

(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

消費者の食品に対するニーズは時代と共に変化するが、品質について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（調味料等）が分析を阻害することが知られている。近年、環境中の有用菌や新規微生物の探索が精力的に行われており、特に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・昆布を主原料とした地域伝統食品について、それぞれに適した迅速な微生物学的品質評価法を開発するため、DNA 抽出などの試料調製法について検討し、原料比率や熟成期間等と微生物学的品質との関連について DNA 分析法を用いて調べることとした。

2. 研究の方法

平成 24 年度は昆布食品に含まれる微生物の DNA 分析法を構築するため、23 年度に構築した塩辛中の微生物 DNA 抽出法を参考に検討を行った。試料には、松前漬けの 1/2 希釈液及び乾燥ガゴメの 1/5 希釈液のそれぞれにグラム陰性菌である *Escherichia coli*、グラム陽性菌である *Staphylococcus epidermidis* を 1ml 当たり数十～数千万個となるように濃度調製したものをを用いた。微生物 DNA の抽出は、ビーズ破砕法を原理とした市販 DNA 抽出キット（日鉄住金環境㈱、Extrap soil DNA kit plus ver.2）を用いて行った。また、微生物の検出感度を評価するため、16S rDNA の部分断片を増幅可能なユニバーサルプライマー（5´-TGCCAGCAGCCGCGTA-3´ と 5´-GGTTACCTGTACGACTT-3´）と DNA 増幅酵素である HotStarTaq DNA Polymerase (QIAGEN) または KAPA3G Plant DNA Polymerase (KAPA BIOSYSTEMS) を用いた PCR 増幅を行い評価した。

3. 研究成果の概要

昨年度に構築した塩辛中の微生物 DNA の抽出法及び増幅法を昆布食品に利用した結果、

松前漬け希釈液では、数十～数千万個/ml に濃度調整した全ての試料から微生物由来の DNA 断片の増幅が確認できたが、ガゴメ希釈液では、全ての試料で増幅を確認することができなかった。そこで植物由来成分の阻害を受けにくい KAPA3G Plant DNA Polymerase を用いて PCR 増幅を検討した結果、松前漬け及びガゴメ希釈液で調整した全ての菌数濃度の試料について増幅 DNA を確認することができた。これらの結果から、本抽出法とガゴメ由来の DNA 増幅阻害成分に対する耐性が確認できた KAPA3G Plant DNA Polymerase を組み合わせることにより、昆布食品中の微生物を対象とした DNA 分析法を構築できると考えられた。

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