



食品  
アレルギー

狂牛病

伸展性  
力学特性

発酵能

抗酸化能

抗菌活性  
菌数測定

品種判別

液体送液

# 「食の冊子」

ATTO Tools for Foods Science 2008



# はじめまして「アトー株式会社」です。

アトー株式会社 (ATTO CORPORATION) はこんな会社です。

東海道新幹線開業と東京オリンピック開催のあった1964年、新進気鋭の生化学者達のアドバイスによってアトー株式会社 (旧社名ミツミ科学産業株式会社) は設立されました。創業来、生化学・分子生物学・バイオテクノロジー分野においては必須の分離解析手段である、液体クロマトグラフと電気泳動機器の開発・製造・販売を続けています。社名のATTOは $10^{-18}$ を表現する単位で、これを自らの挑戦領域として微量分析技術の研究開発に邁進してきました。食品科学の分野では、パン酵母の全自動発酵力測定装置の製品化をはじめとして、本小冊子にご紹介します技術が蓄積されています。このような研究開発の継続によって、2001年に全自動発酵力測定装置を開発育成した科学技術振興功績者として文部科学大臣賞を受賞致しました。今後も、ATTOを越える極微量への技術革新を進めつつ、皆様のニーズを一つ一つの製品として具現化していくことを使命として製品開発を進めてまいります。

## 企業理念

ATTOは「付加価値の創造と挑戦」を掲げ、バイオサイエンス・バイオテクノロジー分野における高質な業務推進によって常に顧客を創造し、真に豊かな社会づくりに貢献できる企業を目指します。

本社／本社案内図



JR 御茶ノ水駅徒歩5分  
地下鉄丸の内線御茶ノ水駅徒歩4分  
地下鉄千代田線新御茶ノ水駅徒歩6分

## 沿革

- 1964年  
ミツミ科学産業株式会社設立  
TLCの販売を開始
- 1973年  
米国ミルトンロイ社と合弁会社一菱株式会社を設立  
HPLCコンポーネントを国産化
- 1974年  
資本金2,400万円に増資
- 1978年  
商号をアトー株式会社に変更  
大阪支店開設
- 1979年  
東京都文京区本郷1-25-23に東京工場開設
- 1985年  
全自動発酵力測定装置上市
- 1996年  
医療用具製造許可取得
- 1997年  
東京都文京区本郷1-25-23本社を移転、  
研究センター開設
- 2001年  
科学技術振興功績者として文部科学大臣賞受賞
- 2007年  
東京大学物性研究所と共同で絶対光量測定装置  
を開発  
「複数の発光成分の発光量測定法及び  
その発光測定装置」の特許取得
- 2008年  
東京都文京区湯島1-5-32本社を移転、  
東京都台東区台東2-21-6技術開発センター開設



食品の解析のひとつの手段として、電気泳動法による食品・食材中のDNA（遺伝子）やタンパク質成分解析があります。電気泳動・ウェスタンブロット法による食物アレルギー物質の検出例をご紹介します。

食品  
アレルギー



狂牛病の原因とされる異常プリオン(PrP<sup>Sc</sup>)の検出には、抗原抗体反応が利用されています。実際の検査では、多検体をふるいにかけるELISA法によるスクリーニング作業と、ウェスタンブロット法による確定診断作業の2段階に分かれます。

狂牛病



小麦粉と水を混ぜ合わせ捏ねていくとそのドウ(生地)は粘り気と伸展性を増すようになります。その生地物性の簡便な評価システムをご紹介します。

伸展性  
力学特性



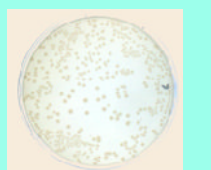
パンのおいしさであるふんわりとした食感は、発酵中に発生する炭酸ガスの気泡が関係します。製パン用酵母の性質がパンの仕上がりに関係するため、その発酵力測定は製パンの研究に欠かせないものです。

発酵能



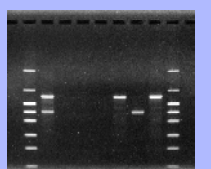
スーパーオキシドに代表される活性酸素は健康と大きな関わりがあるとされ、抗酸化食品の開発が注目されています。食品の抽出成分の抗酸化能を迅速・簡便に測定する方法をご紹介します。

抗酸化能



短時間に微生物汚染の可能性をチェックできるシステムと、液体培地中で抗菌活性を調べる簡便な方法をご紹介します。

抗菌活性  
菌数測定



食品の品種判別、遺伝子組み換え混入検査には電気泳動が用いられます。電気泳動後のサンプルを撮影・解析するシステムをご紹介します。

品種判別



シリコンチューブを用いる送液ポンプの特長を、2種類の液体の混合送液、一定時間毎の切替送液などの特殊な送液方法ともにご紹介します。

液体送液



# 電気泳動法と食品の科学

## 電気泳動法による食品・素材解析・品種判別

タンパク質や核酸(DNA/RNA)の解析にはゲル電気泳動法が広く利用されています。この方法はシステムが比較的安価で、分離能が優れているという特徴があります。

例えば、遺伝子組換え農作物(GMO:Genetically Modified Organism)や品種判別方法にもDNAの分離・確認に利用されています。

→15頁参照

タンパク質も簡単に分離できますから素材の解析手段のひとつとして有用です。

### 代表的なポリアクリルアミドゲル用電気泳動装置



電源一体型電気泳動装置 パジエラン



電気泳動槽  
ラビダス・ミニスタブ

電源装置  
マイパワーII

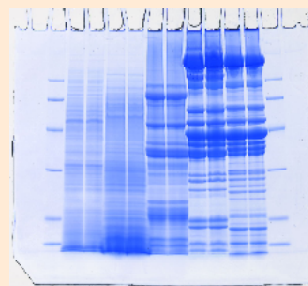
## SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法

タンパク質の代表的な電気泳動法として SDS-PAGE (SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動) があります。歯磨粉にも含まれる界面活性剤(SDS)とともにタンパク質を電気泳動する方法です。

SDS-PAGEにより、タンパク質は分子の大きさの違いとして分離されます。タンパク質に結合する色素を利用して検出します(右写真:クマシーブリリアントブルー染色による検出)。

### 実際の電気泳動パターン

長ネギ、きのこ、大豆もやし、さんま、トリ肉



## ウエスタンブロット法

電気泳動で分離したゲル中のサンプル(タンパク質)をメンブレン(PVDF膜)に転写(ブロッティング)します。メンブレン上に固定されたタンパク質の中から、抗体を利用して目的タンパク質を検出します。この様にブロッティングを利用してタンパク質を特異的に検出する方法をウエスタンブロット法といいます。

### 代表的なブロッティング装置



ゼトドライ型ブロッティング装置  
ホライズプロット

## 食物アレルギー物質(特定原材料)の検出

2002年4月1日より、食物アレルギーを引き起こすことが明らかになった食品のうち、特に発症数、重篤度から勘案して表示する必要性の高い「卵」「牛乳」「小麦」「そば」「落花生」の5品目特定原材料の表示が義務化されました。これにより、表示と実際に相違が

ないか監視する必要が出てきました。厚生労働省からはその判断規定や検査方法が通知されています。スクリーニング検査はELISA法、確認検査はPCR法がウエスタンブロット法が用いられます。

イーゼーウェストキット

## EzWestKit for 卵・牛乳・小麦・大豆

特定原材料検出の二次試験である、ウェスタンブロット法は試料を電気泳動の後プロットングし検出を行なうという過程をふみます。従って使用する試薬、操作過程やその時間は少ないものではありません。

