

グリーンナノ企画特集<第11回>

食品の新たな可能性を求めて —食品素材のナノスケール加工と評価を中心に—

食品総合研究所 食品工学領域 杉山滋ユニット長に聞く



1. はじめに

我々の生活を支える食品，その新たな機能を求めて農林水産省プロジェクト「食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発」が進められている。このプロジェクトは食品のナノスケール加工とナノスケール食品素材の特性評価を通じ，食品の新需要開拓，高付加価値化による自給率向上を志向する。プロジェクトの代表研究者である農業・食品産業技術総合開発機構 食品総合研究所（食総研）食品工学研究領域 ナノバイオ工学ユニット 杉山 滋 ユニット長をつくば市の一角，農林団地内にある研究所に訪ねた。食品のナノサイズ化とそこから生まれる食品の新たな機能及び安全性に重点を置くプロジェクトの内容とプロジェクトの重要項目でもあるナノスケール評価技術のこれまでの成果に加えて，プロジェクト以外に進めているナノテクノロジー応用研究についてもお話を伺った。

（取材日：2008年11月26日）

2. プロジェクト「食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発」

2.1 プロジェクトの概要

農林水産省のナノテクノロジープロジェクトとしては平成14年度～平成19年度に「生物機能の革新的利用のためのナノテクノロジー・材料技術の開発」があった。このプロジェクトは汎用ナノセンサー，マイクロ流路（チャンネル）などの開発を行い，食糧に特化したものではなかった。これに続き，農林水産省で農林水産関係の研究開発を統括する農林水産技術会議において食品に特化したナノテクノロジープロジェクトとして企画されたのが本プロジェクトである[1]。平成19年度からのプロジェクトにより食品素材のナノスケール粉碎・分離技術を平成23年度までに確立することが目標とされている。プロ

ジェクトの背景にはナノテクノロジーの世界的進展と競争激化，ナノテクノロジーの食品応用の進展などがある。

しかし，ナノスケール化したとき食品にどんな性質が現れるか，物理的・化学的データは揃っていない。体内に入った時や，環境に存在する時の影響も現時点では不明な部分が残る。これまでのところ食品をマイクロメートル（ μm ）サイズには加工できるが，ナノメートル（ nm ）にはしづらい。一方，でんぷん，蛋白，脂質等の食品素材の粒子が μm から nm へと細かくなると，食感が変わり，体内に吸収され易くなることが知られている。そこでプロジェクトでは食品素材のナノスケール加工技術，ナノスケール評価技術を開発し，食品素材がナノスケールに至ったとき何が起るかの基礎データを採ることとした。これらの加工技術や基礎データを基に高齢化社会に対応した加工食品開発等による新需要開拓や国産農林水産物の高付加価値化が期待できる。

プロジェクトは発足2年余りのため，公開の報告書はまだ出ていない。以下，プロジェクトの概要とナノスケール評価技術について記し，それ以外に進めているナノテクノロジー応用研究は章を改めて記すことにした。

2.2 プロジェクトの構成

プロジェクトの全体構成図を図1に示した[2]。ナノスケール加工技術を開発し，この技術でナノ食品素材を製作する。この素材の物理化学的特性・加工適性等を解明し，実験動物等による生体影響を評価する一方，食品素材の品質安定性を解明する。さらに，食品素材のナノスケール評価技術を開発して微細構造・物性を評価すると共に，ナノテクノロジーによる食品素材の新機能創出を図る。

2.3 プロジェクトの研究内容

研究内容は図2のように「食品素材のナノスケール加工基盤技術の開発」，「物理化学特性評価／体内動態評価

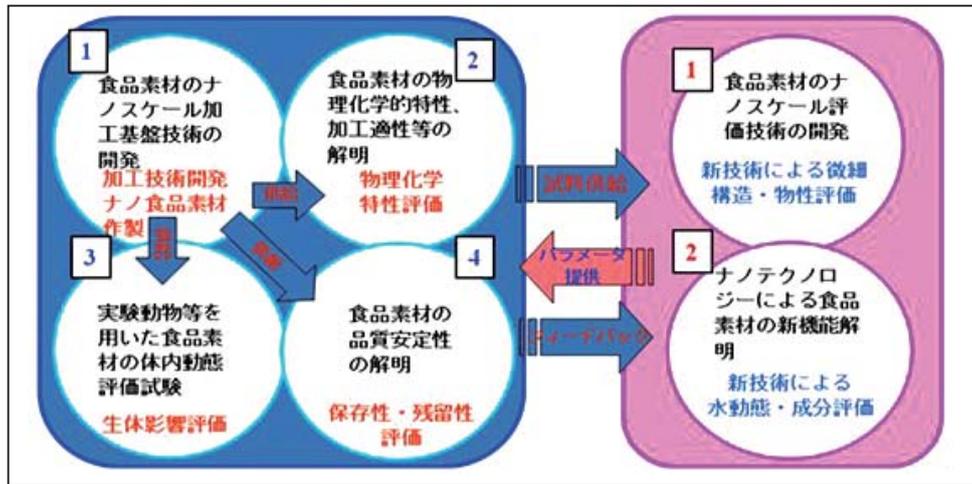


図1 プロジェクト全体構成概念図 (提供：農研機構食品総合研究所)

