

## タデ科植物の中国伝統食品への利用

### Use of "*Persicaria*"-in Traditional Chinese Fermented Foods

堀 光代\* 長野 宏子\*\*

Mitsuyo Hori

Hiroko Nagano

A survey was carried out of the use of *persicaria* in traditional fermented foods in the Xiangshan district of Zhejiang province in People's Republic of China. It was found that the starter derived from an extract of "*persicaria*" is used in producing mantou and unrefined sake. *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, yeast, and fungi were present in the *persicaria* starter. The bacteria that were separated from the starter showed high activity for collagen resolution. It was also found that the enzyme of bacterium which decomposes the wheat allergen protein was being produced. Crude enzymes of the bacteria in the starter had proteolytic activity toward the allergenic in both the salt-soluble and salt-insoluble fractions of the wheat proteins.

キーワード：伝統発酵食品 Traditional fermented foods：微生物 Microorganisms：小麦粉 Wheat flour：饅頭 Mantou：スターター Starter

昔から人々はさまざまな伝統発酵食品を生活の中に取り入れ、世界各地にはその土地の気候や風土に合った発酵食品が存在している。中国には長い歴史があり、古来より長い年月をかけ培ってきた伝統的な食品も数多く見られる。その一例として酵母以外の微生物により膨化する自然発酵法によってスターターを作り、少し残したスターターでドウを作り、ドウの一部を次のスターターとして引き継ぐ老麺法が用いられている<sup>1)~5)</sup>。スターターには各種の果実や野菜の汁がスターターとして使われている。この老麺法を用いた伝統的な小麦粉発酵食品に中華饅頭がある。

中国浙江省象山县において、老麺法により中華饅頭スターターを植え継ぐ際にタデ科植物を用いた伝統的な製法と利用法について調査を行った。急速な近代化が進む中国では、昔ながらの伝統的製法は失われてしまう可能性が高いと言えよう。これらを記録に残し、科学的な解明を行うことは食文化の継承には急務であり、重要なことと考えられる。これらのことから、タデ科植物を用いてのスターターの伝統的な製法および利用法について明らかにすることを目的とした。

また、近年小麦アレルギーが社会問題になっており、多くの低アレルギー化の方法が検討されている。低アレルギー化に使用されている多くの酵素は微生物由来のものであり、プロテアーゼ活性の強いもの、特に *Bacillus subtilis* が産生する市販酵素プロテアーゼ N が低アレルギー化に効果をあげているとの報告<sup>6)~7)</sup> がある。Tsumura らは大豆

低アレルギー化に市販酵素プロテアーゼを用いた報告<sup>8)</sup> をしている。また、小麦低アレルギー化について Watanabe らはセルラーゼ・アクチナーゼの酵素を用いた報告<sup>9)</sup> を、また Tanabe らは小麦アレルギーのエピトープ解析の報告<sup>10)</sup> および小麦低アレルギー化食品の開発について報告<sup>11)</sup> している。今回はタデ科植物の草汁を用いたスターターからプロテアーゼ活性の強い微生物を分離し、小麦たんぱく質への作用を中心に明らかにすることも本研究の目的とした。

### 現地調査および実験方法

#### 1. 現地調査

2001 年 6 月に中国浙江省象山县においてタデ科植物を用いたスターターの植継ぎを行っている家庭を訪問し、その製法と利用法について調査を行った。

#### 2. 実験材料および調整

採取したタデ科植物は、ヤナギタデ（中国名：小辣料、学名：*Persicaria hydropiper*）とオオケタデ（中国名：大辣料、学名：*Persicaria pilosa*）である。実験にはヤナギタデを使用した。さらに毎年ヤナギタデを用いて植継ぎされているヤナギタデスターター（以下ヤナギタデスターターと称する；詳細は後に記す）を実験試料とした。

ヤナギタデ 0.2 g をクリーンベンチ内にて滅菌水 40 ml を入れ、振り洗いしゴミを除いた。これを細切りし、乳鉢に 2 ml の滅菌水を入れ 30 分静置後、得られた浸出液（以下ヤナギタデ浸出液と称する）を実験試料とした。ヤナギタデスターターは、0.1 g に滅菌水 1 ml を加え 30 分静置したものを実験試料とした。

#### 3. 微生物検査

##### (1) 微生物の形態観察

ヤナギタデ浸出液・ヤナギタデスターターをライト染色

\* 岐阜市立女子短期大学  
(Gifu City Women's College)

\*\* 岐阜大学  
(Gifu University)

<sup>5</sup> 連絡先 岐阜市立女子短期大学 食物栄養学科  
〒501-0192 岐阜県岐阜市一日市場北町 7-1  
TEL 058(296)3131 FAX 058(296)3130

