

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2011 Vol.53 No.6

6

論 説

- 食用紫菊花の蛋白糖化最終生成物 (AGEs) 生成抑制用の研究
- 海藻由来成分メカブフコイダンの機能性
ー食品成分による免疫機能の賦活ー
- 酸化されるポリフェノール, その安全性と機能
- 発芽小麦ふすまの製パン性に及ぼす影響
- 滴定による簡便で正確な緩衝能測定法について
- 過熱蒸気を熱源とする減圧噴霧乾燥機 (VSD) の構築
- 大豆イソフラボンサプリメントが
閉経期女性の骨代謝マーカーに及ぼす影響

連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第6回 南アジア-インドの都市部・農村部の事例1: 乳のみの乳製品

雑感

- 大阪淀屋橋散策 (適塾, 道修町界限)

連載

- 薬膳の知恵 (57)
- 築地市場魚貝辞典 (マダイ)

☐ News Release 「メトセルTM」シリーズ発売について (ユニテックフーズ株式会社)



論 説

- 食用紫菊花の蛋白糖化最終生成物（AGEs）生成抑制用の研究
..... 北野 貴大, 八木 雅之, 埜本 慶太郎, 堀 未央, 庄野 繁一, 米井 嘉一 1

- 海藻由来成分メカブフコイダンの機能性
-食品成分による免疫機能の賦活-
..... 吉永 恵子 11

- 発芽小麦ふすまの製パン性に及ぼす影響
..... 瀬口 正晴 29

- 滴定による簡便で正確な緩衝能測定法について
..... 星 祐二 37

- 過熱蒸気を熱源とする減圧噴霧乾燥機（VSD）の構築
..... 北村 豊, 山野 善次, 山崎 和彦 47

- 大豆イソフラボンサプリメントが
閉経期女性の骨代謝マーカーに及ぼす影響
-無作為化比較試験のメタ分析-
..... 卓 興鋼, 石見 佳子 53

- News Release 「メトセルTM」シリーズ発売について（ユニテックフーズ株式会社）
..... 72

Contents

2011 年 6 月号

連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第 6 回 南アジア—インドの都市部・農村部の事例 1：
乳のみの乳製品

..... 平田 昌弘 73

雑感

- 大阪淀屋橋散策（適塾，道修町界限）

..... 門脇 修一郎 82

連載

- 薬膳の知恵（57）

..... 荒 勝俊 86

- 築地市場魚貝辞典（マダイ）

..... 山田 和彦 93

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料
コクベース

new 発酵調味料
D&M
ディアンドエム

ゼラチン & 小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベース
ラクティックイーストエキス
乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳糖酵母エキスです。

DM **大日本明治製糖株式会社**
食品事業部

〒103-0027 東京都中央区日本橋1-5-3 日本橋西川ビル7F TEL (03) 3271-0755

食用紫菊花の蛋白糖化最終生成物（AGEs） 生成抑制作用の研究

北野 貴大^{*1} 八木 雅之^{*2} 埜本 慶太郎^{*3} 堀 未央^{*4} 庄野 繁一^{*5} 米井 嘉一^{*6}
原 高明^{*7} 原 英郎^{*8} 山路 明俊^{*9}

^{*1} KITANO Takahiro, ^{*2} YAGI Masayuki, ^{*3} NOMOTO Keitaro, ^{*4} HORI Mio, ^{*5} SHONO Shigeichi, ^{*6} YONEI Yoshikazu
(同志社大学大学院生命医科学研究科 アンチエイジングリサーチセンター)

^{*7} HARA Takaaki, ^{*8} HARA Hideo, ^{*9} YAMAJI Akitoshi (株式会社ユニアル)

Key Words：えんめい薬・抗糖化・AGEs・ORAC・ポリフェノール・ルテオリン・アントシアニン・クロロゲン酸

はじめに

平成 19（2007）年度国民健康・栄養調査によると糖尿病とその予備群（糖尿病が強く疑われる人や可能性を否定できない人）は 2210 万人に達するという結果であった。この数は平成 14（2002）年度の調査から 5 年間で 590 万人の増加であり、今後もさらに増加すると予測されている。糖尿病合併症の病態は加齢に伴って現れるさまざまな老化現象と良く似ていることから、糖代謝異常と老化進展との関連性が報告されている。また、グルコースは生体において重要なエネルギー源であるため、生命を維持する上で不可欠な物質である。このため生体へのグルコースの影響は糖尿病の有無にかかわらず全ての人に老化の危険因子として関与する可能性がある。近年、グルコースおよび糖代謝異常の老化への影響についての研究は進みつつある¹⁾。

蛋白質はグルコースと共存することにより非酵素的に反応し、不可逆的な変性を起こすことが知られている。この反応は糖化反応と呼ばれ、蛋白質とグルコースが結合し、アマドリ化合物を経て蛋白糖化最終生成物（advanced glycation end products：AGEs）を生成する。AGEs にはその生成中間体である 3-デオキシグルコソ

ン（3DG）をはじめ、ピラリン、ペントシジン（Pent）、カルボキシメチルリジン（CML：N^ε-(carboxymethyl) lysine）など、数 100 種類の物質が同定されている¹⁾。これら AGEs の生体内蓄積は、皮膚老化^{2,3)}、腎糸球体組織硬化部や腎動脈硬化症などの糖尿病合併症^{2,4)}だけでなく、アルツハイマー病などの神経変性疾患⁵⁾、皮膚老化⁶⁻⁸⁾、骨の老化⁹⁾、眼球の老化¹⁰⁾、アルブミン蛋白の老化¹¹⁾に深く関与することが報告されている。以上のように糖化反応および AGEs の生成・蓄積が健康長寿、生活の質（Quality of Life：QOL）の維持・向上に対し大きな危険因子となっていることから、健康長寿、QOL の維持・向上を達成するためには生活指導として提案できる抑制因子の探究が予防医学・健康増進に携わる機関の急務といえる。

今回の研究で注目した「食用菊花」（*Chrysanthemum morifolium*）は伝統的に解毒や解熱、消炎、目のトラブル全般（目のかすみ、渇き、かゆみ、視力の低下、疲れ目、目の充血など）への作用を目的に用いられてきた食経験豊かな素材である。最近の研究から、「菊花」中のテトラクマロイルスベルミンには糖尿病由来の腎機能低下や糖尿病性神経障害に影響を及

ぼすとされる細胞内グルタチオンの産生を高める作用があることにより解毒作用をもたらしているという報告¹²⁾や、これらの菊花がCMLやPentを指標にしたAGEs形成を強く抑制する¹³⁾との報告がある。このため菊花は眼球関連のタンパク質の糖化も抑制する可能性も考えられる。

食用菊花の主な品種としては延命楽、阿房宮、八戸一号、十六夜などがある。これらのうち、延命楽、阿房宮はそれぞれ紫色、黄色の花を有する優良なキク品種で広く栽培されている。そこで、本研究では「抗糖化」をキーワードとした健康食品・化粧品素材としての可能性を模索することを目的とし、「食用菊花」のうちえんめい楽粉末及び抽出物（EE）に注目し様々な抽出方法を試み、阿房宮抽出物（AE）を比較対象としAGEs生成抑制作用を検証した。

1. 材料と方法

サンプル

サンプルは株式会社ユニアル（東京都板橋区）より提供された食用菊花（えんめい楽および阿房宮）を用いた。えんめい楽は粉末、熱水抽出エキス（EE-W）（スプレードライタイプ）、アルコール抽出エキス（EE-A）（スプレードライタイプ）を用いた。えんめい楽および阿房宮ともに、粉末は菊花原料を乾燥後、殺菌・粉碎し、得られたもの（約120メッシュ）とした。EE-Wは80℃の熱水で2時間抽出し作製した。EE-Aは50℃の50%含水エタノールで2時間抽出し作製した。濃度約22%、乾燥温度約160℃で、スプレードライタイプの粉末を作製した。比較対照の阿房宮は粉末を用い、陽性対照として塩酸アミノグアニジン（以下AG）（和光純薬工業、大阪市中央区）を用いた。

サンプル調製

各1%サンプル水溶液を調製して実験に用いた。EEおよびAEに関しては溶解しなかった

ため懸濁液として使用した。エキス固形分濃度は調製したサンプル溶液5mLの120±10℃で3時間加熱前後の重量差から算出した。

AGEs生成

AGEs由来蛍光を以下のように測定した。0.1 mol/L リン酸緩衝液（PBS）（pH7.4）500 μL、蒸留水100 μL、40 mg/mL ヒト血清アルブミン（HSA, Sigma Chemical Co.Ltd, MO, USA）200 μL、2 mol/L グルコース水溶液100 μLに、各濃度の菊花エキスまたはAG水溶液を100 μL添加し、60℃で40時間インキュベーションした（A）。同時に各反応ブランクとして、グルコース水溶液の代わりに蒸留水を添加したものをインキュベーションした（B）。陽性コントロールとして、菊花エキスまたはAGを添加しない試料を調製してインキュベーションした（C）。同時に陽性コントロールに対するブランクとしてグルコース水溶液の代わりに蒸留水を添加したものをインキュベーションした（D）。メイラード反応阻害活性の評価は、各試料反応液（A, B, C, D）中のメイラード反応生成物を測定した。マイクロプレートリーダーARVO MX 1420 ARVO series Multilabel Counter（Perkin-Elmer Japan Corp., 神奈川）を用い、励起波長370 nm、蛍光波長：440 nmでAGEs由来蛍光値を測定した。下式を用いて陽性コントロールに対するAGEsの生成抑制率を算出し、抗糖化活性としてIC₅₀（50%生成阻害濃度）を算出した。

$$\text{蛍光性 AGEs 生成抑制率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - D)\} \times 100$$

蛍光性AGEs生成抑制率は図1に示すように、各サンプルを3濃度（0.1%, 0.01%, 0.001%）で反応液に添加し、反応後のAGEs生成抑制率から検量線を作成した。IC₅₀は生成抑制率50%に相当するサンプル濃度とした。

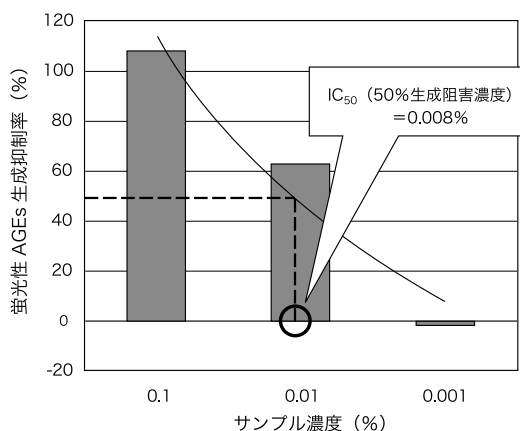


図1 IC₅₀ (50% 生成阻害率) の算出方法
(サンプルは塩酸アミノグアニジン)

HPLC

3DG は HPLC 法にて測定した。3DG 測定用サンプルは、各サンプル 200 μ L に蒸留水 300 μ L、内部標準物質として 20 mg/mL 2,3-pentanedione (和光純薬工業株式会社) 25 μ L を添加し攪拌混合した。次いで 6.0 % 過塩素酸 (和光純薬工業株式会社) 500 μ L を加え攪拌後、12,000 rpm、10 min で遠心分離した。遠心分離後は、上清 800 μ L を分注し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (和光純薬工業株式会社) 1000 μ L を加え攪拌した。ラベル化剤として 1.0 mg/mL 2,3-diaminonaphthalene (同仁化学研究所) 100 μ L を加え、攪拌し室温で 1 日静置し、以下の条件で HPLC へ導入し、3DG を測定した。

