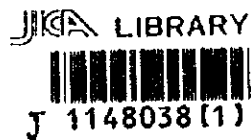


平成10年度
 帰国研修員フォローアップ調査団報告書
 - 酵素工学コース -

平成10年12月

国際協力事業団
 大阪国際センター



大阪セ
JR
98-06



1148038 [1]

平成10年度
帰国研修員フォローアップ調査団報告書
－酵素工学コース－

平成10年12月

国際協力事業団
大阪国際センター

序文

この報告書は、国際協力事業団大阪国際センターが実施している集団研修「酵素工学」に参加した帰国研修員に対するフォローアップ事業の一環として派遣した調査団による現地調査の結果をまとめたものです。

本コースは昭和53年度に特設コースとして開設され、資格要件、カリキュラムなどの改善を経て現在に至り、これまでに25ヶ国103名の研修員を受け入れました。本コースは平成10年度で20回を終了し、集団研修コース改廃基準により見直しの対象とされ、これまでの研修成果や応募状況等を勘案のうえ新たに平成11年度より「応用微生物酵素工学」として実施されることになりました。

本調査団は平成10年9月16日から10月3日までの18日間、ブラジル、コロンビアを訪問し、帰国研修員所属機関、帰国研修員の活動状況及び当該分野に於ける両国の状況の把握に努め必要に応じて助言を行いました。また、公開セミナーを実施し、酵素工学分野に関する最近の日本の研究成果に係る情報を提供し、意見交換を行う機会を持ちました。

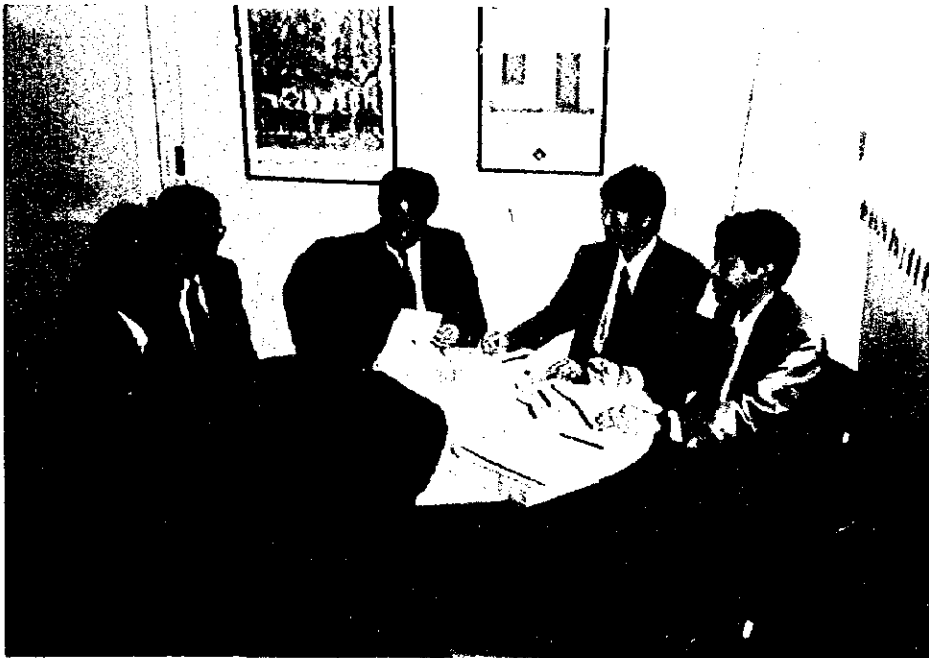
本報告書が、両国の酵素工学研究の現状、帰国研修員の活動状況などについて関係各位の一層深いご理解を頂く一助となり、酵素の応用に関連した分野の研修コースの改善に資することができれば幸いです。

なお、本調査団派遣にあたり御協力を頂きました大阪市立工業研究所に改めて謝意を表します。

平成10年12月1日
大阪国際センター
所長 小野 英男



ブラジル：食品技術研究所（コーヒーの官能試験）



ブラジル：カンピーナス大学国際局長にインタビュー



ブラジル：カンピーナス大学食品工学部研究室
(右端が帰国研修員Ms.Glaucia Maria Pastore)



ブラジル：カンピーナス大学食品工学部研究室
(左から 2 人目が帰国研修員Ms.Lucia Regina Santos Jafelic、左から 3 人目が帰国研修員
Ms.Harumi Sato)



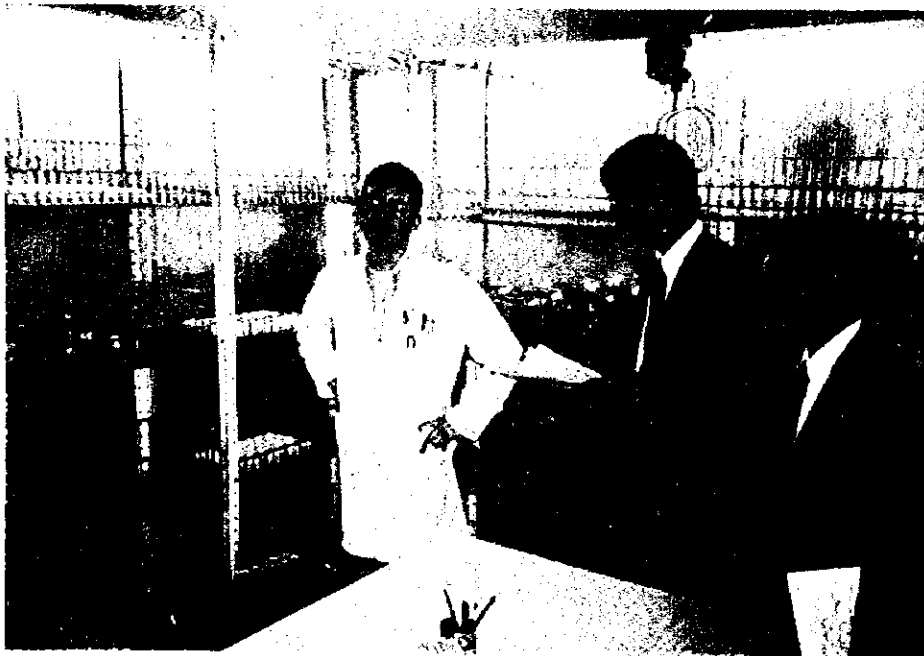
コロンビア：JICA事務所にて帰国研修員インタビュー
（前列左から帰国研修員Ms.Yolanda Rico Rico、 Ms.Elizabeth Lopez Rico、 Ms.Claudia Patricia Parra Gomez）



コロンビア：保健庁国立衛生研究所（中央が帰国研修員Dr.Sofia Duque Beltran）



コロンビア：国立大学理学部化学科研究室



コロンビア：国立大学附属バイオテクノロジー研究所バイオ農業研究室



コロンビア：公開技術セミナー（Hotel Suite Jones会議室）



コロンビア：公開技術セミナー（Hotel Suite Jones会議室）

目 次

序文

I. 本研修コースの概要

- (1) 背景1
- (2) 目的.....1
- (3) 研修方法.....1
- (4) 研修項目.....1
- (5) 国別年度別受入実績.....3

II. 調査団の概要

- (1) 派遣目的.....4
- (2) 団員構成.....4
- (3) 調査日程.....5
- (4) 帰国研修員名簿.....6
- (5) 主要面会者.....7

III. 各訪問先における具体的状況

1. ブラジル

- (1) 援助窓口機関.....10
- (2) 帰国研修員所属先.....11
- (3) 帰国研修員に対する質問票集計結果.....15

2. コロンビア

- (1) 援助窓口機関.....17
- (2) 帰国研修員所属先.....18
- (3) 帰国研修員に対する質問票集計結果.....21

IV. 公開技術セミナーの概要

- (1) 実施状況.....23
- (2) 講義内容と質疑応答.....23
- (3) セミナー成果および参加者の評価.....26

V. フォローアップ調査まとめ及び研修コースの改善と提言.....28

添付資料

1. 本研修コースの概要

(1) 背景

食品製造などにおいて、微生物を利用した発酵技術は昔から世界中で知られていた。とくに日本では、発酵を利用した種々の食品が古くから生み出され、現代にも引き継がれている。これらの伝統食品も、現在では酵素工学技術を応用することにより、安定した品質と価格で生産されるようになってきている。

近年、日本の伝統食品が見直され、欧米をはじめ各国で注目されている。その理由として栄養学的な面は論をまたないが、とりわけ途上国においては、農作物有効利用の面からも大きな効果が考えられることにある。それらは、ほとんど発酵技術を利用しており、これはわが国の当該分野技術が伝統的に高い水準にあることの証左とも言えよう。

また、近年、食品（酒）加工に限らず、代替エネルギー源（燃料用アルコール）、医薬品、廃棄物処理などに発酵技術が応用され、バイオテクノロジー（生物工学）と総称されるようになってきた。

それらの基礎には酵素工学が不可欠であり、この研究が世界中において重要になっている。

(2) 目的

本コースは、途上国において酵素工学ないし発酵工学に関する業務または研究に従事する技術者に対し、講義と実験を通じ、微生物および酵素に関する基礎的な知識と技術を、また見学を通じ日本におけるその広汎な応用を紹介し、参加国における当該分野の知識と技術の向上を図ることを目的とする。

(3) 研修方法

本コースは、①講義・実習・見学 ②専門研修 ③研修旅行にて構成されている。

①は酵素工学全般に渡る基礎的な知識・技術を習得してもらうため、研修員全員が、共通の講義・実習・見学を行う。

②は①の終了後、各研修員のそれぞれの専門領域を深めるため、研修員の選んだ選択課題に応じ、各研修室に分かれて専門的な研修を行う。

③は酵素工学技術の応用を学ぶため、広島・岡山地区および東京・筑波地区において官民の研究所などを視察する。

(4) 研修項目

[講義・実習]

①酵素の精製

塩析による分画、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、

アフィニティークロマトグラフィー

②酵素の性質

反応条件の検討、等電点電気泳動、分子量の測定、アミノ酸分析

③酵素の作用

基質特異性、反応速度

④酵素の応用

糖転移反応を用いたオリゴ糖の合成、酵素の固定化および固定化酵素の性質

[見学]

一久味噌醸造株式会社、喜多醤油株式会社、大関酒造株式会社、
阪急バイオインダストリー株式会社、三和澱粉工業株式会社、
島津製作所 等

(5) 国別年度別受入実績

回数	5 まで	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	合計
元号	58 まで	59	60	61	62	63	元	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
バングラデシュ	1													1			2
ビルマ		1		1													2
インド	1																1
インドネシア	2				1	1		1									5
フィリピン	2		1		1					1	1	1	1	1		1	10
スリ・ランカ				1													1
パキスタン									1								1
シンガポール									1								1
タイ	6	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	23
中国	4	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18
韓国					1	1		1				1					4
イラク						1	2										3
イラン								1							1		2
ブラジル	4	1	2	1		1					1	1		1	1		13
チリ	1																1
コロンビア	2	1											1				4
コスタ・リカ	1																1
キューバ										1							1
ユーゴスラビア					1												1
トルコ							2						1	1			4
ケニア											1						1
メキシコ													1				1
アルゼンチン															1		1
ネパール																1	1
チュニジア																1	1
合計	24	5	5	5	5	6	6	5	5	5	5	5	6	6	5	5	103

以上25カ国 : 103名

II. 調査団の概要

(1) 派遣目的

調査団の主な目的は、①研修員との面談及び所属先の訪問を通じて、研修効果、波及効果を把握すること、②現地での公開セミナーを通じて当該分野の最新情報を広く関係者に提供すること、③訪問国の現状、ニーズを把握し、来年度開始の新規コースの運営に役立てることにある。なお、本コースのフォローアップ調査については、平成2年度の中国、タイについて今回が2度目の派遣となる。

(2) 団員構成

団長：	<small>なかの ひろふみ</small> 中野 博文	大阪市立工業研究所	生物化学課	研究主任
技術指導：	<small>こばやし おさむ</small> 小林 修	大阪市立工業研究所	生物化学課	研究主任
技術協力：	<small>ないとう のりお</small> 内藤 紀雄	JICA大阪国際センター	業務課	課長代理
業務調整：	<small>すずき つとむ</small> 鈴木 勉	JICA大阪国際センター	業務課	職員

(3) 調査日程

日 順	月日	曜 日	訪問機関	調査事項、面会者等
1	9月 16	水	移動 (大阪→ロスアンゼルス→)	
2	17	木	移動 (→サンパウロ→ブラジリア) JICA事務所 (ブラジリア)	調査日程打ち合わせ
3	18	金	日本大使館、外務省研修課(技協窓口)	表敬 / 面談
4	19	土	移動 (ブラジリア→サンパウロ)	
5	20	日	資料整理日	
6	21	月	JICA事務所 (サンパウロ) 食品技術研究所 (ITAL)	調査日程打ち合わせ 帰国研修員Dr. Terezinha J. G. Salvaと面談
7	22	火	カンピーナス大学 (国際局、食品工学部、生物研究所)	帰国研修員Ms. Harumi Sato/Ms. Glaucia Maria Pastore/Ms. Lucia Regina Santos Jafelie/Ms. Marilea Bazerra Jucaと面談
8	23	水	サンパウロ大学 (サンジョゼ・ド・リオ・プレット校、 ポツカツ校)	帰国研修員Mr. Vanildo Luiz Del Bianchiと面談
9	24	木	公開技術セミナー、懇親会 JICA事務所 (サンパウロ)	事務所報告
10	25	金	移動 (サンパウロ→ボゴタ)	
11	26	土	資料整理日	
12	27	日	資料整理日	
13	28	月	JICA事務所 (ボゴタ)、日本大使館、 国内奨学及び海外技術研修留学基金 (ICETEX) 帰国研修員3名と面談	調査日程打ち合わせ、表敬 / 面談 帰国研修員Ms.Elizabeth Lopez Rico / Ms.Yolanda Rico Rico / Ms.Claudia Patricia Parra Gomezと面談
14	29	火	保険庁国立研究所 コロンビア国立大学 (理学部化学科・バイオテクノロジー 研究所)	帰国研修員Dr. Sofia Duque Beltran / Ms.Elizabeth Lopez Rico / Ms.Yolanda Rico Rico / Ms.Claudia Patricia Parra Gomezと面談
15	30	水	公開技術セミナー、懇親会 JICA事務所	事務所報告
16	10月 1	木	移動 (ボゴタ→ロスアンゼルス)	
17	2	金	移動 (ロスアンゼルス→)	
18	3	土	移動 (→大阪)	

(4) 帰国研修員名簿
ブラジル

研修年度	名前	所属先
昭和55年 (1980年)	Miss Helia Harumi Sato	Assistant Professor, Laboratory of Food Science and Technology, Faculty of Food and Agricultural Engineering, State University of Campinas
昭和57年 (1982年)	Miss Terezinha de Jesus Garcia Salva	Assistant Professor, Laboratory of Food Science and Technology, Faculty of Food and Agricultural Engineering, State University of Campinas
昭和58年 (1983年)	Mr. Manoel Artigas Schirmer	Program Sub Manager, FUNDAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
昭和58年 (1983年)	Mrs. Lucia Regina Santos Jafelice	Assistant Professor, Faculty of Food and Agricultural Engineering (FEAA), State University of Campinas (UNICAMP)
昭和59年 (1984年)	Mr. Vanildo Luiz Del Bianchi	Researcher, Faculty of Food and Agricultural Engineering-FEAA State University of Campinas (Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola-UNICAMP)
昭和60年 (1985年)	Mr. Manoel Francisco Guimaraes	Associate Professor (Professor Adjunto), Dept. of Biochemistry Federal Univ. of Parana
昭和60年 (1985年)	Miss Glaucia Maria Pastore	Researcher, Faculty of Food and Agricultural Engineering-FEAA State Univ. of Campinas (UNICAMP)
昭和61年 (1986年)	Miss Marilena Bezerra Juca	Biologist, Biochemistry Dept., The Institute of Biology, University of Campinas
昭和63年 (1988年)	Miss Denise Akiko Kaji	Researcher, Faculty of Food Engineering of State University of Campinas
平成5年 (1993年)	Ms. Nagatomo Cristina Lie	Consultant, Dept. of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas
平成6年 (1994年)	Mr. Marco Alberto Medeiros	Technologist I, Development of Bacterial Vaccines, Oswaldo Cruz Foundation, Health Ministry
平成8年 (1996年)	Mr. Ivo Mottin Demiate	Professor (Characterization of Cassava Sour Starch), Ponta Grossa State University
平成9年 (1997年)	Ms. Raquel de Andrade Lima COELHO	Master Science Student, Keizo Asami Immunopathology Laboratory, Federal University of Pernambuco