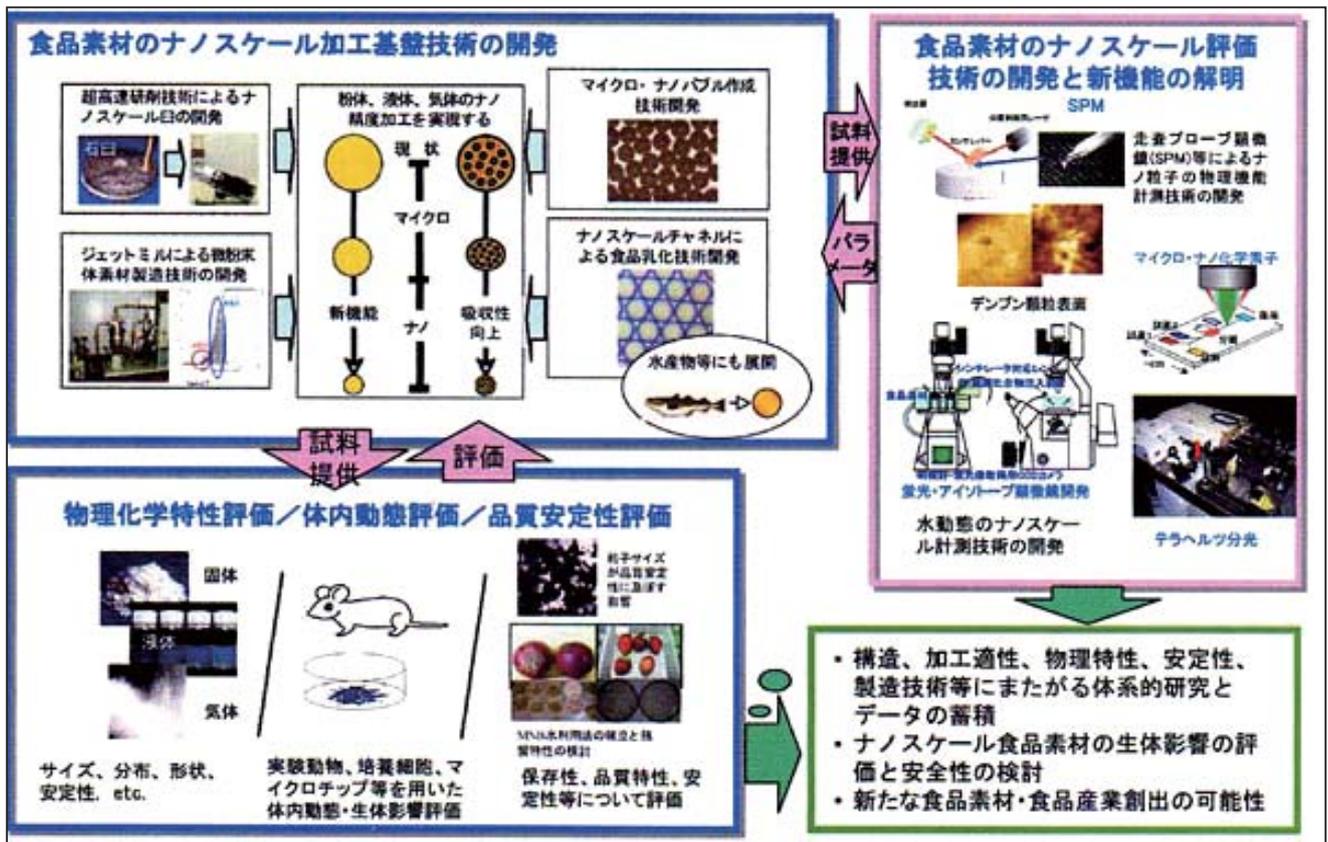


図2 プロジェクトの研究内容 (提供：農研機構食品総合研究所)

品質安定性評価」,「食品素材のナノスケール評価技術の開発と新機能の解明」の3つのグループに分かれる。食品素材のナノスケール加工基盤技術の開発のグループは開発した技術で作製した試料を他のグループに提供する [3]。

2.4 ナノスケール加工

食品素材のナノスケール加工基盤技術の開発としてナノスケール臼による超高速研削, ジェットミルによる微

粉末素材製造, マイクロ・ナノスケール水産物加工, エマルジョン(食品乳化)技術, マイクロ・ナノバブル作製を採り上げた。

(1) 穀物のナノスケール加工

超高速研削・微粉末素材製造の対象は穀物とし, 穀物の中で先ず米を選んだ。小麦よりも米を先に採り上げたのは米の新しい用途を見出し, 米の消費拡大を図りたいためでもある。ナノスケール加工の最終目標サイズは100nmとしている。粉碎した米は粒径別に評価して粒径

