

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2016 Vol.58 No.9

9

論 説

- 果肉まで赤い新品種リンゴ「紅の夢」の健康機能性とその魅力
- エノキタケ菌糸体の純水保存の試み
- 高付加価値を有するDHA含有リン脂質の製造方法
Microbial Production of Value-added Docosahexaenoic Acid-containing phospholipids.
- 水耕栽培ラディッシュの主根に対するLED照射の影響
- 豆乳を利用した新規グルテンフリー米粉パンの開発
- 機能性表示食品制度業界動向と三生医薬の取組み
- ワムシへの抗酸化剤強化がヒラメ種苗の成長、変態速度、体型異常を改善する

酒たちの来た道

- 酒造りの文明史⑦

驚くべきヒット商品

- チーズ市場に全く新しいチーズを創造した驚くべきヒット食品
－『さけるチーズ』雪印メグミルク株式会社－

連載 野山の花 － 身近な山野草の食効・薬効 －

- ゲンノショウコ *Geranium thunbergii* Siebold et Zuccarini (フウロソウ科 Geraniaceae)

連載 デンマーク通信

- デンマークの夏のデザート

隔月連載 管理栄養士 てるこ先生の家庭の食文化

- 第11回 高畑町境界の秋

ILSコラム

- 大学生(男子)競泳短距離選手の高地トレーニングでのヘム鉄摂取試験



論 説

- 果肉まで赤い新品種リンゴ「紅の夢」^{くれない ゆめ}の健康機能性とその魅力
..... 前多 隼人, 吉仲 怜, 福田 麻理, 石川 春奈, 松本 和浩 1

- エノキタケ菌糸体の純水保存の試み
..... 富樫 巖, 石川 捺季, 小林 育美 7

- 高付加価値を有する DHA 含有リン脂質の製造方法
Microbial Production of Value-added Docosahexaenoic Acid-containing Phospholipids.
..... 永峰 賢, 高谷 政宏, 深野 透, 吉田 磨仁, 森田 直樹 13

- 水耕栽培ラディッシュの主根に対する LED 照射の影響
..... 小林 晶子 21

- 豆乳を利用した新規グルテンフリー米粉パンの開発
..... 新井 映子, 伊藤 聖子 27

- 機能性表示食品制度業界動向と三生医薬の取組み
..... 建穂 一樹 36

- ワムシへの抗酸化剤強化がヒラメ種苗の成長, 変態速度, 体型異常を改善する
..... 酒本 秀一, 澤山 英太郎 43

酒たちの来た道

- 酒造りの文明史⑦
..... 古賀 邦正 53

Contents

2016 年 9 月号

驚くべきヒット商品

- ☐ チーズ市場に全く新しいチーズを創造した驚くべきヒット食品
— 『さけるチーズ』雪印メグミルク株式会社—
..... 田形 暁作 69

連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

- ☐ ゲンノショウコ *Geranium thunbergii* Siebold et Zuccarini
(フウロソウ科 Geraniaceae)
..... 白瀧 義明 76

新連載 デンマーク通信

- ☐ デンマークの夏のデザート
..... Naoko Ryde Nishioka 78

隔月連載 管理栄養士 てるこ先生の家庭の食文化

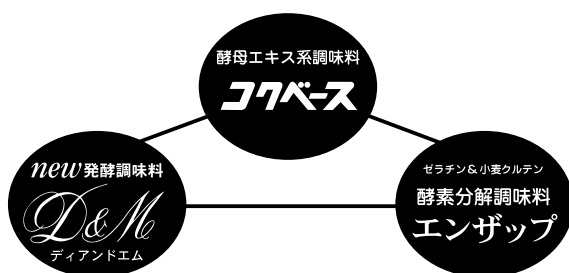
- ☐ 第 11 回 高畑町界隈の秋
..... 中村 照子 80

ILS コラム

- ☐ 大学生 (男子) 競泳短距離選手の高地トレーニングでのへム鉄摂取試験
..... I L S 株式会社 前付 6

おいしさと健康に真剣です。

酵素分解調味料なら
大日本明治製糖へ



(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
特長がある乳糖酵母エキスです。



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

果肉まで赤い新品種リンゴ

「^{くれない}紅の夢^{ゆめ}」の健康機能性とその魅力

前多 隼人 (TOGASHI Iwao)¹ 吉仲 怜 (Yoshinaka Satoshi)¹ 福田 麻理 (FUKUDA Mari)¹
石川 春奈 (ISHIKAWA Haruna)¹ 松本 和浩 (MATSUMOTO Kazuhiro)^{1, 2}

¹ 弘前大学農学生命科学部 ² 弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター

Key Words : リンゴ ポリフェノール アントシアニン α -グルコシダーゼ阻害活性

はじめに

青森県はリンゴの生産量が全国第一位であり、実に全体の57.3%の46万8千トンを生産している（平成26年）。一方で日本国内のリンゴの消費量は減少してきており、今後TPPなどの兼ね合いからより魅力的な品種の生産が求められている。「紅の夢」（くれないのゆめ）は弘前大学が育種したこれまでにない特徴をもった新品種のリンゴである（図1）¹⁾。最大の特徴は中身の果肉に赤いアントシアニンが蓄積する点である。このようなリンゴは赤肉品種と呼ばれ、ヨーロッパなどでは加工用品種として一部利用されているが、日本での認知度はまだ低い。また赤肉品種は一般的には渋味や酸味が強いものが多いことから、加工用のリンゴでの用途が大半である。一方、「紅の夢」はほどよい



図1 弘前大学が開発した果肉まで赤い新品種リンゴ「紅の夢」

酸味であり、生食も可能な点である。弘前大学ではこれまで地域の生産者や企業と連携し、次世代のリンゴ品種として赤肉リンゴの研究と普及を進めてきた。

本稿では「紅の夢」を中心とした赤肉リンゴの加工特性を含めた特徴と魅力、またこれまで取り組んできた健康機能性に関する研究について紹介する。

1. 果肉まで赤いリンゴ「紅の夢」

弘前大学は古くからリンゴの栽培法、新品種の育種に関わる研究に取り組んでいる。「紅の夢」は、1981年からスタートしたリンゴ育種プロジェクトの一環として、1994年に交配した種子から誕生した。実は赤肉リンゴは当初の育種計画にはなく、花粉を運ぶ蜂が何かのいたずらで偶然誕生したことから「神様がくれたリンゴ」として大切に育てられてきた。その後の特性や育種の研究の後、2010年に満を持して品種登録され、2013年からは大学と独占契約を結んだ地元の種苗会社（株）原田種苗より苗木の販売が開始されている。現在、次世代のリンゴとしてブランド化を推進している。糖度が約13%、酸度約0.9%で程よい酸味があり、他の赤肉品種と比較して渋みがないことから生



図2. 果肉の赤色を生かした加工品
左) 紅の夢を使ったリンゴジュース、リンゴジャム
右) ケーキとアップルパイ

のまま食べられる。また加工しても色が鮮やかに残るため、着色料の使うことなく、鮮やかなピンク色を生かした食品を開発することが可能である。ジュースやジャム、ドレッシングなどの原材料として使用でき、一部は既に販売が開始されている（図2）。

また、切った後に褐変しづらい特徴を持つことから、調理用の用途にも活用できる。リンゴの褐変は果肉に含まれるポリフェノールオキシダーゼの作用により酸素と反応し、キノンが形成するためである。図3は果肉のポリフェノールオキシダーゼの活性を、「ふじ」と比較した

ものである。「ふじ」は世界で最も生産量の多いリンゴ品種であることから、リンゴの品質特性を比較する上で比較対照として使われることが多い。「紅の夢」、「ふじ」の果肉からアセトンパウダーを調製した。その後、緩衝液中で破碎抽出、遠心分離をおこない粗酵素液を得た。続いてカテキン、およびクロロゲン酸を基質として酵素反応をおこない、ポリフェノールオキシダーゼの活性を測定した。その結果、「ふじ」と比較してカテキンで32.5%、クロロゲン酸で

45.4% 低い活性を示した。このことからサラダやデザートなどの調理用にも利用しやすく、きれいなピンク色を生かしたアップルパイを作ることが可能である。褐変の心配が少ないことから、最近コンビニや自動販売機などで見かけるようになったカットリンゴ（カットした状態でビニール包装し、冷蔵で数日間保存可能な加工製品）にも使用できる。

このように「紅の夢」は様々な用途に利用可能な可能性を秘めた品種である。一方でリンゴは品種ごとに旬の時期が限られ、長い期間出荷することが難しい作物である。海外のよ

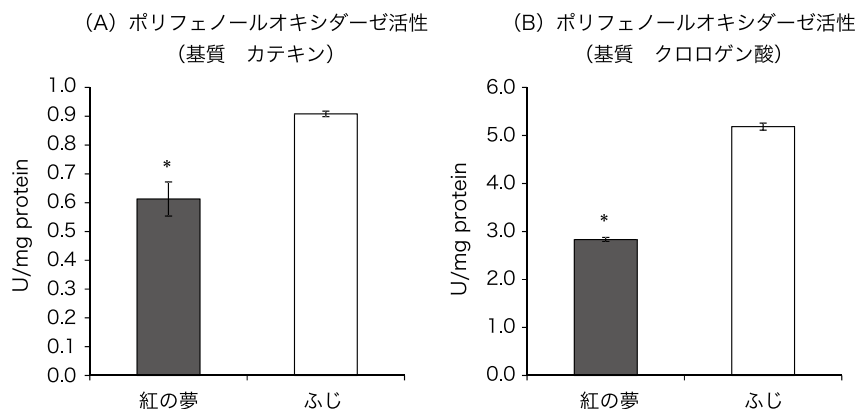


図3 リンゴの褐変度合いに関係する果肉のポリフェノールオキシダーゼ活性
(A) 基質カテキンの場合 (B) 基質クロロゲン酸の場合 * $P<0.05$ vs ふじ

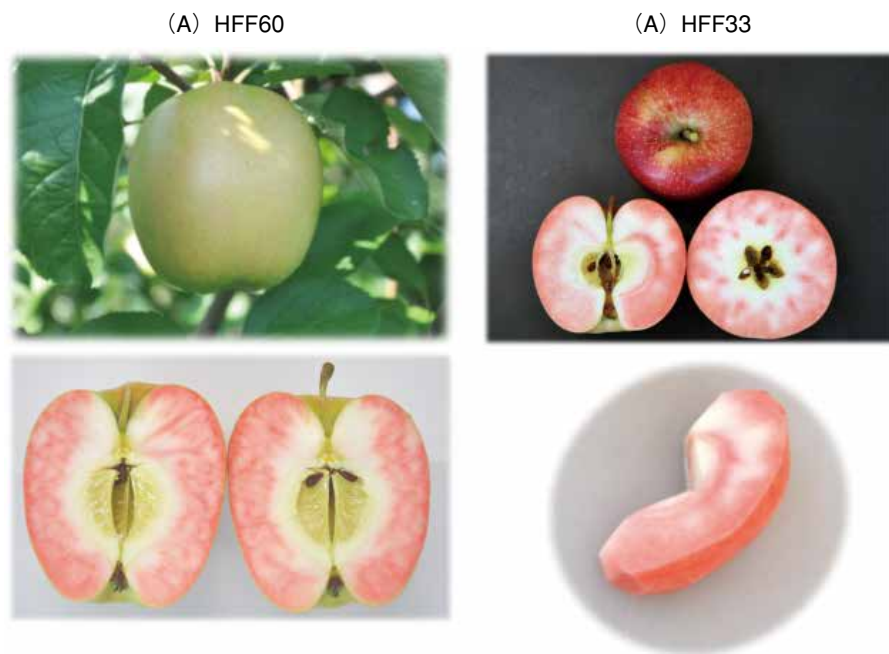


図 4. 紅の夢に続く新品種の赤肉リンゴ

(A) 果皮が黄色く、早生の品種 HFF60 (HIROSAKI UNIVERSITY FUJISAKI FARM STRAIN 60)

(B) 果皮が赤く、収穫時期が遅い品種 HFF33 (HIROSAKI UNIVERSITY FUJISAKI FARM STRAIN 33)

うに赤肉品種のリンゴが認知され一定のシェアを獲得するためには、収穫時期の異なる品種を開発が急務である。「HFF60」(HIROSAKI UNIVERSITY FUJISAKI FARM STRAIN 60)、「HFF33」は2014年から苗木販売が開始された収穫時期の異なる品種である(図4)。「HFF60」は青森県では収穫時期が9月下旬～10月上旬と中生の品種であり、果皮が黄色で果肉が赤くなる品種である。「HFF33」は「紅の夢」収穫後の11月上旬～中旬の収穫であり、果皮、果肉ともに赤い品種である。「HFF60」は糖度約13%、酸度約0.4%、「HFF33」は糖度約13%、酸度約0.4%と両者とも酸味が少なく、「紅の夢」と比較し甘いことが特徴である。このように赤肉の新品種開発によって、日本のリンゴ市場での赤肉品種の一定シェア獲得を目指した研究が進められている。

2. 「紅の夢」のポリフェノールの健康機能性

リンゴは古くから「一日一個のリンゴは医者

を遠ざける」という諺があるように、抗酸化作用や脂質代謝改善作用、整腸作用などの機能性が既に報告されている²⁾。一方で「紅の夢」は新品種のリンゴであることから、成分分析も含め機能性についての検討がされていない。そこでポリフェノール成分を中心に機能性の検討をおこなった。

果肉を凍結乾燥した後、色素成分の抽出を行い、果肉に含まれている赤色色素の分析をHPLCにておこなった。その結果、赤色の成分は主にアントシアニンのシアニジン-3-ガラクトシドであり、果肉乾燥重量100gあたり約2mg含まれていた。これは果皮に含まれているアントシアニンと同様の成分である。次に乾燥重量あたりに含まれる果肉中の総ポリフェノール含量をフォーリンデニス法で測定し、他の品種と含量の比較をおこなった。その結果、総ポリフェノール含量は「ふじ」や「王林」と比較し、約1.5倍高いことが示された(図5)。「紅玉」は現在アップルパイなどの加工・調理用の用途が多い品種である。「御所川原」は青森県

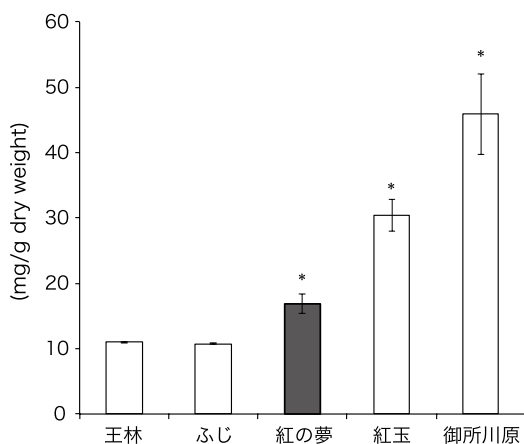


図5 リンゴ乾燥重量1gあたりの総ポリフェノール含量（没食子酸相当） * $P < 0.05$ vs ふじ

五所川原市でのみ栽培されている赤肉品種だが渋味が残ることから加工用に活用されている品種である。これらの二品種と比較すると「紅の夢」はポリフェノール含量が低い、これが赤肉品種にも関わらず渋みがなく生食できる理由と考えられる。

リンゴに含まれる主要なポリフェノールはクロロゲン酸、フロリジン、プロシアニジンなどである。HPLC分析による定量の結果、「紅の夢」の果肉に含まれるクロロゲン酸は $77.5 \pm 30.4 \mu\text{g/g dry weight}$ であり、「ふじ」の $188.5 \pm 14.4 \mu\text{g/g dry weight}$ と比較すると低い含量であった。一方、フロリジンは「紅の夢」には $105.4 \pm 22.8 \mu\text{g/g dry weight}$ であり、これは「ふじ」の $27.6 \pm 1.3 \mu\text{g/g dry weight}$ と比較すると有意に高い値であった。

フロリジンはリンゴなどのバラ科の植物に含まれるポリフェノールの一種であり、腸管のナトリウム依存性グルコーストランスポーターでの糖の吸収を拮抗的に阻害する効果の他、抗炎症作用の機能が報告されている成分であ

る^{3,4)}。そこで腸管内での糖吸収に関わる α -グルコシダーゼの阻害活性を測定した。

α -グルコシダーゼ阻害活性は倉兼ら⁵⁾の方法を参考におこなった。基質としてマルトースおよびスクロースを使用した。サンプルには「紅の夢」、「ふじ」、「御所川原」の果肉の凍結乾燥物から80%エタノールにてポリフェノール成分の抽出し、抽出物を蒸留水にて100 mg/mLの濃度に調製したものを用いた。酵素液はラット腸管アセトンパウダーを0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.0)に溶解したものを用いた。それぞれのサンプルを加え37℃90分間酵素反応をおこなった後、0.2 M炭酸ナトリウム水溶液にて反応を停止した。その後反応液中のグルコース生成量を測定した。その結果、「紅の夢」は「ふじ」よりも有意に強い阻害活性を示した。またその効果はポリフェノール含量が多い「御所川原」と同程度の阻害活性であった(図6A)。そこで次に動物実験による糖負荷試験を実施し、*in vivo*での効果を検証した(図6B)。C57BL/6Jマウスを15時間絶食した後、2 g/kg body weightの割合でマルトース水溶液、および「紅の夢」抽出物を333 mg/kg body weightの割合で投与し、その後血糖値の変化を測定した。その結果、コントロール群では経口投与20分後に血糖値が $334 \pm 18 \text{ mg/dL}$ まで上昇したの

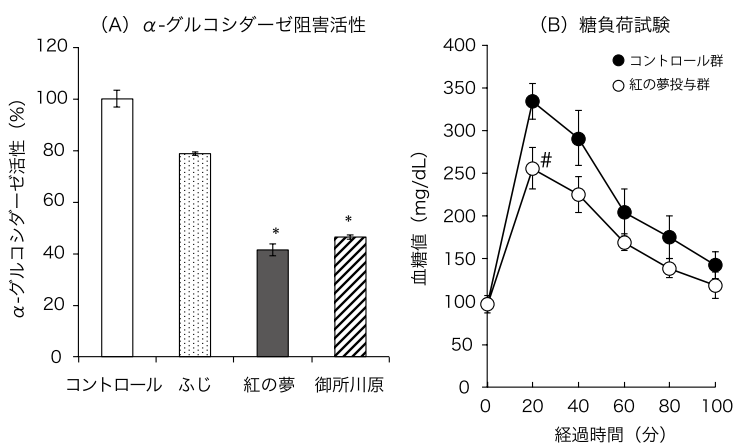


図6 紅の夢リンゴの抽出物による糖吸収抑制作用

(A) 果肉抽出物の α -グルコシダーゼ阻害活性

(B) 糖負荷試験による糖吸収の抑制効果

(* $P < 0.05$ vs ふじ, # $P < 0.05$ vs コントロール群)

に対し、「紅の夢」抽出物投与群では $284.8 \pm 17 \text{ mg/dL}$ と有意に血糖値の上昇が抑えられた。またその後の血糖値の低下も早かった。よって「紅の夢」の可食部に含まれるポリフェノールを含む成分は血糖値の上昇を穏やかにする効果を示すことから、高齢者など身体が弱った方にも提供できる可能性があるリンゴ品種であると考えている。



3. 紅の夢の未利用資源の化粧品への活用

リンゴの加工食品産業が盛

んな青森県では、リンゴジュースの生産工場から大量に排出される搾りかすの処理が課題となっている。リンゴ搾りかすは水分が多いことから、焼却処分が難しく、堆肥や飼料の用途が中心となっている。一方で、乾燥物には食物繊維が約 39% 含まれていることから、一部では食物繊維入りの機能性食品の素材として活用が始まっている。特に「紅の夢」のリンゴジュースの搾りかすは果皮や果肉のポリフェノールやアントシアニンが残っており、他のリンゴの搾りかすとは別の用途に使用可能である（図 7）。我々は地元企業や研究機関と協力し、未利用資源を活用した製品として化粧品素材への活用を進めている。

紫外線を浴びると皮膚の細胞ではメラニンが合成される。メラニンは肌や髪の色を黒色の色素で、皮膚では過剰な光の吸収し紫外線から皮膚を保護する役割がある。一方で、強い紫外線を浴びるとメラニンが過剰に生成し、シミの原因となる。植物に含まれるポリフェノール成分にはメラニンの合成を抑制する作用がある報告⁶⁾があることから、「紅の夢」に含まれるポリフェノール成分のメ

図 7 紅の夢リンゴジュースの搾りかすと、それらの未利用廃棄物を活用した加工製品の例

ラニン生成抑制作用について検討した。マウス由来 B16 メラノーマ細胞を 24 時間前培養した後、メラニン生成促進培地に培地交換し、その際にクロロゲン酸、「ふじ」および「紅の夢」の果肉 80% エタノール抽出物を培地に添加した。72 時間後に細胞を回収し、細胞でのメラニン色素の蓄積量を測定した。その結果、リンゴに含まれるポリフェノールであるクロロゲン酸がメラニンの合成を抑制する作用があることが明らかになった（図 8）。さらに、リンゴの抽出物にもその効果があり、「紅の夢」抽

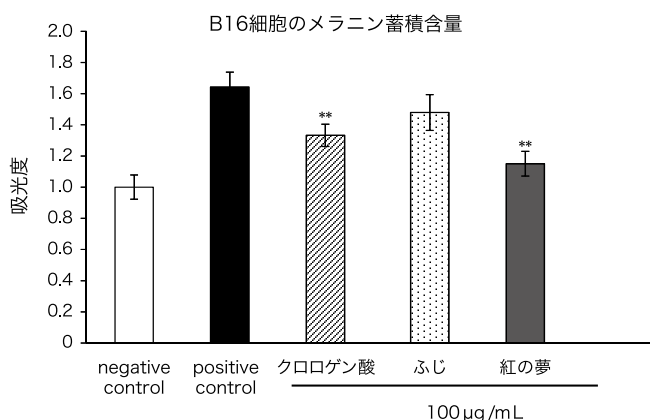


図 8 クロロゲン酸、およびリンゴ抽出物によるメラニン生成抑制作用 (** : $P < 0.05$ vs positive control)

出物の効果が強いことが示された。このことから紅の夢リンゴの成分にはメラニンの合成を抑制し、シミやそばかすを防ぐ働きがあることが示唆された。このような結果をもとに、地元企業と搾りかすからの抽出物を添加した美容ローションと保湿クリームの試作をおこなった。またリンゴエキス入りのリップクリームの販売が既に開始されている（図7）。

4. 赤肉リンゴの市場でのニーズ

次世代のリンゴとして「紅の夢」をはじめとした赤肉品種が日本で受け入れられるかどうかについて探るため、「紅の夢」のカットリンゴの試食を全国規模も展示会で実施し、アンケート調査をおこなった（アグリビジネス創出フェア2012年11月14～16日実施、789名から回答）。その結果、全体の80%から「おいしい」の回答を得ることができた。また、「果肉が赤く着色するリンゴについてどう思うか？」の問いに対しては、「きれい」（33%）、「かわいい」（22%）、「おいしそう」（19%）、「健康に良さそう」（4.6%）といったポジティブな回答が得られている。さらに、加工食品に関して、「着色料を添加しなくても加工品が赤く色づきますが商品の評価に影響を与えるか？」と問いには、「健康に良さそうなイメージで価値が向上する」（40%）、「安心・安全なイメージで価値が向上する」（33%）と加工食品に対する消費者の健康・安全志向を反映した回答を得た。このような動向からも次世代のリンゴとして十分に消費者の興味を引くことが可能であることが示唆さ

れた。今後生産量が拡大してきた時期には、高付加価値のブランドリンゴとして流通する可能性がある。

おわりに

「紅の夢」は見た目がきれいで生食だけではなく、様々な加工食品にも活用可能な品種である。また抗酸化作用が期待できるポリフェノール含量が比較的多く、また血糖値の上昇を穏やかにする効果も示唆された。リンゴは日本では皮を剥いて食べることが多いが、「紅の夢」は可食部にアントシアニンが含まれることから、見た目が美しいだけではなく、機能性成分のアントシアニンも摂取できるリンゴ品種であるといえる。紅の夢以外にも全国各地で新しい赤肉品種が誕生してきており、今後日本においても赤い果肉のリンゴが一定のシェアを獲得する時代が来ることが予想される。「紅の夢」のさらに、詳しい情報に関しては弘前大学育成新品種「紅の夢」公式ホームページ（<http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/kurenainoyume/>）を参照して頂きたい。

謝辞

本研究は、文部科学省特別経費プロジェクト「リンゴ産業をモデルとした大学COC拠点整備事業—赤い果肉リンゴを核とした地域活性化—」の活動、および農林水産省平成25年度新需要創造フロンティア育成事業「赤い果肉リンゴの有機性廃棄物の機能性を活用したブランド化の推進」の助成にておこなわれた。

参考文献

1. 松本和浩, 前多隼人: 切った瞬間、驚きに包まれるリンゴ‘紅の夢’。生物工学会誌。 **92**: 34-35, 2014.
2. 神田智正: 第3章第4節. 色から見た食品のサイエンス. 289-290, 2004.
3. Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, *et al.*: Phlorizin: A review. *Diabetes Metab Res Rev.* **21**: 31–38, 2005.
4. Chang WT, Huang WC, Liou CJ: Evaluation of the anti-inflammatory effects of phloretin and phlorizin in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages. *Food Chem.* **134** (2):972-979, 2012.
5. Kurakane S, Yamada N, Sato H, *et al.*: Anti-diabetic effects of Actinidia arguta polyphenols on rats and KK-Ay mice. *Food Sci Tech Res.*, **17** (2):93-102, 2011.
6. Shoji T, Masumoto S, Moriichi N, *et al.*: Procyanidin trimers to pentamers fractionated from apple inhibit melanogenesis in B16 mouse melanoma cells. *J Agric Food Chem.* **53** (15):6105-6111, 2005.

エノキタケ菌糸体の純水保存の試み

富樫 巖 (TOGASHI Iwao)¹ 石川 捺季 (ISHIKAWA Natsuki)¹ 小林 育美 (KOBAYASHI Ikumi)¹

¹ 旭川工業高等専門学校

Key Words : 菌株保存 非凍結 生存率 子実体生産

はじめに

食用菌の菌株保存においては、設備的に恵まれている試験研究施設等であれば温度 -80℃ 以下での凍結保存法が用いられる¹⁻⁶⁾ が、一般には 5~10℃ での継代培養保存法が汎用されていると考えられる。一方、エノキタケ菌株を継代培養保存すると発茸温度である 5~20℃⁷⁾ と重なることで、保存培地に子実体が発生しやすい欠点がある⁸⁾。

本誌の 55 巻 1 号で著者らは、低コストを目指したエノキタケ菌株の凍結保存の試みとして純水を凍結保護液とした菌体ディスク法を用い、-20℃ (一定) および平均温度 -18.5℃ (-20~-12℃) の家庭用冷凍庫での試みを紹介した。150 日間までの凍結保存データではあるが、-80℃ 凍結と比較すると -20 および -18.5℃ 凍結

した場合に菌体ディスクからの菌糸再生は 3 日程度遅れるものの、子実体生産能には影響がみられないことを報告した⁸⁾。

本検討では、より低コストかつより手軽なエノキタケ菌株の保存方法の確立を目指し、菌糸体と前培養寒天培地からなる菌体ディスク、それらを覆う純水をクライオチューブに投入した後に 7℃、15℃、25℃ および室温 (変温) での非凍結保存を試み (図 1 参照)、生存状況と子実体生産能に及ぼす影響を観察した。純水を用いる狙いは、エノキタケ菌糸体の乾燥防止と呼吸抑制、すなわち酸素供給を抑えて生理活性低下を図ること、および子実体の形成阻止である。

1. 非凍結状態での純水保存

1.1. 供試菌株, 供試材料, 菌株の保存条件, および生存率の測定方法

供試菌のエノキタケ *Flammulina velutipes* (Curt.:Fr.) Sing. には、野生系 (A01) と白造り系 (A53) の 2 菌株に加えて、一部の試験においては NBRC 30602 (北海道産株)、NBRC 30875 (韓国産株)、NBRC 30905 (NZ 産株) および NBRC 33210 (京都大株) の 4 菌株を追加した。いずれもポテトデキストロース寒天 (日



図 1 菌体ディスクと純水を投入したクライオチューブ

表 1 7℃、15℃、25℃での純水保存の菌糸再生状況

供試菌株	保存温度 (℃)	最大保存 日数	最大保存日数 での生存率 (%)	生存率 100% に至った 25℃での培養日数			
				60 日間 保存	120 日間 保存	150 日間 保存	180 日間 保存
A01	7	180	100	1	3	-	2
	15	150		2	2	2	-
	25	180		2	2	-	2
A53	7	180		2	2	2	2
	15	150		2	2	2	-
	25	180		2	2	-	2
				28 日間 保存	56 日間 保存	84 日間 保存	112 日間 保存
NBRC 30602	7	112 (16 週間)	100	2	3	2	3
NBRC 30875				2	3	2	2
NBRC 30905				2	3	2	2
NBRC 33210				2	3	3	3

注) -: 未測定

水製菓製, 以下 PDA) 平板培地を用いて温度約 7℃で継代培養保存していたものである。各試験に用いる場合には, 直径 9 cm の PDA 平板培地に供試菌株を接種して 25℃で 1 週間 (A01, A53), 9 日間 (NBRC 30875), 2 週間 (NBRC 30905, NBRC 30602), および 3 週間 (NBRC 33210) 培養し, コルクボーラで培地ごと打ち抜いた直径 5mm の菌体ディスクを接種源とした。乾燥防止等の保護液には, 高圧蒸気殺菌処理 (121℃・15 分) した純水を供試した。

1.8mL クライオチューブ (Nunc 製インナーキャップ式)⁴⁾ に各菌株の菌体ディスク 5 枚と純水を投入分注し, 純水で同ディスク全体を覆った。それらを約 7℃の家庭用冷蔵庫, 15℃と 25℃のインキュベーターの各環境下へ 180 日間 (一部, 320 日間) 保存, または室温 (112 日間の平均 19.5℃・12.1~26.8℃) で保存した。経時的にサンプリングしたクライオチューブ中の菌体ディスク 5 枚を PDA 平板培地 1 枚に接種し, 25℃のインキュベーターで 10 日間培養することで 供試菌株の菌糸再生状況を実態顕微鏡にて観察した。菌体ディスクからの発菌, 菌糸再生が PDA 平板培地に伸長する活着までに要した日数を測定し, 活着時点を生存と判断して各生存率を求めた。5 枚の菌体ディスク全てが活着すると生存率が 100% となる。

1.2. 7℃, 15℃, 25℃保存での菌糸再生状況

温度 7℃, 15℃, 25℃の環境下に A01 と A53 の菌体ディスクを最大 180 日間保存, 7℃のみに NBRC 30602, NBRC 30875, NBRC 30905 および NBRC 33210 の 4 菌株の各菌体ディスクを 112 日間 (16 週間) 保存して生存率を観察した。結果的に, いずれの場合にも生存率 100% が維持された。表 1 に, 各供試菌株が生存率 100% に達するまでに要した 25℃での培養日数を示す。A01 と A53 の両菌株ではいずれの温度でも 180 日間までの保存においてほぼ 2 日間以内の培養で生存率 100% が確認できた。

一方, NBRC の 4 菌株については 7℃・112 日間までの保存において 3 日間以内の培養で 100% が確認できた。前報 (本誌 55 巻 1 号) に示した純水使用・-20℃凍結保存における菌糸再生 (生存率 100%) に要した培養日数は, A01 菌株で 30 日間凍結が 2 日間, 120~150 日間凍結が 4 日間, A53 菌株で 30 日間凍結が 3 日間, 120~150 日間凍結で 4~6 日間であったことと比較すると, より短期間で生存率 100% に達した。7℃継代培養保存 (3~4 か月間) での菌糸再生確認は培養後 2 日以内であることから, 7~25℃の純水保存中に A01 と A53 のエノキタケ菌糸体が受けるストレスは -20℃凍結保存の場合よりも少なく, 継代培養保存 (3~4

表2 室温での純水保存の菌糸再生状況使用

供試菌株	保存温度 (℃)	最大保存 日数	最大保存日数 での生存率 (%)	生存率 100% に至った 25℃ の培養日数			
				28 日間 保存	56 日間 保存	84 日間 保存	112 日間 保存
NBRC 30602				3	4	3	4
NBRC 30875	室温	112	100	3	3	2	2
NBRC 30905	平均 19.5	(16 週間)		3	3	2	2
NBRC 33210				3	4	3	3

注) 平均気温 19.5℃, 温度範囲 12.1 ~ 26.8℃

か月間) の場合と同程度である可能性が示唆される。NBRC の 4 菌株の 7℃ 継代培養保存した菌体ディスクから再生菌糸の活着は 25℃ 培養後 4 日以内であることから、純水保存したこれらのエノキタケ菌糸体が受けたストレスは小さいと推察する。

1.3. 室温保存での菌糸再生状況

平均温度 19.5℃, 温度範囲 12.1~26.8℃ の室温下で、クライオチューブに純水と共に投入した NBRC の 4 菌株の各菌体ディスクを 112 日間保存して生存率を観察した。表 2 に、各供試菌株が生存率 100% に達するまでに要した 25℃ での培養日数を示す。112 日までの保存において 2 ~ 4 日間以内の培養で菌糸再生が確認でき、いずれの場合にも生存率 100% に達したが、表 1 の結果と比較すると NBRC 30602 (北海道産株) において菌糸の活着が 1 日程度遅れた。この原因は不明であるが、クライオチューブ内の菌体ディスクに対する温度変化が何らかのストレスを与えた可能性も考えられる。

1.4. 純水保存における子実体原基形成

クライオチューブと純水を用いて菌体ディスクを非凍結保存する狙いの一つは、保存中に発生する子実体の形成を阻止することである。本検討での保存温度は 7℃, 15℃, 25℃ であり、エノキタケの発芽温度 5 ~ 20℃⁷⁾ から考えると 7℃ と 15℃ 保存では子実体が形成される可能性がある。菌体ディスク全体がクライオチューブ内で水没していれば、子実体の原基形成に至らないと想定した。しかし、図 2 に示すよう

にクライオチューブ内に純水で満たされない隙間が生じた場合、7℃ と 15℃ 保存において子実体原基が形成されるケースが認められた。A01 と A53 菌株の 25℃ 保存ではエノキタケの発芽温度から外れているためか、本検討の保存期間においてクライオチューブ内での子実体の原基形成は皆無であった。また、クライオチューブに A01 および A53 の菌体ディスクのみ投入して 15℃ 保存した場合、約 1 か月経過後にいずれも子実体が形成した (図 3)。

全供試菌株 (6 菌株) を直径 9cm の PDA 平

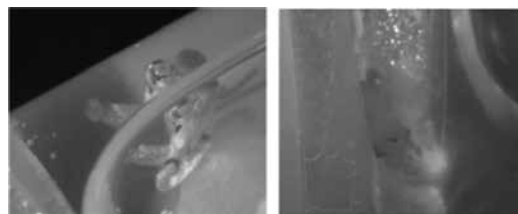


図2 純水保存中のクライオチューブ内の隙間に生じた子実体原基

(左: A01, 15℃ 保存 3 週間後; 右: NBRC 30875, 7℃ 保存 15 週間後)

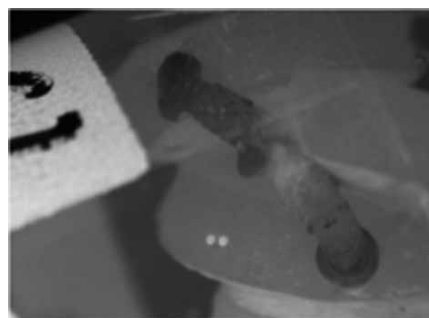


図3 クライオチューブに菌体ディスクのみを投入して 15℃・1 か月間保存した場合に同ディスク上に生じた A01 子実体

板培地に接種して25℃で培地表面が菌糸体で覆われるまで培養した後、それらを7℃、15℃、25℃、および室温の各環境下に最大180日間保存した（この間の室温の平均温度22.0℃・19.3~28.5℃）。すると、NBRC 30602とNBRC 333210の2菌株は何れの温度でも子実体原基を形成しなかったが、他の4菌株は25℃を除く全ての温度で15~126日の間に子実体原基を形成した。