コロンビア

研修年度	名前	所属先
昭和55年 (1980年)	Mrs. Maria Elizabeth Lopez De Leal	Assistant Professor, Chemistry Department, National University of Colombia
昭和56年 (1981年)	Miss Sofia Duque Beltran	Research Biologist (III), Health National Institute
昭和59年 (1984年)	Miss yolanda Rico Rico	Assistant Professor, Chemistry Department, National University of Colombia, Bogota, Colombia
平成7年 (1995年)	Ms. Parra Gomez Claudia Patricia	Coordinator of Enzyme Technology Lab., Biotechnology Institute of the National University of Colombia

(5) 主要面会者

ブラジル

JICAブラジル事務所 所長 蓮見明
所員 篠山和良

日本大使館 二等書記官 越智健吾

外務省 研修課長 Mr. Pedro Henrique Eduardo Magalhaes
Third Secretary Mr. Pedro H. Magal
Thechnial Consaltant Mr. Paulo Roberto Simeao

JICAサンパウロ事務所 次長 池城直
所員 村上ビセンテ

食品技術研究所 (INSTITUTE0 DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS)

所長 Mr. Nelson Jose Baraquet
Director's Assistant Ms. AnaElisa Brito Grcia
Assostant Coordinator Dr. Terezinha J. G. Salva
(1982年帰国研修員)
Cordinator Ms. Airton Vialta
Cordinator Ms. Margarita Kikuta Barbieri
(輸出入食品検査技術帰国研修員)
研究員 Ms. Emili E. Miya Mori (輸出入食品検査技術帰国研修員)

カンピーナス大学(UNICAMP-UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS)

国際局

局長 Prof. Dr. Mohamed Habib
秘書 Ms. Marta Rodoriges

食品工学部	
学部長	Prof. Dr. Jose Luiz Pereira
助教授	Ms. Harumi Sato (1980年帰国研修員)
教授	Ms. Glaucia Maria Pastore (1985年帰国研修員)
助教授	Ms. Lucia Regina Santos Jafelic (1983年帰国研修員)
教授	Mr. Yong Kun Park

生物研究所	
研究員	Ms. Marilea Bazerra Juca (1986年帰国研修員)
助教授	Luis Antonio Violin Pereira
Chairman	Mr. Acerro T. Yamada
教授	Mr. Hiroshi Aoyama
教授	Mr. Arocio Linharto

サンパウロ大学 (UNESP-UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA)

サンジョゼ・ド・リオ・プレット校

校長	Prof. Dr. Euripides Alves da Silva
副校長	Prof. Dr. Maria Darva Silva Pagoto

食品工学部

助教授	Mr. Vanildo Luiz Del Bianchi (1984年帰国研修員)
教授	Dr. Neuza Jorge

ポツカツ校 / 熱帯根菜類・穀物研究センター

センター長	Ms. Marney Pascoli Cereda
-------	---------------------------

ペルナンブコ大学 (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO)

博士課程学生	Ms. Raquel de Andrade Lima Coelho (1997年帰国研修員)
--------	---

コロンビア

JICAコロンビア事務所	所長	蔵本文吉
	次長	吉田純啓
	次長	笠間孚彦
	所員	深沢公雄
	所員	佐藤家彦

日本大使館	二等書記官	豊輝久
-------	-------	-----

国内奨学及び海外技術研修留学基金 (ICETEX-INSTITUTO COLOMBIANO DE CREDITO EDUCATIVO Y ESTUDIOS TECNICOS EN EL EXTERIOR)

国際課長	Ms. Maria Eugenia Cancino L.
------	------------------------------

保健庁国立衛生研究所 (INSTITUTO NACIONAL DE SALUD)

所長	Dr. Moises Wasserman Lemer
副所長	Dr. Santiago Nicolls
Cordinator	Dr. Sofia Duque Beltran (1981年帰国研修員)
国際関係担当	Ms. Oscar Emilio Angel Sanchez

コロンビア国立大学 (UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLIMBIA)

理学部化学科

学部長

Mr.Luis Osses

助教授

Ms.Elizabeth Lopez Rico (1980年帰国研修員)

助教授

Ms.Yolanda Rico Rico (1984年帰国研修員)

バイオテクノロジー研究所

所長

Ms.Maria Teresa Requero

教授

Ms.Claudia Patricia Parra Gomez

(1995年帰国研修員)

Mr.Gustavo Buitrago Hurtado

(民間企業からの派遣所員)

Ⅲ. 各訪問先における具体的状況

1. ブラジル

(1) 援助窓口機関

ブラジルの研修に関する援助窓口機関である外務省研修課を訪問し、研修課課長の Pedro Henrique Eduardo Magalhães氏に面会した。調査団訪問時の討議事項および質問票への回答内容は以下のとおり。

・選考プロセスについて

GIの送付の方法についてブラジル事務所に確認したところ、ブラジルではGIの送付は事務所が独自にローカルコンサルタントを使い分野毎に整理されたGIの送付リストを作成・準備し、ブラジル連邦政府外務省には最小の部数のみ送付して、残りのGIは送付リストをもとに事務所が直接大学や公共機関、地方政府、企業等に送付して応募の督促を行い、候補者の応募書類は連邦政府外務省を経由して日本大使館経由で事務所に送付されるルートをとって提出される。このような事情からブラジル連邦政府外務省ではコースの内容に最も相応しい研修員候補者をどのようにして探し出し、応募を行えば良いのかといった観点での候補者の選考は充分行われていないのが現状である。

・帰国後の研修成果の確認について

JICAの技術協力に対する評価は全般に高く、今回のFU調査の対象である酵素工学についても有用であるとの評価であったが、帰国した研修員からのレポート提出や追跡調査などは行っていないとの回答であった。

・他機関主催の研修コースについて

スウェーデン、スペイン、メキシコ、イスラエルがブラジルからの研修員を受け入れているが、当該分野での研修ではない。

(2) 帰国研修員所属先

帰国研修員13名のうち、サンパウロ州在住の6名と各所属先で面談できた。またレンフェ勤務の帰国研修員1名は、公開セミナーに参加した。各訪問先では、帰国研修員および所属長、指導教官などの関係者との面談並びに施設の見学を行った。なお連絡が可能であった研修員のうち、1名は海外留学中のため、また1名は都合により面談できなかった。ここでは訪問した研究所および大学の調査結果について記述する。

A. 食品技術研究所 (Instituto de Tecnologia de Alimentos, ITAL)

1) 研究所の全般的説明：

カンピーナス市に1969年に設立された州立研究所であり、研究員約90名が、野菜・果物、チョコレート、化学、微生物、官能検査、食肉、乳製品など7研究部門(テクノロジーセンター)に、それぞれ10~16名ずつ所属していた。活動目的を1995年から「学術的技術(大学)と産業的技術(企業)の橋渡し的な役割を果たす」ことに変更し、この主旨に沿って組織も大幅に改編した。すなわち現在の活動の中心は企業への技術的助言・援助であり、試験分析、プロセステスト、材料テスト、パイロットプラント規模の製造試験、市場調査(官能検査)などを企業の要請により行っている。具体的なテーマとしては「梱包のライフサイクル調査」、「食品の安定性テスト」、「ドライトマト製造のための新プロセス開発」などである。食品の品質管理では、輸出のためのHACCP認定書を発行していた。なお企業から納入される研究費で全研究予算の約30~35%を賄っている。さらに本研究所の活動として、食品加工技術に関連した研究所独自の研究・開発および大学生の論文作成指導も行っていた。サンパウロ州にはこのような活動を行う研究所が他に1~2カ所あるが、ITALが規模としては最大であるとの説明であった。

2) 所属研究員、現在の仕事内容、コースに対する評価など：

本研究所には1982年に酵素工学コースに参加したTerezinha J. G. Salvaが副コーディネーター(Associate coordinator)として勤務していた。彼女は研修員当時にはカンピーナス大学に所属していたが、1984年、本研究所に転職した。以来、臨床分析用コレステロールオキシダーゼ、シクロデキストリン合成酵素、アミラーゼ、プロテアーゼなどの酵素の開発を行い、現在は乳製品部門に所属していた。研修コースで獲得した知識や技術は、これらの研究開発の仕事に直接応用が可能であり、さらに大学時代よりも企業との接触が多い現在のITALにおける仕事により役立つとの評価を述べた。現在、日本の技術のなかで、高圧による食品加工技術には強い関心があるとのことであった。

3) 見学所感：

一般的なガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィーなど汎用分析機器を備えた一般的な実験施設に加えて、官能検査施設(試料作成室、パネリングルーム、統計処理用

コンピューターなど)、パイロットプラント(果実ジュース試作プラント、スプレードライヤーなど)、食肉製品開発のための施設(大型動物と殺場、解体場、梱包・保存用施設、大型調理器具など)など、実践的な企業活動に必要とされる施設や小規模ながら実際の製品製造が可能なプラントを保有していることが特徴と考えられた。

B. カンピーナス大学(Universidade Estadual De Campinas, UNICAMP)

当大学には、ブラジルで最も多い4名の帰国研修員が所属している。まず大学内で国際交流や留学などを担当している国際局で訪問の挨拶を行い、当大学全般についての質疑応答を行った。次に帰国研修員が所属する食品科学科、食品工学部、および生物化学科、生物研究所を見学した。

1) 大学の全般的説明:

学生数18,675人、研究・教育部門20を擁する州立大学であり、「研究・教育」を優先するが、地域社会への貢献の一環として、大学で得られた成果は地域民間企業への技術移転も行っている。バイオテクノロジー分野には大学として大いに関心があり、工学部や理学部でも研究を行っているという説明であった。なお次のような財政上の問題点も聞かれた。(1)大学の運営は、州の流通税(ICMS)に財政基盤を置いているが、そのうち一定割合でUNICAMPをはじめとする各大学への予算分配が行われる(例えばUNICAMP, 2.0%; UNESP, 2.2%; USP, 5.5%)。したがって予算として不安定な上に、不景気で企業の研究開発活動が低下し、大学(公的機関)の役割がより重要になる時期に、大学の予算も低下する矛盾したシステムであること。(2)人件費が全体支出の大部分(96.7%)を占めること。現在、リストラ(25%程度)を試みており、問題となっていた。

食品科学科(Departamento De Ciencias De Alimentos)は、1965年に設立され、教員69名、全職員約700名の体制で、学部生約500名、大学院生約500名に、食品科学、食品工学、工学、栄養学などを教育している。研究面では、農産加工技術の開発に特に力をいれており、民間への技術移転も行っている。生物研究所(Instituto de Biologia)は、生物化学科(Departamento de Bioquimica)に属している。研究分野は、生理学、病理学、生化学、分子生物学など9コースがある。企業との共同研究はほとんどなく、学術的な研究を中心に行っているとの説明であった。

2) 所属研究員、仕事、コースに対する評価など:

(a)食品工学部(Faculdade De Engenharia De Alimentos): 本学部には、Helia Harumi Sato(現助教授、1980年参加)、Lucia Durrant(現助教授、1983年参加)、Graucia Maria Pastore(現教授、1985年参加)の3名の帰国研修員が所属している。各研修員の現在までの研究テーマには次のようなものがある。

(1) Helia Harumi Sato; アミラーゼ、スクラーゼ、グルコシルトランスフェラーゼ、乳酸菌が生産するバクテリオシンに関する研究。

(2) Lucia Durrant ; リグノセルロース、セルロースの微生物による分解。リグニンなどフェノール性化合物を含む排水の微生物による処理に関する研究。

(3) Graucia Maria Pastore ; カビのリパーゼ、エステラーゼを用いた芳香物質の生産に関する研究。

これらの研究テーマは、いずれも酵素あるいは微生物の食品産業への利用を目的としたものであるため、酵素工学コースで得られた知識や技術は、現在の研究と直結して、きわめて有益であるとの評価であった。また学部生、大学院生を指導・教育する上でも大いに役だっているとの回答が得られた。なお訪問時の一週間後に学部長に昇任予定であった Graucia Maria Pastore が開発した成果は、ある企業が興味をもち、共同研究中であるとのことであった。この研修員および研究内容について、フォローアップチームの滞在時に、かなり大きな記事として新聞で紹介されていた。教育以外の面でも、大学を通じて同国へ研修員からの技術波及が行われていることを示す一例ではないかと考えられた。

(b)生物研究所： 当研究所には、1986年に本コースに参加した Marilena Bezerra Juca が、酵素学(Enzymology)研究室の研究員として所属していた。リパーストランスクリプターゼ、DNAポリメラーゼなどの酵素およびその阻害剤を研究テーマとして博士論文を作成中であるとの説明であった。酵素工学コースで得た知識は、酵素の精製、電気泳動、性質の解明、酵素反応の解析などに役立っているとの評価であった。

3) 見学所感：

(a) 食品工学科： 外観としては古い建物が多かったが、実験施設としての内部は比較的整理されている印象を受けた。汎用の分析機器、冷却遠心分離器、遺伝子増幅装置(PCR)、凍結乾燥機などを保有し、通常の微生物の培養や酵素反応などの実験は十分可能であろうと考えられた。ただし機器の型式はかなり古いものも含まれていた。またJICA 供与の機器として紹介されたものも多かった。図書・資料室には、学生用の数十台のパソコンが並びまたオンラインデータベースも利用可能であるとの説明であった。研究室のなかでは、ブラジル産トロピカルフルーツのビタミンAに関する研究を遂行するため、政府からの多額の補助金を受けたというある研究室が目についた。この研究室は、最新型のガスクロマトグラフィー質量分析器を室内に保有しているなど、特によく整備されていた。研究室関係者が当時不在であったため、研究の詳細な内容や補助金の獲得過程を聴取するには至らなかったが、ブラジルが自国独自の新しい農産物やその加工技術に非常に高い関心を持っており、将来性がある研究テーマと判断されれば、かなり額の研究予算が配分されるのではないかと考えられた。また当学科では長老格のパーク教授を紹介された。彼は日本語、韓国語に堪能であるという特技を生かして、日本、韓国企業との交流もきわめて深く、最近では、プロポリス、アガリクスなど日本で流行になっているブラジル産の健康食品の仕掛け人的存在である。現在、アセロラよりもビタミンC含量が多いある熱帯果実に興味をもっているとの説明であった。