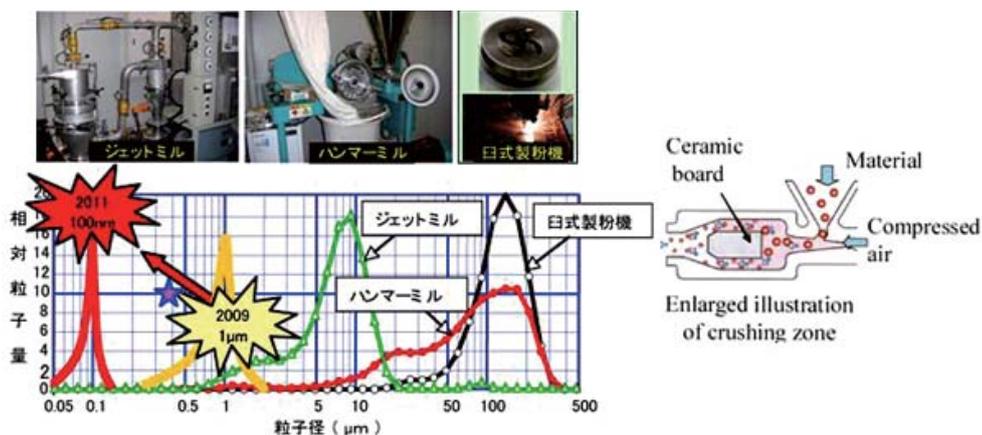


図3 ナノスケール加工とジェットミルの原理 (提供：農研機構食品総合研究所)

の影響を調べる。

一般に食品の粉は $100 \mu\text{m}$ 以上のものが多く、 $30 \mu\text{m}$ 以下だと粘性が下がって使い難くなるのが普通である。ただ、蕎麦について食総研の研究者が $100 \mu\text{m}$ 以下に粒径を揃えると、蕎麦粉が使い易くなり、十割蕎麦を作れることを見出し、実用化した。この場合は、蕎麦の実の種皮を取らずに挽いた全粒粉のため、一緒に挽いた蛋白がつなぎの役している。同様に、小麦全粒を挽いた数十 μm の粉を使用したパンでは、通常的全粒粉パンがごわごわ感が残るのに対し、非常に食感が滑らかな全粒粉パンとなることがわかった。全粒粉パンは、ミネラルやビタミンを含むが、その食感のため好まない人も多い。しかし、微細化全粒粉を使用すれば、そのような問題も解消される。このパンについては、既に試験販売が始まっている。

図3に穀物のナノスケール加工の手段を示した[3]。市販の米粉は概ね $100 \mu\text{m}$ 以上のサイズであるのに対して、プロジェクトのターゲットは $100\text{nm} \sim 100 \mu\text{m}$ であり、製品化には数十 μm を狙う。米を細かくするのに金属製の臼(ステンレスミル)を使うが、金属臼では数十 μm までにしかできない。さらに細かくするにはジェットミルを使う。金属臼で粉碎した粉をジェット気流の上に注ぎ、粉を気流で吹き飛ばしてセラミック板に吹き付ける。このときジェット気流の流速はマッハ2を超える。米の粉は壊れ難い。小麦や蕎麦の方が軟らかくて加工し易い。図3には金属臼、ハンマー臼、ジェットミルの写真とその下に作られた穀物粉の粒度分布を併記してある。加工寸法には年度目標を設け、米のナノ加工は平成21年度中に $1 \mu\text{m}$ を切ることを狙う。

ナノスケール加工は穀物だけでなく、魚などの水産物にも展開する。水産物など肉類はカッターでスライスする。水産物の肉が細かく碎ければ練り物などに使えるようになる。

(2) マイクロ・ナノバブルの活用

マイクロ・ナノバブルは $50 \mu\text{m}$ 程度以下の気泡のことで、気体を内包した水滴である水バブル(マイクロナ

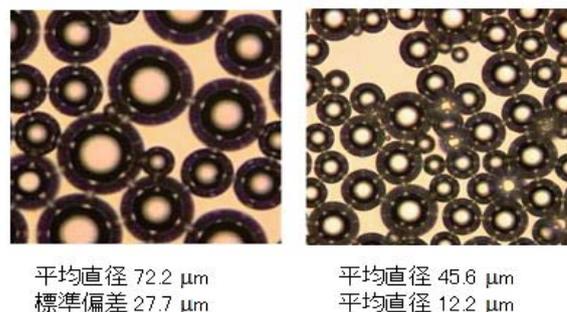


図4 マイクロ/ナノスケールバブル (提供：農研機構食品総合研究所)