クライオチューブと純水を用いて菌体ディスクを非凍結保存する場合、純水が行き渡らない隙間を作らないことが重要なポイントであるが、保存温度としてはエノキタケの発芽温度を外れる25℃が安心となる。感覚的には25℃での菌体ディスクの老化（熟成化）が危惧され、その保存限界期間の把握と子実体形成能力維持期間の把握が不可欠となる。その試みの一つとして、クライオチューブと純水を用いて7℃と25℃で320日間結保存したA01の菌体ディスクについて、菌糸再生状況観察と再生菌糸体を用いた子実体形成能を確認する栽培試験を行うこととした。

2. 7℃と25℃で320日間の純水保存したA01菌株の栽培試験

2.1. 菌糸再生状況

1.1に示した温度7℃と25℃で320日間保存したA01について、上述の方法で菌糸再生状況を観察した。その結果、いずれも25℃培養後3日間で生存率100%に達した。表1の180日間保存では、7℃と25℃共に培養2日間で生存率100%に達していることから、純水保存の期間を2倍弱延長したことによる影響が僅かにあった可能性がある。一方、7℃と25℃の保存温度の差異はみられず、保存時において子実体原基の形成も生じなかった。クライオチューブ内の菌体ディスクが純水中に完全に水没し、かつ隙間が生じていなかったためと考えられる。以下に、両保存温度の再生菌糸と7℃の継代培養菌糸（コントロール）を用いて栽培試験行った結果を述べる。

2.2. エノキタケの栽培方法

栽培用種菌培地については、エゾマツ（*Piceaezoensis* Carr.）のノコクズ（水分：7.4%）と米ぬか（水分：9.0%）を体積比4：1で混合後に水道水を加えて攪拌し、強く握った時に指の間から僅かに水が染み出る程度の水分（60~63%）とした。それをスクリュウキャップ付の200 ml容ガラス培養ビンに約75g充填し、培地中央に直径9 mmの通気孔を1個あけて高圧蒸気殺菌（温度121℃・20分）した。その後、A01の菌体ディスクを接種し、培地全体に菌糸が蔓延するまで25℃で10~13日間培養することで栽培用種菌を作成した。

栽培培地については、栽培用種菌培地と同様に調製・高圧蒸気殺菌処理を行った。ただし培養ビン当たりの培地充てん量は60gとし、その培地組成は乾燥質量換算でノコクズ10g、米ぬか11g、水39g（水分：65%；殺菌後のpH：6.2）とした。室温まで冷却した栽培培地の上面と通気孔へ1ビン当たり約6gの栽培用種菌を接種し、25℃で培養することで培地全体に菌糸を蔓延させた。培養期間については同一試験区の菌回りが全て終了するまでとし（菌回り日数として把握）、菌回り後に菌掻きと殺菌水による注水処理を30分間行った。試験区当たりの栽培培地の供試数は6~7とした。

その後培養ビンに再度キャップを緩くしめ、15℃に設定したガラス張りの人工気象装置で子実体の発芽と生育を促した。子実体の採取時期は菌傘が培養ビンのキャップに到達した時点とし、発芽までに要した日数と採取までに要したそれぞれの日数（発芽日数と生育日数、いずれも15℃に投入後の日数）、および子実体の収量と本数を測定するとともに目視による子実体の形態を観察した。なお、同様の試験を2回繰り返した。

2.3. エノキタケの栽培試験結果

2回繰り返した栽培試験の結果を表3にまとめて示す。コントロールを含めた全試験区で子実体が得られ、子実体形成能が維持されている

表3 7℃、25℃で320日間純水保存したA01の再生菌糸を用いた栽培試験結果

試験	保存温度	子実体収量 (g/ビン)	子実体本数 (本/ビン)	菌回り 日数 [25℃]	発茸 日数 [15℃]	生育日数 [15℃]	栽培日数 [25, 15℃]
1	7℃	20.9 ± 1.01	146.0 ± 16.26	13	10	18.3 ± 0.49 **	31.3 ± 0.49 **
	25℃	20.8 ± 1.00	158.6 ± 5.71 **	13	10	18.0 ± 0.00 **	31.0 ± 0.00 **
	コントロール	20.0 ± 0.65	130.3 ± 10.25	13	10	19.3 ± 0.52	32.3 ± 0.52
2	7℃	18.9 ± 1.16	116.7 ± 11.43	10	9	18.8 ± 0.41	28.8 ± 0.41
	25℃	20.8 ± 1.45	115.3 ± 8.40	10	9	19.0 ± 0.00	29.0 ± 0.00
	コントロール	20.1 ± 2.24	113.0 ± 8.60	10	9	19.3 ± 0.52	29.3 ± 0.52

注) コントロールは7℃の継代培養保存を示す； **：コントロールに対して1%の危険率で有為差あり

ことが示された。菌回り日数はいずれの試験区も13日(1回目試験)または10日(2回目試験)であった。発茸日数はいずれの試験区も10日(1回目試験)または9日(2回目試験)、生育日数は共に18～19日であった。1回目と2回目試験の栽培日数の3日間程度の差は、主に菌回り日数の違いが影響した。殺菌後の栽培培地pHはいずれも6.2であり、エノキタケの菌糸成長に適した値であった⁹⁾。菌回り日数の差はpH以外の何らかの影響があったと考えられる。

培養ビン当たりの子実体収量と子実体本数に注目すると、子実体収量については両試験共に約20g/ビンで、いずれも培地質量の33%程度が子実体に変換されており、各試験区間での有意差は認められなかった。子実体本数については2回目試験の方が1回目より2割程度減少したが、この原因は不明である。

以上の栽培試験で発生した子実体の形態を図4に示す。純水保存したA01、そして継代培養保存A01の各2回の栽培試験においていずれ

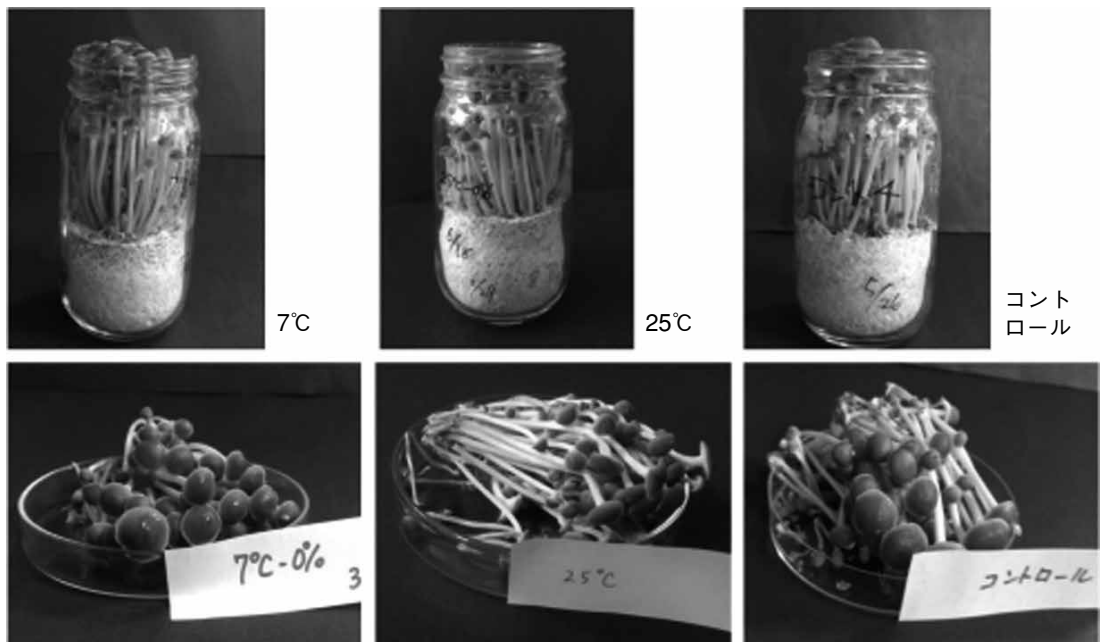


図4 栽培試験で発生した野生型エノキタケ(A01)の子実体

[7℃(左の上下)と25℃(中の上下)で320日間純水保存した再生菌糸から発生した子実体, コントロール(右の上下; 7℃で継代培養保存)の子実体], 注) エゾマツ・米ぬか培地使用(培養温度: 25℃; 発茸・生育温度: 15℃)

も大きさの揃った正常な形態の子実体を得られた。今後、他の菌株についての検討が必要であるが、少なくとも一部のエノキタケ菌株については、クライオチューブに投入した菌体ディスクを純水（殺菌水）で水没させ、温度 7～25℃程度の環境下で保存しても、1 年程度であれば生存と正常な子実体形成能が維持されることが示された。ただし、発芽温度と重なる 5～20℃程度においては、子実体原基の形成を避けるためにクライオチューブ内に純水が満たされない隙間を作らないことが求められる。

まとめ

エノキタケ 6 菌株を供試し、低コストで安定した菌株保存方法の確立を目指して前培養寒天培地と菌糸体からなる菌体ディスク、それらを覆う純水をクライオチューブに投入した後に温度 7～25℃および室温で 112～320 日間の非凍結保存を試みた。そして、供試菌株の生存状況と子実体発生能に及ぼす純水保存の影響を観察した。純水の投入はエノキタケ菌糸体の乾燥防止、呼吸抑制による生理活性低下、および子実体の形成阻止を狙ったものである。その結果、

全ての条件で生存率 100% が確認され、各菌株の菌糸再生状況については継代培養と比較して差異が殆どなく、純水保存中のストレスが小さい可能性が得られた。一方、7～15℃と室温保存では、純水が行き渡らない隙間に子実体原基が形成する場合があります、この点の配慮が必要となる。

純水保存 320 日後の A01 の再生菌糸を用いた栽培試験から、栽培に関わる種々の日数や子実体の収量・本数・形態を精査した結果、継代保存のコントロールと殆ど差異のない結果となり、本研究の保存条件はエノキタケの子実体発生能（生殖成長）に顕著な影響を及ぼさないことが示された。今後においては、実用化に向けてより長期間の保存の影響把握が求められる。

非凍結での純水保存は、凍結保存での解凍操作や菌体ディスクの凍結保護液の除去操作等の煩わしさがなく、継代培養保存と同程度の菌糸再生効率で新たな菌糸体を得ることができ、-80℃以下の凍結保存法による長期保存と並行して活用するエノキタケ菌株の保存としても期待できる¹⁰⁾。

引用文献

1. Ohmasa M, Abe Y, Babasaki K, Hiraide M, Okabe K: Preservation of cultures of mushrooms by freezing. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, **33** (4): 467-479, 1992.
2. 大政正武：遺伝資源研究・最近の進歩（2）－栽培きのこ菌株の超低温保存の検討－. 農業技術, **48**(2): 74-77, 1993.
3. 前川二太郎：きのこの菌糸を凍らせて保存する. 菌草, **45** (5): 38-43, 1999.
4. 岡根 泉：-80℃フリーザーによる糸状菌凍結保存株の管理体制について. 日本微生物資源学会誌 **21**(2): 77-82, 2005.
5. 岡田 元：糸状菌類の簡便で安全な凍結保存法. 日本微生物資源学会誌 **22**(2): 105-110, 2006.
6. 中桐 昭：菌類培養株の凍結保存法の改良. 日本微生物資源学会誌 **30**(2): 51-63, 2014.
7. 寺下隆夫：2.3 茸菌の成長と環境. きのこの生化学と利用. 寺下隆夫編. 東京, 応用技術出版, 32-41, 1991.
8. 富樫 巖・幸田有似：純水と -20℃を用いたエノキタケ菌株の凍結保存の試み. *New Food Industry*, **55**(1): 6-12, 2013.
9. 衣川堅二：キノコの事典・5. キノコの生理・生態. 中村克哉編. 東京, 朝倉書店, 49-71, 1982.
10. 奥野大路・金井由美子：酵母の蒸留水保存と凍結乾燥保存. 凍結及び乾燥研究会誌, **27**: 100-106, 1981.

高付加価値を有する DHA 含有 リン脂質の製造方法

Microbial Production of Value-added Docosahexaenoic Acid-containing Phospholipids.

永峰 賢 (NAGAMINE Tadashi)¹ 高谷 政宏 (TAKAYA Masahiro)¹ 深野 透 (FUKANO Toru)¹
吉田 磨仁 (YOSHIDA Kiyohito)² 森田 直樹 (MORITA Naoki)³

¹ 株式会社ロム ² 北海道大学大学院地球環境科学研究院

³ 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 生命工学領域 生物プロセス研究部門

Key Words : n-3 系不飽和脂肪酸 DHA 含有リン脂質 微生物発酵 Thraustochytrid

要旨

エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などの n-3 系不飽和脂肪酸は必須脂肪酸であることから、ヒトにおいてこれら脂肪酸を豊富に含む海産の魚介類の日常的な摂取が必要となっている。n-3 系不飽和脂肪酸はアラキドン酸カスケードに対する拮抗作用を持ち、その代謝産物には抗炎症性作用が発見されるなど健康促進・維持の観点から注目の脂肪酸である。従来、n-3 系不飽和脂肪酸は、魚や魚卵から抽出された油脂から供給されてきたが、真の生産者は海洋性の魚介類ではなく海洋性微生物であることが知られている。このため、n-3 系不飽和脂肪酸を産生する微生物を大量培養することにより n-3 系不飽和脂肪酸を商業生産できる可能性がある。現在、我々のグループは海洋性微細藻類である Thraustochytrid 12B 株を用いて DHA を生産・製品化しようと試みている。本稿では、この取り組みを紹介するとともに、最近注目を集めている EPA や DHA を含有するリン脂質 (EPA・DHA 含有リン脂質) の話題を紹介する。EPA・DHA 含有リン脂質は、魚油に多く含まれる EPA・DHA 含有トリアシルグリセロール (TG) よりもヒトに対する生理効果が高いことが判明している。我々のグループは、Thraustochytrid 12B 株を用いて DHA 含有 TG だけでなく DHA 含有リン脂質を多く含む脂質を生産する技術を開発した。この方法を紹介するとともに、日本の一般消費者にはあまり馴染みのない微生物による脂肪酸生産の利点についても述べたい。

はじめに

近年、様々な生理活性を持つ DHA (22:6 n-3) に注目が集まっている。DHA はヒトの体内ではほとんど合成できないため、他の n-3 系不飽和脂肪酸である α -リノレン酸 (18:3 n-3) や EPA (20:5 n-3) などと同様に、食物からの摂取が必要な必須脂肪酸とされている。図 1 に EPA と DHA の構造と動物における組織分布を示した。厚生労働省が発表した日本人の食事摂取基準 (2015 年版)¹⁾ において n-3 系不飽和脂肪酸の摂取量目安は、欠乏症を予防する観点から 18 歳以上の場合には 1 日あたり 1.6 g から

2.4 g が推奨されている。n-3 系不飽和脂肪酸のうち、 α -リノレン酸を特に多く含む食品として、えごま油などの植物油があげられる。一

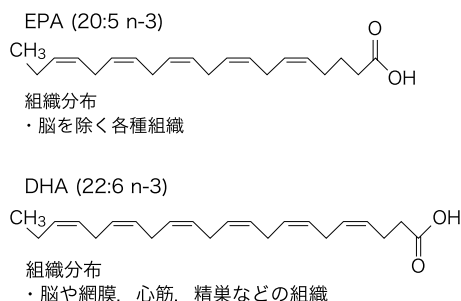


図 1 EPA と DHA の構造と動物における組織分布

方、EPA や DHA は青魚やイカといった海産の魚介類に多く含まれることが知られている²⁾。平成 26 年国民・栄養調査報告³⁾の結果に基づく、n-3 系不飽和脂肪酸摂取量の日本人中央値は 1.82 g/日であり、推奨量に比較的近い値となっている¹⁾。しかしながら、植物油に含まれ日常的に摂取する機会が多い α -リノレン酸とは対照的に、EPA や DHA は魚介類に含まれているため、食習慣の違いによってその摂取量に個人間で大きな偏りがある⁴⁾。

EPA や DHA でもっとも有名な生理機能は、アラキドン酸カスケードへの拮抗作用である⁵⁾。細胞膜から遊離したアラキドン酸 (20:4 n-6) はシクロオキシゲナーゼやリポキシゲナーゼにより代謝され、炎症作用を持つ種々のエイコサノイドが生産される。このアラキドン酸カスケードは、EPA や DHA が存在するとアラキドン酸の代謝が抑制され、拮抗作用が働くことになる。近年ではこの拮抗作用による機構以外に、EPA や DHA の代謝産物であるレゾルビンやプロテクチンに抗炎症作用があることが明らかとなり、n-3 系不飽和脂肪酸の新しい生理機能が注目されている⁵⁻⁶⁾。近年の食生活の変化により、日本人は植物性油脂や動物性油脂を多く摂取するようになってきている。この結果、n-6 系不飽和脂肪酸の摂取量が増加し、アラキドン酸カスケードの亢進による心臓疾患やアレルギー疾患の増大を招いていると考えられることから⁷⁾、EPA や DHA といった n-3 系不飽和脂肪酸の摂取は健康維持の観点から重要性が増している。

n-3 系不飽和脂肪酸は、魚介類を供給源として、医薬品原料や健康食品に利用されている。しかし、ヒトと同様、魚介類自身は EPA や DHA を合成する能力はなく、魚介類は食物連鎖を通して海洋性微生物が生産した EPA や DHA を蓄積している。海洋性微生物や微細藻類 (植物プランクトン) は、自ら EPA や DHA を合成する能力を有し、合成した EPA や DHA を細胞内に蓄積する。動物性プランクトンが EPA や DHA を蓄積した海洋性微生物や微細藻類を捕食

し、さらに小型魚介類がその動物性プランクトンを捕食する。このような海洋生物群集内での生物の捕食 (食べる) と被食 (食べられる) を繰り返し、EPA や DHA は大型魚介類に蓄積される。また、魚介類の体内には、EPA を生産する腸内細菌が棲息していることも明らかにされている⁸⁾。よって、EPA や DHA を合成できる能力を持つ海洋性細菌、海洋性微生物や海洋性微細藻類が存在しなければ、そもそも我々ヒトは EPA や DHA を摂取することができない。

1. DHA 産生微細藻類 (Thraustochytrid 12B 株)

上述の様に、海産の魚介類に含まれる EPA や DHA の真の生産者は海洋性微生物であり、精力的な探索の結果、DHA を多く蓄積する海洋性微生物がいくつか発見されている。例えば、DHA に関してはラビリンチュラ類などの微細藻類が DHA を多量に蓄積することが知られている⁹⁾。

さて、このような微生物を用いた脂質・脂肪酸の微生物生産 (微生物発酵) は、アルコール、有機酸、アミノ酸等に比べると広まっていると言いがたい。脂質・脂肪酸が疎水性の性質を持っており、取り扱いが水溶性物質と比較し難しいという面があるが、さらに、大きな要因は植物、動物や魚介類など多くの供給源があり、微生物で生産させる必要性が感じられなかったためであろう。しかしながら、このような脂質・脂肪酸を蓄積する微生物を用いた EPA や DHA などの有用脂肪酸の生産は魚介類の漁獲量の減少による魚油の安定供給維持に対する問題を回避できる。また、海洋汚染の結果として、魚介類は水銀、カドミウム、鉛、メチル水銀などの重金属や PCB、ダイオキシンなどの有害物質の蓄積量が増加していることが指摘され¹⁾、そのような魚介類から生産される魚油の汚染も懸念されているが、微生物生産であれば、その問題も回避することが可能である。

さらに、微生物が合成する脂肪酸は、食餌により多様な脂肪酸を摂取する動物や魚介類と比

表 1 Thraustochytrid 12B 株の脂肪酸組成¹⁰⁾

脂肪酸組成 (重量 %)										
14:0 ^{a)}	15:0	16:0	17:0	18:0	20:0	20:4	20:5 (EPA, n-3)	22:5 (DPA, n-6)	22:6 (DHA, n-3)	他 ^{b)}
2.5 ± 0.2 ^{c)}	5.2 ± 1.8	34.5 ± 1.4	1.5 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.5	0.6 ± 0.4	0.9 ± 0.2	8.7 ± 0.2	40.1 ± 0.1	3.4 ± 1.9

a) 脂肪酸は“炭素数：二重結合数”の略号で示した。

b) 他の脂肪酸は、12:0, 13:0, 18:1, 18:2, 18:3 および同定できていない脂肪酸を含む。

c) 3 回の実験から得られた平均値を示す。

べて単純な組成であることから、不必要な脂肪酸を摂取しなくても良いという利点も存在する。ところが、我が国における脂質・脂肪酸の微生物発酵は、微生物でしか大量供給できない油脂に注目したサントリー（株）が土壌微生物を供給源としてアラキドン酸高含有油脂の発酵生産をしている例があるのみで、EPA や DHA に至っては微生物による生産の産業利用はまだ行われていないのが現状である（後述）。

株式会社ロムは、微生物を用いて n-3 系不飽和脂肪を生産することに大きなメリットと可能性があると考え、北海道大学との共同研究にて、2005 年に油脂を蓄積する微生物を採取するために、沖縄県西表島のマングローブ林よりラビリンチュラの探索を試みた。ラビリンチュラとは海産の単細胞原生動物の仲間で、細胞中に様々な油脂を蓄積することで知られる。以下にラビリンチュラを単離するために用いた方法を述べる。BY+ 寒天培地 (0.5% (w/v) グルコース, 0.1% (w/v) 酵母エキス, 0.1% (w/v) ペプトン, 50% (v/v) 濾過済天然海水, 1% (w/v) 寒天, ストレプトマイシンとペニシリン G (それぞれ 0.3 g/L)) にマングローブ林から採取した落ち葉を加えて 28℃ で数日間培養した。現れたコロニーを BY+ 液体培地 50 mL にて再度培養した。28℃ で 2, 3 日培養後に、再び菌体を含む液体培地の一部を BY+ 寒天培地にまき、28℃ で数日間培養した。その後、画線培養法によって純粋な菌体を得た。得られた菌株の脂肪酸組成を調べるために、液体培養した菌体を 14,000 x g で 20 分間、

遠心分離して集菌し、1% (v/v) NaCl 水溶液で洗浄した後、菌体を 10% (v/v) メタノール性塩化アセチル溶液に懸濁し、メタノリシスを行い、そのヘキサン抽出物をガスクロマトグラフィーに供した。その結果、DHA を大量に生産・蓄積する株を発見し、Thraustochytrid 12B 株と名付けた¹⁰⁾。

Thraustochytrid 12B 株は外質ネット状の構造を有することや、遊走子の前後に鞭毛を有することからラビリンチュラ類に含まれる thraustochytrid の 1 種であると考えられた¹⁰⁾。Thraustochytrid 12B 株の脂肪酸組成は、表 1¹⁰⁾ に示したように DHA が全脂肪酸の約 40% を占めており、パルミチン酸 (16:0) が 34.5%, ドコサペンタエン酸 (DPA, 22:5 n-6) が 8.7% 存在しており、EPA はほとんど含まれていなかった。Thraustochytrid 12B 株が含有する DHA の大部分は DHA 含有 TG として存在しており、さらに細胞膜に DHA 含有リン脂質が存在する。図 2 に Thraustochytrid 12B 株が含有する代表的な DHA 形態を示した。Thraustochytrid 12B 株は培養が容易であり、30℃, 3 日間の振盪培養で DHA は最大で 6.8 g/L という非常に高い DHA 生産性を示す¹⁰⁾。このため、我々は Thraustochytrid 12B 株を利用した DHA 生産の国内特許¹¹⁾を取得し、実用化に取り組んでいる（後述）。

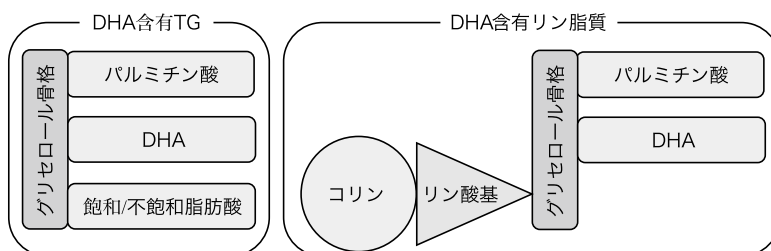


図 2 Thraustochytrid 12B 株の代表的な DHA 形態

2. EPA・DHA 産生微生物の産業利用

アメリカやヨーロッパにおいては、*Nannochloropsis oculata* や *Phaeodactylum tricornutum* のような光合成を行う微細藻類を利用し、主に TG から構成される EPA を含む乾燥藻体のサプリメントを生産している実例がある¹²⁾。しかしながら、DHA の場合のように EPA を大量に生産する微生物は知られておらず、世界各国で *Saccharomyces cerevisiae* や土壌糸状菌の *Mortierella alpina* などの微生物を用いた遺伝子組換えによる EPA 生産が検討されている¹³⁻¹⁴⁾。DHA に関してはラビリンチュラ類に分類される *Schizochytrium* 属や *Ulkenia* 属だけでなく、海洋性微細藻類の *Cryptocodinium cohnii* を利用し、主に TG から構成される DHA を含んだ乾燥菌体のサプリメントを販売している例がある¹²⁾。日本では現在のところ、これらの製品は一般店舗ではほとんど販売されておらず、流通量は少ないと考えられる。

3. EPA・DHA 含有リン脂質

DHA などの n-3 系不飽和脂肪酸は脳、神経系、心臓血管系や網膜への様々な生理機能が報告されている¹⁵⁻¹⁶⁾。さらに DHA を含有する基本骨格が TG (図 3) かリン脂質か (図 4) によって生理的な効果の度合いが異なることが報告されている。例えば、リン脂質の一種である、DHA を含有したホスファチジルコリン (PC) はマウスの白血病細胞に対する抑制効果が他の脂肪酸を含有したリン脂質、または TG よりも高かった¹⁷⁾。また、DHA 含有リン脂質は DHA 含有 TG よりも

稚魚の生育促進においては有効であった¹⁸⁾。あるいは、血漿中の DHA 含有リン脂質濃度の増加が痴呆症進行のリスクを 47% も減少させた¹⁹⁾、といった報告がある。このように、DHA 含有リン脂質の効果は一般の魚油に含まれる DHA 含有 TG よりも優れていることから、EPA や DHA を含有するリン脂質を多く含む食品の開発が有望である。従来、そのようなリン脂質を多く含む食品としてイクラやカズノコといった魚卵が利用されてきたが、近年はこれらに加えてクリルオイルの利用が米国を中心に拡大している²⁰⁾。

ナンキョクオキアミ (*Euphausia superba*) から抽出されるクリルオイルは、脂質の約 40% がリン脂質であり、EPA や DHA を含有するリン脂質が多い。クリルオイルの場合も魚油と比較した試験においてヒトの健康に効果的であるという報告がなされている。例えば、中鎖脂肪酸 (プラセボ)、イワシ油とクリルオイルを摂取させた高齢健康者の脳機能を調べた報告ではクリルオイルを摂取させたグループはイワシ油および中鎖脂肪酸を摂取させたグループよりも認知機能が高かった²¹⁾。あるいは、脂質異常症の患者に対してクリルオイルと魚油を摂取させた試験では、クリルオイル摂取グループの方が魚油を摂取したグループよりも

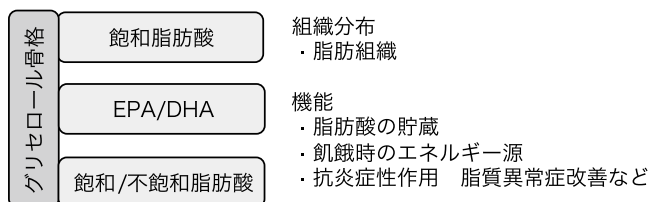


図3 動物における EPA・DHA 含有 TG の組織分布と機能

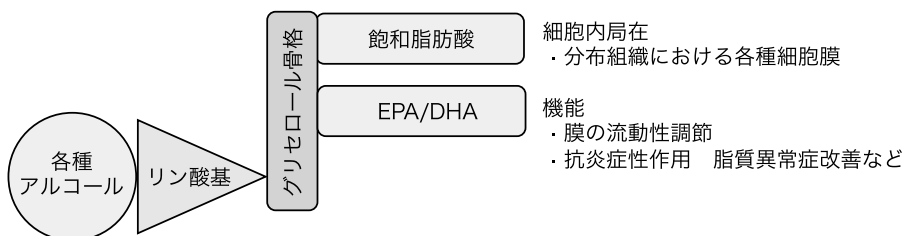


図4 動物における EPA・DHA 含有リン脂質の細胞内局在と機能

総コレステロールや中性脂肪、低比重リポタンパク (LDL) は低下し、逆に、高比重リポタンパク (HDL) は増加するといった結果が得られた²²⁾。このように EPA・DHA 含有リン脂質を多く含む魚卵、クリルオイルは極めて利用価値の高い資源であることから世界的な需要の増加が見込まれるが、持続的な資源の利用という観点から、代替供給源に近い将来必要とされてくると考えられる。

4. Thraustochytrid 12B 株 を利用した DHA 含有リン脂質の生産

Thraustochytrid 12B 株は DHA の多くを DHA 含有 TG として貯蓄するが、細胞膜にも DHA 含有リン脂質として貯蓄している。DHA 含有リン脂質の代替供給源としての可能性を探るため、Thraustochytrid 12B 株の性質を利用して DHA 含有リン脂質を効率的に生産できないか検討した²³⁾。DHA を含む TG は、培地に含まれるグルコースが枯渇した際には、栄養源として消費されると考えられる。そのため、栄養飢餓状態における Thraustochytrid 12B 株には DHA 含有リン脂質が多く存在するだろうと考えられた。これを明らかにするために以下のような培養方法を検討した。Thraustochytrid 12B 株を炭素源であるグルコースを含む F 培地 (1% (w/v) ペプトン, 1% (w/v) 酵母エキス, 8% (w/v) グルコース, 50% (v/v) 濾過済天然海水) にて 30°C, 72 時間, 180 rpm にて振盪培養を行い、その培養液 4 mL を、グルコースを含まない Z×1 培地 (1% (w/v) ペプトン, 1% (w/v) 酵母エキス; 25 mL) に植え継ぎし、さらに 48 時間振盪培養を行った。その結果を表 2 に示した²³⁾。

Z×1 培地に移した 24 時間後には総脂質に占める TG は 49% (重量%, 以下同様) に減少し、

表 2 12B 株の培養方法によるリン脂質含量の変化²³⁾

	培地				
	F	Z×1	Z×1	Z×2	Z×4
培養時間 (h)	72	24	48	48	48
乾燥重量 (mg/mL)	23	9	8	8	12
総脂質 / 乾燥重量 (重量%)	43	16	9	12	12
TG ^{a)} / 総脂質 (重量%)	67	49	5	22	35
リン脂質 / 総脂質 (重量%)	13	29	67	52	52
DHA / 脂肪酸 (重量%)	45	53	57	55	55

a) トリアシルグリセロール (TG) を示す。

表 3 Z×1 培地 (48 時間, 30°C 培養) におけるリン脂質組成と DHA 含量²³⁾

	リン脂質 ／脂質 (重量%)	リン脂質中の 割合 (mole%)	リン脂質 サブクラス (重量%)	DHA (重量%)
総リン脂質	67			
総 PC ^{a)}		61	(100)	
PC1			46	39
PC2			54	67
総 PE ^{b)}		12	(100)	
PE1			47	23
PE2			53	33
PI ^{c)}		13		21
その他		15		N.D. ^{d)}

a) ホスファチジルコリン (PC) とそのサブクラス (PC1, PC2) を示す。

b) ホスファチジルエタノールアミン (PE) とそのサブクラス (PE1, PE2) を示す。

c) ホスファチジルイノシトール (PI) を示す。

d) 未検出を示す。

48 時間ではさらに 5% まで減少し TG はほとんど無くなった。総脂質に占めるリン脂質の量は、Z×1 培地では 67% まで増加し、脂肪酸に占める DHA 量は 57% に達した。Z 培地の成分濃度を 2 倍や 4 倍に上げても Z×1 培地 (48 時間) ほどの TG の減少およびリン脂質の増加は見られなかったことから Z×1 培地で 48 時間培養する条件が最適であると考えられた。次に Z×1 培地で 48 時間培養した Thraustochytrid 12B 株のリン脂質組成を調べることにした。凍結乾燥を行った乾燥細胞から Bligh-Dyer 法²⁴⁾にて抽出した総脂質を用いて薄層クロマトグラフィ (TLC) の二次展開によりリン脂質の組成を求めた (表 3)²³⁾。その結果、Z×1 培地で 48 時間培養した Thraustochytrid 12B 株の主なリン脂質は PC であり、全リン脂質の 61%

を占めていた。

ホスファチジルエタノールアミン (PE) とホスファチジルイノシトール (PI) はそれぞれ 12% と 13% を占めていた (いずれも mole%)。PC と PE のサブクラスである PC1 と PC2, PE1 と PE2 のそれぞれの比率は 1:1.17, 1:1.14 であった。PC1 と PE1 よりも PC2 と PE2 の方がより多くの DHA を含んでいた。総 PC 中の DHA の割合 (重量 %) はおよそ 54% であり, PE と PI における脂肪酸の 20-30% 程度が DHA であった (重量%)。これは, *Thraustochytrid* 12B 株では, 1 分子の PC には 1 分子の DHA が確率的に含まれていることを示している。

以上の実験から, *Thraustochytrid* 12B 株は, DHA を多く蓄積するだけでなく, 培養方法を変更することにより利用価値の高い DHA 含有リン脂質 (特に DHA 含有 PC) の供給源となることが判明したため, 国内特許および国際特許を取得した²⁵⁾。

今回紹介した培養方法は各種の脂肪酸含有リン脂質を生産することにも応用可能である。例えば, アラキドン酸含有 TG を多く生産する糸状菌 *Mortierella umbellata* NBRC32836 株や未同定の糸状菌 1-5 株に, この方法を使うことでアラキドン酸含有リン脂質の割合を高めることに成功している²⁶⁾。さらに, リン脂質のアルコール部位の構成比は培養温度, 振盪回転数, 培養液と容器の体積比などの培養条件を細かく検討することにより, ある程度変動させることができる。これらを検討することで, *Thraustochytrid* 12B 株に本来少ない DHA 含有ホスファチジルセリンの比率をあげることができた²⁷⁾。このように, 利用株や培養方法を組み合わせることにより, 目的に応じた脂肪酸含有リン脂質の生産が可能となる。

5. *Thraustochytrid* 12B 株の実用化

当初, *Thraustochytrid* 12B 株の培養には海水を利用しており, 大規模培養の場合, タンク腐食の懸念があり大きな課題であった。しかし培地組成を検討することにより現在は海水を

使用せず培養が可能となっており, 実用化へ向けて進展してきている。おりしも, 2014 年に国内でクリルオイル研究会が発足するなど EPA・DHA 含有リン脂質の市場は今後拡大していくものと考えられ, *Thraustochytrid* 12B 株の実用化に向けた環境は整ってきている。

Thraustochytrid 12B 株の実用化の際のライバルとなる魚油やクリルオイルについては, 魚介類へのアレルギーなどを心配する心理的な抵抗感や好みの問題から敬遠する消費者が一定数, 存在していると推測される。このため, 海洋性微生物である *Thraustochytrid* 12B 株は魚介類を敬遠してきた消費者にとって非常に好ましい製品となると考えられ, DHA サプリメント市場の拡大につながるかもしれない。また, *Thraustochytrid* 12B 株が含有する不飽和脂肪酸は, n-3 系不飽和脂肪酸として主に DHA, n-6 系不飽和脂肪酸として主に DPA を多く含み, シンプルな脂肪酸構成となっている。このため, それぞれの不飽和脂肪酸を精製して高純度不飽和脂肪酸を含む健康食品, あるいは医薬品などに利用することは, 多種の脂肪酸を含む魚油, 魚卵, クリルオイルなどの原料を利用する場合と比べて, 容易であると考えられる。

現在, 我々はこの *Thraustochytrid* 12B 株の乾燥菌体を利用した実用化を検討している。例えば, この乾燥菌体を家禽用の配合飼料に混ぜ, DHA を多く含有する鶏卵の作製を試みている²⁸⁾。また, 食品に応用するためにこの乾燥菌体を利用し, DHA 含有クッキーを試作している²⁸⁾。現在のところ *Thraustochytrid* 12B 株の実用化には, 微生物生産における培養コストの問題があるため, 魚油と比較した際にどうしても高コストになってしまうという課題が存在する。また, *Schizochytrium* 属や *Ulkenia* 属などのラビリンチュラ類においては先ほど述べたようにすでにサプリメント化された実績があるが, 同じラビリンチュラであっても *Thraustochytrid* 12B 株が食品として安全かどうかは今後確認する必要がある。

6. 機能性表示制度と EPA・DHA

平成 27 年 4 月 1 日より新しく機能性表示食品制度が開始され、食品に機能性を表示できるようになった。EPA や DHA は食品の機能性評価モデル事業の中で、心血管疾患リスク低減、血中中性脂肪低下作用、関節リウマチ症状緩和において科学的根拠に基づく有効性が高いと評価されている²⁹⁾。すでに魚油由来の EPA や DHA を含む缶詰やソーセージ、レトルト食品などが機能性表示の認可を受けている。このため、動物試験による安全性確認後には

Thraustochytrid 12B 株を使用した DHA 製品で機能性表示の取得を目指したいと考えている。

現在、我が国においては死因の第 2 位が心疾患となっており³⁰⁾、食生活の改善や EPA や DHA といった n-3 系不飽和脂肪酸の日常的な摂取による疾患予防は重要である。Thraustochytrid 12B 株と今回の技術を活用し、持続的で安全な DHA の生産を実現し、社会に貢献したいと考えている。

参考文献

1. 厚生労働省：「日本人の食事摂取基準（2015 年版）策定検討会」報告書，2014.
2. 文部科学省：日本食品標準成分表 2015 年版（七訂）脂肪酸成分表，2015.
3. 厚生労働省：平成 26 年国民・栄養調査報告，2015.
4. 厚生労働省：「日本人の食事摂取基準（2010 年版）策定検討会」報告書，2009.
5. 有田誠，磯部洋輔： ω 3 系脂肪酸由来の抗炎症性代謝物の構造と機能．生化学，**80**: 1042-1046. 2008.
6. Serhan C.N.: Novel pro-resolving lipid mediators in inflammation are leads for resolution physiology. *Nature*, **510**: 92-101. 2014.
7. 奥山治美，高田秀穂：＜話題＞リノール酸摂取量について＞「リノール酸摂取量の削減を勧める提言」（案）について．脂質栄養学，**11**: 17-46. 2002.
8. Yazawa, K., Araki, K., Okazaki, N., *et al.*: Production of eicosapentaenoic acid by marine bacteria. *J. Biochem.*, **103**: 5-7. 1988.
9. 林雅弘：油糧微生物ラビリンチュラ．生物工学会誌，**93**: 426-429. 2015.
11. 特許第 4047354 号：ドコサヘキサエン酸（DHA）の生産性の高い新規ラビリンチュラ類微生物およびその利用．
12. Martins, D.A., Custódio, L., Barreira, L., *et al.*: Alternative sources of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in marine microalgae. *Mar. Drugs*, **11**: 2259-2281. 2013.
13. Tavares, S., Grotkjær, T., Obsen, T., *et al.*: Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of eicosapentaenoic acid, using a novel Δ 5-desaturase from *Paramecium tetraurelia*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**: 1854-1861. 2011.
14. Sakuradani, E., Ando, A., Shimizu, S., *et al.*: Metabolic engineering for the production of polyunsaturated fatty acids by oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4. *J. Biosci. Bioeng.*, **116**: 417-422. 2013.
15. Kroes, R., Schaefer, E.J., Squire, R.A., *et al.*: A review of the safety of DHA45-oil. *Food Chem. Toxicol.*, **41**: 1433-1446. 2004.
16. Gill, I., Valivety, R.: Polyunsaturated fatty acids, part 1: Occurrence, biological activities and applications. *Trends Biotechnol.*, **15**: 401-409. 1997.
17. Kafrawy, O., Zerouga, M., Stillwell, W., *et al.*: Docosahexaenoic acid in phosphatidylcholine mediates cytotoxicity more effectively than other ω -3 and ω -6 fatty acids. *Cancer Lett.*, **132**: 23-29. 1998.
18. Gisbert, E., Villeneuve, L., Zambonino-Infante, J.L., *et al.*: Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long-chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larval development. *Lipids*, **40**: 609-618. 2005.
19. Schaefer, E.J., Bongard, V., Beiser, A.S., *et al.*: Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: The framingham heart study. *Arch. Neurol.*, **63**: 1545-1550. 2006.
20. 竹若剛志：米国市場で急伸長の注目機能性素材 クリルオイル．食品と開発，**48**: 92-96. 2013.

