

## 平成29年度 独創的研究助成費 実績報告書

平成30年 3月23日

報告者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	吉村 征浩
研究課題	岡山県産ヤギ乳製チーズの発酵過程における機能性成分および細菌叢構成変化に関する研究					
研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	吉村征浩	栄養学科・助教	生化学・食品機能学	研究総括・実施	
	分担者					
研究実績の概要	<p>微生物の作用により生み出される発酵食品には、短鎖脂肪酸やアミン類など様々な機能性成分が含まれている。ポリアミンはアミノ酸（主にアルギニン）から酵素的に生成される2つ以上のアミノ基を持つ機能性成分であり、発酵食品に多く含まれる。ポリアミンは核酸合成やタンパク質の合成促進作用、抗酸化作用、抗アレルギー作用、糖化反応抑制、さらには寿命の延長効果があると考えられている。また、体内のポリアミン含量は加齢に伴って低下するため、ポリアミンを食品から補うことが重要であることが認識され始めている。チーズはポリアミン含量の高い発酵食品の一つであり、その中でもヤギ乳を原料とするチーズには、牛乳製チーズと比較してポリアミンが多く含まれることが海外の研究で明らかになっている。しかし、日本産ヤギ乳製チーズ製品およびその熟成過程のポリアミン含量を測定した例はほとんどなく、なぜ牛乳製チーズと比較してヤギ乳製チーズにはポリアミン含量が多いのかは不明である。本研究では、岡山県産のヤギ乳製チーズおよび同じ製法で作られた牛乳製チーズの熟成過程におけるアミノ酸およびポリアミン含量の経時変化を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によって測定し、岡山県産ヤギ乳製チーズの機能性食品としての有意性を明らかにすることを目的とした。</p> <p>本研究では、熟成過程におけるチーズ中のポリアミン含量の測定を行い、岡山県産ヤギ乳チーズの有用性を明らかにする。まず、チーズ中のポリアミン含量を決定するために、1)ポリアミン測定系の確立を行い、2)チーズ熟成過程におけるポリアミン含量変化の測定を行った。牛乳製チーズとヤギ乳製チーズのポリアミン含量の差がどのような要因で生じているかを調べるために3)チーズ熟成過程における細菌叢構成の調査および乳酸菌数の調査を行った。</p> <p><u>1) ポリアミン測定系の確立</u></p> <p>チーズからのポリアミン類の抽出法、検出法は検討の結果、1 M 塩酸/0.2% 3,3'-thio-dipropionic acid (TDPA)溶液を用い抽出し、sulfosalicylic acid によってタンパク質を沈殿除去し、Benzoyl chloride を用い Benzoyl 化を行った。その後、ジエチルエーテルを用いた二層分配を行ったのち、最終的に C18 逆相カラムを用いた HPLC によりプトレシン、スペルミジン、スペルミンの分離、定量を行った。</p>					

※ 次ページに続く

<p>研究実績 の概要</p>	<p>2) チーズ熟成過程におけるポリアミン含量の変化  確立した検出系を用いて、牛乳製チーズおよびヤギ乳製チーズの熟成過程におけるポリアミン含量の変化を調べた。チーズの作製は、NPO 法人土田の里アンジョリロゼールにおいて標準的な方法で行い、スターターは CHN-11 を使用した。1 kg のチーズ塊を分割し、別々に真空パックに入れた後、各期間 (0, 1, 2, 3, 4, 5 か月) 低温で熟成させたものをサンプルとした。牛乳製とヤギ乳製チーズの両方とも、熟成 2 か月目、3 か月目でポリアミン総量が増加した。put は、1 か月目で増加し、2 か月目、3 か月目においては、含有量は低下し、4 か月目で再び増加し、5 か月目では再び低下した。spd, spm は 2 か月目、3 か月目で増加し、その後、低下した。ヤギ乳製チーズは、2 か月目、3 か月目で牛乳製チーズと比較して、spd 含有量が大きく、ポリアミン総量も 2 か月目で有意に大きく、3 か月目では大きい傾向にあった。</p> <p>3) チーズ熟成過程における細菌叢構成の調査および乳酸菌数の調査  原料乳以外は同様に作成したチーズにおける上記のような違いは、原料乳の成分の違い、または熟成に関与する細菌叢の違いによって生じると考えられる。チーズの細菌叢を調査するため、チーズ中の DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型に、細菌の 16S rRNA 遺伝子の保存領域で設計したプライマー (GCHDA-1 および HAD-2) を用いて PCR を行い、PCR 産物を変性剤の濃度勾配があるアクリルアミドゲルで分離した (PCR-DGGE 法)。その結果、両原料乳で作製されたチーズ中の細菌叢構成には大きな差は見られず、CHN-11 で検出される細菌叢構成と類似していることが分かった。以上のことから、両チーズのポリアミン含量の差は、構成する細菌種の違いが原因ではないことが示唆された。チーズ中で生きている乳酸菌を選択培養し、コロニー数を計数したところ、ヤギ乳製チーズの方が圧倒的に生菌数が高いことが分かった。以上のことから、原料乳の違いは、成育する乳酸菌の種類と数に大きな差をもたらすことが分かり、このことがポリアミン生成量の違いに繋がる可能性があることを示している。</p>
<p>成果資料目録</p>	<p>S.Yamada, N.Zaima, Y.Yoshimura, S.Tanaka, S.Inaba, T.Fujimori, T.Sogon, T.Moriyama  Visualization of the distribution of anthocyanin species in mice eyeball by MALDI-Mass Spectrometry Imaging  <i>Rapid Commun Mass Spectrom</i>, <b>32(5)</b>, 380–384, 2018</p>