ノバブル水)を使う。水バブルに含まれるガスは空気、オゾン、酸素などである。青果物などの対象物に水バブルを吹き付けて殺菌するものである。本プロジェクトではバブルの製造方法、特性、殺菌性を調べている。バブルが小さくなると安定性が増し、バブル消滅の半減期が長くなるという。図4にバブルの写真を示した。今はまだマイクロメートルサイズでこのように観察できる。ナノになり、顕微鏡で見えなくなったバブルをどう測定評価するかが問題であるが、最新の検出手法の組み合わせにより目処がつつある。

(3) ナノスケールチャネルによる食品乳化技術

ナノスケールチャネルによる食品乳化(エマルジョン)技術はマイクロチャネルのナノスケール化に当たる。マイクロチャネルは図5に示すような大きさが $1 \sim 1000 \mu\text{m}$ の溝型又は貫通型の微小流路である。マイクロチャネルを多数配列させたマイクロチャネルアレイにより、



図5 マイクロチャネル乳化による均一径微小液滴の作製 (提供：農研機構食品総合研究所)

均一な微小液滴が分散したエマルジョンを作り、液体系のナノ食品素材として乳化食品に利用する。

2.5 安全性評価

ナノスケール食品素材の加工技術開発と並行して、安全性の評価を進めるのがこのプロジェクトの特徴である。このため、アドバイザリーボードを設け、人文系の方も含めて食品安全性の専門家に研究上の助言を求める体制になっている。図2左下の枠内に示した実験動物を用いた食品素材の体内動態評価試験は農水省関連の研究機関を中心に大学・企業も加わったチームが担当し、実行する。図6に示すようにナノ食品素材の生体影響評価に用いる培養細胞系の開発とその培養細胞系を用いた試験、ナノ食品素材を動物に投与したときの生体影響の評価を行う。動物実験を含む安全性評価はプロジェクトの重要項目の一つであり、積極的に進めている。

ナノ食品素材の大きさに関し、微細粒子は300nm以上なら細胞に取り込まれないといわれている。70～300nmでは細胞に入っても細胞核には到達しないという。しかし、70nm以下だと細胞核に入る可能性がある[4]。

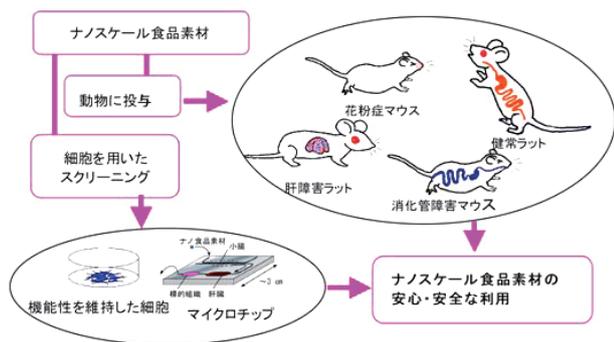


図6 食品の生体影響評価（提供：農研機構動物衛生研究所）

そこで欧米とも100 nm以下のナノ食品について、サイズに由来する新たな特性や機能の試験を進めている。

安全性の問題はナノ食品の形態によって生体への影響が異なる。固体系の穀物微粉砕物ではマクロ食品を作るときに工場の作業者がナノ食品粒子に曝露される可能性も生じるため、現在、考えられる影響について、動物実験による検証を進めている。場合によっては厚生労働省通知[5]に沿った対策も必要になる可能性がある。消費者に届く時はマクロな加工食品になっているからナノサイズであることの問題は消滅している。液体系のナノエマルジョンは消費者が口から摂取するため、動物に経口投与し、免疫反応や吸収動態などが通常と異なるかどうかを評価する。気体系のナノバブル水は殺菌等に用いられるので食品に残留する細菌に対する影響を評価している。

ナノスケールにすると、体積に比べ、表面積が大きくなるので保存性・安定性も問題になる。酸化も進み易い。従って、ナノにすることにより食品素材としてよい性質が出て来たら、その保存法を考えねばならない。評価用試料の配布でも問題なので試料ができたらずぐ配るようになっている。

2.6 食品のナノスケール評価技術

このプロジェクトで用いる評価装置のひとつが走査プローブ顕微鏡（SPM, Scanning Probe Microscope）である。ここでは図7の2つの形式のものを用いている。

- (1) 原子間力顕微鏡（AFM, Atomic Force Microscope）
- (2) 走査型近接光学原子間力顕微鏡（SNOM/AFM, Scanning Near-field Optical/Atomic Force Microscope）

AFMは表面粗さ計の精密なものと思えばよい。カンチレバー先端にSiプロセスで作った探針（プローブ）を付けて試料表面に近づける。針が表面に近づくにつれて引力が働き、試料に接触すると斥力が働く。この原子間力にバラ