ATTOのEzWestKitは、試料調製・電気泳動・プロットング・検出に必要な試薬・消耗品を必要な量だけそろえたキットです。

所要時間の短縮、ステップ数の簡略化、トータルコストの軽減、結果への信頼性・再現性の向上、等にお役に立てる製品です。卵タンパク質（オボアルブミン、オボムコイド）検出用、牛乳タンパク質（カゼイン、βラクトグロブリン）、小麦、大豆検出用があります。

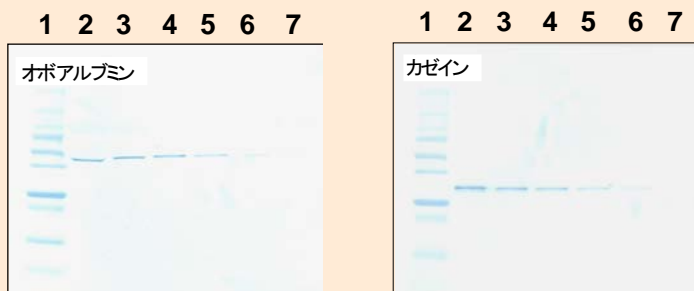


EzWestKit

### 卵が入っているかわかる？牛乳が入っているかわかる？

卵の標準溶液、牛乳の標準溶液を試料として実際にウェスタンブロット法で検出したデータです。

食品中の換算濃度で10ppm相当が検出出来ればよいとされていますが、本キットではオボアルブミンとカゼインは1.25ppm相当まで検出できました。



データ提供:日本ハム株式会社

実際の食品を試料としたデータです。

カゼインとβラクトグロブリンの両方を検出することで、より確実に結果を得ることができます。



No.	検体名	原材料表示	カゼイン	βラクトグロブリン
1	ロースハム	カゼインNa、一部に乳	+	-
2	サラミソーセージ	カゼインNa	+	-
3	ソーセージ	カゼインNa、一部に乳	+	+
4	コンビーフ	カゼインNa	+	-
5	ゼリー①	乳	+	+
6	ゼリー②	乳	+	+
7	ドレッシング	乳	+	+
8	ゼリー③	乳ペプチド	-	+
9	ゼリー④	ミルクカルシウム	-	+
10	ちくわ	乳タンパク	+	+

データ提供:日本ハム株式会社



### EzWestKitの特長

1. 試料調製～電気泳動～プロットング～検出の試薬・消耗品キット
2. ミニゲル2枚分(Max20検体分)の容量で無駄なく使用
3. 高い特異性を有するモノクローナル抗体利用(日本ハムFASTKIT採用)
4. 操作性・感度に自信あり
5. 操作(ステップ)が少なく、短時間(10ステップ、約155分)で検出

参考: 現在の公定法(平成14年11月通知)では15ステップ、約240分を要します。

### データ条件

試料: 1 分子量マーカー  
2~7 卵標準溶液希釈系列  
牛乳標準溶液希釈系列  
試薬・消耗品:  
EzWestKitオボアルブミン  
EzWestKitカゼイン

電気泳動装置:  
ラピダス・ミニスラブ電気泳動槽と電源  
プロットング装置:  
ホライズプロットと電源

\* 本キットは特定原材料を検出するための研究用試薬です。

\* 本キットは公定法(通知法)とは異なります。

\* 特定原材料の摂取量とアレルギー発症との相関は不明です。

# ウエスタンブロットティング法による異常プリオン検出

## 狂牛病 (BSE : Bovine Spongiform Encephalopathy)

狂牛病に感染した牛は、脳、脊髄、眼球などの神経細胞の集中する器官の正常プリオンタンパク質が変異し、組織的にはスポンジのように空胞を形成し、起立不動、攻撃性などを呈し、最終的に死に至ります。人でも同様な症状を示すクロイツフェルト・ヤコブ病があり、狂牛病との関連などが研究されています。

食肉牛は食肉部位の解体後、残った部位を肉骨粉として家畜の餌として再利用されることがあり、これが感染拡大のひとつの原因ではないかと報道されたことをご記憶の方も多いでしょう。通常は体内にあって問題の無いプリオンタンパク質は、狂牛病に感染すると異常

プリオンタンパク質に変化します。異常プリオンは分解しにくい厄介なタンパク質で、これが発症に大きく関連していることが解ってきました。一般的なウイルスや細菌病と異なり抗生物質などは一切効かず、有効な治療法は見つかっていません。そのため、現在のところ感染の拡大を防ぐために、原因タンパク質の異常プリオンタンパク質を抗体で検出するスクリーニング検査が実施されています。

異常プリオンタンパク質はPrP<sup>Sc</sup>、正常プリオンタンパク質はPrP<sup>C</sup>と略されることもあります。

## 異常プリオンタンパク質の検査について

狂牛病(BSE)検査(異常プリオンタンパク質の検出)には、抗原抗体反応が利用されます。実際の検査では、ELISA法により多検体をふるいにかける一次スクリーニング作業と、ウエスタンブロットティング法、免疫組織染色の2つの確定診断作業の2段階に分かれます。

一次スクリーニングにはマイクロプレートリーダーが、ウエスタンブロットティング法にはポリアクリルアミドゲル電気泳動装置、泳動&ブロットティング用電源、ブロットティング装置、シェーカーが必要です。関連して抗体などの試薬や既製ゲルが別途必要になります。弊社ではウエスタンブロットティング法に必要な装置・試薬を販売していますのでお気軽にお問い合わせください。



### BSE検査の流れ

検査対象の牛から組織を採取  
↓  
簡易キットでスクリーニング  
↓  
BSE陽性サンプルの検出  
↓  
ウエスタンブロットティング  
↓  
抗原抗体反応で異常プリオンを検出

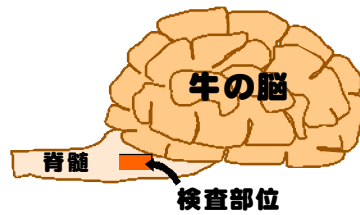
## 抗体反応と正常プリオンタンパク質、異常プリオンタンパク質

狂牛病(BSE)を引き起こすとされる異常プリオンタンパク質と正常プリオンタンパク質は、1次構造のアミノ酸配列が同じため、通常の抗原抗体反応では判別出来ません。そのため、前処理により正常なプリオンタンパク質を分解しておく必要があります。この2つのプリオンタ

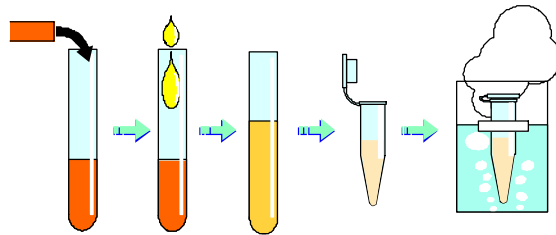
ンパク質は立体構造が異なりタンパク質分解酵素などの耐性が異なるため、サンプル溶液をプロテイナーゼ処理や酸を加えた加水分解処理などの後に電気泳動～ウエスタンブロットティングを行い、抗体を用いて検出します。

