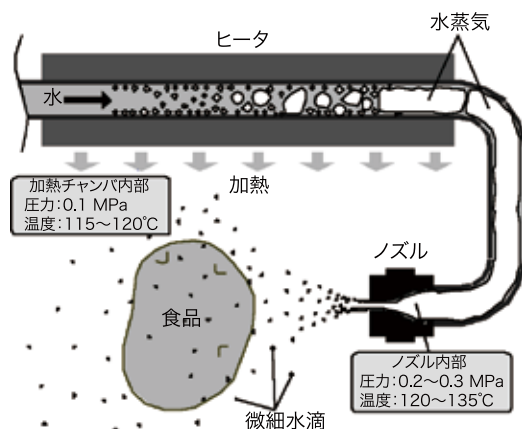


図2 アクアガス発生装置の概略図



図3 バッチ式アクアガスオーブン
(AQ-25G-SD5, 株式会社タイヨー製作所)

2-3. アクアガスの食品加工特性

図4はアクアガス（気相 115℃）、過熱水蒸気（115℃）、および熱水（100℃）で 70～80 g のジャガイモ（ホール）をブランチングした際のジャガイモの質量変化を示している¹⁸⁾。熱水を用いた場合、ジャガイモが吸水するため質量は増加し、更にジャガイモ乾物質量の 1% 以上は可溶性固形成分として熱水へ溶出した。一方、過熱水蒸気を用いた場合、加熱初期においては水蒸気のジャガイモへの凝縮が起こり、凝縮水をジャガイモが吸収することにより質量は増加した。しかしジャガイモの温度が上昇するとジャガイモは乾燥し始め、質量が減少した。この質量変化は前述のとおり過熱水蒸気による加熱あるいは乾燥において観察される現象であり、反転過程と呼ばれている。アクアガスを用いた場合においても過熱水蒸気を用いた場合と同様に、加熱初期には水蒸気のジャガイモへの凝縮が起こりジャガイモ質量は増加したが、ジャガイモの温度が上昇した後はジャガイモ質量に変化はみられなかった。アクアガス加熱においてはジャガイモの吸水、成分溶出、乾燥は抑制され、またそれに伴うジャガイモのテクスチャーや色調といった品質の変化も抑制され

た。その他ジャガイモ以外にも、ダイコン、ニンジン、エダマメ、サトイモ、ブロッコリなどで、アクアガスにより高品質なブランチングが行える事が確認されている^{23, 24)}。

図5は円柱状に成形したジャガイモをアクアガスと過熱水蒸気で加熱した際のジャガイモ芯温と到達温度（100℃）の差を示している¹⁸⁾。アクアガス発生装置は水滴流量をゼロにすることにより過熱水蒸気を発生させることも可能で

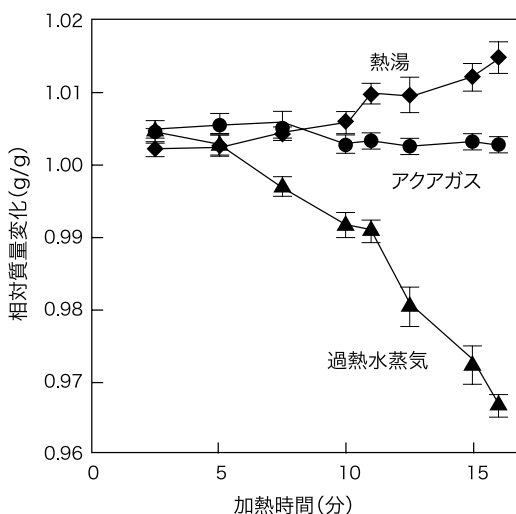


図4 各種加熱によるジャガイモの質量変化

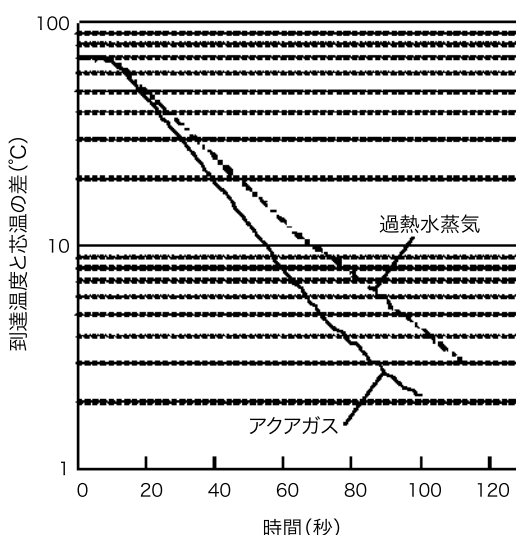


図5 アクアガスおよび過熱水蒸気の加熱効率

あるが、この試験ではアクアガスおよび過熱水蒸気共に同一の装置を使用しており、過熱水蒸気加熱では 115℃で毎時 3.00 kg の過熱水蒸気をジャガイモに噴射している。アクアガス加熱においては 115℃で毎時 2.46 kg の過熱水蒸気と毎時 0.54 kg の熱水滴を噴射している。図 5 は線の傾きが大きいほど、ジャガイモの温度上昇が早いことを示しており、アクアガスが高い熱伝達効率を示していることが見て取れる。この条件ではアクアガスの持つエネルギーは過熱水蒸気より低いにもかかわらず、高い熱伝達性を示している。これは微細水滴が食材表面に衝突する際に、過熱水蒸気の凝縮により表面に食材表面に形成された水の層を攪拌し熱伝達を促進していること、あるいは水滴が食材表面の水蒸気の温度境界層を攪拌していること等が理由として考えられる。アクアガスの高い熱伝達特性の活用方法として、生の風味や歯ごたえを残した野菜の表面加熱殺菌処理が挙げられる。アクアガスの噴射条件を調整することにより、キュウリ、キャベツなどについて 10 ～ 30 秒のアクアガス処理により一般生菌を 99.9 ～ 99.999% 死滅させ、大腸菌群が陰性となる事が確認されている。

以上、加熱調理用の加熱媒体としてのアクアガスについて紹介した。アクアガスは近年、食品メーカーにおいて、惣菜や冷凍食品の調理加工ラインへの導入が進んでいる。また、病院などにおける給食施設などで導入が進められており、生野菜など菌数の多い食事を摂取することにより、日和見感染の恐れがあるような抵抗力が弱くなっている患者に対して、生の食感に近い野菜類を提供することにより、患者の生活の質 (QOL) を向上させようとする試みもなされている。

3. 気液二相バイнда (アクアガスバイнда) による造粒技術

3-1. アクアガスバイндаによる造粒装置

アクアガスは水蒸気と微細水滴から構成されるが、アクアガスを粉末に噴霧することにより、水蒸気を粉末に凝縮させ、さらに凝縮水と微細水滴により粉末粒子を架橋し、造粒を行おうとするのが水蒸気 - 水の気液二相バイнда (アクアガスバイнда) の考え方である²⁵⁾。もっとも、バイндаとして水蒸気のみを粉末に噴霧する方法がより合理的に思われるかもしれない。実際に水蒸気のみをバイндаとして流動層造粒を行ってみると、粉末の含水率をそれほど上げずに顆粒が生成され、より効率の良い造粒が可能ではあることがわかる。しかしながら、水蒸気のみをバイндаとした場合、顆粒径の制御が難しくばらつきが大きくなり、また粗大粒が発生しやすくなる。水蒸気と水滴を適宜混合して噴霧することにより、比較的均一な径の顆粒が少量の加水量で生成される。

アクアガスをバイндаとして用いる流動層造粒機の概略を図 6 に示す。アクアガスを流動層造粒におけるバイндаとして用いる場合には、

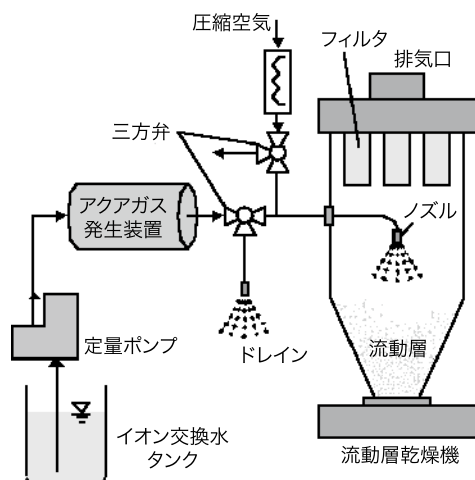


図 6 アクアガスバイндаによる流動層造粒装置

造粒容器内には通常用いられる二流体ノズルに代わり一流体ノズルを設置して、アクアガス発生装置から供給される水蒸気と熱水をノズルに送り込み粉末に噴霧する。またアクアガス発生装置は、起動してから所定温度のバインダを供給するまでに数十秒～数分の時間を要することから、造粒工程開始前に起動しておく必要がある。造粒工程を開始するまでは、供給されたバインダを造粒容器外に排出し、造粒工程開始時にバインダ流路を三方弁にて切り替えてバインダを造粒容器内に導入する。アクアガスの噴霧においては、ノズル内圧によって水蒸気と水滴の比率が決まるため、ノズル内圧は極力、一定に保つことが望ましい。そのためバインダ流路切り替え時における流路内の圧力変動を防ぐ目的で、バインダ排出経路の先端には造粒容器内に設置されたノズルと同型番のノズルが取り付けられている。造粒以外の工程では、粉末によるノズルの詰まりを防ぐため、ノズルから空気を噴射する。またその際に、三方弁からノズルまでの流路の温度が低下すると、バインダ噴霧開始時に流路内で水蒸気の凝縮が起こり、正常なバインダ供給の妨げになる。これを防ぐため、ノズルから噴射される空気はヒータにて加熱されている。

ところで、アクアガスを流動層造粒機内部に噴霧すると、流動層が極めて高温になるのではないかとされるかもしれない。オープンなどにアクアガスを供給する場合は、断熱された準密閉の加熱室に水蒸気を噴霧することから、水蒸気の持つエネルギーはおおよそ保存されて、加熱室内は高温になり過熱水蒸気で満たされる。しかしながら造粒容器内にアクアガスを供給する場合は、流動用の気流が常に容器内に供給され、またフィルタを通して排出されることから、容器内部が過熱水蒸気で満たされることはない。容器に供給される気流温度が80℃で、容器内に含水率が10～20% w.b.の食品粉末が仕

込まれている場合、アクアガスバインダを造粒容器に供給した場合でも、容器からの排気温度は30～40℃程度である。

3-2. アクアガスバインダによるデンプンの造粒

流動層造粒において多糖類水溶液などの液体バインダを使用する場合、バインダをゆっくり加えるか、すばやく加えるかによって、形成される顆粒の粒度分布や形状などが異なってくる。バインダをゆっくり加えるとサイズのそろった顆粒が形成されるが、造粒に時間を要する。逆にバインダをすばやく加えると、造粒は効率よく進行し、使用するバインダ量も少なくなるが、顆粒のサイズバラツキが出てくる。このようにバインダ添加速度によって、形成される顆粒の状態に差ができる理由としては、造粒中の流動層含水率の変化の仕方によるものと考えられる²⁶⁾。そこで、アクアガスバインダと多糖類水溶液バインダによる造粒時の、流動層含水率の変化を同等にするための予備試験として、次のようにそれぞれのバインダにおける様々な添加速度における流動層含水率変化を比較した。

図7に多糖類水溶液とアクアガスバインダを用いてコーンスターチの流動層造粒を行った際の流動層含水率変化の数例を示す。粉末原料はコーンスターチ800gとデキストリン200gを混合したものであり、多糖類水溶液バインダは10～40 g/minで噴霧し、アクアガスバインダでは水蒸気を18.8 g/min、水滴を約0～40 g/minで噴霧している。時間あたりバインダ供給量が少ない条件では含水率は上に凸のカーブを描いて上昇していき、時間あたりバインダ供給量が多い条件では含水率は直線的に上昇していく。これは、流動層内部ではバインダ供給による粉末の湿潤、粉末に強く吸着された水分の蒸発、粉末に付着していない水滴の蒸発や粉末に

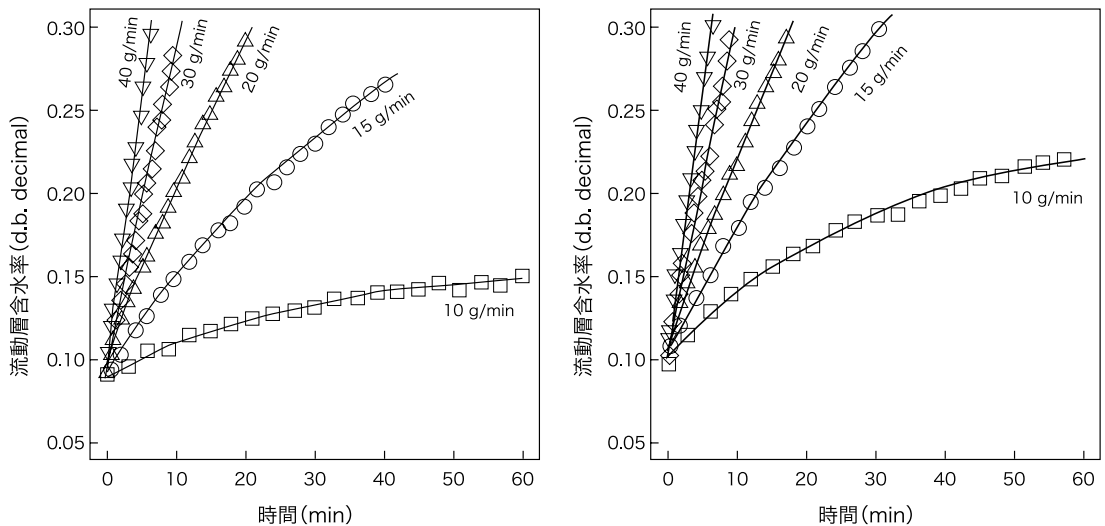


図7 造粒中の流動層含水率変化

(左：多糖類水溶液バインダ，右：アクアガスバインダ，アクアガスバインダにおける流量は水滴流量を表す)

弱く吸着された水分の蒸発などが同時に起きているためである。バインダ供給量が少ない条件では、流動層に供給された温風によって粉末に強く吸着された水分の蒸発が起こるため、減率乾燥的な現象が起こり、含水率変化は曲線的になる。一方でバインダ供給量が増えると、流動層に供給された温風のエネルギーがバインダ液滴の蒸発に使われてしまうため粉末からの水分蒸発は起こらず、流動層の含水率変化は直線的になる。

多糖類水溶液バインダとアクアガスバインダを使用した場合の流動層含水率変化を比較すると、同じ水滴流量でもアクアガスバインダを使用した場合の方が、流動層含水率の上昇が大きいことが分かる。両者を詳しく分析すると、アクアガスバインダでは供給された 18.8 g/min の水蒸気のうち約 2.5 g/min が粉末に凝縮しており、噴霧された水滴のうち約 3.7% が多糖類水溶液バインダより多く蒸発していることが分かった。アクアガスバインダで水滴が多めに蒸発するのは、ノズルから噴霧される直前まで液滴の温度は 100℃ 以上であり、ノズルから噴霧された直後に過熱状態となるからである。

図8はバインダ添加量に対する顆粒の成長を示している。ここでは多糖類水溶液バインダを 10 g/min で添加している例と、アクアガスバインダを水蒸気 18.8 g/min+ 水滴 7.8 g/min で添加している例を比較しているが、アクアガスバインダの水蒸気の粉末への凝縮とアクアガスの水滴の蒸発を加味すると、両バインダによる造粒中の流動層含水率は同じように変化する。なお図8におけるアクアガスバインダの添加量は、水滴の添