法<sup>12)</sup>により光学顕微鏡にて微生物の形態観察を行った。また分離した菌株についてはグラム染色法<sup>13)</sup>により光学顕微鏡にて微生物の形、芽胞の有無について観察を行った。

#### (2) 微生物の生育試験

光岡の方法<sup>14)</sup>に従い、ヤナギタデ浸出液およびヤナギタデスターターに存在する微生物の選択培地上における検出を行った。NA (普通寒天) 培地, LBS 寒天培地, DHL 寒天培地, TATAC 寒天培地, PEES 寒天培地, ポテトデキストロース寒天培地の6種の選択培地に生理食塩水に懸濁した希釈溶液を塗布し, 37℃, 48時間培養後, 微生物の生育を確認した。

#### (3) 微生物の分離

ヤナギタデ浸出液およびヤナギタデスターターの実験試料は上記の6種の選択培地の中からNA (普通寒天) 培地に生育した微生物をコラゲナーゼ誘導液体培地<sup>15)</sup>(りん酸水素2カリウム0.7%, りん酸2水素カリウム0.2%, 硫酸マグネシウム7水和物0.01%, ケエン酸2水和物0.05%, イーストエキス0.1%, ゼラチン0.3%, ポリペプトン1.0%, グルコース1.0%, pH 7.4) に一白金耳植菌し48時間培養した。培養液をコラゲンプレート培地(上記コラゲナーゼ誘導液体培地組成のゼラチンを未加熱のコラゲン0.3%とし, 寒天末1.5%を加え, コラゲンを除いたすべての試薬をオートクレーブ滅菌後60℃まで冷却し, 滅菌水で攪拌したコラゲンをクリーンベンチ内で混合しプレートを調整)に植菌後, 48時間培養し, ハローを示す独立したコロニーから微生物を分離し, 以下の実験に用いた。

### 4. 分離菌の特徴および小麦粉たんぱく質への作用

#### (1) 使用菌株

前項において, ヤナギタデ抽出液から分離した菌株(01-CHN-002-G No. 1~No. 8)8株とヤナギタデスターターから分離した菌株(01-CHN-002 No. 1~No. 8)8株を実験に用いた。

#### (2) 10% NaCl 生育試験およびゼラチン液化試験

10% NaCl 生育試験は, 普通ブイヨン(栄研化学(株))にNaClを加えた10% NaCl 生育試験培地(普通ブイヨン1.8%, 寒天1.5%, 塩化ナトリウム10%)に分離した微生物を一白金耳し, 37℃・24時間培養後微生物の生育を確認した。ゼラチン液化試験は, 17%ゼラチン培地(普通ブイヨン1.8%, ゼラチン17%)中に分離した微生物について, 白金線を用いて穿刺し, 37℃・72時間培養した。培養後冷蔵し溶解性を確認した。再凝固しないものはゼラチン分解活性を持つ微生物とした。

#### (3) 遊離アミノ酸定量

上記試験においてゼラチン分解活性を持つ微生物の産生する酵素を用いて基質(コラゲン)に対する遊離アミノ酸の定量を行った。使用する各菌株の粗酵素は, 前述同様に, コラゲナーゼ誘導液体培地にて48時間培養後, 遠心分離した上清を粗酵素として用いた。コラゲン(Type

I, Insoluble From Bovine Achilles Tendon, SIGMA 社製) 0.01 g に 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 300  $\mu$ l を加え均一に懸濁し, 各菌株の粗酵素を 200  $\mu$ l 加え, 30℃ で 6 時間反応後, 1 M 塩酸 1500  $\mu$ l で反応を停止した。これを 10 分遠心分離 (10,000 rpm 4℃) し, 上清 100  $\mu$ l と蒸留水 900  $\mu$ l をニンヒドリン反応<sup>16)</sup>にて吸光度測定 (570 nm) を行った。標準アミノ酸溶液はロイシンを用いた。遊離アミノ酸含量は, 使用した酵素 1 ml/1 時間当りの値とした。

#### (4) 小麦粉たんぱく質の抽出

小麦粉(強力粉)たんぱく質抽出は Watanabe ら<sup>7)</sup>の方法を用いた。すなわち強力粉 5 g に 0.5 M 食塩溶液 25 ml 加え 4℃ で一晩抽出後遠心分離 (10,000 rpm 4℃ 60 分) を行った。この上清を塩可溶性画分とした。残渣を 4 M 尿素溶液にて 60 分室温放置後遠心分離 (10,000 rpm 4℃ 60 分) を行い, 得られた上清を塩不溶性画分とした。これらの両画分を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に 4℃ で一晩透析(透析膜 C 27-32-100 三光純薬(株)製)後, 凍結乾燥を行い実験試料とした。