## ウエスタンブロッティング法によるプリオンタンパク質の検出

### 1. 検査部位の切り出し



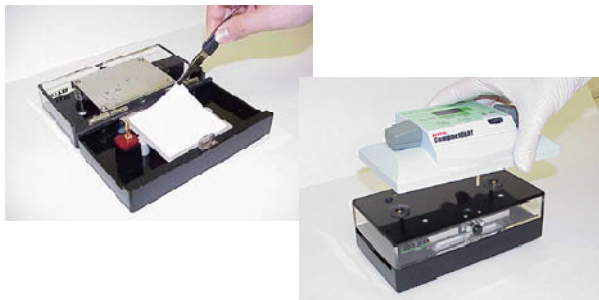
### 2. 検査部位からサンプル調製



### 3. 電気泳動法による分離



### 4. ウエスタンブロッティング



### 5. プリオンの特異検出



異常プリオンタンパク質PrP<sup>Sc</sup>の検出

データご提供:動物衛生研究所プリオン病研究チーム

## 図の解説

牛の脳近くの組織を切り取ります。プリオンは部位により発現量が異なるので注意が必要です。

検査部位をすりつぶし、希釈します。希釈後、タンパク質分解酵素で処理し、正常プリオンを取り除きます。SDS処理を行い電気泳動用のサンプルとします。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で分離します。

SDS-PAGE (ポリアクリルアミドゲル電気泳動) およびウエスタンブロッティングについては4頁参照

ゲル中のサンプルをメンブレン(PVDF膜)に転写(ブロッティング)します。セミドライブロッティングで、短時間に転写することが可能です。

抗原抗体反応を経て異常プリオンを検出します。2次抗体に酵素標識をしておけば、発色または発光で検出することが可能です。

参考文献: Yuichi Murayama, et al., *Journal of General Virology*(2007), **89**,2890-2898



# おいしいパンの秘密を調べる・・・その1

## おいしいパンの秘密 - その1 - 伸びやかな生地をつくる

ふっくらとおいしいパンの秘密はその生地の構造にあるようです。酵母を加えて発酵させると、生地には主に炭酸ガスによるたくさんの気泡が膨張しはじめます。この気泡は小麦タンパク質を骨格とするグルテンによって包み込まれていますが、発酵が進むにつれて気泡が大きくなります。この時にグルテンの構造が壊れるとガスが抜けてしまいふっくらとしたパンにはなりません。グルテン中の澱粉が糊化してしっかりとしたパンになるまでグルテンの膜が破れずに柔軟に伸びていくと、きめの細かいパンが焼き上がります。生地の伸展性はグルテンに関係しますから、そのグルテンの特性を知ることがたいへん重要です。



ミキシング中の生地から↓



美味しいパンが焼けるかな？

## ヴァーサ・ロガーってなに？ パン生地をミキシングしながら物性を測定

小麦粉と水を混ぜ合わせるとドウ（生地）ができ、さらに捏ねていくとドウはその粘り気と伸展性を増すようになります。

「ヴァーサ・ロガー」ではそれらの物性（力学的特性）の変化をミキシングする際の仕事量（ミキサー消費電力）として連続測定できます。ミキサーに材料を投入しスイッチを入れるだけで、時間とともにそれらの変化の様子がグラフ表示されます。

※「AF-1700 ヴァーサ・ロガー」は当社のミキシング・プロセス・モニターの前機種「AF-1200ドウグラフ」の機能を大幅にアップグレードした後継機です。



ピンミキサーのミキサーボウル

小麦粉 100-200g 用です。生地を冷却・保温するための外部循環恒温水用のジャケットを装備しています。

## ヴァーサ・ロガーの用途は？

### ◆加工用小麦の育種及び小麦粉の加工性を評価したい

小麦粉の種類によって、ちがったカーブ（右測定例参照）が得られます。コントロールと比較すれば小麦粉の品質管理の一手段として活用できます。

### ◆製パン条件を最適化したい

カーブから最も粘り気の大くなる時間を読み取って、製パンの条件に反映させることができます。

### ◆生地の強さを評価したい

生地の強さには小麦タンパク質のグルテニンとグリアジンが関係してきます。わずか200gの小麦粉で生地の強さを測定できます。

### ◆生地の性質を改良する副材料を開発したい。

冷凍生地に添加する改質剤などのスクリーニングに利用できます。

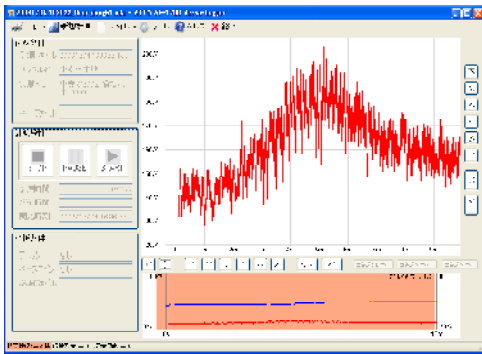
### ◆パン生地以外にも使えます？

クリームやケーキ生地などパン生地以外の試料でも電力の変化が観察できるものがあります。



## ヴァーサ・ロガーによる測定例

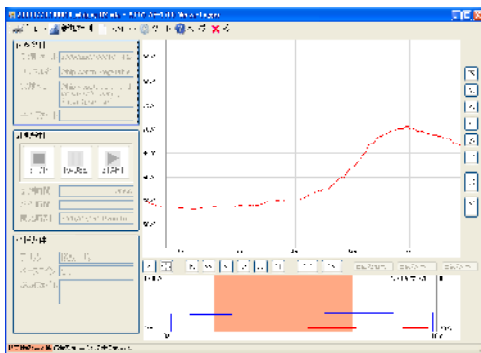
### 例1. 小麦粉生地のみキシング特性



National MFG  
社100~200g  
用ピンミキサー

パン用小麦粉200g、食塩4g、水144mLで生地を調製。  
National MFG社製100-200g用ピンミキサー（インバータ付  
周波数40Hz設定）でミキシング。前機種AF-1200ドゥグラフ  
と同等のミキシングカーブが得られます。

### 例2. クリームのホイッピング過程の変化



使用ミキサーの  
一例

クリームのホイッピング過程をヴァーサ・ロガーで調べることも  
できます。ホイッパーの電源コードをつないで見ると、泡立  
ちにしたがって消費電力が増加していくことがわかります。  
(図は植物性油脂含有ホイップクリーム400mL＋砂糖28g、  
表示データは±10秒の移動平均、キッチンエイド使用)  
※ミキサーの機種やロットにより測定値の変動の仕方は変わります。



### AF-1700ヴァーサ・ロガーの基本構成

PCはオプションです。National MFG製ピンミキサーや200V用ヴァーサ・ロガー  
などもご用意できます。

## ドゥグラフの特長

1. ミキサーにかかる負荷変化を消費電力(真の実効電力)の増減として記録します。さらに、試料がない状態でのミキサーの負荷を自動的に減算しますから、生地により受ける負荷を正確に測定できます。
2. ミキサーの電源コードをつなぐだけの簡単セット。
3. 対話式で操作が簡単です。
4. ドゥグラフと比較し計測間隔と計測時間の選択の幅を広げました。(計測間隔1秒→10ミリ秒～10秒/計測時間30分→最長で7日程度[10秒間隔時])
5. ミキサーの無負荷電力(ベースライン)を測定・補正する方法を選べるようにしました。(無負荷運転データを保存し使用する/補正なしなどを選択→ドゥグラフより作業性を向上)

伸  
展  
性  
力  
学  
特  
性

## 関連文献

1. 田中康夫、松本博編(1991)製パンの科学(I)、光琳
2. 伊賀大八、横山規子、井上好文(2001)パン技術 No.539:パン生地混捏曲線描画装置「ドゥグラフ」による製パン性能評価系の検討
3. 伊賀大八、横山規子(2001)パン技術、No.544:冷凍パン生地への市販ガム類の添加効果