カラムは YMC-Pack CN 150 x 4.6 mm I.D. (株式会社ワイエムシイ) を使用した。溶離液は 50 mM リン酸：アセトニトリル：メタノール = 70 : 17 : 13 を調製した。流速は 1.0 mL/min、検出波長 UV 268 nm とした。抗 3DG 活性として IC₅₀ を算出し、小数点以下 3 桁まで表示した。

ELISA

ペントシジンは市販のキット (伏見製薬所, 香川) を用いて ELISA 法にて測定した。各 50 μ L のサンプルまたはペントシジン標準液に、20 μ L のプロナゼ溶液と 80 μ L のトリス塩酸

緩衝液を加え、そのうち 55 μ L の混合液を 90 min インキュベーションした後、沸騰水中で 15 min 加熱しプロナゼを不活化した。各サンプルは、マイクロプレートリーダー上のウェルに注入し、37℃で 60 min インキュベーションした。キットに添付の抗ペントシジンモノクローナル抗体溶液 50 μ L とサンプルまたはペントシジン標準液を加え、37℃で 60 min インキュベーションした。その後 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) 0.5 mg/mL を含む発色剤を各ウェルに添加後、10 min 反応させた後、TMB 反応停止緩衝液 100 μ L を加え反応停止させた。得られた反応液は反応液添加後停止後 10 min 以内に 450 nm (主波長) / 630 nm (参照波長) における吸光度を測定した。サンプル中のペントシジン濃度はペントシジン標準液で作成した検量線から算出した。抗 Pent 活性は IC₅₀ を算出し、小数点以下 3 桁まで表示した。

CML (Nε- (carboxymethyl) lysine) は、市販のキット (CycLex Co., Ltd.) を用いて ELISA 法にて測定した。まず測定キットに添付の濃縮洗浄液 50 mL に 450 mL の精製水を加え (10 倍希釈) 500 mL の洗浄液を調製した。さらに添付の抗 CML モノクローナル抗体 (一次抗体) に 3 mL の精製水を加え、よく攪拌し、10 min 静置した。このうち 600 μ L を取り出し、5.4 mL の精製水を加え (10 倍希釈) 計 6 mL の First Antibody working solution を作った。CML-HSA Standard に 500 μ L の精製水を加え、CML-HSA Master Standard (20 ng/mL) を調製した。これらを用いて検量線を作成し、濃度を算出した。各サンプルの遠心上清 30 μ L に 90 μ L の Sample dilution Buffer を加え、120 μ L の First Antibody working solution を加え軽く攪拌した。次に、サンプルを 100 μ L ずつマイクロプレート上のウェルに注入し、室温で攪拌しながら反応させた。その後、各ウェルの反応液を捨て 200 μ L ずつの洗浄液で 4 回洗浄した。さらに

100 μL の HRP conjugated Detection Antibody (二次抗体) を 100 μL ずつ各ウェルに注入し、室温で 60 min 攪拌しながら反応させた。反応終了後、上記と同様の洗浄操作を行った。各ウェルに 100 μL の Substrate Reagent を注入して 1 min 攪拌した後、アルミホイルでプレートを読み遮光し、10 min 静置した。その後各ウェルに 100 μL の Stop solution を分注し、1 min 攪拌し、直ちにマイクロプレートリーダーで 450 nm (主波長) / 540 nm (参照波長) で測定した。サンプル中の CML 濃度は CML-HSA Standard で検量線を作成して算出した。抗 CML 活性は IC_{50} を算出し、小数点以下 3 桁まで表示した。

2. えんめい菜及び阿房宮の比較

ORAC

サンプルの抗酸化能を ORAC 法にて測定した。サンプル 0.2g を 50% エタノールで 10 min 振とうさせながら抽出し、サンプル溶液を 50 mL に定容して 10 min 超音波照射した。その後、3,000 rpm で 5 min 遠心分離した後ろ過し、75 mmol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) で適宜希釈し試験溶液とした。試験溶液または標準溶液 20 μL と 117 nmol/L フルオレセイン溶液 120 μL をマイクロプレートのウェルに添加し、37℃で 10 min インキュベートした後、40 mmol/LAAPH ((2,2' -azo-bis (2-amidinopropane) dihydrochloride)) 溶液 60 μL を加えマイクロプレートリーダー SpectraMax M2e (Molecular Devices) にて測定した。測定条件は Kinetic モードで励起波長 485 nm、蛍光波長 520 nm で 5 min おきに測定した。検量線作成には Trolox を用いた。

スーパーオキシド消去活性

サンプルのスーパーオキシド消去活性の測定は以下の手順で行った。サンプル 1g に 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.8) 50 mL 加え、氷

中で 60 min 攪拌した後、3,000 rpm で 5 min 遠心分離した。上清をろ過し適宜希釈したものを抽出液として用いた。

抽出液に 2mmol/L ヒポキサンチンを 50 μL 、5.5mmol/L ジエチレントリアミンペンタ酢酸を 35 μL 、9.2M5,5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシドを 15 μL 、0.4 U/mL キサンチンオキシダーゼを 50 μL 加えた後混合した。この反応液を偏平セルにとり、以下の条件で ESR 法によりスーパーオキシド消去活性を測定した。

ESR spectrometer (JES-FR30, 日本電子株式会社) は、磁場掃引幅: 335.8 $\pm$ 5mT, マイクロ波出力: 8mW, 応答時間: 0.1sec, 変調: 100kHz, 0.79 $\times$ 0.1mT, 増幅率: 2 $\times$ 100, 掃引時間: 2 min とした。スペクトルの読み取りは DMPO-02-スピンアダクトとして検出し、内部標準として酸化マンガンを用い、測定シグナルのピーク高さ比を測定した。

ポリフェノール含有量

ポリフェノール含有量は Folin-Ciocalteu 法にて測定した。サンプル 0.1g を 50% エタノールで超音波照射しながら 30 min 抽出し、冷却後、サンプル溶液 100 mL を 2,500 rpm で 5 min 遠心分離した後、ろ過した抽出液を用いた。ろ液 1 mL に 2 倍希釈した Folin-Ciocalteu 試薬 (メルク株式会社) 0.5 mL、0.4 mol/L 炭酸ナトリウム水溶液 5 mL を加え、30℃で 30 min インキュベーションした。2,500 rpm で 5 min 遠心分離し、上清を分光光度計 V-630 (日本分光株式会社) にて測定波長 660 nm で測定した。検量線には (+) - カテキン水和物 (東京化成工業株式会社) を用いた。

ルテオリン量測定

サンプル中のルテオリン含有量は HPLC 法にて測定した。サンプル 0.5 g にメタノール 100 mL を加え、80℃で 60 min 加熱還流した。これらを 2 回繰り返して、2,500 rpm で 5 min 遠心分離し、上清をろ過した。ろ液を 250 mL に定容し、

30 mL を分取し 2 mL に濃縮した。これをメンブランフィルターろ過し、ろ液を以下の条件で HPLC に導入し、ルテオリン量を測定した。

カラムは YMC-Pack ODS-A AA12S03-1546WT 150 x 4.6 mmI.D, 3 μ m (株式会社ワイエムシイ) を使用した。溶離液は 5% ギ酸とメタノールの混液を調製した。流速は 0.7 mL/min, 検出波長 UV 360 nm, カラム温度 33℃とした。

クロロゲン酸量測定

サンプル中のクロロゲン酸含有量は HPLC 法にて測定した。サンプル 0.3 g に 0.02 mol/L 過塩素酸とメタノールの混合液 (9:1) を加え 10 min, 3 回振とうさせた後, 2,500 rpm で 5 min 遠心分離し, 上清を以下の条件で HPLC に導入し, クロロゲン酸を測定した。カラムは CAPCELLPAK C18 ACR 150 x 4.6 mmI.D. (資生堂株式会社) を使用した。溶離液は水 - アセトニトリル - リン酸の混液を調製した。流速は 1.0 mL/min, 検出波長 UV 325 nm, カラム温度 40℃とした。

3. 結果

各サンプル溶液の糖化物生成抑制作用を IC₅₀ として表 1 に示した。各菊花サンプルの抗糖化活性の IC₅₀ は AG と同等以下であった。EE は AE と比べ, 約 1/2 の値を示した。また, えんめい楽の抽出条件の違いによる抗糖化活性の

差は認められなかった。抗 3DG 活性に関して, EE-W の 0.1% における抗 3DG 活性は, HPLC 測定時に夾雑物質ピークが存在したため算出不可であった。AG と比べ AE, EE, EE-W は抗 3DG 活性の IC₅₀ が 1/3 以下であった。一方, EE-A は AG よりも 3 倍大きかった。AG と比較して各サンプルの抗 Pent 活性の IC₅₀ は極めて小さかった。AE と EE, 及びえんめい楽の抽出条件の違いにより抗 Pent 活性に差は認められなかった。抗 CML 活性に関して, AG と比べて各サンプルの CML 生成阻害活性は IC₅₀ で約 1/70 以下であり極めて強かった。また, 菊の品種および抽出条件の違いによる抗 CML 活性に差は認められなかった。さらに, 各サンプルの 3 濃度水溶液の糖化生物成抑制率を図 2 に示した。

4. 考察

AGEs が生体へ及ぼす影響

今回の試験で測定した 3DG は糖化反応中間体の 1 種で, アマドリ化合物から生成される α -ジカルボニル化合物である¹⁾。グルコースより 10,000 倍高い反応性を有し, AGEs の生成に関与する。血漿中 3DG 濃度が 100 nmol/L 上昇すると糖尿病性網膜症, 腎症のリスクが約 2 倍高くなる¹⁴⁾。

Pent はリボース, アルギニン, リジンからも生成する AGEs の一種で, 架橋性・蛍光性を

表 1 各サンプルの糖化物生成抑制作用

サンプル	(単位: %)			
	抗糖化活性	抗 3DG 活性	抗 Pent 活性	抗 CML 活性
AG	0.008	0.003	>0.1	0.071
AE	0.009	<0.001	<0.001	<0.001
EE	0.004	<0.001	<0.001	<0.001
EE-W	0.002	<0.001	<0.001	<0.001
EE-A	0.003	0.009	<0.001	<0.001

抗糖化活性: 50% 蛍光性 AGEs 生成抑制濃度, 抗 3DG 活性: 50% 3DG 生成抑制濃度

抗 Pent 活性: 50% ペントシジン生成抑制濃度, 抗 CML 活性: 50% CML 生成抑制濃度

AG: 塩酸アミノグアニジン, AE: 阿房宮抽出物, EE: えんめい楽抽出物

EE-W: えんめい楽 (熱水抽出), EE-A: えんめい楽 (アルコール抽出)