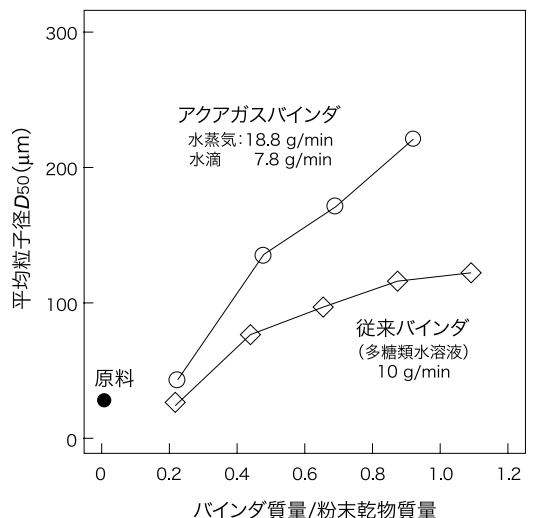


図8 バインダ添加割合に対する顆粒径の変化

加量 + 水蒸気凝縮量としてある。バインダ添加量に対する顆粒の成長について両バインダを比較すると、アクアガスバインダを用いた方が、少ないバインダ（水分）添加量で顆粒が成長していることがわかる。図 8 の条件では多糖類水溶液バインダを使用した場合と同等径の顆粒を生成するために必要なバインダ添加量は、アクアガスバインダでは約 60% 削減されている。しかしながら、水蒸気に対する水滴の比率を増やしていくと、このバインダ削減効果は弱くなり、水蒸気 18.8 g/min に対して水滴を約 39 g/min まで増やしたところ、バインダ削減割合は 16% まで低下した。したがって、バインダ添加量を削減するためには水蒸気に対する水滴の比率が低い方が良いということになる。一方、アクアガスバインダの水蒸気に対する水滴の比率を減らしていくと、生成される顆粒の粒度分布にばらつきが大きくなることが判明した。水蒸気のみをバインダとした場合に、少ないバインダ添加量で顆粒が生成するものの、顆粒径のばらつきが大きく粗大粒が大量に発生することをこの章の冒頭で述べたが、アクアガスバインダにおいても水蒸気に対する水滴の割合が少なくなると、水蒸気バインダと似たような性質を示すことがわかった。したがってアクアガスバインダを使用する場合は、必要となる顆粒の均一性とバインダ削減効果のバランスを考えて、水蒸気と水滴の比率を調整する必要があるといえる。

3-3. 顆粒成長メカニズム

以上に述べたような、アクアガスや水蒸気をバインダとして使用した場合の顆粒成長メカニズムについては以下のような仮説が考えられる。まず、水溶液などをバインダとして噴霧する場合は、粒子表面が水和していないような含水率では、液滴と 2 つ以上の粒子が衝突することにより顆粒が成長すると考えられる。したがって、顆粒の成長は粒子と液滴の衝突確率に

支配されると考えられる。それに対して水蒸気をバインダとして噴霧する場合は、粉末表面が凝縮水で均一に覆われることから、2 つ以上の粒子が衝突した際に比較的容易に顆粒が形成されて、粉に供給された水分が効率良く粒子の結着に利用されていると考えられる。

しかしながら、水蒸気バインダには大きな粒子ほど優先的に成長させるという性質がみられ、水蒸気バインダで造粒を続けると粗大粒が発生する一方で、未造粒の粉末も残る。この原因としては、水分を多く含んだ成長核は流動層中で温度が低下しやすく、水蒸気が凝縮しやすいため成長核が優先的に成長するという理由が考えられる。あるいは、水蒸気が凝縮して粒子表面が均一に濡れる場合、粒子の衝突が直ちに顆粒の成長につながるため、他の粒子との衝突確率の大きい成長核が、優先的に大きくなるという理由が考えられる。アクアガスバインダを用いる場合は水蒸気とともに噴霧される微細水滴が、連続的に多数の成長核を生成するため、顆粒径が比較的均一になり、また微細水滴によって生成された成長核が水蒸気の凝縮により効率的に成長すると考えられる。アクアガスバインダを使用した場合でも水滴量が少ない条件においては、成長核が不足することにより顆粒径のばらつきが大きくなったと考えられる。

おわりに

過熱水蒸気と微細な熱水滴を組み合わせた加熱システムであるアクアガスによる食品加工と、その粉末食品の造粒への応用について紹介した。アクアガスバインダによる造粒技術については、供給する水蒸気の温度や流量、使用するノズルなど未検討な課題も数多く残されている。今後これらの課題に取り組み、更なる造粒効率の向上を図ると同時に、前章の最後に述べたアクアガスバインダによる造粒メカニズムについての仮説の検証を進めていく予定である。

食品製造の現場においては、一層の製造コストカットと製品の高品質化が求められており、これらの難題を解決すべく常に新しい技術が模索

され続けているが、アクアガス技術がそのような問題解決の一助になるよう、今後も技術開発を進めていきたい。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Schubert H.: Instantization of powdered food products. *Int. Chem. Eng.* **33**(1): 28-45, 1993.
- 2) Härkönen H., Koskinen M., Linko P. *et al.*: Granulation of enzyme powders in a fluidized bed spray granulator. *LWT - Food Sci. Technol.* **26**(3): 235 -241, 1993.
- 3) Schuchmann H.: Production of instant foods by jet agglomeration. *Food Control* **6**(2): 95-100, 1995.
- 4) Dacanal G. C., Menegalli F. C.: Selection of operational parameters for the production of instant soy protein isolate by pulsed fluid bed agglomeration. *Powder Technol.* **203**(3): 565-573, 2010.
- 5) Pathare P. B., Byrne E. P.: Application of wet granulation processes for granola breakfast cereal production. *Food Eng. Rev.* **3**(3-4): 189-201, 2011.
- 6) Jinapong N., Supphantharika M., Jannong P.: Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.* **84**(2): 194-205, 2008.
- 7) Teunou E., Fitzpatrick J. J., Synnott E. C.: Characterisation of food powder flowability. *J. Food Eng.* **39**(1): 31-37, 1999.
- 8) 五月女 格, 津田 升子, 岡部 繭子 他: 粉碎方法および粒子径が米粉の Carr の流動性指数および噴流性指数に与える影響. 日本食品工学会誌, **10**(2): 95-106, 2009.
- 9) Seo A., Holm P., Schaefer T.: Effects of droplet size and type of binder on the agglomerate growth mechanisms by melt agglomeration in a fluidised bed. *Eur. J. Pharm. Sci.* **16**(3): 95-105, 2002.
- 10) Tan H. S., Salman A. D., Hounslow M. J.: Kinetics of fluidised bed melt granulation I: The effect of process variables. *Chem. Eng. Sci.* **61**(5): 1585-1601, 2006.
- 11) 武林 敬: 造粒の基本の基. 日本油化学会誌, **48**(9): 861-869, 1999.
- 12) Hogekamp S., Schubert H., Wolf S.: Steam jet agglomeration of water soluble material. *Powder Technol.* **86**(1): 49-57, 1996.
- 13) Hogekamp S.: Steam jet agglomeration - Part 1: Production of redispersible agglomerates by steam jet agglomeration. *Chem. Eng. Technol.* **22**(5): 421-424, 1999.
- 14) Hogekamp S.: Steam-jet agglomeration - Part 2: Modeling agglomerate growth in a modified steam-jet agglomerator. *Chem. Eng. Technol.* **22**(6): 485-490, 1999.
- 15) Martins P. C., Kieckbusch T. G.: Influence of a lipid phase on steam jet agglomeration of maltodextrin powders. *Powder Technol.* **185**(3): 258-266, 2008.
- 16) Vissotto F. Z., Jorge L. C., Makita G. T. *et al.*: Influence of the process parameters and sugar granulometry on cocoa beverage powder steam agglomeration. *J. Food Eng.*, **97**(3): 283-291, 2010.
- 17) Sotome I., Ogasawara Y., Nadachi Y. *et al.*: Measurement of steam/water ratio in the nozzle jet of an oven system using superheated steam and hot water spray. *Jpn J. Food. Eng.* **10**(3): 163-173, 2009.
- 18) Sotome I., Takenaka M., Koseki S. *et al.*: Blanching of potato with superheated steam and hot water spray. *LWT-Food Sci. Technol.* **42**(6): 1034-1040, 2009.
- 19) 伊與田 浩志, 西村 伸也, 野邑 奉弘: 過熱水蒸気乾燥における凝縮から蒸発への反転過程 (球および無限平板の一次元熱伝導モデルによる反転過程の簡易推算法). 日本機化学会論文集 (B 編), **66**(650): 2681-2688, 2000.
- 20) Tatemoto Y., Yano S., Takeshita T. *et al.*: Effect of fluidizing particle on drying characteristics of porous materials in superheated steam fluidized bed under reduced pressure. *Drying Technol.* **26**(2): 168-175, 2008.
- 21) 五十部 誠一郎, 小笠原 幸雄, 根岸 由紀子 他: アクアガス (微細水滴含有過熱水蒸気) システムの開発と農産加工への応用. 日本食品科学工学会誌, **58**(8): 351-358, 2011.

- 22) 五月女 格：微細水滴含有過熱水蒸気による食品加熱システムの開発と農産加工への応用．冷凍，**88**(1031): 624-627, 2013.
- 23) 殿塚 婦美子, 長田 早苗, 谷 武子 他：アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研究 (第1報)．日本食生活学会誌，**16**(3): 242-248, 2005.
- 24) 長田 早苗：アクアガス加熱の調理加工特性に関する研究．日本食生活学会誌 **22**(3): 175-188, 2011.
- 25) 五月女 格, 井上 孝司, 片桐 孝夫 他：水蒸気-水二相バイндаによる流動層造粒における加水量削減技術の開発．日本食品工学会誌，**15**(1): 25-35, 2014.
- 26) 五月女 格, 井上 孝司, 片桐 孝夫 他：トウモロコシ澱粉の流動層造粒工程の解析 - バイнда供給速度および噴霧圧が流動層含水率および顆粒の成長に及ぼす影響 - ．日本食品工学会誌，**13**(4): 127-136, 2012.

白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸
カルシウム
とは？

古くから食品に使用されている
安全性・吸収性に優れたカル
シウム源です。
用途も栄養強化はもちろんの
こと、練製品の弾力増強など
の品質改良、粉体の流動性
向上・固結防止といった加工
助剤などその目的は多彩です。

分散性・混合性に優れたものや、飲料用として
沈澱を抑制したタイプ等、品揃えております。

一般の栄養強化には、「ホワイトン」

機能を求めるならば、「コロカルソ」

飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」

詳細につきましては、弊社営業担当に
お気軽にお尋ね下さい。

 白石カルシウム株式会社

食品部：東京都千代田区岩本町 1-1-8 TEL. 03-3863-8913
本 社：大 阪 市 北 区 同 心 2-10-5 TEL. 06-6358-1181

寒締め（冬期低温処理）による ホウレンソウの品質成分向上

青木 和彦 (AOKI Kazuhiko) *

* 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター

Key Words：ホウレンソウ・寒締め栽培・糖・ビタミンC・シュウ酸・硝酸・美味しさ・差別化

はじめに

近年、健康志向の高まりから野菜を積極的に食生活に取り入れる動きが進み、その栄養・機能性成分にも注目が集まっている。

栽培技術の進歩や、冷蔵輸送（コールドチェーン）など流通関連技術の発達により、現在スーパーなどの店頭には季節に関係なく常時、多種多様な野菜が並ぶようになった。本来夏の野菜であるトマトやキュウリですら、冬の間も普通に市場に出回り売り場に並び、年中サラダが食べられる。これらの技術は便利で豊かな食生活を支える反面、野菜の季節感すなわち「旬」をなくしてしまった。そして、昔食べた「おいしい野菜」が今は食べられなくなった、ともいわれる。

実際に、食品成分表では昔（四訂以前）に比べ現在（五訂以降）では野菜のビタミン・ミネラル含量の減少が見られる。さらに旬を外れることでビタミンなど品質成分が低下することも明らかであり、ホウレンソウでは（ビタミンCのみではあるが）夏採りの場合と冬採りの場合、それぞれの数値が備考欄に掲載されるようになった。

だがこうした野菜の品質成分は、これまで生産現場において顧みられることは少なかった。栽培管理の目標は効率よく出荷するために収量確保が最優先となり、品質としては単に虫食いなどなく外観のきれいなものが求められるようになっていたのである。また輸送に使うダンボールやコンテナへの箱詰めのため野菜のサイズが規格化され、合わないものは排除されることになった。そのため形や生育を揃えやすい品種が使われるようになり、各地固有の特色ある野菜は姿を消してしまった。その結果、全国どここの産地の野菜も均一化され、並べてもほとんど区別のつかない同じ物ばかりになってしまったのである。

生産者である農家から見れば、野菜の栽培や出荷作業が効率化するメリットはあった。しかし全国で同じように生産出荷体制が整い、高速道路網を駆使した広域の流通も普及した結果、産地間競争が激しくなってしまう供給過剰となって価格がたびたび下落するなど、むしろ経営は厳しい状況におかれるようになってしまった。また山あいなどで生産規模が小さい地域や、大消費地から離れている産地などは、輸送

コストなどの面でどうしても不利になってしまふ。さらには海外からより価格の安い輸入野菜も大量に入ってくるようになったことで、状況は年々悪化している。

一方、こうした状況のなかで消費者からは、より安全でおいしく栄養の高い野菜が求められるようになってきた。一部の輸入野菜や冷凍食品に残留農薬などの問題が発覚し不安が広がった一方で、高糖度トマトや有機栽培野菜など、より高値であっても品質の高い野菜が注目され需要が高まってきている。このような付加価値の高い野菜を生産することは、農家からみても収入の増加や経営の安定につながるため関心が高まっており、各地で高品質な野菜の生産および栽培技術の改良への取り組みが進められている。

1. 寒締めハウレンソウの誕生

一般になじみ深い野菜の一つであるハウレンソウ、その旬は元々冬であった。しかし周年を通した流通の要望に答えるため、夏は高温多湿を避け冷涼地で栽培するとともに、冬にはビニルハウスなどを用い保温して栽培することで、より短期間に効率よく出荷することが普通になっている。

このため北東北などの元々冷涼な地域では夏作ハウレンソウの栽培が盛んになったものの、一方で寒さが厳しい冬期間には、温暖な他地域から大量に流通してくるものに価格で太刀打ちすることができなくなってしまった。結果としてこれらの地域は夏にはハウレンソウをはじめとした野菜の一大供給産地であるのに関わらず、冬には地元スーパーにおいてですら遠く運ばれてきた他所の野菜だけが店頭に並ぶという皮肉な状況になっていた。

そうした中、東北農業試験場（現在の農研機構東北農業研究センター・岩手県盛岡市）で冬作のハウレンソウや菜っ葉類について試験研究

が進められていた。当初は冬の寒さをいかに克服するか、そのためにハウス内でどのように低コストで効率よく保温して育てるか、という目標で技術が検討されていた。燃料などに頼ることなく生育を促進するため、新しい素材として不織布を活用しこれをハウレンソウにかぶせることで保温性を高める、などといった栽培手法の開発・改良が進められていった。

ところが平成5年の冬、そうやって育てたハウレンソウに寒さを当ててしまうという、突拍子のない試みが行われた。当時研究室長であった加藤忠司博士のアイディアである。寒い時期にハウレンソウは甘くおいしくなる、昔は当然だったが今は忘れられてしまった生活の知恵が元になっている。

はじめから寒さに当てたのではハウレンソウは伸びてくれず収穫すらできない。そこで最初はハウスを閉めて保温し育てる。そして十分なサイズになったところでハウスを開放し、外の寒さを入れる（写真1）。実際の作業はこれだけである。ハウレンソウは元々低温に強い野菜で、寒さに当たっても簡単には枯れることがない。

低温条件の下でハウレンソウは伸びが止まった。しかし生命活動を続けている証拠に、乾物重はしっかりと増えていった（図1上）。また日数がたつにつれ、葉の色が濃くなりずんぐりとした姿に変わってきた。暖かい時期にはハウ