(b) 生物研究所： 各研究室で紹介された研究テーマは、産業への利用は当面の研究目的ではなく、学術的に新規なタンパク質や酵素およびそれらの新しい機能の発見を主眼とするものであるとの説明であった。具体的には、「マメのレクチン、トリプシンインヒビターの構造と機能の解析」、「動物臓器、植物起源のリバーストランスクリプターゼの精製と性質」、「アルカリホスファターゼの基質特異性」などが研究されていた。分析機器は、最新式のものばかりではないが、ペプチドシークエンサーや液体クロマトグラフィーをはじめ、タンパク質、ペプチド、酵素の研究のためには十分であろうと思われた。日系人のH. Aoyama教授が指導しており、信州大学医学部に2年間留学したスタッフが在籍するなど、学生は活発に実験しているように見受けられた。

C. サンパウロ大学 (Universidade Estadual Paulista, UNESP)

まず帰国研修員1名が所属しているサンジョゼ・ド・リオ・プレット市にあるUNESPの食品工学部を訪問した。次にこの研修員が頻繁に訪問して共同研究しているボツカツにある熱帯根菜類・穀類研究センターを見学した。ここではこの2カ所の訪問状況を記述する。

1) 大学の全般的説明：

UNICAMP、USPと並ぶ、州立大学の一つである。サンパウロ州全域の15カ所に分散してキャンパス、研究センターなどが存在している。教育は80コースに分かれて行われる。学生の定員は約4,000人であるが、UNESP全体で約8万人が受験し、競争率は高い。しかし途中退学する者も多く、卒業率は平均で約70%である。サンジョゼ・ド・リオ・プレットには食品工学科 (Departamento Engenharia Tecnologia De Alimentos) および生物科学研究所のキャンパスがある。帰国研修員が所属する食品工学科が担当する食品工学コースは定員30名で、受験者は約900名にのぼる。学生の男女比は約1：5で、圧倒的に女性が多い。女性は、卒業後、民間企業の研究開発、工程の開発、工程管理などの仕事につくことが多い。ボツカツにある熱帯根菜類・穀類研究センター (Centro de Raizes Tropicais, CERAT) は、キャッサバ、タロ、ショウガなどの熱帯産根菜類の有効利用やそれらの加工工程の改良、新規用途の開発、廃棄物処理法の開発を目的として設立されたものである。

2) 所属研究員、現在の仕事内容、コースに対する評価など：

食品工学科のバイオプロセス、産業廃棄物利用研究室に、1984年に本研修コースに参加したVanildo Luiz Del Bianchiが助教授として所属している。具体的な研究対象は、乳製品製造工程からの排水処理ならびに米糠、ゴマ、キャッサバなどの農産廃棄物の有効利用である。特にキャッサバデンプン製造の各工程で出る廃棄物の有効利用および排水からのメタンの回収について精力的に取り組んでいる。現在、発酵工学や排水処理が主な研究分野であるため、酵素自体を扱う機会は少ないが、研修コースで学んだ微生物のスクリーニング技術や培養技術は現在の仕事にとって有益であるとの評価であった。

3) 見学所感:

(a) 食品工学科: 本学科の代表的な研究室と研究内容には次のようなものがあつた。

(1)魚肉、畜肉研究室(食用ワニ肉の研究)、(2)油脂研究室(ヒマワリ、ダイズ、綿実オイルの酸化に関する研究)、(3)単位操作研究室(マメ、ブドウ、トウモロコシなどの乾燥の研究、ブラジル農産物の保存、乾燥条件の評価)。(4)微生物研究室(酵母の分類、酵母の保存耐久性、食品保存剤の研究)、(5)バイオポリマー研究室(微生物多糖の印刷、土改剤などへの利用に関する研究)。比較的狭い研究室が多数あり、各研究室で1~2名の学生が実験していた。回転粘土計、電気伝導度計、振とう培養器など基本的な実験機器は設置されていたが、特に汎用分析機器の設置状況は貧弱であつた。インターネットに接続されたパソコンがあり、それを通じた情報収集は一応可能と思われた。研究室の他、フルーツ・肉加工用の小型パイロットプラントやパン製造施設が付属していた。

(b) CERAT: 施設は3棟に分かれており、キャッサバイモの洗浄、皮の除去、粉碎、浸漬、デンプン粒沈殿、プレス、乾燥設備、排水処理(メタン発酵)など、加工各工程の小規模なプラントを装備していた。見学時期のためかも知れないが、いくつかの施設はしばらく稼働している様子はなかつた。排水処理の長期間にわたるデータ収集などは行っている様子であつた。なお当日、民間のキャッサバ加工工場も見学した。規模は大きくないが、洗浄、乾燥、包装など原料搬入から製品搬出までの一連の施設を備えていた。原料のイモからのキャッサバ粉最終製品の歩留まりは低く、副産物の有効利用が望まれる理由が理解できた。

(3) 帰国研修員に対する質問票集計結果 (回答者8名)

Q1 現在の職務への研修成果の活用度

全て役立っている	4名	・現在の研究分野 ・学生の指導
かなり役立っている	2名	・現在プラスチックの分解技術に関するプロジェクトに従事しているため
ある程度役立っている	2名	・現在発酵技術、廃水処理関連の研究を行っているため
少しは役立っている	0名	
全く役立たない	0名	

Q2 研修員にとっての具体的有益性 (複数回答可)

昇進	2名
責任感	4名
昇給	3名
知識・技術の向上	7名
専門家としての認識	5名
国際的な人脈	5名

Q3 研修員所属先にとっての有益性

あり	6名	<ul style="list-style-type: none"> ・研究活動や学生の指導に研修成果は役立っており、研究の結果は論文としても発表した ・新技術の獲得や日本を始め海外の研究者と知り合うことができる ・職員の技術力の向上に役立つ ・海外の技術の獲得や新しいプロジェクトの形成に役立つ ・研修で得た知識や技術力の向上によってより良い研究結果に結びつく ・研修で得た知識を職場で広めることができる
なし	0名	

Q4 研修の中で最も役立った部分

<ul style="list-style-type: none"> ・専門個別研修 ・実験 ・研究所、工場の見学
--

Q5 研修内容の問題点

<ul style="list-style-type: none"> ・DNA組み替え技術に関する研修を取り入れてほしい ・食品への応用に関する研修を取り入れてほしい

Q6 職場で知識を普及するに当たっての問題点 (複数回答可)

指導者不足	1名	<ul style="list-style-type: none"> ・政府からの助成金を獲得することが難しく、設備の更新や試薬の入手が困難 ・同じ分野の研究者が周りにいないため情報交換も少なく、資金も得にくい
資金不足	5名	
海外の専門家不足	2名	
技術文献不足		
機材不足	4名	
研究施設の不足	2名	
経済状況	2名	
管理体制		
政治体制	1名	
頭脳流出		

Q7 研修コースの継続

是非継続してほしい	8名	<ul style="list-style-type: none"> ・資金や設備の不足により文献でしか勉強できなかった実験を実際に行うことができるため貴重な経験となる ・参加者の研究能力を高めることができる ・新しい知識を獲得することができる ・日本の技術、文化を知ることができる
できれば継続してほしい	0名	
継続しなくて良い	0名	

Q8 研修コース改善への提案

<ul style="list-style-type: none"> ・研修員の受入に当たっては資格要件に年齢制限を入れるよりも業務実績で選考を行った方が望ましい ・同分野の上級コースも創設し得て欲しい ・個別専門研修の期間を長くした方がより有益である

2.コロンビア

(1) 援助窓口機関

コロンビアの研修に関する援助窓口機関である国内奨学及び海外技術研修留学基金(ICETEX)を訪し、国際課長のMaria Eugina Cancino氏に面会した。同基金は教育省傘下の機関で、国内で学生への奨学金の審査・給付を主な業務としており、それに加えて海外からの留学や研修の機会の提供に対する応募や選考の窓口業務も行っている。調査団訪問時の討議事項および質問票への回答内容は以下のとおり。

・人選について

外務省、教育省、国際協力庁、科学技術振興庁、高等教育振興庁、ICETEXをメンバーとする委員会が15日毎に開催され応募者の人選が行われ、ICETEXが応募者の所属先に対して委員会での決定内容を取りまとめ通知を行う。委員会では応募者の学歴・職歴について資格要件を満たしているか、語学力が十分であるかの審査が行われ人選される。応募申請に必要な英語力としてTOEFL500点、ミシガンテスト70%を求めている。

ICETEXは本コースのGIをこれまで大学に送付してきたとの回答であったので、酵素の工業的利用では農産加工や酪農等も対象となるので、農業省や牧畜省の付属研究機関にもGIを配付するよう調査団より説明と提案を行った。

・帰国後の研修成果の確認について

ICETEXでは、帰国研修員所属先、帰国研修員に対して聞き取り調査を行っている。

・他の機関主催の研修機会について

当該分野における他機関での研修機会はない。

(2) 帰国研修員所属先

帰国研修員4名は、いずれも首都サンタ・フェ・デ・ボゴタに在住していた。そのうち3名とはJICA事務所で9月28日に面談し、翌日、2名が所属するコロンビア国立大学化学科ならびに1名が所属するバイオテクノロジー研究所を見学した。また残る1名とは、所属先である保健庁を訪問した9月29日に面談した。ここでは施設訪問時の順番にしたがって研修員所属先の調査結果を記述する。

A. 保健庁 (Instituto Nacional de Salud)

1) 所属先の全般的説明：

一般職員数408人、うち研究員180人が所属する施設であり、主要業務は次の3つである。

(1)寄生虫学、免疫学など公衆衛生に関する基礎および応用研究、(2)マラリア、肺炎、AIDS、B型肝炎、黄熱病、急性下痢症などの疫病の制御、(3)ワクチン、抗血清の製造。

2) 所属研修員、現在の仕事内容、コースに対する評価など：

当施設には1981年度に研修に参加したSofia Duque Beltranが、研究員(Scientific researcher)として勤務していた。帰国2年経過後に研究分野を寄生虫学変更し、現在に至っている。具体的な研究は医学的な内容のため十分理解できなかったが、おそらく寄生虫の詳細な分類をはじめとする研究ではないかと思われた。酵素工学コースは、タンパク質の電気泳動や培地作成など基本的テクニックおよび研究に対する方法論などを身につけることができ、現在の仕事にも役立っているとの評価であった。なおコース参加当時、(1)ある種の酵素のアイソザイムを研究中であり、また(2)当時の保健庁には微生物培養の技術がなかったため、それらの技術を導入するために当コースに参加したとの説明であった。

3) 見学所感：

帰国研修員が所属するの寄生虫学研究室のみ見学した。寄生虫が対象であるため、化学関係の実験室に見られるような分析機器はほとんどないが、顕微鏡室、試料保存室、無菌条件下での試料作成室などがあり、この分野の研究室としては標準的ではないかと考えられた。

B. コロンビア国立大学 (Universidad Nacional de Colombia)

1) 所属先の全般的な説明：

ボゴタには、1学年の学生定員数約4,000人が学ぶ11の学科がある。訪問日がちょうど入学試験当日であったが、受験者数は約35,000人で、競争率は毎年かなり高いとのことであった。帰国研修員2名が所属する化学科 (Departamento de Química) は、理学部(Facultad de Ciencias)に属する学部として、1936年に設立された。帰国研修員1名が所属するバイオテクノロジー研究所(Instituto de Biotecnología)は、理学部と同じキャンパス内に設置されている。

2) 所属研修員、現在の仕事内容、コースに対する評価など：

(a)理学部化学科： 本学部には、Maria Elizabeth Lopez De Leal (1980年度に参加、現助教授)およびYolanda Rico Rico (1984年度に参加、現助教授)の2名の帰国研修員が所属している。2名は、帰国後、次のようなテーマについて研究してきた。(1)Maria Elizabeth Lopez De Leal；「コーヒーパルプの有効利用、廃水処理のためのセルラーゼ、タンナーゼに関する研究」、「トロピカルフルーツジュース製造の際のろ過、濃縮のためのペクチナーゼ処理」。(2)Yolanda Rico Roco；「牛乳中のラクトースのラクターゼによる分解処理(ラクトースプロジェクト)」、「アンパンからエタノール生産」、「活性炭および繊維状炭素へのラクターゼの固定化」。両名の研究テーマは酵素の食品加工や食品廃棄物処理への利用を目的としたものであった。酵素工学コースは、現在の研究業務の遂行や学生の教育に必要な技術や知識を取得でき、大変有益との評価であった。

研修員との面談のなかで、コロンビアでは大学と企業の正常な共同研究が非常に成立しにくい状況にあるという不満が聞かれた。すなわち同国では「大学の研究は税金で賄っているのであるから、そこで得られた成果は自由に利用できる」という企業の強引な論理が根強く、大学研究者の立場からみると、企業は「リスクを負わないし、情報も渡そうとしない」、「研究のリーダーシップを取ろうしない」のに、「大学で開発した技術が無償で利用してしまう」ため、企業への不信感が払拭できない状況となっている。また大学当局に対しても、「開発した技術についてのパテントを扱ってくれる事務部門がなく」、さらに大学関係者が、パテントに関して企業と係争するだけの「予算的、時間的な余裕がない」ため泣き寝入りすることが多いという不満を持っていた。現実には2名は企業から技術を無断で使われた経験を持っており、企業との共同研究は、現在全く行っていないとのことであった。このような企業と大学の関係は、技術のすみやかな波及が阻害される社会的な原因の一つとなっていると考えられる。

一方、一般論ではあるが、同国では、「個人が留学などで得た技術や知識は、その個人が独占する傾向が強く、広く波及させることにより同国産業全般の発達に寄与しようとする発想が起こりにくい」という国民性に関する指摘も耳にした。これは研修を受けた者の側にも、その波及効果を低下させる土壤が存在することを意味している。

(b) バイオテクノロジー研究所： 本研究所には1995年に本コースに参加したParra Gomez Claudia Patriciaが研究員として所属している。彼女は「皮革のプロテアーゼ処理による排水負荷の低減」について研究中であった。酵素工学コースは、この研究業務を遂行する上で必要な知識・技術の獲得に大変有益であるとの評価であった。本研究所では、理学部と全く異なり、企業と大学が相互に依存した、緊密な共同研究が行われていた。詳細については、見学所感の中で具体的に記述する。

3) 見学所感：

(a)化学科： 分析機器は少なく、設備は全般に旧式であるという印象を受けた。主な実

験機器としてはミニジャー、分光光度計、フラスコ振とう培養器、固体培養のためのインキュベーター、タンパク質分析用スラブ電気泳動装置などを保有していた。日本の研究室と比較すると、実験器具や分析機器が少なく、空間的には余裕があるように感じた。帰国研修員はペクチナーゼのスクリーニングを行っていたが、他の部門の微生物学者が単離した糸状菌株を数株ずつ培養して、それらについての酵素活性を測定していた。酵素生産菌のスクリーニング戦略としては、試料数が少なすぎるため、効率が悪いことは明らかで、研究活動の不活発さを物語っているようであった。

(b) バイオテクノロジー研究所： 研究所全体は、研究者の自由裁量によるテーマ設定はなく、次の研究プロジェクト(メガプロジェクト)の遂行を中心に運営されていた。(1) バイオ農業(Bacillus属細菌が作る殺虫タンパク質の発酵生産)。(2) ポテトの育種(品種改良)。(3) 高校生の化学教育プログラム(コンポストの製造)。また「カビの糖転移酵素を用いたフラクトオリゴ糖の生産」、「医薬品用レバンの製造」、「国内に発生するコレラの遺伝子型による類別研究(保健庁との共同研究)」、「プロテアーゼによる皮革処理による排水負荷の低減」などの研究も行われていた。帰国研修員は、この皮革製品のプロテアーゼ処理に関する研究に携わっていた。なお皮革製品は、コロンビア国の代表的な特産品の一つである。