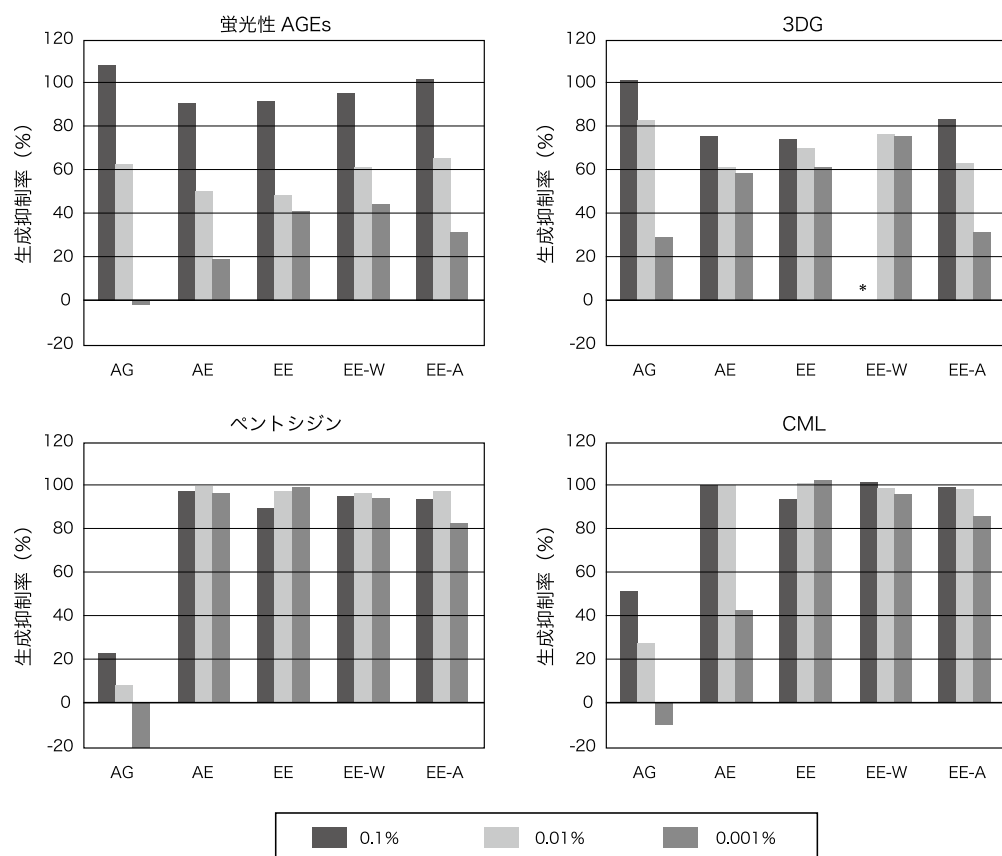


図2 各サンプルの糖化抑制作用

* 夾雑物質ピーク出現のため測定不可能

有し、腎症の早期臨床マーカーのひとつにもなっている。また骨粗鬆症の状態(骨質の老化)を反映するマーカーとして注目されている¹⁵⁾。さらに皮膚コラーゲン中にも存在して加齢と共に増加し、糖尿病患者の蓄積量は同年齢の健常者よりも高いことが報告されている¹⁶⁾。

CMLはグリオキサールを中間体として生成する非架橋性・非蛍光性 AGEs の一種で、糖尿病や生体中の酸化ストレス亢進時にも生成する。CML 化したコラーゲンをヒト皮膚の線維芽細胞に添加するとアポトーシス(細胞死)が誘導される¹⁷⁾。皮膚組織の中では、比較的代謝回転の速い表皮層にも存在する。

抗糖化物質

高血糖状態による過剰な AGEs の形成、蓄積

を阻害する目的で近年様々な抗糖化物質が研究開発されている。アミノグアニジン (AG)¹⁸⁾ はその代表であり、今回の試験では EE (えんめい薬抽出エキス) の効能を評価する上で比較対象として用いた。AG は数あるメイラード反応経路中の 1 中間生成物である 3DG 分子内のカルボニル基を封鎖し以降の反応を止めるようにデザインされた物質で、糖尿病性網膜症¹⁹⁾、腎症²⁰⁾、動脈硬化症²¹⁾ などへの有効性が示されている。一方、AG の投与には貧血、自己抗体の出現、肝機能障害などの副作用が報告されている²²⁾。これらのことから、さらに安全で有効濃度の低い抗糖化物質の開発が望まれている。

永井らは CML および Pent の ELISA による測定値が HPLC による測定値と相関性を示すこ

とを確認した後、ウシ血清アルブミンとリボースの反応から生成する CML および Pent を抑制する天然物由来化合物をオウギより探索した。その結果、astragaloside が CML および Pent 生成を有意に抑制することが明らかとなった²³⁾。しかし生体における抗糖化作用はまだ確認されていない。

著者らの研究室ではカモミール (Chamomile: *Anthemis nobilis*), セイヨウサンザシ (Hawthorn: *Crataegus laevigata* (*C. oxyacantha*)), ドクダミ (Doku-dami: *Houttuynia cordata*), ブドウ葉 (Grape: *Vitis vinifera*) の混合ハーブエキ스가 *in vitro* 及びストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに対する投与実験において 3DG, CML, Pent の生成を AG と同等以上に阻害することを報告した²⁴⁾。さらに我々は糖尿病予備軍および 2 型糖尿病患者に対する混合ハーブエキス摂取試験において血中 AGEs を低下させる作用を確認した²⁵⁾。

in vitro 試験による糖化抑制作用

今回の試験品は菊 (*Chrysanthemum morifolium*) の頭花に由来する成分である。EE については AG と比較して強力な抗糖化活性が認められた。また、品種間では EE は AE と比べて約 2 倍の抗糖化活性を有していた。抗糖化活性評価においては 370 nm で励起され、440 nm の蛍光を発する蛍光性 AGEs を評価した。様々な特徴を持つ糖化反応中間体と AGEs がある中で、Pent, クロスリン, ピロピリジンなどの蛍光性 AGEs を反映すると考えられる¹⁾。3DG 生成抑制については、EE は AG と同等以上であった。Pent 生成抑制については、EE は AG より極めて強かった。尚、本研究におけるペントシジン測定法はサンプルの加熱処理を含んでいる。中野らは血液サンプルの前処理における加熱が人為的なペントシジンの生成を招

き、定量値の正誤差を生じる可能性を指摘している²⁶⁾。本研究では各サンプルのペントシジン濃度の相対値を算出し評価しているため測定した抗 Pent 活性値に対する影響が少ないと考えられた。加熱処理を伴わないペントシジン測定法については現在検討中である。CML 生成抑制については AG の 70 倍以上であった。

各サンプルの 3 濃度水溶液の糖化生成抑制率に関して、AG は蛍光性 AGEs, 3DG, Pent, CML いずれも濃度依存的に低下した。一方、3DG 生成抑制率は AE および EE が、Pent 生成抑制率に関しては AE および EE, EE-W, EE-A が、CML 生成抑制率に関しては EE, EE-W, EE-A が低濃度 (0.01%) でも 50% 以上を維持したことを確認した。従って、各サンプルに含まれる有効成分は微量であってもこれらの糖化物生成抑制に機能すると示唆され、今後、有効成分を特定することで「抗糖化」をキーワードとした健康食品・化粧品素材としての可能性が高まると考えられた。

糖化抑制に働く紫菊花の有効成分として、ポリフェノール類 (ルテオリン, アントシアニン), クロロゲン酸が多く含まれることが知られている¹³⁾。シマカンギクと比べ、キクにはより多くのポリフェノールが含まれ、抗糖化活性および強いペントシジン生成阻害作用を持つ。また、食用菊の品種による成分分析結果を表 2 に示した。ORAC, スーパーオキシド消去活性, ポリフェノール, ルテオリン, クロロゲン酸のいずれもえんめい楽は阿房宮の数値を上回っていた。

表 2 食用菊の成分等分析結果

項目	単位	えんめい楽	阿房宮
ORAC	μmol TE/g	1900	460
スーパーオキシド消去活性	単位 /g	4300	2000
ポリフェノール	g/100g	4.44	1.7
ルテオリン	mg/100g	15	3
クロロゲン酸	g/100g	0.33	0.12

食用菊花は古来より使用されている食経験豊富な食材であり、毒性試験においても特に問題は指摘されていない²⁷⁾。これらのことから、ヒトが摂取した際の安全性についてはある程度担保されていると考えられる。

EE の 3DG, Pent, CML 抑制作用について既報におけるハーブの成績²⁴⁾と比較した。EE0.01% の 3DG, CML 生成抑制効果はカモミール、セイヨウサンザシ、ドクダミ、ブドウ葉と同程度であり、EE の Pent 生成抑制効果はいずれよりも強力であった。

これまで菊花については抗炎症作用²⁸⁾、酸化 LDL 減少²⁹⁾やグルタチオン産生増強¹²⁾を含む抗酸化作用^{30, 31)}、抗腫瘍作用^{32, 33)}、抗ウイルス作用^{34, 35)}、抗結核菌作用³⁶⁾、血糖上昇抑制作用³⁷⁾が報告されている。今回の試験では先行研究における CML および Pent 生成抑制作用¹³⁾が再確認され、また、新たに 3DG 生成抑制作用を有することが示された。糖代謝に関連して食用菊花が小腸由来 α -グルコシダーゼ阻害活性を有し血糖上昇抑制作用を示すことが知られ³⁷⁾、本成績と合わせるとえんめい楽粉末及び抽出物はヒトに対する抗糖化物質として作用する可能性があると考えられた。今後はえ

んめい楽中の有効成分の特定、及び生体内における効能について検証する必要がある。

おわりに

HSA とグルコースを反応させた *in vitro* 実験系において、「食用菊 (*Chrysanthemum morifolium*)」の品種のひとつである、紫菊花えんめい楽の抗糖化作用を検討した。比較対照として品種の異なる阿房宮、陽性対照としてアミノグアニジンを用いた。えんめい楽 (粉末) は蛍光性 AGEs を指標とした抗糖化活性を有意に抑制し、阿房宮 (粉末) と比べて約 2 倍の抗糖化活性を有していた。これらはアミノグアニジンと比較して同等以上であった。また、糖化反応中間体 3DG の産生抑制、AGEs のペントシジン及び CML 産生抑制を認めた。えんめい楽 (粉末および熱水抽出物) と阿房宮 (粉末) の 3DG, ペントシジン, CML 産生抑制作用は同等であり、アミノグアニジンと比較して極めて強かった。食用菊花が食経験豊富な食材であることから、えんめい楽粉末及び抽出物は生体に対する抗糖化物質として作用する可能性が期待され、今後も検証していきたい。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, Kaji Y, Yonei Y: Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Medicine* 7; 112-119: 2010
- 2) Cerami A, Vlassara H, Brownlee M: Glucose and aging. *Sci Am* 256; 90-96: 1987
- 3) Niwa T, Katsuzaki T, Miyazaki S: Immunohistochemical detection of imidazolone, a novel advanced glycation end product, in kidneys and aortas of diabetic patients. *J Clin Invest* 99; 1272-1280: 1997
- 4) Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, *et al*: Roles of receptor for advanced glycation endproducts in diabetes-induced vascular injury. *J Pharmacol Sci* 97; 305-311: 2005
- 5) Reddy VP, Obrenovich ME, Atwood CS, *et al*: Involvement of Maillard reactions in Alzheimer disease. *Neurotox Res* 4; 191-209: 2002
- 6) Sueki H, Nozaki S, Fujikawa R, *et al*: Glycosylated proteins of skin, nail and hair: application as an index for long-term control of diabetes mellitus. *J Dermatol* 16; 103-110: 1989.
- 7) Reiser KM: Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes. *Pros Soc Exp Biol Med* 28; 23-37: 1998.
- 8) Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W, Cleary PA, Lachin J, Genuth S: Skin collagen glycation, glycoxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes: relevance of glycated collagen products versus HbA1c as markers of diabetic