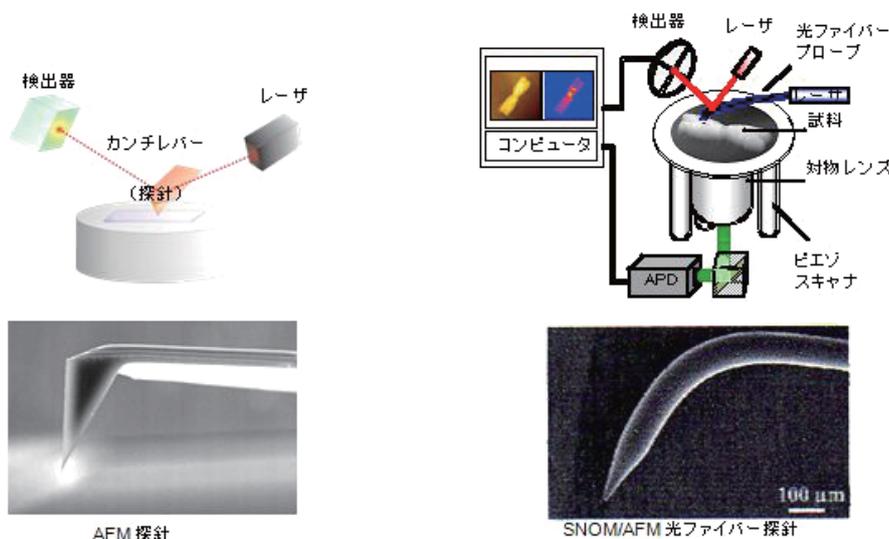


図7 AFM, SNOM/AFMの構成原理図とプローブ（提供：農研機構食品総合研究所）

ンスするようにカンチレバーに力を加える。カンチレバーの背面にレーザ光を当て、反射光を検出して平衡位置を求める。平衡するようにカンチレバーに加える制御信号が試料表面の凹凸に対応する。針はピエゾ素子で3軸方向に動かし、その移動距離で座標を読み、凹凸信号を画像再生して、ナノレベルの分解能で形状像を得ることができる。また、探針（プローブ）は物体の切断、操作に用いることもできる。

Siの針の代わりに光ファイバの針を用いるのがSNOM/AFMである。光ファイバの開口は50～100nmで表面はアルミコートしてある。励起光をファイバに送ると、励起光に対応した蛍光色素が塗ってある所が光る。検出器は蛍光だけを検出する。近接場光のため分解能は開口径で決まるから、通常の顕微鏡分解能が波長程度であるのに対し、波長以下の分解能で観察できる。Siの針が光ファイバの針になったものだからAFMの機能も持つので、AFM像の上に蛍光像が載る。形状像と同時に通常の光学顕微鏡を超える分解能で蛍光像を得ることができる [6]。

プロジェクトでは、ここで紹介したSPM以外にも、他グループにおいてマイクロ・ナノ化学システムによるナノスケール単一食品粒子の検出技術、量子ドット増強テラヘルツ分光による非接触成分検出技術、アイソトープ顕微鏡やエバネッセント顕微鏡による食品中の水動態評価技術等の開発を進めている。

2.7 ナノスケール食品の計測評価の例

でんぷん顆粒表面をAFMで観察した [7]。でんぷん粒子の内部構造にはまだ不明な部分が残されている。タンパク質、アミノロース、アミノペプチンから成り、アモルファスと結晶の組合せらしいがよくわからない。そこで、でんぷん粒子を樹脂に包埋し、それを非常に薄くスライスした試料（切片）を作成して、その表面をAFMに

より観察した。AFMは表面が平坦なほど分解能が期できるが、凹凸の激しい表面では分解能が劣る。切片の表面は平滑なため、高い分解能ででんぷん粒子の内部構造を可視化できた (図8)。

3. その他のナノテクノロジー応用研究

3.1 SPMのゲノム解析への適用

上記プロジェクトの他、研究室ではSPMを応用した新たな食品及び生体試料の解析・評価技術の開発も進めている。ここでは、その一端を紹介する。SNOM/AFMとAFMを染色体あるいはゲノムの解析に用い、図9にその過程を示した [8]。

ある遺伝子または特定の塩基配列に異なる波長の2つの蛍光標識DNAをハイブリダイゼーション（結合）し、蛍光像（緑、青）と染色体の形状像と重ねる。同じ針のため重ね合わせができ、蛍光信号の載っている場所（ゲノム上の物理位置）が分かる。また、AFMで形そのものを見て、その位置でAFMのプローブをメスとして用い、染色体を切り取る。切り取ったらDNAを増幅して解析する。現在はこの増幅の再現性が低い、切り取ったところ全部の増幅は難しくても一部だけでも増えればゲノム