主な研究室には次のようなものがあつた。(1) 酵素工学研究室(プロテアーゼによる皮革処理、帰国研修員が所属)、(2) 発酵学研究室(企業派遣技術者が設計したジャーフェメンターによる微生物農薬の発酵生産試験を行っていた。現在、14リットル容ジャーによる生産試験であるが、研究所1F部分にパイロットプラント製造のためのスペースを確保しており、今後、企業がフィールド試験するためのサンプル製造を行う予定となっている)、(3) 分子生物学研究室(殺虫タンパクの構造解析)、(4) 微生物学研究室(殺虫タンパク生産菌株の能力改良)、(5) 薬学研究室(コロンビア農産物に特徴的な各種害虫を飼育し、それらに対する微生物農薬の効果をバイオアッセイ)、(6) 植物組織培養研究室(ポテト、コメ、ワタの耐ウイルス病株の育種)。また付属するその他の施設として、(1) 測定室(高速液体クロマトグラフィー、分光光度計を設置)、(2) 殺菌、滅菌室、(3) 恒温室、(4) 植物組織培養室、(5) 昆虫飼育室などがあつた。機器、設備は通常の生化学や発酵に関する研究が十分可能であろうと判断できた。また指導者や実験している学生の教育レベルや志気も比較的高いように見受けられた。

本研究所では微生物農薬の製造を担当する企業研究員が派遣されていた。彼は研究所と会社の両方に出勤しており、大学では得意とする発酵技術分野での技術協力を行い、同時に大学で得られた成果の企業化も試みるコーディネーター役を果たしているとのことであつた。前述したように研究所は、このテーマを主要プロジェクトとしており、いくつかの研究室が、多角的にこのテーマ取り組んでいた。ただしこれ以外の企業と共同研究をしている様子はなく、また国立大学に属するかなりの規模の研究所が、全体として特定の1つ

の民間企業と、これほど親密な共同研究を進めることは、日本においては考えにくい。企業との共同研究が全くない化学科の現状も考え合わせると、コロンビアにおいては、企業と大学の共同研究態勢は、未だ成熟した段階に至っていないといえるのではないか。

(3) 帰国研修員に対する質問票集計結果 (回答者4名)

Q1 現在の職務への研修成果の活用度

全て役立っている	3名	・酵素の精製や測定法等の研修で得た知識や実験手法は講義や実習を通して学生の指導に役立っている ・研究への世界標準の適用
かなり役立っている	0名	
ある程度役立っている	1名	・現在は寄生虫関係の研究に従事しているが、研修で得た知識や技術は活用できる
少しは役立っている	0名	
全く役立たない	0名	

Q2 研修員にとっての具体的有益性 (複数回答可)

昇進	2名
責任感	2名
昇給	2名
知識・技術の向上	4名
専門家としての認識	2名
国際的な人脈	2名

Q3 研修員所属先にとっての有益性

あり	4名	・研修で得た海外の先進的な知識や技術を職場の同僚や学生に伝えることができる ・実験の精度を高めることができる
なし	0名	

Q4 研修の中で最も役立った部分

<ul style="list-style-type: none"> ・酵素の精製と発酵に関する研修 ・大阪市立工業研究所での実験 ・研究所、工場見学
--

Q6 職場で知識を普及するに当たっての問題点 (複数回答可)

指導者不足	4名	・研究資金が不足している上に認可されるまでに時間がかかる ・薬品、機材の入手が困難
資金不足		
海外の専門家不足	1名	・情報交換の場がない
技術文献不足	3名	
機材不足		
研究施設の不足	3名	
経済状況	2名	
管理体制		
政治体制		
頭脳流出		

Q7 研修コースの継続

是非継続してほしい	4名	・自国に適用可能な他国の技術を知ることができるため ・海外で新しい知識を得た技術者が不足しているため ・酵素工学は産業や環境保全の観点から重要な分野だがコロンビアではこの分野の研究者が不足しているため
できれば継続してほしい	0名	
継続しなくて良い	0名	

Q8 研修コース改善への提案

・講義と実習の割合が3対7程度が理想的である

IV. 公開技術セミナーの概要

(1) 実施状況

ブラジル

①日時・場所

平成10年9月24日(木) 9:00~11:45

於カンピーナス大学

②スケジュール

- ・開会の挨拶(学長 Prof. Dr. Ivan Chambouleyron、国際局局长 Prof. Dr. Mohamed Habib)
- ・JICA事業紹介(鈴木勉)
- ・「オリゴ糖の酵素生産とその応用における日本における最近の動向」(中野博文)
- ・質疑応答
- ・「乳酸菌研究における最近の動向」(小林 修)
- ・質疑応答
- ・閉会の挨拶(国際局局长 Prof. Dr. Mohamed Habib)

③参加人数: 33名

コロンビア

①日時・場所

平成10年9月30日(水) 9:00~11:45

於Hotel Suite Jones

②スケジュール

- ・開会の挨拶(内藤紀雄)
- ・JICA事業紹介(鈴木勉)
- ・「オリゴ糖の酵素生産とその応用における日本における最近の動向」(中野博文)
- ・質疑応答
- ・「乳酸菌研究における最近の動向」(小林 修)
- ・質疑応答
- ・閉会の挨拶(JICAコロンビア事務所次長 笠間学彦)

③参加人数

コロンビア: 69名

(2) 講義内容と質疑応答

A. 「オリゴ糖の酵素生産とその応用における日本における最近の動向」：中野博文

(Recent Japanese Development in the Enzymatic Production and the Application of Oligosaccharides)

(講義内容)

日本は、伝統的な発酵食品が発達していることからわかるように、微生物や酵素を産業に巧妙に利用してきた長い歴史を持っている。また酵素、抗生物質、アミノ酸、ビタミンなどを発酵生産する技術レベルも高い。特に酵素を用いた新規糖質の生産やその利用では、現在も技術開発の質・量ともに世界をリードしている。本セミナーでは、オリゴ糖、環状糖、糖アルコールなどの糖質や糖関連物質の中から、日本で最近開発され、その応用が有望視されているものや、応用上興味ある性質を有しているものなどを選んで、それらの生産に利用されている酵素類、機能性、期待される利用途や開発に至った社会的背景などを紹介した。(詳細については、添付資料を参照。)

(質疑応答)

ブラジルにおけるセミナーでは、シクロデキストリンの包接能に対するいくつかの質問を受けた。シクロデキストリンが物質を包接する性質があることは、日本では非常によく知られており、食品における香気成分の保持、悪臭のマスキングなどでは、既に実用化もされているため、セミナーでは詳細な説明を省略した。しかし質問者はシクロデキストリンの包接能が新規な事実であるかのような印象を受けたようであった。コロンビアでも、分岐シクロデキストリンへ包接可能な物質の種類についての質問を受けた。いずれも一般論的な説明は不可能であるため、包接可能ないくつかの物質を例示し、包接の有効性を説明して回答とした。ブラジルでの質問は、教授からのものが多く、内容も全般的に低調であるという印象を受けた。

コロンビアにおけるセミナーでは、分岐シクロデキストリン中での薬物の安定性、リン酸化オリゴ糖をはじめとするオリゴ糖の消化性、リン酸化オリゴ糖がカルシウム吸収を促進する理由、キシリトールとエリスリトールの長所など個々の内容についての具体的な質問もあったが、講義で言及した糖質のうち既に実用化されているオリゴ糖の種類、応用の可能性や限界など、実際の利用動向を聞き出そうとする質問も受けた。さらにオリゴ糖生産に使用される酵素が、遺伝子操作によって、生産量や宿主を改良したものであるかという質問も受けた。またセミナー後に質問や内容の確認を受けた学生と思われる参加者には、熱意と理解力の高さを感じた。

いずれの国のセミナーでも、糖質の製造に使用する酵素反応や合成方法より、生成物である糖質自体の性質や利用途に興味を示した質問が多かった。

B. 「乳酸菌研究における最近の動向」：小林 修

(The Recent Trends in the Research of Lactic Acid Bacteria)

(講義内容)

乳酸菌は、われわれ人類が主として発酵食品と一緒に有史以前の古くから食していたと考えられる微生物であることから、人類に安全な微生物ということで注目されている。いわゆる乳酸菌自身、もしくはその生産物は食品に直接添加してもなんら問題がないということである。さらに近年、ヒトや動物の健康と乳酸菌が極めて密接な関係のあることが数多く報告されるようになってきた。そのため、最近では食品や医療への応用を見据えた研究が多いのが特徴である。日本は、味噌、醤油、酒など乳酸菌が深くかかわっている発酵食品も多く、特にビヒズス菌などの乳酸菌と健康との関わりにおける研究では世界のパイオニア的位置にある。セミナーの中では、食品に利用できる乳酸菌の育種改良法として、細胞融合法および大腸菌由来の遺伝子を残さない遺伝子操作法を紹介した。また、乳酸菌を投与することによる制癌や免疫賦活、抗生物質の代わりに代わって飼料に添加することで家畜の健康増進を図るなど、新しい応用研究、さらに乳酸菌の生産する乳酸から生分解性のプラスチックが生産されていることなどを紹介した。

(質疑応答)

ブラジルにおけるセミナーでは、「ヤクルト」は健康によいのかと聞かれた。日本では発酵乳や乳酸菌飲料の整腸作用や栄養吸収を助けたりする作用があるなど、乳酸菌の健康への寄与は、一般にも知られているように思われるが、ブラジルではまだあまり知られていないとの印象を受けた。また、遺伝子操作と細胞融合を育種に利用に際する効率についての質問があった。セミナーの中ではこれらの技術を特に直接食品に利用する乳酸菌への適用に絞って考えていたが、質問内容は両方法の一般論的な比較であった。また、ブラジルでは遺伝子操作などを使った組換え微生物による有用物質の生産などの研究は一般化していないと考えられた。また乳酸菌がもつ制癌作用の利用については、実験動物はなにかとの質問があった。既にヒトでの検討がなされていることについては意外であったようである。バクテリオシンの食品への利用状況、特にアメリカ等で認可されているナイシン以外のものについてどうかとの質問があった。コロンビアでも同様の質問があり、バクテリオシンの利用に関してはどちらの国でも関心の高さが感じられた。日本ではまだナイシンも認可されていないこと、しかし将来的にはナイシンを含む食品乳酸菌由来のバクテリオシンはナイシンと同じ根拠から許可される可能性は十分考えられると回答した。

コロンビアでは、細胞融合株の具体的な選択方法について質問があった。時間の関係でセミナーでは説明を省いたが、食品で利用する乳酸菌の場合、第一線の研究者から他の微生物では一般的な抗生物質耐性を付与して利用するのは好ましくなくないとの指摘がある重要な部分である。乳酸菌の場合、安全なアミノ酸などの栄養要求性付与して利用するのが一般的であるとの回答をし、セミナー後の質問者との討論で、食品利用という特殊な背景の説明をした。ナイシン中の特殊アミノ酸残基のできる機構やその抗菌作用機序について質問があった。また、生分解性プラスチックのポリ乳酸の導電性や硬度などの物性について、さらにその合成は生化学反応によるものかとの質問があった。さらに日本における遺

伝子操作や細胞融合で創生した微生物や新規（有用）物質の安全性評価はどのようになってきているのかとの質問があった。

ブラジルではセミナー後、バクテリオシンの一種のペディオシンについてナイシンとの性質の違いを指摘しながら、その利用の可能性について一人から討論を受けた。コロンビアでも同様に数人からセミナー後、バクテリオシンの日本の研究状況について熱心な質問を受けた。質疑応答に関しては一般にコロンビアの方がブラジルより活発で熱心である印象を受けた。

（3）セミナー参加者の評価

セミナー開催時にアンケート用紙を配布し、参加者の評価を聴取した。国別の集計結果は次の通り。

ブラジル

質問1：講義に満足したか？（講義別）

	大変満足	満足	不満足	無回答
中野	76%	24%	0%	0%
小林	67%	28%	5%	0%

質問2：講義方法をどう評価するか？（講義別）

	大変良い	良い	普通	無回答
中野	59%	41%	0%	0%
小林	78%	22%	0%	0%

質問3：講義内容を適用できるか？（講義別）

	殆どできる	ある程度	できない	無回答
中野	56%	44%	0%	0%
小林	50%	50%	0%	0%

コロンビア

質問1：講義に満足したか？（講義別）

	大変満足	満足	不満足	無回答
中野	42%	58%	0%	0%
小林	48%	51%	0%	1%

質問2：講義方法をどう評価するか？（講義別）

	大変良い	良い	普通	無回答
中野	30%	65%	3%	2%
小林	55%	41%	3%	1%

質問3：講義内容を適用できるか？（講義別）

	殆どできる	ある程度	できない	無回答
中野	28%	42%	26%	4%
小林	24%	38%	36%	2%

V. フォローアップ調査まとめ及び研修コースの改善と提言

1. フォローアップ調査まとめ：

酵素工学コースは、1978年以來、20回にわたり、23カ国から、103名の研修員を受け入れてきた。今回のフォローアップは、1990年の中国、タイへの派遣に続いて本コースでは2度目となる。訪問国は、アジア地域以外では13名という最も多数の研修員が参加したブラジルと、4名の帰国研修員がいるコロンビアであった。

帰国研修員が所属する大学や研究所は、微生物や酵素の利用分野における研究、教育、企業の技術指導を両国において、中核として担っている施設であると考えられた。ほとんどの帰国研修員は、本コースで取得した技術や知識を基礎としながら、研修内容と直接関連する研究業務に携わっている場合が多く、それぞれの悩みをいだきながらも、指導的立場で懸命に責務を果たしている姿が印象的であった。

ブラジル、コロンビアともに、コーヒー、ポテト、オレンジ、トロピカルフルーツなど自国に特徴的な農産物を有し、畜産物も含めた食品加工が盛んであり、当然の結果として、それらの品質向上、新しい加工・保存・廃棄物処理技術の開発にはかなりの熱意を感じた。このような国情や研修員の現在の仕事内容から、当然の結果として、帰国研修員や所属先からは、当該分野での研修の継続に対する要望も高かった。

訪問した大学、研究所と企業との関係は、両国で多少事情が異なっているように思われた。すなわちブラジルでは、企業の技術指導における実質的な最前線ともいうべき位置にあるITALが、充実した人材や施設を保有していたし、またUNICAMP、UNESP両州立大学とも、地域への貢献として企業への技術移転を重要視しており、所属する研究者自身もそれを念頭においた研究、教育活動を実践していた。一方、コロンビアでは、大学研究者の企業への不信感が根強く、産業に直結する食品加工や食品廃棄物処理技術の開発を主眼とした研究を行っている帰国研修員の所属部門においてさえも、両者が協力して研究開発を進める関係になっていない不幸な状況にあった。またそのため、研究に対する刺激や動機付けが弱くなることも原因の一つかもしれないが、見学後の所感として、研究活動もやや不活発に感じられた。しかし同じコロンビア国立大学内にありながら、バイオテクノロジー研究所における大学と企業の関係は対照的に良好であるように思われた。かなりの規模を持つ国立大学の1研究所が、ある特定の民間企業とこれだけ親密に共同研究を進めることの是非は別として、ここではお互いに両者の得意とする面を利用しながら、共同研究がやや強引と思われるくらいに進められていた。調査範囲が限られているため、どちらが当国の実体により近いのかは早急には判断を下しにくいだが、少なくとも前者のような例が聞かれることおよびバイオテクノロジー研究所では他の企業との共同研究の話題がでなかったから、両者間はまだ成熟した関係になく、いずれも日本では想像しにくい極端な状況にあるのではないかと考えられた。

両国の大部分の帰国研修員が、研究費や設備については不満足であるという評価を下していた。しかしそれは万国共通の研究者の悩みであり、日本の研究者でも満足していると答える者は少ないであろう。むしろ所属先を見学した所感としては、汎用の分析機器類の設置状況や付属する実験施設などの点では、いずれも酵素や微生物の通常の実験を行うには、十分であろうと考えられた。さらにコンピューターの設置、稼動状況はかなり進んだ状況にあると思われた。