21. Konagai, C., Yanagimoto, K., Hayamizu, K., *et al.*: Effects of krill oil containing n-3 polyunsaturated fatty acids in phospholipid form on human brain function: A randomized controlled trial in healthy elderly volunteers. *Clin. Interv. Aging.*, **8**: 1247-1257. 2013.
22. Bunea, R., El Farrah, K., Deutsch, L.: Evaluation of the effects of Neptune Krill oil on the clinical course of hyperlipidemia. *Altern. Med. Rev.* **9**: 420-428. 2004.
23. Okuyama, H., Orikasa, Y., Nishida, T.: In vivo conversion of triacylglycerol to docosahexaenoic acid-containing phospholipids in a thraustochytrid-like microorganism strain 12B. *Biotechnol. Lett.*, **29**: 1977-1981. 2007.
24. Bligh, E.G., Dyer, W.J.: A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 911-917. 1959.
25. 特許第 5371750 号 : EP2163641 B1, US8652814 B2: 微生物発酵による DHA 含有リン脂質の製造方法.
26. 特許第 5892725 号 : アラキドン酸リン脂質含有量の高い菌糸体の製造方法.
27. 特許第 5903214 号 : 微生物発酵による DHA 含有ホスファチジルセリンの製造方法.
28. 吉田磨仁, 足立匠, 永峰賢, 他 : DHA 生産 Thraustochytrid 12B 株の挑戦. 海洋と生物, **38**: 41-45. 2016.
29. 消費者庁 : 「食品の機能性評価モデル事業」の結果報告, 2012.
30. 厚生労働省 : 平成 27 年 (2015) 人口動態統計の年間推計, 2016.

水耕栽培ラディッシュの 主根に対する LED 照射の影響

小林 晶子 (KOBAYASHI Akiko) *

* 常磐大学人間科学部健康栄養学科

Key Words : LED 水耕栽培 ラディッシュ 実験 アントシアニン

要 約

湛液型にエアレーションを導入し、LED を光源として、ラディッシュ (*Raphanus sativus* L var. *sativus*) を水耕栽培した。湛液型水耕栽培では、ラディッシュの主根は大気中に形成される。LED 光の主根への影響を検証するために、主根部分に LED を照射する株 (I 株) と主根部分を遮光する株 (S 株) に分けて栽培を行った。その結果、播種から 24 ~ 38 日で根径約 2 cm に生育した。また、I 株と S 株を比較したところ、主根径、主根の長さ、水中根長、葉数、最大葉長、糖度には差は認められなかった。また、主根の最大表皮厚、最小表皮厚、主根表皮の乾燥重量においても、有意差はみられなかった。主根の表皮色は I 株の方が S 株よりも濃色を示した。そして、主根表皮の総アントシアニン量は、I 株の方が S 株よりも約 2 倍、有意に増加していた。

はじめに

水耕栽培は、土を使用せずに水に肥料を溶解した培養液によって作物を栽培する。そのため、東日本大震災以来危惧され続けている、土壌や空気中の放射性物質の作物への混入を防ぐことに、水耕栽培は適しており、我が国では注目される栽培方法となりつつある。また、最近では世界的な異常気象により、洪水や異常な乾燥による農作物の被害が相次いでいる。このことは、太陽光のもと、土壌で作物を栽培するだけでは十分でないことを示している。実際に葉菜類、果菜類は、植物工場において、太陽光や人口光のもとで水耕栽培が行われており、既に市販されている。一方、根菜類の水耕栽培の事例はあまり見受けられない。しかし、現在の地球環境においては、葉菜や果菜だけでなく、多くの食

材を安全に供給できるシステムを構築することは重要である。

根菜を、葉菜類などと同様に固形培地を用いずに水耕栽培する例が、少ないながらもいくつか存在する (青木ら, 2001; 日本施設園芸協会・日本養液栽培研究会, 2012; 寺林ら, 2008)。根菜は、水中で主根を肥大させることが難しいが、固形培地を用いない水耕栽培は、培地換えや消毒などの労力およびコストの面で有利になる。

根菜は、植物工場において光源として用いられる LED などの人工光を用いた栽培例もあり知られていない。しかし、LED を光源とした作物栽培は、有用成分生産を促進し、付加価値の高い作物を取得できる可能性を秘めている。例えば、LED を用いたリーフレタスの

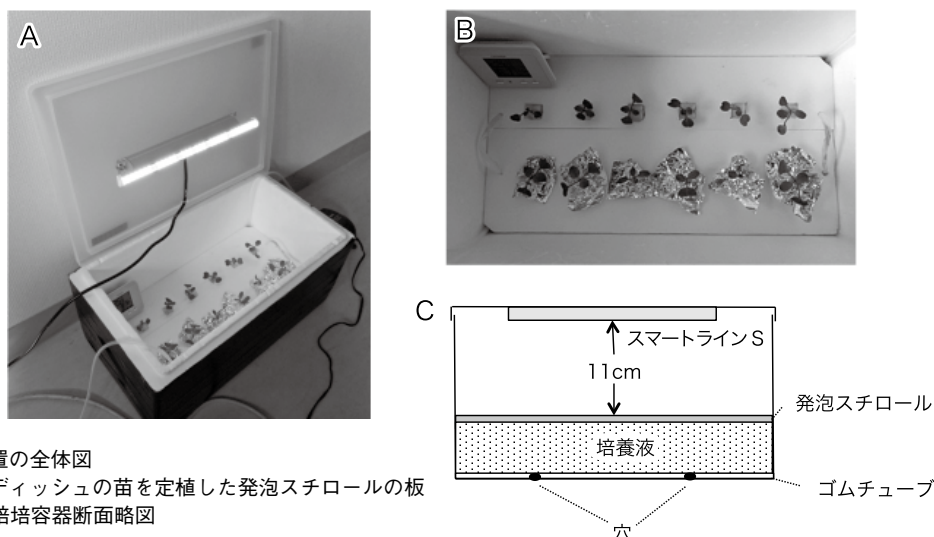


図 1 栽培容器

栽培は、レタスの抗酸化特性に影響を与える (Samuoliene ら, 2012; 庄子ら, 2010)。

以前に、著者らは、根菜の例として生育の早いラディッシュ（‘コメット’）を、光源として LED を用いて湛液型・静止法により養液（水耕）栽培した。その結果、土耕栽培の 2 倍ほどの栽培日数を要したものの、ほとんどの個体が標準的な大きさまで生育した。また、LED 光を主根に直接照射すると、照射しない場合と比べて主根表皮に含まれるアントシアニン量が、増加するという結果を得た (小林, 2014)。今回は、栽培日数を短縮する目的で、湛液型にエアレーションを加えて栽培を行った。そして、前回同様、栽培中に LED を主根に照射した株と遮光した株の主根表皮の色合い、表皮の厚さと乾燥重量、および主根表皮に含まれる総アントシアニン量などを測定した。

材料および方法

1. 実験装置の概要

栽培容器として、発泡スチロール（内径：縦 24.5 cm，横 47.5 cm，高さ 22.0 cm）に黒いゴムテープを巻いて遮光したものを用いた（図 1A）。光源は LED 水耕栽培キット スマートサラダ（ネクサス（株））に付属していた白色

光 LED ライト「スマートライン S」（日本アドバンテージ（株））を用いた。スマートライン S の照射光は 450 nm にピークをもち、550 nm ～ 650 nm でも光強度が高い。LED ライトはプラスチック板（縦 36.0 cm，横 51.5 cm）の中央に装着されており、発泡スチロール製の栽培容器に被せるような形で用いた（図 1A）。プラスチック板は、通気のために左右のどちらかに若干隙間を開けて、発泡スチロール製の栽培容器に被せた。培養液に 4 L の培養液を入れ、等間隔（縦 6.5 cm 間隔，横 5.0 cm 間隔）に 2 × 2 cm の穴を開けた厚さ約 2 cm の発泡スチロール製の板をはめ込んだ。苗は発泡スチロール板に開けた 12 穴に定植した（図 1B）。LED ライトの下部から苗を定植した発泡スチロール板までの距離は 11.0 cm であった（図 1C）。デジタルルクス計 LX-222（ヤガミ（株））を用いて照度を測定したところ、栽培容器の中央で 9200 ～ 9300 lx，左右の隅で 6700 ～ 7000 lx であった。また、苗を定植した発泡スチロール板の厚みが十分であるため、発泡スチロール板の下部に溜められた培養液には LED 光は到達しない。

発泡スチロール栽培容器の底中央には、エアレーション シオン S30（ジェックス（株））

につないだゴムチューブ (21 ~ 25 cm 間隔で径 1 mm の穴を 2 個開けた) 1 本を固定し、常時エアレーションを行った (図 1C)。

2. 培養液

栄養成分を含む培養液としてハイポニカ (協和 (株)) を水道水で 500 倍希釈して用いた。

3. 品種および発芽方法

供試品種は、赤丸二十日ダイコン ‘コメット’ (タキイ種苗 (株)) とした。この品種の根部は球形で、土耕栽培では表皮は鮮紅色となり、肉色は純白である。根径は 2 cm 程度になる。2014 年 4 月 4 日に、厚さ 2 cm 程度の水を含んだスポンジに、種を 2 ~ 3 個播種し、水を張ったタッパーにスポンジを設置した。スポンジの上部に濡れたキムワイブをのせ、タッパー全体を遮光して静置した。5 日後に発芽したラディッシュの苗を栽培容器の穴に 1 株ずつ、合計 12 株を定植した。定植時には苗をスポンジに深めに固定した。

4. 定植後の管理と調査項目

湛液型水耕栽培においては、ラディッシュは定植したスポンジの上部で主根が肥大する。図 2 に主根形成の様子を例示した。そこで主根に LED 光を当てる株 (Irradiated strain: I 株) と、遮光することで主根に LED 光を当てない株 (Shielded strain: S 株) に分けることとした。LED 光の遮光は、主根部分を肥大する前にアルミホイルで包むことにより行った (図 1B)。1 条件につき 6 個体を栽培した。

栽培は室内で行い、LED ライトは常時点灯した。培養液の交換は約 1 週間に 1 度の頻度で行った。培養液の pH は 8.1 に、EC は約 120mSm⁻¹ に調整した。pH は簡易型 pH テスター (ハンナインスツルメンツ・ジャパン (株)) を用いて測定し、EC は EC メーター KL-1388 (Qingdao Tlead International Co.) を用いて測定した。また、培養液の交換時に、栽培ケース内の温度、湿度、水温を測定した。



図 2 ラディッシュの主根形成の様子
主根を遮光した株 (S 株) の様子を示す

収穫時には、王立園芸カラーチャート (RHS. CC) を用いて主根表皮の比色を行った。次に、主根径、主根の長さ、水中根長、葉数、最大葉長、最大表皮厚、最小表皮厚を測定した。表皮厚は、主根を中央部分で半分切断して測定した。そして、主根表皮を包丁でむき、40℃で約 15 時間乾燥した後、重量を測定した (Tatsuzawa ら, 2010)。さらに、表皮をむいた主根をすりおろして菜汁を得て、屈折計 (MASTER REFRACTOMETER, (株) アタゴ) により糖度を測定した。

乾燥した皮は、0.01 g 当たり 1 ml の 0.1% 塩酸性メタノールを加え、暗所で 24 時間室温に放置し抽出液を得た (加藤ら, 2013 の変法)。1 個体の皮に濃淡があった場合は、皮を濃淡に分けてから乾燥し、上記の処理を施した。抽出液を 0.1% 塩酸性メタノールで 1 / 20 希釈し、分光光度計 U - 1800 (日立ハイテクノロジー (株)) で 300 ~ 700 nm を測定した (立澤・篠田, 2005)。「コメット」に含まれるアントシアニンの吸収極大は、510 nm である (立澤・篠田, 2005)。そこで、510 nm 付近に現れる吸収極大 (実際には 508 ~ 509 nm) の吸光度とシアニジン 3- グルコシド当量で総アントシアニン量を算出した。そして、1 個体当たりの乾燥した表皮に含まれる総アントシアニン量を、主根に LED 光を照射した個体と遮光した個体とで比較した。

結 果

1. 栽培時の温度、湿度、および水温

栽培時の容器内の温度と水温を図 3A に、湿度を図 3B に示した。苗を栽培容器に移した時点（種まきから 5 日後）の室温は 17.3℃、湿度は 57% であった。図 3A の容器を用いた栽培開始時の温度と湿度は、室内環境と同等である。種まきから 10 日後以降の容器内の温度は 21.9 ~ 26.0℃ であり、湿度は 58 ~ 88% であった。水温は 12.8 ~ 18.0℃ であった。

2. ラディッシュの収穫

主根径が 2 cm を超えた時点で収穫を行った。12 株のうち 6 株に LED 光を主根に照射し（I 株）、残りの 6 株を遮光した（S 株）。S 株のうち 2 株を播種から 24 日目に収穫した。そして、播種から 33 日目に I 株から 4 株、S 株から 2 株を収穫した。38 日目に I 株、S 株から残りの 2 株ずつ（計 4 株）を収穫した。収穫した株の写真を図 4 に示した。

3. LED 光がラディッシュに及ぼす影響

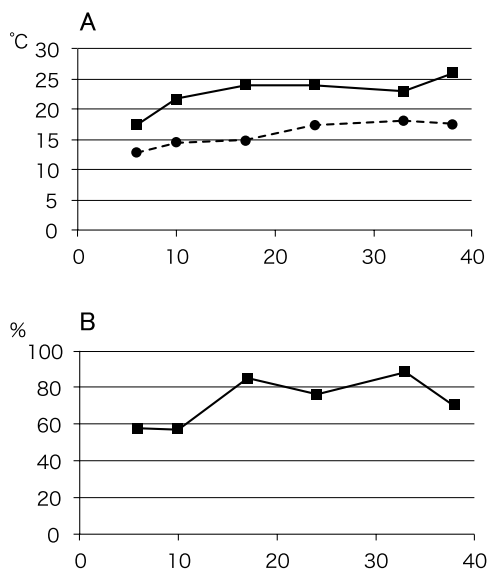
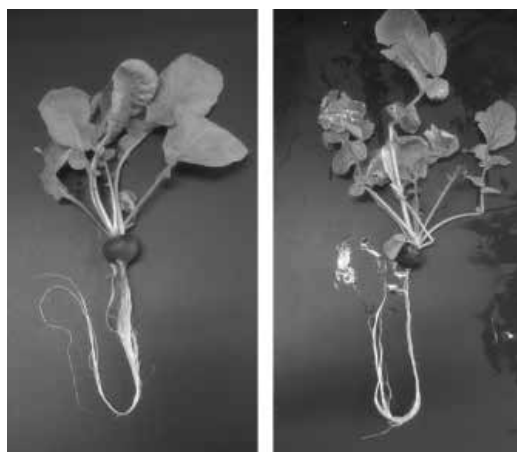


図 3 栽培中の容器内部の温度、湿度および水温
横軸は種まきからの日数を示す

A. 栽培中の温度 (■), 水温 (●) の推移,
B. 栽培中の湿度の推移



S 株

I 株

図 4 収穫したラディッシュ（‘コメット’）

左：主根を遮光した株（S 株）、
右：主根に LED を照射した株（I 株）

収穫後の結果を図 5 および表 1 にまとめた。S 株と I 株を比較したところ、主根径（S: 25.3 ± 3.5 mm, I: 25.6 ± 3.5 mm）、主根の長さ（S: 2.4 ± 0.5 cm, I: 2.4 ± 0.7 cm）、水中根長（S: 29.2 ± 15.7 cm, I: 22.9 ± 4.6 cm）、葉数（S: 8.2 ± 1.9 枚, I: 9.7 ± 1.2 枚）、最大葉長（S: 11.2 ± 2.2 cm, I: 15.0 ± 2.6 cm）、糖度（S: $3.4 \pm 0.8^\circ$, I: $3.1 \pm 0.4^\circ$ ）には、差は認められなかった。

最大表皮厚（S: 0.6 ± 0.2 mm, I: 0.8 ± 0.1 mm）、最小表皮厚（S: 0.2 ± 0.1 mm, I: 0.3 ± 0.1 mm）、主根表皮の乾燥重量（S: 0.042 ± 0.008 g, I: 0.069 ± 0.023 g）においても、有意差は見られなかった。また、1 個体当たりの総アントシアニン量は、S 株が 4.7 ± 1.3 mg, I 株は 9.9 ± 4.5 mg となり、5% 水準で有意差が認められ（ $P = 0.040$ ）、I 株の方が S 株よりも約 2 倍増加していた。

王立園芸協会カラーチャートを用いて主根の表皮色を測定した。表皮には色の濃い部分と薄い部分がみられる株が存在した。そのため、表 1 では I 株の 2 個体を濃い部分と薄い部分に分けて結果を示した。I 株の主根表皮は RP59A, RP59C, RP60A, PN77A, GP187A, B203A を示し、赤紫、紫、灰紫、黒を呈した。S 株は、

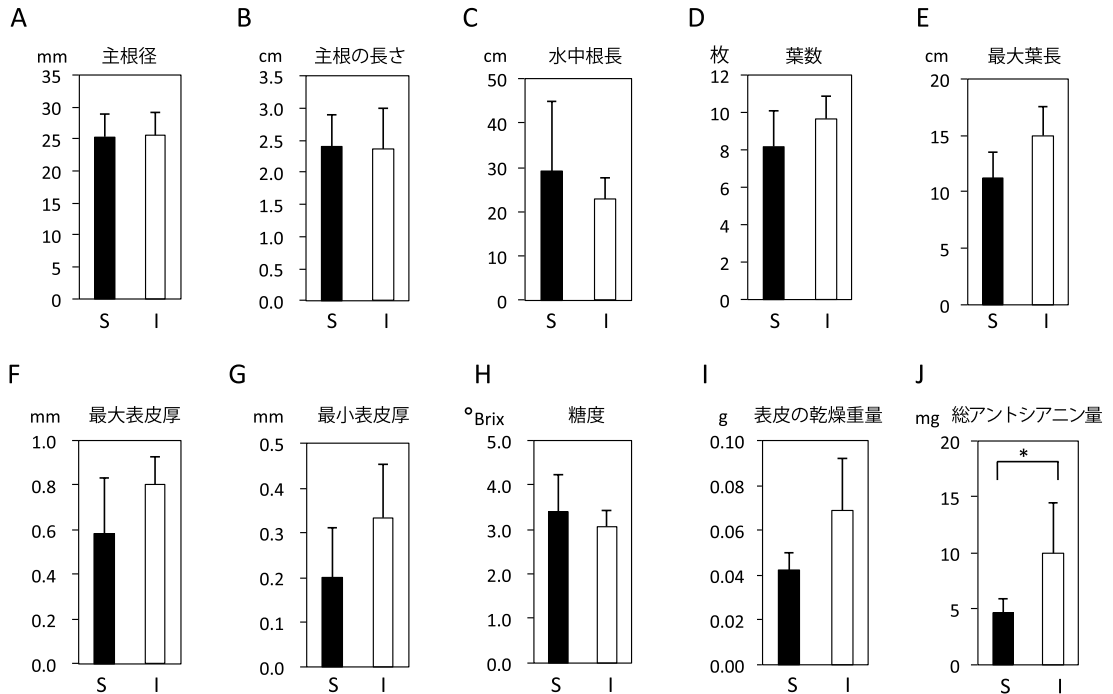


図5 LED光がラディッシュに及ぼす影響

A. 主根径, B. 主根の長さ, C. 水中根長, D. 葉数, E. 最大葉長, F. 最大表皮厚, G. 最小表皮厚, H. 主根の糖度, I. 表皮の乾燥重量, J. 1個体当たりの総アントシアニン量, S: 主根を遮光した株, I: 主根にLEDを照射した株, * $P<0.05$, $n=6$

表1 ラディッシュの測色

株	遮光 (S)	照射 (I)
1	R53A	GP187A
2	R53A	PN77A
3	R53A	RP59A
4	R53A	濃: GP187A 薄: RP59C
5	RP60B	GP187A
6	R53A	濃: B203A 薄: RP60A

R: Red RP: Red-Purple P: Purple B: Black
GP: Greyed-Purple
王立園芸協会カラーチャート (RHS.CC) を用いた

R53A, RP60B を示し, 赤, 赤紫を呈した。全体として I 株の方が S 株よりも濃色を示した。

考 察

今回, 光源として LED を用いて, ラディッシュ (‘コメット’) の水耕栽培を試みた。栽培は湛液型にエアレーションを組み合わせた。以前に著者らがペットボトル容器を用いて, エアレーションを行わずに ‘コメット’ の湛液型

水耕栽培を試みた際には, 根径約 2 cm に達するのに 43 ~ 50 日を要し, 中には 50 日経っても根径が 2 cm に満たない株も存在した (小林, 2014)。今回の水耕栽培では, 定植の際に苗をスポンジに深めに植え込んだことにより, S 株, I 株のすべての株で, 主根が十分に肥大し, 形の良い個体が収穫できた。また, エアレーションを導入したことにより, 収穫までの日数が短縮された。しかし, 根径約 2 cm に達する日数が, 24 ~ 38 日と, 以前よりも大きな差が生まれた。今後は, 適切な条件を設定することで, 個体の生育差を小さくし, 全ての個体の生育日数を揃えた上で検討を行いたい。

今回の実験では, 主根を含む根の長さや大きさに関する項目, 葉に関する項目, また主根の糖度において, 主根への LED 照射の有無で変化は現れなかった。また, 主根の表皮の厚みや乾燥重量に関しても有意差は認められなかった。しかし, 主根に LED 光を照射し続けると,

主根表皮の色合いが濃くなり、表皮の総アントシアニン含量が約 2.0 倍に増加した。今回は個体間のばらつきが大きい結果となっているが、LED を照射した株において表皮の厚さが厚くなる傾向も総アントシアニン量の増加に反映されているのではないかと考えている。前回の湛液型・静止法でのラディッシュの栽培時にも、LED 照射を続けることにより主根表皮の総アントシアニン量が 1.7 倍増加していたが、有意差は得られていなかった (小林, 2014)。今回は、試験個体数を増やしたために、5% 水準での有意差が得られたものと考えている。

アントシアニンを含むフラボノイドは、環境ストレスに応答して合成される防御物質の一種と考えられている。1 日中 LED 光が照射されるという状況は、本来、土中で成長するラディッシュの主根にとって、強光ストレスとなりえる。今回の栽培では、S 株の平均的な表皮色は R53A (RHS.CC) であった。土耕栽培時の‘コメット’の根色の測定の結果は、R53B (RHS.CC) である (加藤ら, 2013)。主根を遮光した

LED による水耕栽培においても、主根は土耕栽培とほぼ同様の光環境にあると考えられ、アルミホイルによる遮光は強光ストレスに対して有効であったと考えられる。アントシアニンは、アグリコンとしてアントシアニジンを持つ (細谷・熊沢, 2014)。ラディッシュ類のアントシアニンは、赤色品種はペラルゴニジン誘導体、紫色品種はシアニジン誘導体からなる (加藤ら, 2013)。土耕栽培の‘コメット’のアントシアニジンはペラルゴニジン (加藤ら, 2013) である。土耕栽培と LED 栽培で主根の皮に含まれるアントシアニンが異なる可能性も考えられるが、今後の課題としたい。

謝辞

ラディッシュの有色部位の測定法および総アントシアニンの測定法についてご指導頂いた、岩手大学 加藤一幾先生、立澤文見先生に深謝いたします。また、本実験に協力頂いた、藤枝瑞稀さんに謝意を表します。

引用文献

1. 青木勝平・加藤元保・岩井静子・イエリアン ミアオ. 根菜類の養液栽培技術の研究開発一培地による植物生育の相違一. 三重大生資農場研報. **12**: 18-23, 2001.
2. 細谷孝博・熊沢茂則. アントシアニンの構造と分布. *Functional Food*. **8**: 68-73, 2014.
3. 加藤一幾・佐藤和成・金澤俊成・庄野浩資・小林伸雄・立澤文見. ダイコン類 (*Raphanus sativus* L.) における根色とアントシアニン. 園学研. **12**: 229-234, 2013.
4. 小林晶子. LED 光源を用いたラディッシュの湛液型・静止法による養液栽培. *New Food Industry*. **56**: 13-18, 2014.
5. 日本施設園芸協会・日本養液栽培研究会. 根菜類. p. 295-300. 社団法人日本施設園芸協会・日本養液栽培研究会共編著. 養液栽培のすべて. 誠文堂新光社. 東京. 2012.
6. Samuoliene, G., A. Brazaityte, R. Sirtautas, A. Virsile, J. Sakalauskaite, S. Sakalauskiene and P. Duchovskis. LED lighting and seasonality effects antioxidant properties of baby leaf lettuce. *Food Chem*. **134**: 1494-1499, 2012.
7. 庄子和博・後藤英司・橋田慎之介・後藤文之・吉原利一. 赤色光と青色光がレッドリーフレタスのアントシアニン蓄積と生合成遺伝子の発現に及ぼす影響. 植物環境工学. **22**: 107-113, 2010.
8. Tatsuzawa, F., N. Saito, K. Toki, K. Shinoda, A. Shigihara and T. Honda. Acylated cyanidin 3-sophoroside-5-glucosides from the purple roots of red radish (*Raphanus sativus* L.) ‘Benikanmi’. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **79**: 103-107, 2010.
9. 立澤文見・篠田浩一. フォトダイオードアレイ検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーによるアントシアニンの同定と薄層クロマトグラフィーおよび分光光度計での吸収スペクトル特性を併用したアントシアニンの同定の比較. 園学研. **4**: 225-228, 2005.
10. 寺林 敏・原田直美・伊達修一・藤目幸擴. 水耕ニンジン (*Daucus carota* L.) の根の肥大に及ぼす通気および培養液水位の影響. 園学研. **7**: 439-444, 2008.

豆乳を利用した 新規グルテンフリー米粉パンの開発

新井 映子 (ARAI Eiko)¹ 伊藤 聖子 (ITO Seiko)¹

¹ 静岡県立大学食品栄養科学部

Key Words : 豆乳 大豆タンパク質 小麦アレルギー グルテンフリー 米粉パン

はじめに

セリアック病¹⁾に代表される小麦アレルギー疾患の増加が、世界的な問題となっている。小麦アレルギー疾患の原因物質のひとつとして、グルテン構成タンパク質の一種であるωグリアジンの関与が明らかにされている^{2,3)}。そのため、小麦アレルギーの人は、グルテンの特性を活かしたパンや麺類などの小麦粉加工品を摂取することができない。

近年、日本では米を小麦粉に近い粒度に製粉する技術が開発され、小麦粉の代替に米粉を使用したパンが製造されるようになった。しかし、米粉を膨化させるために小麦粉から抽出したグルテンを添加したものが多く、小麦アレルギー疾患の人が摂取できるグルテンフリーの米粉パンは少ない。

米粉でグルテンフリーパンを製造する際、困難なのは膨化である。小麦粉では、水を加えて捏ねるとグリアジンとグルテニンが会合してグルテンネットワークを形成し、イーストが発生する二酸化炭素をドウ内に閉じ込めるため、ドウは大きく膨張する⁴⁾。一方、米に含まれる主要タンパク質のオリゼニン⁵⁾は、グルテンのようなネットワークを形成できないため、米粉に水を加えて捏ねても小麦粉のようにドウにはな

らず、流動性のあるバターとなる。米粉のバターは気泡を十分に保持することができず、気泡は徐々に浮上して液面から散逸する。その結果、発酵後のバターはわずかししか膨張せず、これを焼成しても良好に膨化したパンにはならない。

そこで、米粉を使用したグルテンフリーパンには、キサンタンガム、グアガム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの増粘剤が添加されることが多い^{6,7)}。ただし、日本ではこれらの増粘剤は食品添加物に指定されているため、食品素材のみで米粉を良好に膨化させる技術が開発されれば、より消費者ニーズの高い製品となる。

従来、小麦、卵、牛乳の3大アレルゲンを除去した膨化食品を調製する場合、水の代わりに豆乳を使用すると、製品の膨化性を高められることが経験的に知られている^{8,9)}。また、グルテンフリーパンに大豆粉末や大豆タンパク質を添加する製法も報告されている^{10,11)}。しかし、大豆成分がどのような機序でグルテンフリーパンの膨化に関与しているのかについては明らかにされていない。

豆乳タンパク質の主成分は大豆グロブリンで、中でも約40%を占めるグリシニンや約

28%を占める β -コングリシニン¹²⁾は、加工特性に大きな影響を与えるSH基やSS結合を持ち、複雑な立体構造を形成している¹²⁾。また、これらのタンパク質は、熱や力などの影響を受けて部分的に変性すると、分子構造が変化して吸油性、起泡性、結着性、紡糸性などの機能性を持つようになる。そこで筆者らは、加熱処理が施された市販豆乳を使用すると、米粉を膨化させることができるのではないかと予測し、食品素材のみで作る新たなグルテンフリー米粉パンの開発を行うこととした^{13,14)}。

1. 豆乳置換率とバターの発酵体積

はじめに、豆乳使用の可能性を探るため、豆乳成分がバターの発酵体積に与える影響を検討した。材料には、米粉（新潟製粉、パウダーライス）、豆乳（マルサンアイ、有機豆乳無調整）、グラニュー糖、食塩、ドライイースト（日清フーズ、日清スーパーカメリアドライイースト）を使用した。基本配合は、米粉（100%）に対して水もしくは豆乳110%、砂糖2%、食塩1.25%、イースト1.25%とした。全材料をボールに入れ、品温を10℃に保ちながら5分間攪拌してバターを調製した。

バターの調製にあたり、豆乳の一部を水で置換して豆乳置換率0%（豆乳：水，0:100）、25%（25:75）、50%（50:50）、75%（75:25）および100%（100:0）の液を使用し、38℃で80分間発酵させたところ、発酵体積は豆乳置換率が増加するに伴って上昇し、両者間には有意な正の相関が認められた（図1）。この結果より、

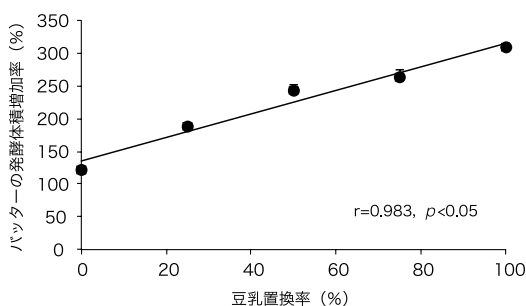


図1 豆乳置換率とバターの発酵体積増加率¹³⁾

米粉の加水に水と同重量の豆乳を使用すると、水を使用した場合よりもバター中に多数の気泡が含有されるようになり、発酵体積は2倍以上に増加することが確認できた。

豆乳使用で水よりもバターの発酵体積が増加した要因には、2つのことが推察される。ひとつ目は液面から散逸する気泡が減少し、バター中に多量の気泡が保持されたこと、ふたつ目はイーストが発生する二酸化炭素量が増加し、気泡の数が増したことである。そこで、これらの要因について検討した。

2. 豆乳成分による気泡の保持

大豆タンパク質の主要成分は、前述のようにグロブリンである。未変性のグロブリンは、水素結合や疎水結合などにより、高次構造を持つ球状タンパク質として存在する。ただし、豆乳のように製造過程で熱や攪拌などの物理的処理を受けた場合には、球状タンパク質は部分的にほどけ、親水領域とともに疎水領域も一部分子表面に露出する¹⁵⁾。そのため、豆乳を使用したバターでは、発酵中にイーストが二酸化炭素を発生すると、疎水領域は二酸化炭素側に、親水領域は水側に配向し、タンパク質の泡膜を形成すると考えられる。その結果、気泡同士の合一や巨大化が起こりにくくなり、浮上して液面で破泡する気泡が減少したものと推察された。

この仮説を検証するため、グロブリンの中で含有割合が高いグリシニンと β -コングリシニンを生大豆からそれぞれ分画し、豆乳のタンパク質（4.6 g/100 g）と同濃度のタンパク質溶液として米粉に加えてバターを調製し、発酵による体積増加率を求めた。その結果、バターの発酵体積増加率はコングリシニン溶液が223 ± 7%、 β -コングリシニン溶液が222 ± 2%となり、水（122 ± 3%）の約2倍に増加した。