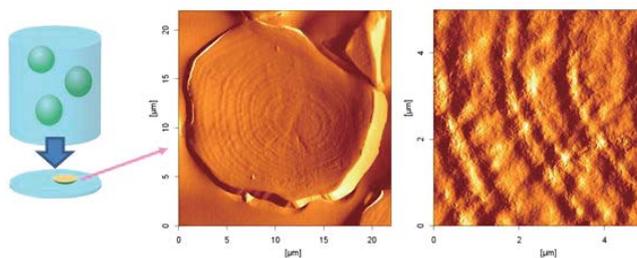


図8 でんぷん粒子内部構造のAFM観察 (提供：農研機構食品総合研究所)

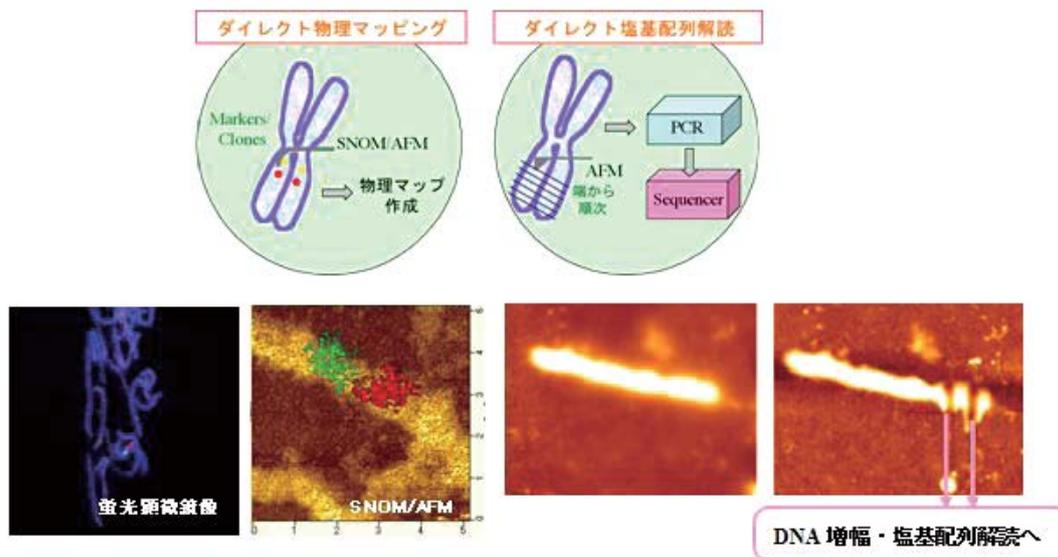


図9 SPMのゲノム解析への適用 (提供：農研機構食品総合研究所)

のライブラリーと比較して特定の DNA クローンが選べ、それを手がかりに切断領域の物理地図作成、塩基配列の取得が可能となる。この技術は、ゲノム塩基配列情報が解読されていない生物種でも、必要とする対象領域のみの解析ができるため、バイオ関係の研究に有効である。

重要作物の遺伝子が解析された場合、その直接利用は遺伝子組み換えである。しかしながら、遺伝子組み換えは米国なら食品でも可能だが、日本では現時点では食品素材には使用しない。遺伝子組み換えに代わるこの技術の積極的利用法の一つは育種の支援である。遺伝子が特定できれば、従来から行われている育種法によって交配を行う時の指標になる。指標を持つての育種のため効果が早く現れることが期待できる。

3.2 タンパク質の解析とアレルゲン検出

AFMの微弱力測定機能により、タンパク質の力学的特性やタンパク質間相互作用の解析ができる [9][10]。針に抗体を付け、対象に抗原を付けておく。抗体と抗原が反応して結合すると針が上がらなくなる。力を加え、破断させて破断力を測ることにより、タンパク質の相互作用の有無や強さが分かる。抗体・抗原に限らずアレルゲンなど特定のものの所在を調べられる。このような使い方はアレルゲン検査装置として装置化できるかもしれない。食品中のアレルゲン検査を初めとして、例えば、抗原に

杉花粉を貼付け、患者の抗体との反応で花粉症への診断に役立てる。また、食品に抗原を付け、針先に付けた患者の抗体との相互作用の有無を見ることにより、アレルゲンの検査ができるだろう。

しかし、相互作用と言っても力は数十から数百ピコニュートン (pN) である。このくらいの力だと計測値はブラウン運動の影響を受けてバラつく。一つのデータだけでは決められないので、ヒストグラムを描いて確認する統計処理を行う。ピークがあれば相互作用があると判断する (図 10)。

3.3 染色体ナノ FISH

染色体の立体構造には、まだ不明な点が多く残されている。そこで蛍光を利用する FISH (Fluorescence in situ Hybridization) で標識した特定配列の染色体上の遺伝子分布を解析して、染色体高次構造に対する知見が得られた [11]。SNOM/AFM と FISH を組み合わせることで光学顕微鏡を超えるナノの分解能が得られるのでナノ FISH と呼んだ。特定の塩基配列 (テロメア配列) をもつ蛍光標識一本鎖 DNA をオオムギ染色体に結合させ、光学顕微鏡では点としてしか捉えられないテロメアを、広がりもつ領域として可視化するなどを行なった (図 11)。