写真1 寒締めハウス外観

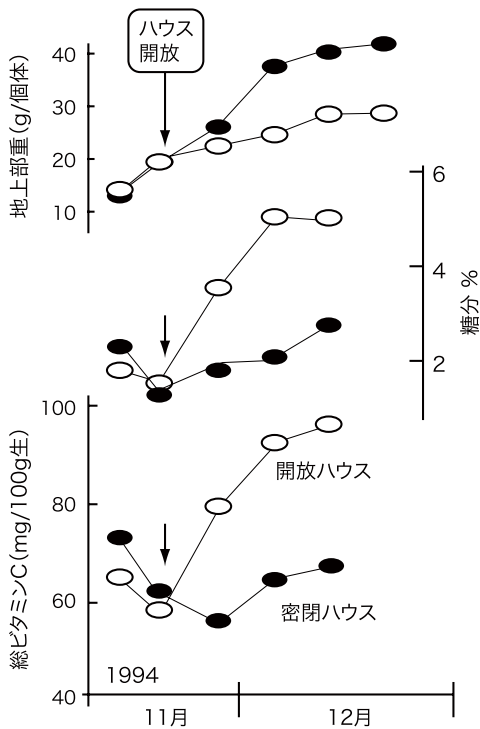


図1 寒締めによるハウレンソウの成分変化 (加藤 1994)



写真2 寒締めハウレンソウ

レンソウはスマートな形をしているが、寒さに耐えるため地面の近くに葉を寝かせる形となるのである。より寒いときには地面に張り付くような姿にまで変化した (写真2)。見た目は冬場に道路の隅で見られるタンポポに似ている。このため、「タンポポハウレンソウ」とよぶ人もあった。このハウレンソウを収穫し食べてみると、期待した通り甘くておいしくなっていた。

試食した多くの人たちにも好評で「昔食べたハウレンソウの味がする」との声も上がり、さらに研究を進めることとなった。

逆転の発想が生んだ、これまで厄介者だった冬の寒さを活用する新しい栽培方法の誕生である。「寒さ」で「締める」ことから「寒締め (かんじめ)」と名付けられた。

2. 寒締めによる糖・ビタミン類の増加

寒さを与えることで甘くおいしくなったハウレンソウ。その糖分を測定してみると、寒さを掛けなかったハウレンソウに比べ最大で1.5～2倍近く含量が増えていることが分かった (図1中)。さらに詳しく分析してみると糖の中でもショ糖 (スクロース) が大きく増加しており (図2)、温度が低くなるほど増加していることも明らかとなった (図3)。当初は、低温下でハウレンソウの水分が低下したことから単純に濃縮されたのではと思われたが、実際には乾物重当たりの糖含量も大きく増加していることが

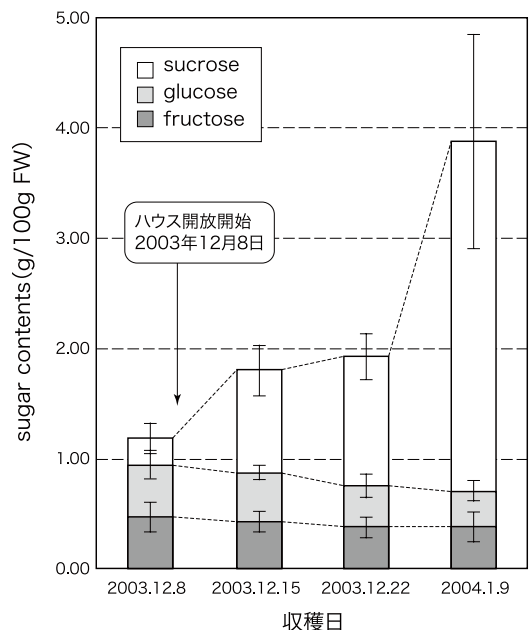


図2 寒締め後の糖の増加

明らかとなった。すなわちハウレンソウは積極的に体内に糖を増やして蓄積していたのである。

なぜ糖含量を増加させたのか、その理由としては低温で凍ってダメージを受けるのを防ぐため、体内の浸透圧を高めるのに用いているのだと考えられている。アイスクャンディーがただの水より凍りにくいことや、車の不凍液にも使われている凝固点降下の原理である。これはハウレンソウに限らず低温に耐える植物すべてに備わっている能力であり、昔から知られ活用されてきた現象でもある。たとえばメープルシロップは、サトウカエデの樹液が冬に糖度の高まることを利用して作られている。ちなみに二糖類であるショ糖は、単糖類であるブドウ糖や果糖などに比べ他の物質と反応することが少なく体内で安定な糖である。このため、サトウキビやテンサイ（サトウダイコン）などが代表するように植物が貯めることの多い糖である。

また糖だけでなくビタミン類も寒締めで増加することも明らかとなった（図1下）。特にビタミンCの増加が最も大きかったが、ビタミンE、ベータカロテンの増加も認められた。これらビタミン類は有害な活性酸素などの消去や光合成を助ける抗酸化物質として植物体内で大きな役割を果たしている。寒締めで寒さにあたっている間もハウレン

ソウは光合成を行い生命活動を維持している。低温などのストレスによって有害な過酸化物質が発生しダメージを与えるが、ビタミン類の増加はこの消去・克服と密接に関連していると考えられる（図4）。

ちなみに氷室・雪室などを用いた低温貯蔵により、米やソバなど穀物の品質が高まることがすでに知られている。野菜においても雪の下でニンジン、大根、キャベツなどの糖度が高まり

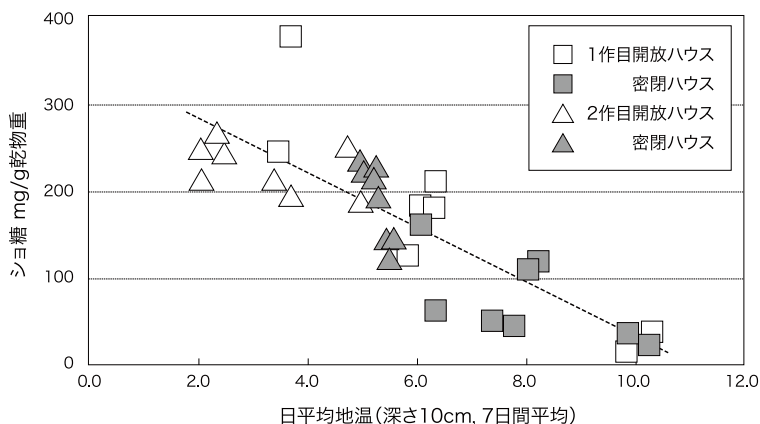


図3 地温と地上部ショ糖含量との関係
(盛岡市、収穫日：2003年12月～2004年2月)

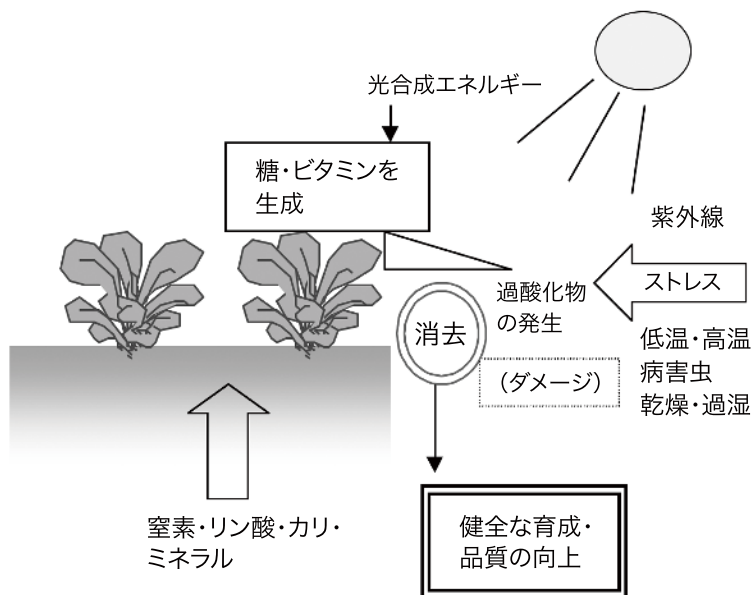


図4 糖・ビタミンを増やして低温ストレスを克服する

食味がよくなるなど、低温を利用した品質向上の取り組みが各地で行われている。

ただし、これらと寒締めが異なるのは、低温に当たっている期間中も栽培が続いており、ホウレンソウは生長を続けていることである。当然のことながら収穫したホウレンソウを低温貯蔵しても品質向上効果は得られず、むしろ貯蔵中に体内の糖やビタミンが消費され、含量は下がる一方となる。これはホウレンソウが光合成を行い栄養生長を続ける葉茎部を利用する野菜であるのに対し、ニンジンや大根、キャベツは貯蔵部位である根部や結球部を利用する野菜であることと関係している。また試験的に遮光しながら寒締めを行ったところ、糖含量の差は小さかったものの、ビタミンCの含量は遮光しなかった区に比べ劣る結果となった(図5)。これらのことから、寒締めで糖含量が増加するのには低温が大きな要因となっているのに対し、ビタミンの増加については光条件、すなわち光合成活動が重要であることが明らかとなった。

ホウレンソウの伸びは日平均気温約4℃くらいで止まるが、これ以下の温度条件で栽培を続けることで糖・ビタミン含量が高まっていくこ

とが分かっている。ただし1～2日程度の処理では効果は見られない。最低1週間、できれば2週間以上寒さに当てることで品質を高めることができる。これは寒さに適応する中で糖分を蓄積し、さらに光合成を続けることでビタミンを増やしていくためである。

またホウレンソウに限らず寒さに強い野菜(コマツナなど)でも同じ効果が得られた。一方で寒さに弱く凍害を受けて傷んでしまう野菜には残念ながら効果が見られなかった。このことから野菜が寒さを克服し、生命を維持する過程で糖・ビタミンを増やし品質を高めていることが分かる。

3. ホウレンソウのシュウ酸・硝酸含量を低減

ホウレンソウには特有のえぐみ成分としてシュウ酸が含まれている。シュウ酸はホウレンソウ体内で生成される有機酸の一種であるが、カルシウムや鉄と結びつき吸収を阻害する性質があり、尿路結石のリスクファクター(危険因子)でもあるため、多量に摂取すると有害な成分とされている。また硝酸は、ホウレンソウに限らず野菜全般に含まれる物質であるが、乳幼児が摂取するとメトヘモグロビン血症(ブルーベビー症)と呼ばれる窒息症状を引き起こすため有害で、EU加盟国では飲料水だけでなく野菜にも上限値が設けられ規制されている。また硝酸が体内で変化した亜硝酸は肉や魚などに含まれるアミンと反応することで、発がん性のあるニトロソ化合物となる危険性も指摘されており、その低減が望まれている。

寒締めにより葉の色が非常に濃くなったことから、えぐみも強くなってしまったのではないかと初め疑われた。また糖・ビタミンが増えたのと同時にシュウ酸・硝酸も増えてしまったのではないかと危惧された。しかし、実際に測定してみるとシュウ酸は糖・ビタミンと異なり大

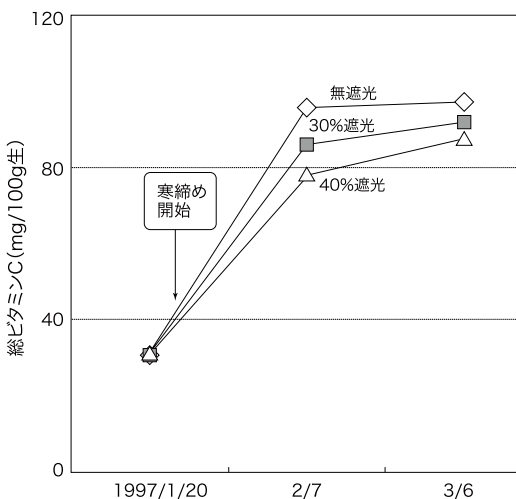


図5 遮光処理によるビタミンC増加への影響
(青木ほか, 1998)

きく増えることはなく、品種や栽培条件にもよるが、より寒い時期にはむしろ低下することも明らかとなった。さらに硝酸含量は収穫時の温度が低いほど低下するという、ちょうど糖の増加と逆の変動をすることが明らかになった(図6,7)。

シュウ酸は糖・ビタミンと異なり、低温下でホウレンソウ体内での生成が抑制されると考えられている。また寒締めに限らず、冬のホウレンソウには葉の表面にザラザラした細かく白い粒が見られることがある(写真3)。残留農薬かと誤解されることもあるが、これはシュウ酸の入った粒で、ホウレンソウ体内から析出したものである。析出のメカニズムについてはまだ不明な点があるが、より寒さに当たったものほど粒が多く見られることから、これによってシュウ酸含量が低下すると考えられる。なおこの粒は洗ったり茹でたりすることで簡単に除かれるので食べる際には全く問題とはならない。

硝酸は野菜に限らず植物にとって体を作る窒素養分・肥料として重要であり、根から吸収し体内に輸送された後、アミノ酸に同化されタンパク質や核酸などの生成に活用される。ところが栽培時に生育促進のため過剰に肥料を施用することで、硝酸含量が高くなってしまうことが問題となって

いる。これは元々植物が自然界で生き延びるため、窒素分を吸収できなくなってしまうことに備えて体内に硝酸を蓄えておく性質を持っているためで、硝酸があればあるほど吸収し、使い切れなかった過剰な分はそのまま細胞内の液胞などに蓄積してしまう。

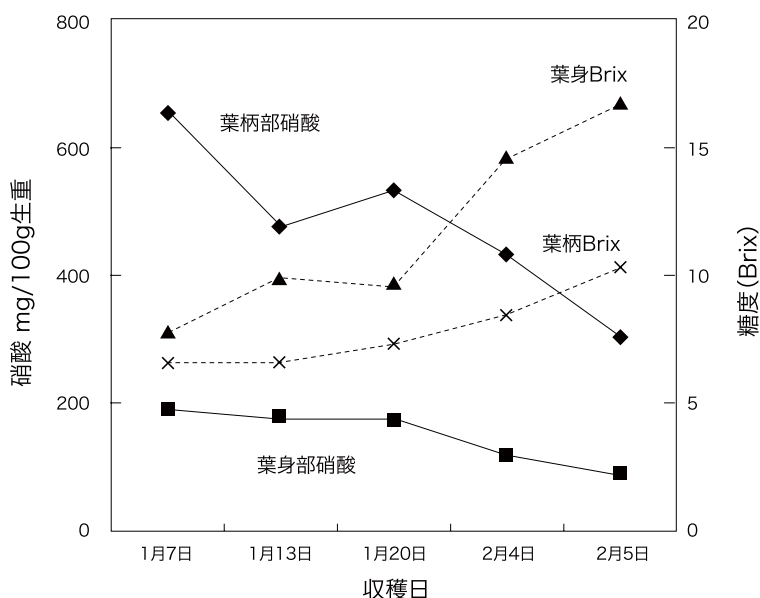


図6 ホウレンソウの部位別硝酸含量と糖度
(2005年、盛岡市、1月7日よりハウス開放)

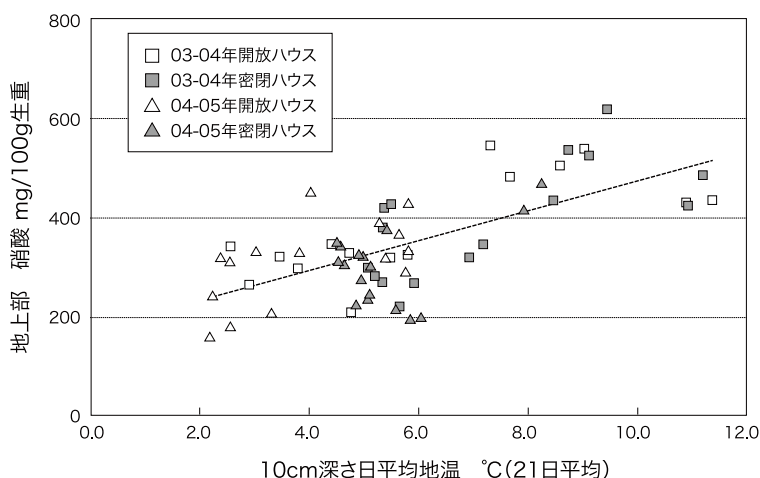


図7 収穫前地温とホウレンソウ地上部硝酸含量との関係
(盛岡市、収穫日: 2003年12月~2004年2月, 2004年12月~2005年2月)
($r=0.673$, 1%水準で有意 $n=64$)