2. 今後の研修についての提言

今回の調査は、地域的にはブラジルではサンパウロ州内、コロンビアでも首都ボゴタだけで行ったものであり、また訪問先としても研修員の所属先である大学や研究所に限られている。したがって調査範囲としては非常に狭いものであったかもしれないが、それらの結果を参考として、今後の研修の改善に資するための提言を以下に述べてみたい。

(1) 研修全般について：

微生物や酵素の利用学（発酵工学、酵素工学）は、いわゆるバイオテクノロジーの中心をなすものであり、文字通り醸造、発酵、食品加工など物質生産を担う工業分野から、廃棄物処理やバイオリメディエーションのような環境保護まで、応用範囲はきわめて広い。今回、フォローアップで訪問した大学や研究所は、ブラジル、コロンビアの両国において、この分野における研究、教育、企業の技術指導を中核として担っている施設であると考えられる。両国が、これらの技術分野でのレベルアップを熱心に希求していることは、これらの施設における人的ならびにインフラレベルの高さが非常によく象徴している。また当然の結論として、帰国研修員や所属先からの、当該分野における研修継続の要望も高い。また帰国後のほとんど全ての研修員が指導的立場にあって、実際に酵素工学コースで学習した技術や知識を基礎としながら、その延長上にある研究に携わっている。このような現状やニーズを考慮すると、当該技術の研修は、今後とも必要性は高いと考えられる。また研修員は、研修で得た技術や知識を日々業務の中で実践的に応用する必要に迫られている。したがって実習、実験を中心とし、また講義や見学によって、必要な見識を補完したり深めたいとする研修形態が適当であろうと考えられる。

(2) 研修項目について

A) (1)でも述べたように、従来、酵素工学コースが研修カリキュラムとして取り扱ってきた酵素やタンパク質の精製、酵素のキャラクタリゼーション、バイオリアクターに関する実験などは、研修員の評価も高く、帰国後、ほとんどの研修員がその分野の研究に携わっている。したがってこれらは今後も研修項目の中心としてよいのではないかと考えられる。

B) それとともに、今回訪問した大学、研究所で、遺伝子の取り扱いやその分析技術を利用した研究や企業との共同研究が進んでいる場面も多く見かけられた。近年のバイオ

テクノロジーは、細胞、微生物、酵素レベルから、遺伝子レベル、タンパク質の分子レベルへと、よりマイクロ化、高度化する傾向にあり、また同時に、それらの結果がフィードバックされて、技術の利用価値や応用範囲がますます拡大するという過程をたどる傾向が強い。すなわち両国においても、微生物や酵素の有効利用のためには、基礎的な遺伝子の取り扱い技術ならびに細胞融合技術に対する研修がますます必要になるものと予想される。なお細胞融合技術は新しい性質をもった微生物を創生するという点で、遺伝子操作技術と並んで、重要なバイオテクノロジー技術分野の一つである。今回のコロンビアにおける公開セミナーで、乳業関連の企業から多数の出席者があり、また両国で関連する質問があったことからわかるように、細胞融合技術にも高い関心が寄せられていた。

C) 両国とも汎用分析機器の普及はかなり進んでいるように見受けられた。また一部では高度な分析機器の導入が図られている例もみられた。タンパク質や遺伝子に限らず、物質の取り扱いや分析は、ますますマイクロ化、精密化する傾向にある。このような傾向に対応するため、可能な限り新しい機器分析を用いた実験を、研修の中に盛り込んでいく必要があると考えられる。

D) 帰国研修員や所属先の研究内容を聴取すると、日本であれば効率的に研究を遂行するため、研究に着手する前には当然行われているべき、過去の研究事例やその後の進展状況、関連するパテントの出願状況についての調査が、どこまで行われているのか、疑問に思うことがしばしばであった。研修員自身からも情報不足を嘆く声が聞かれるし、またそのためのフォローアップの充実や研修先である工業研究所との共同研究を望む声も聞かれた。現実には、工業研究所が個々の事例について対応することは、かなり困難を伴うし、研究専門雑誌の購入など帰国した研究者自身が解決していくべき問題も多いと思われた。ほとんどの訪問先では、パソコンの導入は予想以上に進んでおり、施設の面では、それらを使用した情報収集は十分可能な状態にあると判断できる。したがって各研修員が帰国後、自身で最新の研究情報の収集を行うための研修を盛り込む必要もあるのではないかという印象を受けた。

E) 以上をまとめると、従来、酵素工学コースが研修カリキュラムとして取り扱ってきた、酵素やタンパク質の基礎的な取り扱い技術、バイオリアクターなどの応用技術に加え、遺伝子操作技術や細胞融合技術など、微生物の育種や酵素の改変に関連する研修項目を充実する必要があると考えられる。またそれらのなかで、可能な限り、最新の分析機器を用いた実験や、コンピューターを用いた情報収集に関する研修が盛り込めれば、より効果的ではないかと思われる。

(3) 専門（個別）研修について：

酵素工学コースは、次表のような技術研修形態の変遷を経ている。ここでは、全員が共通の実験や講義を受ける研修形態を「集団研修」、各研修員が選択したテーマについて、工業研究所の研究員がマンツーマンに近い状態で、研究員自身の研究テーマに関連する比

較的専門性の高い実験指導を行う形態を「専門研修」、と呼ぶことにする。本コースでは、両形態をそれぞれ数年づつ行った後、1987年からは、期間の比率こそ若干の変わっているが、両研修形態の併用を採用してきた。

ブラジル、コロンビア両国の帰国研修員で、面談や意見徴収が可能であった者の分布を見ると、専門研修あるいは集団研修いずれか一方のみに参加した者が多い。今回、彼らからは研修形態に対する不満は聞かれなかったものの、両者を比較できる立場にあった併用形態の研修に参加した帰国研修員は、帰国後においても専門研修の有用性を述べている。両形態の長短所は、平成2年度に実施された中国、タイへのフォローアップ報告書における提言の項に詳しく述べられているため繰り返さないが、集団、専門の両研修を併用している現在の本コースの形態は、受け入れ側の工業研究所の諸事情と研修員の希望を勘案した上で到達しており、現在のままで一応問題ないのではないかと考えられる。

表 酵素工学コースの実施年度と技術研修形態

回 (年度)	技術研修形態	技術研修期間	研修員(国)
1~4 (1978~1982)	全期間、各研究室での個別指導 (専門研修)	5月	Terezinha (Br) Sato (Br) Elizabeth (Cl) Sofia (Cl)
5~8 (1983~1986)	全期間、全員が共通の実験・講義 (集団研修)	5月	Lucia (Br) Graucia (Br) Marilena (Br) Vanildo (Br) Yolanda (Cl) Manuel (Br)
9~12 (1987~1990)	共通の実験・講義 (集団) 選択課題研修 (専門) (集団、専門併用)	約4.5月 1~2週間 (合計5月)	
13~16 (1991~1994)	共通の実験・講義 (集団) 専門研修 (集団、専門併用)	4月 1月 (合計5月)	
17~20 (1995~1998)	共通の実験・講義 (集団) 専門研修 (集団、専門併用)	2月 1月 (合計3月)	Caludia (Cl) Demiate (Br) Raquel (Br)

Br, ブラジル; Cl, コロンビア

(4) その他:

従来、両国からの研修員は、比較的高い理解力を有している場合が多い。また両国に限らず、最近、本コースに参加したほとんどの研修員は、研修レベルが多少高度になった場合も、十分対応できるのではないかと考えられる。しかし個人差や地域差があり、一概に判断できない問題でもあるため、研修を基礎的な項目から順次行うなどのスケジュールについての工夫、講義や資料の配布などによる補足説明を行いながら、研修レベルについての研修員の反応を調査していく必要があるかもしれない。

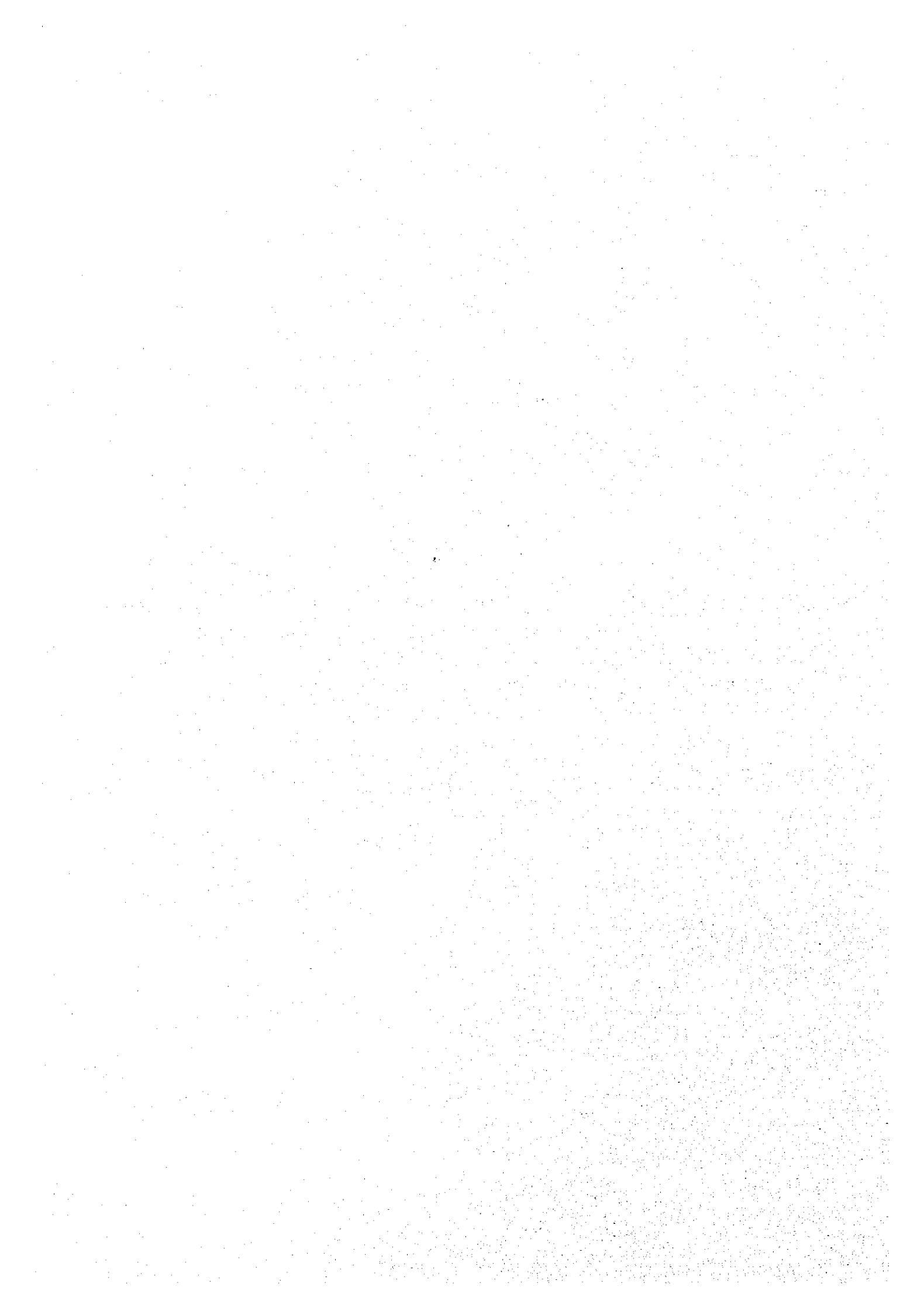
帰国後、研修員は大学や研究所にあって、指導的立場で企業との共同研究を進める場合

も多い。日本において酵素や微生物の利用の現場やそれらに関連する企業の見学は、研究や教育活動においてだけでなく、このような場合にも有効と考えられる。

添付資料

も多い。日本において酵素や微生物の利用の現場やそれらに関連する企業の見学は、研究や教育活動においてだけでなく、このような場合にも有効と考えられる。

添付資料



(1) 援助窓口に対する質問内容 (様式1)

Questionnaire to the organization which nominates participants
(Please type)

Name and Position: _____

Organization: _____

1. How do you evaluate the group training course in "Enzyme Technology" from the view point of the national policy? (当該分野に関する政策)

2. How do you choose the organizations to which GIs (General Information: course brochures of this training) are distributed? (窓口機関での代表機関の選定)

Is it difficult to choose them?

A. Difficult

B. Not so difficult

If you choose A, please give the reason for it.

3. How do you choose or select applicants? (窓口での最終人選方法)

4. How do you evaluate the training course in which participants of your country attended?
(帰国後、窓口機関での研修成果の確認)

5. Are there any other training opportunities rendered by other foreign countries?

A. Yes

B. No

If you choose A, please give an outline of the training.

(他機関主催の研修との比較)

(2) 研修員所属先に対する質問内容 (様式2)

QUESTIONNAIRE TO THE ORGANIZATION OF THE EX-PARTICIPANTS

Name and Position: _____

Organization: _____

1. Does your organization place any examinations to select the applicants?
A. Yes B. No

If so, please itemize the qualifications to be examined. (選考方法)

2. Choose and answer on each item. (コースについて)

- (1) Duration of the course
A. too long B. about right C. too short
- (2) Qualification
A. too specific B. about right C. too wide

3. Do you have any systems to disseminate the knowledge the ex-participants acquired in this training? (研修結果の普及方法)

A. Yes B. No

If yes, what kind of system do you have?

A. Seminar B. Report C. Others (Please specify.)

4. Do you think this training is beneficial to your organization? (当該機関における研修効果)

A. very much B. somewhat C. No

Please give the reason.

5. Regarding the evaluation of the ex-participants, (研修員の研修成果の評価)

- (1) Did their knowledge and technique improve?

A. very much B. somewhat C. no

If so, please give the reason.

- (2) Did the course have positive effect on the participant's individual career development?

A. very much B. somewhat C. no

(3) Did their professional consciousness increase?
A. very much B. somewhat C. no

(4) Did their leadership increase?
A. very much B. somewhat C. no

(5) Did the participation in the course effect their promotion?
A. very much B. somewhat C. no

6. Please give any request or comment regarding the course. Please specify.

(3) 研修員に対する質問内容 (様式3)

QUESTIONNAIRE TO THE EX-PARTICIPANTS
(PLEASE TYPE)

Name (year of your participation) : Mr./ Ms. _____ (19 _____)

Present Job : _____

Present Post : _____

1. Employment / Work Experience (職歴)

(1) Work Experience: Before Training at JICA

Date (from to)	Work / Job Position	Responsibilities

(2) Work Experience: After Training at JICA

Date (from to)	Work / Job Position	Responsibilities

2. Evaluation of the JICA training program. (研修コース評価)

(1) Can you apply the knowledge and technique acquired in the training to your present job?

Please check (X) one from below.

_____ all _____ most _____ some _____ a little _____ none

Please explain your answer briefly.

(2) Do you think JICA training is beneficial to yourself and your organization?

To yourself (研修員にとっての有益性)

A. Yes

B. No

If yes, please check (X) the reason from below.

_____ Promotion of the position

_____ Responsibility

_____ Increase of salary

_____ Improvement of technique and knowledge

_____ Professional recognition

_____ International Contacts

_____ Others (Please specify.)

If no, please state the reasons.

To your organization

A. Yes

B. No

Please describe the reason in detail.

(3) Which part of the training program was most beneficial to you? (研修内容の有効性)

(4) What subject / area was lacking in the training program? (研修内容の問題点)

(5) How did you try to apply what you have learnt in the training?

