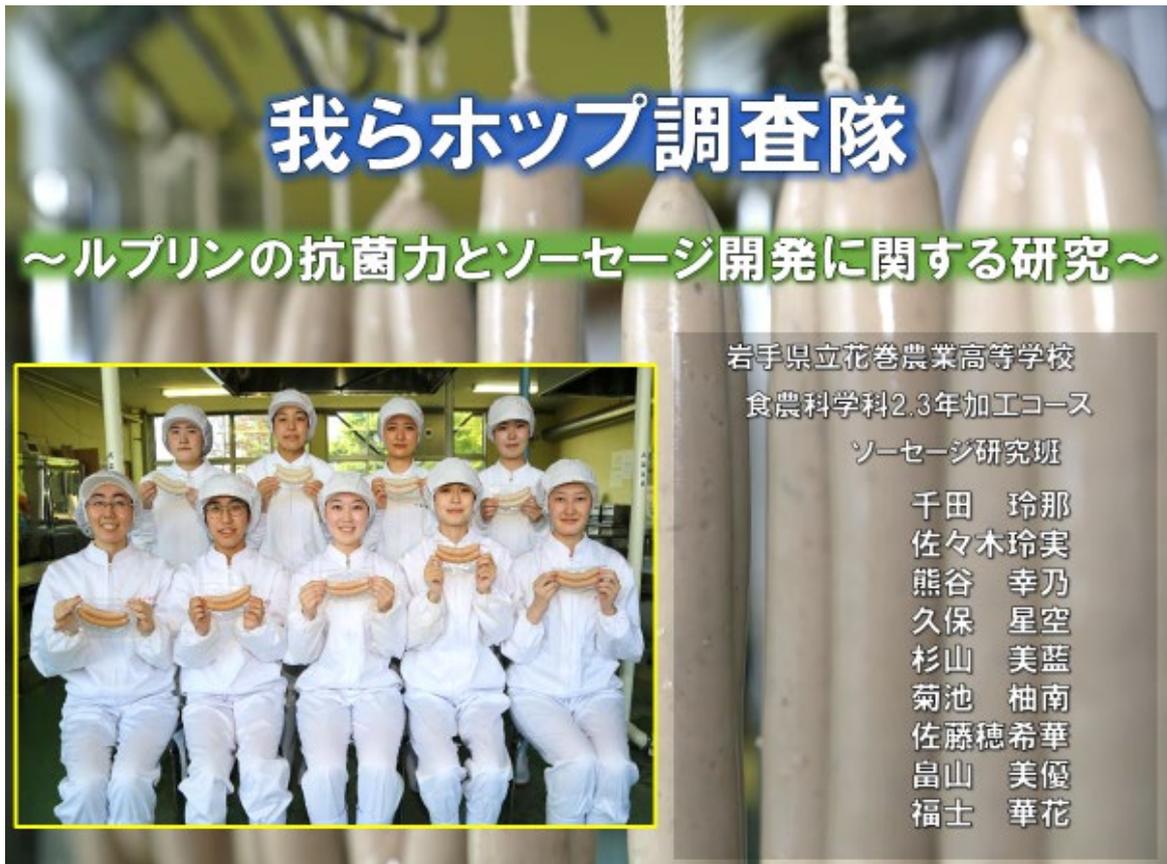


我らホップ調査隊

～ルプリンの抗菌力とソーセージ開発に関する研究～



我らホップ調査隊
～ルプリンの抗菌力とソーセージ開発に関する研究～

岩手県立花巻農業高等学校
食農科学科2.3年加工コース
ソーセージ研究班

千田 玲那
佐々木 玲実
熊谷 幸乃
久保 星空
杉山 美藍
菊池 柚南
佐藤 穂希華
畠山 美優
福士 華花

岩手県立花巻農業高等学校

食農科学科 2・3年 ソーセージ研究班

1 はじめに

遠野市のホップ（毬花）は、日本一の栽培面積を誇り、その利用用途は、ビールの原料以外には使われていません。

「この地域資源を有効活用したい。」

そう思い、私たちは先輩方が続けてきたホップをソーセージに練り込むことで今までとは違った長期保存可能なソーセージ開発を目指しています。

これまでの開発の中では、抗菌物質と思われる毬花（きゅうか）をそのまま加熱しエキスとして使用していましたが、そのエキスをソーセージに添加した際、微生物が発生し抗菌作用による賞味期限が延びませんでした。

そこで私たちは、「毬花本体ではなく内部の樹脂であるルプリンに抗菌力が存在するのではないか」と仮説を立てました。

毬花の抗菌力を活用し、遠野市のホップ、花巻市の白金豚、北上市の規格外の二子芋を使用して、ソーセージを製造することで、地産地消に繋げ、地域の活性化に貢献するだけでなく生産者の意欲向上にもつなげることができます。