塩可溶・塩不溶性画分凍結乾燥試料を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解後, ヤナギタデスターターから分離した微生物の粗酵素を混合し (37℃, 6 時間) した。その後試料溶液を加熱 (100℃, 2 分) し, 遠心分離した上澄み液に SDS 試料用試薬と 2-メルカプトエタノールを加え 3 分煮沸後急冷し BPB 溶液を加えたものを SDS 電気泳動用試料とした。

#### (5) 小麦たんぱく質への作用

ヤナギタデスターターから分離した菌株 8 株の産生する粗酵素を小麦粉たんぱく質に作用させ, Laemmli<sup>17)</sup>の方法に従い, SDS 電気泳動用試料を 15% ポリアクリルアミドゲルにて 30 mA/プレートで泳動を行った。泳動後は CBB-R 250 (ナカライテスク(株))染色を行った。また小麦アレルギー患者プール血清との抗原抗体反応は 16.5% ポリアクリルアミドゲルを用い, 同条件にて SDS 電気泳動後, ゲルをニトロセルロースメンブラン (Amersham Pharmacia Biotech (株)製) に 150 mA/プレートで 1 時間ウエスタンブロッティングし, 0.3% スキムミルク入り PBS-T (Phosphate buffered saline-tween 20) で 4℃, 一晩ブロッキングした。翌日メンブランに PBS-T で 100 倍希釈した一次抗体(小麦アレルギー患者プール血清)を 37℃, 1 時間反応させた。PBS-T にて洗浄後, PBS-T で 500 倍希釈した二次抗体(抗ヒト IgE・ウサギポリクローナル抗体パーオキシダーゼ標識, ダコ・ジャパン(株)製)を 37℃, 1 時間反応させた。PBS-T にて洗浄後, 化学発光試薬 ECL (Amersham Pharmacia Biotech (株)製)を用い化学発光検出し, 暗室にて X 線フィルムに露光した。

## 結果と考察

## 1. 現地調査におけるタデ科植物の利用法

中国浙江省象山县におけるヤナギタデとオオケタデの自生の様子を図1に示した。

調査地では、伝統発酵食品にタデ科植物の草汁を利用する製法が継承され、毎年草が生育する6月に、その絞り汁を使って1年分のスターター作りが行われていた。調査家庭ではスターター作りにヤナギタデを用いていた。スターターの作製手順を図2に示した。①水で洗ったヤナギタデを臼に入れ杵で潰す。②潰したヤナギタデの草を手で搾る。③昨年のスターターをボールに割り入れ、その中に搾った

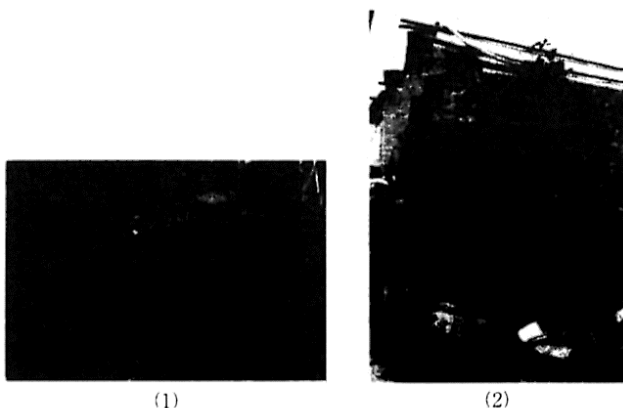


図1. ヤナギタデとオオケタデの自生の様子  
(1)中国名：小辣料 学名ヤナギタデ (*Persicaria hydropiper*)  
(2)中国名：大辣料 学名オオケタデ (*Persicaria pilosa*)

ヤナギタデの草汁をザルで濾す。④草汁の完成。⑤完成した草汁に小麦粉を入れる。⑥練り上げて丸い団子状に成形し完成する。完成した団子状のスターターを乾燥させる。乾燥は直射日光を避け「ざる」や「わら」の上で時々上下を裏返し1週間～2週間ぐらいかけて行う。乾燥時に団子が黒ずんだ場合、長年の経験から次のスターターがうまく作れないので除外し、良好なものだけを保存していた。このスターターを利用した製品には主材料に米粉や小麦粉を使った饅頭やどぶろくのような濁酒が作られていた。

スターターを作る際に前年のスターターを植え継ぎ種として入れる老麺法が用いられていた。スターターの乾燥過程で黒カビ等の生育したものは除き、良好なスターターだけを継続する経験的な知恵が見られた。この手法は単に市販酵母にのみの発酵に頼らない方法であり、食品製造の工業化・近代化が進む現代において、貴重な製法であるといえる。