また、DNA を基板にたらし、界面の表面張力を使って DNA をゆっくり伸ばすことで DNA を直線状に固定して

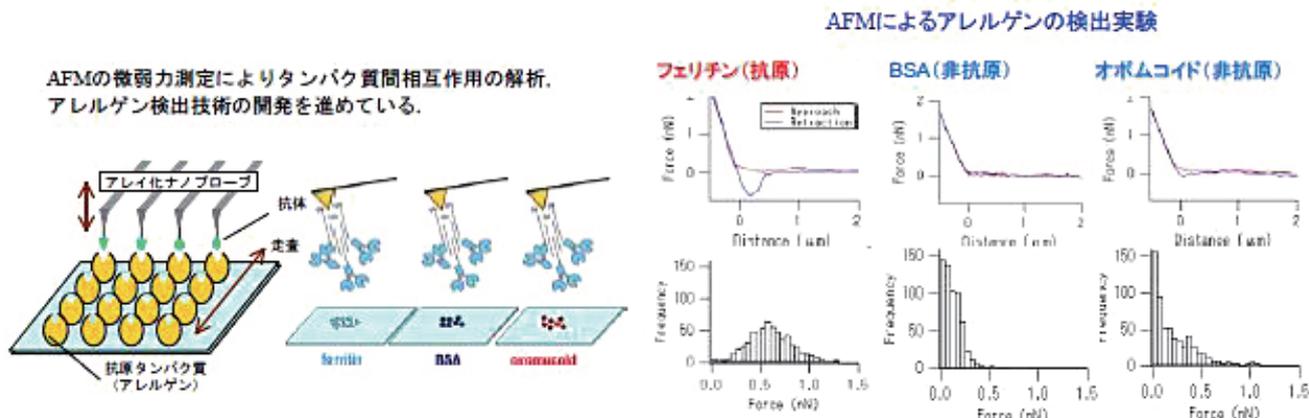


図 10 SPM によるタンパク質の解析とアレルゲン検出 (提供: 農研機構食品総合研究所)

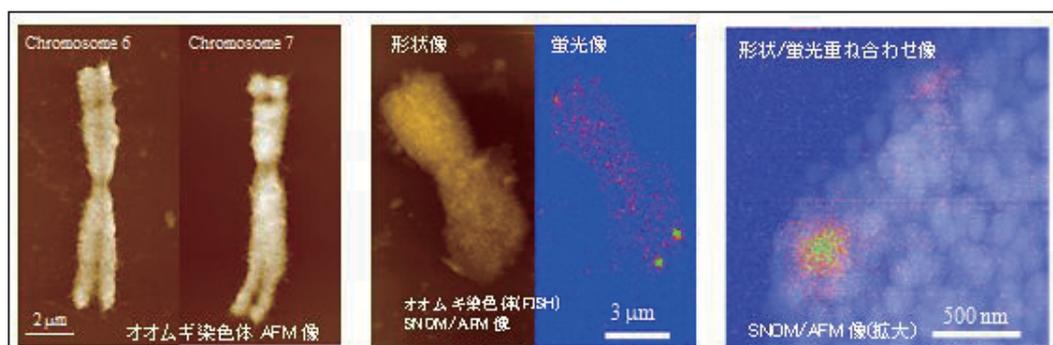


図 11 オオムギ染色体の SNOM/AFM 観察 (ナノ FISH) (提供: 農研機構食品総合研究所)

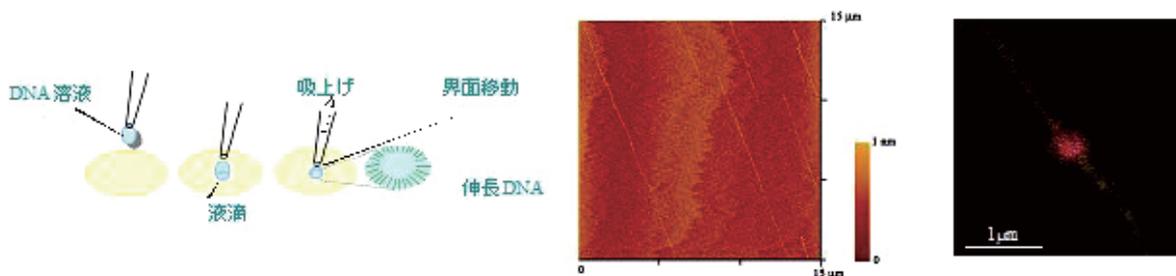


図 12 DNA の基板上固定と配向制御 (提供: 農研機構食品総合研究所)

左図: DNA 伸長固定法の模式図。

中央図: 伸長固定した DNA の AFM 像。右側のバーは、高さを示している。

右図: 伸長固定した DNA 上の特定塩基配列の SNOM/AFM 像。

ナノワイヤーとし (図 12 左, 中央) [12][13], その DNA 上の特定の塩基配列部位 (15 塩基の領域) を FISH により蛍光標識して SNOM/AFM によりその位置を検出することができた (図 12 右) [14].