さらに私たちは、食品業界の課題となる肉を固くする乳酸菌や耐熱性芽胞菌のバチルス属とクロストリジウム属をホップで死滅させることで、食肉加工の安全性が広がると共に保存性を高めることで食品ロス軽減になると考え、研究を継続することにしました。

II 研究目標

- 1 一般生菌に対するルプリンの抗菌力を実証する。
- 2 ソーセージの劣化の原因とされる乳酸菌の繁殖を阻止できるルプリン溶液を作る。
- 3 衛生面を徹底したソーセージ開発と普及を目指す。

III 研究計画

研究計画は、スライドの通りです。

研究1年目は、毬花の抗菌物質を最大限発揮させるための殺菌温度や時間に重点をおきました。2年目は、企業と連携しルプリンの抗菌力の存在を検証することを計画しました。

IV 研究内容

はじめに、微生物利用の授業でソーセージにとって有害菌とされる一般生菌や肉を固くし空洞化の原因になる乳酸菌について学習しました。

遠野市のホップは日本一の栽培面積

カビールの原料

遠野市 31% 23ha
 花巻市 24% 17ha
 軽米町 24% 17ha

グラフ：遠野市より(R3年度市町村別ホップ栽培面積)

この地域資源を有効活用したい！

本当に毬花(きゅうか)には抗菌力が存在するのか

毬花内部の樹脂ルプリン

仮説：ルプリンに抗菌力が存在？

遠野産ホップ
 北上産二子芋
 花巻産白金豚

規格外の芋
 地産地消
 地域の活性化

農業生産者の意欲向上に貢献

研究目標

- (1) 一般生菌に対するルプリンの抗菌力を実証する
- (2) ソーセージの劣化の原因とされる乳酸菌の繁殖を阻止できるルプリンの溶液を作る
- (3) 衛生面を徹底したソーセージ開発と普及を目指す。

研究計画

月	R4年度(2年)	月	R5年度(3年)
4	微生物検査① 開発①先輩より技術指導	4	後輩指導
5	開発②毬花(抗菌物質)ソーセージ	5	開発③ルプリン入りソーセージ開発・配合割合
6	微生物検査②	6	銀河フェーズ訪問
7	開発③毬花エキス入りソーセージの開発	7	ルプリン入りソーセージ配合確定
8	微生物検査③	8	開発④ルプリン入りソーセージ
9		9	ルプリン入りソーセージ
10	里芋農家・JA実態調査	10	二子芋の収穫
11		11	花農祭商品化
12	微生物検査④ルプリン抗菌力調査 開発④ルプリン入りソーセージの開発	12	学科発表・卒業論文制作
1		1	卒業論文制作
2	微生物検査⑤乳酸菌	2	卒業論文完成
3	研究まとめ・課題	3	卒業

また、ソーセージの賞味期限を延ばすためには、微生物検査の結果が食品衛生検査指針の初菌 300 個未満であることが必要であり、それ以上の菌が出てしまうと賞味期限が付かず、安心安全を担保することはできません。そのためにはエビデンスに基づいて菌体を抑えることが大前提にあります。

このソーセージを製造する上で一般生菌を抑えるためには、ハサップの衛生管理の手法に則って製造を行うことで、ルプリンの抗菌作用が発揮されることを食品製造の授業で学びました。

ソーセージの賞味期限(食品衛生検査指針)

初菌判定	一般生菌 (SPC)	乳酸菌 (BCP)	賞味期限が付く
OK	300 ↓	300 ↓	賞味期限が付かない
NG	300 ↑	300 ↑	

安心安全を担保することができない
エビデンスに基づいて菌体を抑える

早速、毬花無添加、生毬花、殺菌毬花の3区のソーセージを製造しましたが、どの区も保存期間4日目の初菌でコロニーが形成され賞味期限が付かなかったため、次にエキスの抽出に着目しました。

そのエキスを使用してソーセージの製造を行った結果、初菌8日目でコロニーが形成されてしまい、再度ルプリンの抗菌力を検証することにしました。

毬花無添加, 生毬花, 殺菌毬花の添加

検体種類	保存期間	一般生菌数			乳酸菌		賞味期限
		表面(本校)	表面(企業)	中心部	表面	中心部	
無添加	4日(初菌)	<10 1.0×10	1.0×10 1.0×10	<10	5.0×10 4.0×10	<10 <10	なし
生毬花	4日(初菌)	<10 1.0×10	2.0×10 7.0×10	<10	3.9×10 9.0×10	<10 <10	なし
殺菌毬花	4日(初菌)	<10 1.0×10	4.0×10 4.0×10	<10	3.0×10 3.0×10	<10 <10	なし
生毬花	4日(初菌)	<10 3.1×10	3.0×10 4.1×10	<10	6.0×10 4.0×10	<10 <10	なし