浙江省内の紹興酒製造過程にもヤナギタデの葉が利用されている。紹興酒は製造過程の冷却方法によって淋飯（リンファン）酒と攤飯（タンファン）酒の2つに分けられ、その淋飯酒の製造過程に粗砕した梗白米粉にヤナギタデの葉の乾燥粉末を混ぜ、水で練ってから直径2センチぐらいの団子にして使用している<sup>18)</sup>。

日本ではヤナギタデはタデ酢として使われることが知られ、葉が香辛料として利用されている。またヨーロッパでは、果実も強い辛み性を持っていることから胡椒の代用として使われている<sup>19)</sup>。

ヤナギタデは様々な用途に使用されている植物であるが

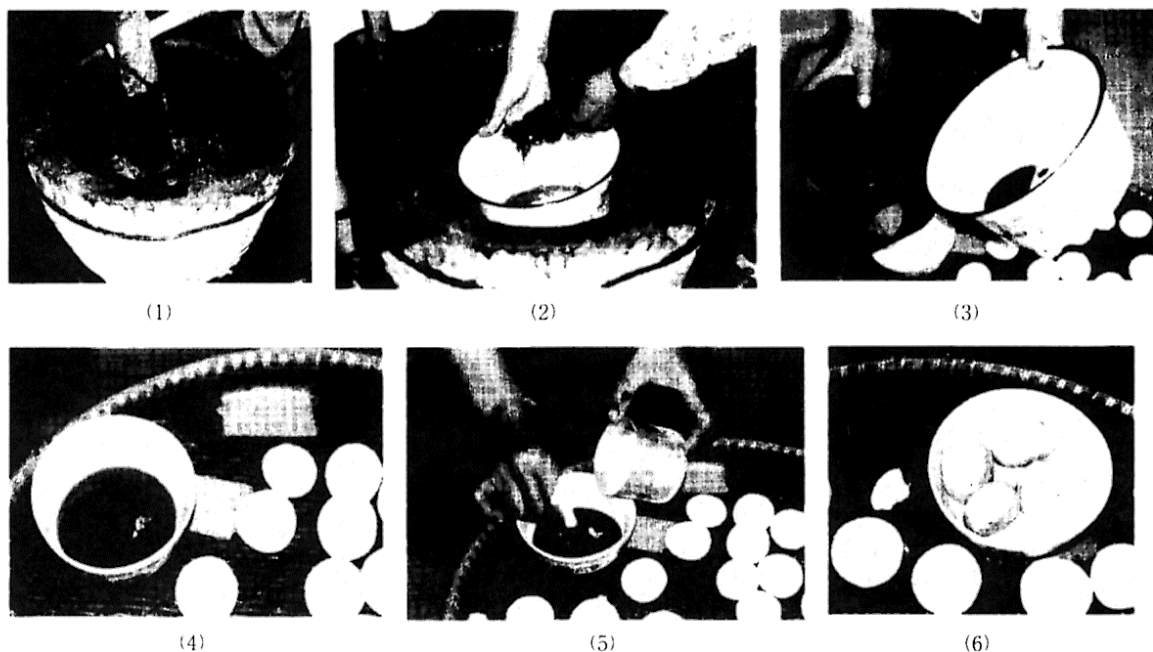


図2. ヤナギタデからスターター（種）の作製  
(1)草をつぶす (2)草を搾る (3)草汁を濾す (4)草汁の完成 (5)小麦粉を入れる (6)練り上げ後完成

中国・浙江省においては団子状のスターターに用いる利用法が明らかとなった。さらに中国の他地域において同様の気象状況、環境におけるタデ科植物の利用状況や他の製法についても調査を重ね、伝統的製法及び作製地域を系統化し、記録に残すことが重要と考える。

## 2. ヤナギタデおよびヤナギタデスターターの微生物

ヤナギタデと、米や小麦粉の饅頭やどぶろく様の濁酒のスターターに用いられているヤナギタデスターターについてライト染色を行った結果、ヤナギタデスターターには桿菌と卵形の酵母様の形態が観察された。またヤナギタデ浸出液には、桿菌と小さな球菌がみられた。桿菌はヤナギタデスターターおよびヤナギタデ浸出液に共通して存在していることが確認された。また、多種類の微生物が顕微鏡下で観察されたため、その微生物叢を推測するために、6種の培地による生育の有無を調査した。その結果(表1)、ヤナギタデスターターでは、一般細菌が生育するNA、*Lactobacillus* 属が生育するLBS、*Streptococcus* 属が生育するTATACの各培地に生育が見られたのに対し、ヤナギタデ浸出液では一般細菌が生育するNA培地のみにしか生育がみられなかった。