さらにほとんどの野菜で、硝酸が増えると糖・ビタミンは逆に減ってしまうことが分かっている。また特にホウレンソウの場合は、硝酸が増えると同時にシュウ酸も増えてしまうことが明らかになっている。このように、栄養や食味の点からも余分な硝酸を吸収させないことが必要である。

当然のことながら、窒素肥料を減らすことで硝酸含量は下げられるが、減らしすぎると生育が悪くなり葉の色も薄くなるなどの障害が起きる危険がある。またいったん土に与えてしまった肥料や養分を回収することは出来ず、硝酸吸収の人為的なコントロールは難しい。



写真3 ホウレンソウ表面のシュウ酸粒子

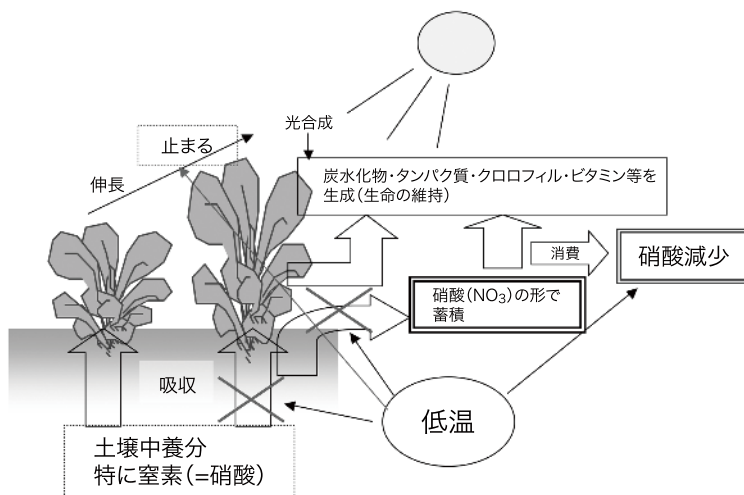


図8 寒締めによる硝酸減少（仮説）

以上のことを踏まえると、寒締めによってホウレンソウの硝酸含量を下げられるのは画期的な栽培技術であるとも言える。そのメカニズム（仮説）は以下の通りである。まず、地温が下がることで根からの養水分吸収が抑えられ、硝酸の吸収量も減る。さらにそのまま低温下で栽培を続けると、体内に蓄積されていた硝酸が光合成など生命活動が続けるために消費されていく。これらの結果、硝酸含量は大きく低下していったと考えられている（図8）。

以上のように、寒締めで有用な糖・ビタミンが増えるのと同時に有害なシュウ酸・硝酸を減らすことが出来、栄養面でより好ましいホウレンソウを生産することが可能である。

4. 寒締め栽培の普及と活用

寒締めホウレンソウは新たな地域特産野菜として注目され、付加価値の高い栽培法として活用されている。寒さを与える前は通常の秋冬作と全く同じに栽培すればよく、最後にハウスの扉を開け裾を上げて外気を入れるだけなので、すでにホウレンソウ栽培に取り組んできた農家にとっては導入しやすい技術である。また特別

な肥料や資材等も原則として不要なため余計なコストがかからない。さらに寒さで病害虫の活動も止まってしまうので、通常の栽培に比べ農薬使用を抑えることができ、手間も掛からずより安全なものを収穫できるメリットもある。なお近年、「寒締め用」品種が種苗会社から売り出されているが、基本的にはどの品種にも適用できる技術なので、栽培地域の環境や用途・要

望に応じて東洋種、西洋種、またサラダ用や加工用など様々な品種を使うことが出来る。

はじめ試験的に北東北（岩手・秋田・青森）で栽培が始まったが、新聞やテレビなど各種メディアでも紹介されて認知度が高まるにつれ、より広い地域に普及が拡大していった。またハウレンソウだけでなくコマツナなど寒さに強い他の野菜でも寒締め栽培が始まり、地域に応じた普及と活用が各地でそれぞれ進められている。

寒締めしたハウレンソウやコマツナなどは通常品より高めの価格で取引されているが、その食味の良さから消費者に好評で需要も高く、流通業者からの引き合いも多い。このため地域ぐるみの取り組みやスーパーなどとの契約栽培も増えてきている。また産直や道の駅の野菜売場で農家が個別に出品していることも多く、「地産地消」（地域生産・地域消費、地域で生産された農産物などをその地域で消費すること）の魅力的な野菜として注目されている（写真4）。

前述の通り、より寒さがかかることでハウレンソウの糖分は増しおいしくなるが、暖冬などの影響で寒さを掛けられなかった場合には糖度が低くなってしまう。寒締め栽培に意欲的に取り組んでいる地域では糖度6～7度以上を寒締め品の目安としている場合が多く、それ以下のものは通常品として出荷することに決めて自主



写真4 店頭に並ぶ寒締めハウレンソウ

的に選別し、品質管理につとめている。なお、栽培条件のよい産地のなかには糖度13度など、果物並みの驚きの糖度で出荷しているところもあり評判となっている。

おわりに

寒締めは野菜が本来持つ能力を生かし、冬の低温をうまく利用することで省力・低コストに品質を向上させる栽培法である。そのしくみを理解することで高品質な野菜を生産することができるが、現在これをさらに応用することで新たな生産技術の開発を目指している。またそのおいしさや豊富な栄養成分を生かして、加工品など新たな商品開発への活用も期待されている。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 加藤忠司, 青木和彦, 山西弘恭: 冬期ハウス栽培ハウレンソウのビタミンC, β -カロテン, トコフェロール及びシュウ酸含有量に対する外気低温の影響, 日本土壌肥科学雑誌, **66**(5), 563-565, 1994.
- 2) 青木和彦: 寒締め栽培, 野菜園芸大百科第2版第15巻, 農山漁村文化協会, 2004.
- 3) 青木和彦: 低温を利用した野菜の品質向上, 野菜園芸大百科第2版第21巻, 農山漁村文化協会, 2004.
- 4) 青木和彦: 寒締め栽培によるハウレンソウ硝酸・シュウ酸の低減, 最新農業技術 野菜, 農山漁村文化協会, 2010.
- 5) 青木和彦: 寒締めの低温によるハウレンソウの硝酸含量低減, 農業および園芸 (養賢堂), **82**(9), 993-997, 2007.
- 6) 辻村卓, 青木和彦, 佐藤達夫: 野菜のビタミンとミネラル, 女子栄養大学出版部, 2003.

農と食の連携促進のための Web マニュアル

― 新品種・新技術を核とした経営の確立と地域再生 ―

河野 恵伸 (KONO Yoshinobu) *

* 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター

Key Words：食農連携・6次産業化・高付加価値化・地域活性化・プランナー

はじめに

農山漁村は、農林水産物の生産現場として、土地や水、バイオマスなどの地域資源を有している。農林水産省は、それらの資源を有効に活用しながら、農山漁村にイノベーションを起こし、農林漁業を成長産業とすること、美しく活力ある農山漁村を創り上げることを施策の中心の一つに据えている。そこでは、生産・加工・販売・観光が一体化したアグリビジネスの展開や、先端技術を活用した新産業の育成、再生可能エネルギーの導入を柱としている。「六次産業化・地産地消法」では、6次産業化を「一次産業としての農林漁業と、二次産業としての製造業、三次産業としての小売業等の事業との総合的かつ一体的な推進を図り、地域資源を活用した新たな付加価値を生み出す」取り組みと定義しているが、それを受けて、日本再生戦略で「地域に根ざした農林漁業の活性化を図り、地域の資源を見直し、高付加価値化を進めた新しい6次産業とすることで、農林漁業者の所得を増大させ、日本全国、津々浦々の地域活力の向上につなげていく」や「農林漁業と商業、工業、観光業を組み合わせた6次産業を生み出すこと

で、地域社会に自信と誇りを取り戻す」などが示されている。これらは、農山漁村の有する潜在力を引き出して新たな所得と雇用を生み出すことであり、マーケットインによる農林水産物の生産・供給を目指したバリューチェーンの構築、女性や若者を含めた多様な人材の活用、地域資源の有効利用、異業種連携や新技術の開発・導入による付加価値の向上、知的財産の総合的な活用、イノベーションの喚起などが政策支援の対象になっている。一方で、「六次産業化・地産地消法」に先だって制定された「農商工等連携促進法」は、中小企業者と農林漁業者が連携して行う製品開発、販路開拓等の取り組みを促進するものであり、各主体の連携と、連携体の経営向上・改善に主眼が置かれている。

いずれにしても、6次産業化や農商工連携によって農山漁村に新たな事業体を確立し、農林漁業において新たな付加価値を創出するとともに、農山漁村の所得と雇用を増大させて、農林漁業の活性化や地域再生に結びつけることは重要である。ただし、これまでの農産加工の課題として、農林漁業の生産現場ではイノベーションが起きにくいこと、農山漁村では人材、素材、

技術、ノウハウ、資金等が不足しがちなこと、1次製品の販売や他産業への原料供給だけでは付加価値が小さいことなどが挙げられる。そのため、新技術の導入や地域内での持続的なナレッジの創出、付加価値の高い商品の開発、持続的に競争優位を確立するための地域資源の有効利用、付加価値のより大きな部分の農林漁業や農山漁村への配分などを実現できる仕組みづくりが重要になっている。生産現場でそれらを実現するためには、異業種や常にイノベーションに携わっている公的な試験研究機関との連携、地域や事業のデザイン、価値共創の場の確立、必要なネットワークの形成に携わるプランナーやコーディネーターの活躍・活用が必要である。

そうしたことから農研機構は、主に農業における6次産業化や農商工連携に関連する文献調査、優良事例に対するアンケートや聴取調査、新技術導入の実証試験などで把握された連携の形成要因や促進要因をもとに事業体や連携体の形成・展開の手順を整理して、農業者等に公的研究機関の研究成果の直接的利用を促す「食農連携マニュアル¹⁾」を作成している。これは、農業者等が研究機関の新品種・新技術を活用して製品開発に取り組む際に利用できるWeb上のマニュアルであり、研究機関と連携したコンソーシアム形成、異業種企業との相互理解と連携深化、栽培試験・実証試験の実施等、連携の形成・促進のポイントを示したものである。以下に、その論拠と概要を示す。

1. マニュアルの論拠

今村奈良臣は、1990年代半ばに学説として6次産業化論を提唱している。よく農林水産省の資料に引用されている「1次産業×2次産業×3次産業=6次産業」である。地域の異業種間連携と農業経営の多角化の両者を含意してお

り、農業者は食料原料生産のみを担当するのではなく、農産物加工や農産物流通、サービスを取り戻すことを主張している。90年代後半には、斎藤²⁾が地域内発型アグリビジネス論を展開している。地域内での原料生産から加工・販売に至る価値連鎖の形成を目指し、異業種からの資源・技術導入や異業種間連携、経営統合も視野に入っている。農村地域での物的、人的、技術的資源の制約によって地域を越えた連携も必要であるが、地域へのより多くの価値の分配に主眼がある。これらの主張は、政策の根拠となっており、本マニュアルにおいても踏襲している。

ポーターに端を発する産業クラスター論は、特定地域への集積が生み出す連携や競争の促進による経済的効果に加えて、イノベーションによる生産性の向上や新規事業の形成を重視している。産業クラスター論に関しては、森嶋³⁾が詳細にレビューを行っているが、その根底には「知識の創造と伝播のメカニズムにおける地域的なネットワークの重要性が強調されている」と指摘しているように、地域への地理的集積と近接性が競争優位の重要な要素として示されている。ただし、クラスター形成とその効果の発現には長い時間を要するため、すぐには新製品の開発や売上額の増加には結びつかない。そのため、本マニュアルには競争優位を持続させるための長期的な仕組みとして、地理的集積の概念を導入している。

また、堀田⁴⁾は、「農商工連携88選」へのアンケート、及びその中の典型事例への聴取調査から、持続的製品開発の仕組みとして、ナレッジを生み出す知識創造プロセスを示している。暗黙知から形式知への変換は、野中郁次郎らが提唱したナレッジマネジメントの概念であるが、そのプロセスの繰り返しとマニュアル化及びその変更・進化によって消費者に受け入れられるような商品が生まれるとしている。優良事

例において、そのプロセスを見出すことができるため、地域内で持続的にナレッジを生み出すこうした仕組みは、製品開発には欠かせない一つの重要な要因であるといえる。また、地域外からの新技術導入に関しては、後藤⁵⁾、河野ら⁶⁾が、情報共有と相互学習による信頼の醸成と価値共創の場として、新品種・新技術を核としたプラットフォーム、コンソーシアムが有効であることを示している。外部からの新技術の導入と内部でのナレッジの創出が本マニュアルの一つの柱である。加えて、新技術導入時のリスク負担のあり方については森嶋⁷⁾が分析しており、製品開発段階に応じたリスク負担のあり方を示している。

以上と内容的には重複するが、杉田ら⁸⁾は、「農商工連携ベストプラクティス 30」や「6次産業化の取り組み事例集」に掲載されている経営体を対象にしてアンケートを実施し、6次産業化の成功要因として、連携・多角化、産業集積、新技術導入を抽出している。これらの成果を論拠として、本マニュアルは構成されている。

2. Web マニュアル

6次産業化や農商工連携に活用できるマニュアルは、数多く出されている。特に一般社団法人食品需給研究センターからは、様々な局面に対応したマニュアルが出されており、Web 上からダウンロード可能である。ただし、一般に生産現場で継続的に利用されるケースは多くなく、六次産業化総合事業計画等の事業計画策定や、各戦略の策定、経営体の持続的発展のための事業推進等に積極的な利用が望まれる。また、これらのマニュアルの構成は、基本的に行政機関の事業ベースで進められているため、網羅的に出されているが必ずしも体系化されているとはいえない。

「食農連携マニュアル」は、公的研究機関で

開発した新品種・新技術を活用して、農業者や農業団体、加工業者、流通業者、小売業者等の各主体相互間の連携を促進し、共同での製品開発や販路開拓によって経営を確立し、最終的には地域農業活性化や地域再生を実現することを主題としている。できるだけユーザーに利用してもらうために、取り組むべき項目の全体像、一目で分かるポイント、取り組むべき内容を示し、関連情報として行政機関の支援情報や食品需給研究センターの詳細なマニュアル等とリンクする方式を採っている。

2-1. 特徴

6次産業化に向けて農業者等が取り組むべき重要なポイント（大項目）として、仲間づくり、商品づくり、産地づくり、地域づくりがあり、そのための課題（中項目）として「新技術探索とマッチング」「支援方策」「コンソーシアム形成」等、さらに具体的な課題（小項目）として「新技術の探索」「マッチングの方法」「連携関係の強化」「商談・交渉ツール」「投資リスクの低減」等がある（図1）。特に、公的研究機関が開発した新品種・新技術導入による高付加価値化、地域活性化を図るポイントとして、研究機関と連携したコンソーシアムの形成、異業種の連携企業との相互理解と連携の深化、栽培試験・実証試験の実施等を示している。各項目は、農業者等の地域の推進者は手順に沿って学習する教材として、プランナー等は小項目をチェックリストとして参照するなど、ユーザー別の使い方ができるようになっている。加えて、小項目のページにユーザー別のアイコン（農業者・農業団体：農、商業者：商、工業者：工、行政・普及機関：官、大学・研究機関：学、プランナー・コーディネーター：P）を用意し、主に見て欲しいユーザーを赤色、見て欲しいユーザーを黄色、参考にして欲しいユーザーを薄緑色にアイコンを色分けしている。各項目の内容は、農林