子のまま添加が原因 → エキスの抽出

元キリンビール主任研究員の村上敦司ホップ博士から提供していただいた論文を翻訳すると、ルプリンは80℃以上になると、イソα酸に変化し苦みがより強くなり、それと共に抗菌力が下がることが読み取れるため、80℃を維持して処理することがポイントだと分かりました。

ホップ博士提供の論文

ルプリン 80℃以上 → イソα酸に変化

苦味 UP ↑ & 抗菌力 DOWN ↓

80℃を維持して加熱処理がポイント

そこで私たちは、より抗菌力の安定性を引き出すために、毬花からルプリン単体を抽出することに成功。そのルプリンを滅菌水と混合し80℃1分で殺菌します。

濃度が0%の対照区と0.1~0.3%ルプリン溶液をそれぞれ添加。その後空中落下菌を接種し、48時間培養した結果、濃度が上がるにつれて菌の数が減少傾向になっていることをつかめました。

微生物検査の結果

検体種類	ルプリン添加量ml					15検体中
	0.5ml	1ml	2ml	3ml	4ml	
対照区 ルプリン0%	1×10 <10 3×10	2×10 1×10 <10	1×10 <10 3×10	1×10 1×10 1×10	2×10 1×10 2×10	12
ルプリン 0.1%	<10 1×10	2×10 1×10	<10 <10	<10 1×10	<10 <10	5
ルプリン 0.2%	<10 1×10	1×10 <10	1×10 <10	<10 <10	<10 <10	4
ルプリン 0.3%	2×10 1×10	<10 <10	<10 <10	<10 1×10	<10 <10	3

濃度が上がるにつれて菌が減少傾向

この実験から、私たちは0.4%ルプリン溶液が菌を抑えられる境界線になるのではないかと考え、実験した結果、対照区と比べて0.4%ルプリン溶液の12検体は、全てコロニーが現れず、抗菌作用が確認されました。

微生物検査の結果

6日目でコロニー形成 賞味期限つかず

ソーセージに入れるなら 0.4%じゃ薄い

元キリンビール主任研究員 村上敦司さん(ホップ博士) 生産管理室長 河内信明さん

この結果から私たちは、0.4%ルプリン溶液を肉に対して12%添加し、ソーセージの製造を行いました。6日目でコロニーが形成され、賞味期限をつけることができず、ホップ博士や銀河フーズ生産管理室長の河内さんに相談したところ「培地上では有効でもソーセージに入れるなら0.4%じゃ薄い。」と教えていただきました。

このお話を踏まえ私たちは、里芋と米麴に菌が付着していると考え、それらを使わないソーセージと前回より6倍近く濃度を高めた2.2%ルプリン溶液を添加し製造したソーセージで抗菌力の再検証をしました。

しかし初菌4日目でコロニーが形成され、またしても賞味期限をつけることができず失敗、振出しに戻ってしまい私たちは落ち込みました。

「もっと別の方法で確かめられるんじゃないか。」そう思い、連携企業のもとへ相談、研修してきました。

この研修によって、ルプリンの抗菌力を可視化できる阻止円という実験方法を学んできました。

阻止円とは、ソーセージから出た菌を培地に混ぜ、中心部に置いたろ紙にルプリン溶液を添加し、48時間培養。その後、菌が培地全体に拡散するときに、ルプリン溶液が添加されたろ紙の周りだけに、このようにサークル状に菌の繁殖を阻止することができれば抗菌力があることを証明できます。これまで実験を繰り返した結果、次のような方法が有効であるとわかりました。

実験手順はスライドの通りです。

一般生菌に対して有効なのか調べるために、保存テストの際に培養した菌を取り出し滅菌水で混合、それを標準培地に1ml添加。その後ろ紙に2.2%ルプリン溶液を0.2ml滴下し、35°Cで48時間培養した結果、阻止円がはっきり現れました。

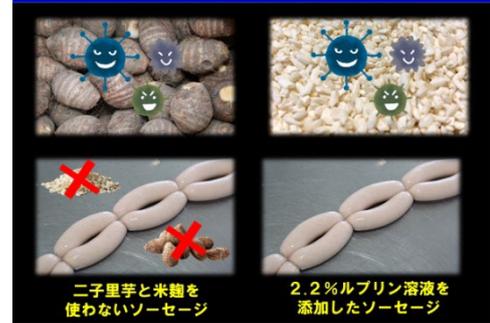
この結果から過去に製造したソーセージの賞味期限を、市販品以上の36日間までつけることができたのは、ルプリンの抗菌作用によるものだとわかりました。よって、14ヶ月の試行錯誤の末、ルプリンには抗菌力があることを仮説のとおり実証できました。