前年(2000年)に作られたスターターには、酵母等が生育するポテトデキストロース培地での生育が見られ、ま

たライト染色により卵型の形状の微生物が観察されたことから酵母の存在の可能性が高いといえる。しかし一方、スターターを作る原材料であるヤナギタデ浸出液中には卵型の酵母の形態は顕微鏡下では観察できず、ポテトデキストロース培地における菌の生育も見られなかった。ヤナギタデ浸出液における菌の生育がNA培地だけであったのに対し、ヤナギタデスターターには複数の培地に菌の生育がみられた。このことは、スターターが毎年植え継がれ、新しくスターターを植え継ぐ過程で酵母等、様々な微生物も植え継がれてきたのではないかと考えられる。

このように、植継ぎによって多様な菌種で構成されるスターターを作り出し、伝統的食文化を継承していくものであろう。これら多様な菌種の作用について、普遍性を含め今後さらに検討することが課題であると考えられる。

## 3. 分離菌の特徴とプロテアーゼ産生株選択

ヤナギタデスターターから分離した微生物は、NA(普通寒天)培地に生育し、コラーゲンプレート上でハローを形成した。疎水部分を分解する酵素を産生する可能性のある微生物にも注目し、コラーゲンゼ誘導液体培地を用いた結果、微生物の周囲にハロー(クリアな部分)を形成する微生物をヤナギタデスターターから8株、ヤナギタデ浸出液からも同様に8株分離した。コラーゲンプレート上で微生物の周囲にハローが見られたことは、コラーゲン等の疎水性部分を分解するプロテアーゼ活性を示す微生物の存在の可能性が示唆されるものである。

微生物の生育等の特徴を10% NaCl生育試験により耐塩性を、ゼラチン液化試験よりゼラチン分解能を検討した結果(表2)、ヤナギタデ浸出液から分離した微生物(01-CHN-002-G No. 1~No. 8)では、すべての菌株について10% NaClにおける耐塩性はなく、ゼラチン液化試験においてもプロテアーゼ活性はみられなかった。ヤナギタデスターターから分離した微生物(01-CHN-002 No. 1~No. 8)は、10% NaCl条件下での生育が見られ、ゼラチン液化試験においてもプロテアーゼ活性がみられた。このことから食品加工をする上で塩漬けやその他の塩加工品にも使用可

表1. 6種の選択培地による生育結果

選択培地	スターター (01-CHN-002)	ヤナギタデ (01-CHN-002-G)
NA	+	+
LBS	+	-
DHL	-	-
TATAC	+	-
PEES	-	-
ポテトデキストロース	+	-

+: 陽性 - : 陰性

NA: 一般細菌, *Bacillus* 属など LBS: *Lactobacillus* 属

DHL: 腸内細菌科 TATAC: *Streptococcus* 属 PEES

: *Staphylococcus* 属 ポテトデキストロース: Yeast など

表2. 分離した微生物のNaCl生育試験・ゼラチン液化試験

ヤナギタデ			スターター		
菌株番号	10%NaCl	ゼラチン液化	菌株番号	10%NaCl	ゼラチン液化
01-CHN-002-G 1	-	-	01-CHN-002-1	+	+
01-CHN-002-G 2	-	-	01-CHN-002-2	+	+
01-CHN-002-G 3	-	-	01-CHN-002-3	+	+
01-CHN-002-G 4	-	-	01-CHN-002-4	+	+
01-CHN-002-G 5	-	-	01-CHN-002-5	+	+
01-CHN-002-G 6	-	-	01-CHN-002-6	+	+
01-CHN-002-G 7	-	-	01-CHN-002-7	+	+
01-CHN-002-G 8	-	-	01-CHN-002-8	+	+