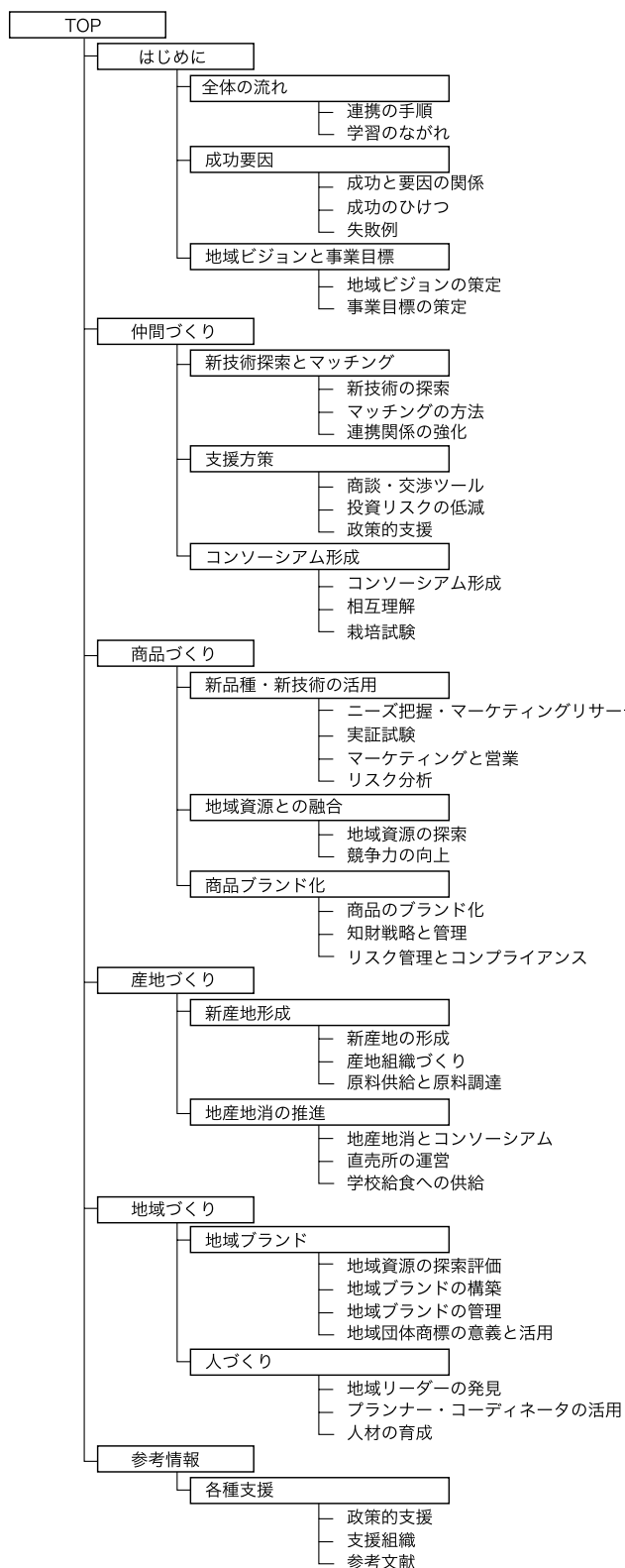


図1 取り組むべき項目の全体像

水産省や関係機関、地域の優秀な経営者と連携して常に最新情報を提供できる仕組みになっており、最後に関連する文献情報を示している。大項目ごとの内容については、次節で概要を示す。

2-2. 概要

2-2-1. 仲間づくり

最初に、普及機関等に相談しながら新品種・新技術に関する情報の検索を行う。次に、地域資源を勘案し、新品種・新技術の候補を選定する。そして、普及機関等を通じて各研究機関の産学官連携窓口に接触し、さらに詳しい情報やサンプルを入手する。

自経営や地域内に物的・人的資源が豊富に存在する場合は、すぐに商品づくりをスタートさせてもよいが、通常、地域資源は限定的である。そのため、必要な資源を地域外から獲得する必要が出てくる。その一つ的手段として、コンソーシアム形成が有効で、代表的なコンソーシアムは、公的研究機関が関与した新品種に関するコンソーシアムである。新品種・新技術の導入にはリスクを伴うため、試作や試用、新たな投資などが必要であり、農産物や商品の売り先も確保しなければならない。農業者、農業団体、研究機関、行政機関、流通業者、加工業者、小売業者などによるコンソーシアムは、リスクを低減させて、成功の確度を高める機能を有する。コンソーシアムの農業以外の参画者は、まず、農業生産の特徴を理解してから連携に取り組む。農業生産の特徴である自然災害による被害額が大きいこと、特に低温、干ばつ、日照不足等による被害額が大きいこ

と、そのため生産変動が大きく価格変動が大きいこと、価格は季節的・周期的に変動すること、品質が一定にならないことなどである。なお、コンソーシアム形成のポイントは、①経営・企業として自立していること、②自社の強みとなるコアコンピタンスがあること、③相互理解が図られていること、④価値観や情報を共有していること、⑤目的や目標の共有が図られていること、⑥同じ「場」を共有していること、⑦相互に意思疎通ができる広いネットワークを有していること、⑧対等な関係であること等である。

2-2-2. 商品づくり

新品種・新技術を利用した製品開発に取り組むためには、新品種・新技術の特徴を把握すること、自らの地域の特徴を把握すること、連携企業と良好な関係を構築することなどが重要である。また、新品種、新技術の導入にはリスクを伴うため、自経営や地域に適しているか、市場ニーズに合致しているか、その商品を欲しいと思っている顧客がどこにどれくらい存在するかを、栽培試験や加工適性試験、流通試験、貯蔵試験、製品テスト、販売試験などの実証試験を通じて確認する必要がある。特に、開発前期、開発中期、開発後期におけるマーケティング・リサーチと、初期の販売先の確保、および顧客拡大のための営業・広報活動は重要である。マーケティング・リサーチは、公表されている統計の分析（市場動向や市場規模の把握）、顧客へのヒアリングや小売店頭の観察及び消費者へのグループインタビュー（顧客や消費者ニーズの把握とアイデアの抽出）、ポジショニング分析（競合商品と開発商品の位置づけ）、セグメンテーション（市場を細分化しターゲットとする消費者層の明確化）、価格分析（品質と価格の関係の把握）、製品コンセプトテスト（要求される品質やブランド力の把握）などである。これらのリサーチは、誰を対象に何を調査するかを常に意識し、目的を明確にして実施する。

そして、一般に企業や商品に対する信用は一朝一夕では確立しない。品質管理、衛生管理、ブランド管理を徹底して、顧客の頭の中に良いイメージを持ってもらい、その商品が選択されるようになるためには長い年月の取り組みが必要であることを認識しておく。

さらに、様々な機関や企業と連携しながら、持続的に製品開発ができる仕組みを構築する必要がある。これは、持続的にナレッジを創出する仕組みを内包する。新品種・新技術を活用した製品開発が成功しても、模倣によって類似商品が出回れば、その価値は低下する。商品の差別的優位性を維持するための地域資源と新技術との融合や、持続的なナレッジの創出が必要になる。

2-2-3. 産地づくり

新品種・新技術を利用した製品開発を成功させるためには、安定した原料農産物の調達が必要になる。農協等が主体となる場合を除いて、農産物の新産地を形成するためには、産地形成を推進する強力なリーダーシップが必要である。生産者の参入を促進するため、初期投資額の低減と資金調達、導入当初の利益確保とリスク低減、需要予測と需要創出、技術水準の向上策、中長期の産地計画や経営計画の設定など、様々な方策を準備し、主体的に地域を牽引する。そして、地域内での信用を得るため、先行して一定の成果をみせるとともに、地域内に必要なネットワークを形成するなどの地道な活動が重要となる。

これを原料農産物の供給側からみると、加工原料用など、通常の業務用需要への対応と同様に、安定生産が重要になる。また、どのように加工され、どのような商品になり、どのような顧客に販売されるかを把握して、それらを明確に意識しながら顧客の要求に添えていく。加えて、契約は文書で結び、それを遵守するとともに、代金回収や生産量増減のリスクを回避、軽

減する工夫が必要である。

一方で、需要と供給をつなぐ付加価値実現のためのバリューチェーンを構築するためには、コンソーシアムの中でのサプライチェーンの設計や、産地の発展段階に応じたチャネル設定、地域内の直売所を価値実現の拠点と考えるなど、様々な流通チャネルを検討する必要がある。

2-2-4. 地域づくり

地域や地域の商品を選択してもらう方策の一つとして、地域ブランドの確立がある。まず、商品ブランドを確立し、企業ブランドを確立し、関連事業者の集積を経て、地域全体として地域ブランドの確立していく。その過程で、海外市場を視野に入れることも一つの方向である。海外で評価されることによって、国内での評価が高まることはよくある。すでに、地域に著名な地域資源がある場合は、それを地域ブランドの核としてブランド化を進めることになるが、そうでない場合は、地域資源と新品種、新技術を融合させてブランド化を目指す。いずれの場合も地域ブランド協議会などのブランド構築・管理主体が必須であり、関連事業者の集積や育成も必要である。地域ブランドが確立されても、顧客を裏切れば簡単に信頼は失われる。信頼を取り戻すために膨大な時間と努力が必要になるため、地域で地道にブランドを管理していくことが重要である。加えて、知的財産管理も重要であり、戦略的に取り組む必要がある。特に、コンソーシアムを形成して取り組む場合は、最初に知的財産が発生した場合の所有のあり方を明確にしておく必要がある。

また、連携体で新しい事業に取り組むには、推進リーダーの役割が大きい。リーダーは、地域に居住する人的資源を活用するとともに、プランナーやコーディネーター、地域の各支援機関の協力を得ながら、事業を推進する。加えて、

組織内の責任者や、組織間の調整を担う人材を確保することが重要になる。十分な知識や経験を持つ人が地域内にいない場合には、各種支援制度を利用して確保及び育成を行う。6次産業化に関する人材育成には、一般社団法人食農共創プロデューサーズが運営している「実践キャリア・アップ戦略～食の6次産業化プロデューサー」のキャリア段位制度や各自治体が開催している研修制度などを活用する。

3. 今後の改善方向

本マニュアルは、食農共創プロデューサーズと連携し、食の6次産業化プロデューサーの「できる（実践スキル）」が達成できる手法の提示を通じて、人材育成に貢献することを目指している。しかしながら、全ての項目について、その内容を実践できる具体的な方法論が確立されているわけではない。特に、「できる（実践スキル）」に対応したアイデアの「最適」な選択、新商品の競争「優位」性のシミュレーション、連携事業者間の「適正」な付加価値配分、地域への経済的波及効果のシミュレーション、サプライチェーンの「合理」的設計などは、食の6次産業化プロデューサーが実施可能で、かつ生産現場で使える手法は提示できていない。例えば、地域への経済的波及効果は、産業連関分析を用いればシミュレーションが可能であるが、産業連関表の作成に手間がかかり、生産現場で簡易に利用できるとはいえない。現在、簡易に推計する方法を研究中であり、今後はこうした現在進行中の研究成果を逐次マニュアルに反映させて、生産現場により有益な情報が提供できるようにしていきたい。なお、本稿に示したマニュアルの概要については、河野⁹⁾、河野¹⁰⁾を加筆修正したものである。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 食農連携マニュアル, <https://www.syokunoh.jp/>
- 2) 斎藤 修：地域内発型アグリビジネスの展開と地域の活性化．フードシステムの革新と企業行動．農林統計協会, 349-435, 1999.
- 3) 森嶋 輝也：主要論点の整理と課題の抽出．食料産業クラスターのネットワーク構造分析－北海道の大豆関連産業を中心に－．農林統計協会, 5-56, 2012.
- 4) 堀田 和彦：農商工間の共創的連携とナレッジマネジメント．農林統計出版, 2012.
- 5) 後藤 一寿：新品種活用型の農商工連携の成果と課題～共創的連携のための8箇条～．農村経済研究 **29**(1): 30-38, 2011.
- 6) 河野 恵伸, 田宮 誠司, 佐渡 純一, 古川 幸明：カラフルポテトの品種普及と製品開発に向けた取り組み．十勝型フードシステムの構築．農林統計出版, 103-123, 2013.
- 7) 森嶋 輝也：新品種を用いた製品開発の戦略と課題．十勝型フードシステムの構築．農林統計出版, 81-102, 2013.
- 8) 杉田 直樹, 中嶋 晋作, 河野 恵伸：農商工連携, 6次産業化の類型的特性把握．2012年度日本農業経済学会論文集：122-129, 2012.
- 9) 河野 恵伸, 後藤 一寿 他：新品種・新技術を活用した食農連携の形成・促進のためのWebマニュアル, http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/narc/2013/13_065.html
- 10) 河野 恵伸：6次産業化、農商工連携に関する文献情報と研究動向．近畿中国四国農研農業経営研究 **24**: 1-10, 2014.

いい文章の特許明細書を求めて

宮部 正明 (MIYABE Masaaki) *

Key Words：知的財産・特許明細書・文章表現

はじめに

私は、縁あって、食品企業である、不二製油(株)にて開発と特許に携わり、開発者として、製品開発、生産技術開発を担当し、特許担当者として、発明の発掘、特許明細書の作成、中間手続、権利化、他社特許への情報提供を行った。特に、特許明細書の作成及び他社特許への情報提供を書こうとした際に、いい文章の特許明細書とはという問いが常に私の脳裏に浮かんできた。この問いは永遠の課題のように思われるが、その解を求めて一つの考え方を提案してみたい。

1. 本論

特許は、特許明細書の作成に始まって、特許明細書の解釈に終わるといっても過言ではないほど特許明細書の記載は重要である。

審査、審判、訴訟の一連の手続において、出願当初の明細書に基づいて特許性が判断される。

強い特許の創造を目指して、特許法等の法律を理解し、審査基準、判決例、審決例等を勉強する必要がある。

そして、玉石混淆いろんな明細書を読み込むことも必要であろうし、特に優れた明細書は、

読んでいて心地良いし、多くのことを学ぶことが出来る。

強い特許とは、発明そのものを広く、深く反映した権利行使に強い特許明細書と言える。

強い特許の大前提となるのは、いい文章の特許明細書であると言える。

しかしながら、いい文章の特許明細書を書くことは難しい。

いい文章とは何か、その解は難しいし、永遠の課題のように思われる。

いい文章の要素として、その構成単位である“言葉”と、言葉の組み合わせである“表現”が重要と考える。

司馬遼太郎は言葉について、“珠玉の言葉を4万語の中から探す”といい、小林秀雄は表現することについて、“表現するとは、己を押し潰して中身を出す事だ、己の脳漿を搾る事だ”と述べている。

小林秀雄を読んでいて、・文章を書くことの喜び、・絵や音楽といった芸術に触れることの喜び、・文学を鑑賞することの喜び、・議論することの喜び、・深く考えることの喜び、・批評の精神、を教えてくれる。

何故か判らないが、小林秀雄の文章を通して、知力と思考力の結集した創造することの喜びを味わうことができる。

又、小林秀雄は、文章について、1932年に、「諸君も巧い文章を書こうと努力されてをると存じます、私も大変努力してをります。併しお互いに努力しても巧くなるとは限らぬ事だけは確です。」と書いているし、1940年に、「さういふ点に評論の本質的な技巧があるわけだが、どういふ風にその技巧を磨くかといふ事になると、これは小説家がその技巧を磨く方法と同様に一定した方法はないわけである。幾つもあり実際に文を創ってみて自得するより他はない。」と書いている。

いい文章を書くことは難しいから、おもしろいのであり、いい文章が創れたとき、表現することの喜びを味わうことができる。

そして、文章のみがき方¹⁾のまえがきの一部に、「この本は、さまざまな方々の「文章論」や「作品」を読み、私がそこから学んだことを記したものです。作家だけでなく、画家や舞踏家の言葉もあります。「いい文章」を書くことを志す方が、本書の三十八の章を読み、一つでも二つでも、役に立つ主題を見つけてくだされば幸いです。いい文章の条件には、平明、正確、具体性、独自性、抑制、品格など、大切な要素がたくさんあります。どれ一つとっても、到達点が霞んでみえぬ、はるかな道を歩まなければなりません」が記載されている。