(6) What kind of problems do you have in applying the techniques in your organization?

Please check (X) the problems in the below. (阻害要因)

Lack of _____ trained Technologist / Researcher

_____ technical literature

_____ funds

_____ foreign experts

_____ career perspective

_____ equipments

_____ research facilities

_____ others (_____)

Various constraints

_____ economic situation

_____ poor management

_____ political situation

_____ brain drain

_____ no suitable training

Please describe the problems in detail.

3. Do you think that this training course should be continued?

A. very much

B. somewhat

C. no

If so, please give the reason.

4. Please give us any comment or suggestion regarding the course.

EVALUATION SHEET OF THE SEMINAR

NAME: _____

ORGANIZATION: _____

Thank you for attending this seminar. We would like to know your opinion about today's seminar. Please check the matching alphabet.

1. Were you satisfied with each lecture?

- | | | | |
|--------------------|--------------------|--------------|----------------|
| (1) Dr. NAKANO: | A. Fully satisfied | B. Satisfied | C. Unsatisfied |
| (2) Dr. KOBAYASHI: | A. Fully satisfies | B. Satisfied | C. Unsatisfied |

2. How do you evaluate the method of each presentation?

- | | | | |
|--------------------|--------------|---------|---------|
| (1) Dr. NAKANO: | A. Excellent | B. Good | C. Fair |
| (2) Dr. KOBAYASHI: | A. Excellent | B. Good | C. Fair |

3. Could the substances of each lecture be applied in your institute?

- | | | | |
|--------------------|------------|-------------------|---------------|
| (1) Dr. NAKANO: | A. Greatly | B. To some extent | C. Not at all |
| (2) Dr. KOBAYASHI: | A. Greatly | B. To some extent | C. Not at all |

4. What was the most effective knowledge?

5. Any comments

THANK YOU VERY MUCH FOR YOUR KIND COOPERATION.

The Recent Trends in the Research of Lactic Acid Bacteria

Osaka Municipal Technical Research Institute

Osamu Kobayashi

1. Introduction

The words, lactic acid bacteria, are the general term for the bacteria which ferment sugars and produce a large quantity of lactic acid and the bacteria are deeply influencing human life from ancient times. For example, fermentation milks such as yoghurt, kefir etc. which are made by the use of lactic acid bacteria, have the history of 1000 - 3000 years. Lactic acid bacteria are the existence which is essential for food manufacturing and processing as well as the preservation (silage) of the feed in the present. But, it has been for only 140 years that mankind recognized a lactic acid bacteria as a microorganism after the discovery by Pasteur in 1857. Recently, the research of the molecular genetics about the lactic acid bacteria develops rapidly, and an expectation is to develop the new way of breeding to get a useful excellent lactic acid bacteria. Furthermore, it becomes obvious that a lactic acid bacteria has very close relations with the health of the animal including the human being, and the strong concern for the research on the healthy effect produced by lactic acid bacteria have, is being gathered. An application field such as the development of the application to the peroral immunity and the biodegradative plastic has being opened based on those research results.

The research of the lactic acid bacteria includes various fields such as microbiology, biochemistry, molecule biology, medical science etc. and the application field is much more extensive, too. It is beyond my power to cover all and to introduce it in detail. Therefore, I want to comment on the recent research which relates to the breed of the lactic acid bacteria here first. Then, I want to introduce briefly some recent topics about the lactic acid bacteria further. And I want the references given to it at the end for details.

2. The breed of the useful lactic acid bacteria.

At present, lactic acid bacteria divided into 12 genera classification, are the bacteria of the Gram positive that an endospore isn't formed and that have the bacillary or cocccal shape as a cell form, and no catalase, and 50% and more of the lactic acid is produced toward consumed glucose¹⁾. But, it doesn't usually stick to this definition, and *Bifidobacterium* and *Sporolactobacillus* are often included further. By the way, the point that these lactic acid bacteria are superior to what it is safe for us. The importance of the breed improvement to get the lactic acid bacteria for which to be excellent to use this lactic acid bacteria for food and the medical well, doesn't change now and old times, either.

2. 1 Heredity and breed

Recently, the research of the lactic acid bacteria with molecular biological technique becomes more popular than in the middle 1980's.

Much knowledge in this field of the lactic acid bacteria is accumulated today, and it is increasing more than ever.

2. 1. 1 The hereditary features of the various primary characters of the lactic acid bacteria

About *Lactococcus lactis* which is the strain of the lactic acid bacteria for the cheese manufacture, many cases that the loss of the plasmids relates to the decline of the ability to ferment lactose and the ability to degrade protein which are important characters in the product manufacture, are found^{2,3)}, this fact became the beginning of the research of the genetics in the lactic acid bacteria. It makes easy to spread of these genes and increase in the number of the copies that the gene involved in these important characters exists on the plasmid. It is interesting that the result infers the strains favorable for improving the characters were chosen naturally. However, while a strain is kept, these facts suggest that such a character is lost easily, too, due to falling off of the plasmid. And, it is reported that most of the phage resistance genes exist on the plasmid⁴⁻⁷⁾.

2. 1. 2 Gene manipulation

The development of the host vector system of the lactic acid bacteria shows remarkable expansion in this 10 years^{8 - 13)}. The transformations by the electroporation were reported abundantly recently, and the transformation frequencies were also improved. The transformation of the lactic acid bacteria is not a difficult and special technique at present. Further, the techniques of the genetic integration to the chromosome are developed^{20 - 24)} and the technology of the breed of lactic acid bacteria to turn to the application for industry is being established.

2. 1. 3 Cell fusion

Though cell fusion is famous for creating a monoclonal antibody, bacteria, especially lactic acid bacteria, some problems in the fundamental part of the technique are pointed out in such cases as the difficulty of the protoplast formation, the reappearance of the regeneration and lowness of the efficiency. So this technique has not being used very much. But, it is excellent in terms of the safety in the cell fusion unlike the gene manipulation technique because there is no participation of the gene except for the lactic acid bacteria such as *Escherichia coli* at all. So, the method which acts two kinds of lytic enzymes at the same time for the protoplast formation^{25 - 28)} and the method which overlays the agar medium and protoplasts regenerate inside the medium^{27, 28)}, are devised to get over these problems. It is reported that a regenerated rate improves as the result by using these methods. Furthermore, the selection of transformants was performed at the same time with the regeneration of protoplasts by using the synthetic medium and the transformants were actually gotten. it is suggested the possibility of the acquisition of the transformant even when the regeneration frequency is low²⁹⁾.

3. The other topics in the research of lactic acid bacteria

3. 1 Use to promotion in health

It is well-known that fermentation milk is useful for the reduction of the lactose intolerance³⁰⁾

and has the action which gets intestine in good condition^{31 - 33}), and further, yoghurt and cheese have blood pressure descent action^{34 - 39}). And recently, it becomes to be clear that fermentation dairy products and lactic acid bacteria have carcinostatic activity and ability to activate immune system^{40 - 42}).

3. 1. 1 Carcinostatic activity and activation of immune system

It is reported that they show the suppression activity for multiplication of cancers^{43 - 48}) and the preventive activity for carcinogenesis^{49, 50}) by the oral dosing lactic acid bacteria (fermentation dairy products). Also, the ability to activate immune system is recognize by the dose of the lactic acid bacteria^{51 - 54}).

3. 1. 2 Probiotics

At present, antibiotics are used very abundantly not only as therapeutic drug but also as growth promotion medicine for livestock. But, the large quantity dose of the antibiotics to livestock contains problems such as the appearance of the resistant bacteria, and the danger is suggested⁵⁵). So, it pays attention to probiotics instead of antibiotics^{56, 57}). Probiotics is understood that "Microbial additives to function usefully to the host animal by improving the microbial balance in the intestine". The effects of the lactic acid bacteria on the health of the livestock animals is examined in accordance with this thought^{58 - 63}).

3. 2 Application to the preservation of food

3. 2. 1 The function of the lactic acid bacteria

Recently, the harmless compound of plant, animal or microbial origin which has an antibiotic activity and which has been eaten for a long time by human being is called a "biopreservative". It is calling "biopreservation" that food is kept by adding biopreservatives during the manufacture process of food and planing to control food microbial more safely⁶⁴). Lactic acid bacteria in food produce lactic acid mainly and also generate some other organic acids, a diacetyl, alcohol of a small quantity, a

bacteriocin, a hydrogen peroxide, and so on at the same time^{66 - 71}). These are biopreservatives because human beings have eaten including the lactic acid bacteria cell as an element in food in the long period. Lactic acid bacteria are involved most of the fermentation concerned with the preservation of food, and lactic acid bacteria are expected as utilizable leading tools for biopreservation.

3. 2. 1 Bacteriocin⁷²⁾

Though organic acids, which the principal component is lactic acid, is in the center of the antibiotic activity by the lactic acid bacteria, the bacteriocins which lactic acid bacteria produce are expected as useful biopreservatives, too. It is only "nisin" that the utilization to food is permitted at present^{73 - 77}). Nisin is utilized or examine to utilize in dairy products, a canned food, a meat product, the alcoholic drinks, *etc.*. At present, the nisin is estimated that it is used by 57 countries⁷⁶).

3. 3 New application of lactic acid bacteria

3. 3. 1 Biodegradative plastic

The strains which almost produce only an optical isomer, L-lactic acid or D-lactic acid exist in the lactic acid bacteria. At present, poly(L-lactide) is produced from the L-lactic acid produced by the lactic acid fermentation. Optical purity 98% and more of the L-lactic acid is used for the raw material, and poly(L-lactide) is synthesized due to the ring-opening polymerization of the lactide⁷⁸). Poly lactic acid products have the excellent characteristics in transparency, waterproof and the strength, and the various plastic processings are easy. Furthermore, it collapses naturally, and it is further resolved even into the lactic acid by the hydrolysis reaction when it is left in soil or water from several months to one year. The collected poly lactic acid can be returned to lactic acid by the heat treatment⁷⁹).

4. Epilogue

The maintenance and increase of our everyday health, securing of the safety of food, the

development of the new medical supplies, and the development of the chemicals and plastic which is more environmental concern for the earth, lactic acid bacteria are active in such many fields that it stuck to our everyday life. These friendly microorganisms since the old days are the very useful and safe existence for us but not for germs. The researches proceed rapidly now, but still lactic acid bacteria leave many parts which are unknown because lactic acid bacteria consist of the big group which contains many genera. Even if it is known experientially that lactic acid bacteria are useful and have the activities, it is often still unknown the mechanism. From now on, the benefit of lactic acid bacteria bring to us can be probably immeasurable by the advancement of the research on lactic acid bacteria in the 21st century.

References

- 1) Kitahara, T., *Nihonnogekagaku*, **16**, 819 (1940).
- 2) MaKay, L. L., *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.*, **49**, 259 (1983).
- 3) Gasson, M. and deVos, W. M. (ed); *Genetics and biotechnology of lactic acid bacteria* (Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 1994).
- 4) Klaenhammer, T. R. and Fitzgerald, G. F. ; *In Genetics and biotechnology of lactic acid bacteria*, Gasson, M. and deVos, W. M. (ed), p. 106 (Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 1994).
- 5) MaKay, L. L. and Baldwin, K. A., *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 68 (1984).
- 6) Klaenhammer, T. R. and Sanozky, R. B., *J. Gen. Microbiol.*, **131**, 1531 (1985).
- 7) Klaenhammer, T. R., *FEMS Microbiol. Lett.*, **46**, 313 (1987).
- 8) Chassy, B. M., *FEMS Microbiol. Rev.*, **46**, 297 (1987).
- 9) de Vos, W. M., *FEMS Microbiol. Rev.*, **46**, 281 (1987).
- 10) Sasaki, T. ; *In Recombinant microbes for industrial and agricultural application*, Muraoka, Y., and Imanaka, T. (Ed), p. 509 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1994).
- 11) Pouwels, P. H. and Leer, R. J., *Anton. Leeuwenhoek*, **64**, 85 (1993).

- 12) de Vos, W. M. and Simons, G. F. M. ; *In Genetics and biotechnology of lactic acid bacteria*, Gasson, M. and deVos, W. M. (ed), p. 52 (Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 1994).
- 13) Mercenier, A *et al.* ; *In Genetics and biotechnology of lactic acid bacteria*, Gasson, M. and deVos, W. M. (ed), p. 52 (Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 1994).
- 14) Harlander, S. K.; *In Streptococcal Genetics*, Ferretti, J., and Curtis, R. (Ed), p. 229 (American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1987).
- 15) Chassy, B. M. and Flickinger, J. L., *FEMS Microbiol. Lett.*, **44**, 173 (1987).
- 16) Holo, H. and Nes, I. F., *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 3119 (1989).
- 17) Luchansky, J. B. *et al.*, *Mol. Microbiol.*, **2**, 637 (1988).
- 18) Missich, R. *et al.*, *Plasmid*, **32**, 208 (1994).
- 19) Dunny, G. M. *et al.*; *In Genetics and molecular biology of streptococci, lactococci, and enterococci*, Dunny, G. M. *et al.* (Ed), p. 297 (American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1991).
- 20) Leenhouts, K. J. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 394 (1989).
- 21) Chopin, M. C. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1769 (1989).
- 22) Biswas, I. *et al.*, *J. Bacteriol.*, **175**, 3628 (1993).
- 23) Mollet, B. *et al.*, *J. Bacteriol.*, **175**, 4315(1993).
- 24) Fitzsimons, A. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1769 (1994).
- 25) Okamoto, T. *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 259 (1983).
- 26) Kobayashi, O. and Hiyama, K., *Kagaku To Kougyo* (Osaka), **65**, 123 (1991).
- 27) Kobayashi, O. and Hiyama, K., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1886 (1994).
- 28) Kobayashi, O. and Hiyama, K., *Kagaku To Kougyo* (Osaka), **69**, 123 (1995).
- 29) Kobayashi, O. and Hiyama, K., *Seibutsukogakukaishi*, **76**, *In Press* (1998).
- 30) Alm, L., *J. Dairy Sci.*, **65**, 346 (1982).
- 31) Rasic, J. L. and Kurmann, J. A. ; *In Yoghurt*, p. 99 (Tech Dairy Publ. House, Copenhagen,

1978)

- 32) Hara, H. *et al.*, *Bifizusu*, **6**, 169 (1993).
- 33) Takiguchi K. *et al.*, *Bifizusu*, **7**, 7 (1994).
- 34) Suzyki, T. *et al.*, *Nihonnogekagakukaishi*, **57**, 1143 (1983).
- 35) Ito, H. *et al.*, *Igaku To Seibutsugaku*, **115**, 375 (1987).
- 36) Yamamoto, N. *et al.*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 776 (1994).
- 37) Furushiro, M. *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2193 (1990).
- 38) Furushiro, M. *et al.*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 978 (1993).
- 39) Shimada, T. *et al.*, *Nihoneiyo · Shokuryogakukaishi*, **45**, 519 (1992).
- 40) Friend, B. A. *et al.*, *Milchweissenschaft*, **37**, 708 (1982).
- 41) Friend, B. A. and Shahani, K. M., *J. Food Prot.*, **47**, 717 (1984).
- 42) Lidbeck, A. *et al.*, *Eur. J. Cancer Prev.*, **1**, 314 (1992).
- 43) Mizutani, T. and Mitsuoka, T., *Cancer Lett.*, **11**, 89 (1980).
- 44) Goldin, B. R. and Gorbach, S. L., *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 263 (1980).
- 45) Yokokura, T., *Rakunotagaku · Sokuhihin No Kenkyu*, **43**, A-141 (1994).
- 46) Tomita, K. *et al.*, *Nihonhinyokikagakukaishi*, **85**, 655 (1994).
- 47) Aso, Y. *et al.*, *Urol. Int.*, **49**, 125 (1992).
- 48) Aso, Y. *et al.*, *Eur. Urol.*, **27**, 104 (1995).
- 49) Yokokura, T. *et al.*, *Gan To Kagakuryoho*, **11**, 2427 (1984).
- 50) Asano, M. *et al.*, *J. Urol.*, **136**, 719 (1986).
- 51) Nomoto, Y. *et al.*, *KBIOTHERAPY*, **3**, 1556 (1989).
- 52) Goulet, J. *et al.*; *In* Yogurt, Chandan, R. C. (Ed), p. 187 (Natl. Yogurt Assoc., McLean, Va., U.S.A., 1989).
- 53) Perdigon, G. *et al.*, *Infect Immun.*, **53**, 404 (1986).
- 54) Perdigon, G. *et al.*, *Int. Immunother.*, **9**, 29 (1993).
- 55) Kanai, H. *et al.*, *Chikusan No Kenkyu*, **48**, 698 (1994).