## AF-1700型

### ヴァーサ・ロガー

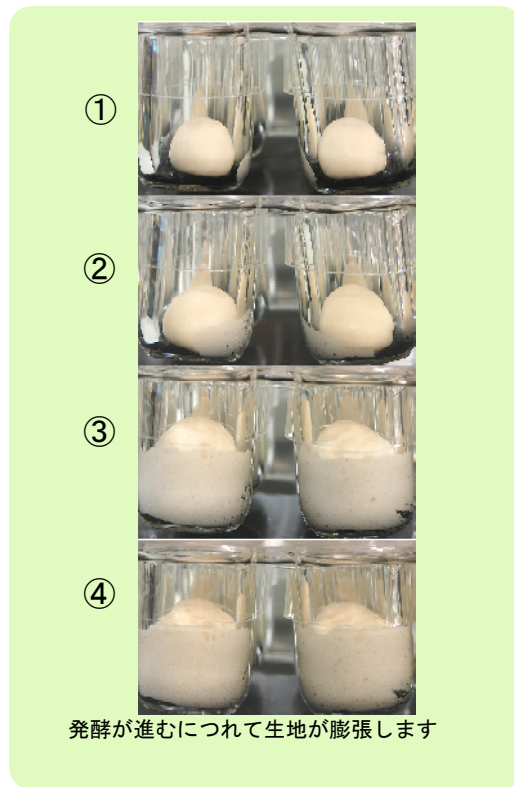
1. 装置本体(写真右側の箱)
2. PC(写真左側。別売)
3. 循環恒温装置(オプション)
4. トムコ社製100-200gミキサー(回転速度調節器付/オプション)
5. 放射温度計(オプション)
6. フットスイッチ(オプション)

前機種「AF-1200ドゥグラフ」は「独立行政法人食品産業技術総合研究機構食品総合研究所」「社団法人日本パン技術研究所」「東京都立食品技術センター」のご指導のもと開発されました。

# おいしいパンの秘密を調べる・・・その2

## おいしいパンの秘密 - その2 - イースト(酵母)を活躍させる

柔らかくておいしいパンをつくるには、パン生地のグルテンが大切なことは前ページで触れました。酵母を加えて発酵させると、生地には炭酸ガスによるたくさんの気泡が成長しはじめますが、この気泡が美味しさに関係します。つまり製パン用酵母の性質によってもパンの出来上がりが左右されますので、その発酵力の測定は製パンの研究にとっても大切なものとなります。



## 無糖生地における炭酸ガス発生量

雑誌「パン」に無糖生地における小麦粉の種類とアマミラーゼ、それとガス発生量に関する解説がまとめられています。その内容を簡単にご紹介しましょう。炭酸ガスの発生量は、小麦を製粉する際にできる傷ついたデンプン（損傷デンプンと呼んでいます）と小麦に含まれているβアミラーゼが関係しています。βアミラーゼは損傷デンプンを分解し酵母の発酵を促進する糖を供給する役割があるのですが、傷ついていないデ

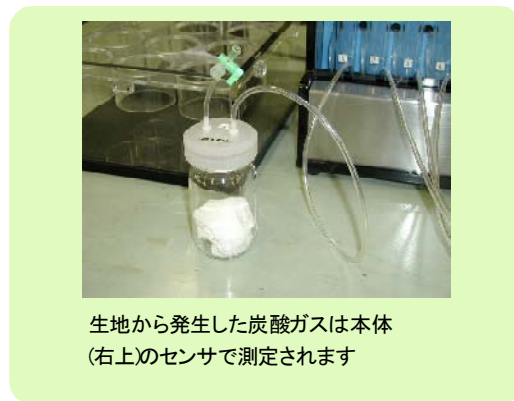
ンプン粒は分解されにくいようです。小麦が硬いほど製粉の際に損傷デンプンができやすく、これが結果的にガス発生量が多くなる理由とされています。また、添加物としてαアミラーゼなどを添加することによっても発酵が促進されたというデータが示されています。

※伊賀大八(2002) *Pain*, 49, 2, p35-39: 製パンにおける酵素のはたらき (12)

## こんなときに炭酸ガス発生量を測定しています

「製パン用材料や添加物と酵母の相性を知りたい」「製パン用酵母の性能を調べたい」「冷凍生地の解凍後の発酵力を知りたい」「製パン工程での最適発酵時間を知りたい」といったご要望には、炭酸ガス発生量の測定をお勧めします。前述のアミラーゼの効果測定などでも有効に使われております。

※最近、酒類醸造やバイオエタノール生産等長時間の発酵計測にも対応できるようソフトウェアを改造、トータル計測時間を延長しました。パン生地以外への応用も広がりつつあります。



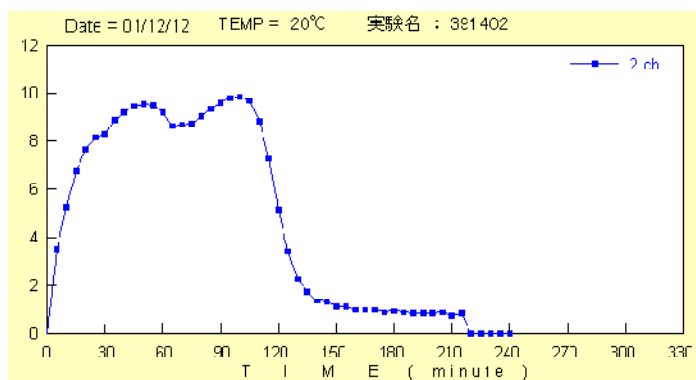
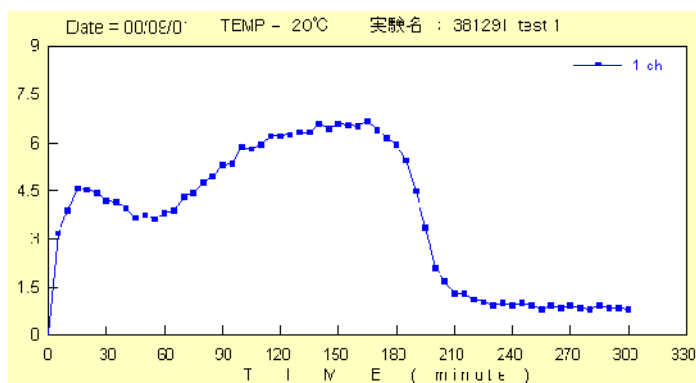
## ファーモグラフ II

ガス発生測定装置「ファーモグラフ II」は日本イースト工業会パン用酵母試験法で公定法として認定されています。

本装置では、試料から発生するガス量（発酵力）を自動計測しますので、測定作業を大幅に省力化することが可能です。また、対話形式の簡単な操作で、長時間にわたる計測をどなたでも精度良く行うことが出来ます。

## 測定例

2種類の異なる酵母を用いたパン生地を比較したものです。一方のガス発生は長時間持続し、他方は単位時間のガスの発生量は多いですが短時間に終わるのがわかります。



AF-1101-10Wファーモグラフの構成例

## ファーモグラフの特長

1. 最大20個の試料を同時にしかも精度良く計測できます。
2. 設置場所の温度による計測結果への影響を補正します。
3. ソフトウェアはウィンドウズ対応で多くのデータ処理方法が選べます。
4. 小型、軽量で設置がしやすくなっております。
5. 最新技術を駆使した設計で故障が少なく、保守が簡単です。