これらのバターを透明なガラス容器で発酵させて気泡の状態を観察したところ、水を使用したバターでは気泡が僅かしか確認できず、液面で破泡することにより、バターの飛沫がガラス壁面に飛び散っている様子が観察された

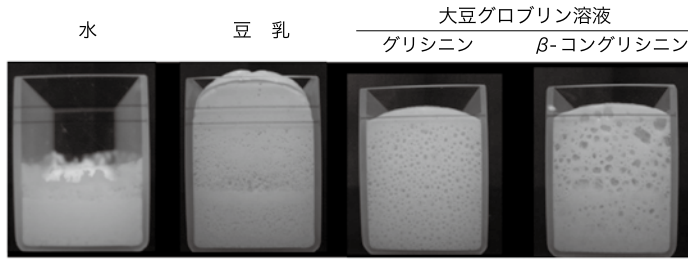


図2 水、豆乳および大豆グロブリン溶液で調製したバターの発酵状態¹³⁾

(図2)。一方、豆乳、グリシニンおよびβ-コングリシニンの溶液を使用したバターでは、多数の気泡が全体に分散し、液面は丸く盛り上がり、破泡による飛沫は認められなかった。これらのことから、豆乳に含まれる大豆グロブリンのグリシニンとβ-コングリシニンは、バター中に気泡を保持し、バターの発酵体積を増加させることが明らかとなった。

一方、液面からの気泡の散逸を抑制してバター内に閉じ込めるには、バター粘度を上昇

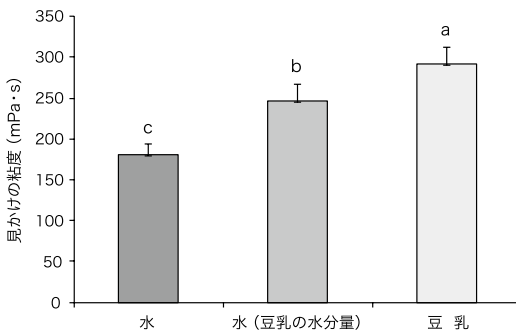


図3 バターの見かけの粘度¹³⁾
粘度測定：ずり速度 100 s^{-1}

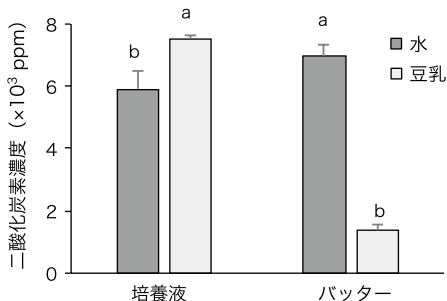


図4 培養液およびバターから放出された二酸化炭素量¹³⁾

させて気泡の浮上を遅らせることも有効である。水と同重量の豆乳を加えた場合、豆乳は固形分を含むため約10%水分量が減少する。そこで、水、豆乳および豆乳の水分量に等しい水を米粉に加えてバターを調製し、発酵と同条件下で放置後に粘度を測定した(図3)。ただし、イーストは無添加である。その結果、豆乳を使用した

バターが最も高粘度となり、水はそれよりも低粘度であった。一方、豆乳の水分量に等しい水を加えたバターは、水よりも粘度上昇したが、豆乳には及ばなかった。従って、豆乳成分はバター粘度の増加にも寄与していることが推察された。

3. 豆乳成分による二酸化炭素の発生

次に、豆乳成分がイーストの活性化に関わる可能性について検討した。水または豆乳に砂糖、食塩およびイーストを加えた培養液を二酸化炭素濃度測定器とともにデシケーター内に密封して38℃で80分間発酵させ、液面からの二酸化炭素放出量を求めた(図4)。その結果、豆乳を使用した培養液では、二酸化炭素放出量は水の1.27倍に増加した。これは、イーストのインベルターゼによって大豆由来のショ糖が分解され、資化されたためと推察された¹⁶⁾。さらに、培養液に米粉を加えたバターについても同様の測定を行ったところ、豆乳のバターから放出される二酸化炭素量は、水のバターの1/5以下であった。これらの結果より、豆乳使用でバターの発酵体積が増加したのは、大豆グロブリンによる気泡膜の形成やバター粘度の上昇に加え、豆乳中のショ糖によるイーストの活性化も示唆された。

4. バターの膨化性とパンの内相

次に、豆乳を使用したバターを焼成したパンの性状について検討した。前述のバター40gをマフィン型に入れて170℃の電気オーブ

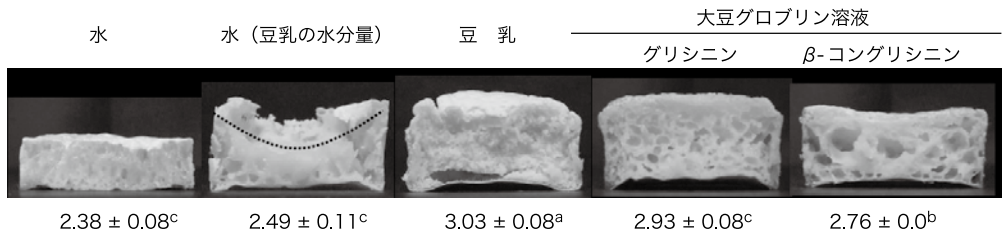


図5 パンの内相と比容積¹³⁾
水（豆乳の水分量）の点線：陥没した部分

ンで20分間焼成し、パンの膨化状態を比較した（図5）。その結果、豆乳、グリシニンおよびβ-コングリシニンの溶液で調製したパンは、いずれも水より比容積が有意に増加し、膨化性の向上が認められた。

内相を比較すると、水を使用したパンは気泡がつぶれて詰まった状態であったが、豆乳、グリシニンおよびβ-コングリシニンの溶液を使用したパンは、水よりも気泡が大きく、パンに特有のすだちが形成されていた。また、グリシニンとβ-コングリシニンの溶液では、グリシニンを使用したパンの方がきめ細かく、ドーム状に焼き上がった。この現象は、岡本ら^{17,18)}が報告した湯葉と同様に、グリシニンとβ-コングリシニンのSH基量の差によると推察された。

これらの結果より、水の代わりに豆乳を使用して米粉バターを調製すると、水よりも良好にパンを膨化させることができた。ただし、この結果はマフィン型を使用した場合である。そこで、バター量を増加させて食パンの形状に焼成することができれば、消費者にとってより望ましい製品になると思われる。そこで、食パン型へのスケールアップを検討した。

5. 生地増加によるクラムの空洞化

パンの大きさをスケールアップするため、マフィン型（40g）よりも生地重量が多い食パン型（0.5斤、300g）を使用して120

分間発酵後に焼成し、生地が発酵状態と焼成後の膨化状態をマフィン型と比較した。その結果、生地量が増加しても、発酵状態に変化は認められなかった。しかし、食パン型で焼成したパンのクラム中央上部には、マフィン型には認められない大きな空洞が発生した（図6）。

生地量が多い食パン型を使用すると、生地量が少ないマフィン型を使用するよりも中心部の温度上昇は遅くなる。そのため、食パン型の生地中心部では、澱粉の糊化による生地の粘度上昇や、大豆タンパク質の泡膜の熱凝固による硬化が遅れ、気泡の合一や浮上が起こりやすくなる。そのため、焼成中にクラム中心部に大きな気泡が形成され、それが澱粉の糊化で固定されて空洞になったものと推察された。

小麦粉食パンでは、グリアジンとグルテニンのSS結合により、強固に結合したグルテン膜が形成される。そのため、加熱しても気泡が合一することは少ない。鶏卵を使用するスポンジ

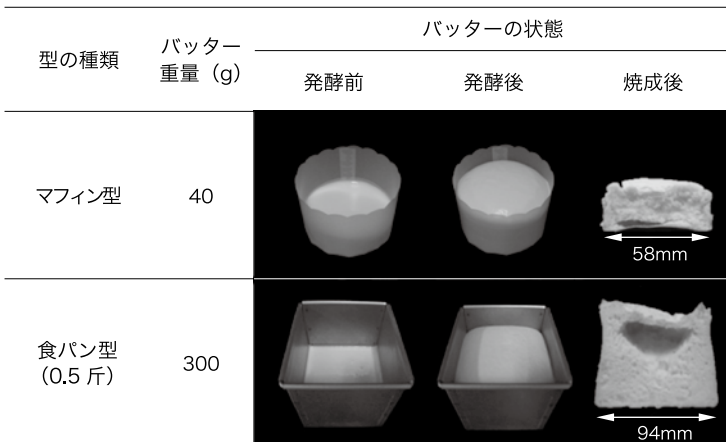
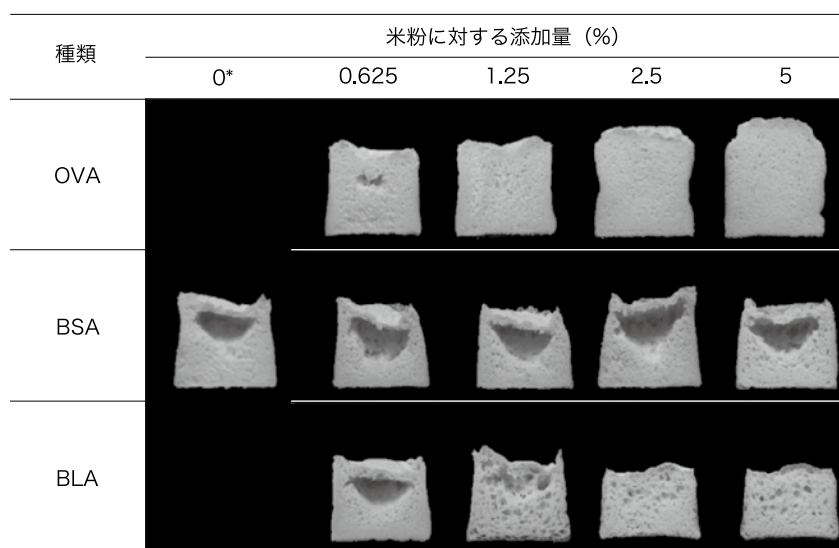


図6 型の種類とバターの発酵状態およびパンの内相¹⁴⁾

図7 アルブミンの種類がパンの空洞化抑制に与える影響¹⁴⁾

*0は図6の写真(食パン型)と同様

ケーキでは、おもにオボアルブミンが泡膜を形成している。オボアルブミンの熱変性温度は60～80℃¹⁹⁾であるため、加熱によって速やかに凝固する。そのため、加熱中に泡膜はほとんど破壊しない。一方、豆乳を使用した米粉生地では、泡膜の形成にはグリシニンの関与が大きい。グリシニンの熱変性温度は90℃付近²⁰⁾であるため、豆乳を使用した生地では、グリシニンが熱凝固するよりも先に、泡膜から水分が拡散して失われる。すると、分子の揺らぎが生じて泡膜は薄膜化し²¹⁾、隣接する気泡と合一して徐々に巨大化したと推察された。

6. アルブミン添加がパンの内相と膨化性に与える影響

生地を増量してもクラムに空洞が形成されないようにするためには、大豆グロブリン(おもにグリシニン)よりも熱凝固性に優れるアルブミンを添加して、泡膜の硬化を早めることが有効と思われた。そこで、熱凝固性を有するタンパク質のアルブミン3種類を米粉に対して0から5%まで添加して製パンし、空洞の発生状態を検討した(図7)。

オボアルブミン(OVA)を添加したパンで

は、添加量の増加に伴って空洞が小さくなり、1.25%以上添加すると空洞は消失した。また、2.5%以上添加すると、オーブンスプリングによってパンの膨化性が向上した。また、OVAの添加量を増やすとパンの比容積も上昇し、両者間には有意な正の相関が認められた(図は省略)。一方、ウシ血清アルブミン(BSA)は、添加量を増加しても空洞は小さくならなかった。 α -ラクトアルブミン(BLA)は、添加量の増加に伴って空洞は小さくなったが、パンの膨化性はOVAとは反対に低下した。これらの結果から、1.25%以上のOVA添加は内相の改善に、2.5%以上のOVA添加は膨化性の向上に有効であることが判明した。

7. OVA添加による泡膜の熱凝固性の向上

OVA添加でクラムの空洞が消失した要因のひとつに、泡膜の熱凝固性の向上が示唆された。そこで、各種アルブミンを添加した豆乳泡膜の熱凝固性を検討するため、製パンと同じ割合のアルブミンを豆乳に添加して起泡し、得られた泡沫を加熱して状態変化を観察した。その結果、アルブミン無添加(0%)の豆乳泡沫は加熱によって消失し、液状化した(図8)。しかし、

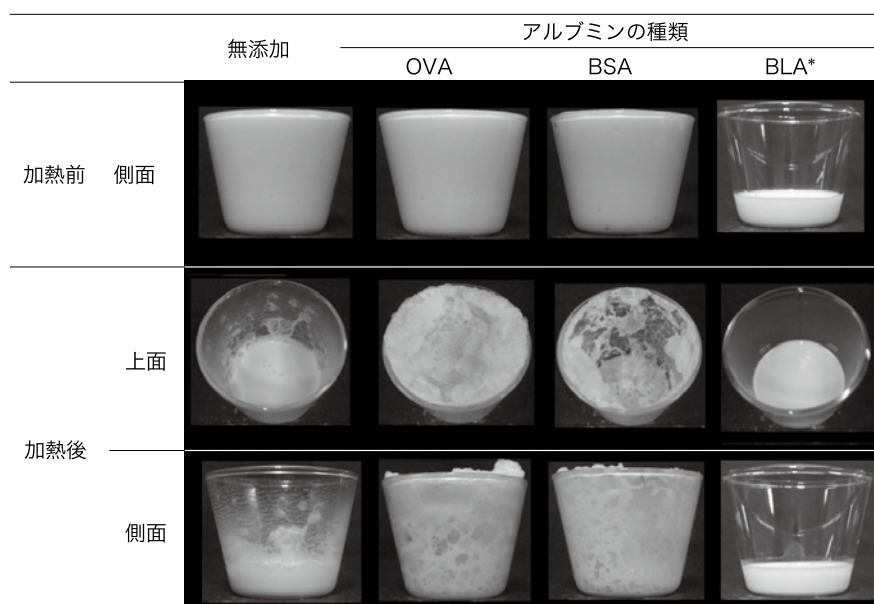


図8 アルブミンの種類が豆乳泡沫の加熱に与える影響¹⁴⁾

加熱条件：170℃、10 分間 * 攪拌によって泡沫を形成せず、加熱によって凝固しなかった。

OVA を 2.5% 以上添加した豆乳泡沫は、加熱による合一は認められたものの、皮膜を形成して熱凝固した。このことから、豆乳に一定量（本実験では豆乳 220 g に対して 5 g）以上の OVA を添加すると泡膜の熱凝固性が向上し、泡沫の破壊は抑制されることが判明した。

前述のように、OVA は、泡沫形成に関与しているグリシニンよりも熱変性温度が低い。OVA を添加した豆乳泡沫では、OVA がグリシニンやその他の大豆タンパク質と共存して泡膜を形成するため、熱伝導が遅い生地中央部でも泡膜の熱凝固が促進され、空洞の発生が防止できたと推察された。一方、BSA を添加した豆乳は、加熱初期に表面の気泡が合一して薄膜を形成したが、その後薄膜は崩壊し、加熱後は容器の底と壁面に半固体状の豆乳が付着した状態となった。BLA を添加した豆乳は、攪拌しても泡沫が形成されなかったため、液体を容器に入れて加熱したが、加熱後も液体のままであった。

これらの結果より、豆乳に OVA を添加すると、無添加または BSA や BLA を添加した豆乳

よりも、気泡の熱凝固性は大きく向上することが判明した。

8. OVA 添加による生地粘度の上昇

気泡の合一を抑制するには、前述のようにバターの粘度も関与している。また、Hamada ら²²⁾ は、グルテンフリー米粉パンの膨化に米麴を利用した報告の中で、*Aspergillus oryzae* のプロテアーゼで米の貯蔵タンパク質が部分的に分解されると澱粉粒子の凝集が起こり、生地の流動性は低下すると報告した。そのため、大豆グロブリンや OVA も澱粉粒子の凝集に関与し、生地の流動性に何らかの影響を与えることが推察された。そこで、米粉と豆乳または米粉と水に製パンと同じ割合の OVA を添加した懸濁液を用いて Rapid-Visco-Analyzer (RVA) 測定を行い、得られた最高粘度を焼成過程における生地粘度の指標として検討を行った。

OVA 無添加 (0%) では、豆乳を使用した懸濁液の方が、水を使用したものより最高粘度は低かった (図 9)。これは、豆乳成分が米澱粉の糊化や膨潤を抑制したためと推察された。た

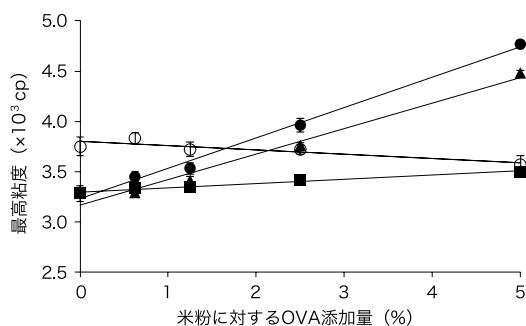


図9 OVA添加量が米粉懸濁液の最高粘度に与える影響¹⁴⁾

だし、豆乳を使用した懸濁液では、OVA添加量の増加に伴って最高粘度は上昇し、両者間に有意な正の相関が認められた。一方、水を加えた懸濁液では、OVAを添加しても最高粘度は上昇しなかった。これらの結果から、最高粘度の上昇は、豆乳とOVAの相互作用によることが判明した。また、OVA添加量が2.5%以上になると、豆乳を使用した懸濁液の最高粘度は水よりも高くなった。

これらの結果より、豆乳にOVAを添加すると、泡膜の熱凝固性の向上に加え、水を使用した米粉生地よりも糊化粘度が高くなるため、気泡の合一や浮上が抑制されて、空洞が生じなくなったと推察された。また、OVAを2.5%以上添加した豆乳の生地では、粘度上昇によって生地から散逸する水分が減少し、生地内の水蒸気圧が高くなったため、オープンスプリングが生じたと推察された。

9. 大豆グロブリンとオボアルブミンによる澱粉粒子の凝集

豆乳と米粉の生地にはOVAを添加すると生地の最高粘度が増加した要因には、以下のことが推察された。すなわち、米澱粉を大豆グロブリンとOVAの共存下で加熱すると、両タンパク質を介して米澱粉が凝集する。凝集して粒子径が大きくなった澱粉が増加すると、糊液の粘度は上昇する。そこで、米粉の代わりにうるち米澱粉、豆乳の代わりに大豆グロブリン溶液（グリシニンとβ-コングリシニンの混合液）を使

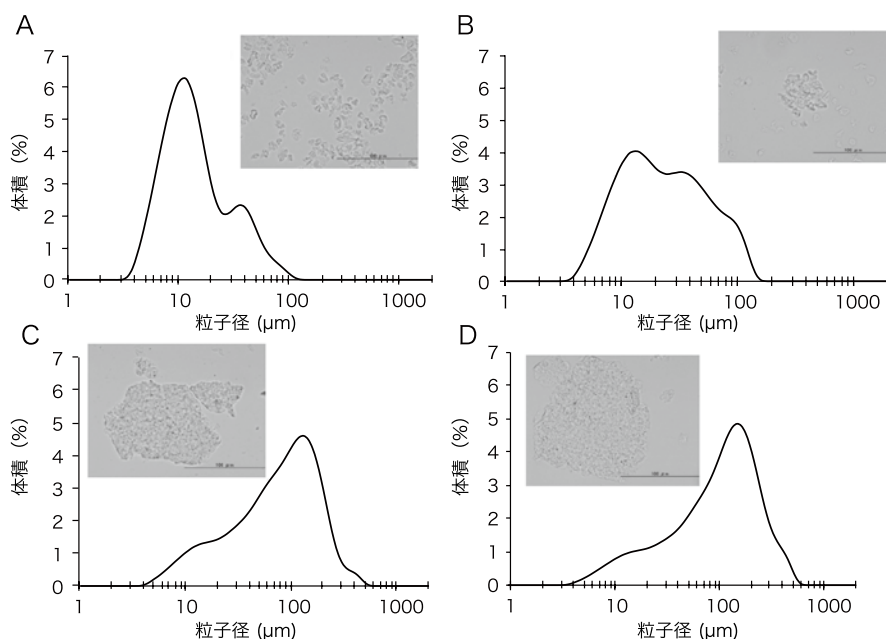


図10 糊化したうるち米澱粉凍結乾燥物の粒度分布と光学顕微鏡写真¹⁴⁾

A: 水; B: 水+OVA; C: 大豆グロブリン溶液; D: 大豆グロブリン溶液+OVA
光学顕微鏡写真中の横線は100 μmを示す。

用して、大豆タンパク質と OVA が米澱粉の粒子径に与える影響を検討した。

澱粉を水で加熱した場合、単粒と推定される粒子径約 10 μm と複粒と推定される約 40 μm に、2つのピークが検出された。水に OVA を添加して加熱した場合も、検出されたピークの粒子径は水とほぼ同じであったが、単粒の体積比率が減少し、複粒が増加した (図 10)。これらのことから、OVA は米澱粉の単粒を凝集し、複粒を形成すると推察された。一方、大豆グロブリン溶液で加熱した場合、複粒と推定される 40 μm 付近にピークは認められず、より大きな凝集体と推定される 150 μm 付近にピークが検出された。さらに、大豆グロブリン溶液に OVA を添加して加熱した場合、凝集体と推定されるピークの粒子径は、大豆グロブリン溶液よりもさらに大きくなり、体積比率もわずかながら増加した。

澱粉粒を光学顕微鏡で観察したところ、水および水と OVA では、澱粉の単粒と複粒が観察された。大豆グロブリン溶液および大豆グロブリン溶液と OVA では、澱粉の複粒とそれがさらに結合し、より大きな凝集体を形成している様子が観察された。

これらの結果から、米粉と豆乳に OVA を添加して加熱すると懸濁液の最高粘度が増加したのは、熱変性温度が低い OVA が澱粉の単粒を結合して複粒を形成した後、変性温度が高い大豆グロブリンがさらに複粒を結合してより大きな凝集体を形成したためと推察された。

10. OVA 添加グルテンフリー米粉パンの硬さと最適添加量

食品の嗜好性は、外観だけでなく食感も重要な要素である。そこで、OVA 添加量に伴うクラムの硬さの変化を検討した。その結果、対粉 1.25% までの添加では、添加量に伴ってパンの硬さは有意に減少した (図 11)。しかし、1.25% を超えて添加すると、パンの比容積は向上したにも関わらず、硬さは再び増加した。1.25% までの添加では空洞部分が小さくなり、膨化性が

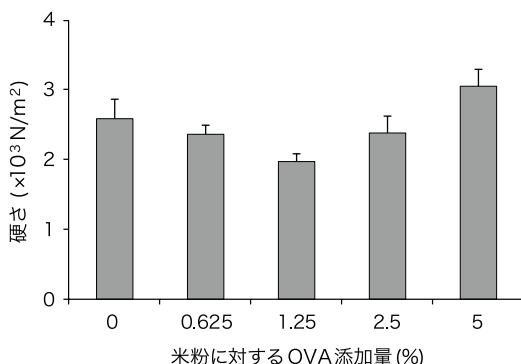


図 11 OVA 添加量がグルテンフリー米粉パンの硬さに与える影響¹⁴⁾

向上したことでクラムは軟らかくなったと考えられた。一方、1.25% を超えて添加した場合には、固形分が増加することや気泡膜の熱凝固性が過度に向上することにより、クラムは硬くなったと推察された。

これらの結果から、OVA を対粉 1.25% 添加するとパンに空洞は生じなくなり、またクラムは最も軟らかくなることが判明した。そこで、これを OVA の最適添加量と決定した。

11. 新規グルテンフリー米粉パンの官能評価

OVA 添加のグルテンフリー米粉パンを官能評価するため、OVA の代替として乾燥卵白を使用して製パンを行うこととした。卵白中の OVA 含有量は一般に 54% とされているため、乾燥卵白添加量を対粉 2.5% (OVA1.25% 相当)

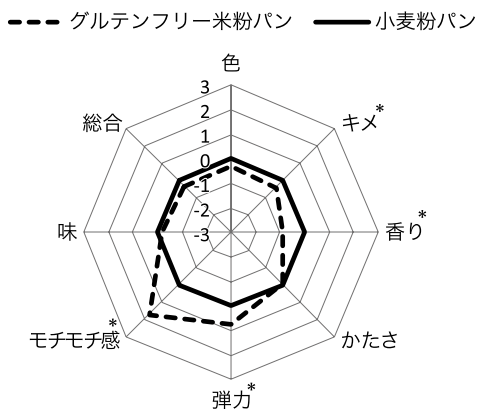


図 12 グルテンフリー米粉パンの官能評価
* 試料間に有意差 ($p < 0.05$) があることを示す

とした。市販の小麦粉食パンを対照とし、試作品を大学生 33 名を被験者とするパネルを用いて官能評価したところ、試作品はモチモチ感、弾力が小麦粉食パンよりも有意に高いと評価されたが、他の項目は小麦粉食パンとの間に有意差は認められなかった（図 12）。

これらの結果から、豆乳と乾燥卵白を併用して調製した新規グルテンフリー米粉パンは、小麦粉食パンの代替として日常的に摂取できると考えられた。

おわりに

水の代わりに豆乳を使用し、少量の乾燥卵白を加えることで、小麦粉食パンに近いグルテンフリー米粉パンを製パンできることが明らかとなった。ただし、少量ではあるが卵白を添加したパンは、小麦アレルギーに加えて卵アレルギーを持つ人は摂取できない。今後は、OVA の代替となる成分の検索を行う予定である。

引用文献

1. Catassi, C. and Yachha S.K: The epidemiology of celiac disease. In "The science of gluten-free foods and beverages.", The American Association of Cereal Chemists International, St. Paul, pp. 1-13, 2009.
2. Palosuo, K, Alenius, H, Varjonen, E, *et al.*: A novel wheat gliadin as a cause of exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immun*, **103**, 912-917, 1999.
3. Morita E., Matsuo H, Mihara S, Morimoto K, Savage A.W., Tatham A.S: Fast omega-gliadin is a major allergen in wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Dermatol Sci*, **33**, 99-104, 2003.
4. Hoseney, R. C., Finney, K.F., Shogren, M.D., Pomeranz Y: Functional (bread making) and biochemical properties of wheat flour components. III. Characterization of gluten protein fractions obtained by ultracentrifugation. *Cereal Chem*, **46**, 126-135, 1969.
5. Juliano, B.O: "Rice: Chemistry and Technology", The American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, p.98, p.540, 1985.
6. Crockett R., Ie, P., Vodovotz, Y: How do xanthan and hydroxypropyl methylcellulose individually affect the physicochemical properties in a model gluten-free dough? *J Food Sci*, **76**, 274-282, 2011.
7. Sabanis D, Tzia C: Effect of hydrocolloids on selected properties of gluten-free dough and bread. *Food Sci Tech Int*, **17**, 279-291, 2011.
8. 渡邊香代子:「タマゴも牛乳もつかわずにこんなにおいしいお菓子ができた！ 1+2」. ソニー・マガジズ, 東京, 2008.
9. 陣田靖子:「アトピーにも安心 100% 米粉のパン & お菓子」. 社団法人家の光協会, 東京, 2007.
10. Shin D.J., Kim W., Kim Y.: Physicochemical and sensory properties of soy bread made with germinated, steamed, and roasted soy flour, *Food Chem*, **141**, 517-523, 2013.
11. Rachel C, Pauline I, Yael V: Effect of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread, *Food Chem*, **129**, 84-91, 2011.
12. Liu K: "Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization", Aspen Publishers, Inc., New York, pp.42-48, pp.182-184, 1999.
13. Nozawa, M, Ito, S, and Arai, E: Effects of soymilk on rising of gluten-free rice flour bread. *Food Sci Tech Res*, **20**, 1063-1070, 2014.
14. Nozawa M, Ito S, and Arai E: Effect of ovalbumin on the quality of gluten-free rice flour bread made with soymilk. *LWT-Food Sci Tech*, **66**, 598-605, 2016.
15. Thanh V.H., Shibasaki K: Major protein of soybean seeds. A straightforward fractionation and their characterization. *J Agric Food Chem*, **24**, 1117-1121, 1976.
16. Phaff H. J., Miller M. W., Mrak E.M.: "The Life of Yeasts", Harvard University, Cambridge, p.148, 1966.
17. 岡本奨: 蛋白質の皮膜化に関する研究. 日本食品工業学会誌, **24**, 40-50, 1977.
18. 白井正澄, 渡辺研, 岡本奨: 大豆 11S, 7S グロブリンからの湯葉状皮膜の生成と膜質について. 日本食品工業学会誌, **21**, 324-328, 1974.
19. Romanoff A.L. and Romanoff A.J.: "THE AVIAN EGG.", John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 399-401, 1949.
20. Hermansson A.M.: Physico-chemical aspects of soy proteins Studies. *J Texture Stud*, **9**, 33-58, 1978.
21. Weaire D. and Hutzler S.: "The physics of foams", Oxford University, Oxford, pp. 144-150, 1999.
22. Hamada S, Suzuki K, Aoki N, and Suzuki Y: Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from *Aspergillus oryzae*. *J Cereal Sci*, **57**, 91-97, 2013.

機能性表示食品制度

業界動向と三生医薬の取組み

建穂 一樹 (TATEHO Kazuki)¹

¹ 三生医薬株式会社 研究開発本部 企画開発部

Key Words：機能性表示食品制度 特定保健用食品 栄養機能食品 市場動向

はじめに

安倍政権の規制改革の一つとして食品の機能性表示の解禁が発表され、2015年4月より「機能性表示食品制度」が開始した¹⁾。機能性を表示した商品の選択肢を増やし、国民の商品選択をサポートすることでセルフメディケーションを活性化させるのが目的であり、消費者庁に届出をすることで機能性を表示した食品を販売することができる。届出制のため中小企業でも取り組むことが可能であり、制度開始1年で300品目以上の届出が消費者庁に受理され、多くの商品が販売されている。また、特定保健用食品よりも短期間、低コストで開発できるため、中小企業を含めた多くの企業が本制度に取り組み、これまでイメージで製品の特徴を伝えていた、いわゆる健康食品などを機能性表示食品に切り替えることで製品の効果を直接消費者にアピールする動きもある。

このように、本制度は食品業界にとって、期待されている制度であり、今後の市場拡大も予測されている。当社は、健康食品の受託製造会社として、多くの販売会社の機能性表示食品の届出に係り、受託製造会社の立場から届出をサポートしてきた。本稿では基本的な制度の説明から始まり、市場の状況や届出をする上で見え

てきた課題、そして、当社の届出サポート内容を紹介する。

1. 機能性表示食品制度とは

本制度は生鮮食品を含めた全ての食品が対象であり、消費者庁に届出をすることで機能性を表示した食品を販売することができる。制度の狙いとしては、消費者に商品の正しい情報を提供し消費者の商品選択をサポートすることで、消費者が自身の健康状態にあった商品を選択し、健康寿命の延伸や年々増加している医療費の削減、セルフメディケーション市場の活性化などがある。新たに機能性を表示できるようになった食品は機能性表示食品と呼ばれ、特定保

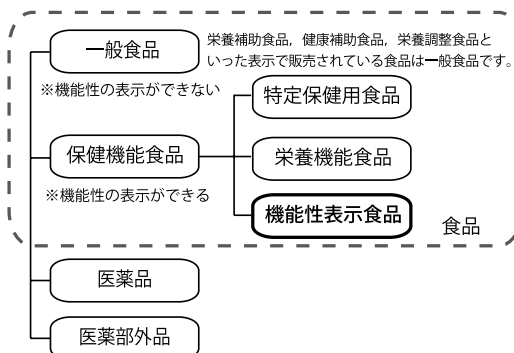


図1 食品の分類²⁾

健用食品と栄養機能食品と同じ保健機能食品の一つになる（図1）。特定保健用食品は製品ごとに機能性や安全性について国が審査を行い、消費者庁長官が機能性の表示を許可した食品で、「お腹の調子を整える」「体脂肪を減らす」などの文言が表示された商品が販売されている。また、栄養機能食品は特定の科学的根拠が確認されたミネラル類、ビタミン類等を一定量含む食品について国が定めた表現で機能性を表示した食品で、「カルシウムは、骨や歯の形成に必要な栄養素です」などと表示された商品が販売されている。一方、機能性表示食品は販売者の責任により安全性や機能性を評価し、消費者庁長官に届出をした食品である。特定保健用食品のように安全性や機能性に関して国による審査がなく、必ずしも臨床試験を行う必要がないため、短期間、低コストで機能性を表示した製品を開発、販売することが可能である。また、特定保健用食品、栄養機能食品と比べ表示できる内容の幅が広く、これまでにない訴求での表示が受理されている。

2. 機能性表示食品を販売するために

機能性表示食品を販売するためには消費者庁に届出を行い、受理される必要があるが、商品の販売は届出日から60日以降と決められている。受理された届出にはアルファベットと数字の組み合わせの届出番号（例：A1）がつけられ、届出内容が消費者庁のホームページで公開される。公開されるのは、消費者向けの情報や基本情報、機能性情報、安全性情報であり、この公開により、消費者は商品の機能性や安全性に関する情報を入手し商品選択に活用したり、消費者団体等では商品の評価を行うことができる。届出を行うために以下の事項について準備する必要がある。

2-1. 機能性表示食品となるかの判断

機能性表示食品は以下の5つの要件を満たす必要がある。

- ①疾病に罹患している人や未成年者、妊産婦（妊娠計画中の者を含む）、授乳婦を対象とした

製品ではない。

- ②機能性関与成分が明確である。

- ③アルコール含有飲料や健康増進法施行規則第11条第2項で定められる栄養素（脂質、飽和脂肪酸、コレステロール、ナトリウム、糖類）の過剰な摂取につながる食品ではない。

- ④特定保健用食品や栄養機能食品ではない。

- ⑤特定保健用食品や栄養機能食品を使用対象とする添加物を使用していない。

2-2. 安全性の評価

①食経験の評価

届出しようとする食品又は類似する食品について、喫食実績により安全性が十分に確認されているかを確認する。この情報が不十分な場合はデータベース（ナチュラルメディスン・データベース、国立健康・栄養研究所【「健康食品」の安全性・有効性情報】等）を用いた情報の収集やPubMed, JDreamⅢなどを用いた文献検索を行い安全性を確認する。類似する食品とは届出する製品と同等量以上の機能性関与成分を含有しており、かつ、機能性関与成分の消化・吸収過程に大きな影響を与えない、食品中の成分による影響や加工工程による影響等により、機能性関与成分が変質するような食品ではないものを指す。

②安全性試験結果の評価

食経験による安全性の評価が不十分な場合には、食経験と同様に安全性試験結果についてデータベースを用いた情報の収集や文献検索を行い安全性を確認する。

③最終製品又は機能性関与成分における安全性試験の実施

①、②で安全性が確認されない場合は最終製品または機能性関与成分を使用し、安全性試験を実施することで安全性を確認する。

④機能性関与成分の相互作用に関する評価

機能性関与成分と医薬品または、機能性関与成分同士の相互作用をデータベースや論文検索を行い評価する。相互作用がある場合には、機能性表示食品を販売することの適切性を科学的に説明する必要がある。

2-3. 生産・製造及び品質の管理体制

- ① HACCP, GMP 等の品質管理の取り組みについては企業が自主的かつ積極的に取り組むのが望ましい。
- ② 以下の i ~ iv を踏まえた製品規格を設定し、製品分析を食品衛生法に定める登録検査機関で実施する。
 - i 食品衛生法に定める食品の規格基準に適合している。
 - ii 機能性関与成分の成分量の規格の下限值が適切に定められている。
 - iii 機能性関与成分以外の成分のうち、安全性を担保する必要がある成分についての規格が適切に定められている。
 - iv 崩壊性等の食品を特徴付ける規格が適切に定められている。
- ③ 健康被害発生時における因果関係の検証のために十分な量の製品を確保する。
- ④ 規格外製品の流通を防止するための体制を構築する。

2-4. 機能性の評価

機能性を評価するために、最終製品を用いた臨床試験を行うか、最終製品又は機能性関与成分に関する研究レビューを行う必要がある。臨床試験を行う場合には UMIN 臨床試験登録システムなどに研究計画を事前登録し、特定保健用食品の試験方法に準じた臨床試験を行い、国際的にコンセンサスの得られた指針（CONSORT 声明等）に準拠した形式で査読つきのジャーナルに論文を投稿し報告する。研究レビューを行う場合には、国内外のデータベースを用いて論文を収集し、Totality of Evidence（肯定的・否定的内容を問わず全て検討し、総合的観点から肯定的といえるか）の観点から評価をする。研究レビューに使用する論文のうち、少なくとも一報は査読つきの論文である必要がある。