- 56) Lilley, D. M. and Stillwell, R. J., *Science*, **147**, 747 (1965).
- 57) Fuller, R., *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 365 (1994).
- 58) Gilliland, S. E. *et al.*, *J. Dairy Sci.*, **63**, 964 (1980).
- 59) Pollmann, D. S. *et al.*, *J. Anim. Sci.*, **51**, 577 (1980).
- 60) Ozawa, K. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1513 (1983).
- 61) Kimura, N. *et al.*, *Bifidbacteria Microflora*, **2**, 41 (1983).
- 62) Namioka, S. *et al.*, *Bifidbacteria Microflora*, **10**, 1 (1990).
- 63) Abe, F. *et al.*, *Bifizusu*, **8**, 141 (1995).
- 64) Ray, B., *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, p. 19 (CRC Press, 1992).
- 65) Cyo, T. *et al.*, *Nihonsuisangakukaishi*, **58**, 1961 (1992).
- 66) Matsuda, t. *et al.*, *Nihonshokuhinkogyokaid*, **41**, 687 (1994).
- 67) Ray, B., *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, p. 137 (CRC Press, 1992).
- 68) Dahiya, R. S. and Speak, M. L., *J. Dairy Sci.*, **51**, 1568 (1968).
- 69) Price, R. J. and Lee, J. S., *J. Milk Food Technol.*, **33**, 13 (1970).
- 70) Collins, F. B. and Aramaki, K., *J. Dairy Sci.*, **63**, 353 (1980).
- 71) Gilliland, S. E. and Speck, M. L., *J. Food Prot.*, **40**, 820 (1977).
- 72) Montville, T. J. and Kaiser, A. L., *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, p. 6 (Academic Press, 1993).
- 73) Ray, B., *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, p. 224 (CRC Press, 1992).
- 74) Hansen J. N., *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, p. 93 (Academic Press, 1993).
- 75) Delves-Broughton, J., *J. Food Technol.*, **44** (11), 100 (1990).
- 76) Hurst, A. and Hoover, D. G., *Antimicrobials in Foods*, p. 369 (Marcel Dekker, Inc., 1993).
- 77) Sibasaki, I., *BokinBobai*, **24**, 601 (1996).
- 78) Ohara, H., *Seibutsukogakukaishi*, **76**, *In Press* (1998).
- 79) Ohara, H., *Jozokyokaishi*, **90**, 32 (1995).

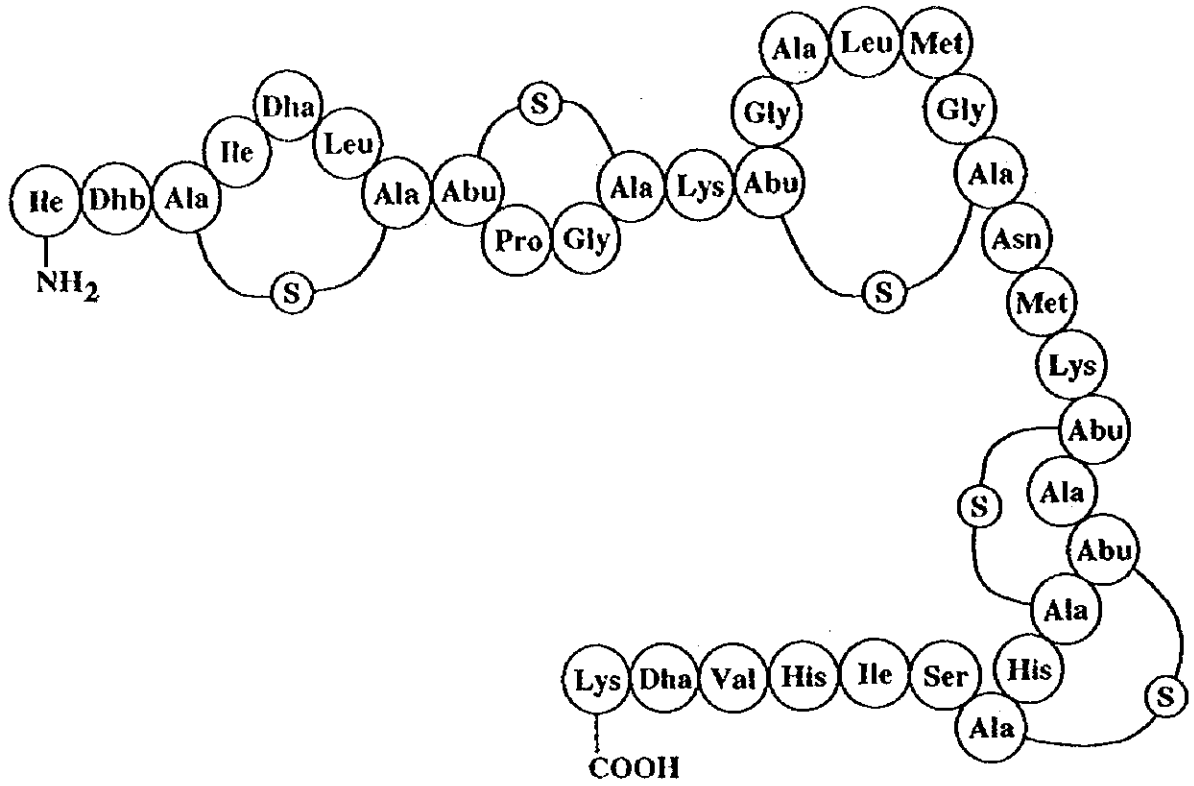


Fig. 4. Nisin

Recent Japanese Development in the Enzymatic Production and Application of Oligosaccharides

Hirofumi NAKANO

Osaka Municipal Technical Research Institute

1-6-50, Morinomiya, Jyoto-ku, Osaka, 536-8553, Japan

Introduction

Japan has a long history of sophisticated utilization of microorganisms and enzymes, for instance, in manufacturing fermented foods. Back to 1898, the first outstanding success in industrial enzyme application was achieved by Dr. Joichiro Takamine, who produced Taka-diaxase, digestive enzymes from mold koji, *Aspergillus oryzae*. Japan may still be one of the most advanced countries in enzyme technology, particularly in producing useful carbohydrates[1-3]. This seminar reviews recent Japanese development in the enzymatic production and application of various oligosaccharides and related carbohydrates.

1. Oligosaccharides.

A wide variety of oligosaccharides are industrially produced in Japan (Table 1). Some of them act not only as nutrients (first function) or as sweeteners (second function) but also exhibit physiological activities (third function), which are good for health. Those with the third function are termed "functional" oligosaccharides or sugars. For example, maltooligosyl sucrose (coupling sugar) and palatinose (α -1,6-glucosyl fructose) prevent teeth from decaying. Fructo-, galacto- isomalto-, and xylooligosaccharides etc. show selective growth activity of *Bifidobacterium* in the large intestine, which brings us about various healthy effects. This section deals some of the remarkable oligosaccharides.

1.1 Trehalose.

Trehalose is a non-reducing disaccharides linked with α,α' -1,1'- glucosidic bond (Fig. 1) and distributes widely in nature. Before mid 1990's, trehalose was so expensive (approximately US\$250 or more per kg) that its application for foods was restricted. However the finding of two enzymes named "maltoligosyl trehalose synthase" and "maltoligosyl trehalose trehalohydrolase" from a bacterial origin open up the production of the useful saccharide in an industrial scale[4]. Nowadays trehalose of a high purity (>98%) is available at an almost 1/100 of the former price. The two enzymes act on starch successively to produce trehalose (Fig. 2). Trehalose has a noble taste and its sweetness is nearly 45% of that of sucrose. It causes no browning during food processing. Trehalose protects gelatinized starch from retrogradation and proteins from undesirable denaturing (Fig. 3), which keeps chilled or frozen foods fresh and tasty. It is also useful as additives for cosmetics because of the moisture-retaining nature. A new microbial enzyme is found which converts maltose directly to trehalose by intra-molecular transglucosylation[5].

1.2 Gentiooligosaccharides.

Gentiobiose is a disaccharide bound with β -1,6-linkage (Fig. 1). Commercialized product of gentiooligosaccharides is a syrup which mainly contains gentiobiose and gentiotriose. The product is manufactured from glucose by the condensation and following transglucosylation catalyzed by *Aspergillus niger* β -glucosidase[6]. The product is a low calorie sweetener and shows selective growth activity of *Bifidobacterium*. The taste is slightly bitter and thus they are added to soft drinks, candies and cookies with flavor of coffee, chocolate, and cocoa[7].

1.3 Lactosucrose.

Lactosucrose (β -1,4-galactosyl sucrose, LS, Fig. 4) is manufactured from sucrose and lactose by transfructosylating action of *Arthrobacter* β -fructosidase[8]. LS is a low calorie sugar and causes selective growth of *Bifidobacterium* in the large intestinal tract. Recent studies revealed LS stimulates Ca^{2+} adsorption and strengthening of bones (Fig. 5). Japan is becoming an aging society and thus the importance of taking Ca^{2+} as nourishment is getting more recognized. Galacto- and fructooligosaccharides are also known to stimulate the mineral adsorption (Table 2).

1.4 Xylosyl fructoside.

Xylosyl fructoside (XF, Fig. 4) is produced by transfructosylation of xylose with *Arthrobacter* β -fructosidase[8] or *Bacillus* levan sucrase. XF is effective to prevent teeth from decaying by inhibiting the utilization of sucrose by *Streptococcus*.

1.5 Nigerooligosaccharides.

Nigerose is a glucobiose bound with α -1,3-linkage (Fig. 1). Commercialized product contains nigerose, nigerosyl glucose and nigerosyl maltose. Nigerooligosaccharides are formed from dextrin by the transglucosylation catalyzed by an unique α -glucosidase from a fungi, *Acremonium*[9]. The following characteristics are reported: 1) Sweetness is almost 45% of sucrose and it gives good body to foods. 2) It makes salty taste milder. 3) It reduces bitterness of stevioside and aspartame. 4) It inhibits the decay of teeth. 5) It activates immune system of mammalian cells. 6) It elicits phytoalexins, plant defense compounds.

1.6 Phosphorylated oligosaccharides.

Phosphorylated oligosaccharides are derived by the complete digestion of potato starch by liquifying α -amylase and glucoamylase[10]. Tetra-, penta- and hexaoligosaccharides contain one or two phosphorylated C-6 OH-group(s). Poly-phosphorylated saccharides make calcium phosphate into a soluble form in the large intestine, which brings about the stimulated Ca^{2+} adsorption (Table 3)[11].

2. Cyclooligosaccharides.

α -1,4-Linked cyclodextrins (CDs) and α -1,2-linked cyclosophoroglucans are relatively long-known cyclic sugars. Recent development involves findings of novel cyclooligosaccharides and enzymatic modification of conventional CDs. Cyclic glucans with large molecular weights are not "oligosaccharides" terminologically, but they are also explained here.

2.1 CDs and branched CDs.

CDs consist of 6 - 8 glucose units bound with α -1,4-linkages (Fig. 6) and are

synthesized from starch by microbial CD glucanotransferase (Table 4) The application of CDs has been researched since 1950's and the industrial manufacturing was established in early 1980's. The cavity of CD rings are slightly hydrophobic to form inclusion complexes with various "guest" compounds. CDs, therefore, increase stability and solubility of the guest compounds and, in some case, release them gradually. CDs are also used to remove undesirable smells. Branched CDs have additional glucose or maltose residues at C-6 OH group of the ring glucose. The side branches are introduced by the condensation action of a pullulanase. Because of the improved solubility, branched CDs are utilized for various purposes in place of CDs.

2.2 Cyclofructans.

Cyclofructans (cycloinulooligosaccharides, CFs) consist of 6 – 8 fructose molecules bound with β -1,2-linkages (Fig. 6). CFs are synthesized by CF fructanotransferase from *Bacillus circulans* (Table 4)[12]. CFs have smaller cavities compared with CDs and thus form chelating complex with metal ions like crown compounds[13].

2.3 Cyclodextrans.

Cyclodextrans (cycloisomaltooligosaccharides, CIs) consist of 7 - 9 glucose molecules bound with α -1,6-linkages (Fig. 6). The first report on the production of CIs by *Bacillus* appeared in 1993 [14]. The new enzyme, CI glucanotransferase, that catalyzes not only cyclization reaction of α -1,6-glucans (dextran) but also disproportionating and coupling reactions (Table 4)[15]. CIs have higher solubility than CDs. The inclusion abilities are lower because of the flexible ring structures. CIs strongly inhibit *Streptococcus* glucosyl transferase that produces insoluble glucans from sucrose on the teeth. Thus CIs have a potential application for additives that prevent teeth from decaying.

2.4 Hetero-branched CDs.

Novel branched CDs are synthesized, which have galactose, mannose, and *N*-acetyl glucosamine as side branches (Fig. 7). Galactosyl CDs are synthesized by transfer reaction of coffee bean α -galactosidase using melibiose (α -1,6-galactosyl glucose) as a galactosyl donor[16]. Mannosyl CDs are produced by condensation reaction of jack bean α -mannosidase in a mixture of high concentration of mannose and CDs[17]. *N*-Acetyl glucosaminyl CDs are also formed by condensation action of β -*N*-acetyl hexosaminidase from jack bean. Alkaline deacetylation converts them corresponding glucosaminyl CDs. These "hetero-branched CDs" show high solubility as "homo-branched (glucosyl and maltosyl) CDs". Hetero-branched CDs have a potential application for "carriers" to deliver drugs as inclusion complexes to specific organs. Meantime side residues act as "sensor" because of the affinity with appropriate organs.

2.5 Cyclic glucans.

D-enzyme (disproportionating enzyme) forms α -1,4-linked cyclic glucans (cycloamyloses) with polymerization degrees of 17- 40 (Fig. 8)[18]. Branching enzyme intrinsically catalyzes the formation of α -1,6-branching structure of amylopectin and glycogen. Recently the enzyme was also found to produce cyclic glucans (termed "cluster dextrins") from amylose with polymerization degrees of over 60 through α -1,6-transglucosylation (Fig. 8)[19]. These two cyclic glucans are highly soluble, low viscosity and are expected to be used as starchy material with low retrogradation character.

3. Other carbohydrates.

More consumers concern about how to stay health and hate over-taking of calories. Japanese consumers are particularly sensitive to sugars rather than fat, and thus, a lot of "sugarless (non-sugar)" foods and soft drinks are sold at the stores. Sugar-alcohols and stevioside are indispensable for regulating the sweetness of these sugarless products properly. Sugar-alcohols are excluded from the definition of "sugars" in the Japanese law system.