発酵能

## AF-1101-10W型

### ファーモグラフ II

1. 本体（左写真中央）
2. 恒温槽（左端：温調器付／別売）
3. 試料ビン、蓋、チューブ
4. ソフトウェア（右端PCは別売です）

本製品は「独立行政法人食品産業技術総合研究機構食品総合研究所」のご指導のもと開発されました。

「日本イースト工業会パン用酵母試験法」公定法装置

平成13年度文部科学大臣賞受賞

# 発光を利用した抗酸化能の評価法

## 活性酸素と抗酸化物質

活性酸素には、スーパーオキシド、一重項酸素、過酸化水素、ヒドロキシラジカル、過酸化脂質などがあります。

スーパーオキシドは、血液中の白血球が外来のウイルスなどを攻撃するときに放出していることが確認されています。その他活性酸素を利用した例として、除草剤があります。その成分を吸収すると植物は活性酸素を大量に生成し枯れてしまうようです。このように人にとっても、活性酸素にはよい面がありますが、体内に過剰に存在すると、生活習慣病（ガン、糖尿病、動脈硬化など）の遠因になるといわれています。

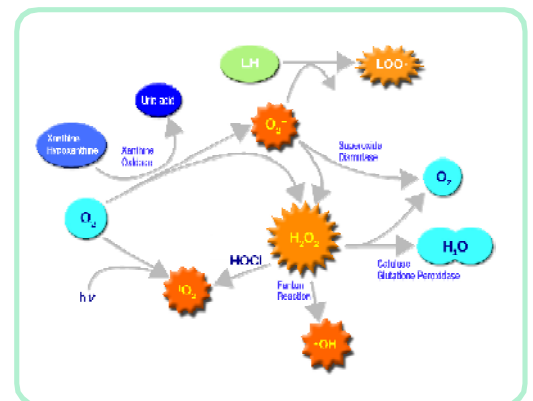
- ・OH (ヒドロキシラジカル)
- $H_2O_2$  (過酸化水素)
- $^1O_2$  (一重項酸素)
- $O_2^{\cdot-}$  (スーパーオキシド)
- $LOO\cdot$  (過酸化脂質)

活性酸素種

## 発光法を利用した活性酸素測定

活性酸素は反応性が非常に高いため、直接的な検出はほとんど不可能とされています。そのため多くの検出法は活性酸素に作用する試薬の変化を検出したり、活性酸素の酸化生成物をとらえることでおこなわれています。

活性酸素の測定法には、チトクロームC法やNBT、WST-1などのテトラブリウム塩を用いた分光学的手法やESR(電子スピン共鳴)法が広く利用されていますが、確立した方法はなく各法を比較した複合的な判断が必要です。ここで紹介する発光法は、活性酸素がルミノールなどの試薬と反応し発光することを利用して



## 活性酸素種

### スーパーオキシド( $O_2^{\cdot-}$ )

キサンチンオキシダーゼとキサンチンから作られる活性酸素スーパーオキシド( $O_2^{\cdot-}$ )に発光試薬(MPEC)を作用させ得られる発光値をベースに、この反応に抗酸化性物質を添加した発光値の差から $O_2^{\cdot-}$ 抗酸化性を判断します。

### ヒドロキシラジカル( $\cdot OH$ )

Fenton反応を利用し活性酸素種として $\cdot OH$ を生成させ発光試薬(ルミノール)を作用させ、この反応に抗酸化性物質を添加した発光値の差から $\cdot OH$ ラジカル抗酸化性を判断します。

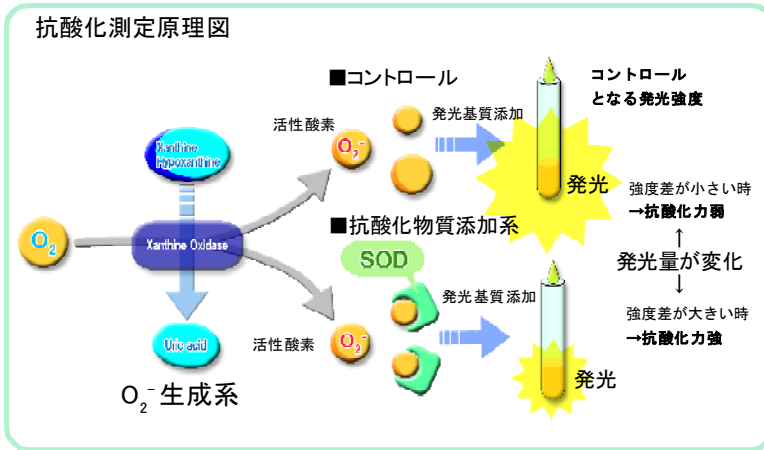
### 過酸化水素( $H_2O_2$ )

唯一市販されている活性酸素種である過酸化水素( $H_2O_2$ )はルミノールと定量的に発光しますので、この反応を利用して $H_2O_2$ に対する抗酸化能の測定がおこなえます。

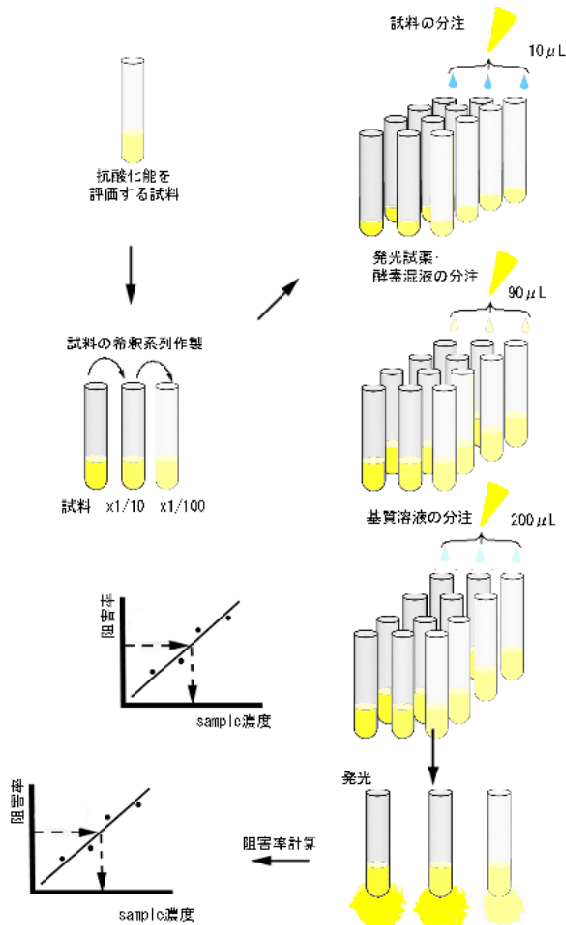


## 発光計測を利用する抗酸化能の探索・評価

食品成分の抗酸化機能探索・評価は、前述の様に $O_2^-$ などの活性酸素を発生させておき、これに抗酸化性があると思われる物質を加えます。抗酸化性物質には活性酸素を除去する能力がありますので、添加前後の活性酸素の量を比較すると、その能力を評価できます。



### 50%阻害率の算出までの概略操作



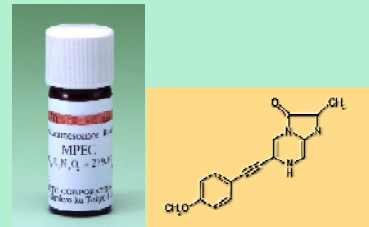
### 関連資料

- 「食品成分の簡便かつ高感度な抗酸化測定システムの紹介」
- 「化学発光を用いた活性酸素/抗酸化測定例」
- 「ATTO発光試薬[MPEC]を用いた抗酸化能測定のコツ」