評価対象は臨床試験、研究レビューを問わず疾病に罹患していないものに限り、広くコンセンサスの得られた診断基準等が存在し、公的統計等でもその基準が疾病の有無の分類に用いられている場合（例：生活習慣病）は、診断基準

に合致したもの（疾病）は除く。また、トクホの試験方法として記載された範囲内であれば、軽症者等が含まれているデータを例外的に使用できるが、その場合は軽症者を含んだ解析と含まない解析の2パターンを用意する必要がある。

2-5. 機能性表示内容の確認

機能性表示食品で表示可能な内容は、「疾病に罹患していない者の健康の維持・増進に役立つ旨又は適する旨」が基本であり、以下の範囲に含まれる必要がある。

- ① 容易に測定可能な体調の指標の維持に適する又は改善に役立つ旨。
- ② 身体の生理機能、組織機能の良好な維持に適する又は改善に役立つ旨。
- ③ 身体の状態を本人が自覚でき、一時的であって継続的、慢性的でない体調の変化の改善に役立つ旨。

一方、以下の内容については表示が認められていない。

- ① 疾病の治療効果又は予防効果を暗示する表現（例：高血圧の人に）。
- ② 健康の維持・増進の範囲を超えた、意図的な健康の増強を標榜する表現（例：肉体改造、増毛、美白）。
- ③ 科学的根拠に基づき説明されていない機能性に関する表現（例：限られた免疫指標のデータを用いて身体全体の免疫に関する機能があると誤解を招く表現）。

2-6. 健康被害の情報収集体制の構築

健康被害に関する連絡を消費者や医療従事者から受けるための体制を整える必要がある。対応窓口を設置し、健康被害情報に対して届出製品の摂取を中止させる、医師への診察を勧めるなどの適切な対応を行う。また、健康被害の情報を収集・評価し、消費者庁、保健所に報告する。

2-7. 容器包装への表示の確認

機能性表示食品の包装には以下の表示を記載することが決められている。

- ① 機能性表示食品である旨（主要面に表示）。
- ② 科学的根拠を有する機能性関与成分又は当該成分を含有する食品が有する機能性。

- ③栄養成分の量および熱量。
 - ④一日当たりの摂取目安量当たりの機能性関与成分の含有量。
 - ⑤一日当たりの摂取目安量。
 - ⑥届出番号。
 - ⑦食品関連事業者の連絡先。
 - ⑧摂取の方法。
 - ⑨摂取する上での注意事項（他の項目よりも目立つように表示する）。
 - ⑩調理又は保存方法の注意（調理又は保存の方法に関し特に注意を必要とするものについて記載する）。
 - ⑪その他（バランスのとれた食生活の普及啓発を図る文言、疾病の診断、治療、予防を目的としたものではない旨等、定型文を表示することになっている事項については定型文のとおり表示する）。
- また、以下の内容についての表示は禁止されている。

- ①疾病の治療効果又は予防効果を標榜する用語（例：「花粉症に効果あり」、「糖尿病の方にお勧めです」）。
- ②届け出た機能性関与成分以外の成分を強調する用語。
- ③消費者庁長官の評価、許可又は承認を受けたものと誤認させるような用語。
- ④食品表示基準別表第9の第1欄に掲げる栄養成分（主にビタミン、ミネラル等）の機能を示す用語。

2-8. 届出

届出は消費者庁のホームページから届出データベースにログインして行う。2016年3月31日までは必要書類を郵送するものであったが、届出書類の形式的なミスによる差し戻しを減らし、スムーズな受理を行うために2016年4月1日より、オンライン登録に変更された。届出にはログインIDとパスワードが必要であり、入手するために届出データベースに届出者の基本情報を入力後、消費者庁からの仮受付メールからダウンロードした基本情報届出書を印刷し、押印の上、登記簿謄本と共に消費者庁に郵

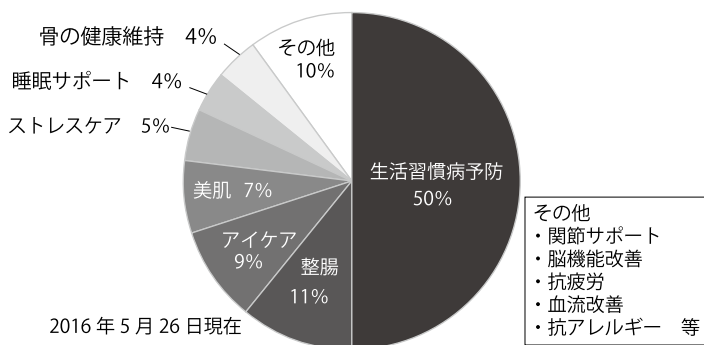
送する。その後、郵送した書類に不備がなければIDとパスワードが発行され、届出内容の入力が可能となる。届出をする内容は以下の通りである。

- ①届出食品の基本情報（届出資料作成に当たってのチェックリストを添付）。
- ②一般消費者向け情報。
- ③安全性に係る事項（安全性評価シートを添付）。
- ④生産・製造および品質管理に係る事項（製品規格書、分析成績書、定量分析の方法を示す資料を添付）。
- ⑤健康被害の情報収集に係る事項（連絡フローチャート、組織図を添付）。
- ⑥機能性に係る事項。
- ⑦表示及び情報開示の在り方に係る事項（表示見本を添付）。
- ⑧届出の在り方に係る事項（作用機序に関する説明資料を添付）。

3. 機能性表示食品の市場動向

現在（2016年5月26日）、消費者庁より公開されている機能性表示食品の件数は310件³⁾であり、また、受理待ちの届出を含めると700件以上の届出が消費者庁に寄せられているとの情報もある。約25年で約1600品目の特定保健用食品と比べると、早いペースで製品が増えており、届出のオンライン化や制度が定着することにより、受理品目がさらに早いペースで増えていくと予想される。

届出される製品はサプリメント形状の加工食品（錠剤、カプセル剤、粉末剤、液剤等の形状の食品）、その他加工食品、生鮮食品の3つの区分に分けられ、製品形態別に届出件数を見てみると、サプリメント形状の加工食品の製品が147品目、その他加工食品が160品目、生鮮食品が3品目であり、生鮮食品の届出は伸び悩んでいる。製品の形態を詳しく見てみると、サプリメント形状の加工食品では錠剤とソフトカプセルが多く、両者を合わせると、サプリメント形状の加工食品全体の約7割を占める。その他加工食品の形態では飲料形態

図2 機能性別の届出件数³⁾

が最も多く、他にもヨーグルト、ご飯、ソーセージ、マヨネーズなど様々な製品形態がみられる。生鮮食品は温州みかんともやしの届出が受理されている。

訴求別に見てみると、従来の特定保健用食品でも表示が認められていた、体脂肪や中性脂肪、血圧、血糖値など生活習慣病に関する製品が多く全体の2分の1を占める。続いて、整腸、アイケア、美肌、ストレスケアと続く(図2)。これまで、受理されていなかった訴求も多く、アイケアではルテインを機能性関与成分とした「眼のコントラスト感度の改善に役立つ」旨の表示や、美肌ではヒアルロン酸Naを機能性関与成分とした「肌の水分保持に役立ち、乾燥を緩和する」旨を表示した製品が多く受理されている。また、件数が少ないものの、脳機能改善や筋肉サポート、肝臓の機能維持などについての表示も受理され、今後も新たな訴求についての製品が増えていくと思われる。

機能性関与成分の内訳に注目すると、これまでに50種類以上の機能性関与成分で届出され、中でも多くの製品で機能性関与成分となっているのが、難消化性デキストリン、EPA・DHA、葛の花由来イソフラボン、ビフィズス菌である。これらの機能性関与成分は、その他加工食品での届出が多く、サプリメント形状の加工食品で多いのはルテイン、ヒアルロン酸Naである。

機能性表示食品の市場規模は、制度が始まった2015年で303億円が見込まれ、内訳としては明らか食品が43億円(14%)、ドリンク類が

128億円(42%)、サプリメント形状の健康食品が132億円(44%)となっている。また、2016年には市場規模が2.3倍の699億円になると予想され、特にサプリメント形状の健康食品の売り上げが伸び、機能性表示食品市場の拡大を牽引していくと考えられている⁴⁾。売り上げが好調な製品としては、その他加工食品において難消化性デキストリンを

機能性関与成分とし「食後の血中中性脂肪の上昇をおだやかにする」旨の表示をした清涼飲料水が約1ヵ月で年間販売目標を達成した。また、乳酸菌を機能性関与成分とし「内臓脂肪を減らす」表示をしたヨーグルトが機能性表示食品に切り替える前と比べ、4倍以上に売り上げが伸びたとの情報もある。サプリメント形状の加工食品についても、ルテインやアスタキサンチンなどを機能性関与成分とし、「手元のピント調節機能を助ける」表示をしたサプリメントが年間で30億円を上回る売り上げになる見込みであり、ヒアルロン酸Naを機能性関与成分とした「肌の水分保持に役立ち、乾燥を緩和する」旨を表示した製品も、機能性表示食品に切り替える前よりも売り上げを伸ばしている。

多くの企業で、既存の製品を機能性表示食品に切り替え、機能性を消費者に伝えることで売り上げを伸ばそうとする試みがされている。また、新聞広告やCM放送も開始され、製品の機能性を具体的にアピールした内容となっている。消費者庁が行った機能性表示食品制度に対する消費者意向調査事業では機能性表示食品の認知度は6割強との結果も出ており⁵⁾、着実に制度が認知されてきている。今後もCM等の広告を通して認知度が上がっていくと考えられる。

4. 届出に関する課題

今後の市場拡大が期待されている機能性表示食品であるが、いくつかの課題も出てきている。

4-1. 中小企業の届出が少ない

機能性表示食品の届出のほとんどが大手企業であり、中小企業の届出は増えてきてはいるものの、まだまだ少ない。本制度は特定保健用食品よりも、低コスト、短期間で機能性を表示できるのが特徴であり、中小企業が活用すべき制度であるが、制度の理解が不十分であることや届出に必要な資料を用意する人員が足りていないなどの要因で届出への対応が進んでいないと考えられる。市場拡大のためにも中小企業の届出を増やすことは必須であり、届出をサポートする仕組みを企業だけでなく業界全体で構築する必要がある。

4-2. 届出の受理までに時間がかかる

届出の受理がなかなかされないとの話をよく耳にする。届出が一発で受理されたケースもあるが、平均して2～3回は差し戻され、多いものでは5回以上差し戻されたとの話も聞く。届出をしてから、差し戻しまでの期間は約2ヶ月間であり、差し戻されるたび発売時期が延期される。差し戻される理由としては、誤字脱字や資料の添付忘れなどの形式的なミス、ガイドラインに沿わない安全性や機能性の評価、機能性表示内容などがある。形式的なミスについては、データベース登録に移管したことで減ると考えられるが、ガイドラインに沿わない内容については、届出をする企業の理解不足が原因であり、ガイドラインを正しく理解する必要がある。また、届出への指摘が厳しくなり以前では指摘されなかった内容で差し戻されたなどの話もあり、業界や消費者庁の動向を把握して対処する必要がある。

5. 当社の機能性表示食品届出に向けた取組み

当社は健康食品の受託製造会社としてこれまでに多くの製品の届出に係り、ノウハウを蓄積してきた。以下に当社のサポート内容を紹介する。

1) 無料相談会・意見交換会の実施、関連資料の提供

機能性表示食品制度についての概要説明や無

料相談会、ガイドラインの解釈についての意見交換会を実施する。また、ガイドラインの要約資料、機能性表示食品の届出に向けたタスク確認表など、独自に作成した届出を支援する資料も提供する。

2) 機能性表示が期待できる原料の紹介

約60種の原料、10種類以上の訴求について紹介が可能。機能性関与成分と相性が悪い原料や、機能性関与成分の含量が賞味期限内で担保される増し仕込量などの情報も収集している。開発テーマに沿った、機能性表示が期待できる原料の探索や機能性関与成分にあわせた副素材の提案も行う。

3) 崩壊性を考慮した剤形の提案

サプリメント形状の機能性表示食品では作用機序により一部例外もあるが、一般的には消化管内で製品が確実に崩壊することが必要である。しかし、原料によっては崩壊の遅れを引き起こす物も存在するため、その場合には崩壊遅延を引き起こしにくい、当社独自の製剤を提案する。

4) GMPに準拠した工場での製造

健康食品GMP取得、NSF-cGMP施設登録、医薬品製造実績により、安全で高い品質の製品を供給することが可能。また、規格を設けるのが適切と思われる項目や機能性を担保する為に必要な量、安全性を考慮した規格値等の製品規格の設定に必要な情報も提供する。

5) 機能性関与成分の安全性・機能性に関する調査

安全性に関してデータベース、文献より食経験や安全性試験に関する情報、医薬品等との相互作用に関する情報を収集する。機能性に関しては臨床試験や研究レビューの委託先を紹介する。

6) 表示案の作成

新たな食品表示基準に則した一括表示案の作成や安全性情報に則した注意喚起内容の提案を行う。機能性表示内容についても、これまで届出が受理された表示内容の紹介を行う。

7) 届出書類の作成サポート

生産・製造及び品質管理に係る届出添付資料の作成や、届出資料作成にあたってのアドバイ

ス又は代理での書類作成を行う。作成済みの届出資料のチェックも行い、複数人の体制でケアレスミスの防止や指摘されやすいポイントをサポートする。

8) 機能性表示食品のパッケージ提案

機能性表示の届出に慣れていない方や機能性表示食品を早く販売したい方に向けて、パッケージ提案でサポートを行う。ダイエットや睡眠などの機能性表示が期待できる成分について、当社で処方設計や届出資料の作成、製品の安定性試験等を行い、届出に必要な情報を収集、提供する。また、当社でも消費者庁に届出を行うため、実際に受理された届出書類の提供が可能であり、差し戻しがあった場合にもアドバイスを行う。届出受理後についても、更新が必要な機能性・安全性に関する情報を報告し、届出資料の更新もサポートする。消費者庁への届出やパッケージデザイン、組織図、連絡フローチャート等の準備については販売会社が行うこととなるが、届出の方法や作成資料の参考例を紹介する。

今後の展望

本制度により、機能性を表示した食品の販売が容易になったことは、食品業界にとって追い風であり、さらなる機能性表示食品の市場拡大も期待されている。また、現在機能性関与成分として認められていないビタミン・ミネラルといった厚生労働大臣が定める食事摂取基準に摂取基準が策定されている栄養成分、そしてローヤルゼリーのような機能性関与成分が明らかではない成分の導入については検討会が開かれており、これらの成分が今後認められる可能性がある。一方、届出がなかなか受理されないなどの課題も浮かび上がっており、これらの解決も市場拡大には必要である。当社は受託製造会社という立場から、販売会社や原料メーカーと協力して課題の解決に取り組み、今後の機能性表示食品市場の健全な発展、さらには国民の健康生活に貢献していきたい。

参考文献

1. 消費者庁：機能性表示食品の届出等に関するガイドライン：2015
2. 消費者庁：「機能性表示食品」制度がはじまります！：2015
3. 消費者庁ホームページ「機能性表示食品に関する情報」, <http://www.caa.go.jp/foods/index23.html>
4. 株式会社富士経済：H・B フーズマーケティング便覧 2016 No.2 <機能志向食品編> :2015
5. 消費者庁：第5回機能性表示食品制度における機能性関与成分の取り扱い等に関する検討会 機能性表示食品制度の施行状況について：2016

ワムシへの抗酸化剤強化がヒラメ種苗の成長、変態速度、体型異常を改善する

酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi) 澤山 英太郎 (SAWAYAMA Eitaro) *

* (有) まる阿水産

Key Words : ヒラメ 種苗生産 ワムシ ナンノクロロブシス アスタキサンチン ビタミンE 成長 変態速度 体型異常

海産魚の種苗生産時に与える餌は魚の成長に伴ってシオミズツボワムシ(以下ワムシと略記)→アルテミア孵化幼生→配合飼料へと変化するのが一般的である。著者らはこれまでにワムシを培養する植物プランクトンやワムシに与える栄養強化剤がヒラメに及ぼす影響を2回の試験で調べてきた。

最初の試験^{1,2)}では、クロレラで一次培養したワムシに海産魚の必須脂肪酸であるエイコサペンタエン酸(EPA)を強化する為、培養直後の新鮮なナンノ(新鮮ナンノ)、4℃で冷蔵保存したナンノ(冷蔵ナンノ)および-20℃で冷凍保存したナンノ(冷凍ナンノ)を二次培養の餌として与えた。同時にドコサヘキサエン酸(DHA)強化の為にバイオクロミス(特異的にDHAを高濃度に含む植物プランクトンであるシゾキトリウムが主成分である市販のDHA強化剤)を与え、一定時間後にワムシを回収してヒラメに与えた。50日間の飼育試験の結果、ワムシに与えるナンノの違いによってヒラメの成長、変態の進み方、体型異常の出現率が大きく異なり、特に冷凍ナンノ投与区のヒラメの成長と変態速度が遅く、体型異常の出現率も高いことが分かった。次いで冷蔵ナンノ投与区であった。

冷凍ナンノ区ヒラメの成長が遅かったのは、ナンノが凍結時に粘液状物質を放出してフロ

クを形成することによってと推測出来た。フロクの形成によってワムシが食べるものの出来ない大きさのナンノが増える。ワムシが飢餓状態に近くなり、正常なワムシに比べて栄養成分が少なくなる。そのワムシを食べたヒラメの成長が遅くなるのであろう。

成長と変態速度との関係を調べると、単なる成長の遅れが変態遅れの原因では無いと推測出来た。

冷凍ナンノ区と冷蔵ナンノ区では多くの種類の体型異常が認められたが、最も多かったのは下顎の伸長で、その他の異状も頭部に集中する傾向が認められた。両区で体型異常魚の出現率が高かった原因を調べてみると、与えたナンノの死細胞の脂質が酸化している程度体型異常魚の出現率が高いことが分かった。更に、酸化した脂質が直接ヒラメの体型異常を引き起こしたのではなく、脂質の酸化に伴って何らかの物質が形成され、それがワムシを通じてヒラメに移行し、ヒラメに体型異常が生じた可能性があると推察した。

この試験に用いた受精卵を得た親魚と体型異常を生じた種苗の親子関係を調べたところ、親魚には上記の物質に感受性の高い個体が存在し、これらの親魚由来の稚魚に高率で体型異常が生じている事も分かった¹⁾。

この結果から、ナンノの脂質酸化に伴って形

成される何らかの物質がヒラメの変態を抑制し、体型異常を誘発している可能性があると判断した。

次の試験³⁾では冷凍ナンノで二次培養したワムシに免疫賦活剤(β-1,3/1,6-グルカン)と抗酸化剤(ブドウ種子抽出物、アスタキサンチン、ビタミンE)を強化することによってヒラメの成長、生残率、変態速度等を改善出来、体型異常の発生を抑制出来るか否かを調べた。免疫賦活剤を添加したのは、前回試験ではヒラメに腹部膨満症が認められ、この病気も生残率を低くした原因の一つであると判断したことによる。免疫賦活剤によってヒラメの抗病性を高めて病気による斃死を予防し、生残率を高くすることを目的とした。

本試験ではブドウ種子抽出物の効果を中心に調べることにし、ブドウ種子抽出物の添加量を3段階にしたワムシ用強化剤を調製して効果を比較した。

強化剤の使用によってヒラメ種苗の生残率は前回試験より著しく高くなり、変態は促進され、体型異常魚の出現率も減少した。特にブドウ種子抽出物の添加量が多い区ほど変態の進み方が早く、体型異常魚の出現率も低かった。

強化剤を添加した全ての区で生残率が向上したのは主に免疫賦活剤の効果であろうが、併用した抗酸化剤にも生残率を高める効果が有ることをマダイ他^{4,5)}で確認しているのも、両者の相乗効果であった可能性が高い。

ブドウ種子抽出物の添加量が多い区ほど変態が早く進んだのは、魚体内での脂質の酸化と変態に何らかの関係が有ることを示唆している。ヒラメの変態は甲状腺ホルモンの作用と密接に関係していることを乾^{6,7)}が報告している。ワムシ中の抗酸化剤をヒラメが摂取することによって魚体内で脂質の酸化が抑制される。その結果、酸化過程で形成される反応性の強い物質の産生量が減少し、悪影響が軽減される。それによって甲状腺ホルモンの分泌や作用が正常な状態に保たれていたのではないかと推測した。

体型異常魚の出現率は最初の試験では38.5%

であったが、強化剤を添加した本試験では7.0～8.5%と大幅に減少しており、ワムシへの抗酸化剤強化がヒラメの体型異常を予防することが分かった。また、異常の種類も前回試験では下顎伸長を始めとして顎の捩れ、体弯曲、鰓蓋欠損、短軀、頭部逆位など多くの種類が認められたが、ワムシへの抗酸化剤の強化によって下顎伸長、上顎短縮、体弯曲のみとなり、異常の種類も減少していた。

ワムシへ抗酸化剤を強化することによって体型異常魚の発生率や異常の種類が減少するのは、生体内で脂質が酸化される過程で産生される活性酸素やフリーラジカルの様な反応性の強い物質を抗酸化剤が消去することによって、骨細胞へのダメージを軽減しているのではないかと推測した。

下顎伸長魚の出現率はワムシのスーパーオキシサイド消去活性が高くなる程低くなっていたので、抗酸化剤、特にブドウ種子抽出物の効果が大きかったものと推測出来る。

体弯曲魚の出現率は下顎伸長魚の出現率とは逆にスーパーオキシサイド消去活性と共に高くなっていた。異常の種類によって発生機構が異なる可能性が有ることを示す結果であった。

以上2回の試験結果から、ワムシへの抗酸化剤の強化がヒラメ稚魚の変態を促進し、体型異常魚の発生を抑制していると判断した。その効果はブドウ種子抽出物が最も強かったのではないと思われるが、アスタキサンチンやビタミンEも有効であった可能性も考えられる。

よって、本試験ではアスタキサンチンとビタミンEがヒラメの変態と体型異常の発生に及ぼす影響を主として調べることにした。試験の詳細を以下で説明する。

1. 方法

1-1. ワムシ用強化剤

A, B, Cのワムシ用強化剤を調製した。夫々の組成を表1に示す。Aはパン酵母とα-セルロースのみで、抗酸化剤は含まない。パン酵母は細胞の最外層にβ-1,3/1,6-グルカンが露出し

表1 ワムシ用強化剤の組成

試験区	A 区	B 区	C 区
パン酵母	90	90	90
アスタキサンチン (8%)		10	10
ビタミン E (50%)			10
α-セルロース	20	10	

ている特殊な酵母を用いた。この酵母は魚への免疫賦活作用を有することを確認している。B にはアスタキサンチンを添加し、その分 α-セルロースを減らした。アスタキサンチン源にはロッシュ社のカロフィルピンクを用いた。同品は合成の遊離型アスタキサンチンをコーティングして安定性を高めた製品で、アスタキサンチン含量は 8% であった。C には更にビタミン E を添加した。E 源にはエーザイ (株) の E 含量 50% の製品を用いた。なお、今回の試験では前報²⁾ でヒラメ種苗の変態促進と体型異常の抑制に強い効果が認められたブドウ種子抽出物を用いなかった。アスタキサンチンやビタミン E と効果の比較を行いたかったのであるが、利用可能な水槽の問題で割愛した。

各原料を別々に電動コーヒーミルで微粉碎し、夫々の必要量を添加してミキサーで十分に混合した。混合物は酸素不透過性のアルミ袋に脱酸素剤と共に封入し、ヒートシールして使用時まで -20℃ で保存した。

1-2. ワムシの培養法

市販の濃縮クロレラ V₁₂ (ワムシの増殖に必須のビタミン B₁₂ を強化したクロレラで、海産魚の必須脂肪酸である EPA や DHA は殆ど含まない。) を餌として 3 日間一次培養した S 型ワムシを朝 10 時に回収し、EPA を強化する為に冷凍ナンノで二次培養した。用いた冷凍ナンノは従来と同じメーカーの製品であったが、製造ロットは従来品とは異なっていた。その後バイオクロミスと上記の強化剤を与えて DHA を強化すると共に抗酸化剤も取り込ませた。

二次培養とそれ以降の手順は以下の通りであった。100L 容 FRP 水槽にワムシを 5×10^8 個体収容し、水温 25℃ で冷凍ナンノを餌にして二次培養した。ナンノは 1×10^6 個体/ワム

シ 1 個体になる量を添加した。二次培養開始当日の 17 時にバイオクロミスを 50mL 添加した。バイオクロミスと同時にワムシ用強化剤を 3g/Kg ワムシ湿重量になる量添加した。翌朝 7 時にワムシの半量を回収し、清浄海水で十分に洗浄し、不要物を取り除いてからヒラメに与えた。残りのワムシにはバイオクロミスと強化剤を前述の半量ずつ投与し、同日の 13 時に残りのワムシを全量回収してヒラメに与えた。

1-3. ワムシの分析

ヒラメに与える前の 3 種類のワムシを分析に供した。ワムシは目開き 40μm のプランクトンネットで回収して清浄海水で十分に洗浄し、不要物を取り除いてから濾過して水分を切り、分析時まで -80℃ で凍結保存した。

測定項目は水分、脂質、アスタキサンチン、ビタミン E 含量および TBA 値であった。水分は常圧加熱乾燥法、脂質はジエチルエーテル抽出法、アスタキサンチンとビタミン E は高速液体クロマトグラフ法、TBA 値は水蒸気蒸留法によって測定した。

1-4. ヒラメの飼育法

5 才のヒラメ親魚を複数尾収容した水槽で得られた受精卵を 500L 容 FRP 水槽に 9000 粒ずつ収容した。水槽は 1 試験区に 2 個ずつ用いた。用水は砂濾過した海水を更にプランクトンネットで濾過し、紫外線殺菌を施して用いた。光周期は水槽上に設置した蛍光灯によって調整し、12 時間明 : 12 時間暗とした。飼育水温の変化を図 1 に示す。

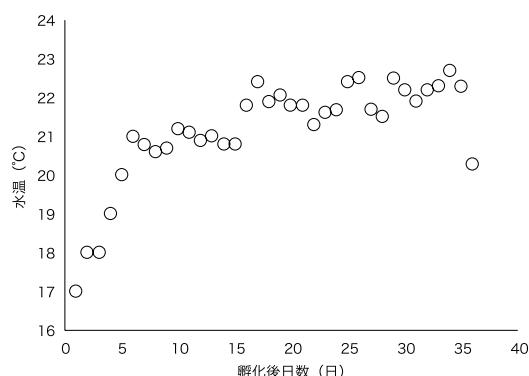


図 1 飼育水温の変化

餌料体系はワムシ→アルテミア孵化幼生→配合飼料の順で、極一般的な方式であった。孵化後4日目からワムシの投与を開始し、26日目まで継続した。投与量は魚の成長に従って増加し、5～10個体/mL飼育水になるよう日に1～2回与えた。ワムシの投与期間中は飼育水槽の水質安定とワムシが飢餓状態にならない様に冷凍ナンノを朝7時に 5×10^5 個/mL飼育水の濃度で添加した。アルテミアはヒラメの孵化後20日目から与え始めた。アルテミアの孵化幼生1000万個体に対してバイオクロミスを100mL添加してDHAを強化した後回収し、日に1～2回与えた。孵化後30日目から市販の配合飼料も与えた。ワムシとアルテミアは一週間、アルテミアと配合飼料は試験終了時まで併用した。

1-5. ヒラメの成長と変態ステージの調査

孵化後1, 6, 12, 18, 24および36日目のヒラメを各水槽から30尾ずつサンプリングし、全長を測定して成長状態を調べた。ヒラメは成長に伴って体型が著しく変化する、所謂変態を行う魚として知られている。よって、全長測定に用いた魚で南の報告⁸⁾に基づいて各変態ステージの分布割合を調べた。ステージはAからIまで認められたが、記号が進むに従って変態のステージも進んでいる事を示す。

1-6. 生残率と体型異常魚の調査

飼育試験終了時に各水槽で生き残っていた魚を全て取上げて計数し、生残率を求めた。終了時の調査サンプルで体重と全長を測定し、肥満度(体重 $\times$ 1000/全長³⁾)を求めた。肥満度は脊椎骨の異状を知る為のひとつの指標として調査した。更に肉眼で白化個体と体型異常魚の出現率を調べ、体型異常魚の類別を行った。白化魚とは成長に伴って体表に表れるヒラメ特有の色が認められず、白いままである個体を云う。全体が白いままである完全白化から一部分が白いままである部分白化まで色々な段階が有るが、ここでは全ての段階を含む数字である。白化も異常の一種であるが、体型の異常ではないので、体型異常魚には加えなかった。

肉眼観察後魚体をエタノール保存しておき、

後日軟X線写真を撮影した。フィルムを実体顕微鏡下で観察し、下顎伸長魚と脊椎骨異常魚の出現率を調べた。

2. 結果

2-1. ワムシの分析値

表2にワムシの分析値を示す。脂質含量は前報³⁾と殆ど同じ値を示していたが、TBA値は著しく低い値であった。本試験に用いた冷凍ナンノの分析を行っていないので断言は出来ないが、過去2回の試験に用いた製品とは製造ロットが違っていたので、従来の物とは死細胞率や脂質の酸化程度が異なっていた事によるのではないかと推測している。

アスタキサンチンを添加したB区、C区のワムシは無添加のA区より高いアスタキサンチン含量を示したが、A区のワムシにも可也の量のアスタキサンチンが含まれていた。ワムシは強化剤以外にクロレラ、ナンノ、シズキトリウム等の植物プランクトンだけしか摂取していない。ナンノには可也の量のアスタキサンチンが含まれているとの報告⁹⁾が有るので、これらの植物プランクトンにアスタキサンチンが含まれていた可能性が高い。

ビタミンEは添加したC区のみが高く、無添加のA区、B区は低い値であった。また、検出されたビタミンEは全て α -トコフェロールで、 β 、 γ 、 δ -トコフェロールは検出限界値(0.1mg/100g)以下であった。

アスタキサンチンとビタミンEの値からワムシは強化剤を取り込んでいたことが分かる

表2 ワムシの分析値

試験区	A 区	B 区	C 区
水分 (%)	87.8	87.8	88.1
脂質	1.4	1.3	1.5
アスタキサンチン (mg/100g)	0.71	0.93	0.91
ビタミン E (mg/100g) *	1.1	1.1	3.7
TBA 値 (nmol/100g)	6	7	3
脂質 (% 乾物)	11.5	10.7	12.6
アスタキサンチン (mg/100g 乾物)	5.82	7.62	7.65
ビタミン E (mg/100g 乾物)	9.0	9.0	31.1
TBA 値 (nmol/100g 乾物)	49	57	25

*: 全て α -トコフェロール

が、両者を等しく取り込んで体内に蓄積していたのではないと思える数字であった。用いた原料のアスタキサンチンとビタミンEの有効成分量の補正を行うと、強化剤中のアスタキサンチン量は0.8、ビタミンEは5となる。アスタキサンチンを添加した強化剤を与えたことによるワムシのアスタキサンチンの増加量は平均1.82mg/100g 乾物、ビタミンEを添加した強化剤を与えたことによるワムシのビタミンE増加量は22.1mg/100g 乾物であった。アスタキサンチンとビタミンEが等しくワムシに取り込まれて体内に蓄積されると仮定すると、B区とC区のアスタキサンチンの増加量は $0.8 \times 22.1/5 = 3.54\text{mg}/100\text{g}$ 乾物になるはずである。ところが分析値では1.82であったので、 $1.82 \times 100/3.54 \div 51$ となり、アスタキサンチンはビタミンEの約半分しかワムシの体内に蓄積されていなかったと云える。

この数字だけではワムシによるアスタキサンチンの取り込み量が少なかったのか、取り込んでから体内で分解されたのかは分からない。また、強化剤の調製時にカロフィルピンクを微粉碎したことによってコーティングが壊れてアスタキサンチンが剥き出しになって酸化された可能性も有る。これらの点については今後確認しておく必要が有る。

2-2. 飼育成績

表3に飼育結果を各区2水槽の平均値で示す。3区共生残率が前報³⁾より著しく低かった。この原因は産卵シーズン末期の受精卵を用いた為か、卵質が悪く、飼育期間を通じて死魚数が多かったことと、飼育試験終了間際にヘルペスウイルス病が発症して大量死を生じたことによる。但し、ヘルペスウイルス病が発症するまでの成長はC区が優れており(図2)、魚の状態

表3 飼育成績

試験区	A区	B区	C区
生存率 (%)	4.5	5.0	4.4
体重 (g)	0.09	0.09	0.11
全長 (cm)	1.992	1.944	2.183
肥満度	11.8	11.8	9.92

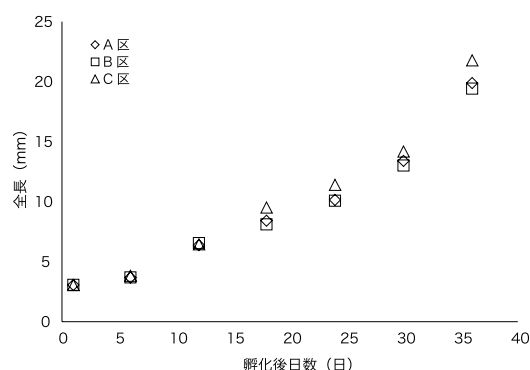


図2 全長の変化

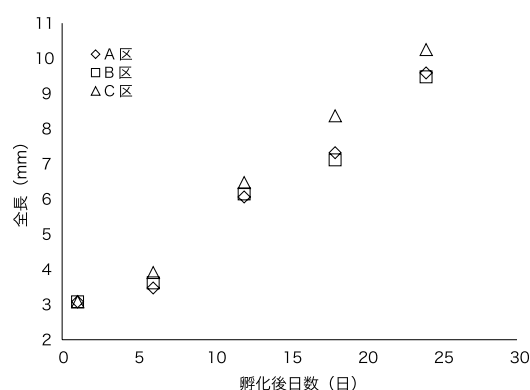


図3 全長の変化 (再試験)

も良かったことを確認している。後日同じ強化剤を用いて同じ条件下(水温は19～21℃の間を変動)で再試験を行ったが、再度同病が発症して孵化後24日までの成長しか調べることが出来なかった。再試験でもやはりC区の成長が優れていた(図3)。ワムシにアスタキサンチンとビタミンE、特にビタミンEを強化するとヒラメの成長が促進されるのは間違いない様である。

ワムシのTBA値とヒラメの全長には強い負の相関が有り、脂質の酸化が進んでいないワムシを与えた区のヒラメの成長が良かった(図4)。再試験においても孵化後24日目の魚でTBA値(x軸)と全長(y軸)の関係を調べると、両者の間には $y = -0.0248x + 10.833$, $R^2 = 0.9787$ の強い負の相関が認められた。脂質の酸化が進んでいないワムシを与えた区のヒラメの成長が速いのは間違いないと云える。

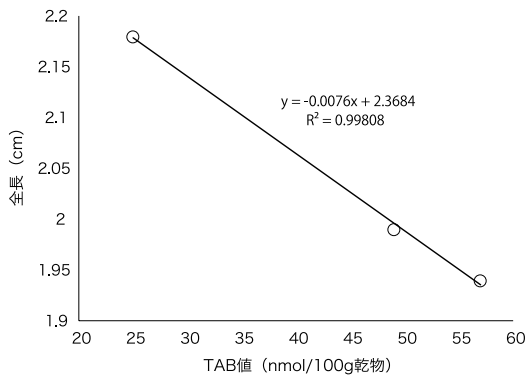


図4 ワムシのTBA 値とヒラメの全長(孵化後36日目)

ワムシの脂質含量(% 乾物)をx軸, ヒラメの全長(mm)をy軸にとると, 両者の間には $y=1.2912x+5.3886$, $R^2=0.9463$ の正の相関が認められた。再試験でも同様に孵化後24日目の値で $y=0.4132x+4.957$, $R^2=0.8908$ の正の相関が認められた。よって, ワムシの脂質含量(=エネルギー量)もヒラメの成長に影響を及ぼしていた可能性が有る。