- complications. DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group. Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* **48**; 870-880: 1999
- 9) Hein GE: Glycation endproducts in osteoporosis--is there a pathophysiologic importance? *Clin Chim Acta* **371**; 32-36: 2006
 - 10) Kaji Y, Oshika T, Takazawa Y, Fukayama M, Fujii N: Pathological role of D-amino acid-containing proteins and advanced glycation end products in the development of age-related macular degeneration. *Anti-Aging Medicine* **7**; 107-111: 2010
 - 11) Mera K, Takeo K, Izumi M, Maruyama T, Nagai R, Otagiri M: Effect of reactive-aldehydes on the modification and dysfunction of human serum albumin. *J Pharm Sci* **99**; 1614-1625: 2010
 - 12) 中西類子, 福田寿之, 松本 剛, 吉田隆則, 伊東秀之, 波多野 力: 菊花のグルタチオン産生活性について, 日本生薬学会第 56 回年会, 2009 (抄録) (abstract in Japanese)
 - 13) Tsuji-Naito K, Saeki H, Hamano M: Inhibitory effects of Chrysanthemum species extracts on formation of advanced glycation end products. *Food Chemistry* **116**; 854-859: 2009
 - 14) Kusunoki H, Miyata S, Ohara T, Liu BF, Uriuhara A, Kojima H, Suzuki K, Miyazaki H, Yamashita Y, Inaba K, Kasuga M: Relation between serum 3-deoxyglucosone and development of diabetic microangiopathy. *Diabetes Care* **26**; 1889-1894: 2003
 - 15) Saito M, Fujii K, Soshi S, Tanaka T: Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation-induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporos Int* **17**; 986-995: 2006
 - 16) Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, Bailie KE, Lyons TJ, McCance DR, Baynes JW: Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest* **91**; 2463-2469: 1993
 - 17) Alikhani Z, Alikhani M, Boyd CM, Nagao K, Trackman PC, Graves DT: Advanced glycation end products enhance expression of pro-apoptotic genes and stimulate fibroblast apoptosis through cytoplasmic and mitochondrial pathways. *J Biol Chem* **280**; 12087-12095: 2005
 - 18) Nilsson BO: Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflamm Res* **48**; 509-515: 1999
 - 19) Raskin P, Cattran D, Williams M, Wuerth JP, Cartwright K, Action I investigation group: Pimagedine (PG) reduces progression of retinopathy and lowers lipid levels in patients with type 1 diabetes mellitus (DM). *J Am Soc Nephrol* **10**; 179A: 1999 (abstract)
 - 20) Bolton WK, Cattran DC, Williams ME, Adler SG, Appel GB, Cartwright K, Foiles PG, Freedman BI, Raskin P, Ratner RE, Spinowitz BS, Whittier FC, Wuerth JP, ACTION I Investigator Group: Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* **24**; 32-40: 2004
 - 21) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, Ulrich P, Cerami A: Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* **232**; 1629-1632: 1986
 - 22) Whitter F, Spinowitz B, Wuerth JP, Cartwright K, Action I investigation group. Pimagedine (PG) safety profile in patients with type 1 diabetes mellitus (DM). *J Am Soc Nephrol* **10**; 184A: 1999 (abstract)
 - 23) Motomura K, Fujiwara Y, Kiyota N, Tsurushima K, Takeya M, Nohara T, Nagai R, Ikeda T: Astragalosides isolated from the root of *Astragalus radix* inhibits the formation of advanced glycation end-products. *J Agric Food Chem* **57**; 7666-7672: 2009
 - 24) Yonei Y, Yagi M, Hibino S, Matsuura: Herbal extracts inhibit Maillard reaction, and reduce chronic diabetic complications risk in streptozotocin-induced diabetic rats. *Anti-Aging Medicine* **5**; 93-98: 2008
 - 25) Kubo M, Yagi M, Kawai H, Takada H, Takada K, Yonei Y, Takahashi Y, Matsura N: Anti-glycation effects of Mixed-herb-extracts in diabetes and pre-diabetes. *J Clin Biochem Nutr* **43**(sup11): 2008
 - 26) Masako Nakano, Ryoji Nagai: Letter to the Editor "Heat Treatment Increases the Level of AGEs in Human Blood". *Anti-Aging Medicine* **7** (8) : 92-93, 2010
 - 27) Li L, Gu L, Chen Z, Wang R, Ye J, Jiang H: Toxicity study of ethanolic extract of *Chrysanthemum morifolium* in rats. *J Food Sci* **75**; T105-109: 2010
 - 28) Ukiya M, Akihisa T, Yasukawa K, Kasahara Y, Kimura Y, Koike K, Nikaido T, Takido M: Constituents of composite plants. 2. Triterpene diols, triols, and their 3-o-fatty acid esters from edible chrysanthemum flower extract and their anti-inflammatory effects. *J Agric Food Chem* **49**; 3187-3197: 2001

- 29) Lii CK, Lei YP, Yao HT, Hsieh YS, Tsai CW, Liu KL, Chen HW: Chrysanthemum morifolium Ramat. reduces the oxidized LDL-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in human umbilical vein endothelial cells. *J Ethnopharmacol* **128**; 213-220: 2010
- 30) Kim HJ, Lee YS: Identification of new dicaffeoylquinic acids from Chrysanthemum morifolium and their antioxidant activities. *Planta Med* **71**; 871-876: 2005
- 31) Lin GH, Lin L, Liang HW, Ma X, Wang JY, Wu LP, Jiang HD, Bruce IC, Xia Q: Antioxidant action of a Chrysanthemum morifolium extract protects rat brain against ischemia and reperfusion injury. *J Med Food* **13**; 306-311: 2010
- 32) Ukiya M, Akihisa T, Tokuda H, Suzuki H, Mukainaka T, Ichiishi E, Yasukawa K, Kasahara Y, Nishino H: Constituents of Compositae plants III. Anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible chrysanthemum flowers. *Cancer Lett* **177**; 7-12: 2002
- 33) Xie YY, Yuan D, Yang JY, Wang LH, Wu CF: Cytotoxic activity of flavonoids from the flowers of Chrysanthemum morifolium on human colon cancer Colon205 cells. *J Asian Nat Prod Res* **11**; 771-778: 2009
- 34) Hu CQ, Chen K, Shi Q, Kilkuskie RE, Cheng YC, Lee KH: Anti-AIDS agents, 10. Acacetin-7-O-beta-D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from Chrysanthemum morifolium and a structure-activity correlation with some related flavonoids. *J Nat Prod* **57**; 42-51: 1994
- 35) Lee JS, Kim HJ, Lee YS: A new anti-HIV flavonoid glucuronide from Chrysanthemum morifolium. *Planta Med* **69**; 859-861: 2003
- 36) Akihisa T, Franzblau SG, Ukiya M, Okuda H, Zhang F, Yasukawa K, Suzuki T, Kimura Y: Antitubercular activity of triterpenoids from Asteraceae flowers. *Biol Pharm Bull* **28**; 158-160: 2005
- 37) 小林義典, 長谷川亮平, 五十川みさき: 新潟の食用菊 "かきのもと" の胃腸管運動の亢進および二糖類分解酵素阻害作用, 日本栄養・食糧学会誌 **61**; 265-271: 2008 (in Japanese)

海藻由来成分メカブフコイダンの機能性

—食品成分による免疫機能の賦活—

吉永 恵子*

* YOSHINAGA Keiko (理研ビタミン株式会社 ヘルスケア部)

Key Words：わかめ・メカブ・フコイダン・免疫・腫瘍・ウイルス・アレルギー・紫外線

はじめに

長寿者の多い村と少ない村の比較調査を行うため、昭和10年頃から35年以上にわたり全国990ヶ所以上の市町村を歩き続けた研究者、近藤正二氏（当時東北大学教授）は「海藻を毎日のように食べる村では脳卒中にかかる人が断然少ない」と報告している^{1,2)}。海藻の中でもわかめは日本人にとって非常になじみの深い海藻だが、近年の研究から、わかめは高血圧や肥満の緩和に有効であることが明らかとなり³⁾、近藤氏の疫学調査を裏付ける研究結果が得られている。消費者の海藻に対するイメージ調査では、

実に100%近くの人が「健康的」なイメージがあると回答しており、消費者が抱くイメージと科学的事実が一致している食材である（図1）。

本稿ではわかめの中でも胞子が育つ「メカブ」より抽出したフコイダンの健康機能性について免疫賦活作用を中心に報告する。

1. 日本人と海藻⁴⁾

2010年の5月に世界保健機関（WHO）が発表した「World Health Statistics 2010」によると、日本は平均寿命が83歳で193ヶ国中第1位で

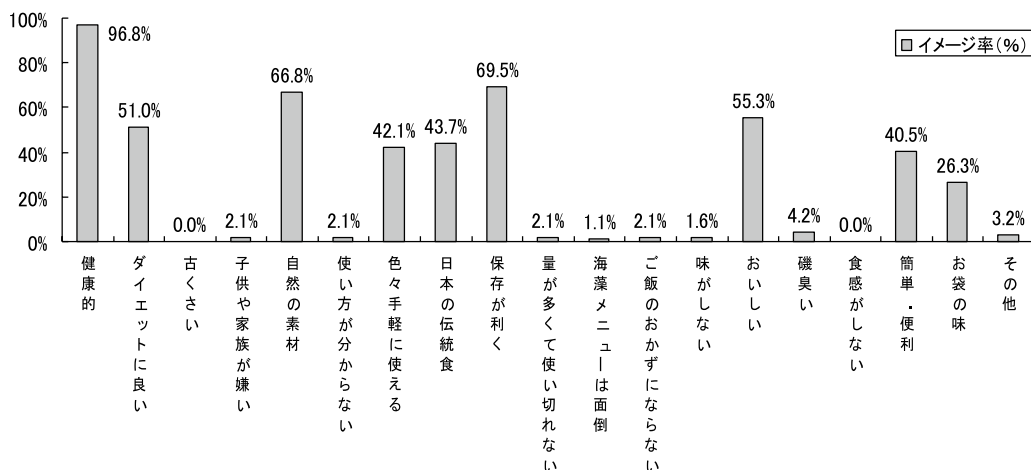


図1 海藻に対するイメージ調査

あった。日本が世界でも名だたる長寿国である大きな要因の一つに食生活が挙げられる。日本食の主たる食材である米や大豆、魚に加え、海藻も日本人の健康に大きく貢献していると考えられる多くの研究が報告されている⁵⁾。

世界には数千種の実藻があるといわれているものの、海藻を日常的に食用とする国は世界でも少なく、日本とお隣韓国くらいである。日本人が海藻を食べ始めたのは遥か昔、縄文時代にさかのぼる。縄文時代の貝塚や遺跡からは、わかめやアラメ、ホンダワラ、ひじきといった海藻が発見されている。当時の人々は海藻をミネラルの補給源として利用していたとの説がある。日本最古の法律である大宝律令（701年）の中に、海藻が税として徴収されていた記載が残っている。8種の海藻が貢物に指定されており、そのうちの2つがわかめ（当時の名は「にぎめ」）とメカブ（当時の名は「まなかし」）である。その後、平安時代中期にできた延喜式（976年施行）でも海藻は租税に指定され、地方から都に集められた。海藻の中でもっとも貢納国数が多かったのはわかめの16国であり、2位はメカブの10国であることは、わかめを産する地方が多かったことを物語っている。また、貢納国が多いということは貢納量も多かったということであり、

わかめは身分の低いヒトにも支給され、除々に庶民の食事の一部となり、身近な海藻となっていたと推定される。現在、わかめは味噌汁の具として利用されることが多く、他にも和え物、酢の物、スープ、サラダなどのメニューとして食されているが、平安時代のわかめの料理法は現在伝わっている日本料理と大差ないものである。

2. わかめのメカブとフコイダン

日本人にとってなじみが深く、いわゆる「わかめ」として食されている部分は、わかめの中でも葉状帯と呼ばれる部分である（図2）。この葉状帯と仮根の間に位置するわかめの生殖器が「メカブ」である。わかめは1年を周期とする生活史を送り、毎年6～8月になるとメカブからわかめの子供である胞子が放出される（図3）。このメカブには粘り成分である多糖体「フコイダン」が多く含まれる。フコイタンはフコースを主成分とし、その他、ガラクトースやウロン酸などの糖が連なり、部分的に硫酸化された構造をとる硫酸化多糖類である。海藻の中でもわかめや昆布など褐藻類に含まれるが、海藻によってその構成糖、分子構造が異なり、それにともない機能性も異なることが明