10%NaCl +: 生育有

-: 生育無

ゼラチン液化

+: ゼラチン液化有

-: ゼラチン液化無

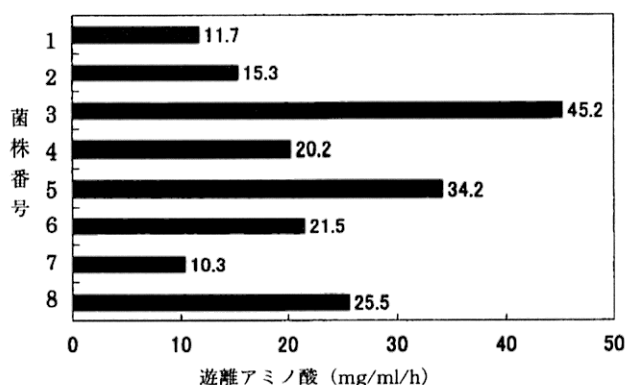


図3. ヤナギタデスターターから分離した菌株のコラーゲンに対する遊離アミノ酸含量 No. 1~8: 分離した菌株番号

能であり、有塩発酵に適応できる微生物であることが示唆された。

ヤナギタデスターターから分離したゼラチン液化活性がみられた微生物の粗酵素を、優良株の選択のため、牛の腱から取り出したコラーゲン (Type I) に作用させた結果 (図3), 分離した微生物の菌株によって遊離アミノ酸含量は使用した粗酵素 1 ml/1 時間当たりで、10.3~45.2 mg であり、基質コラーゲンに対する活性の差が認められ、活性の強い微生物の存在が明らかとなった。中でもヤナギタデスターターから分離した微生物 2 株 (01-CHN-002 No. 3, No. 5) は、特にプロテアーゼ活性の強い酵素を産生する菌株であることが示された。これらの菌株 (01-CHN-002 No. 3, No. 5) は、普通寒天培地上の性状、グラム染色性及び芽胞の形態等から *Bacillus* 属細菌と推測された。

#### 4. 分離菌産生酵素の小麦たんぱく質への作用

伝統的発酵食品中から分離した *Bacillus* 属は、疎水性部分を分解するコラゲナーゼ様酵素を産生することを報告<sup>20)</sup>してきた。また、これらの *Bacillus* 属の微生物を用いて作製した小麦製品の RAST 値を測定した結果、その値が 20 分の 1 から 30 分の 1 に低下した報告<sup>21)</sup>や、*Bacillus* 属の産生するコラゲナーゼ様酵素が  $\alpha$ s-カゼインの抗原決定基部分<sup>22)</sup>を分解した報告<sup>23)</sup>を行ってきた。このように伝統発酵食品中から分離した *Bacillus* 属から産生された酵素が、低アレルギー化の可能性を示していることから、ヤナギタデスターター (01-CHN-002) から、分離した微生物の産生する酵素の小麦たんぱく質への作用を検討した。

SDS 電気泳動での結果を図4 (I-a・II-a) に示した。小麦たんぱく質の塩可溶性画分 (I-a) においては、共通したバンド (14.4 kDa 付近) が現れた。分離株 No. 2・No. 7 株は 25 kDa, 30 kDa のバンドが残り、小麦コントロールと類似した泳動パターンを、他の菌株は 40 kDa 付近に泳動パターンが現れていた。塩不溶性画分 (II-a) においても、分離株 No. 2・No. 7 株は小麦コントロールと類似した泳動パターンを示し、塩可溶性画分と同様の結果であった。No. 3・No. 5・No. 8 株と No. 1・No. 6 株はそれぞ

れ類似した泳動パターンであり、No. 4 株は他の菌株より分解が進んでいると推察した。以上のように、小麦粉たんぱく質の塩可溶・塩不溶両画分への微生物産生酵素の作用の SDS 電気泳動による泳動パターンは、塩可溶・不溶両画分ともに小麦たんぱく質の分解の進み方も菌株により異なっていた。

小麦粉たんぱく質の塩可溶性・塩不溶性画分に菌株の産生する粗酵素を作用させ、SDS 電気泳動後、ブロッキングし、小麦アレルギー患者ブール血清と作用させた抗原抗体反応の結果を図4 (I-b・II-b) に示した。塩可溶性画分 (I-b) では、小麦コントロールと類似したバンドが現れ抗原抗体反応に変化がみられない菌株 (No. 2・No. 7) や、これに比べ、抗原抗体のバンドが薄くなり小麦たんぱく質アレルギーの分解がみられる菌株 (No. 1・No. 3~No. 6 株・No. 8 株) があった。塩不溶性画分 (II-b) では、小麦コントロールと同じ反応を示した菌株 (No. 2・No. 7) 以外は、抗原抗体反応部分の検出ができず、アレルギー部分の低減化が推察された。

小麦たんぱく質の代表的なアレルギーの  $\alpha$ -アミラーゼインヒビターは 16~17 kDa<sup>24)~26)</sup> 付近であり、分離菌株は小麦たんぱく質の代表的アレルギーを分解していることが明らかとなった。また他の菌株もコントロールと比べ 30 kDa・20.1 kDa 付近のバンドが消失し、小麦コントロールと比較すると薄いバンドであった。

ヤナギタデスターター中の微生物の産生する酵素は小麦たんぱく質の塩可溶性・塩不溶性両画分に対し、小麦たんぱく質アレルギーを分解する可能性のある菌株の存在が明らかとなった。その中でもコラーゲンに対する遊離アミノ酸の測定においても増加が見られたものは No. 3・No. 5 であり、小麦たんぱく質の塩可溶・塩不溶性画分に菌株の粗酵素を作用させた結果を加味すると No. 3 の分解が顕著であることが示唆された。