肥満度はC区のみが小さかった。これはC区の魚はA区, B区の魚より体重に対する全長が長く, 脊椎骨が正常に発達していた事を表している。A区, B区の魚は脊椎骨の何らかの異常で全長が短かったのであろう。

2-3. 変態ステージ

孵化後6日目の魚は何れの区も全てAステージであったが, 12日目には区間差が認められるようになり, A区<B区<C区の順に変態の進み方が速かった。18日目にはそれがより顕著になっていた(図5)。ワムシとアルテミアを4日間併用した孵化後24日目, アルテミア単独投与最後の日である孵化後30日目でも同様にC区の変態の進み方が速かったが, 区間差は小さくなっていった(図6)。更に配合飼料を与え始めると変態は急速に進み, 孵化後36日目には何れの区でも全ての魚がIステージに達していた。ワムシにアルテミアを併用すると成長が改善されると共にステージも進行し, 更に配合飼料を与えると急速に変態が進行するのは前報³⁾の結果と同じであった。

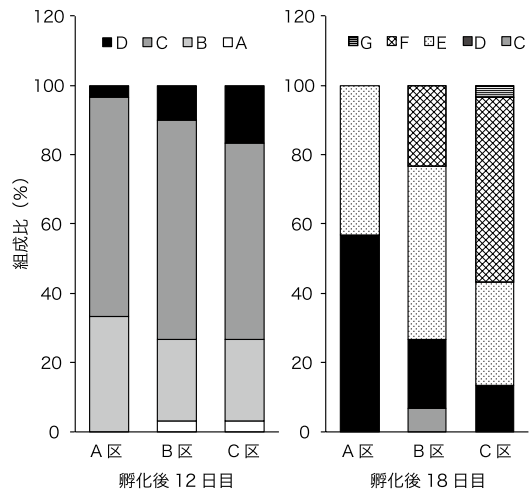


図5 変態ステージの変化(孵化後12日目, 18日目)

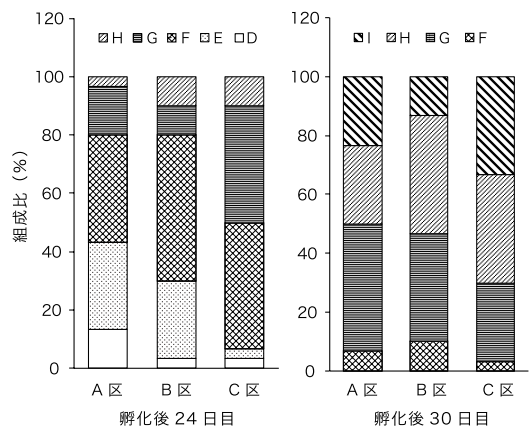


図6 変態ステージの変化(孵化後24日目, 30日目)

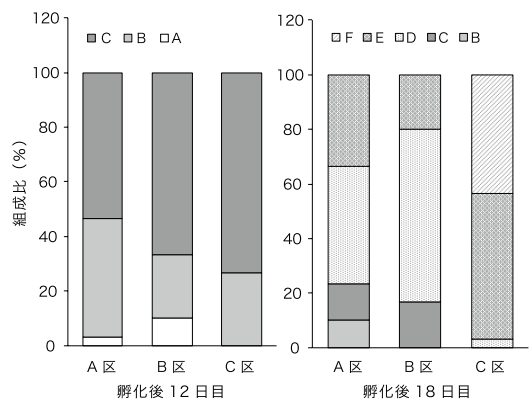


図7 変態ステージの変化(再試験: 孵化後12日目, 18日目)

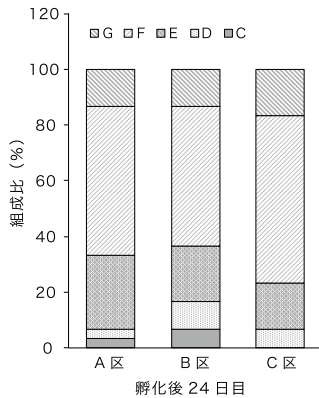


図8 変態ステージの変化(再試験:孵化後24日目)

再試験でも同様の結果であった(図7, 8)。

前報の結果も含めて考えると、ワムシにブドウ種子抽出物、アスタキサンチン、ビタミンE等の抗酸化剤を添加するとヒラメの変態を促進すると云える。

2-4. 白化魚と体型異常魚

飼育試験終了時の魚を肉眼観察することによって判断した白化魚と体型異常魚の出現率を表4に示す。

白化魚の出現率は前回試験の1%以下に比べて著しく高かった。ヘルペスウイルスに冒されたヒラメの体表は白化して見える様で、本試験では軽度の部分白化個体が多かった。本来の白化とは異なっていたのではないと思われる。

各区の白化魚出現率を比較すると、抗酸化剤を強化したワムシを与えたB区とC区の値がA区より小さく、アスタキサンチンとビタミンEがヘルペスウイルス病症状の軽減に多少の効

表4 白化魚と体型異常魚 (肉眼観察)			
試験区	A区	B区	C区
白化魚 (%)	14.0	10.8	8.9
体型異常魚 (%)	41.0	42.0	25.0
異常内訳			
下顎伸長 (%)	27.5	33.0	23.5
下顎短縮	5.5	1	1
上顎短縮	0.5	1	0
顎振れ	7	6	0
上下顎短縮	0.5	1	0
短軀	1	5	0
体弯曲	0	0	0.5

果が有ったのかも知れない。

体型異常魚の出現率は各区とも高かったが、A区とB区の値が同程度に高く、C区の値はそれより可也低かった。体型異常発生抑制にはワムシへのビタミンE強化が有効と云える。各区共異常の種類で最も多かったのは下顎伸長で従来と同じ結果であったが、A区やB区には顎の振れや短軀も認められた。

ワムシのTBA値とヒラメの体型異常魚および下顎伸長魚の出現率との関係を図9に、短軀出現率との関係を図10に示す。何れの異常の出現率もワムシのTBA値との間に正の相関が認められ、ワムシの脂質酸化が進行しているほど異常魚の出現率が高かったことが分かる。

肉眼観察の後に行った軟X線写真による体型異常魚と下顎伸長魚の判定結果を表5に、脊

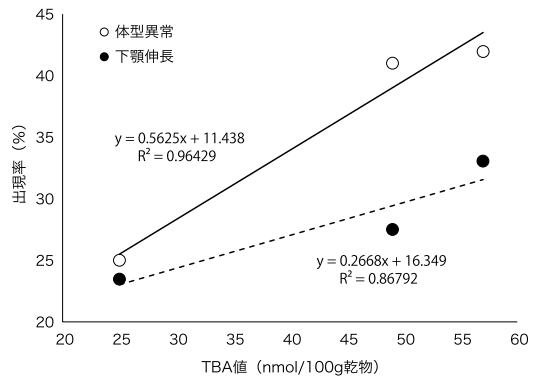


図9 ワムシのTBA値とヒラメの体型異常魚率(肉眼観察)

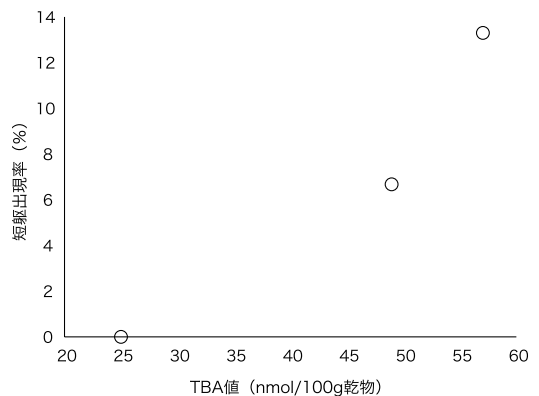


図10 ワムシのTBA値とヒラメの短軀出現率(孵化後36日目:肉眼観察)

表5 体型異常魚（軟X線写真）

試験区	A区	B区	C区
体型異常魚（%）	34.5	33.0	17.0
下顎伸長魚（%）	21.0	24.0	15.5

表6 脊椎骨異常魚率（軟X線写真）

試験区	A区	B区	C区
異常魚（%）	54.5	49.0	22.0
正常魚（%）	45.5	51.0	78.0

椎骨異常魚を表6に示す。体型異常魚、下顎伸長魚共に出現率は肉眼観察の結果より低い値を示したが、各区の異常出現順位は肉眼観察の結果と一致していた。

肉眼観察では短軀や体弯曲等の脊椎骨の異常に起因する体型異常の出現率は低かったが、軟X線写真で詳細に観察すると軽度の異常が高頻度で認められ、軽度から重度まで含めると何れの区でも可也高率で脊椎骨の異常が生じていた事が分かる。異常の種類は脊椎骨の癒合と神経棘・血管棘の分化異常が多かった。異常の出現率はA区 $\geq$ B区 $\gg$ C区の順で、脊椎骨異常の抑制にもアスタキサンチンよりビタミンEの効果が大きかったことが分かる。この脊椎骨異常の発生率が肥満度の違いに反映されていたものと考ええる。

アルコール固定標本の軟X線写真で調べた孵化後24日目の魚の短軀出現率とワムシのTBA値との関係を図11に示す。本試験、再試験共にワムシのTBA値が高い程短軀の出現率

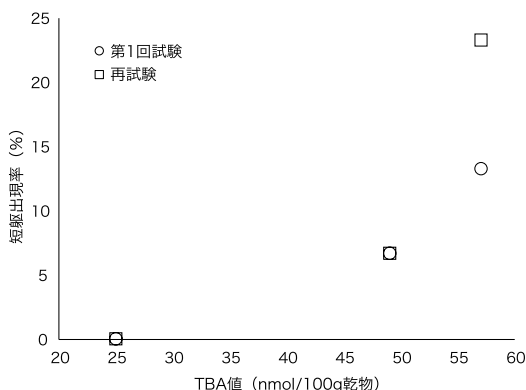


図11 ワムシのTBA値とヒラメの短軀出現率（孵化後24日目：軟X線写真）

が高く、ワムシの脂質酸化が脊椎骨の異常に影響を及ぼしていたことが分かる。

最初の試験では孵化後24日目の魚の短軀出現率が36日目の魚より高く、飼育日数が長くなると反って短軀の出現率が少なくなる、一見矛盾した結果を示していた。これは死魚の観察によって、短軀になった魚の死亡率が正常な魚より高かったことと関係しているのであろう。

3. 要約と考察

これまでに行った試験と今回の試験結果から以下のことが云える。

生残率

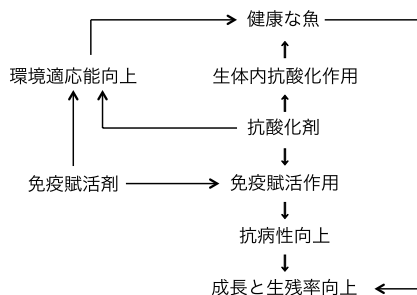
ワムシへの免疫賦活剤（ β -1,3/1,6-グルカン）や抗酸化剤（ブドウ種子抽出物、アスタキサンチン、ビタミンE）の強化はヒラメの環境適応能や抗病性を向上させ、生残率を改善する。マダイ等の他魚種での試験結果からビタミンCの効果も期待出来る（図12）。但し、ヘルペスウイルス病の様な致死性の高い病気に対する効果はあまり期待出来ない。

免疫賦活剤や抗酸化剤の抗病性向上機構は図13の様に推測している。

成長

冷凍ナンノはワムシが摂取出来ない部分が多い為、冷凍ナンノで二次培養したワムシの栄養価は劣る。それに起因してヒラメの成長は遅れる。

ワムシにブドウ種子抽出物とビタミンEを



免疫賦活剤： β -1,3/1,6-グルカン
抗酸化剤：ブドウ種子抽出物、アスタキサンチン、ビタミンC&E

図12 免疫賦活剤と抗酸化剤で成長と生残率が向上する理由（推測）

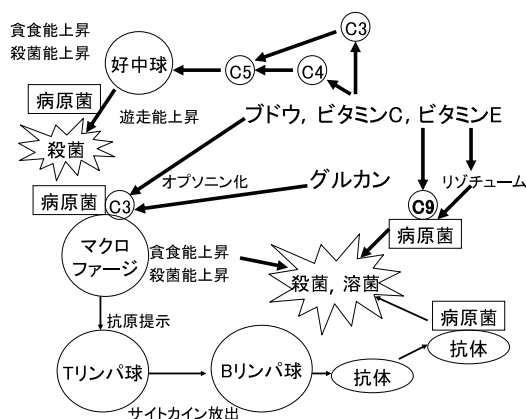


図 13 免疫賦活剤と抗酸化剤で抗病性が向上する理由 (推測)

強化することによって冷凍ナンノに起因する成長の遅れは改善される。アスタキサンチンの効果は弱い様である。

ワムシの TBA 値とヒラメの成長の間には負の相関が認められる。これはワムシの脂質の酸化がヒラメの成長に悪影響を及ぼしている可能性を示唆している。

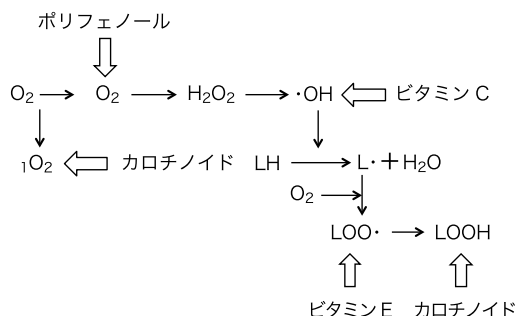
ワムシのスーパーオキシド消去活性とヒラメの成長の間には強い正の相関が認められる。これはワムシの脂質の酸化に伴って産生される反応性の強い物質(活性酸素やフリーラジカル)を抗酸化剤が消去し、その害作用を軽減している事を示すものと考ええる。その効果はブドウ種子抽出物が最も強いようである。

ワムシの脂質含量とヒラメの成長の間にも正の相関が認められるので、ワムシのエネルギー含量もヒラメの成長に影響を及ぼしていると云える。但し、相関の強さから抗酸化剤の方がより大きく作用していると判断出来る。

ワムシの脂質量と抗酸化剤量はヒラメの成長に及ぼす機構が異なっている。脂質は成長に必要なエネルギーを供給することによってタンパク質の消費を抑制して成長を促進するのに対し、抗酸化剤は生体に有害な物質を消去することによって成長を促進している。

変態

ワムシの二次培養に用いるナンノによってヒ



ポリフェノール：ブドウ種子抽出物
カロチノイド：アスタキサンチン

図 14 脂質の酸化過程で抗酸化剤が作用する行程

ラメの変態速度は異なり、新鮮 > 冷蔵 >> 冷凍の順に変態の進行が早い。

アルテミアや配合飼料を与え始めると変態の遅れは急速に改善されるので、変態の遅れはワムシの質に原因があると判断出来る。

ワムシへの抗酸化剤の強化によって変態は促進される。ブドウ種子抽出物、アスタキサンチン、ビタミンEの何れにも効果が認められるが、それぞれを併用した方がより効果が強くなる傾向にある。

ワムシへの抗酸化剤強化によってヒラメの変態遅れが改善されるのは、生体内での脂質酸化と変態との間に何らかの関係が有ることを示唆している。

脂質の酸化過程において抗酸化剤が作用する部分を図 14 に示す。

ヒラメの変態は甲状腺ホルモンと密接に関係している。ワムシ中に含まれる抗酸化剤をヒラメが摂取することによって魚体内で脂質の酸化が抑制され、更に脂質の酸化過程で産生される反応性の強い物質が速やかに消去されるので、その悪影響が軽減される。これによって甲状腺ホルモンの分泌や作用が正常な状態に保たれるのではないかと推測する。

体型異常

ワムシの二次培養に用いるナンノによってヒラメの体型異常の出現率が異なり、冷蔵 = 冷凍 >> 新鮮の順に出現率が高かった。

ワムシの成分とヒラメの体型異常出現率との

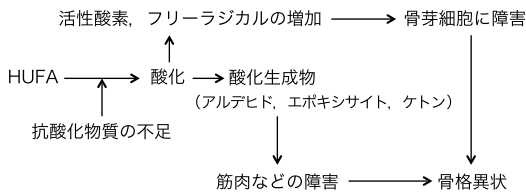


図15 抗酸化剤の不足で骨格異常が生ずる機構(推測)

関係から、ワムシの脂質含量，特に高度不飽和脂肪酸やDHA含量，脂質の酸化程度（TBA値），抗酸化力（スーパーオキシド消去活性）とヒラメの体型異常には関係が有ると判断出来る。

冷蔵ナンノと冷凍ナンノに起因する体型異常は全身に及んでおり，特に頭部の異常が目立ったが，脊椎骨にも高率で異常が認められた。頭部の異常は下顎の伸長が最も多く，脊椎骨の異常は椎骨の癒合と棘の分化異常が多かった。

ワムシへの抗酸化剤強化によって体型異常魚の出現率は減少し，ブドウ種子抽出物とビタミンEには明らかに効果が認められたが，アスタキサンチンの効果は弱かった。

ワムシのTBA値やスーパーオキシド消去活性との間に正の相関を示す異常や負の相関を示す異常が有り，異常の種類によって発症する機構が違うことが考えられる。

これまでに行った3回の試験で得られた結果

はS.P.Lallら¹⁰⁾の報告に有る記述「抗酸化物質が不足した組織では高度不飽和脂肪酸が酸化され，それが筋肉のジストロフィーを含む病変を引き起こす。アルデヒド，エポキシサイト，ケトン等の酸化成分はビタミン，タンパク質，脂質等と反応し，組織のダメージを大きくして病態を酷くする。魚の組織には脂質と微量成分が多量に含まれており，これらの物質はコラーゲンを含む骨細胞の脂質酸化に感受性が高い。脂質の酸化過程で産生される活性酸素やフリーラジカルのダメージから骨芽細胞を守るには，餌中の抗酸化物質が重要な役割を果たす。特に高度不飽和脂肪酸が多い餌には抗酸化剤の添加が必要である。」と良く一致している。

高度不飽和脂肪酸を高濃度を含むが抗酸化剤は不足している餌を与えた場合に体型異常（＝骨格の異常）が生ずる機構を図15に示す。

ヒラメに限らず海産魚はEPAやDHA等の高度不飽和脂肪酸を必須脂肪酸として要求するので，種苗生産時には必ずワムシやアルテミアの孵化幼生に強化を行う。これが体型異常を生じさせる原因の一つになっている可能性が高い。高度不飽和脂肪酸と同時に抗酸化剤の強化も必要なのであろう。

参考文献

1. E.Sawayama, S.Sakamoto and M.Takagi : Abnormal elongation of the lower jaw in juvenile Japanese flounder; combined effects of rotifer diet enriched with Nannochloropsis preserved by various methods and parentage. *Fisheries Science*, **78** (3), 631-640, 2012.
2. 酒本秀一，澤山英太郎：ワムシ培養餌料がヒラメ仔稚魚の変態と体型に及ぼす影響. *New Food Industry*, **58** (7), 17-31, 2016.
3. 酒本秀一，澤山英太郎：ワムシへの免疫賦活剤と抗酸化剤の強化でヒラメ種苗の生残率，変態速度，体型異常を改善出来る. *New Food Industry*, **58** (8), 53-67, 2016.
4. 酒本秀一，糟谷健二，海野徹也，古澤修一：パン酵母β-グルカン，ブドウ種子抽出物，ビタミンCおよびビタミンEの投与で魚の抗病性が向上する理由. *New Food Industry*, **53** (8), 1-11, 2011.
5. 酒本秀一，糟谷健二，山本眞司，村田 修，海野徹也：パン酵母β-グルカンとブドウ種子抽出物を生物餌料経由でマダイおよびゼブラフィッシュ仔魚に与えた効果. *New Food Industry*, **53** (9), 15-26, 2011.
6. 乾靖夫：ヒラメの眼が移動する訳. 魚の変態の謎を解く（ベルソーブックス 025，（社）日本水産学会監修），成山堂書店，東京，25-92, 2006.
7. 乾靖夫：なぜ変態するか. 魚の変態の謎を解く（ベルソーブックス 025，（社）日本水産学会監修），成山堂書店，東京，119-133, 2006.
8. 南卓志：ヒラメの初期生活史. *日本水産学会誌*, **48** (11), 1581-1588, 1982.
9. L.M.Lubian, O.Montero, I.M.Garrido, E.Heurtas, C.Sobrinho, M.G.Valle and G.Pares:Nannochloropsis (*Eustigmatophyceae*) as source of commercially valuable pigment. *J. Applied Phycology*, **12** (3-5), 249-255, 2000.
10. S.P.Lall and L.M.Lewis-McCrea: Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish-An overview. *Aquaculture*, **267** (1-4), 3-19, 2007.



酒造りの文明史⑦

古賀 邦正 (KOGA Kunimasa)
(一財) 自然環境研究センター

6. ワインとビール：近代（18 世紀中頃～ 19 世紀後半）ヨーロッパの動きと ワイン・ビール

前回は、近世ヨーロッパ（15 世紀中頃～ 18 世紀中頃）の動きをみた。ルネサンス・大航海時代・宗教改革という大きな潮流の中でヨーロッパ各国は中央集権化を進め、国主導の重商主義を強める事で富国強兵をはかり、この動きの中でワインもビールも変遷することとなった。

日々様相を「近世的」とは表現しなくても、「近代的」と表現する場合は多々ある。「近代」は「現代」に色濃く繋がっており、通常、産業革命が始まった 18 世紀中頃から第一次世界大戦前の 20 世紀初頭までを指す。政治近代化の動きは立憲君主政に移行したイギリスに続いてフランスで起こったが、共和政・帝政を繰り返しながらの激しい動きは西欧社会に大きな影響を及ぼした。とくに 1848 年の二月革命はフランスに第二共和制を成立させ、西欧諸国に自由主義革命を勃発させ、激動の時代への契機となった。今回は、18 世紀中頃から 19 世紀後半までの間、ヨーロッパ、とくにフランス・イギリスがどのように動き、ヨーロッパのワイン・ビールはどのような変遷をたどったかについて見る事にします。宜しくお付き合い下さい。

5-18. 産業革命

◆産業革命とその広がり

産業革命は 18 世紀後半にイギリスで始まり、世界中に広がって社会・経済の仕組みを従来と全く違ったものに変えてしまった。

イギリスで始まった理由は、①名誉革命（1688 年）以後に商工業が発展したこと、②地主貴族が中小農地を大農地に併合（囲い込み）し、これを資本家が借りて近代農法による市場向け農業生産を始めたこと、③囲い込みで土地を追われた農民が労働者として都市へ流入したこと、④七年戦争（1756～63）に勝利して広大な海外市場を持ったこと、等にある。

インド貿易で綿布の良さを知ったイギリスは毛織物の衰退に危機感を持ち、18 世紀初頭に西インド諸島から原綿を輸入して国内で綿布生産を始め、需要に応えるために大量生産の技術改良が始まった。18 世紀後半に紡績機や織布機が発明され、1769 年にワット（図 5-41 (A)）の改良による蒸気機関が動力源として実用化された。機械化は木綿工業から製鉄業・炭鉱業の重工業に波及して 19 世紀前半には機械化工業生産が一般化した。1814 年にはスチーブンスン（図 5-41 (B)）の蒸気機関車が登場して陸上交通や物流に大変化をもたらした。海上交通も 1807 年にフルトン（図 5-41 (C)）の蒸気船によって大幅にスピードアップした。船の進行は両脇の大きな水車を蒸気機関で回転させる事によるものでスクリューはまだ発明されていなかった。製鉄業の発展に伴って鉄を溶かすために大量の石炭が必要となり、地化深くの石炭を採掘するには地下水を汲み出す排水ポンプが必要となる。この様な形で機械工業や重工業が産業の中心となって産業資本家が社会・経



図 5-41 産業革命に貢献した人々

済・政治の主導権を握り、資本主義社会に移っていった。

続いて他の諸国でも産業革命が始まる。ベルギー・フランスは 1830 年代、ドイツと北アメリカは 1840 年代、一番遅れて産業革命が始まったロシアと日本は 1890 年代。19 世紀末までに産業革命に乗り遅れた多くの国々や地域はやがて植民地化される事になる。

◆産業革命とラガービール

醸造に関しては、ブドウの収穫によって左右されるワインよりビールの方が機械化による工場での大量生産に向いていたが、とくに、19 世紀以降、低温下面発酵のラガービール造りの進展は著しかった。

当時、イギリスは上面発酵のエールビールが主流だったため、まず、1784 年、ロンドンのエールビール醸造所で蒸気機関による水の汲み上げや麦芽の粉碎が行われた。一方、1760 年頃からビール醸造に温度計が用いられ、1770 年頃から比重測定による検糖計が麦汁やビールの糖分測定に用いられるようになり発酵管理技術が進展した。この時代、イギリスで熱風による間接加熱法で麦芽の乾燥が低温・短時間行われるようになり、従来の直火法による麦芽の焦げ臭が取り除かれ、ビール品質が向上した。18 世紀末まではドイツよりイギリスのビール醸造技術の方が優れていたため、ドイツから多くの留学生が派遣された。しかし、1821 年にミュンヘンのシュパーテン醸造所にドイツで初めて蒸気機関が採用され、麦芽間接加熱法もドイツでも行なえるようになり、19 世紀半ば頃にはドイツで 10, 000kl の醸造能力を有する大工場が建設されるようになった。さらに、ドイツの近代化は著しく、1866 年にジーメンス (図 5-41 (D)) が発明した発電機がビール醸造に取り入れられ、製造工程が一新した。また、1873 年にはリンデ (図 5-42 (E)) が冷凍機を発明し、これをシュパーデン醸造所に提供した。ラガービールの場合、低温発酵は寒い時期が中心、暖かく



図 5-42 ナポレオン時代のヨーロッパ（「詳説世界史図録」より）

ナポレオンは 1796 年から 1812 年までの 4 度にわたる遠征・出兵でヨーロッパの殆どを支配下に置いたが、ロシア遠征では冬の寒さを知らずに失敗・敗走した。

なると天然氷を用いて行われていたが、冷凍機の発明によって効率よく四季醸造が可能となってラガービールの発展が大いに促された。その後、この一連の醸造機械は他の醸造所にも導入されることになり、19 世紀後半以降はドイツにおけるラガービール製造工業が大いに進展した。（『ビール礼賛』）

5-19. 近代（18 世紀中頃～19 世紀後半）ヨーロッパ諸国の動きとワイン・ビール

◆フランス

○フランス革命と体制の変革

ヨーロッパ近代は君主に集中した権力が変質・崩壊した時代。近世末期、イギリスが立憲君主政に移行した頃、絶対王政下にあったフランスは身分制度の社会だった。第一身分の聖職者と第二身分の貴族は免税などの特権を持つうえに領主として広大な土地を持ち、重要な官職を独占した。国民の 9 割を占める平民は第三身分で、不平等な立場にあった（旧制度）。しかし、18 世紀後半になると、第二身分の間でも貧富の差が拡大し、また、第三身分の大部分は封建的負担に苦しむ農民と都市の貧しい下層市民だったが、経済力を蓄えた商工業ブルジョワジーが台頭してきた。このような旧制度の矛盾が露呈した中でフランスは近代を迎えた。ルイ 16 世（位 1774～92）は特権階級の長年の贅沢による浪費やイギリスとの確執に伴う出費（七年戦争・アメリカ独立戦争支援）の

せいで破綻した財政を再建するために貴族への課税を含む旧制度改革を試みた。特権貴族はこの機会に乗じて自分たちの発言力を強めようとして、1614年以来開かれていなかった三部会の招集を迫った。この三部会召集をきっかけにして、保守的な特権貴族や王党派、穏健な変革を望む貴族グループ、急激な変革を望む新興グループ、徹底的な革命を目指すグループが離合を繰り返しながらの争いが19世紀中頃まで続く事になる。

1789年5月に三部会がヴェルサイユ宮殿で開かれるが、議決方法などで結論が出ぬ事に業を煮やした第三身分は国民会議を結成、憲法制定を主張、それを圧迫しようとする特権貴族や王との対立が激しくなった。パリ民衆は蜂起して王権の象徴であったバスティーユ牢獄を占領、封建領主に対する農民一揆もフランス全土でまき起こった。国民会議は8月に封建特権の廃止を決議し、人間の自由・平等・私有財産の不可侵を謳った人権宣言を採択した。王と宮廷はこれに抵抗したが、10月にパリ民衆の圧力に屈して王は快適なヴェルサイユから庶民が生活する環境劣悪なパリに移らされた。1791年には立憲君主政の憲法が公布された。ついで、これ以上の革命進行を恐れる立憲君主主義グループと革命推進派の共和主義グループ（ジロンド派）が対立した。中産の商工業ブルジョワジーを基盤とするジロンド派政府は、1792年春、反革命推進派を支援するオーストリアに宣戦したが、王党派の多いフランス軍は戦意に乏しくオーストリア・プロイセン軍はパリに迫った。危機を迎えてフランス国民の愛国心は高まり、全国から義勇兵が集まって反攻に転じて敵軍を国外に追いやった。この時のマルセイユ義勇兵の行進曲が「ラ・マルセイエーズ」で、のちにフランス国歌となる。1792年8月パリ民衆と義勇兵は敵国と通じていた王の宮殿を襲撃、普通選挙による国民公会が召集され、共和政を宣言した（第一共和政、現在は第五共和政）。1793年1月、ルイ16世処刑。勢いに乗るフランス軍がベルギーへ進出すると、イギリスはルイ16世の処刑を理由に参戦し、列国をさそって第1回対仏大同盟（イギリス・ロシア・オーストリア・プロイセン・スペイン・オランダなど）を結成した。国民公会は革命の激化を心配するジロンド派と都市民衆や農民の支持を得て革命を死守するジャコバン派が争ったが、ジャコバン派はパリ民衆の支援を得てジロンド派首脳を国民公会から追放した。

ジロンド派の中心を担っていたのはボルドーのワイン商人（ネゴシアン）だった。彼らはシャトー所有者である貴族と折り合うためにも貴族を排除しない、温和な共和派だった。ジロンド川河口近くの左岸が銘醸地メドックで、ジロンド県には富裕なワイン商人が多かったのだ。ルイ16世処刑の際、ボルドーのワイン商200人が逮捕され、18人が処刑されたという。（『知っておきたい酒の世界史』）

ジャコバン派は多数の反対派を処刑する恐怖政治のもと、さらに勢力を伸ばしたが、次第に公会内では独裁への不満が強まり、パリ民衆も離反していった。その後、政局は不安定をきわめ、次第に政府に対する失望が強まり社会秩序を安定させてくれる強力な政権の出現を期待する空気が高まってきた。ナポレオン登場の機は熟していた。コルシカ島出身のナポレオン・ボナパルト（1769～1821）は、イタリア遠征（1796～1797年）でオーストリア軍に大勝して対仏大同盟を解体させるなど、革命派の軍人として名声を高め、1799年にイギリスが2回目の対仏大同盟を結成して国境にせまると、同年11月軍事クーデターで統領政府を組織した。

ナポレオンは革命勃発以来の諸法令の集大成であるナポレオン法典の制定など革命の成果の定着につとめ、イギリスと講和して（第2回対仏大同盟解体）国民の平和と安定の要望にこたえて1804年に国民投票によって皇帝（ナポレオン1世）となった（位1804～1814、15；第一帝政）。フランスの強大化をおそれたイギリスは第3回対仏大同盟結成したが、ナポレオンは大陸封鎖令をしいて大陸とイギリスとの通商を禁じてイギリスの大陸市場からの締め出しをはかった。ナ

ポレオンは、ヨーロッパ大陸ではオーストリア・ロシアの連合軍、プロイセン・ロシアの連合軍を破り（1808年）、ヨーロッパ大陸の殆どをその支配下に置いた（図5-42）。

大陸封鎖はイギリスへ大量に輸出していたボルドーワインに大きな痛手を負わせる事となった。また、イギリスとの貿易に頼る大陸諸国の経済を麻痺させ、諸国民に反仏感情がみなぎった。ロシアが大陸封鎖令を破ってイギリスとの貿易を再開したため、1812年にナポレオンは大軍を率いてモスクワ遠征をしたが、大きな兵力を失って撤退。これを機にヨーロッパの諸国はいっせいに解放戦争（諸国民戦争）に立ち上がり、1814年に対仏同盟軍がパリを占領、ナポレオンは退位し、地中海のエルバ島に流された。フランスではブルボン朝が復活（ルイ18世（位1814～1824））、列国は戦後処理のためにウィーン会議を開いたが、ルイ18世は国民に人気がなく会議も遅々として進まないためナポレオンはエルバ島を脱出して再び帝位につくも、100日で戦い（ワーテルロー）に敗れ、大西洋の孤島セントヘレナ島に流された。

ヨーロッパ主要各国の代表が集まったウィーン会議の基本原則は、フランス革命とナポレオンによってヨーロッパ全体に広がった自由主義的な考えを徹底的に押さえつけ、フランス革命前のヨーロッパの姿が正当であるとして、その状態に戻す事と突出した力を持つ国が出現しないように大國間の勢力均衡をはかる事（ウィーン体制）だった。

ナポレオン没落後のフランス復古王政は立憲君主政だったが、王が反動政治を強めて議회를強圧的に解散したため、1830年7月にパリで民衆が武装蜂起。自由主義者におされたルイ・フィリップ（位1830～48）が即位した（七月革命）。しかし、七月王政はやがて少数の大資本家層の利益と結びついたため、中小のブルジョワジーと労働者は政府に反発して1848年2月パリで革命が起こり（二月革命）、共和政の政府が成立（第二共和政）。二月革命の成功はヨーロッパ各地の自由主義・民族運動を刺激して「諸国民の春」と言われた。「諸国民の春」によってウィーン体制は確実に過去のものとなった。しかし、フランス共和政府は産業ブルジョワジーを代表する自由主義者と労働者を代表する社会主義者の分裂に王党派も加わってまとまりを欠く中、新憲法のもとでの大統領選挙でナポレオンの甥のルイ・ナポレオンが当選した。

ルイ・ナポレオンは1852年には国民投票で皇帝（ナポレオン3世（位1852～70））に即位（第二帝政）。彼の政策は国民のあらゆる階層から人気を得るために八方美人的だったが、国内産業の育成に力をいれ、フランスの製鉄・紡績工業は大きく発展した。また、その成果を世界に誇示するために1855年と67年にパリ万博を開催。それまでのパリは細い路地が入り組んで迷路のようで衛生状態も良くなかったが、現在のパリの街並みに大改造をした。労働者・農民向けにも公共慈善事業や社会政策を進めて、病院や孤児院を建設した。さらに、国民の支持を対外政策の成功によって繋ぎ留めようとして、南下を目指すロシアとオスマン帝国との戦い（クリミア戦争、1853年）でオスマン帝国と同盟してロシアを破り、その南下を阻んだ。彼は、ナショナリズムの擁護者を任じてヨーロッパ外交の指導権を握り、いくつかの対外出兵を行うが、最終的にはプロイセン主導によるドイツ統一を阻止するための戦い（普仏戦争、1870～1871）で捕虜となり、第二帝政は崩壊した。1875年に共和政憲法が制定されて第三共和政が確立し、1940年まで続くこととなる。

○近代フランスのワイン・ビール事情

パリのワイン消費量：1780～5年頃のパリの人口は約75万人だったが、彼らは実に多くのワインを飲んでた。一年間に住民一人あたり150L、成年男子に限れば毎日1Lのワインを飲んでた。これ程までにワインが飲まれていた理由の一つに水不足があげられる。パリの水供給量は住民あたり一日1Lで、人々は水代わりにワインを飲んでたという。当時、ビールはワインの1割

以下に過ぎなかった。この時代のビールは色々混ぜ物されたエールが主であり、品質的にもう一つ信用がなかったようだ。、『ワインの文化史』)

革命の発端とワイン：フランス革命は1789年7月14日のバスティーユ監獄の襲撃から始まったとされているが、その3日前にワイン密輸業者らに率いられた民衆が、パリ周辺の関税門を焼き払ったのがきっかけということだ。すでに政府は400年前から関税門で特定品目の入市税を取り立てており、とくにワインに関してはパリ周辺のイル・ド・フランス地域の粗悪なワインの税率は低いが、名醸地のものはべらぼうに高かった。折からの凶作でワイン品質の一層の劣化が市民の怒りをあおる事になり、フランス革命につながったのだ。酒の恨みは恐ろしい。、『ワイン物語』)