そこで、この本に記載されている三十八の章を簡略化したものを紹介することにする。

1. 毎日、書く：旅行に行つて10日くらい書かないことはありますけど、そうすると10日分へたになったなと思います。ピアノと一緒にんでしょうね。書くというベーシックな練習は毎日しないとイケません（よしもとばなな）。
2. 書き抜く：私にはどういう文章を書けばいいかという規格品のイメージがありませんので、これはうまい文章だと思うも

のをノートに書き抜く。小さいときからつくってきたそういうノートが百冊以上になると思います（鶴見俊輔）。

3. 繰り返し読む：何度も何度もテキストを読むこと。細部まで暗記するくらいに読み込むこと。もうひとつはそのテキストを好きになろうと精いっぱい努力すること（つまり冷笑的にならないように努めること）。最後に、本を読みながら頭に浮かんだ疑問点を、どんなに些細なこと、つまらないことでもいいから（むしろ些細なこと、つまらないことの方が望ましい）、こまめにリストアップしていくこと（村上春樹）。
4. 乱読をたのしむ：私は、手あたりしだいに本を読んで、長い時を過ごしてきました。そういうのを世の中では「乱読」というようです。「乱読」の弊一しかし、そんなことを私は信じません。「乱読」は私の人生の一部で、人生の一部は、機械の部品のように不都合だから取りかえるというような簡単なものではない。「乱読」の弊害などというものはなく、ただ、そのたのしみがあるのです（加藤周一）。
5. 歩く：暇があったら歩くにしくはない。歩け歩けと思って、私はてくてくぶらぶらのそのそといろいろに歩き廻るのである。裏町を行こう。横道を歩もう（永井荷風）。
6. 現場感覚をきたえる：どういうつもりで物を書いたりしているのだ、と詰問されれば、どうしてもそこに自分で行ってみたいくて、とこたえるしかない。私は自分で歩いて自分で見て、自分で触ったものだけを書いていたい（江國香織）。
7. 小さな発見を重ねる：どんな小さなことでもいい。毎日何かしら発見し、「へえ、なるほどなあ」と感心をして面白がって

- 働く、努力も楽しみのほうに組み込むことが出来るように思う（向田邦子）。
8. 辞書を手もとにおく：「作文教室」に辞書を持たずにいらっしゃるというのは、大胆不敵というか、関ヶ原の合戦に槍や刀を全部置いて丸腰で駆けつけるようなものです（井上ひさし）。
 9. 肩の力を抜く：何も書くことがなかったら、その日に買ったものと天気だけでもいい。面白かったことやしたことがあったら書けばいい。日記の中で述懐や反省はしなくてもいい。反省の似合わない女なんだから。反省するときは、必ずずるいことを考えているんだからな。百合子が俺にしゃべったり、よくひとりごとというてるだろ。あんな調子でいいんだ。自分が書き易いやり方で書けばいいんだ（武田泰淳）。
 10. 書きたいことを書く：デビュー前、私は何かに取り憑かれたように、ただもうがむしゃらに、インターネット上に言葉を書き続けてきた。なぜあんな切実さで、自分の言葉をデジタルな画面に叩きつけていたのか、正直なところ本人の私にもわからない（田口ランディ）。
 11. 正直に飾りげなく書く：少年時代の文章は……生半可なことを分かりもしないで書き立てるよりも、自分の思ったこと、感じたことを、すなほに、正直に書くのが一番好い。文章の練習としてはそれが一番である（夏目漱石）。
 12. 借りものでない言葉で書く：自分の目、耳、肌、心でつかまえたものを、借りものでない自分の言葉でわかりやすく人に伝えること（岡並木）。
 13. 異質なものを結びつける：「嫁さんになれよ」だなんてカンチューハイ二本で言ってしまうといいの（俵万智）。
 14. 自慢話は書かない：気のきいた文章を書くてっとり早い秘訣は「自分がピエロになる。自分の欠点を情容赦なく書く」である。逆に読み手の強い反感を買うのは「自分の欠点を書いたようできて、実は自慢話になっている」である（姫野カオルコ）。
 15. わかりやすく書く：文章というのは、むずかしいことを知っていても、やさしい言葉で相手にわかるように書かなければいけないんです（瀬戸内寂聴）。
 16. 単純・簡素に書く：私は単純に書きたいと思っている。なるべく短い文章で書きたい（中野重治）。
 17. 具体性を大切に書く：文章を書く者は、砂上の楼閣を怖れなければならぬ。目立たない些細なこと、微小のことはいい加減にしておいて、遠大も深遠もありはしない。具体的な事や物の確かさを土台にしない抽象に、説得力の伴わないのは当然であろう（竹西寛子）。
 18. 正確に書く：自分の文章に対して、自分ができることは、僅かにその自分の文章を、それなりにより正確にすることぐらいであろうか。正確にすることぐらいと言ったが、これはこれでたいへん難しい。生涯の仕事である（井上靖）。
 19. ゆとりをもつ：笑われまいとつっぱて生きようとするその裏側には必ず自信のなさというものがあるんですよ、自信があつて余裕を持たないと、笑いは生み出せないですね（小沢昭一）。
 20. 抑える：（俳句の世界では）「情」を作品の背後に隠す習練が要請されるのである（復本一郎）。
 21. 書き直す：いったん下書きしたものを、あれこれ手を入れて磨き上げて行くことは、非常に大事なことだ。私自身は、頭

の中に文が出来上がるまで筆をとらないほうなので、頭の中での書き直しが多いのだが、それでもノートに粗原稿を書いて読み直し書き直しをすることも少なくない（板坂元）。

22. 削る：文章の中の、ここの箇所は切り捨てたらよいものか、それとも、このままのほうがよいものか、途方にくれた場合は、必ずその箇所を切り捨てなければいけない。いはんや、その箇所に何か書き加えるなど、もってのほかというべきであろう（太宰治）。
23. 紋切型を避ける：ぼくはエキスポ70にさいして、中心の広場に「太陽の塔」を作った。およそ気どった近代主義ではないし、また日本調とよばれる伝統主義のパターンとも無縁である。逆にそれらを告発する気配を負って、高々とそびえ立たせた。孤独であると同時に、ある時点でのぎりぎりの絶対感を打ち出したつもりだ。……そのオリジナリティー（独創性）にこそ、一般を強烈にひきつける呪力があったのだ（岡本太郎）。
24. いやな言葉は使わない：何でもかんでも「お」を被せるのは下品だ。特にカタカナの単語に「お」をつけるのは、ほとんどコントである。「お紅茶」は許せるけど、「おコーヒー」「おビール」などといわれると、それだけでその人の目をまっすぐ見れなくなってしまう（甘糟り子）。
25. 比喩の工夫をする：直喩。比喩の一つ。あるものを他のものに直接たとえる表現法。「雪のようなはだ」「動かざること山のごとし」など。隠喩。比喩の一つ。「……のようだ」「……のごとし」などの形を用いず、そのものの特徴を直接他のもので表現する方法。「花のかんばせ」「金の力なり」の類。活喩（擬人法）。修辞法の一つ。人でないものを人に見立てて表現する方法。「海は招く」の類。
26. 外来語の乱用を避ける：だいたいNHKニュースというのがいけない。エヌ・エッチ・ケー（とカタカナで書くの）ではいかにも間のびしている。だから、NHKと書くのだろうが、それならどうして日本放送協会、略して日放協という名前でいけなかったのか。これもふしぎである。とにかく日本語のお手本のように言われてきた日本放送協会がNHKと名のつた以上、これはもうどうしようもない天下の大勢である（多田道太郎）。
27. 文末に気を配る：私は文章を書くとき語尾に手こずっている（井伏鱒二）。
28. 流れを大切にする：文章のなかに一貫したリズムが流れることも、わたしにとってどうしても捨てられない要求であります（三島由紀夫）。
29. 落語に学ぶ：彼（漱石）は、（落語という）庶民芸能を軽視せず、そこからできる限り豊かな文学的地下水を汲み上げようとした。それは、彼が庶民の文化創造力を高く評価していたことを示すものであり、彼の文学が幅広い読者層に親しまれる国民文学になり得た秘密でもあった（水川隆夫）。
30. 土地の言葉を大切にする：多分私は、このところ少々標準語にあきているのだろうと思う。というよりも、標準語を支えているステレオタイプの文化に食傷して、方言と、その背後にあっていまだ十分に活性を残しているはずの、個性的な文化に心惹かれるということかもしれない（藤沢周平）。
31. 感受性を深める：私の方針は、耳や、口や、鼻や、眼や、皮膚全体の上から真理を感得すること。五感を極度に洗練すること

によって人はさまざまな奇蹟を見ることができるようになる。五感およびその上に建てられる第六感以外に人間の安心して信頼すべきものは一つもない（萩原朔太郎）。

32. 「概念」を壊す：言語と云うものは案外不自由なものでもあります。のみならず、思想に纏まりをつけると云う働きがある一面に、思想を一定の型に入れてしまうと云う欠点があります（谷崎潤一郎）。
33. 動詞を中心にすえる：いまは名詞がおおすぎる。そして動詞がすくなすぎる（長田弘）。
34. 低い視線で書く：ものごとを上からばかり見ないで、ときには這いつくばって見る。かっこう悪くても視線を低くすると、別の世界が見えてくるんです（皆越ようせい）。
35. 自分と向き合う：私はこうして文章を書いています、去年書いた文章はすべて不満であり、いま書いている文章も、また来年見れば不満でありましょう（三島由紀夫）。
36. そっけなさを考える：私たちがこれ（食器類）を愛用しているのは一種の素気無さです。これは邪魔にならないデザインです。そのうえに置かれるであろう食物、注がれるであろう液体をひきたてようとしているデザインです。そうではなくて、食器類にかぎらず、そのものの役割を無視してデザインだけがえばっているような実用品が多すぎると思いませんか（山口瞳）。
37. 思いの深さを大切にす：名文はわれわれに対し、その文章の筆者の、そのときにおける精神の充実を送り届ける。それは気魄であり、緊張であり、風格であり、豊かさである。われわれはそれに包まれ

ながら、それを受け取り、それを自分のものとする（丸山才一）。

38. 渾身の力で取り組む：文章はいつも、水をかぶって、坐りなおしてはじめる覚悟でいたい（串田孫一）。

いい文章の特許明細書を書こうとすれば、当然のこととして、発明を理解しておく事、即ち、発明の全体を把握する事と発明の細部を把握しておく事が必要である。

そして、いい文章の特許明細書を書く前提として、明細書そのものの全体構造を理解しておく必要がある。これについては、筆者の先の論文、より良い特許明細書を求めて²⁾、の2項、特許明細書の全体構造の理解で述べた。

又、発明の全体を把握する事と発明の細部を把握しておく事については、同じく、より良い特許明細書を求めての3項、特許発明の本質を求めてで述べた。

特許明細書におけるいい文章とは、・文章は口語体であること、・正確に表現されている、・明確かつ簡潔であること、・言葉がこなれている、・思考の流れが良く論理的である、・期待している言葉がでてくる、・文章のおさまりが良い、・表現力に優れている、・美しい文章である、そのような文章であるように私は思う。

そして、特許担当者として、いい文章の特許明細書を書く上で大切なことは、いい文章を書こうとする意欲を持って、地道な努力により、発明の本質に迫り、技術的知識及び技術的用語を駆使して正確で明瞭な文章を構築することに努め、知力と思考力を結集し表現することの喜びを味あうことにある。

そして、理想としては言葉を道具として使用できる人になることも知れない。

最後になるが、私は開発者として、又、特許担当者として数多くの特許明細書を読み込んできた。その中であって、いい文章の特許明細書

と思われる1種を以下に例示することとする。

それは、〔発明の名称〕、起泡性水中油型乳化脂³⁾、である。

〔技術分野〕は、起泡性水中油型乳化脂に関し、詳しくは、長期保存性に優れ、流通に適し、風味良好で、しかも高オーバーランであるにも拘らず、耐熱保形性並びに戻り耐性に極めて優れたもので製菓・製パン用のフィリング及びトッピング材或いは調理用素材等として優れた起泡性水中油型乳化脂（起泡性水中油型乳化脂組成物）に関するものである。

〔背景技術〕は、従来、トッピング用、フィリング用の起泡性水中油型乳化脂、すなわちホイップクリームとしては、油分25～50%を含有するコンパウンドホイップクリーム（生クリーム又は乳脂肪がクリーム中に含有されているクリーム）及びフィルドクリーム（無脂乳固形分を含み、生クリーム乳脂肪を含まないもの）等が市販されている。

これらのものは、天然の生クリームを価格面及び物性面で凌駕し、現在に至っている。すなわち、生クリームは高価である上に、ホイップ後の安定性が悪く温度や振動で変形しやすい、起泡させるのに熟練を要する、及び飼料の種類や季節変動により品質のバラツキが大きい、という欠点を有する。

しかしながら、上記のコンパウンドホイップクリーム又はフィルドクリームは現在のところ洋菓子原料として必ずしも十分な適性を有していない。

大凡かかる製菓原料としてのクリーム類に要求される物性には次のようなものがある。先ず第1に、油脂、無脂乳固形分、乳化剤等からクリーム状組成物を製造する場合の、予備乳化、高圧均質化、冷却等の該工程において諸条件の振れにもかかわらず安定してほぼ同一品質の起泡性水中油型乳化脂ができること、第2に製造された起泡性水中油型乳化脂は生クリーム

と混合しても、また予め生クリームと混合して作られても、生クリームの品質変動（季節起動や新しいもの古いものの間の変動）にもかかわらず、これらの品質変動を吸収して常に一定した品質を示すこと、第3に製造された起泡性水中油型乳化脂は保存中、使用中又は輸送中の室内外の温度変化や輸送による振動等によって増粘や固化が生じることなく、しかも起泡時の物性がほとんど常に一定なこと、第4に起泡して用いる場合、最適起泡状態に到達するまでの起泡時間が一定で、起泡の終点に適当な幅があり、しかもオーバーランが適度で一定して、起泡体は十分なコシ、ネバリがあつて造花（デコレーション）が行いやすく、また絞込袋中で放置されても脱泡しにくく、最終までバサつかずにスムーズに且つ一様に造花ができ、さらに塗布したり、挟み込んだりしても起泡体が十分なかたさをもっていて、脱泡しないこと、第5にケーキに造花された状態で数日間、当初の状態を保持できるように保形性が良好で、しかも乳漿分離（リーク又はブリーディング）をひきおこさないこと、第6に表面はなめらかで、適当な光沢を有し、長時間経過しても変色や外見上の変化をひきおこさないこと、第7に風味が良好で、生クリームとの差異がほとんどなくしかも口どけが生クリームと同等か又はそれ以上であること等である。

これまでに起泡性水中油型乳化油脂は多種多様なものが市販されているが、これらのものを検討してみると上記の要求される諸物性の中で、いくつかのものを満たしているけれども、逆にある部分の物性に劣っているというようなものがほとんどであり、すべてを満足しているものは未だにないのが現状である。特に、起泡性水中油型乳化脂は輸送又は配送中に温度が15℃～20℃まで上昇すると乳化脂の脂肪球が凝集や合一を起こすため、再度冷却を行い5℃にてホイップしても適切なオーバーランが出ず

急に可塑化してバサつくことがある。また、最近、大規模に生産を行う洋菓子店では連続ホイップマシンを用いて連続的にホイップして行うことが多くなっており、そのため終点の幅が広く、温度耐性があり、バサつきの少ない起泡性水中油型乳化脂が要求されている。

〔発明が解決しようとする課題〕は、従来の起泡性水中油型乳化脂の欠点を改良し、前記のような要求される諸物性を満足し且つ特に保存中、使用中や輸送中の室内外の温度変化や輸送による振動等によって増粘や固化がなく、しかも起泡時に急に可塑化してバサついたりすることがない終点幅の長い、物性がほとんど常に一定となるような起泡性水中油型乳化脂を提供することにある。

〔特許請求の範囲〕（公開公報）は、【請求項1】全乳化物に対して、30～60重量%の油脂及び0.1～1.2重量%の乳化剤を含有する起泡性水中油型乳化脂であって、上記乳化剤が、ポリグリセリン脂肪酸エステル及びショ糖脂肪酸