抗酸化能測定用キット  
AB-2970 CLETA-S(クレタ-S)  
定価 ¥20,000 100検体



$O_2^-$  検出用発光試薬  
AB-2950 MPEC(エムペック)  
定価 ¥5,000 5mg



発光測定装置(チューブタイプ)  
AB-2270型 ルミネッセンサーOcta



発光測定装置(プレートタイプ)  
AB-2350フェリオス



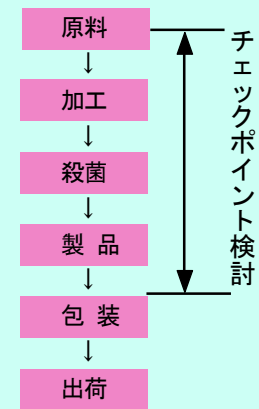
抗酸化能

# 発光法を用いた微生物の検出

## 発光法を用いた微生物管理、清浄度検査

食品衛生法では公定法による一般生菌数の検査が義務付けられています。しかし、これは最終出荷製品の検査ですから製造工程のチェックではありません。近年、食品衛生管理のためにHACCPシステムを取り入れる企業が増えつつあります。これは、HA(Hazard Analysis)とCCP(Critical Control Point)からなる製造工程のチェックシステムで、食品製造における微生物管理において、製造工程での危険ポイント(微生物汚染されやすい箇所)を確定し、各危険ポイントでの検査方法を決めるというシステムです。複数の検査ポイントの微生物汚染や清浄度をチェックでき、操作が簡単で迅速に結果が得られる発光法の導入をご検討下さい。

### 食品製造の流れと危険ポイントの設定



食品および製造設備などの安全性評価

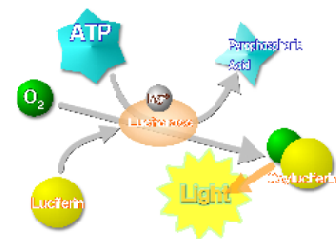
## 発光法による微生物検査法

食品の細菌数測定には、平板培養法による菌数測定法が一般的におこなわれています。これには、2~3日の培養が必要であり、後追い検査となってしまう欠点があります。食品検査では当日出荷もあり、Realtimeでの測定が望まれています。数と発光値との検量線を作成しておくことにより、製品中の菌数を推定

します。これまでに酸素電極法、インピーダンス法、フローサイトメリー法、PCR法などいろいろな手法が紹介されていますが、一長一短があり決定的な方法はありません。ここでご紹介する発光法(生物発光法、化学発光法)には以下の長所があります。

### ■生物発光法(ATP Assay)

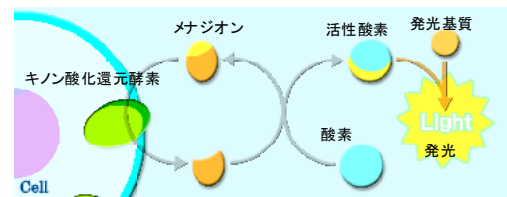
微生物由来のATPを捉えて細菌検出をおこなう方法で若干コストがかかりますが、その簡便性と数値化によってHACCPでの清浄度試験に広く利用されています。



細菌が持っているアデノシン3リン酸(ATP)量をホタルルシフェラーゼ発光を利用して測定します。

### ■化学発光法(BactoLumix)

化学発光法(BactoLumix)は、細菌の持つ膜酵素反応を利用して生成する活性酸素を測定する方法で低コスト生菌しか測りません。



細菌が持っている酵素(NAD(P)H:キノ酸化還元酵素とメナジオンとの酸化還元反応で発生する活性酸素を、発光を用いて測定します。

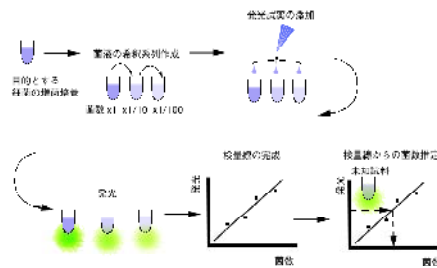
\*それぞれ、菌種の同定はできない。夾雑物質の影響を受け易い。  
10<sup>4</sup>個/mL以上の菌数が必要という短所があります。

## BactoLumix による微生物検査法

原料、製品中の細菌数は、発光法を用いることにより迅速に結果を得ることが出来ます。あらかじめ細菌数と発光値との検量線を作成しておくことにより製品中の菌数を推定します。

### 発光法

ひとつのサンプルの測定時間はわずか10秒です。



### 従来法

コロニーとして確認できるまで培養するので結果がわかるまでに1-2日かかります。



AB-2960 BactoLumix(1000検体)  
定価 ¥15,000



### キット構成

- ①発光試薬(粉末)
- ②発光試薬溶解用バッファー
- ③触媒(メナジオン)
- ④触媒希釈用バッファー
- ⑤増菌用培地粉末

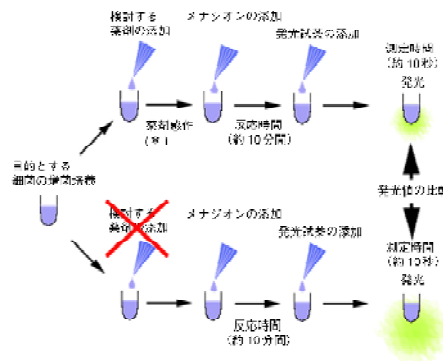
## BactoLumix を用いた機能性物質の探索・評価 (抗菌活性物質のスクリーニングなど)

ワサビやカラシなどに抗菌活性物質があることはよく知られていて、これらの物質は食品用の保存料などに用いられています。食品由来であることが、消費者に安心感を与えるようです。微生物の発光検出法は菌数に対応して発光量が変化しますので、抗菌活性物質のスクリーニングにも利用できます。

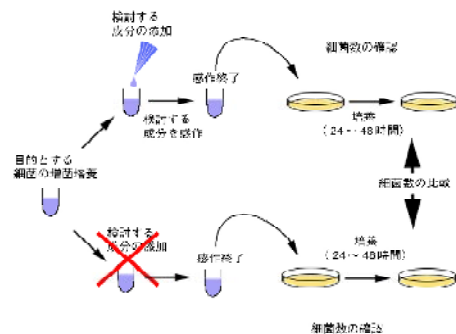
検討する成分の感作 / 非感作の菌数を、発光値をもとに比較します。

(感作した菌液の発光値) < (非感作の菌液の発光値) となった場合、検討する成分に抗菌活性があると考えられます。発光法を用いた場合、感作終了後の培養は必要ありません。

### 発光法



### 従来法



発光測定装置 (チューブタイプ)  
AB-2270型 ルミネッセンサー-Octa



発光測定装置 (プレートタイプ)  
AB-2350型 フェリオス



抗菌活性  
菌数測定

# 遺伝子（DNA）による品種判別

## 画像撮影・解析

鶏肉や米などの食品の**品種鑑定**や**遺伝子組み換え農作物**(GMO:Genetically Modified Organism)混入検査の方法の一つとしてPCR(Polymerase Chain Reaction)法が用いられています。