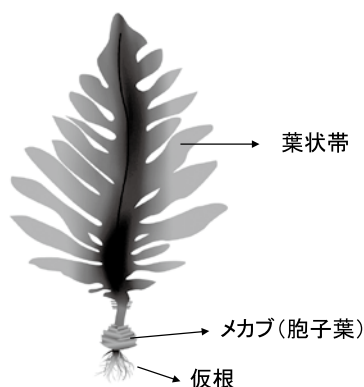
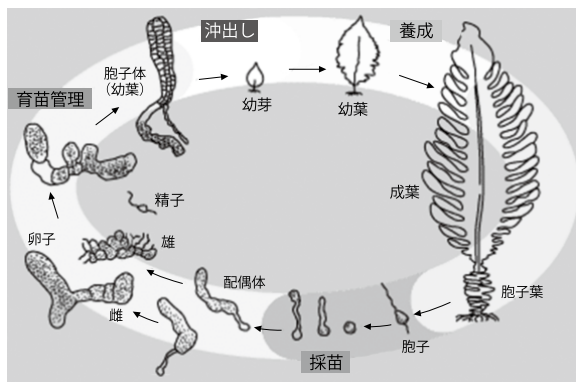
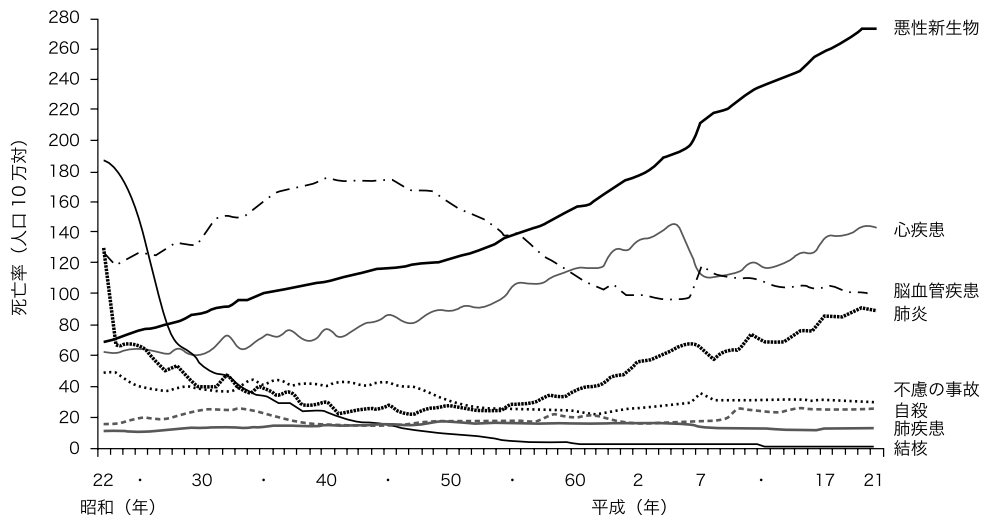


図2 わかめの構造



理研食品株式会社ホームページより改変
図3 わかめの生活史



厚生労働省：平成 21 年人口動態統計月報年計（概数）の概況より

図 4 主な死因別にみた死亡率の年次推移

らかとなっている。メカブから抽出されるフコイダン（メカブフコイダン）は他の海藻と比較し、糖に結合する硫酸基の含量が高いことが特徴である。脱硫酸化したメカブフコイダンは機能性を失ってしまうことから、硫酸基はフコイダンの機能性付与に重要な役割を果たしていると考えられる。

3. 抗腫瘍作用

平成 21 年の死因第 1 位は悪性新生物（がん）である。悪性新生物による死亡数は一貫して上昇を続けており、昭和 56 年以降、死因第 1 位となり、平成 21 年の全死亡者に占める割合は 30.1% であった。およそ 3 人に 1 人は悪性新生物で死亡したことになる（図 4）。

免疫機能は身体の外より侵入する外敵から身をまもる機構である一方、日々細胞分裂を繰り返す私たちの身体の中にできてしまう異常な細胞を排除する機構でもある。細胞分裂の際にできてしまったがん細胞は通常、免疫機能で排除されるのであるが、免疫機能が低下してしまうとうまく排除されず増殖してしまうのである。免

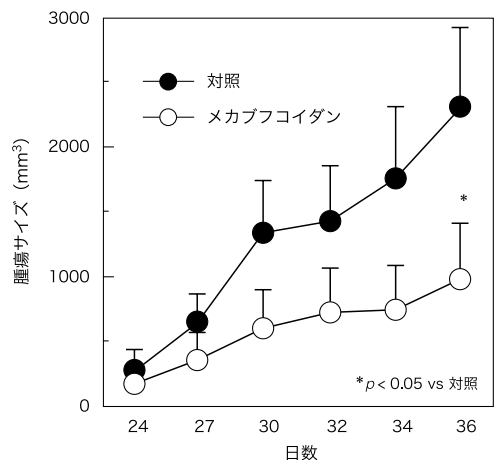


図 5 移植ガンの増殖抑制効果

疫賦活作用を有するメカブフコイダンは、がん細胞の増殖阻害活性を有することが明らかとなっている。

A20 リンパ腫細胞を移植した Balb/c マウスに対して、移植 10 日前より 40 日間にわたり 1% メカブフコイダン混合飼料を摂食させた。その結果、対照群に対してメカブフコイダン摂食群では明らかにがん細胞の増殖が抑制された⁶⁾（図 5）。この抗腫瘍効果は、がん細胞を移植直後からメカブフコイダンを摂取して

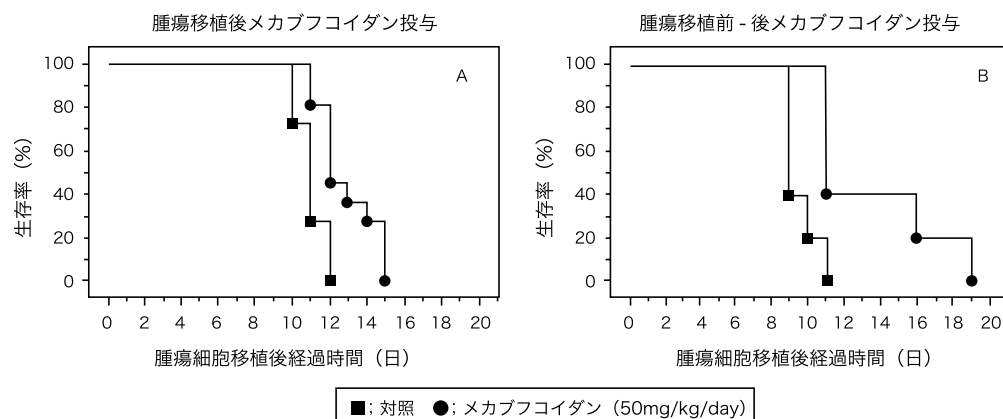


図6 P-388 細胞移植マウスの生存率

も認められるのであるが、がん細胞を移植する前から摂取していた方が効果が高いことも確認されている。P-388 白血病細胞を移植したマウスにおいて、移植 24 時間後から 10 日間メカプフコイダンを腹腔内投与した群と、移植 4 日前より移植後 10 日間メカプフコイダンを連続投与していたマウスでは、4 日前より投与していた群の方が効果が高く、対照群と比較し約 40% の延命率であった⁷⁾(図 6)。これらの結果より、常にメカプフコイダンを摂取している方が、身体の緊急時により効果的かつ迅速に免疫機能を賦活化させることができると考えられる。

抗腫瘍作用のメカニズムを探るため、免疫細胞の中でもパトロール的な役割を果たす NK 細胞活性の測定を行った。その結果、メカプフコイダンを投与したマウスでは、対照群と比較し、有意な NK 細胞活性化作用が認められた。また、NK 細胞の活性化には主に Th1 細胞より産生される IFN- γ や IL-12 の関与が知られているが、メカプフコイダンを投与したマウスの脾臓細胞ではこれらサイトカインの産生も有意に上昇していることが明らかとなった⁷⁾。つまり、メカプフコイダンにより免疫細胞からの IL-12 や IFN- γ の産生が高まり、NK 細胞が活性化され、がん細胞の排除につながるというメカニズムが考えられる。

4. 抗アレルギー作用

花粉症やアトピー性皮膚炎など、アレルギー疾患は年々増加傾向にある。花粉症に関する全国的な調査として馬場らの報告があり、2008 年では 26.5% のヒトがスギ花粉症を罹患しているが、10 年前には 16.2% であり、患者数が増加していることがわかる⁸⁾。アレルギー疾患は花粉など身体にとっての異物に対し、過剰に免疫が反応することによって起こるものであり、T 細胞の Th1, Th2 バランスが Th2 に偏ることによって引き起こされるとする説が提唱されている。

メカプフコイダンの投与により、Th1 サイトカインの IFN- γ 産生が亢進することから、Th2 型免疫疾患の代表である気管支喘息モデルを用いて検討を行った。Balb/c マウスに 4 日間、メカプフコイダンを腹腔内投与した後、卵白アルブミン (OVA) とアラムで免疫後、OVA を吸入させて気管支喘息を誘導した。その結果、血清中における総 IgE および OVA 特異的 IgE の抗体産生がメカプフコイダンの投与により抑制された⁹⁾(図 7)。また、肺洗浄液中の Th2 サイトカイン、IL-4, IL-5, IL-13 の産生が有意に抑制され⁹⁾(図 8)、粘膜細胞の傷害の原因と

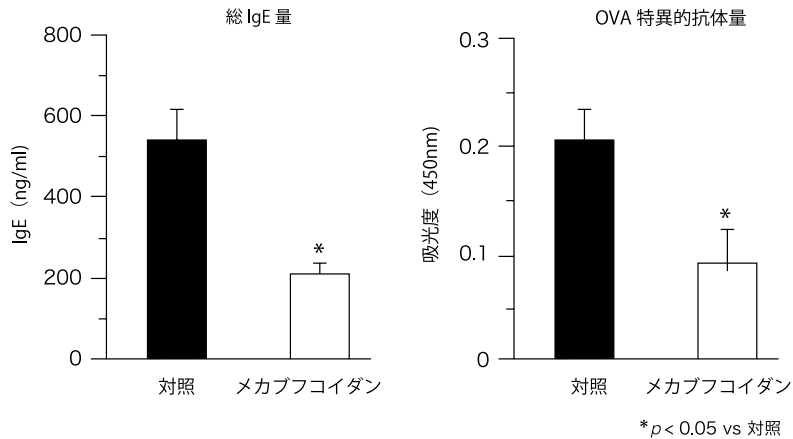


図7 血中 IgE 及び OVA 特異的抗体量

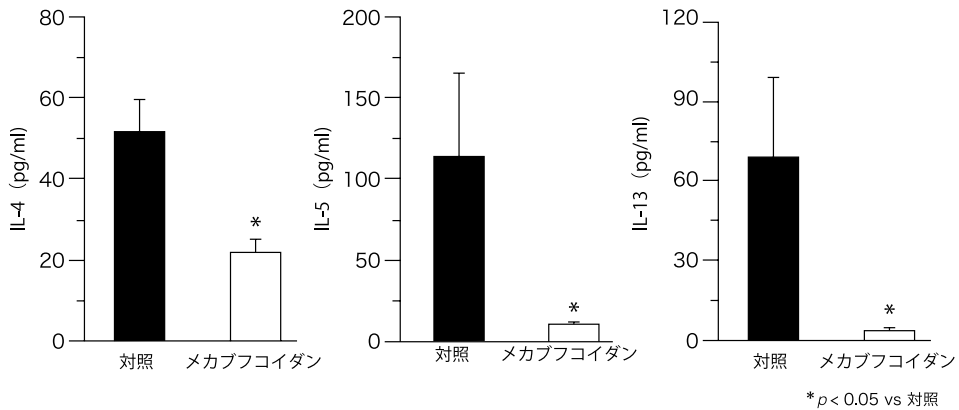


図8 各種 Th2 サイトカインの産生抑制

なる好酸球の発現も抑制された。これらアレルギー反応の指標とされる IgE や Th2 サイトカインの産生が明らかに抑制されたというデータは、メカブフコイダンがアレルギー症状を緩和する可能性を示唆するものである。