エステルからなる群より選ばれた水溶性乳化剤1種以上と、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル及び磷脂質からなる群より選ばれた油溶性乳化剤1種以上とからなり、且つそれらの重量比（前者：後者）が50：50～95：5である、起泡性水中油型乳化脂、である。

おわりに

以上、いい文章の特許明細書を求めてという拙い内容であったと思うが、開発と特許に携わった私の職業人生の知識と経験の一部を渾身の力で纏めた。

今後食品関連の開発者、特許関係者の方々に少しでも参考になればという想いとこの論文に対しての忌憚のないご意見を頂ければ幸甚であります。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 辰濃和男，文章のみがき方，株式会社岩波書店，2007年12月14日
- 2) 宮部正明，より良い特許明細書を求めて，*New Food Industry*, Vol.54(5), 50-56, 2012.
- 3) 特開平2－128644，起泡性水中油型乳化脂

“地域密着でキラリと光る企業”

日本で初めて動力式精米機を創造した『株式会社サタケ』

田形 暁作*

*TAGATA Yoshinari (TAGATA 食品企画・開発 代表)

Key Words : 精米機・食品加工機総合メーカー・研究開発型・技術開発・新製品開発・特許取得・世界展開・佐竹利市・佐竹利彦・佐竹覚

はじめに

サタケは1896年(明治29年)、日本で最初の動力式精米機メーカーとして創業、以来1世紀以上にわたり研究開発を重ね、世界トップの食品加工機総合メーカーの地位を確立した。

米の分野では精米機器を中心に、川上は種籾の温湯消毒設備に始まり、川下は胚芽米も作れるキッチン用精米機「マジックミル」や、栄養成分「GABA」を豊富に含む「ギャバライス」、手軽で美味しいパックご飯「楽メシ」まで、お米に関わる製品を幅広く開発している。経営の基本思想はサタケ精神にあり、その根幹は「不可能はない」「謙虚である」「気のつく人になる」の3点で、創業以来継承されている。この思想のもとに、全ての事業分野で培ってきたサタケ独自の膨大なノウハウを活かし、精米・製粉機器分野はもとより食品・環境機器・産業機械といった新規分野でも、画期的な新製品を次々と発表している。

現在これらの商品は140カ国以上で活躍している。今後とも人類の3大穀物である「米、麦、とうもろこし」を通して「食」で世界に貢献できる会社を目指す。また、社員教育はもちろん、地元や広島大学への後援、英国大学への穀物研究所設営など、社会の人材教育にも強い関心を持ち、将来のサタケや日本、

世界を担う若者の育成にも力を入れている。

サタケは食品加工機総合メーカーであるが、本報では日本人の主食である米の分野の精米機を中心に紹介する。

1. 会社情報

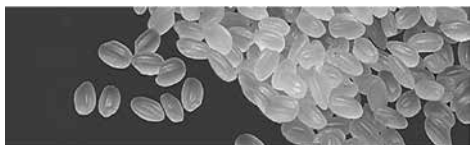


社 名	株式会社サタケ
創 業	明治29年3月
会社設立	昭和14年12月
業 種	食品産業総合機械及び食品の製造販売
資 本 金	280,000,000 円
従 業 員	1,050 名 (サタケグループ総従業員 2,600 名)
所 在 地	広島県東広島市西条西本町2番30号
広島本社	TEL (082) 420-0001 (代) FAX (082) 420-0004
東京本社	東京都千代田区外神田4丁目7番2号 TEL (03) 3253-3111 (代) FAX (03) 5256-7130

2. 事業分野

◆米の分野 ◆麦・とうもろこしの分野 ◆食品の分野 ◆環境の分野 ◆産業機械の分野

◆米の分野について



世界各国の精米工学の文献を開くと“SATAKE”の文字を頻繁に見つけることができる。“SATAKE”は精米工場を意味する言葉として使われている国も多く存在している。



業務用精米機

「ミルマスター」

残留レス機構により、コンタミ問題を未然に防止する。多品種、少量生産のニーズにも対応でき、消費者へ高品質な米を届ける。



乾燥調製貯蔵施設

「カントリーエレベーター」

収穫されたお米を粉のまま乾燥貯蔵し必要に応じて舂摺するので、農家の生産性向上に貢献している。



光選別機

「ピカ選 GRAND」

フルカラーカメラを使って、米や小麦などの穀物中に紛れている異物をキャッチし、圧縮空気で選別する。



アームラック式

IH 炊飯ライン

業界初の丸釜 IH 炊飯機が最高のご飯を炊き上げる。また、一釜ごとにアイテム（種類）の異なるご飯が炊ける画期的なシステム。

◆食品の分野について



家庭で使われる製品の販売、ならびに米を中心とした加工食品の生産販売をしている。



キッチン用精米機

「マジックミル」

家庭でもつきたての美味しさを提供できるコンパクトタイプの家庭用精米機。栄養たっぷりの胚芽精米風味の機能や風味の落ちた白米を再精米する機能付き。



パックご飯

「楽メシ」

サタケ独自の加圧・マイクロ波加熱方式で炊飯した。従来品にはない「つぶ感」「つや感」「もっちり食感」を楽しめるご飯。



インスタントライス

「マジックライス」

お湯を注ぐだけで、ふっくらご飯。長期保存ができ、調理も簡単なことから、アウトドアや非常食に、業務用食品としても幅広く使われている。

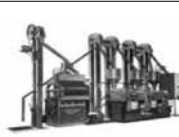


非常用保存食

災害時にもいつものご飯を。炊き出し用もある。マジックライスに保存水・発熱体をセットした非常食セットは5年保証。

3. 会社の沿革

■ 1896 年～ 1966 年

1896 年 (明治 29 年)	・初代社長佐竹利市が日本で最初に動力式精米機を考案し、生産販売を開始。	
1922 年 (大正 11 年)	・砥石の焼成炉を築き、醸造用精米機の超硬質研削砥石の焼成に成功。	
1925 年 (大正 14 年)	・研削砥石による高速精米機を完成。	
1940 年 (昭和 15 年)	・2 代目社長佐竹利彦が学界初の体系的精穀理論を発表。今日の工学的精米理論の基礎となる。	
1944 年 (昭和 19 年)	・初代社長佐竹利市が精米機の発明改良につくした功績により、斯界初の藍綬褒章を授与された。	
1950 年 (昭和 25 年)	・2 代目社長佐竹利彦が精穀機発明の功績で藍綬褒章を授与された。	
1955 年 (昭和 30 年)	・食糧用パールマスター精米機発売。脚光を浴びる。	
1956 年 (昭和 31 年)	・農家用ワンパス精米機発売。脚光を浴びる。	
1957 年 (昭和 32 年)	・パールマスター精米機とワンパス精米機が業界初のグッドデザイン賞 (G マーク) 受賞。	
1958 年 (昭和 33 年)	・初代社長佐竹利市が科学技術の振興に尽くした功績により、勲四等に叙せられた。	
1962 年 (昭和 37 年)	・コンパス精米機を発売し、政府の精米集中化政策の礎を築き、大型精米設備の独占供給を開始。	
1963 年 (昭和 38 年)	・農林省指定モデル精米工場 (30 工場) 全てをサタケコンパス精米機が独占受注。	

1964 年 (昭和 39 年)	・政府指定のモデルプラントである本邦初のカントリーエレベーター (3ヶ所) すべてをサタケが独占受注。	
1965 年 (昭和 40 年)	・モータ直結の農家用モーターワンパス精米機を発売。	
1966 年 (昭和 41 年)	・従来の 10 倍の乾燥速度を持つテンパリング乾燥機の開発に成功。	
■ 1968 年～ 1996 年		
1968 年 (昭和 43 年)	・株式会社東北佐竹製作所を設立。	
1969 年 (昭和 44 年)	・綱領制定。	
1971 年 (昭和 46 年)	・農家用米選機ライスグレーダーを発売。	
1974 年 (昭和 49 年)	・籾摺機の革命と呼ばれる揺動選別方式のライスマスターを発売。	
1980 年 (昭和 55 年)	・SATAKE USA INC. を設立。	
1982 年 (昭和 57 年)	・佐竹利彦が科学技術振興に尽くした功績により、勲三等に叙せられた。	
1984 年 (昭和 59 年)	・サタケ技術振興財団を設立。	
1986 年 (昭和 61 年)	・世界初の食味計測システム「食味計」を開発。	

1988 年 (昭和 63 年)	・佐竹利彦が東京大学から農学博士号を取得。	
1989 年 (平成元年)	・佐竹利彦、東広島商工会議所初代会頭に就任。 ・世界初の高始動特性三相交流電動機を開発。	
1991 年 (平成 3 年)	・3 代目社長佐竹覚が科学技術長官賞を受賞。 ・SATAKE UK LTD. を設立し、製粉機分野に進出。	
1993 年 (平成 5 年)	・佐竹利彦が東京農業大学から名誉農学博士号を授与された。	
1994 年 (平成 6 年)	・JLPGA 公認サタケジャパンクラシックを主催。 ・英国マンチェスターにサタケ穀物科学研究所を設立。 ・常陸宮同妃両殿下の御行啓を賜る。	
1995 年 (平成 7 年)	・マジックライス新発売。 ・佐竹利彦が広島大学から名誉博士号を授与された。	
1996 年 (平成 8 年)	・佐竹覚がマンチェスター工科大学から名誉工学博士号を授与された。 ・10 億円の基金を提供し、広島大学後援会を設立。 ・三笠宮寛仁親王妃信子様のご行啓を賜わる。	
■ 1997 年ー 2012 年		
1997 年 (平成 9 年)	・佐竹製作所百年史を発行。 ・マジックライス工場竣工。 ・作詞井野口慧子、作曲丸山和範によるサタケ社歌が完成。	
1998 年 (平成 10 年)	・佐竹覚、社団法人日本食品機械工業会会長に就任。 ・佐竹利彦の社葬を挙行。 ・中国にて佐竹機械(蘇州)有限公司開業。 ・佐竹覚、東広島商工会議所会頭に就任。 ・「ISO9001」の認証取得。	

1999 年 (平成 11 年)	・財団法人経済団体連合会幹部のご視察をいただく。 ・佐竹覚、中国糧油学会の名誉副理事長に就任。 ・ブラジル国ポルトアレグレ市に SATAKE AMERICA LATINA LTDA. を設立。	
2000 年 (平成 12 年)	・佐竹覚が東京大学から工学博士号を取得。 ・無洗米製造装置「ネオ・ティスティ・ホワイト・プロセス」を発表。 ・食品産業優良企業表彰において農林水産大臣賞を受賞。 ・佐竹覚が科学技術振興に尽した功績により、勲五等に叙せられ、双光旭日章を受章。 ・佐竹覚の合同葬を挙行。	
2001 年 (平成 13 年)	・新型乾燥機「マジックドライヤー」発明功労賞を受賞。 ・4 代目経営者 佐竹利子が広島大学から名誉博士号を授与された。 ・佐竹利子が広島大学後援会理事長に就任。 ・社名を「株式会社サタケ」に変更。 ・佐竹利子が社団法人発明協会理事に就任。	
2002 年 (平成 14 年)	・サタケ OB 会設立。 ・佐竹利子に米国ルイジアナ州立大学より特別評議員の称号授与。 ・故佐竹覚が農業機械学会の森技術賞を受賞。 ・小型無洗米設備を発表。 ・佐竹利子が中国新聞社の中国文化賞を受賞。	
2003 年 (平成 15 年)	・「サタケメモリアルホール」設立支援。 ・日本赤十字社より「金色有功章」授与。 ・「ISO14001」の認証取得。	

2004 年 (平成 16 年)	・小泉首相来訪。 ・中国蘇州工場増設竣工。 ・インド連邦議会議長のご視察をいただく。	
2005 年 (平成 17 年)	・佐竹利子が京都大学から農学博士号を取得。 ・「サタケ八重山ヤシ記念館」設立支援。 ・財団法人経済団体連合会幹部のご視察をいただく。 ・広島大学との包括契約に調印。 ・クリスタルラボラトリー竣工。 ・「お米の学校」を開催。	
2006 年 (平成 18 年)	・ISO/IEC17025試験所認定取得。 ・インドニューデリー市にSATAKE INDIA ENG.PVT.LTDを設立。 ・「サタケ東北ショールーム」がオープン。 ・DNA判定装置が「財団法人日本穀物検定協会の精度確認機器」に認定。 ・ファミリー・フレンドリー企業表彰において「厚生労働大臣優良賞」を受賞。	
2007 年 (平成 19 年)	・サタケ・インターナショナル・バンコクを開設。 ・佐竹利子、南カリフォルニア大学より功績賞を受賞。 ・「ISO/IEC27001」の認証取得。	
2008 年 (平成 20 年)	・サタケ「にっけい子育て支援大賞」(第2回)を受賞。 ・選別加工総合センター完成、オープン。 ・光選別機の開発で大日本農会より「名誉賞状」受賞。	
2009 年 (平成 21 年)	・佐竹利子が発明協会より「発明奨励功労賞」を受賞。 ・食味鑑定団の開発で「日本食品工学会技術賞」受賞。	

2010 年 (平成 22 年)	・英国マンチェスターにSATAKE EUROPE LTD.を設立。 ・佐竹利子が産業振興の功績により、藍綬褒章を受章。 ・内閣府より「子ども若者育成・子育て支援功労者表彰」を受賞。	
2011 年 (平成 23 年)	・サタケ食品事業本部「ISO22000」を取得。 ・楽メシが「新技術・食品開発賞」を受賞。 ・「ピカ選」が日食優秀食品機械資材・素材賞を受賞。 ・ピカ選 GRAND「日本商工会議所会頭賞」を受賞。 ・無洗 GABA ライスを使ったおむすび店舗「おむすびの GABA (ギャバ)」を新規開店。	
2012 年 (平成 24 年)	・無洗 GABA ライスを発売。 ・韓国の機械メーカー「DAEWON GSI Co., Ltd.」と包括的提携契約を締結。 ・全国醸造機器用品展示会をサタケ広島本社で開催。	

以下、次号へつづく



“薬膳”の知恵 (84)

Key Words : 薬膳 ■ 茶 ■ 中国茶 ■ 茶飲

荒 勝俊*

本草学の始祖で、今日の中医生薬の基盤を築いたと伝えられる神農大帝（古代中国の三皇五帝の一人で、医薬と農業を司る神とされる）は、身近な草木の薬効を調べるために山野を駆け巡り、自らの体を使って草根木皮を嘗め、一日に72もの毒にあたるが、そのたびに茶の葉を用いて解毒したという話は有名である。

中国の唐時代（659年）に書かれた『新修本草』には、茶を薬用として用いた記録が書かれている。古代中国においては、茶は薬（解毒薬）として飲まれており、嗜好品として一般の庶民に飲まれるようになったのは宋時代以降からだと言われている。中国古来の伝承医学に基づく薬膳の知恵は、心身のバランスを改善し、日々の食生活の中から健康維持につなげていく最良の方法である。中でも、茶は薬として用いられていた歴史が長く、その効用は幅広く、優れた薬膳素材でもある。

2014年は、日本に禅宗（臨済宗）を広め、京都最古の禅寺“建仁寺”を開創し禅宗を日本国内に広めた栄西禅師（ようさいぜんじ : 1141～1215）の800年遠忌にあたる。栄西禅師は「茶

は養生の仙薬なり…」ではじまる『喫茶養生記』を著し、茶を日本に広めた人物でもあり、日本の茶の歴史は栄西が中国の宋から持ち帰った茶木と茶を飲用する技法から始まった。

そこで、今月からは日本茶や中国茶に関して詳しくご紹介したい。



1. 茶の歴史



1) 茶飲の歴史（中国）

中国は5000年の歴史を有すると言われるが、紀元前2700年頃（約4700年前）に神農大帝が山野を巡り、野草、樹木、鉱物などを嘗め、一日に72もの毒にあたりながら食材や生薬として利用できるかを調べ、毒にあたる度に茶の葉を用いて解毒したという話が残されている。また、神農大帝が木陰で湯を沸かしている時に鍋に一枚の木の葉が落ち、その湯が何とも芳しい香りがしたので思わず飲んだのが“茶の最初の発見”だとも言われている。