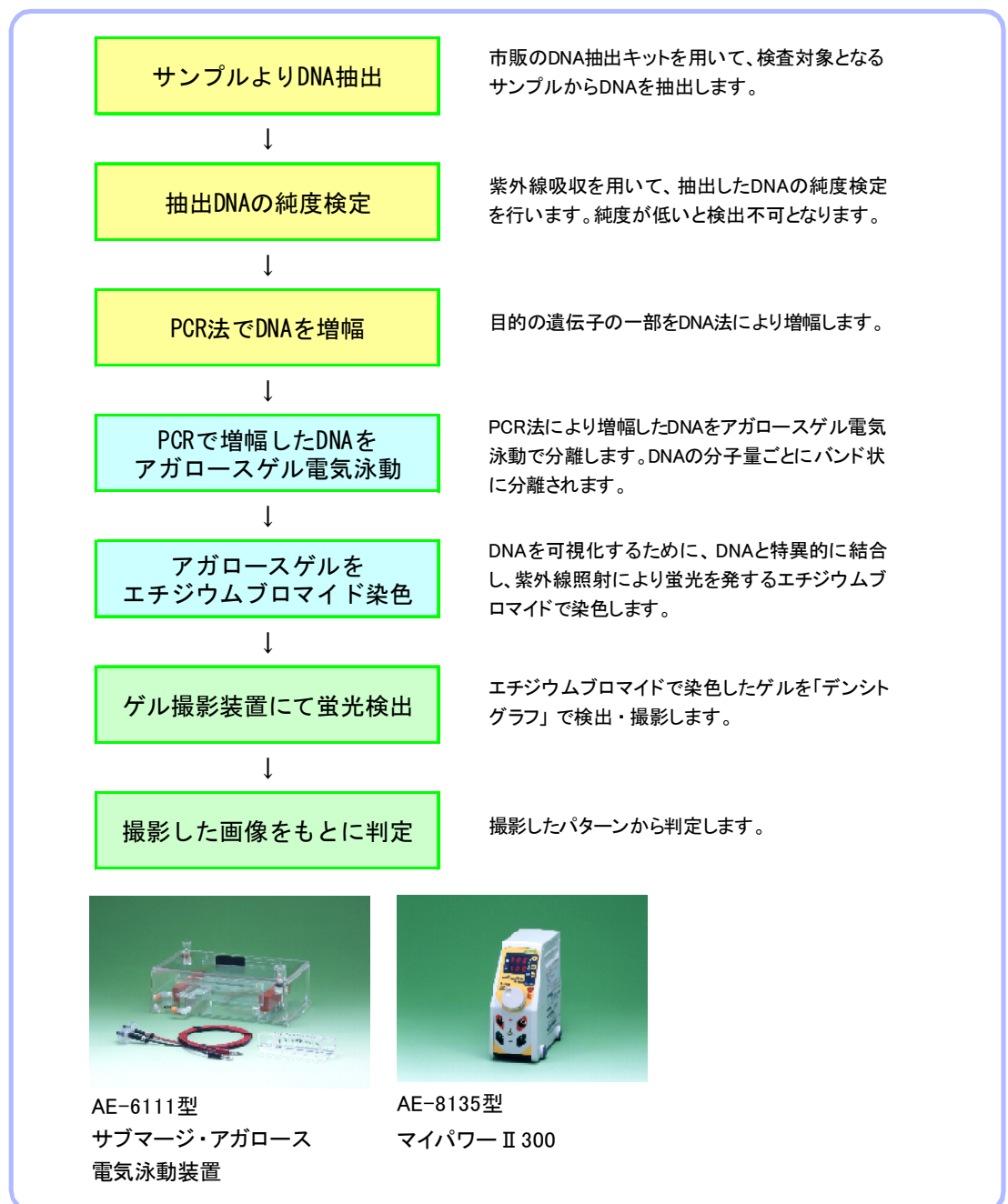
PCR後のサンプルはアガロースゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイドを染色剤とした**蛍光法**にて検出されます。

アトー株式会社「**デンストグラフ**」は、**蛍光法**にて検出されたDNAの撮影・解析システムです。

「**デンストグラフ**」は、全国の食品検査・研究機関で採用されています。



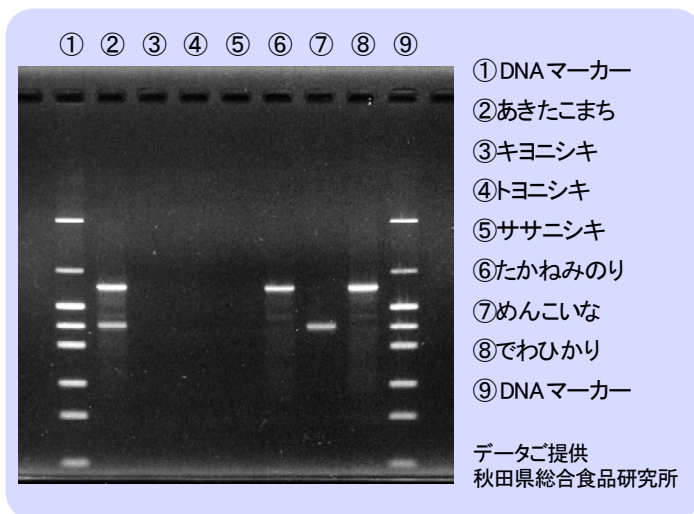
## 検出の流れ





## 撮影・判定例

PCR 法による米の1粒判別



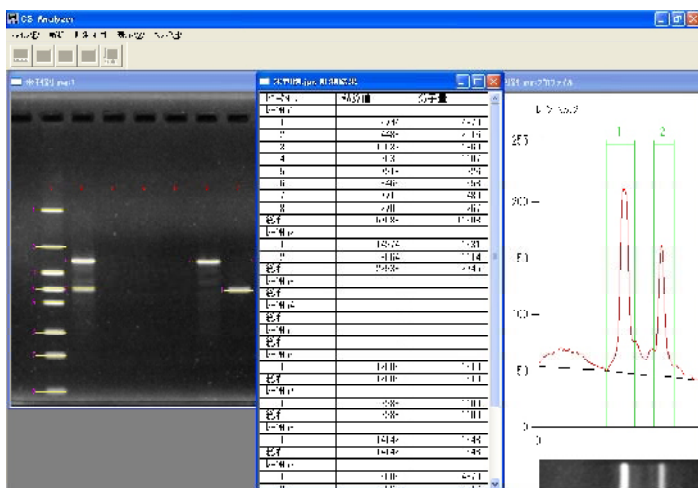
### 参考文献

小笠原博信、高橋砂織 (2000) 日本食品科学工学会誌, 47, 632-637:  
 「STS-PCR 法によるあきたこまち等の1粒品種判別」

## 撮影・解析装置

「デンシトグラフ」は撮影部分であるプリントグラフ、解析ソフトウェアCS Analyzer、PCへの画像取込装置E-shoot、オリジナルパソコンシステム(Windows\*)を組み合わせた画像撮影・解析システムです。

\* Windowsは米国Microsoft Corporationの登録商標です。



# ペリスタポンプを使った送液

## ペリスタポンプ

「これは古くて新しいポンプです」

当社がこのポンプを販売し始めたのは1969年で、その後も改良を続けて現在は右ページのようなポンプの製造を続けています。このポンプの特長はチューブを新しいものに交換するだけで、汚れ(コンタミ)の心配のない送液ができることです。このため外部から異物が混入しにくく、定期交換により配管内を清浄に維持できます。