5. 抗ウイルス作用(インフルエンザウイルスなど)

我々の身体は常にウイルス、細菌などの外敵にさらされている。特にインフルエンザウイルスや風邪ウイルスは我々にとって身近なもの、QOL を低下させる大きな要因である。高齢者にとってインフルエンザや風邪などの感染症は、肺炎を誘発する恐れもあり注意が必要である。事実、インフルエンザによる死者は 65

歳以上の高齢者が大半を占めており、インフルエンザが流行した年には死亡者数が増加することが知られている。

これまでに行われた動物実験により、メカブフコイダンは季節性、鳥および新型インフルエンザウイルス、風邪ウイルス、ヘルペスウイルスに対して抗ウイルス作用を有することが明らかとなっている。

インフルエンザウイルス (H1N1) を Balb/c マウスの鼻腔内に接種した後、メカブフコイダン (5mg/day) もしくはタミフル (Oseltamivir, 0.1mg/day), もしくはその両方を連日経口投与した。ウイルス感染後、肺のウイルス量を測定した結果、対照群と比較しメカブフコイダン投与群で明らかなウイルスの増殖抑制が認められ

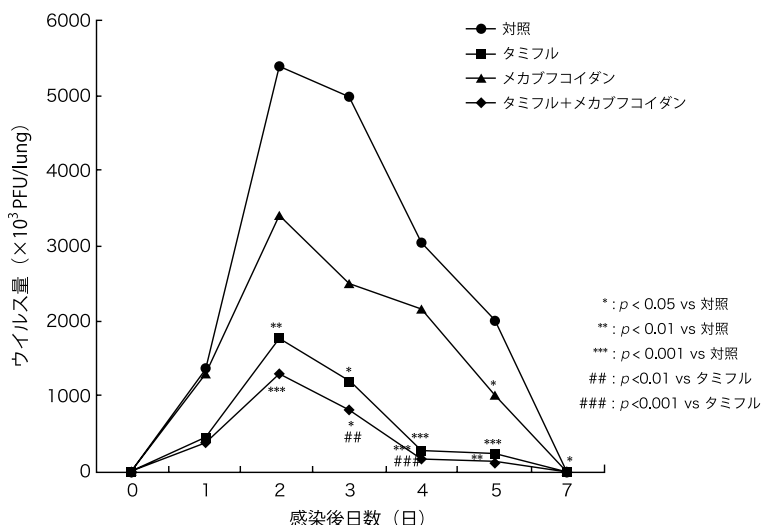


図9 肺におけるインフルエンザウイルスの増殖抑制

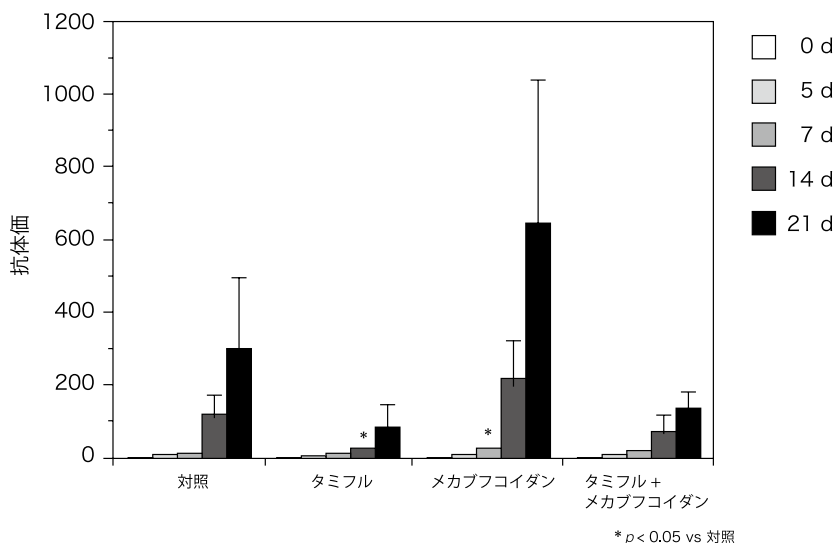


図10 気管支粘膜におけるインフルエンザウイルスに対する抗体の産生

た。ウイルス増殖抑制効果はタミフルでも強くみとめられたが、その効果はメカブフコイダンと併用した際にさらに効果が高まることが明らかとなった¹⁰⁾ (図9)。また、ウイルスの不活性化や再感染防止に重要な役割を果たす抗体の産生も、メカブフコイダンの摂取により有意に上昇することが明らかとなった¹⁰⁾ (図10)。メカブフコイダン摂取群では著しい抗体産生の上昇が認められるが、薬剤によりウイルスの増殖を抑制したタミフル群ではウイルスに感染して

いるにも関わらず、抗体の産生が弱い。また、抗体産生能は抗腫瘍作用の場合と同様に、ウイルス感染直後からメカブフコイダンを摂取するよりも、ウイルス感染1週間前より摂取した方がより効果的であることも明らかとなっている。これらの結果は、メカブフコイダンが身体の治癒力である免疫機能を高めることによりウイルス排除を行っていることを示唆している。タミフルによるウイルス増殖抑制作用は、ウイルスに直接薬剤が働きかけることで得られるも

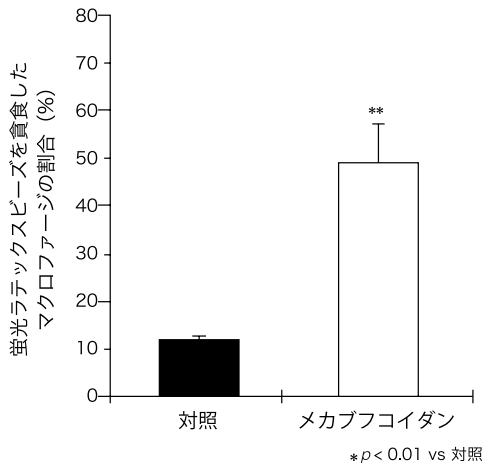


図 11 マクロファージ貪食能の増強

のであるが、メカブフコイダンによるウイルス増殖抑制は身体の免疫機能を介する作用であり、直接ウイルスへ働きかけるものではない。そのため、薬剤耐性ウイルスの出現可能性が低いことも示唆されている。

身体にウイルスが侵入してきた場合、まず、マクロファージやNK細胞といった身体を循環してパトロールしている免疫細胞がウイルスの侵入を感知する。メカブフコイダンがNK細胞活性を上昇させることは前項に記載したとおりであり、さらにマクロファージの貪食能も上昇させることがわかっている。メカブフコイダン (5mg/day) を1週間強制経口投与したBalb/cマウスにヘルペスウイルスを感染させ、感染後1日目に腹腔よりマクロファージを回収し、蛍光ラテックスビーズの貪食細胞数をカウントした。その結果、メカブフコイダンを摂取していたマウスのマクロファージは有意に貪食能が上昇することが明らかとなった¹¹⁾ (図11)。これら免疫細胞が活性化し、サイトカイン産生を増強するT細胞や抗体産生を行うB細胞の活性化が起こる。ウイルス感染細胞を攻撃するキラーT細胞の活性がメカブフコイダンの摂取により上昇すること、ウイルスの不活化、再感染の防止に重要な役割を果たす抗体の産生

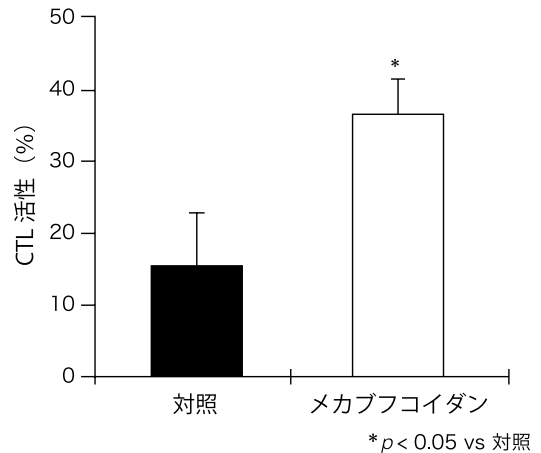


図 12 CTL 活性の増強

が上昇することも明らかとなっている。ヘルペスウイルスを接種したC3H/Heマウスに対して1週間にわたりメカブフコイダン (10mg/day) を経口投与し、キラーT細胞活性を測定した結果、メカブフコイダンの摂取で有意にその活性が高まることが明らかとなった¹¹⁾ (図12)。このような免疫系の活動により、抗体産生を誘導するB細胞の活性化が誘導され、抗体の産生が上昇したと考えられる。

動物試験により、メカブフコイダンの免疫機能を介したウイルス感染予防効果が期待できると考えた。そのため、特別養護老人ホームに入所されている高齢者を対象に、インフルエンザワクチンを接種する系を用いてプラセボ対照二重盲検試験を実施した¹²⁾ (図13)。ワクチンの原理は、病原性がないけれども抗原性の高いウ

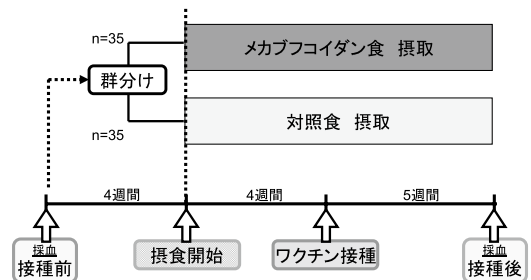


図 13 プラセボ対照二重盲検臨床試験スケジュール

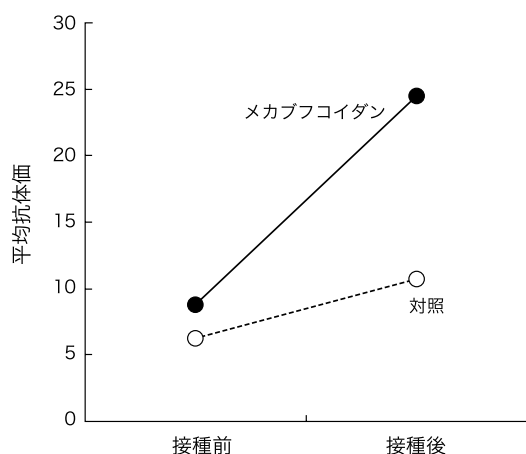


図 14 B 型インフルエンザウイルスに対する抗体産生の上昇

ウイルス断片を体内に注射し、擬似感染させることで身体の免疫反応を利用し抗体を産生させ、いざ本物のウイルスが体内に侵入してきた時にワクチンにより産生された抗体でウイルスを攻撃する、というものである。つまり、ワクチン接種によりインフルエンザウイルスに感染した時と類似した免疫機能が身体で誘導されるのである。