しかし、毬花には季節性があり年中入手するのは難しいため、いつでも手に入りやすいホップペレットに着目しました。

ペレットを使うことによって、ルプリンを抽出する手間が省けるとともに、溶液の濃度に安定性が出ます。

そこで私たちは、ソーセージから出た一般生菌と乳酸菌に対してペレットが有効なのか知りたいと思い、阻止円の実験を繰り返しました。

「抗菌力が存在しているのか」真偽



阻止円の実験方法



阻止円実験の結果



微生物検査(食衛検査指針<300個) 2022.8.30

検体種類	保存期間	一般生菌数				乳酸菌	賞味期限
		表面(本校)	表面(企業)	中心部	公定法	公定法	
毬花 無添加	8日	<10	<10	<10	<10	<10	6日
		<10	<10	1.0<10	1.0<10	<10	
		<10	<10	2.0<10 ²	2.0<10	<10	
エキス 1%	45日	-	<10	<10	<10	<10	36日
		<10	<10	<10	3.0<10	<10	
		<10	<10	<10	1.0<10	<10	

市販品の賞味期限 燻煙されたもの ⇒ 30日間 ヴァイスブルスト ⇒ 25日間
熊河フーズ株式会社より調査

14か月の試行錯誤の末に抗菌力が実証

毬花

- ・季節性がある
- ・年中入手するのは難しい

ホップペレット

ルプリン抽出の手間が省ける

溶液の濃度にバラツキが生じにくく安定性が出る

実験手順はスライドの通りです。

菌が付着しているソーセージを滅菌水で10倍に希釈し、それぞれの培地に混ぜ、低濃度から高濃度のペレット抽出液を65°C 2時間で殺菌、そのろ過液をろ紙に滴下し培養しました。

結果、3%は、どちらの培地も阻止円が見られなかった反面、5%以上はどちらも阻止円が見られペレット抽出液は、一般生菌や乳酸菌にも有効だということが確認できたと同時に、企業のクロスチェックでも立証、私たちの検査技術も評価していただきました。

このことから私たちは、ペレット抽出液をソーセージに練りこむことで賞味期限を延ばせる手応えを感じています。

私たちが製造した二子里芋ソーセージを市内の産直や北上市役所で試食販売し、私たちの研究を広めるとともに、地元になんたな里芋の利用用途の可能性を伝えてきました。

さらに、私たちの活動がイオン東北株式会社の目に止まり、盛岡市のベーカリーショップと連携し、ソーセージドッグとして限定販売したことで、消費者の声を間近に感じ、今後の商品化に活かす活動もしています。

これまでの研究の評価として全国ユース環境活動発表大会全国大会で発表し優秀賞を受賞、食品開発を通して廃棄される資源の有効利用を評価して頂きました。

V 研究の成果

- 1 ルブリン溶液を添加したソーセージは、市販品以上の36日間まで賞味期限をつけることができた。
- 2 ルブリン抽出液は2.2%、ペレット抽出液は5%以上の濃度で一般生菌と乳酸菌に対して抗菌力が有効であることを実証できた。
- 3 私たちの活動が外部で高く評価され、地域のみならず全国へ発信することができた。

実験手順

1. 菌が付着したソーセージ (菌数: $10^7 \sim 10^8$ 個) **滴下** (一般生菌 (SPC培地) / 乳酸菌 (BCP培地))
2. 培地に1ml添加
3. 低高濃度の溶液をろ過 **培養**
4. ろ紙に溶液0.2ml滴下
5. 培養 (35°Cで48時間 / 25°Cで72時間)

結果 (ペレット抽出濃度による比較)

一般生菌 (SPC培地)			乳酸菌 (BCP培地)		
3%	5%	10%	3%	5%	10%

5%以上が一般生菌や乳酸菌に有効!

地域への普及活動 2023.5.6-5.16

花巻市JA だあすこ
北上市役所

里芋の新たな利用用途の可能性!!

全国ユース環境活動発表大会全国大会

【優秀賞】

2023.2.4~5 in ステーションコンファレンス東京

廃棄される資源の有効利用を評価

研究の成果

(1) ルブリン溶液を添加したソーセージは市販品以上の36日間までの賞味期限をつけることができた。

(日数)

品名	賞味期限 (日数)
市販品	30日
市販品	25日
私たち	36日

VI 今後の課題

- 1 ペレットの抽出液を使用したソーセージで賞味期限を 30 日以上に延ばす。
- 2 バチルスやクロストリジウムに対応したホップの抗菌力の研究を継続する。

今後の課題

- (1) ペレットの抽出液を使用したソーセージで賞味期限を 30 日以上に延ばす。
- (2) バチルスやクロストリジウムに対応したホップの抗菌力の研究を継続する。



VII 最後に

私たちは、サステイナブルな商品開発の推進をすることで、ホップの活用方法を広げ、この研究から食品ロス減少のきっかけと、さらなる地域の農業や食産業に貢献することを「私たちは約束します。」

サステイナブルな商品開発の推進