今後は小麦アレルギーの低アレルギー化に関与しているこれらの分離した微生物の同定を予定している。

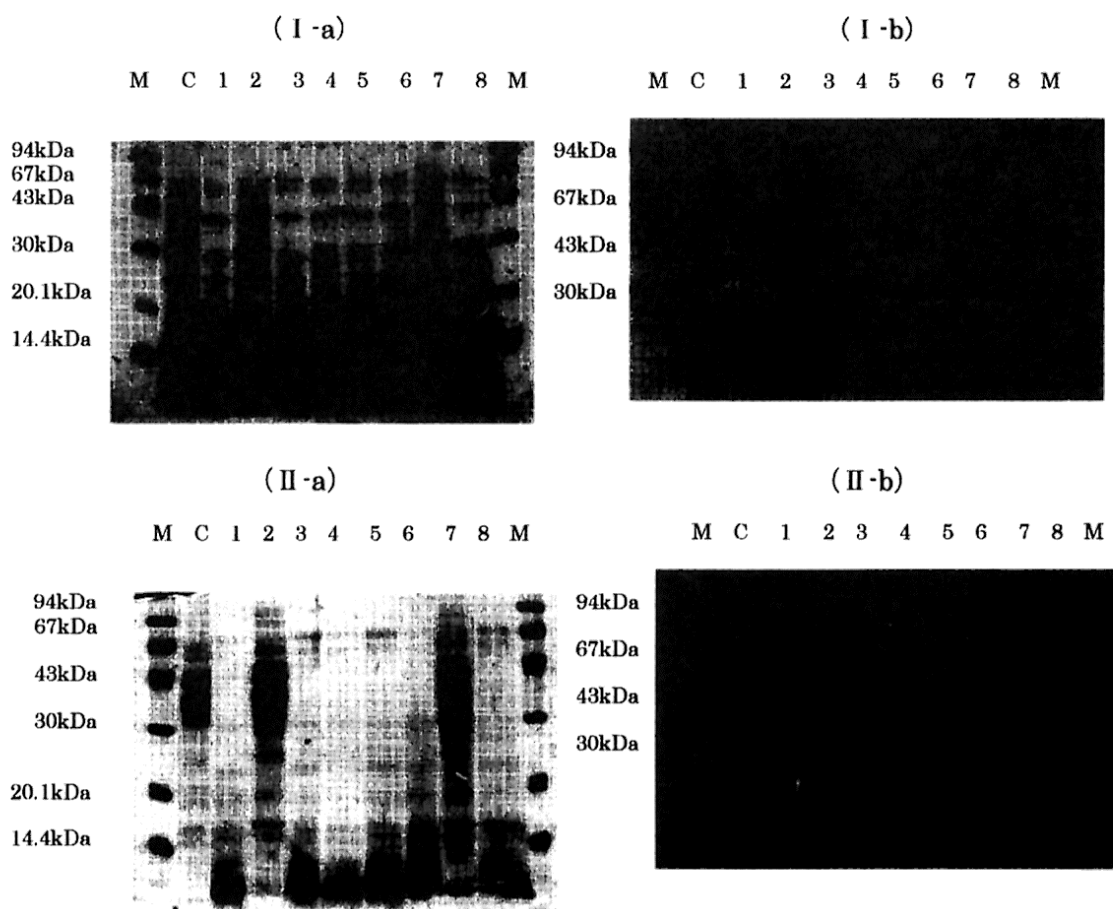


図4. ヤナギタデスターターから分離した菌株の産生酵素の小麦たんぱく質への作用  
 (I-a) 塩可溶性画分 SDS-PAGE (I-b) 塩可溶性画分 イムノブロット  
 (II-a) 塩不溶性画分 SDS-PAGE (II-b) 塩不溶性画分 イムノブロット  
 No. 1～8: 分離した菌株番号 M: マーカー C: 小麦コントロール

## 要 約

中国浙江省象山県でのタデ科植物を用いた伝統的発酵食品について以下のことが明らかとなった。

1. ヤナギタデスターターは、饅頭や酒作りに利用されていた。
2. ヤナギタデスターター中には *Bacillus* 属, *Lactobacillus* 属, *Streptococcus* 属, イースト, かびなどの微生物が見られた。
3. ヤナギタデスターターの微生物にはコラーゲン基質を分解するものが認められた。
4. ヤナギタデスターター中の微生物が産生する粗酵素を用いて SDS 電気泳動および抗原抗体反応を行った結果, 小麦たんぱく質の塩可溶性画分・塩不溶性画分のアレルゲンたんぱく質を分解する菌株が見られた。