雲南省の少数民族の中には、自らの祖先を

* ARA Katsutoshi (技術士, 国際薬膳師, 漢方アドバイザー (JACDS), 薬草ガーデンマスター (JGS), 中国茶アドバイザー, 日本茶インストラクター (NIA), 中級評茶員, アロマテラピスト)

広く普及してきた様子が記載されている。陸羽が示した飲茶の方法は、固形茶を柔らかくなるまで炙り、紙袋に入れて冷ます。次に葉研（やげん）を用いて粉末にし、篩（ふるい）を通したものをを用いる。茶に注ぐ水は目の細かい絹でろ過したものを釜で沸かし、沸騰したら塩味を付け、竹箸で湯をかき回しながら茶の粉末を入れて飲むと書かれている。

晩唐になると、常袞（じょうこん）が福建省において、蒸した茶を“しめぎ”にかけた後、擂粉木（すりこぎ）と擂鉢（すりばち）とで細かく磨り潰して型に入れて成型し、餅茶を作る方法を伝えた。このお茶は“研膏茶（けんこうちゃ）”と呼び、皇帝への献上茶とされた。福建省の武夷山は研膏茶によって茶処として有名になった。更に、茶を細かく擂って固める事で茶葉の蠟成分を固形茶表面に出させ、蠟（ろう）のように緻密で艶やかに加工した“蠟面茶（ろうめんちゃ）”が作られるようになった。

宋の時代になると、「茶は唐に興り、宋に盛んになる」と称される様に、製茶製法が益々発展した。特に、「建安の北苑」（福建省建甌県の東、鳳凰山付近）において「龍鳳茶」という王侯貴族など支配階級用の高級茶（片茶）が作られ、“龍茶”は皇帝や親王専用の茶とし、“鳳茶”は皇族および大臣や將軍用の茶とされた。庶民には“白乳”と称される茶が下賜され、固形茶の全盛時代が開花した。祭襄（さいじょう）は、福建轉運使のときに「建安の北苑」を「帝室御用茶園」とし、そこで「小龍鳳団茶（上品龍茶）」を造り北宋の第四代皇帝仁宗（皇帝）に献上した。この茶は仁宗が非常に気に入った為、皇帝以外は飲む事ができなかった。六代皇帝神宗の時代になると「龍団鳳餅」が造られ、「小龍鳳団茶」は次品に落とされた。庶民の間では葉茶（散茶）による飲用が増え、その後烏龍茶へと移行していった。こうして、茶は貴族中心の文化から役人や文人など富裕な人々へと広がり、

茶を飲みながら趣味を楽しむといった文化が花開いた。また、茶の良し悪しを鑑定し、茶器の良否を競うといった「闘茶」という遊びも流行した。この時期、浙江省の西湖龍井茶や安徽省の黄山毛峰などの緑茶が知られるようになった。『大観茶論』の著者としても知られる徽宗が八大皇帝に即位すると、次々と新しい「片茶」が作られ、大観年間には「御苑玉芽」、「万寿龍芽」、「無比寿芽」、宣和2年には使用する茶葉は選り抜かれた芽の中の“蕊”一本を穿り出し、清水にて晒した「銀の針」の様なものだけを使うとされた、究極の「龍園勝雪」が作り出された。この様に、宋の時代は超高級な「片茶」造りに励んだ時代であった。

臨濟宗の祖であり、「茶は養生の仙薬なり…」ではじまる『喫茶養生記』を著したのでも有名な栄西禅師が宋を訪れたのは南宋時代で、南宋の二代皇帝孝宗の時代である。この時代になると、遣唐使などの大陸渡航が絶えて300年の月日が経ち、新たに日宋貿易などの海外貿易も始まった時期でもあり、南宋の最盛期を現出した時代でもあった。栄西禅師は二度宋を訪れ、天台山万年寺や阿育王山に詣でて禅宗への理解を深め、帰国時に茶種を持ち帰った。栄西禅師が持ち帰った茶の種を捲いたのが、背振山系の佐賀県神埼郡東脊振村界限に位置する靈仙寺であった事から、日本における茶の歴史はここから始まると言われている。栄西禅師から茶の種を貰った明恵上人が栴尾高山寺の前庭に植えられた良質の茶が宇治に伝わり、宇治茶が出来たとも言われている。栄西禅師が布教と共に茶の栽培を積極的に行った理由は、中国留学中に茶の養生延齢の効力（健康増進）を認めた事、そして茶の持つ不眠覚醒作用が禅の修行に必要であった事から、臨濟宗の普及に合わせて茶文化を普及させた動機であると言われている。

元の時代になると、高級片茶作りで栄華を誇った帝室御用茶園の「建安の北苑」（最盛期

は46の茶園を有した)の地位は「武夷山」に奪われた。元は北方の遊牧民(モンゴル族)が開いた王朝であった事から、移動に便利な固形茶が好まれた。

明の初代皇帝である洪武帝は贅沢を極端に嫌い、農民等に手厚い施策を講じたので、宋代において究極にまで高められた「片茶」の伝統を切り捨て、「散茶」(葉茶)が主流となり、上流階級に限られていた喫茶の習慣が庶民層にも広がっていった。明代末期には、福建省武夷山の岩茶が上流階級において珍重され、この稀少価値の高い優良茶を商人が大金をもって買い求めた。

清代に入ると、第六代皇帝の乾隆帝が即位した時期に中国は文化的に最盛期を迎え、「乾隆の春」と賞賛される時代であった。現在飲まれている茶の製法に関する基礎は乾隆帝の時代までに固まったとも言われており、お茶文化は最盛期を迎えた。福建省では、茶の香りを追求して作られた青茶(烏龍茶)が開発され、愛飲されるようになった。また、青茶のすばらしい香りを追求する工夫茶(くんふうちゃ)の手法が開発され、更に茶の香りの魅力を引き出す茶器(聞香杯(もんこうはい))の楽しみ方も普及した。喫茶習慣が欧米で一般化し、紅茶文化が確立したのもこの時期である。また、「宣興紫砂」を代表とする中国茶器も、この時期に現代の形にまで発展した。反面、本格化した欧米への茶

の輸出は「アヘン戦争」を招き、中国の半殖民地化という不幸な時代に突入した。

中華人民共和国の建国以後、中国茶は順調に発展を続けたが、毛沢東の文化大革命(1966～1976年)により、茶は贅沢の象徴として弾圧され、栽培が制限された。この時期、台湾や香港で茶の栽培が発展し、現在の台湾茶の基礎ができた。

【中国・上海近郊事情①】

日本の天台宗開祖である最澄(西暦804年に入唐)、円珍(西暦853年入唐)、栄西など、多くの日本の僧侶が唐代古刹・天台山万年寺を訪れている。

万年寺は浙江天台県万年山麓に位置し、南宋時代には“五山十刹”に数えられた禅寺である。また、天台山の山麓は古くから“雲霧茶”の産地で、茶の栽培も盛んにおこなわれ、万年寺は中日茶文化交流史の上でも大きな貢献を果たした事でも有名である。

栄西禅師は平安時代末期から鎌倉時代初期(中国では南宋時代)の僧で、万年寺において虚庵懷敞(きあんえしょう)から禅宗の教えを修業し、日本仏教の興隆に力を注いだ。当時、中国の禅寺では抹茶を仏前に供える習慣があり、座禅の時に眠気を無くす効用や体調を改善する薬効により、抹茶は禅僧に好まれ普及していた。栄西禅師は、万年寺で修行している時に



図2 万年寺

この事に衝撃を受け、喫茶法や効能などを日本に伝承した。

今回は“江戸の夢”を紹介する。

“江戸の夢”は宇野信夫作の新作落語で、昭和15年に六代目菊五郎と初代吉右衛門の歌舞伎演目として書かれた。昭和42年に宇野自身の手で三遊亭圓生のために落語化された。

【江戸の夢】

東海道丸子の在、日陰村の庄屋の武平の処に、金比羅詣りのみすばらしいなりの男がおとすれた。

藤七：「身寄り便りがないのでこちらで使って下さい」

それから6年、武平のところで奉公人として働いていた。

ある日、武平の娘のお照が母親のお楽に

お照：「藤七と一緒にして下さい」

と泣きついてきた。

お楽は、一人娘を奉公人と一緒にさせる事は出来ないと武平に相談するが、

武平：「そんな事を言ったって、当人同士が良いと言うならしょうが無かろう」

お楽：「あきれたね。あの通り藤七は働き者だし、親切で男っぷりも悪くは有りませんよ。でも、何処で生まれたのか、親の名も言わずにそんな、得たいの知れない者に娘をやりたく無いよ」

武平：「そんな事を言ったって、藤七にだって親が有るから生まれたのだよ。氏素性が知れないと言っても、あれの普段からの行儀作法や言葉使いを見たら、決して悪い所で育った人間じゃない」

相談の末、当人同士が惚れあってしまったのは仕方が無いと、二人を一緒にさせる事になった。結婚すると、藤七は自分を殺して今まで通りに奉公人同様に一生懸命に働き、お照を大事にして仲の良い事でした。そんな二人に武平夫婦も



図3 江戸の夢

安心し、二人で江戸見物に行こうかという事になった。

そこで、藤七に江戸見物の相談をする。

その話を聞いて、藤七はそれから庭に茶の木を植えて端正に育てて武平夫婦が江戸見物に行く前の晩に武平に相談をする。

武平：「お茶が入ったからこちらに来て一緒に飲まないか？お前は茶の木が好きだな。暇が有ると其処に居ても茶の木を見ている」

藤七：「私は葉茶屋に奉公をした事があります。自分でお茶を摘んだ事も御座いますので、こうして眺めておりますと色々な事が思い出されます」

武平：「さあ、お茶が入った。お上がり」

藤七：「有り難う存じます。おとつつあん、私どもは何の気無しにこうして毎日お茶を頂いて居りますが、昔、臨済宗の開祖栄西禅師が唐から始めて日本に持ち帰った物だそうで、京都梶尾の高山寺の明恵上人に差し上げたのが、始まりだそうです」

武平：「う～～ん。そうか」

藤七：「それから宇治、駿河に茶の木を移し、今では方々でお茶をこしらえる様に成りましたが！一番始めに植えたのは、三つの茶の実だったそうです。今でも高山寺に参りますと三つの茶の実を入れて来た茶筒が有ると聞いて居ります」

武平：「お前はなかなかの学者だな。それでは、その三つの茶の実が今は幾つに成っているか判るか」

藤七：「それは私も良く存じあげません」

武平：「覚えて置きなさい。茶の実が干に成ってから、始めてお湯を入れて飲む様に成った。干に成って飲んだから“煎茶”と言う」

藤七：「どうも恐れ入りました」

藤七：「おとっあん、お願いが御座います。お詣りに成りましたら、浅草の雷門の前に並木とか申す所が御座います。そこに奈良屋と言うお茶屋が有るのですが、そこをご主人は茶の目利きに掛けては右に出る者が無いと言う評判です。そこで、私のこしらえたこのお茶の出来の良し悪しを聞いて頂きたいのですが」

武平：「あ、良いとも。雷門の前の奈良屋だな」その後、藤七とお照夫婦の間に子が宿った事も分かり、大喜びで武平夫婦は江戸に立ちました。江戸の旅も、最後に浅草へ行ってお参りをして雷門から並木に出てくる。奈良屋は浅草界隈でも立派なお茶屋で、主人の宗味と言う人は將軍家で度々お茶を点てて差し上げたと言う茶人でした。

武平：「御免下さいまし」

店の者：「いらっしゃいまし。どちら様で？」

武平：「私は、東海道は丸子の在日陰村の庄屋で武兵衛と申します者です。実は私どもの婿が茶をこしらえまして、こちらのご主人様に出来の良し悪しを見て頂きたいと思ひまして参上しました」

店の者：「手前共の主人が奈良屋の宗味だとか承知で御座いますか？それはできぬ相談ですな」

宗味：「お待ちなさい。手前がお尋ねの奈良屋の宗味で御座います。何か婿殿にご丹精のお茶をお持ちとか、拝見を致します」

懐から懐紙を取り出しまして、茶筒から茶を少し載せ、少しつまんで静かに味わう。

宗味：「このお茶をこしらえられた婿殿とはどのようなお人で御座いますか」

武平：「藤七と申しまして、誠に働き者で機転

も利き良い男で御座います」

宗味：「同じ村からのご縁組みで？」

武平：「そうでは御座いません。今から六年前…(藤七との出会いを説明)。昨年の秋に二人を一緒にさせまして御座います」

お楽：「私も始めは嫌だったんで御座います。ところが、娘を大事にしてくれ、私どもにも孝行を尽くしてくれます。こうして江戸見物に来ることが出来たのも、そのお陰で御座います」

武平：「それに、程なく子供が産まれますので」

宗味：「それはお楽しみな事で。ところで、其の婿殿は、お酒はお好きで・・・？」

武平：「生まれつきの下戸だと申して居ります。お酒を見ると当人が逃げ出す様な始末です」

宗味：「良く打ち明けてお話し下さいました。ところで、ここに不思議なおはなしが御座います。このお茶の挽き方で御座いますが、この広い世界に私と私の倅の二人しか知らぬ秘技で御座います。先年將軍家にこのお茶を点てて差し上げてお褒めのお言葉を頂いたのが、今から丁度六年前・・・」

武平：「それでは私の婿の藤七はこちら様の・・・？」

宗味：「それは違います。倅は死にました。誠に気だても良く、家業に励み、働き者の男で御座いました？ところが酒をたしなみますと酔った上の口論から人を殺めてしまいました。その倅も六年前に遠い所に参りました」

宗味：「久しぶりに飲むこの茶の味わい。婿殿にお伝え願います。奈良屋宗味より他に知る者も無いこの至宝をよくぞ会得された茶の味わい 宗味が喜んでいたと言付けを願います」

武平：「判りました」

送られて表に出ると、初夏の日差しは激しく、その中をツバメが白い腹を見せて飛びかっていた。

お楽：「チョット待って下さいよ。何でこんな

にむやみに急いで歩くのですか。お前さん。あ
の方が内の藤七の親御さんだったのだね」
武平：「黙って歩け。何も言うな・・・」
お楽：「でもお前さん。未だに宗味さんは門の

前でお辞儀をしていらっしゃるよ」
武平：「藤七の常日頃の行儀の良さや言葉使い」
お楽：「あの茶人の子だったんだね」
武平：「ウン。氏は（宇治）争えんものだ」

*****◀

・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) おいしい中国茶 林聖泰 PHP 研究所
- 2) 中国茶の事典 成美堂出版社
- 3) 茶時遍路 陳瞬臣著 朝日新聞社
- 4) 中国茶譜 宛曉春主編 中国林業出版社
- 5) 中国茶図鑑 工藤佳治、兪向紅著 文藝春秋
- 6) 栄西と臨済宗 別冊太陽 禅文化研究所監修 ムック
- 7) 栄西と禅の世界 別冊宝島 宝島社
- 8) 栄西の道 宮脇隆平著 禅文化研究所
- 9) 茶文化交流の向こうみあるもの、ヒマラヤ学誌, 14, 264-272(2013)

<http://www.newfoodindustry.com/>

ニューフードインダストリー 第56巻 第11号

印刷 平成 26 年 10 月 25 日
発行 平成 26 年 11 月 1 日
発行人 平井 朋美
編集人 結城 ななみ
発行所 株式会社食品資材研究会
〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10(共同ビル新神田)
TEL:03-3254-9191(代表)
FAX:03-3256-9559
振込先:三菱東京UFJ銀行 京橋支店(普通)0070318
三井住友銀行 日本橋支店(当座)6551432
郵便振替口座 00110-6-62663
印刷所 モリモト印刷株式会社
定価 本体2,000円 +税 (送料100円)

email:newfood@newfoodindustry.com