

3P-113 ヨーグルト中に存在する乳酸菌の分離松田 裕輔¹, 〇西野 智彦²¹(東京工科大院・バイオニクス, ²東京工科大・応生)
nishino@stf.teu.ac.jp

乳酸菌は広く自然界に存在し、乳酸菌を利用した漬物、ヨーグルト、チーズなどの発酵食品が作られている。その中でも、ヨーグルトは乳酸菌の持つ整腸作用に加え、免疫機能を高める効果など多くの人の健康に寄与する効果が示されていることから、健康を維持する食品と広く認識されている。

現在、日本で市販されているヨーグルトは、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（乳等省令）により、製品中に生きた微生物が一定数存在することが義務付けられている。しかしながら、ヨーグルト中の乳酸菌に関する研究は、コロニー計数による生菌数測定、pH測定、滴定酸度の測定が主であり、乳酸菌の生理状態を分析することは困難である。その理由は、pHが低下することで、乳中のカゼインが沈殿してできたカードが存在することによる。このため、ヨーグルトを薄めて遠心分離を行ってもカードが乳酸菌とともに沈降してしまい菌体だけを取り出すことができない。

今回、我々は密度勾配遠心分離法を用いてヨーグルトから乳酸菌を生きた状態で分離することを試みた。パーコールによる密度勾配遠心分離法の利用により、浮遊密度の大きい乳酸菌体を密度勾配の下層に、浮遊密度の小さいヨーグルト中の培地成分を上層に集めることで乳酸菌菌体をヨーグルトから分離した。回収された菌体に対して蛍光染色試薬で染色することで総菌数測定を行い、それと同時にコロニー計数法で生菌数を測定した。コロニー計数法により計算した回収率は対数期、定常期ともに約100%となったことから、ヨーグルト中から乳酸菌を生きた状態で分離できたと判断した。

Separation of Lactic acid bacteria from fermented milkYusuke Matsuda¹, 〇Tomohiko Nishino²¹(Grad. Sch. Bionics., Tokyo Univ. Technol., ²Sch. Biosci. Biotechnol., Tokyo Univ. Technol.)**Key words** lactic acid bacteria, fermentation, viability**3P-114 Optimization of culture conditions to induce callus and adventitious root of *Helicteres angustifolia* L.**〇Jingtong Zhang, Xi Yang, Xuefei Yan, Zhenya Zhang
(Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)
zhang.zhenya.fu@u.tsukuba.ac.jp

Helicteres angustifolia L. is supposed to be a multipurpose medicinal plant which attracts increasing attentions due to its remarkable anti-cancer, anti-diabetic and anti-hyperlipidemia functions, etc. The growing demand and the rapid consumption of natural resources make the culture method of this plant tissue to be promising in application fields. Plant organ cultures, especially root cultures, can make a significant contribution to the production of bioactive metabolites. This study aimed to establish callus and adventitious root induction culture systems from the leaves. The influence of growth regulators on bioactivities and biomass was also investigated by in vitro antioxidant abilities and phenols and flavonoid contents assays.

Induced callus and adventitious roots (from leaf) were maintained in MS medium including different auxin and cytokinin with different doses. This work also considered the induction effect under different culture conditions including temperature, concentration of vitamin C, concentration and type of growth regulators. For adventitious roots, the optimal culture medium was obtained, including 3.0 mg/l of NAA, 0.4 mg/l of vitamin C, 0.6% of agar and 3% sugar. The optimum temperature was 28 °C. The callus extracts contained the highest total phenolic and flavonoid contents at 1.0 mg/l of BA, which was higher than other two extracts at low concentration of BA (0.01mg/l and 0.05mg/l). In addition, the antioxidant activities of the former extracts were much higher than the latter two extracts.