## 文 献

- 1) 主婦の友社編 (1957), 中国料理の基礎, 主婦の友社, 東京, 118-119.
- 2) 阿久津正蔵 (1944), パンの科学, 生活社, 東京, 90.
- 3) 仲尾佐助 (1972), 料理の起原, 日本放送出版協会, 東京, 45-70.
- 4) 長野宏子, 大森正司, 庄司善哉 (1987), 老麺法によるスターターの調製とその一般的使用について, 日本家政学会誌, **38**, 865-869.
- 5) 長野宏子, 大森正司, 庄司善哉 (1989), 老麺法発酵による生地および饅頭の加工特性, 日本家政学会誌, **40**, 221-225.
- 6) 山西倫太郎, 辻英明, 板東紀子, 小川正 (1996), 各種大豆製品のもつアレルギー反応誘導活性の検討—培養細胞を用いたアレルゲン性の分析—, 大豆たん白質研究会会誌, **17**, 59-65.
- 7) 米倉政実 (2001), 納豆菌プロテアーゼを用いたピーナツアレルゲンの低減化技術の開発, 平成 12 年度飯島記念食品科学振興財団年報, 156-161.
- 8) Tsumura, K, Kugiyama, W, Bangou, N, Hiemori, M. and Ogawa, T. (1999), Preparation of Hypoallergenic Soybean Protein with Processing Functionality by Selective Enzymatic Hydrolysis. *Food Sci. Technol. Res.*, **5**, 171-175.
- 9) M. Watanabe, T. Suzuki, Z. Ikezawa, and S. Arai (1994), Controlled enzymatic treatment of wheat proteins for production of hypoallergenic flour, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 388-390.

- 10) S. Tababe, S. Arai, Y. Yanagihara, H. Mita, K. Tkahashi, and M. Watanabe (1996), A major wheat allergen has a Gln-Gln-Gln-Pro-Pro motif identified as an IgE-binding epitope. *Bioche. Biophys. Res. Commun.*, **219**, 290-293.
- 11) 田辺創一, 渡辺道子 (2001) 低アレルゲン化小麦粉誌食品の開発, 日本食品科学工学会誌, **48**, 12, 948-951.
- 12) 佐野 豊 (1972), 組織学研究法, 南山堂, 東京, 302.
- 13) 杉山純多, 渡辺信, 大和田紘一, 黒岩常祥, 高橋秀夫, 徳田元編 (2001), 新版微生物学実験法, 講談社サイエンス・フィック, 東京, 199.
- 14) 光岡知足 (1972), 腸内細菌の世界改訂版, 叢文社, 東京, 53.
- 15) Hisano, T., Abe, S., Wakashiro, M., Kimura, A. and Murata, K. : Isolation and Properties of Collagenase with Caseinolytic Activity from *Pseudomonas* sp., *J. Ferment. and Bioeng.*, **68** (6), 399-403 (1989).
- 16) H. Rosen (1957), A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acid, *Archive. Biochem. Biophys.*, **67**, 10-15.
- 17) V. K. Leammli (1970), Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4, *Nature*, **227**, 680-685.
- 18) 田村學造, 野白喜久雄, 秋山裕一, 小泉武夫編者 (1990), 酵母からのチャレンジ, 技術堂出版, 東京, 101.
- 19) 研成社編 (1999), プランタ, 研成社, 東京, **64**, 53-56.
- 20) Hiroko NAGANO and To Kim Anh (2000), Purification of Collagenase and Specificity of Its Related Enzyme form *Bacillus subtilis* FS-2, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64** (2), 181-183.
- 21) Hiroko NAGANO, Shiro KASUYA, Zenya SHOJI, Asako TAMURA, Masashi OMORI, Sadaaki IIBUCHI and Motoo ARAI (2003), Identification of Microorganisms in Traditional Asian Foods Made With Fermented Wheat Flour and Their Hypoallergenization, *Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 1, 7-10.
- 22) Baldo BA. (1984) Milk allergies. *Aust J Dairy Technol.*, **39**, 120-128.
- 23) L.H. TRAN and H. Nagano (2002), Isolation and Characteristics of *Bacillus subtilis* CN 2 and its Collagenase Production, *Journal of Food Science*, **67**, 3, 1184-1187.
- 24) L.Gómez, E.Martin, D.Hernandez, R. Sández-Monge, D. Baeber, Pozo, V. del, Andres, B. de, A. Armentia, C. Lahoz, G. Salcedo, and P. Palomino (1990), Members of alpha-amylase inhibitors family from wheat endosperm are major allergens associated with baker's asthma. *FEBS Lett.* **261**, 85.
- 25) J. Fränken, U. Stephan, H. E Meyer, W. König (1994), Identification of alpha-amylase inhibitor as a major allergen of wheat flour, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **104**, 171-174.
- 26) J. M. James, J. P. Sixbey, R. M. Helm, G. A. Bannon, and A. W. Burks (1997), Wheat alpha-amylase inhibitor : a second route of allergic sensitization. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, 239-244.

(平成 15 年 9 月 8 日受付, 平成 16 年 8 月 12 日受理)