被験者はワクチン接種1ヶ月前よりメカブフコイダン (300mg) を毎日昼食時に食事と一緒に摂取した。ワクチン接種前後で採血し、ワクチン株として混合されていたインフルエンザウイルスに対する抗体の産生量を測定した。現在、日本では、H1N1 型、H3N2 型、B 型の3種混合ワクチンが利用されている。その結果、メカブフコイダンを摂取していた群は、対照食を摂取していた群と比較し、3種全てのワクチン株インフルエンザウイルスに対して高い抗体産生を示した。中でも前シーズンとワクチン株の異なったB型インフルエンザウイルスに対する抗体の産生量はメカブフコイダン群で著しく高かった (図 14)。メカブフコイダンは動物試験により、様々なウイルスに対する効果が認められている。臨床試験の本結果より、メカブフコ

イダンはヒトでも抗ウイルス作用を有することが証明された。

6. 皮膚紫外線障害予防作用

ヒトの肌は身体の中で、腸と同じく外界に触れる器官であり、表面積は成人で平均 1.6m^2 にもおよぶ。そのため、皮膚は物理的損傷に加え、有害物質や微生物の侵入、放射線などから身体を守るために内外の環境の間でバリアとして働いている。皮膚は大きく表皮、真皮、皮下組織の3層からなり、表皮はさらに角質層、顆粒層、有棘層、基底層から構成されている。腸と同じく、外界と触れる皮膚にも身体を守るために大切な免疫機能は備わっている。特に表皮の有棘層にはランゲルハンス細胞という免疫細胞が存在している。ランゲルハンス細胞は抗原提示細胞であり、外界から侵入してくる細菌やウイルス、アレルギー物質などの異物を認識し、免疫反応を誘導する役割を担う。皮膚がダメージを受ける要因の一つに太陽からの紫外線が挙げられる。紫外線は日焼けやシミ、シワなどの肌老化や、白内障などへの関与が報告されている。また、免疫反応を抑制することが証明されており、紫外線照射によるランゲルハンス細胞の減少やNK細胞活性の抑制、T細胞の変動などが認められる。そのため、夏の強い紫外線にさらされた際に免疫機能が低下し、単純ヘルペスの再活性化を招くことがあるともいわれている。メカブフコイダンは免疫賦活作用を有していることがこれまでの研究より明らかとなっているため、紫外線照射による皮膚障害に対する効果の検討を行った¹³⁾。

Balb/c マウスに対して12日間、メカブフコイダン (500mg/kg/day) もしくはビタミンC (600mg/kg/day) を経口投与し、7日目に背部を剃毛した。そして8日目から5日間連続してUVB照射 ($1000\mu\text{W}/\text{cm}^2$) を行い、体重の変化

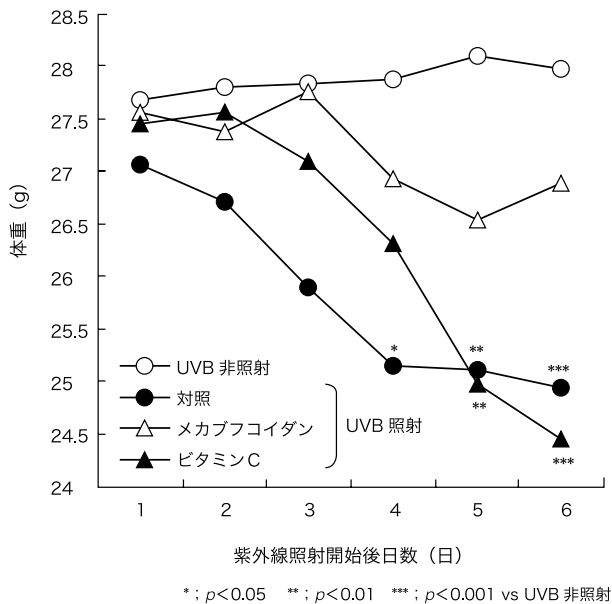


図 15 紫外線照射後の体重変化

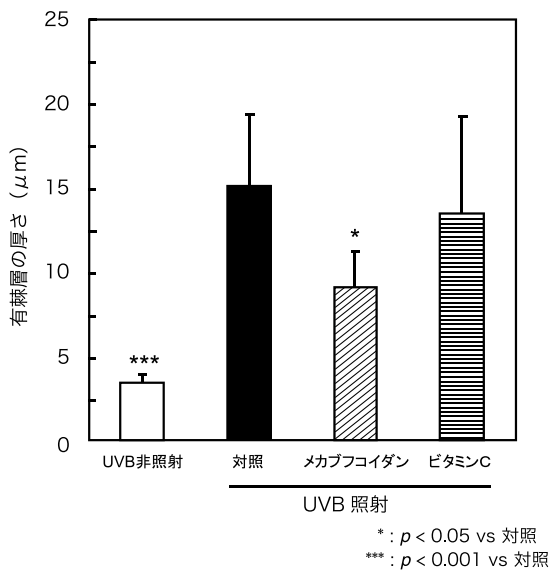


図 16 紫外線照射による有棘層の肥厚抑制

と病理組織学的観察を行った。その結果、紫外線照射による体重の減少がメカブフコイダンの摂取により抑制された (図 15)。また、紫外線照射により皮膚の肥厚が起こることが知られているが、表皮有棘層の肥厚もメカブフコイダンの摂取により抑制された (図 16)。これらの効果はビタミン C の摂取では認められなかった。紫外線による紅斑形成や、表皮の角化、炎症性細胞の真皮層への浸潤もメカブフコイダンの摂取により抑制されることが認められたことから、メカブフコイダンは紫外線による皮膚炎症を抑制することが明らかとなった。皮膚は内臓の鏡とも言われ、全身状態を映し出す器官である。免疫は身体を健康を保つ重要な機能であり、そのヒトの外見にも影響を与えるのである。

おわりに

意識せずとも日々免疫機能は働き、私達の身体を外敵の侵入から、そして身体の内できてしまう悪者から守ってくれる。日々の食生活から免疫機能を高め、身を守ることは、超高齢化社会、ストレス社会といわれ免疫機能が低下する要因の多い現代社会においては大切なことである。長寿国日本で太古より食品として利用されてきたメカブに含まれるメカブフコイダンは、我々の免疫機能を賦活化させるデータを本稿で紹介した。超高齢化社会においては免疫機能を正常に保つことは重要であり、その一助にメカブフコイダンが役に立てれば幸いである。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 近藤正二：長寿者の健康食の実態，永岡書店，1975
- 2) 近藤正二，加藤勝雄：脳溢血の成因に関する衛生学的研究．日本学術振興会第 43 小委員会報告：63-71，1950
- 3) Hata K., Nakajima K., Uchida J., *et al.*,: Clinical effects of brown seaweed, *Undaria pinnatifida* (wakame), on blood pressure in hypertensive subjects. *J.Clin. Biochem. Nutr.*, **30**: 43-53, 2001
- 4) 西澤一俊監修：わかめ入門，日本食糧新聞社，2006
- 5) Ikeda K., Kitamura A., Machida H.,*et al.*,: Effect of *Undaria pinnatifida* (Wakame) on the development of cerebrovascular diseases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **30**: 44-48, 2003
- 6) Maruyama H., Tamauchi H., Iizuka M., *et al.*,: The role of NK cells in antitumor activity of dietary fucoidan from *Undaria pinnatifida* Sporophylls (Mekabu). *Planta Med.*, **72**: 1415-1417, 2006
- 7) Maruyama H., Tamauchi H., Hashimoto M., *et al.*,: Antitumor activity and immune response of Mekabu fucoidan extracted from Sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *In Vivo*, **17**: 245-249, 2003
- 8) 馬場廣太郎，中江公裕：鼻アレルギーの全国疫学調査 2008. *Prog. Med.*, **28**: 2001-2012, 2008
- 9) Maruyama H., Tamauchi H., Hashimoto M., *et al.*,: Suppression of Th2 immune responses by mekabu fucoidan from *Undaria pinnatifida* sporophylls. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **137**: 289-294, 2005
- 10) Hayashi T., Hayashi K., Kanekiyo K., *et al.*,: Promising antiviral glyco-molecules from an edible alga. “Combating the Threat of Pandemic Influenza: Drug Discovery Approaches,” ed. by Torrence P. F., John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 166-182, 2007
- 11) Hayashi K., Nakano T., Hashimoto M., *et al.*,: Defensive effects of a fucoidan from brown alga *Undaria pinnatifida* against herpes simplex virus infection. *Int Immunopharmacol.*, **8**: 109-116, 2008
- 12) Negishi H., Mori M., Yoshinaga K., *et al.*,: Immunopotential by Mekabu-fucoidan (derived from brown alga *Undaria pinnatifida* sporophylls -mekabu-): Evaluation on the basis of antibody producibility against influenza vaccine in the elderly. 14th International congress of immunology, 2010
- 13) 丸山弘子，玉内秀一，吉永恵子，他：メカブフコイダンの経口投与による紫外線照射障害に対する抑制効果についての検討．第 63 回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集：p221, 2010

酸化されるポリフェノール，その安全性と機能

藤本 彩^{*1} 増田 俊哉^{*2}

^{*1} *FUJIMOTO Aya* (日本学術振興会特別研究員，徳島大学大学院総合科学教育部)

^{*2} *MASUDA Toshiya* (徳島大学大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部)

Key Words：ポリフェノール・酸化ポリフェノール・抗酸化・細胞毒性・チロシナーゼ阻害活性
・セサモール・ロスマリン酸

はじめに

二つ以上のフェノール基を有する天然物質やそのエーテル体は，化学構造的にポリフェノール（広義）と定義され，通常，植物のみが生成することができる化合物であり，ほとんどの植物の含有成分となっている。したがって，植物資源を高度に有効利用する上で，ポリフェノールを利用することは重要と言えよう。ポリフェノールには，タンニンや染料など，古から利用されてきたものもあるが，他の多くのポリフェノールは，植物由来の機能性成分としてあまり顧みられることはなかった。しかし，最近になって，このポリフェノールが有する様々な健康機能が発見され，ポリフェノールを含む植物性食品や高濃度に添加した機能性食品などが注目されている。様々なポリフェノールの有用機能の中でも，その抗酸化作用は大変顕著であり，ポリフェノールの健康機能の多くはこの強い抗酸化作用に関連しているとも言われている。そのため，抗酸化性に関連したアンチエイジングや生活習慣病の予防など，ポリフェノールの応用が期待されている。

ところで，ポリフェノールの持つ強い抗酸化性は，化学的な観点から，ポリフェノールが他の生体成分よりも酸化されやすい性質に由来す

る。より強い抗酸化性を示す物質はより速く酸化されるのである。たとえば，食品は，保蔵中に酸化により栄養成分が徐々に劣化していくが，ポリフェノールが含まれている食品では，その酸化を防ぐことができる。しかし，このときポリフェノールは抗酸化性を示しながら酸化されてしまい，酸化物が生じているであろう。ポリフェノールは第7の栄養素とも言われ，現在の食品科学の重要な研究対象である。しかし，これまでのポリフェノール研究において，それ自体の機能は調べられても，その酸化物にまで言及されることはほとんどなかった。ポリフェノール酸化物はポリフェノールとは異なる化学構造を有しており，当然機能も異なると考えられる。さらに，酸化されたポリフェノールは，徐々に食品に蓄積していくと考えられ，ポリフェノールが含まれている食品を安心して食するためには，ポリフェノール酸化物の安全性の検証も重要である。一方で，悪影響だけでなく，ポリフェノールが酸化されることにより新しい機能を発現することも期待される。