4. おわりに

世界の根源的問題として食糧, 水の問題がある. 食には栄養 (エネルギー), 食味・食感 (美味), 病気予防機能の 3 要素がある. 農林水産省「食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発」プロジェクトは食品としては未知のナノスケール化をしたらどんな性質が出るかを解明し, ナノ化した時の安全性を確かめることを狙っている. 新しい加工技術の開発と未知の性質を明らかにすることから, 新しい加工食品が生まれ, 新規需要が開拓されよう. 新しい付加価値が見出され, 自給率の向上につながることも期待される. このプロジェクトの成果は増産より有効利用にあるように思える. その一方, SPM を応用したナノスケール解析技術は多岐にわたる成果を挙げて来た. 遺伝子情報を明らかにしたのもその一例である. 遺伝子情報は交配や育種に指針を与え, 食用植物などの品種改良の効率化に役立つ. 食品総合研究所は食品の機能性, 品質保持性, 安全性などを主な研究分野とする. 現在進行中のプロジェクトを通じての研究所の使命の追求が将来の食の新しい需要を生み, その安全を保障するものとなることが期待される. ナノテクノロジーによる豊かで新しい食品価値の創造である.

参考文献

- [1] 食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発 農林水産技術会議
- [2] 農水省ナノテクノロジープロジェクトー食品素材のナノスケール加工及び評価技術の開発ー 食品総合研究所 杉山滋
- [3] 岡留博司, 五月女格, 竹中真紀子, 五十部誠一郎, “ジェットミル等による食品素材の微粒子化と特性解明”,

日本食品工学会年次大会講演要旨集 Vol.9th, p. 123 (2008 年 7 月).

[4] M. Chen and A. von Mikecz, “Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂ nanoparticles”, *Experimental Cell Research*, Vol. 305, No.1, pp.51-62 (2005).

[5] 「ナノマテリアル製造・取扱い作業現場における当面のばく露防止のための予防的対応について」平成 20 年 2 月 7 日厚生労働省通知.

[6] 大谷敏郎, 杉山滋, “走査型プローブ顕微鏡による生体と食品のナノレベル計測”, *食糧その科学と技術* No.43, pp. 17-31 (2005 年 3 月).

[7] 塚本和己, 杉山滋, “トウモロコシ澱粉内部構造の AFM 観察” *表面科学* Vol. 30, No. 9, pp. 484-490 (2009)

[8] 塚本和己・桑崎誠剛・山本公子・七里元晴・吉野智之・大谷敏郎・杉山滋, “原子間力顕微鏡 (AFM) による染色体の切断および回収”, *表面科学* Vol. 26, No. 7, pp. 404—409 (2005).

[9] 杉山滋, 若山純一, 関口博史, 佐宗めぐみ, 大谷敏郎, “抗原抗体反応の検出方法と抗原抗体反応検出用キット”, 特願 2005-336594 2005 年 11 月 22 日出願, 特開 2007-139681.

[10] Jun'ichi Wakayama, Hiroshi Sekiguchi, Satoshi Akanuma, Toshio Ohtani, Shigeru Sugiyama, “Methods for reducing nonspecific interaction in antibody-antigen assay via atomic force microscopy”, *Anal. Biochem.* Vol. 380, 51-58 (2008).

[11] Daisuke Fukushi, Motoharu Shichiri, Shigeru Sugiyama, Tomoyuki Yoshino, Shoji Hagiwara, Toshio Ohtani “Scanning Near-field Optical/Atomic Force Microscopy detection of fluorescence in situ hybridization signals beyond the optical limit”, *Exp. Cell Res.* 289, 237-244 (2004).

[12] Hidenobu Nakao, Hideki Hayashi, Tomoyuki Yoshino, Shigeru Sugiyama, Kazunori Otobe, Toshio Ohtani “Development of Novel Polymer Coated Substrate for Straitening and Fixing DNA”, *Nano Letters*, Vol.2, No.5

475-479 (2002).

[13]Megumi Sasou, Shigeru Sugiyama, Tomoyuki Yoshino, Toshio Ohtani, "Molecular Flat Mica Surface Silanized with Methyltrimethoxysilane for Fixing and Straightening DNA", Langmuir, Vol. 19, No. 23, 9845-9849 (2003).

[14]JongMin Kim, Tamaki Hirose, Shigeru

Sugiyama,Toshio Ohtani, Hiroshi Muramatsu, "Visualizing a Hybridized PNA Probe on a DNA Molecule with Near-Field Optical Microscopy", Nano Letters, Vol. 4, No.11, 2091-2097 (2004).

(古寺博)