こうした特長や外部制御対応などにより、クロマトグラフィーの送液をはじめ以下のような多様な用途に使われております。

- ・ファーメンターへの組込み
- ・薬剤の溶出試験
- ・培養細胞への薬液環流
- ・水質調査のサンプリング
- ・透析装置への組込み
- ・半導体の洗浄装置



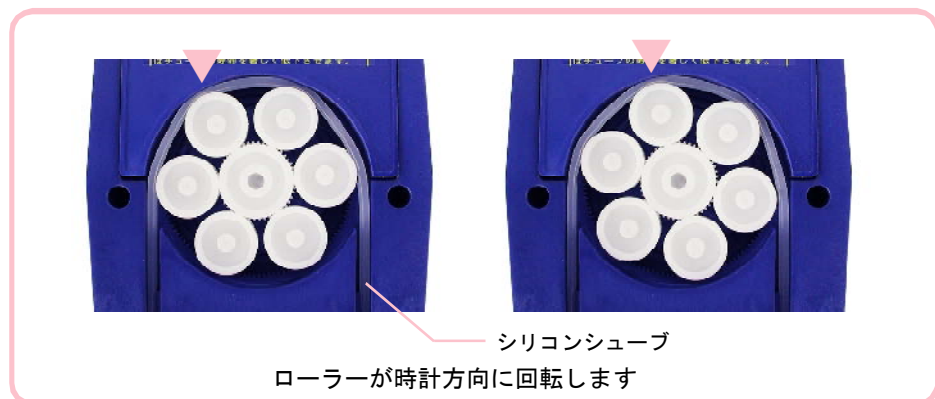
## 固形物があっても送液

このポンプの名前はperistaltic tube pumpに由来します。柔軟なチューブを押しつぶし、その押しつぶす箇所を移動させて(しごきながら)液体を送るポンプです。

送液用途として国内で販売されているポンプは多品種にわたり、それらは個々に特長を持っています。正確な容量を送液できるポンプの多くは逆流防止用に弁

の機構を持ちます。そのため微粒子を含む溶液の送液には使えません。また塩濃度の高い溶液や酸などの送液に適さないものもあります。

ペリスタポンプはその送液原理から液体はもちろん、微粒子を含む液体や気体であっても送ることができます。



## どんなチューブが使える？

最も使いやすいのはシリコンチューブです。ただし酢酸やアルコール、アルカリ溶液などの送液は得意ではありません。このチューブはオートクレーブできますから、無菌状態での送液も可能です。他に使えるものとしては、バイトンチューブ、タイゴンチューブ、ファームドチューブなどがあり薬剤耐性などを考慮してお選びいただけます。寿命の長いのはファームドチューブです。

送液量はローラーの回転速度でコントロールできますが、そのチューブで希望する流量が得られなければ内径の違う製品に取り替えます。チューブ径が大きいほど送液量は大きくなります。

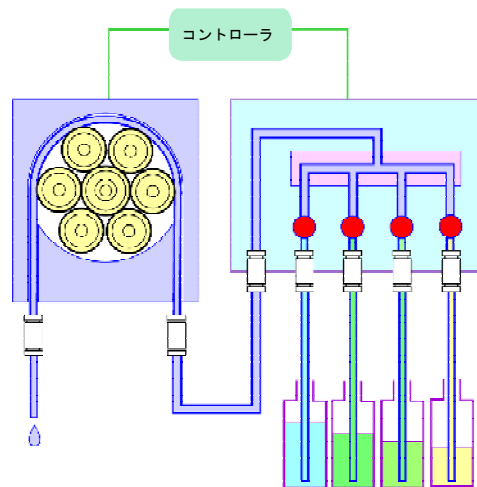
## ペリスタ・ポンプの使用例

### 複数の液体を適当な時間で切り替えて送液

コントローラで設定した時間にしたがって複数の液体を順次切り替えて送液します。

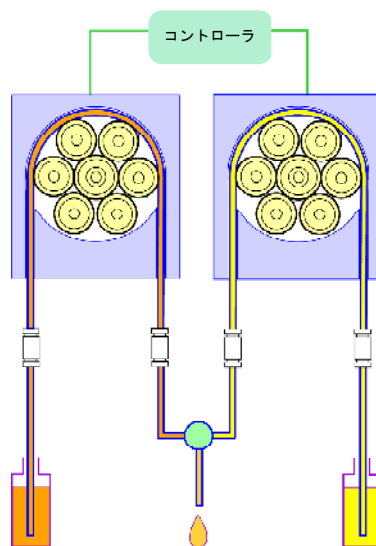


電磁バルブ・ペリスタポンプ  
コントローラ  
AC-5900グラディコンⅢ



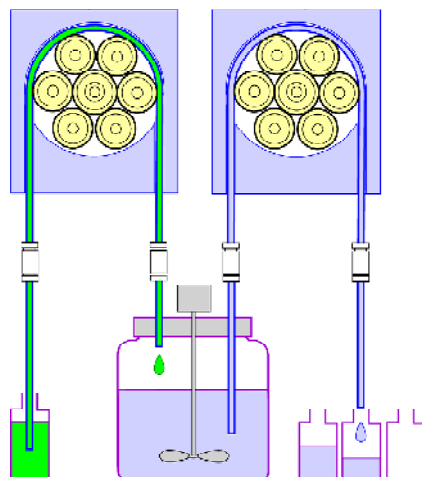
### 2種類の液体の混合比率を変えながら送液

2台のポンプの送液量を制御することで、任意の混合比率で送液できます。時間とともに連続的に混合比率を変えることも簡単です。液体クロマトグラフィーのイオン交換分離法には必要な送液方法です。



### 外部制御機器によるオンオフ送液

外部信号によりポンプのON/OFFを制御できます。細胞培養に必要な溶液の添加、培養液の回収などにも利用されています。



## ペリスタ・ポンプシリーズ クロマトグラフィー

### SJ-1211 ペリスタポンプ



高流量型 7-700mL/h  
低流量型 0.7-70mL/h

### AC-2120

### ペリスタ・バイオミニポンプ



外部制御が可能  
送液量0.1-1000mL/h

### SJ-1220

### ペリスタポンプ



多流路の送液可能  
送液量0.3-1000mL/h  
(1流路あたり)

液体送液



0.1 = 10 <sup>-1</sup>	deci	d	one tenth of
0.01 = 10 <sup>-2</sup>	centi	c	one hundredth of
0.001 = 10 <sup>-3</sup>	milli	m	one thousandth of
0.000 001 = 10 <sup>-6</sup>	micro	μ	one millionth of
0.000 000 001 = 10 <sup>-9</sup>	nano	n	one billionth of
0.000 000 000 001 = 10 <sup>-12</sup>	pico	p	one trillionth of
0.000 000 000 000 001 = 10 <sup>-15</sup>	femto	f	one quadrillionth of
0.000 000 000 000 000 001 = 10 <sup>-18</sup>	<b>ATTA</b>	a	one quintillionth of

2009/5/13



# アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器  
開発/生産/販売/サービス

主要製品

- DNA分析機器
- 画像分析システム
- 蛍光分析装置
- バイオ研究機器
- 医療分析装置
- ペリスタポンプ
- クロマトグラフ
- 電気泳動分析機器

- 本 社 〒113-0034 東京都文京区湯島1-5-32 ☎(03) 3814-4861 (代表) ☎(03) 3814-4868
- ◆ 技術サービス ☎(03) 3814-4794 (代表) ☎(03) 3814-4856
- 技術開発 〒110-0018 東京都台東区台東2-21-6 ☎(03) 5818-7560 (代表) ☎(03) 5818-7583
- センター (東京都許可 医療機器製造業)
- 大阪支店 〒530-0054 大阪市北区南森町2-1-7 ☎(06) 6365-7121 (代表) ☎(06) 6365-7125