Optimization of culture conditions to induce callus and adventitious root of *Helicteres angustifolia* L.〇Jingtong Zhang, Xi Yang, Xuefei Yan, Zhenya Zhang
(Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)**Key words** *Helicteres angustifolia* L., Callus induction, Adventitious root induction**3P-115 16S rDNA-MiSeq 解析による魚醤油中の塩分濃度と細菌叢の相関評価**〇中村 早希, 榎本 俊樹, 小柳 喬
(石川県立大院・食品科学)
koyataka@ishikawa-pu.ac.jp

【背景と目的】塩蔵食品中の塩は、食品の嗜好性を維持・向上させながら微生物による汚染と腐敗を抑制させることで、長期間の食品保蔵を可能にしている。しかし、減塩化の波が押し寄せている昨今、もう一度食品製造・貯蔵における塩の役割を見つめ直し、その真の価値を客観的かつ科学的に検証する必要がある。そこで本研究では、通常約20%の塩分を含有する魚醤油に着目し、塩の濃度と微生物叢の相関を詳細に解明することを目的とした。

【方法】0~30(w/v)%の様々な塩分濃度に設定した魚醤油(イカ内臓を原料とする)を仕込み、定期的にサンプリングを行い、菌数測定、単離培養法による菌種把握およびIllumina MiSeqを用いた16S rDNA塩基配列解析による細菌叢解析を実施した。また、あらかじめ7種の一般的な腐敗細菌で汚染をほどこした様々な塩濃度(0~30(w/v)%)の魚醤油を仕込み、同様の解析を実施した。

【結果と考察】塩分濃度5%以下では熟成初期において腸内細菌科のグラム陰性細菌(*Proteus* sp.)や腸球菌(*Enterococcus* sp.)が分離された。塩分濃度10%では同一条件の2つの試験区間で生菌数に大きな差異がみられ、対して15%濃度では試験区間に共通して強く制菌効果が表れたことから、10~15%付近の塩分濃度が魚醤油において安定的に微生物制御を行うための分水嶺となることが示唆された。また、15%以上の高塩分濃度では殆どの生菌が抑制されながらも、塩蔵食品からの分離が数多く報告されている*Tetragenococcus* 属乳酸菌や、耐塩性を持つブドウ球菌群である*Staphylococcus* 属細菌が残存していた。

Evaluation of bacterial flora in fish sauce with various salt concentrations through 16S rDNA - MiSeq analysis〇Saki Nakamura, Toshiki Enomoto, Takashi Koyanagi
(Dept. Food Sci. Ishikawa Prefectural Univ.)**Key words** salt concentration, fish sauce, microbiota, next-generation sequencing**3P-116 野菜ジュースの成分的差異におけるMSとMS/MSデータの比較**〇山本 慎也, 澤田 浩和
(アジレント・テクノロジー株式会社)
shinya.s.yamamoto@agilent.com

近年、LC/MSによって得られる多成分の分析結果を、多変量解析の一種である主成分分析に供するメタボロミックスの手法は、食品サンプル間の成分的差異を知るために活用されている。食品には多種多様な成分が含まれているため、LC/MSにおいてはMS/MSの一つで高い選択性を有する分析モードであるMRMが主流となっていくつある。しかし、食品サンプル間の成分的差異の解析におけるMRMの有用性は明らかとされていない。そこで、各種野菜ジュースについてMSとMS/MSによりデータを取得し比較した。

サンプルは市販されている緑、紫、黄色の野菜ジュースとトマトジュースを使用した。分析モードはSIMとMRMを用いた。その結果、SIMでは63種類、MRMでは79種類の化合物が検出され、MRMのほうが16種類多く成分を検出することが可能であった。そのうち共通して検出された化合物は56種類であった。SIMで検出され、MRMで検出されなかった7種類については擬陽性であると考えられた。次に、共通して検出された化合物56種類を用いて、SIMとMRMデータをそれぞれ主成分分析に供した。スコアプロットより、どちらのデータセットにおいても主成分1でトマト、主成分2で黄色、主成分3で紫の野菜ジュースが他のサンプルとの違いを示した。また、ローディングプロットより、サンプル間の違いに寄与する成分はどちらのデータセットでも同じ成分によるものであった。

MRMはSIMに比べると検出できる成分数が多く、擬陽性を防ぐことができる可能性が示された。一方で、検出可能な範囲内では野菜ジュースの成分的差異の検討においてMRMとSIMは同等の結果が得られることが示された。

Comparison of MS and MS/MS data for component difference of vegetable juices〇Shinya Yamamoto, Hirokazu Sawada
(Agilent Technologies Japan, Ltd.)**Key words** metabolic analysis, liquid chromatography/mass spectrometry, food analysis, vegetable juice