革命の象徴として赤ワイン：昔からワイン愛飲国だったフランスでは、革命の日々も人々は赤いワインを掲げて“乾杯”を叫び、誓を揺るぎないものにした。義勇兵が祖国を守るためにパリに上った際にもワインで乾杯。しかし、共和政をしいた1792年以降は、穀物生産と軍への食糧供給に国をあげて取り組んだために都市ではワインの品不足と高騰が続いた。1787年頃にはパリに4000軒の居酒屋があったけれど1794年には1685軒になった。しかし、自由の象徴としてワインは革命後もしっかり生き残り、庶民の赤の並酒は平等・共和・愛国の象徴であったことに変わりはない。1792年～1814年の祖国を守る戦いで兵士を勇気づけていたのだ。

しかし、社会が安定化・保守化すると、また、ワインの別の面が顔を表す。1792～5年には、これみよがしに高級ワインを飲むような贅沢は追放されていたが、総統府が成立すると次第に贅沢を有難がる輩が出てきてナポレオンの宮廷やパリのサロンにはびこってきた。この風潮に地方も追随するようになる。そして、19世紀には、またぞろ社会的階層や文化的階層に伴うワイン選択や飲み方に違いが顕著になってくるのだ。、『ワインの文化史』)

シャンパンの地位：進水式や結婚式などを始めとして華やかで目出度い集まりの先陣を切るのはシャンパン。近世に誕生したシャンパンがこのような栄えある地位を獲得したのは、フランス革命前夜からウィーン会議にかけての動乱の時代にシャンパンは高価でうまいワインという評価を確立したためと言われている。ルイ16世の妃マリー・アントワネットもシャンパンを愛飲していた。フランス革命の時には、革命家や新興の有産階級たちもシャンパンをステータスの象徴とみなしてがぶ飲みしたという。ウィーン会議では国々の思惑がぶつかってなかなか議論は進まなかったが、夜な夜なの舞踏会は華やかで(会議は踊る)、シャンパンは大活躍した。フランス代表の外相タレーランは美食とシャンパン外交でウィーン会議を操り、各国のフランスへの矛先をナポレオンと革命のせいにして、フランスの貴族と国益を守った。ウィーン会議以後、シャンパンは宴会に欠かせない酒として不動の地位を獲得する。19世紀になるとびん詰のシャンパンが大量にイギリスに輸出されるようになる。

シャンパンに限らず、ワインが料理に位置づけされ始めたのもこの頃。ウィーン会議で活躍したタレーランの言、「よいワインを飲む時は、まずグラスを透かしてみ、香りをかいでみる。それから、飲むのはまだ早い。語り合わなければならない」。ヴェルサイユ宮殿、ウィーン会議の食卓を飾ったワインは、飲む時の儀礼的手続きが最高に洗練された。ワインと料理について最初に論じたのはグリモ・レニエール。サケやサヤインゲンにはシャンパン、ツグミや牡蠣には白ワイン、ウズラのパテには穏やかな白ワイン、土地の料理には土地のワイン、といった具合。「美味礼賛」のプリア・サヴァランもこの時代の人だ。、『ワインの世界史』)

ナポレオン3世とワイン：産業振興におけるナポレオン3世の働きぶりは前述した通りだが、1852年にパリ-ボルドー間の鉄道が開通すると、それまで馴染みの薄かったボルドーワインがパリにもお目見えした。1855年のパリ万博では、各国の賓客を輸出目玉商品のボルドーワインでも

てなした。また、彼はボルドー商工会議所にワインの格付けを依頼してワインに箔をつけた。その時、メドック地方の赤ワインは1級から5級。ソーテルヌ地方の白ワインは1級と2級に格付けされ、現在まで続いている（図5-43）。ナポレオン3世はヴィクトリア女王を1級ワインでもてなし、ボルドーワインの素晴らしさを国内外に知らしめたのだ。また、1857年にはパリ-リヨン-地中海



ルイ・ナポレオン
(ナポレオン3世)
(1808-1873)

*1は1973年に2級から格上げ。
これを含めて2つの変更のみで
現在に至っている。

<メドック地区の赤ワインの格付け>

第1級シャトー	
・シャトー・ラフィット・ロートシルト	
・シャトー・ラトゥール	
・シャトー・マルゴー	
・シャトー・オーブリーオン	
・シャトー・ムートン・ロートシルト*1	
第2級シャトー	14シャトー
第3級シャトー	14シャトー
第4級シャトー	10シャトー
第5級シャトー	18シャトー

<ソーテルヌ地区の白ワインの格付け>

特別1級	
・シャトー・ディケム	
第1級シャトー	11シャトー
第2級シャトー	15シャトー

図5-43 ルイ・ナポレオンとワインの格付け

フランス最大のワイン産地のランドック＝ルションとパリが結びつき、大量の安いワインがパリに運び込まれるようになり庶民のワイン生活も向上した。フランスワインの3割から4割はこの地で生産されるようになったという。また、この鉄道はブルゴーニュも縦貫しており、それまで運送面で大きなハンディを背負っていたブルゴーニュワインも市場を大きく拡大する機会となった。1860年にイギリスとの間に自由貿易に基づく関税協定が締結されて、ボルドーワインの輸出に弾みがつくと同時に、フランスワイン業界全体が盛り上がった。ナポレオン3世はボルドーを始め、フランスのワイン産業の基盤を築き上げた立役者と言える。

フィロキセラ被害：1863年、南フランスのブドウ園でブドウの木の葉が枯れて実を熟さず、3年後にはブドウが枯れてしまった。フィロキセラというアブラ虫によってブドウの根が食い尽くされてしまったことが原因。病害虫防除の研究のためにアメリカからブドウ苗木を輸入したところ、帆船から蒸気船に代わって輸送スピードが向上した結果、元気なフィロキセラが持ち込まれてしまったのだ。検討の結果、1881年になってブドウの樹のイオウ消毒、フィロキセラに免疫を持つアメリカ系ブドウの台木へのヨーロッパ種の接木という策が講じられた。一部の高級ブドウ園は難を逃れたとは言え、一連の騒動の間にヨーロッパの4/5、フランスの1/3のブドウ畑が失われたという。また、アメリカ系ブドウの台木に接木しない純粋なヨーロッパ種のブドウは絶滅した事になる。ヨーロッパワインのこの危機を契機に、新天地を求めたワイン業者によって北米のカリフォルニア、チリなどでワイン造りが始められた。

フランスのビール事情：印象派の巨匠マネの「フォリー・ベルジュールの酒場」（図5-44）には、女性のバーテンダーの背後の鏡



作者：エドゥアール・マネ、1882年

図5-44 フォリー・ベルジュールの酒場

に酒場の賑わいが巧みに描かれている。フォーリー・ベルジュールは 1869 年開業のフランス最初のミュージックホールで、19 世紀後半のパリの酒場の様子が知られる。カウンターに置かれた酒瓶の中に「赤い三角印」のラベルが貼られたビールが 2 本見えるが、これはイングランド中部のエールの銘醸地バートンのパス・ビールで、当時のヨーロッパでのビールの多くはイギリスのエールビールだった。（『麦酒伝来』）18 世紀後半のフランスでのビール消費量はわずかであったが、19 世紀後半には年々成長しており、1873 年に課税申告されたビールの量が約 750 万 hL であり、国庫に約 2 千万フランの収入をもたらした。これ以外に申告されない密造酒が製造量全体の 3 分 2 に達するというのである。（『ビールの研究』）ビールの伸長は醸造技術の発展と産業革命の成果が寄与していると考えられるが、とくにラガービールは顕著で、マネがこの絵を描いている頃、フランスでも徐々に上面発酵のエールビールを駆逐しながら伸展を続けていた。

◆イギリス

○イギリスの繁栄

イギリスは近世に 2 つの革命を経て立憲君主政へ移行していたが、その体制は政党内閣に行政を委ねる責任内閣制（「国王は君臨すれども統治せず」）と国王が教会の首長を兼ねる国教会制度の 2 本柱。

産業革命以降、産業資本家が力を強める一方、それまで産業の担い手だった手工業者は没落し、困い込みによって土地を追われた農民とともに都市に流入して工場労働者になった（18 世紀後半から 19 世紀末の間にロンドンの人口は 10 倍増加したという推計もある）。人口が急に増えた都市は伝染病や犯罪の巣となり、ひどい労働条件と非衛生的な生活環境を強いられため労働者にも次第に階級意識がうまれてきた。

イギリスは近世末期には新大陸からアジアに至る植民地を所有して（第一次）植民地帝国と言われるようになる。しかし、七年戦争（1756-63）の出費等から財政が厳しくなると植民地に対する課税を強化する方針に転じた。その結果、アメリカ独立戦争（1775～83）が勃発してアメリカ合衆国が独立を宣言、イギリスはその独立を認めざるを得なかった。

フランス革命でルイ 16 世が処刑されてブルボン朝が倒れた事にショックを受け、市民や労働者の台頭を恐れた国王（ジョージ 3 世）とジェントリ（地主）政党が支配する議会は王権を強めて保守化した。そのため、フランス革命政府はイギリスに宣戦布告（1793 年）、イギリスは対仏大同盟を何度か結成して対決姿勢を強める。1799 年、ナポレオンがフランスの独裁者となると最大の攻撃目標はイギリス。ナポレオンがイギリスを封じるために大陸封鎖令を出すと、イギリスは逆封鎖を行ってそれに対抗した。結局、ナポレオンは失脚したが、その後のウィーン体制諸国はロシア主導で保守化を強め、対外問題などで互に対立するようになるとイギリスは次第に距離を置くようになり、圧倒的な海軍力を背景に孤立を恐れない外交路線を採るようになった。

いち早く産業革命に取り組んだイギリスは他に先駆けて工業化を達成し、1830 年代から 70 年代には世界の工場と言われた。アダム・スミスは重商主義を批判して自由な経済活動が自然の秩序にかなうという自由貿易論を主張し、産業資本家も自由主義経済を謳歌した。

しかし、ヨーロッパ諸国が自国の産業革命を通じて経済的な対英依存から抜け出すにつれて自由貿易論では軽視されていた植民地が再び重視されるようになった。このため、スエズ運河の買収（1875 年）によるイギリス軍隊のエジプト駐屯、インド帝国の成立（1877 年；皇帝はヴィクトリア女王）など、あらたな植民地の拡大にのりだした。中国では、アヘン戦争（1840～42）とアロー戦争（1856～60）によって清朝に不平等条約を強いた。カナダ・オーストラリア・ニュー

ジーランド・南アなどアングロ・サクソン系植民地に次々と自治権を与えて、本国との連携を密にした。1801年にアイルランドとの統合国家となっていたイギリスは、海外領土と自治領を含めて大英帝国と呼ばれた（図5-45）。

ヴィクトリア女王（位 1837～1901、図5-46（A））の時代は経済繁栄と広大な海外植民地を誇ってパックス＝ブリタニカともいわれる。第1回万国博覧会が1851年ロンドンで開かれた。鉄骨とガラスで造られた大パビリオンのクリスタルパレスは最大の呼び物となった。建設地に生えていたニレの巨木を伐採せずに取り込み、太陽光のもと生育させるという趣向とともに様々な工業製品を展示してイギリスの工業力を世界に見せつけた。この万博の開会式で女王は「わが生涯で最も光

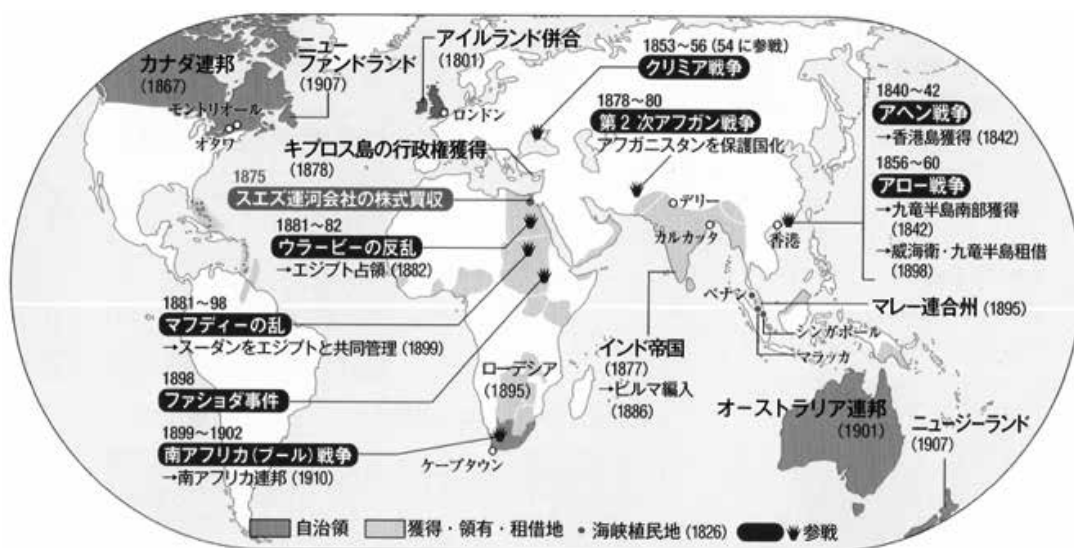


図5-45 イギリスの対外進出（19世紀）（「詳説世界史図録」より）

19世紀後半以降、イギリスは様々な戦いに参戦して領有地・租借地を拡大、アングロサクソン系植民地には自治権を与えて大英帝国を築いた。

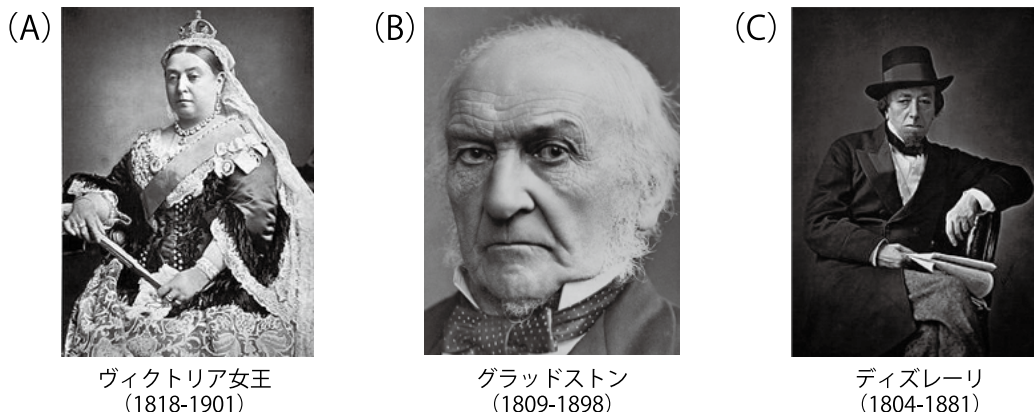


図5-46 パックス＝ブリタニカ時代の女王と政治家

古代ローマが繁栄した時代をパックス＝ローマナというが、それに倣って19世紀のヴィクトリア女王の時代はパックス＝ブリタニカと言われる。その時代の代表的な2人の政治家がグラッドストーンとディズレーリだ。

栄ある日のひとつ」と述べている。しかし、19世紀末にはアメリカ・ドイツの急激な工業発展に脅かされる事になる。

国内政治に関しては、フランス七月革命の影響もあって選挙制度の改正と自由貿易を主張した産業資本家が参政権を得る事となった。産業資本家の進出で宗教の違いによる社会的・政治的差別の解消、自由貿易への転換、労働者保護などの施策が具体化された。一方、参政権を与えられなかった労働者（有権者は全人口の約5%）は参政権を求める運動を組織し、フランス二月革命の影響もあってヴィクトリア時代にはその高揚期を迎えた。議会では急進的な産業資本家などの自由党と地主層と穏健な産業資本家の保守党による、典型的な二大政党政治が展開された。この時代の代表的な政治家が自由党のグラッドストーンと保守党のディズレーリ（図5-46（B, C））で、交互に政権交代を繰り返しながら柔軟に政策転換を進めて都市労働者や農業・鉱山労働者にも選挙権が与えられた。しかし、男子普通選挙が実現するのは20世紀に入ってから1918年であり、婦人参政権はさらに28年後のことである。

○近代イギリスのワイン・ビール事情

イギリスは近世以来、酒場機能のついた旅宿（イン）・飲食専門の居酒屋（キャバレー）・ビール専門のエールハウスなど飲食の場が大変多かった。エールハウスの流れを引くのが19世紀以降のパブで、今でもイギリスで最もポピュラーな飲みどころ。パブはパブリック・ハウスから由来しており、庶民に広く愛される酒場である。広く存在するこの種の店に通うのは酒を愛する庶民である事はいつの時代も変わらない。しかし、近代になると都市に集まる庶民の多くは機械化大工場で働く労働者で、産業革命以降、その働きぶりは一斉に働いて一斉に労働を止めるといったメリハリの効いたものになった。密度の濃い労働と労働に関わらない自由な時間がはっきりと色分けされ、その行き来の狭間にパブが存在するようになったのだ。今までにはない、新たなストレスも生じ、それを癒すのもパブの新たな役割となったに違いない。飲み場所も、次第に、現代に似た様相を呈してくる事になる。さらに、ヴィクトリア朝時代のパブは庶民の飲みどころのバー・ルーム、常連用のタップ・ルーム、上等な空間の金持ち用のラウンジと分けられていたという。ストレスを癒す場も、社会の進展とともに複雑化してくるのだ。

イギリスではエールビールが昔から愛飲されていたが、その種類は多く、この時代にはポーター、エール、ペール・エール、スタウト、ビター・ビアなどがあった。ペール・エールは間接乾燥麦芽を用いた淡色のエール。ポーターはエールより麦汁濃度やホップ濃度が高く、色が濃く、苦味がかっており、大いに流行ったという。1874年には、さらに色の濃く、アルコールの強いスタウトが登場するが、これは原料の一部に砂糖使用が許可されたためという。ロンドンの北西150kmのバートンで造られるペール・エールはイギリスが統治していたインドでも大人気であり、19世紀後半はエールビールが最も多く造られた時代だった。また、ちょうど、この時期は、最も産業革命の恩恵に浴したラガービールが大量生産された時でもあり、まさに世界は“ビールの時代”を迎えたのだ。

◆ドイツとその周辺諸国

○近代ヨーロッパの変革

「諸国民の春」と言われるように、1848年のフランス二月革命はヨーロッパ諸国に大きな影響を及ぼし、オーストリア・ドイツで三月革命がおこった。ウィーンでは3月に暴動が発生して宰相メッテルニヒは亡命し、オーストリア支配下だったボヘミア（現チェコ）・ハンガリー・イタ

リア各地で民族運動がおこった。また、ベルリンでも暴動がおこり、自由主義運動はドイツ各地で高揚した。

1848年はいくつかの点で19世紀ヨーロッパの転換点だった。第一にヨーロッパ全域の革命運動の潮流は自由主義とナショナリズムである事がブルジョワ・貴族などの保守勢力も認識せざるを得ず、労働者や民衆の存在を無視できなくなった。第二に西欧と中・東欧の違いがはっきりとした。イギリスやフランスなどの西欧諸国は絶対君主の権力を抑えるために貴族とブルジョワが協力して自由主義・民主主義改革を推し進め、労働者や民衆の生活水準も向上して労働者の選挙権や公教育の普及が進められた。これに対して中・東欧では大国支配から離脱して民族の自立を目指すナショナリズム運動が活発になった。第三には経済の変化が目覚しかった。イギリスに始まった産業革命はヨーロッパ各国に波及し、19世紀後半のヨーロッパは産業資本主義の時代に入力した。

この二月革命を契機にして、1861年にイタリア、1871年にドイツが統一したが、その経緯については次回に述べることにする。これらの国の統一が遅れたのは多くの領邦・都市国家で国が構成されていたためであるが、それぞれの地域でワイン・ビールは着実に変貌を遂げていた。

○近代ドイツ・イタリアのワイン・ビール事情

ラガービールの伸長：ビール純粋令のもと16世紀末にバイエルンの宮廷醸造所で造り始めた低温下面発酵ビールは、その後も歴代のバイエルン公によって守られた。なお、バイエルンでは4月23日から9月29日までビール製造を禁止し、寒い時期に造って低温貯蔵したビールを夏の飲用に供していたため、このタイプのビールをラガー（「貯蔵」の意）ビールという。19世紀には、暑い時期には天然氷で冷却しながら発酵貯蔵を行っていた（図5-47）。腐敗を避ける目的で低温貯蔵が始まったのだが、その後、低温貯蔵すると若ビール中に残った酵母の働きで、残存エキスの再発酵による炭酸ガスの溶解、香味の熟成、低温下での析出成分の除去などの効果のある事が分かり、現在は積極的な意味合いで低温貯蔵（貯酒）を行っている。

バイエルンではラガービールが造られたが、北部ドイツは頑なに上面発酵形式のビールを造り続けていた。しかし、徐々にラガービールは浸透し、1820年に北部ドイツで初めて下面発酵形式のラガービールが造られ、1842年にベルリンに下面発酵形式の醸造所が建設された。1845年にデンマークにカールスベルグ研究所を創設したヤコブセンによって下面酵母とともに下面発酵法が伝えられた。1871年4月23日の新聞には下面発酵ビールの発展が次のように記述されているという。「1860年、ボヘミアには上面発酵ビールの醸造所が281存在していたが1865年にはこれが81になり、1870年にはわずかに18になった。これに反して下面発酵の醸造所は、1860年には135であったのが1865年には459、そして1870年には831を数えている。」（『ビールの研究』）

ピルスナービール：現在、世界で最も飲まれているのはピルスナータイプのラガービール。澄んだ単黄色でホップが効き、すっきりしたキレ味が特徴だが、これはボヘミア（現チェコ西部）のピルゼンで初めて造られた。当時、ピルゼンで造られていた上面発酵形式

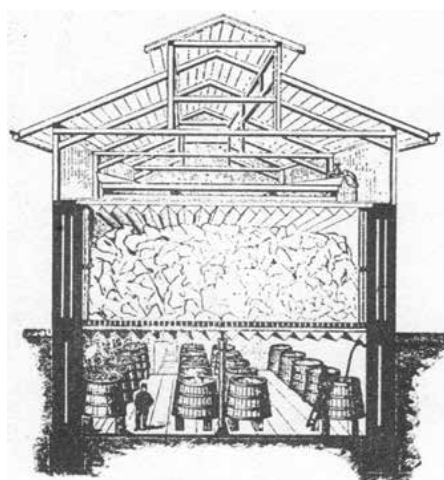


図5-47 天然氷で冷却された発酵・貯蔵室（『ビール礼賛』より）

のビールは出来が悪かったため、1842年、250の醸造業者が協力して近代的市民醸造所（現ウアクヴェル醸造所）を造り、ミュンヘンから技師を招聘して新たな醸造を始めた。ミュンヘンのラガービールは麦芽にしっかり熱を加えて硬度の高い水で仕込むため、色の濃い、重厚な味わいのビールだった。しかし、イギリスで開発された間接加熱麦芽乾燥機を用いた淡色麦芽とピルゼンの軟水で造ったラガービールは淡黄色で、大いに人気を博する事となった。やがて、バイエルンも淡黄色のラガービールに切り替えてゆく。この時代に人々が明るい色のビールを好むようになった理由の一つに、ビールのジョッキや容器が陶器に代わって透明ガラスが使われるようになった事があるだろう。とくに、ボヘミア地方はガラス細工や容器の名産地で知られている。

近代ドイツのビール事情：バイエルンではラガービールを振興させるために、19世紀初頭にはビールの醸造や営業の制限が廃止されて誰もがビールを造れるようになり、ビール課税の改革・公定価格の設定もされた。この頃になると、都市醸造所や僧院醸造所が民間人の手に移り、また、新たに民間の醸造所も創設されていずれも大いに発展した。この結果、市民も安価なビールを楽しむようになり、バイエルンはこの時代からドイツ第一のビール業が盛んな土地となっていった。

1848年の三月革命から1871年の国家統一に向けてのドイツの着実な歩みがビール造りを通して窺い知ることができる。1834～70年にドイツで関税同盟ができ、それまで小邦に分立して輸入の妨げになっていた関税が廃止された。また、ドイツ南北を結ぶ鉄道も開通してミュンヘンビールはドイツ国内の諸都市に運ばれ、蒸気船によって海外にも輸出された。前述したように、19世紀後半のドイツの産業革命の進展は著しく、1870～1871年にドイツ国家が統一されると、ドイツ経済は飛躍的に発展し、ビール業界も大いに活況を呈することとなる。

デンマークのカールスバーグ醸造所も率先して大規模大工場経営にシフトし、純粋酵母によるラガービール製造は、まずここで行われた。ビール醸造の近代化が進むにつれて、小さな手工業的醸造所は影を潜め、1860～1870年の間にドイツだけではなく、ヨーロッパ各地で多数の醸造所が整理された。たとえば、オーストリアでは1860年に3214あった醸造所は1870年には2820に減少したが、ビール生産高は増加したという。（『ビール礼賛』）

近代ドイツのワイン事情：文豪ゲーテ（1749-1832）は「金持ちは美味しいワインを、貧乏人はたくさんのワインをほしがる」と言ったそうだが、ドイツはもともとビールとワインの愛飲国だった。とくに、南部のバイエルンはワインを多く飲んでいた地域だったが、ラガービールの中心になってゆくと、相対的にワイン消費量は減少していった。

白ワイン用最高ブドウ品種として評価の高いリースリングはドイツが発祥の地であり、17世紀からライン川・モーゼル川・ザール川沿いの修道院などが植え替えを行なった。最も有名なのはカール大帝設立によるインペリアル修道院が1716年に買い取ったラインガウ（ライン川右岸）の土地で、今もワイン名産地として知られている。18世紀後半にはブドウ果実を遅摘みすることによって甘口で繊細でエレガントな香味のシュペトレーゼを産み、19世紀には素晴らしいライン・ワインが開いたのだ。

また、ドイツとフランスの間に位置するアルザスは交通の要地であり、ワイン生産地としてよく知られている。アルザスワインは、リースリングなどのドイツ品種から、伝統的なフランス醸造法で造られ、香りがよくて超辛口。オーストラリア・カルフォルニア・ニュージーランドワインの見本となったと言われている。

近代イタリアのワイン事情：ワイン造りに関して大変な歴史のあるイタリアだけど、19世紀中頃までは量産銘柄ではあっても品質的にはあまり評価されることはなく、地酒ワインの域を出ることはなかった。実際、サン・ジミニャーノ郊外のヴェルナッチャ（個性派白ワイン）、マルケ州のヴェ

ルディッキオ（白ワイン）などイタリアには数百種類の土着のブドウ品種があるが、栽培されている地元以外殆ど知られていなかったという。

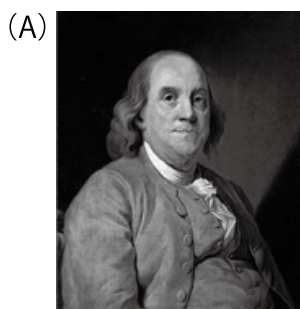
5-20. ヨーロッパ近代（18世紀中頃～19世紀後半）の科学の発展とワイン造り・ビール造り

◆ヨーロッパ近代科学の発展

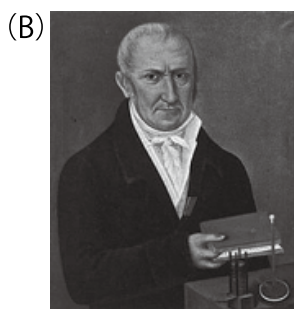
産業革命の実現には多様な分野での科学技術の向上が必須だった。電磁気学の分野では、18世紀に電気の伝えやすい物（導体）と伝えにくい物（不導体）のある事が明らかにされ、嵐を使っての雷が電気である証明実験がフランクリン（図 5-48 (A)）によって行われた。ボルタ（図 5-48 (B)）は2種類の金属が存在すれば電気が発生する事を実証して、1800年にはボルタ電池を発明した。

原人の時代から火は使用していたものの、熱さを評価する温度計は18世紀になってアルコール温度計や水銀温度計が開発された。また、この温度計を使って高温の液体と低温の液体を混ぜると両者の中間の温度（平衡温度）になる事（熱力学第2法則）、物質を1度上げるのに必要な熱容量の概念、物質が一定の温度上昇する時に吸収する熱量と下降する時に放出する熱量は等しい事が明らかにされた。さらに、19世紀になるとエネルギーという概念が生まれ、孤立系ではエネルギー総量は変わらないとするエネルギー保存法則が示された（熱力学第1法則）。

この時期に化学分野も飛躍の発展を遂げた。綿製品の漂白剤として晒し粉の発明やアニリン染料の発見などを通して化学研究が進展し、19世紀以降の石炭のタールを原料とする有機化学工業の創設につながった。この時代の代表的な化学者は化学命名法を体系化し、質量保存法則を発見して化学理論を創設したラヴォアジエ（図 5-48 (C)）、化学へ原子概念（原子・原子量・原子量表など）を導入・発展させたドルトン（図 5-48 (D)）等が挙げられる。



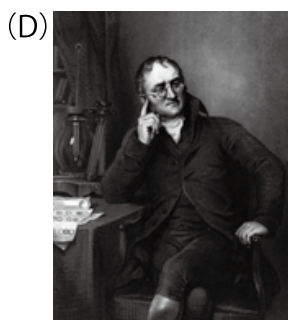
ベンジャミン・フランクリン（英）
(1705-1790)



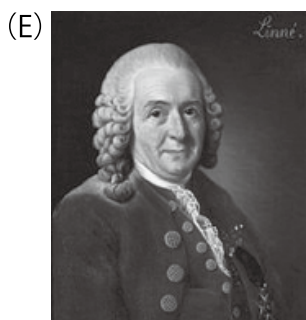
アレッサンドロ・ボルタ（伊）
(1745-1827)



アントワーヌ・ラヴォアジエ（仏）
(1743-1794)



ジョン・ドルトン（英）
(1766-1844)



カール・リンネ（スウェーデン）
(1707-1778)



エドワード・ジェンナー（英）
(1749-1823)

図 5-48 近代科学の貢献者たち

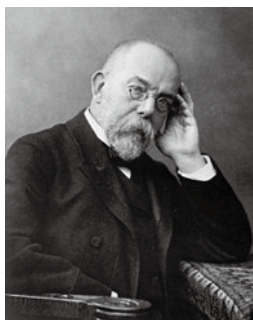
生物学分野も大いに進展した。18世紀にリンネ（図 5-48 (E)）は、理解しやすく体系的な分類法として動植物名を属名と種名で命名する二名法を完成させて分類学の基礎を築いた。17世紀に顕微鏡を用いて微生物やコルクの細胞を観察した事は前回に述べたが、19世紀になると「すべての生物は細胞から」の細胞説が確立した。また、

(A)



ルイ・パストゥール（仏）
(1822-1895)

(B)



ロベルト・コッホ（独）
(1843-1910)

図 5-49 微生物学の基礎を築いた偉大な科学者

18世紀に生物の呼吸も酸化という化学反応であるとラヴォアジェが指摘して以来、生命活動を細胞内の化学反応と捉えるようになって生理学が大いに進展した。18世紀末にジェンナー（図 5-48 (F)）は天然痘のワクチンとして種痘を開発した。なお、多くの成果を生んだラヴォアジェは国王政府に協力的だったという理由で革命政府によって処刑されてしまったが、誠に惜まれることである。

19世紀後半に2人の偉大な科学者、パストゥールとコッホが登場する。パストゥール（図 5-49 (A)）は、発酵や腐敗が微生物の働きによって起こる事を指摘し、酒類を低温処理すると品質が保持される事を明らかにした。1864年には、長らく論争して結論が出なかった生物自然発生説を明快な実験によって否定した。さらに牛などの家畜の炭疽病や、人と動物の伝染病が微生物による事を明らかにした。ドイツのコッホ（図 5-49 (B)）は微生物を単離する方法を確立して、炭疽菌・コレラ菌・結核菌を発見した。日本の微生物学者もコッホの指導を受け、破傷風研究の北里柴三郎、赤痢菌発見の志賀潔などがある。

◆近代ヨーロッパにおけるワイン醸造・ビール醸造

○ワイン醸造

近代科学手法によるワイン造り：機械化工場での大量生産はワイン造りの性格上、そぐわない点もあるが、新しい科学的手法が導入されてワイン造りも大きく進展した。微生物の分離、純粋培養法が確立され、従来の自然発酵法に替えて、選抜された優良酵母を酒母として添加するワイン醸造法が確立した。また、果汁中の糖分がワイン醸造に果たす役割が明らかとなり、砂糖を添加する補糖法が開発されて北国での高酸度低糖濃度のブドウや不作年のブドウでもワイン原料として活用できるようになった。

パストゥールの低温殺菌法：パストゥールは1854年にリールの理科大学の主任に任命された時、甜菜糖からのアルコール製造の研究に取り組み、正常なアルコール発酵では酵母しか認められないのに異常発酵の場合には酵母以外に多数の細菌が存在している事を指摘する。

1863年、フランスから輸出したワイン520万KLが腐敗するという事件がおきた。これはフランスワインの名声を高めるためパリ万博でも大いに力を注いだナポレオン3世（位1852—70）にとっても大変ショックであり、彼はパストゥールにワイン腐敗防止の研究を依頼した。もともと、パストゥールはワイン産地ジュラの出身で、ワインには馴染みがあった事もあるが、積極的に研究に取り組み、ワインの腐敗に細菌が関与している事を明らかにして、これらの細菌の発育を抑制すれば腐敗を防ぐ事ができると考えた。そして、低pHでアルコール濃度約10%のワインの場合、一

定時間55℃に保てばワインの風味を損なうことなく殺菌できる事を示した。この低温殺菌法は、“パストゥリゼーション”と呼ばれて、ワイン、ビール、牛乳などの長期保存を可能にし、大量生産への道を拓いた。

シャンパンの改良：ガラス瓶の中で添加した砂糖を二次発酵させる工程を考えると、シャンパン製造へのアルコール発酵理論の適用は大いに意義があっただろうと想像される。『ワイン物語』（ヒュー・ジョンソン（著）、小林章夫（訳））の文章を読むと、産業革命の中での当時の生き活きとした製造工程が目に見え、*「コルク打栓機の絶え間ない音や、コンクリートの床の上を手押し車の鉄の車輪が絶えず転がる音や、昇降機のがたがたという音、時折、破裂する瓶の鋭い音や親方が大声で怒鳴る命令やらで、時々まったく耐えられない騒々しさとなる。親方は完全なまでに騒々しくすることで愛国心を示すのである。一日に詰められる瓶の数は当然異なる。しかし、モエト・シャンドン社の計算では、6月中は午前中に一日平均10万本の瓶を洗浄室に運び、洗って乾燥したあと、ワインを詰め、栓をし、針金をかけて、地下貯蔵庫に運び、注意深く左右対称形に並べる。つまり、その月だけで合計250万本ということになる」*

産業革命の結果、中流階級が豊かになり、貴族のみが独占していた贅沢品が世界中の舞踏会・ピクニック・パーティーに現れるようになる。1828年には早くもイギリス人はシャンパーニュを競馬場の飲み物として取り入れていた。また、1848年にそれまで砂糖を多く添加した甘口のシャンパンを辛口に変えたところ大変な人気となった。

しかし、シャンパーニュワインの重大な問題は予期できない圧力のために地下保管中に頼りない瓶が粉々にわれてしまうことだった。1828年は80%の瓶が割れたという。しかし、酵母による糖からアルコール発酵が明らかになり、ワイン中の糖度を計る糖度計が開発された事によって、1866年には貯蔵中のガラス瓶の破損率は15-20%に低減したという。しかし、当時は、まだ、顔を保護するマスクをつけずにシャンパーニュの地下貯蔵庫に入るのは大変無謀な事だったという。（『ワイン物語』）

○ビール醸造

麦芽の糖化：麦芽デンプを麦芽アミラーゼによって糖化する温度管理（約60℃）に温度計を用いた事はとくに意義深かった。温度計が導入される前は「肘がその温度に耐えられる温度」、「麦汁の表面に、完全な、静かな影が写っているが、しかし、今や湯気を立てようとしている温度」が基準となっていたという。ロンドンの醸造家（マイクル・コンブルン）が温度計を用いることを思い付き、1784年頃から一般化したようだ。

糖化の様子を把握するには糖濃度を計る必要がある。ビール比重を基にした糖度計が1762年に考案され、1768年に醸造所で試用、1784～1800年に大抵の醸造所で採用されるようになっていった。技術の定着には時間がかかる。

発酵の温度管理：発酵の温度管理についても目が向くようになる。従来、6～9月の暑熱時は醸造を休止させていたが、1791年に長い銅製のコイル管を発酵樽におさめ、それに一定温度の水を循環させて樽の温度をコントロールする実験を行った。また、この装置を用いて温水を循環させれば、厳寒期にも一定温度に保つことも可能であり発酵が安定して進行した。この装置も、その後、いろいろ改良され、1810～18020年代初めに醸造所で実用化されるようになった。（『ビール文化史（下）』）

酵母の純粋培養：デンマーク・カールスバーグ研究所のハンセンはビールの変質は細菌によるほか、野生酵母によっても起こされる事を認め、優良なビール酵母の単細胞分離に成功し、1883年

に純粋培養方式によるビール醸造法を開発した。できたビールは素晴らしい清純さを持ち、品質が一段と向上していた。これによって、純粋のラガービール用低温下面発酵酵母が量産でき、品質が均一なラガービールが大量生産できるようになった。

世界の大半はピルスナータイプのラガービールに向かっていったが、醸造技術に磨きがかかって上面発酵のビールの品質も向上した。イギリスのエール、ドイツではバイエルンのヴァイツェン、デュッセルドルフのアルト、ケルンのケルシュなどがこの時代から知られている。

ビン詰めビール：パストゥールはワイン同様、ビールも低温で熱処理する事によって品質が保持される事を明らかにした。それまでは樽で保管されていたが、19世紀初頭には瓶詰めビールが登場したという。そして、1870年代に68～72℃の蒸気で殺菌する方法が定着した。蒸気殺菌法の大量生産のポイントの一つが取り外し簡単な王冠の密閉フタにあったが、これは1892年、アメリカ人ペインターによる発明とのこと。21のヒダの王冠は現在も世界中で使われている。

エールとラガー：ビールの世界にとっても1880年代は象徴的な時代だった。長年、ビールの中心だった上面発酵のエールビール、中でもイギリスのエールビールの生産量が最大になった時期であると同時にドイツを中心とするラガービールが産業革命の果実のもと急激に進展した時期であった。そして、この時期を境に世界の嗜好は急激にラガービールに傾いていった。

酵母の純粋培養技術によってそれぞれの酵母の違いも明確になってきた。歴史上、先輩格の上面発酵ビールは15℃～25℃の比較的高い温度で発酵し、発酵中に菌体が液の表面に浮上する。これに対して、下面酵母は10℃以下の低い温度で発酵し、発酵後期には菌体が凝集してタンクの底に沈んでくるという特徴がある。また、一般的に上面酵母は華やかな果実のような香りと個性的な味を呈するが、下面酵母はバランスがよく穏やかで爽快でスッキリした香味を呈する。古代からビールにあった“栄養スープ”のイメージを完全に払拭して“清涼アルコール飲料”の道へ歩き出した時期だったのかも知れない。

参考文献

1. 世界の歴史編集委員会：もういちど読む山川世界史。山川出版、2009.
2. 浅野 典夫：「なぜ？」がわかる世界史、前近代。学研教育出版、2012.
3. 宮崎 正勝：知っておきたい「酒」の世界史。(株)角川学芸出版、平19.
4. 塚越 規弘、栗山 一秀、井上 喬：お酒のはなし、(株)学会出版センター、1994.
5. 山本 幸雄：ビール礼賛。東京書房、1973.
6. 渡淳二(監)：ビールの科学。(株)講談社、2009.
7. ワイン学編集委員会(編)：横塚 弘毅；ブドウの処理、ワイン学。産調出版、1991.
8. 清水 健一：ワインの科学。講談社、1999.
9. 橋本 浩：早わかり科学史。(株)日本実業出版社、2004.
10. 木村 靖二、岸本 美緒、小松 久男(監修)：詳説世界史図鑑。山川出版、2014.
11. 川北 稔、木畑 洋一(編)：イギリスの歴史—帝国＝コモンウェルスへの歩み。有斐閣アルマ、2000
12. パストゥール(斎藤日向(監修)、竹田正一郎・北畠克顕(訳))：ビールの研究。大阪大学出版会、1995.
13. 村上 満：麦酒伝来。創元社、2006.
14. ジルベール・ガリエ(八木尚子(訳))：ワインの文化史。筑摩書房、2004.
15. ロベール・ピット(幸田礼雅訳)：ワインの世界史。原書房、2012.
16. フランソワ・ゴーティエ(八木 尚子訳)：ワインの文化史。白水社、1998.
17. ヒュー・ジョンソン(小林章夫(訳))：ワイン物語。日本放送出版協会、1990.
18. キャビン・D・スミス(大間知 知子訳)：ビールの歴史。原書房、2014.
19. マルク・ミロン(竹田円・訳)：ワインの歴史。原書房、2015.
20. 春山 幸夫：ビール文化史(下)。東京書房、昭47.