3.1 Sugar-alcohols.

Xylitol and erythritol are activating recent Japanese market of sugar-alcohols (Table 5). Xylitol is consumed more as the additives for chewing gums, candies, etc., due to the sales pitch of preventing teeth from decaying (Fig. 9)[20]. Sweetness of xylitol is almost same as that of sucrose. The heat of dissolution is high and so it gives us "cool" taste when it solves in mouth. Xylitol can not be fermented by *Streptococcus mutans* to produce lactic acid that cause decaying of teeth and it inhibits formation of insoluble glucans that retain the bacterium on teeth surface. Furthermore, it causes the decrease in the cell number of this bacterium. Erythritol is a poly-alcohol with 4 carbon atoms. It is manufactured by fermentation of glucose with a yeast. It also feels cool when it solves. Erythritol is a non-calorie (0.0 kcal/g) sweetener and masks bitter taste of stevioside and aspartame.

3.2 Oxidized oligosaccharides and lactons.

Lactobionic acid (LA) is formed from lactose (β -1,4-galactosyl glucose) through oxidation with microbial dehydrogenases and oxidases and following spontaneous hydrolysis of the lacton structure (Fig. 10). LA is reported to be effective in selective growth of *Bifidobacterium* or in stimulation of mineral (e.g. Ca^{2+} and Fe^{3+}) adsorption[21]. β -1,4-Galactosyl maltooligonolactones (Fig. 10) inhibit salivary and pancreatic amylases [22] and thus it is expected to depress the rapid increase of blood sugars.

3.3 Monosaccharide and glycosides.

L-Arabinose inhibits sucrase and α -glucosidase of the small intestinal mucosa[23]. Therefore, it is expected to repress rapid increase of blood sugar level of diabetic after meal. Stevioside, a natural diterpenoid, is widely used as sweeteners. The sweetness is over 100 times of sucrose. Glucosyl, galactosyl and fructosyl derivatives are developed to improve the quality of taste and the solubility (Fig. 11). These were synthesized by enzymatic transglycosylation reactions[24].

Conclusion.

Here covered are the most, if not all, of noticeable examples of enzyme application in the production of useful carbohydrates. Some of them are manufactured practically and some others are still in research or experimental stages. It is my pleasure if this seminar could inform former JICA participants and person concerned on the recent Japanese enzyme technology and could contribute for upgrading the knowledge on sugar utilization.

[References]

- 1) T. Nakakuki (ed.): *Oligosaccharides*, Gordon and Breach Science Publishers, London (1993).
- 2) The Amylase Research Society of Japan (ed.): *Handbook of Amylases and Related Enzymes*, Pergamon Press, Tokyo (1988).
- 3) The Amylase Research Society of Japan (ed.): *Enzyme Chemistry and Molecular Biology of Amylases and Related Enzymes*, CRC Press, Tokyo (1994).
- 4) K. Maruta, T. Nakada, M. Kubota, H. Chaen, T. Sugimoto, M. Kurimoto, and Y. Tsujisaka, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1829-1834 (1995).
- 5) T. Nishimoto, T. Nakada, H. Chaen, S. Fukuda, T. Sugimoto, M. Kurimoto, and Y. Tsujisaka, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 835-839 (1996).
- 6) T. Unno, K. Ide, T. Yazaki, Y. Tanaka, T. Nakakuki, and G. Okada, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 2172-2173 (1993).
- 7) T. Unno, *J. Appl. Glycosci.*, **42**, 83-89 (1995).
- 8) K. Fujita, K. Hara, H. Hashimoto, and S. Kitahata, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2655-2661 (1990).
- 9) Y. Konishi and K. Shindo, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 439-442 (1997).
- 10) H. Kamesaka, M. Uchida, K. Kusaka, K. Yoshikawa, K. Yamamoto, S. Okada, and T. Ichikawa, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1412-1416 (1995).
- 11) M. Uchida, H. Kamasaka, T. Mathuura, S. Okada, and T. Ichikawa, *J. Appl. Glycosci.*, **43**, 535-540 (1996).
- 12) M. Kawamura, T. Uchiyama, T. Kuramoto, Y. Tamura, and K. Mizutani, *Carbohydr. Res.*, **192** 83-90 (1989).
- 13) M. Kawamura and T. Uchiyama, *Denpun Kagaku*, **39**, 109-116 (1992).
- 14) T. Oguma, T. Horiuchi, and M. Kobayashi, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1225-1227 (1993).
- 15) T. Oguma, K. Tobe, T. Horiuchi, and M. Kobayashi, *J. Appl. Glycosci.*, **41**, 235-243 (1994).
- 16) K. Hara, K. Fujita, N. Kuwahara, H. Hashimoto, T. Tanimoto, K. Koizumi, and S. Kitahata, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 517-520 (1994).
- 17) K. Hamayasu, K. Koizumi, K. Fujita, Y. Kondo, H. Hashimoto, T. Tanimoto, K. Koizumi, H. Nakano, and S. Kitahata, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 825-829 (1997).
- 18) T. Takaha, M. Yamase, H. Takata, S. Okada, and S. Smith, *J. Biol. Chem.*, **271**, 2902-2908 (1996).
- 19) H. Takata, T. Takaha, S. Okada, M. Takagi, and T. Imanaka, *J. Bacteriol.*, **178**, 1600-1606 (1996).
- 20) A. Sceinin and K. K. Makinen (ed.) *Turku sugar studies*, *Acta, Odontol. Scand.*, **33** (Suppl. 70) 5-348 (1975).
- 21) T. Suguri, S. Yanagihara, T. Kobayashi, and S. Shustuke: Japan Patent 07277990.
- 22) M. Takada, K. Ogawa, S. Saitou, T. Murata, and T. Usui, *J. Appl. Glycosci.*, **44**, 213-221 (1997).
- 23) K. Seri, K. Sanni, Y. Negishi, and T. Akino: Japan Patent 0665080.
- 24) M. Ishikawa, S. Kitahata, K. Ohtani, C. Ikuhara, and O. Tanaka, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 3137-3143 (1990).

Table 1 Japanese Market Scale of Several Functional Oligosaccharides in 1997

Oligosaccharide	Demand (Ton/year)	Unit Cost (Yen/Kg)	Production
Fructooligo-	3,000	390	E/T
Soybean oligo-	11,000	740	E/T
Galactooligo-	7,500	500	E/T
Coupling sugar	8,000	220	E/T
Xylooligo-	300	2,500	E/H
Lactosucrose	2,500	800	E/T
Palatinose	4,500	400	E/T
Palatinose oligo-	150	700	E/T
Palatinit	2,100	360-400	E/T
Raffinose	2,200	2,000	E/T
Trehalose	10,000	280-300	E/T, H
Isomaltulose	11,000	140	E/T
Lactulose	500	1,000	E/T

*E/T, Enzymatic transfer; E/H, Enzymatic hydrolysis

Fig. 1 Structures of Functional Glucobioses

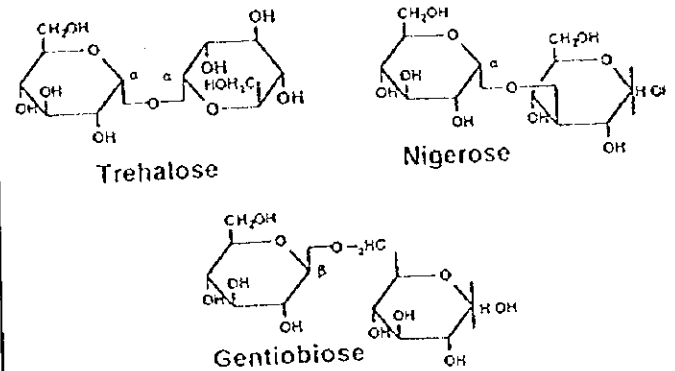


Fig. 2 Scheme of Trehalose Formation by MTSase and MTHase

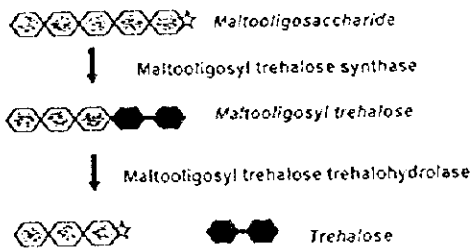


Fig. 3 Protection of Protein Denaturation and Starch Retrogradation by Trehalose

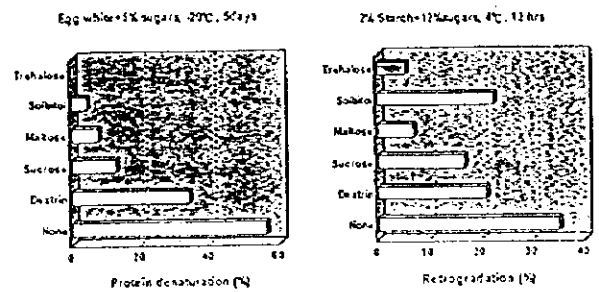


Fig. 4 Lactosucrose and Xylosyl fructoside Produced by *Arthrobacter* β -Fructosidase

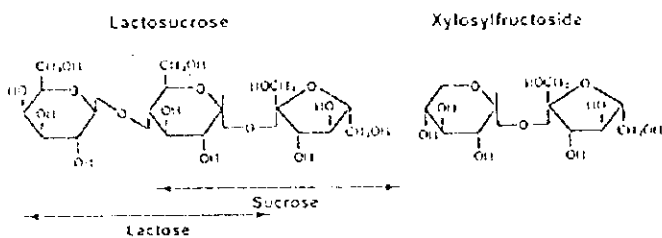


Fig. 5 Stimulation of Calcium Adsorption/Retention and Strengthening of Bone of Rat by Lactosucrose

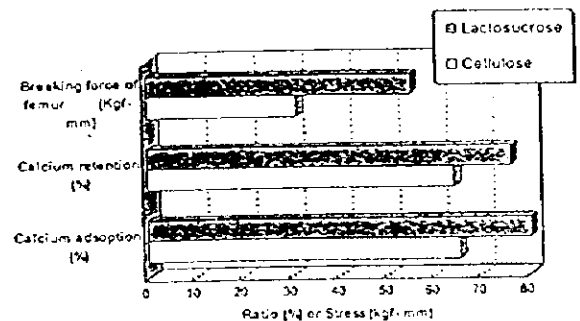


Table 2 Effect of Several Oligosaccharides on Calcium Adsorption

	Adsorption (%)
Control (Sucrose)	57.8
Isomaltooligosaccharides	55
Galactooligosaccharides	62
Raffinose	68.2
Fructooligosaccharides	70.8

Table 3 Effect of Phosphorylated Oligosaccharides (PO) on Calcium Adsorption in Rats

n = 6	Control	PO
Intake (mg/day)	78.1 ± 7.7	83.6 ± 5.7
Fecal excretion (mg/day)	33.7 ± 7.4	32.0 ± 4.7
Urinary excretion (mg/day)	1.46 ± 0.50	1.73 ± 1.02
Adsorption (%)	57.0 ± 6.9	61.9 ± 3.8
Retention (%)	55.1 ± 6.5	59.9 ± 4.7

Fig. 6 Structures of CD, CI and CF

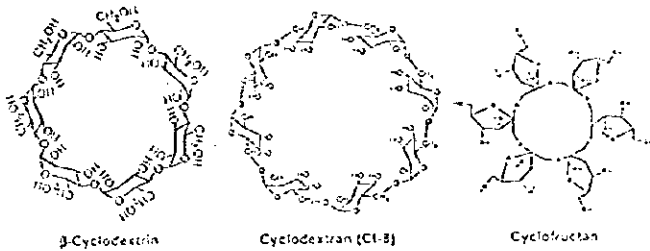


Table 4 Enzymatic Properties of Cyclic Sugar Synthases

Enzyme	CGTase	CFase	CIase	CS synthase
Substrate	Starch	Inulin	Dextran	UDPG+ATP
Sugar Residue	Glc	Frc	Glc	Glc
Linkage	α -1,4	β -1,2	α -1,5	β -1,2
Product	CD	CF	CI	CS
Polymerization	6-8	6-8	7-9	17-25
Coupling	+	+	+	-
Disproportionating	+	+	+	-
Optimum pH	4.5-8	7-7.5	5.5	8-9
Heat stability	<55	40	40	40

Fig. 7 Hetero-branched Cyclodextrins

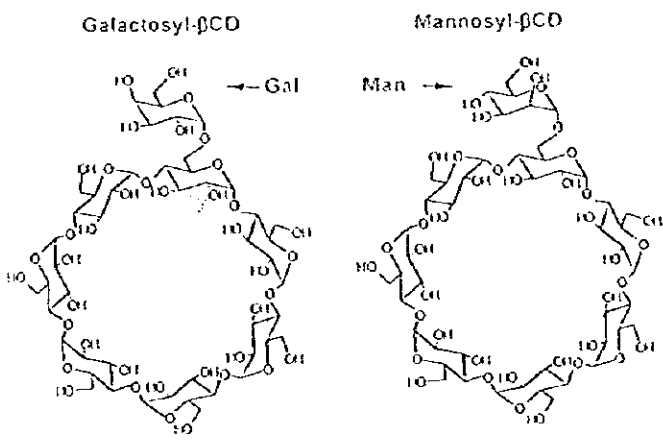


Fig. 8 Formation of Cyclic Glucans by D-enzyme and Branching Enzyme

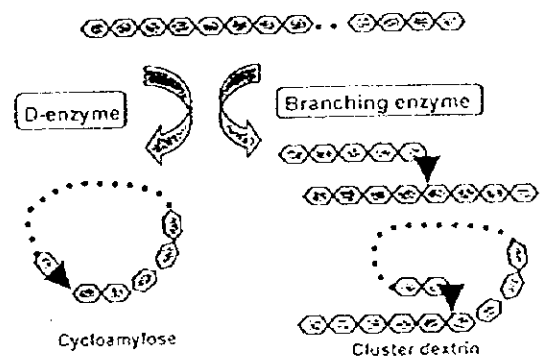


Table 5 Japanese Market Scale of Sugar-alcohols in 1996

Sugar alcohol	Demand (Ton/Year)	Unit cost (Yen/Kg)
Sorbitol	130,000	130
Reduced dextrin	65,000	150
Maltitol	24,000	350
Erythritol	8,000	800
Palatinit	2,500	470
Lactitol	2,000	500
Mannitol	1,800	900
Xylitol	3,000	1,000

Fig. 9 Clinical Study on Depression of Teeth Decay by Xylitol

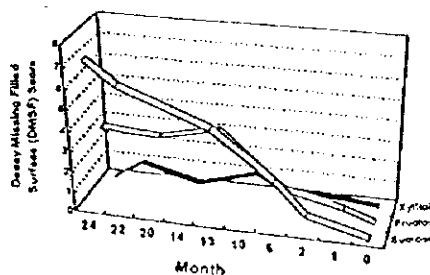


Fig. 10 Structures of Lactose and Its Derivatives

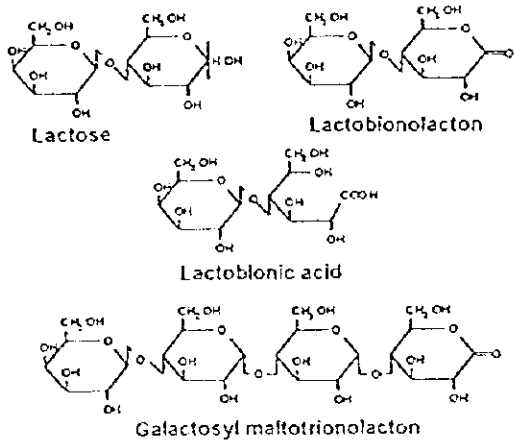


Fig. 11 Stevioside Derivatives

