

(9) 地域伝統食品の品質向上に関する研究開発

(平成 23 年度～平成 25 年度)

1. 研究のねらい

消費者の食品の品質に対するニーズは常に高いものが求められている。函館地域の特産品はイカや昆布などの地域食材を利用した伝統食品が多く、今後も売れる商品を開発するためには、消費者ニーズに対応した新たな設計が必要である。しかしながら新たに開発される商品では原料の配合比や加工方法の変更により、品質の低下を招く恐れもあることから、品質向上に関わる知見を集積していくことは重要と考える。そのため消費者ニーズの変化に迅速に対応可能な品質評価手法や従来の加工方法の利点を把握することは、新たな商品を開発する上で有益と考えるが、地域の伝統食品について、これらに関する新規な科学的知見は乏しい。

これまでに DNA 分析を用いたイカ塩辛中の菌叢解析手法の開発を検討してきたが、1g 当たり百万個以上の菌数濃度が解析には必要であり、検出感度が低いことが課題であった。食品における DNA 分析の難しさの 1 つとして、各食品に含まれる様々な成分が分析を阻害することが知られている。近年、阻害物質が多く含まれている土壌からの微生物 DNA の抽出法の改良が進んでいる。

そこで本研究では、イカや昆布を原料とした地域伝統食品について、DNA 分析を利用した迅速な微生物学的品質評価法を開発を目的としている。本年度は、これまでにガゴメをモデルに検討した微生物由来 DNA の抽出・増幅方法を基本に、市販の松前漬等を用いた菌叢解析を行ない、解析精度について調べた。

2. 研究の方法

平成 24 年度での研究では、ガゴメをモデルに昆布食品中に含まれる微生物 DNA の抽出及び PCR 増幅が可能な条件を見出すことができた。そこで平成 25 年度は T-RFLP 法による菌叢解析を行ない、昨年度の抽出・増幅条件における解析精度の評価を行った。試料には、*Escherichia coli* と *Staphylococcus epidermidis* を生理食塩水に添加した既知菌液及び実際の市販の松前漬を用いた。微生物 DNA の抽出は、市販 DNA 抽出キット（日鉄住金環境株、Extrap soil DNA kit plus ver.2）を用いて行った。また、微生物 DNA の PCR 増幅には、16S rDNA の部分断片（約 1,000 塩基）を増幅することが可能な蛍光標識ユニバーサルプライマー（5′-FAM-TGCCAGCAGCCGCGGTA-3′ と 5′-GGTTACCTGTTACGACTT-3′）と DNA 増幅酵素（KAPA BIOSYSTEMS 社、KAPA3G Plant DNA Polymerase）を用いた。PCR で得られた増幅 DNA を制限酵素 *Sau3AI* で切断した後、DNA シーケンサーを用いた電気泳動により DNA 断片のサイズを測定した。

3. 研究成果の概要

昨年度と同じ条件で微生物 DNA の抽出・PCR 増幅を行い、増幅 DNA について T-RFLP 法を行った結果、既知菌液では添加した *E. coli* 及び *S. epidermidis* のそれぞれに由来する 189 塩基と 258 塩基の断片の他、26 塩基の断片がメジャーピークとして検出された (図 1)。また市販品の松前漬では、メジャーピークとして 26 塩基、117 塩基、189 塩基、841 塩基が検出された (図 2)。データベースと照合した結果、松前漬で検出された断片の内、189 塩基はグラム陰性菌に由来するものと一致していることが確認できた。しかしながら、117 塩基と 841 塩基については、既知菌液で見られるマイナーピークと一致しており、さらに 117 塩基についてはデータベースに該当するものがないことから、PCR の増幅エラーにより生成した断片である可能性が考えられた。また 26 塩基の断片は、2 つの試料間で共通に検出されたことからプライマー由来であると考えられた。

この結果、昨年度までに構築した抽出・増幅条件は、PCR のエラーにより生成した増幅断片を含んでいる可能性があるが、昆布製品の菌叢解析に利用可能と考えられた。さらに PCR 条件の最適化を進めることで、より精度の高い菌叢解析法が構築できると考える。

担当者 清水健志、木下康宣、大坪雅史、青木央、鳥海滋、吉岡武也