チーズ市場に全く新しいチーズを創造した 驚くべきヒット食品

—『さけるチーズ』雪印メグミルク株式会社—

田形 暁作 (TAGATA Yoshinari)

TAGATA 食品企画・開発代表

Key Words: チーズ市場 商品企画・開発 チーズ研究所 ブランド戦略 マーケティング戦略

はじめに

ミルク（乳）にこだわり、ミルクの持つ無限の可能性を信じ、ミルクに向き合い、ミルクにこだわり続けることで、ミルクの持つ可能性を「深め」、ミルクの価値を「高め」、世界に「拡げていく」活動を推進している雪印メグミルク株式会社は山梨県北杜市小淵沢町に前身の一つである雪印乳業株式会社が1979年チーズ研究所を設立した。この研究所では、広く世界のナチュラルチーズを研究し、日本人の嗜好に合った商品開発や、製法の確立、ナチュラルチーズの普及啓発活動に努めている。

今や人気の『さけるチーズ』はこの研究所で誕生した。『さけるチーズ』は1980年（昭和55年）6月に『ストリングチーズ』という商品名で関東地域の一部の量販店でテスト販売を始めた。消費者からは、まるでサキイカのような形状、シコシコ、キュッキュと弾力性がある食感の新しさが大うけで、地域のレア商品から一気に全国販売となった。

翌年の1981年には北海道大樹工場に生産設備をつくり、全国量販店で本格販売を開始した。特許も取得した。発売当初の賞味期限は2か月であったが、現在は製造法を改良して4ヶ月である。発売当初の『ストリングチーズ』の商品

写真を下に示した。商品は「しお味」と「スモーク味」の2品であった。



ストリングチーズ（スモーク味/しお味）商品写真

1. 雪印メグミルクの生い立ち

雪印メグミルクは前身企業である「雪印乳業」、「日本ミルクコミュニティ」のそれぞれが生産者団体を母体としており、2009年（平成21年）に設立された。雪印メグミルクグループのルーツは日本の酪農そのものであり、常に酪農家とともに歩んできた。「雪印乳業」の前身である「北海道製酪販売組合」は、1925年に設立され、雪印メグミルクは今年で91周年を迎える。

2. 雪印メグミルクグループの概要

社 名	雪印メグミルク株式会社
設 立 年 月 日	平成 21 年 (2009 年) 10 月 1 日
代表取締役社長	西尾 啓治
資 本 金	200 億円
本 社 所 在 地 (登記上本店)	北海道札幌市東区苗穂町 6 丁目 1 番 1 号
本 社	東京都新宿区本塩町 13 番地
事 業 内 容	牛乳、乳製品および食品の製造・ 販売等
売 上 高	5,783 億円 (2016 年 3 月期)

3. 『さけるチーズ』の開発の背景

小淵沢にあるチーズ研究所でいろいろなチーズを研究している時に『さけるチーズ』を発明した。もともとはイタリアで生まれたパスタフィラータ製法(※)でモッツアレラチーズをつくるような製法である。

(※) チーズ(カード)をお湯の中で練って引張る操作を繰り返す製法

4. チーズ研究所

国内で唯一のチーズを専門に研究している研究所である。場所は八ヶ岳に抱かれ、南アルプスを間近に望む小淵沢にあり、豊かな自然に恵まれている。この地は気候・風土ともチーズづくりにふさわしい場所である。雪印メグミルクは、世界中のナチュラルチーズを研究し、日本人の嗜好に合うチーズづくりをすすめるため、1979年この小淵沢にチーズ研究所を設立した。この研究所では、伝統的なチーズづくりレシピの伝承、ナチュラルチーズの知識や魅力を伝える等の普及啓発活動を行なっている。また、2003年には、従来の製造部門を小淵沢チーズ工房として独立させ、小規模生産したチーズを限定販売している。

●小淵沢チーズ工房で生産しているナチュラルチーズの種類は・カマンベール・ブルー・カマン&ブルー・淡雪(中はセミハード、外

は白カビ)・ゴード・チェダー・グラナ・プロボローネ。

チーズ研究所は平日のみであるが見学も可能である。見学を希望される方は

TEL: 0551 (36) 3851 FAX: 0551 (36) 3892
に連絡願いたい。

☆ナチュラルチーズとは

ミルクに乳酸菌や酵素などを加えて固めたものから、乳清(ホエイ)を抜いたものがナチュラルチーズ。従って、菌や酵素は生きたままで、これらの働きによってチーズが熟成する。ミルクの種類、植えつける微生物の種類、水分や脂肪分の違い、大きさ、形、熟成期間などによって様々なタイプのナチュラルチーズができあがる。

5. 『さけるチーズ』の変遷 【出典:雪印メグミルク H.P】(図1)

1980年小淵沢のチーズ研究所で開発された『さけるチーズ』を関東地域の一部の量販店でテスト販売、好評であったため翌年の1981年には北海道大樹工場に生産設備を導入し、全国量販店で本格販売を開始した。発売当初は商品名は『ストリング』であり、「しお味」と「スモーク味」の2品であった。1995年(平成7年)にはネーミングを『ストリング』から『さけるチーズ』に変更した。このネーミング変更で商品特長が消費者に分かりやすくなり、売り上げはさらに増え始めた。この時の商品は3品で『さけるチーズ プレーン』、『さけるチーズ スモーク味』、『さけるチーズ レッドペッパー』である。

1996年には新たにCVSへの展開を計画し、1本入りの商品を発売した。

その後、2009年には『さけるチーズ とうがらし味』、2012年『さけるチーズ ガーリック味』(当初、東日本エリア限定から2013年全国販売)、2014年『さけるチーズ ほたて味』を、

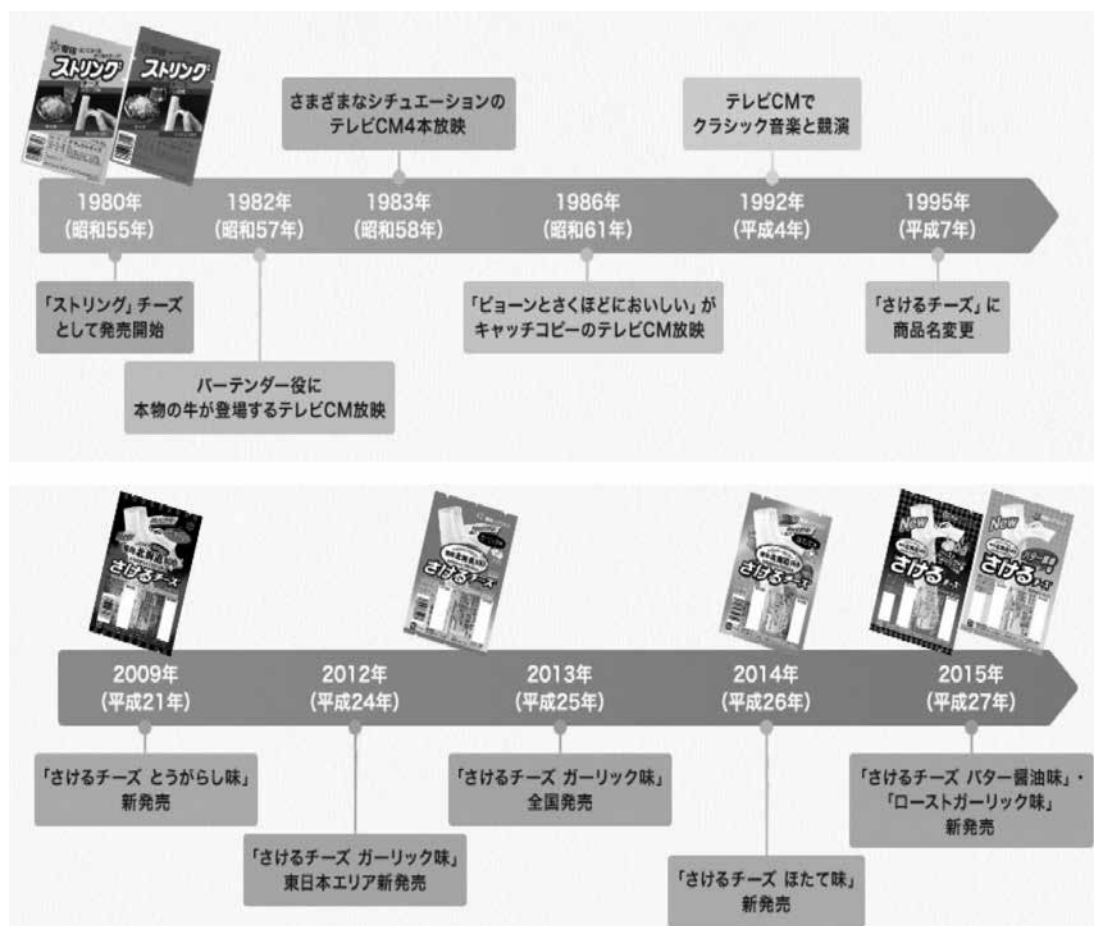


図1 さけるチーズの変遷

それぞれ発売した。さらに2015年には『ガーリック味』『ほたて味』を終売し、『バター醤油味』と『ローストガーリック味』を発売した。現在は5フレーバーの展開となっている。

6. 『さけるチーズ』の商品紹介

現時点で『さけるチーズ』のレギュラー品は下記の5品である。

●『さけるチーズ プレーン』

商品基本情報

発売地域：全国

内容量：50g（2本入り）

賞味期限：120日間

希望小売価格：210円（税別）
 種類別：ナチュラルチーズ
 保存方法：要冷蔵 10℃以下
 容器・包装：プラ（フィルム）
 原材料名：生乳（北海道産）、食塩、調味料（アミノ酸）、乳酸

●『さけるチーズ スモーク味』

商品基本情報

原材料名：生乳（北海道産）、食塩、調味料（アミノ酸）、乳酸、香料、くん液



●『さけるチーズ とうがらし味』

商品基本情報

原材料名：生乳（北海道産）、食塩、香辛料抽出物、調味料（アミノ酸）、乳酸



●『さけるチーズ ローストガーリック味』

商品基本情報

原材料名：生乳（北海道産）、食塩、調味料（アミノ酸）、香料、乳酸



●『さけるチーズ バター醤油味』

商品基本情報

原材料名：生乳（北海道産）、食塩、調味料（アミノ酸）、香料、乳酸



☆ CVS 向けの 1 本入りは 4 フレーバーの商品展開。（バター醤油味除く）

参考までに『さけるチーズ プレーン 1 本入り』の商品写真と商品情報を記した。

商品基本情報

発売地域 全国

内容量：25g

賞味期限：120 日間

希望小売価格：100 円（税別）

種類別：ナチュラルチーズ

原材料名：生乳（北海道産）、食塩、調味料（アミノ酸）、乳酸

保存方法：要冷蔵 10℃以下

容器・包装：プラ（フィルム）



☆なお、2016 年 3～8 月の期間限定商品として、子持ち世帯の意識付けを目的にさけるチーズ市場初のキャラクター商品を導入した。

●『さけるチーズ 妖怪ウォッチ』



7. 「さけるチーズ」を新商品開発 5P にとり紹介

筆者は、新商品を開発し、その商品がお客様の手元に届くために、新商品開発 5P を開発段階のチェック用に使用している。（図 2 参照）5P のうち、先ず第一に「Product」ありきである。「Product」には商品コンセプト、商品仕様、ネーミングなどを決定しなければならない。第二は「Package」である。包装仕様、デザインなどを決定しなければならない。第三は「Price」である。第四は「Place」である。『Target』の属性を定め、お客様に届けるにはどのチャネルが良いのか。量販店なのか、CVS なのか、専門店なのか、ドラッグストアなのか、それとも通販なのか。色々なチャネルがあるので選択と

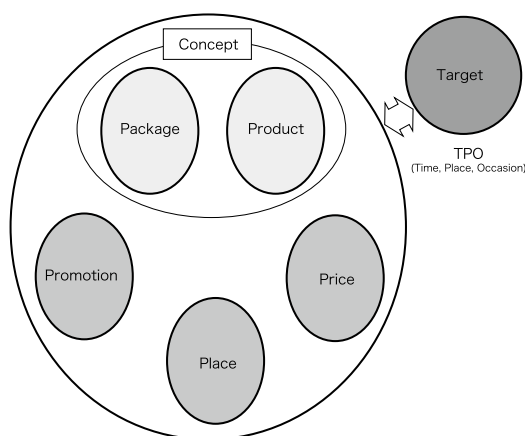


図2 商品開発 5P

開発品はユーザーの手に届く仕組みになっているか

集中が必要になる。第五は「Promotion」である。店頭プロモーション、媒体プロモーションなど費用がかかるので効果的なメディアミックスが重要である。

最後に5Pではないが、『Target』がある。全ての5Pは『Target』を明確にした後のことである。「Product」は『Target』が明確にならないと決まらないはずである。さらに、包装仕様を決定するうえで重要なのがT (Time)、P (Place)、O (Occasion) である。この考えに基づき、『さけるチーズ』を整理してみる。

『Product』は国内で初めて小淵沢のチーズ研究所で生まれた『さけるチーズ』である。1980年に関東地域でテスト販売をすると、消費者からはサキイカのような形状、シコシコ、キュッキュと弾力性がある食感の新しさが大うけで、地域のレア商品から一気に全国販売となった。

イタリアの有名なチーズであるモッツァレラチーズはパスタフィラータ製法により作られるが、この製法を応用するカタチでヒントを見出し開発したのが『ストリングチーズ』である。ストリングとは紐(ひも)や糸のことを意味し、さけて繊維状の糸のようになることから『ストリングチーズ』の名称を採用した。商品は『しお味』と『スモーク味』の2品で販売をスター

トした。

『Package』は、さけるということをアピールするためにチーズがさけた画像を入れ、発売当初は製法について特許出願中であったので、パッケージに”製法特許出願中”と明記した。

『Price』と内容量は40g×2本=80gで希望小売価格は230円とした。2品とも同じ内容量、同じ価格とした。(1980年発売当初)

『Place』は全国の量販店で販売をお願いした。1996年にCVSに販路を拡大することになり、CVS用として1本入り30gを開発し、希望小売価格は100円(税別)で販売を開始した。

『Target』とT・P・Oは発売当初の消費者調査(マルチアンサー)から以下の結果が得られた。『Target』はおやつや間食として食べる子供と晩酌で酒のつまみとして食べる大人である。

①食べる場面は、朝食時：16%、夕食時：22%、おやつ・間食時：48%、晩酌時：30%であった。

②食べる方法は、そのまま：50%、サラダに添えて：26%、飲み物と一緒に：18%、酒のおつまみとして：32%であった。

子供のおやつや酒のおつまみとしてよく食べられていることが明らかになったので、コピーとしては「ビールのおつまみにシコシコした口当たりと、さいて食べる面白さで人気のストリングチーズは、お子さまのおやつとしてもおすすめです。」もともとチーズはカルシウム豊富で栄養にすぐれた食品であり、ストリングチーズは子供に人気があって、関東、北海道の小学校などで学校給食にも採用され、その数はさらに増えている。食べ盛りのお子さまのおやつとして、サラダに添えてお食事の楽しさが広がるおいしさです。」とアピールしていった。

『Promotion』はテレビCMを中心に実施した。発売直後から商品名を『さけるチーズ』に変更する1995年前まではバーテンダー役に本物

の牛が登場するCMを作成し放映したり、さまざまなシチュエーションのテレビCMを複数本作成し放映した、「ビヨーンとさくほどにおいしい」をキャッチコピーにしたCMを放映したり、色々な企画でテレビCMを制作し放映した。

< 発売後の改良 >

発売後はチャネル戦略による顧客の獲得、食シーンの変化への対応などで改良と品ぞろえを実施した。ネーミングは1995年(平成7年)に『ストリング』から商品特長が分かりやすい『さけるチーズ』にした。

『Price』は内容量の変更や価格改定を幾度か経て、現在は2本入り(25g×2)が希望小売価格210円(税別)、CVS用は1本25gで希望小売価格は100円(税別)となっている。

『Package』の改革は視認性向上による「認知率アップ」を目的に

- ①店頭の上から3センチには蛍光灯の光が当たるところをヒントにパッケージの上部3センチには蛍光灯が当たるとダイヤ柄と金属光沢色を採用した。社内では”キラキラ&ダイヤ柄”と呼んでいる。
- ②『さける』の文字を1.25倍に拡大し、一層目立つようにした。
- ③一瞬でフレーバーが何であるか分かってもらうために、『さける』の近くに配置した。際立っている改良は”たまに出会えるレアデザイン”を採用したことである。

『ボンバーさける』の商品の出現率は1本入りが約3%、2本入りが約6%である。店頭では目を引くこと間違いないと考える。

『Promotion』は店頭では宣材物として、売場用販促ツールに仕掛けをし、人が前を通ると売場用販促ツールからTVCMの音声流れる。その音で顧客を振り向かせるというアイデアである。



『ボンバーさける』の商品写真

< 発売後の改良の結果 >

販売向上のために色々な商品改良やマーケティング活動をした結果、売り上げは増加し、2002年を100とすると2010年には約170、2015年には195まで増大した。【(株)インテージ:SR Iデータ 推計販売規模(個数)】また、量販店での主購買層は商品により異なるが、30～40代の主婦が中心である。CVSでは量販店では取り込めなかった中高年男性や、10～20代の若年層の顧客を獲得できた。従って、別々のチャネルで販売することで、全世帯を包括的に取り込むことに成功した。

また、大人(20～60才)の食シーン調査(自社、マルチアンサー)では、全商品ともおつまみが最も食頻度が高く60～70%であった。次はおやつで全商品とも45～50%、3位は小腹満たしで35～38%であった。この調査で明らかになったことは家飲み需要の増加など、時代と共に「おつまみ」として食べている人が増加していることである。

おわりに

『さけるチーズ』を1980年(昭和55年)6月に発売して以来、今年で36年を過ぎ、37年目に入った。売り上げは順調に拡大している。発売後、商品の改良、品数の拡大、ターゲット層の拡大、さらに独創的なマーケティング活動

がこの成果を支えてきた。時代の変化を観察しながら、新たな食シーンの提案などで、新規顧客を獲得できるポテンシャルはあると考える。競争メーカーがないので独自で市場を活性化し

なければならない苦労はあると思うが多くのお客様に喜んでいただけるようにアイデアを出していただきたい。

参考資料

- 1) 田形皖作; プロセス市場を創造した驚くべきヒット食品『雪印 6P チーズ』 雪印メグミルク株式会社 *New Food Industry*, **54** (5), 57-65, 2012.

白石カルシウムの炭酸カルシウム	
	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、品揃えしております。 - 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

野山の花

— 身近な山野草の食効・薬効 —

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

ゲンノショウコ *Geranium thunbergii* Siebold et Zuccarini (フウロソウ科 Geraniaceae)

7～9月ごろ、山歩きの途中、道端で梅に似た花をつけ、地を這うようにして生えている植物を見かけることがあります。健胃・整腸薬として有名なゲンノショウコです。「現の証拠」という植物名は下痢止めに服用するとすぐに効果が現れることに由来します。本植物は日本では北海道の草地や本州～九州の山野に自生し、白色または紅色の花（白花は東日本、紅花は西日本に多い）を枝先と葉の脇から長い花軸を出して数個付け、花弁は5枚で赤い筋が走り、がく片5枚、雄しべは10本あります。全体に下向きの毛が生え、葉は3～5裂の掌状、巾は3～7cm、長い柄を持ち対生、裂片は先でさらに3つに分裂し倒卵形、葉は柔らかな紙質で縁は鋸歯型をしています。

ゲンノショウコは漢方薬ではありません。ドクダミ、センブリと共に、日本三大民間薬の一つと言われ、昔から民間伝承により使用されてきた民間薬です。第17改正日本薬局方には「ゲンノショウコ」として収載されています。有効成分はゲラニイン geraniin などのタンニンやケルセチン quercetin などのフラボノイドです。花のついた茎・葉を干し、煎じて下痢止めや胃薬とし、また、茶としても飲用します。下痢止めとしては1日量10～20gを水0.5ℓで煎じ約半量まで煮詰めたものをさらに濾して、温かい状態で1日2回に分けて服用します。飲み過ぎても便秘を引き起こしたりせず、優秀な健胃・整腸薬であることから、イシャイラズ、タチマチグサなどの異名もあります。また、花が咲いた後、果実が熟すると外果皮が下から裂開して上へ巻き上がり、その形が神輿みこしに似ていることから、ミコシグサとも



写真1 ゲンノショウコ（白花）



写真2 ゲンノショウコ（赤花）



写真3 ゲンノショウコ（果実）

呼ばれます。属名の *Geranium* はギリシア語で「鶴」に由来し、長いくちばし状の果実を鶴にたとえたものです。

生薬としての使い方は簡単で、開花期の7～8月頃に根を除いて抜き取り、天日で乾燥させます。泥が付着していることが多いのでよく洗って下さい。若葉のころは、トリカブトやウマノアシガタなどのキンポウゲ科の有毒植物に似ているので注意が必要ですが、夏の開花期であれば花で確認できます。その他、利尿、高血圧予防にも良く、また、ゲンノショウコ 100g とヨモギ 100g を使ったゲンノショウコ風呂は

婦人病（冷え性、血の道、しづり腹）に効くとされています。その他、本属植物の仲間には、昭和初期、日本に入った北アメリカ原産の帰化植物であるアメリカフウロがあり、高原から北アルプス、東北、北海道の高山では、アサマフウロ、ゲンナイフウロ、ハクサンフウロ、チシマフウロなど見ることができます。きっと、この夏、夏山登山でこれらの花を見られた人も多いでしょう。

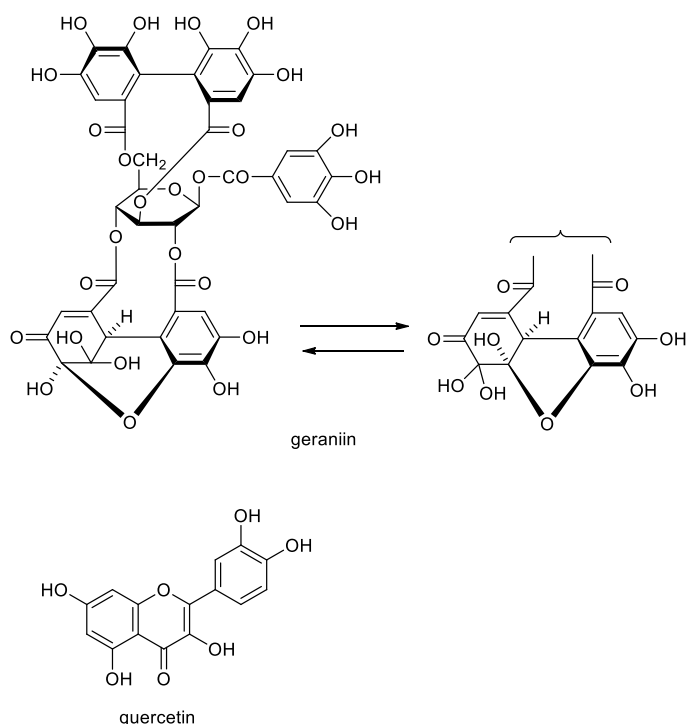


図1 成分の構造式



デンマークの夏のデザート

今回はデンマークの夏のデザートについて紹介します。デンマークの夏は、日本の夏に比べると、すいぶん涼しく、すがすがしく、夏の最高気温の平均は 20 度前後、日常生活をしていて汗をダラダラかくことはあまりないのが通常です。30 度になることもたまにありますが、そんな日には、人々はこぞってビーチや湖に行って、日光浴や海水浴を楽しみます。またデンマークの夏は日が長く、夜は 10 時くらいまで明るいので、夜遅くまで楽しめるのもデンマークの夏ならではの事です。夏は、デンマーク人にとってみれば、一年で一番暑く、明るい、いい季節なのです。ちなみに日本では、学校の夏休みや会社のお盆休みが 8 月のため、夏の月といえば 8 月ですが、デンマークは、7 月が夏休みの月です。学校は 6 月下旬に終わり、仕事をしている人は、7 月になると、一斉に休みを取り始めます。デンマーク人は通常 3 週間から 4 週間ほど夏休みを取るので、7 月は多くの人が休んでいる月となります。

さて、そんなすがすがしいデンマークの夏ですが、夏のフルーツといえば、いちごやラズベリーが一番身近で、デンマーク人は夏にこれらのフルーツをたくさん食べます。いちごは日本では 4 月から 5 月に旬となりますが、デンマークでは夏に旬を迎えます。

そして、デンマーク人が思い浮かべる夏のデザートといえば、Rødgrød Med Flødeでしょう。Rødgrød Med Fløde は、イチゴやラズベリー、ブラックベリーなどのフルーツを煮込み、砂糖とスターチを加えてとろみをつけたものに、生クリーム（または牛乳などでも可）をかけて食べる夏のデザートです。フルーティーで、甘く、生クリームとの相性も良く、暑い夏のデザートに最適です。Rødgrød Med Fløde の言葉の説明をすると、Rødgrød は、赤いお粥、つまりフルーツの赤、とスターチでとろみがついているためお粥のようなどろっとしたものの、という意味で、Fløde は生クリームという意味です。Rødgrød Med Fløde で、赤いお粥と生クリーム、という意味になります。



Rødgrød Med Fløde

ちなみに Rødgrød Med Fløde は、外国人にとっては、発音が非常に難しい言葉で、デンマーク語ならではの、舌が絡まってしまいそうな発音をおおく含んでいます。そのため、外国人が Rødgrød Med Fløde とちゃんと発音できたら、デンマーク語上級といえるでしょう。デンマーク人が、デンマーク語を習っている外国人に、Rødgrød Med Fløde と言えるか？と聞いて、外国人と一緒にその発音の難しさを話題に笑う光景もよく見られます。Rødgrød Med Fløde は、デンマーク語にも、デンマークの夏の食文化にもしっかり根づいた食べ物なのです。



Koldskål

さらに、デンマークのもう一つの代表的な夏のデザートも、ここで紹介しておきたいと思います。それは、Koldskål と呼ばれる、ヨーグルトのような酸味を持つ、クリーミーなミルクのようなもので、それを Kammerjunkere と呼ばれる、丸い小さなクッキーのようなものと一緒に食べるデザートです。Koldskål はバターミルクをベースに、卵の黄身や砂糖を加えたクリーミーな液体で、冷蔵庫で冷えた Koldskål を、Kammerjunkere と、いちごなどのトッピングと一緒に食べると、とても爽やかで、夏のデザートの定番として、デンマーク人に親しまれています。Koldskål を家庭で作ることも簡単にできますが、スーパーで牛乳と同じようにパックにされたものが売っているので、忙しくても Koldskål と Kammerjunkere をスーパーで買って気軽に楽しむことができます。

Rødgrød Med Fløde と Koldskål、どちらも夏のデザートの定番ですが、どちらもクリーミーな乳製品を使用していて、脂肪分も糖分も高いため、健康的なデザートではありませんが、デンマークの夏には欠かせない、デンマーク人の日常に根づいた食材である事は確かです。

第 11 回

高畑町界隈の秋

撫子の花が咲き、まだ残暑は厳しい日もありますが少しずつ夏の空気から秋の空気へと変わってゆく九月は私の誕生月でもあります。仲秋の名月が詠われ、天上の星も、地上の花も美しく感じられてきます。いくつになっても誕生月というのは特別な思いがこみ上げてくるものです。そして今でも懐かしく思い出す秋の風景があります。今回、ご紹介するのはそんな懐かしい遠い記憶のお話です。

奈良盆地の東北部、春日大社が鎮座する御蓋山（みかさ山）の南側に広がる高畑町があります。以前、私はこの町に少しの間ですが暮らしていました。高畑界隈といえば志賀直哉旧居が有名です。その旧居のある大通りから外れて細い坂道を歩いていくと新薬師寺があります。簡素でこぢんまりとした寺の境内には紫と白の萩が美しく咲き乱れています。本堂は貴重な天平建築の遺構として国宝に指定されています。本尊の薬師如来坐像が中央に鎮座し、その右手から円を描くようにそれを守護する十二神将像が安置されています。最近では十二支を祀る十二神将像が観光スポットになっているそうです。（ちなみにこの新薬師寺の新は新しいという意味ではなく、靈驗新たなる、の意味で西ノ京にある薬師寺とは関係ないことを申し添えます）。さらに新薬師寺から少し歩を進めると五色椿で有名な「百毫寺」（びゃくごうじ）があります。この季節にはやはり萩が美しいことで有名な寺です。

高畑町は奈良公園にも近くふらりとよく散歩をしたものです。10分ほど歩くと奈良公園の南、鶯池に浮かぶ「浮見堂」という松皮葺（ひわだぶき）六角形のお堂が見えてきます。水面に移る姿がそれはそれは美しいお堂です。去る八月に行われた奈良公園のイベント「奈良燈花会」では浮見堂もメインスポットとなり、蠟燭の悲しげな明かりが幻想的でした。九月の風を感じながら浮見堂から仲秋の名月を愛でることができたらどんなに素敵でしょう。是非いつか実現したいと思っています。

さて、遠い記憶のお話はここからです。子供の頃の懐かしいお月見といえば夕餉の団欒です。この日は縁側に座卓を運び、父が庭に打ち水をし、私は母と一緒に萩やススキ、桔梗を分け、そして夕餉の支度を手伝いました。白玉団子を作り、まずは綺麗に並べてお月さまにお供えします。夕餉の献立は、旬の秋刀魚の塩焼き、柚子醤油添え、里芋のごま味噌煮、けんちん汁などでした。デザートは白玉団子にきな粉をまぶしていただくのです。父の日本酒をちょっとだけくちにして…。お酒の味を比較的早くに覚えてしまいました。

先にも書きましたがこの高畑町といえば志賀直哉氏、志賀直哉といえば「奈良にうまいものなし」が有名です。この一文だけが先行していますが、随筆の全文を読むと奈良へ愛情にあふれた中での文言でしたので意外と気にはなりません。確かに本当に美味しいものというのは、家庭の何気ない食事の中にあるのかもしれませんが。今年の仲秋の名月には、昔から覚えのある味を辿りながら、平和な時間の中で愛でることができれば良いと思います。

月々に月見る月は多けれど月見る月はこの月の月
(よみびとしらす)

中村照子（管理栄養士 理学博士）

これまでは大学で栄養学関係の教職に携わり、蚕や桑葉の栄養機能成分の研究を行う。

現在は、テルコ・ニュートリション株式会社を設立、管理栄養士国家試験サポートや各種栄養に関するコンサルタント業を中心とした活動を行っている。

この上なく愛犬もたらうを溺愛し、毎朝一緒に野菜ジュースを飲み、散歩している。奈良市在住

URL : <http://dr-teruko-nakamura.com/>

New Food Industry のアドバイザリーボード

月刊 New Food Industry は、「アドバイザリーボード」を設置しております。本「アドバイザリーボード」は、今後の弊誌編集上の課題、学術業界誌としてふさわしい論文・解説記事の掲載等、社外の有識者の意見を得ることを目的として設置しているものです。弊誌の経営状況や編集課題を踏まえた、有意義なご指導・ご助言をいただき、今後の編集業務に役立てております。

■ ボードメンバー（敬称略 / 五十音順）	
氏 名	所 属
大石 隆介 氏	（明海大学 経済学部経済学科）
大谷 元 氏	（信州大学名誉教授）
岡 希太郎 氏	（東京薬科大学名誉教授）
坂上 宏 氏	（明海大学大学院教授）
宮尾 茂雄 氏	（東京家政大学教授）
山口 正義 氏	（エモリー大学 医学部）

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

ニューフードインダストリー 第58巻 第 9 号

印 刷 平成 28 年 8 月 25 日
発 行 平成 28 年 9 月 1 日
発行人 平井 朋美
編集人 今西 和政
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)
T E L : 03-3254-9191 (代表)
F A X : 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

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)

e-mail: newfood@newfoodindustry.com