最近，我々の研究室では，ポリフェノール酸化物の安全性検証の一つとして細胞毒性の有無，酸化物の新しい機能としてチロシナーゼ阻害活性とトリポキシゲナーゼ阻害活性に着目し，

研究を行っており、ここでは、現在までに得られた結果を紹介したい。

1. ポリフェノールの鉄イオン存在下による酸素酸化

本研究の対象ポリフェノールとして、身近な食用・薬用植物に含まれ、強い抗酸化作用をもつことが期待され、かつ容易に純粋なものが入手可能なものを選んだ。お茶の渋み成分であるカテキン、コーヒーや豆類に多く含まれているカフェ酸、たまねぎなどに含まれているケルセチン、シソ科の植物に広く含まれているロスマリン酸など表1に上げた30種ほどのポリフェノールを酸化し、機能スクリーニングの対象にした。

ポリフェノールの酸化方法は、通常の食品の酸化的劣化を想定し、鉄イオン存在下での酸素酸化に供した。なお、今回は反応溶媒としてエタノールを用いた。上記ポリフェノールをエタノールに溶解し、10 mol% の FeCl_3 を加えて、

反応が速いものでは1日から、遅いもので20日酸素酸化を行った。反応後、触媒とした鉄イオンを Chelex 100 処理により除き、減圧下で濃縮して、供試ポリフェノール酸化物とした。なお、この条件でまったく酸化を受けないポリフェノールもあり、それらについては、安定なものとして今回の研究の対象からは除外した。

2. 酸化ポリフェノールの細胞毒性

まず、安全性の検証として、正常細胞に対する酸化物の細胞毒性を評価した。それに先立って、ポリフェノール自体の細胞毒性を測定したところ、ブドウやワインに含まれる抗酸化成分として有名なレスベラトロール以外のポリフェノールでは特に強い細胞毒性は見られないことを確認した¹⁾。

得られた酸化物の中から、比較的酸化の速かった種類のポリフェノール酸化物（カテキン酸化物、クロロゲン酸酸化物、ロスマリン酸酸化物、セサモール酸化物、カフェ酸酸化物）を

表1 ポリフェノール類の鉄イオン存在下での酸素酸化

フェノール類	反応期間 (日)	反応終了時の 残存原料 (%)	フェノール類	反応期間 (日)	反応終了時の 残存原料 (%)
カフェ酸	20	12	ケンフェロール	20	96
シナピン酸	8	5	ケルセチン	15	6
フェルラ酸	18	96	(+)-カテキン	1	2
クロロゲン酸	5	4	(-)-エピカテキン	1	0
ロスマリン酸	4	2	ヒドロキシチロソール	1	0
没食子酸	8	1	γ -オリザノール	18	94
プロトカテキュ酸	20	54	モリン	20	100
シリンガ酸	20	79	プロビルガレート	3	0
バニリン酸	20	100	α -トコフェロール	2	0
ウンベリフェロン	20	100	ゲンチジン酸	19	39
エスケレチン	20	100	セコイソラリシレジノール	19	50
レスベラトロール	19	67	エラグ酸	19	64
ピセアタンノール	1	1	カルノソール	1	4
ルテオリン	19	100	カルノシックアシド	1	9
タキシフォリン	20	60	ノルジヒドロ グアイアレチン酸	5	8

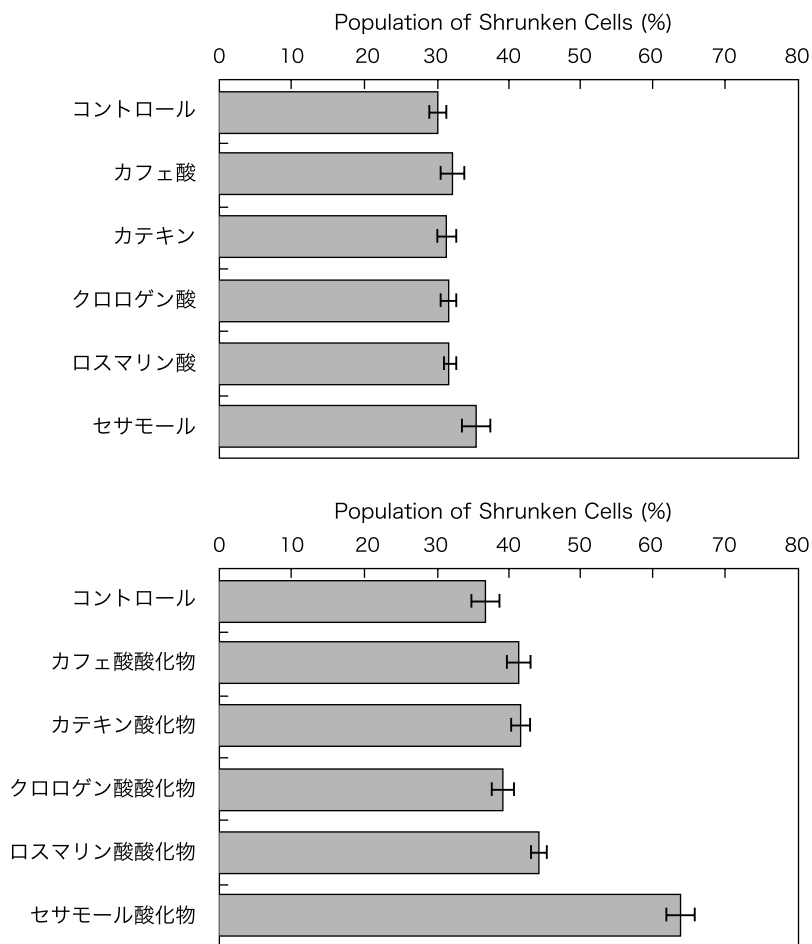


図1 ポリフェノール (100 μ M.) (上図) とポリフェノール酸化物 (30 μ g/mL) (下図) の細胞毒性

選び、哺乳類の正常細胞であり、フローサイトメーターにより毒性の評価が容易な、ラットの胸腺細胞を用いて細胞毒性を測定した。図1に5種のポリフェノールの酸化前と酸化後のポリフェノール (100 μ M または 30 μ g/mL) の毒性による細胞萎縮度を示した。

図1の結果より、細胞毒性を測定した全てのポリフェノールで、酸化により細胞毒性が発現される事実が確認された。なかでも、セサモール酸化物の細胞毒性は大きく、細胞萎縮率で見ると酸化前と比較し約2倍細胞毒性が強くなった。セサモールはゴマ由来のポリフェノール類で、特にゴマ油に含まれており、ゴマ油の酸化

安定性に大きく寄与しているとされている。したがって、セサモールが酸化されて細胞毒性を示すことは食品科学上重要と考え、細胞毒性発現のエビデンスとして、セサモール酸化物における細胞毒性物質の同定を行った。

3. 細胞毒性を有するセサモール酸化物

セサモール酸化物を再度調製し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー並びに TLC を用いて、細胞毒性と ^1H NMR 測定で評価しながら、物質の精製を行った。その結果、これまでに強い細胞毒性を有するものとしていくつかの物質

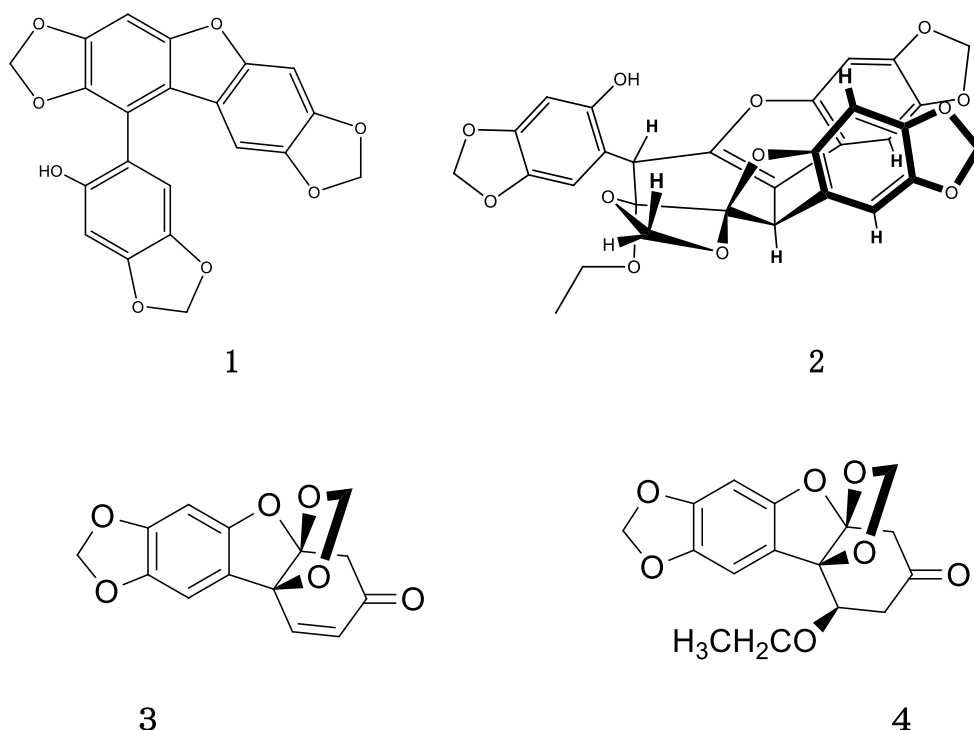


図2 細胞毒性を有するセサモール酸化物の化学構造

を単離することができ、そのうち現在、4種の毒性物質の化学構造の特定に成功した(図2)。化学構造の判明した毒性物質はいずれもセサモールが酸化的にカップリングしたもので、3と4は二量体²⁾、1と2はそれぞれ三量体と四量体に当たる³⁾。1と2は、10 μM の濃度で有意に正常細胞に細胞萎縮を引き起こし、その機構は、アポトーシスの誘導であると考えられた。なお、四量体の作用が強い傾向にあった⁴⁾。二量体については、現在解析中であるが、3は、100 μM において約80%の細胞致死活性を示した。一方で、4は、それほど強い致死活性は示さなかったが、1、2同様の細胞萎縮活性を示している。セサモールが酸化的に多量化したものに細胞毒性見られたが、すべての多量体に毒性が見られたわけではなく、今後は、毒性に不可欠な化学構造と、その構造を作らせないセサモール含有食品の品質管理の方法の開発も必要と考えられる。

4. 酸化ポリフェノールの機能：チロシナーゼ阻害活性

チロシナーゼは、チロシンを酸化して黒色物質メラニンを生合成する際の律速酵素で、通常生体では紫外線から皮膚や細胞を保護する上で重要であるが、過剰に機能するとシミやソバカスの要因となる。また、食品では、チロシンに加え他のフェノール性物質にも作用し、植物性食品の褐変化やエビなどの海産食品の黒変化の原因にもなる。特に食品では、色の変化は栄養価には影響しなくとも市場価値の低下を引き起こすため、食品流通科学上、その制御は重要と考えられる。チロシナーゼは、前述の様に、チロシンのみならず、他のフェノールにも作用し、その酸化を促進する酸化還元酵素であるので、ある種のポリフェノールの酸化物には、逆反応への関与やアンタゴニスト的な作用があり得るのではないかと考えられた。

表2 ポリフェノールとポリフェノール酸化物のチロシナーゼ阻害活性

フェノール類	酸化前 (%Inhibition)		酸化後 (%Inhibition)	
	0.1 mM	1.0 mM	0.1 mM (相当)	1.0 mM (相当)
カフェ酸	30.3 ± 1.2	10.8 ± 6.1	25.0 ± 3.1	46.6 ± 1.8
シナピン酸	9.2 ± 1.3	28.6 ± 1.7	2.5 ± 5.5	8.6 ± 8.0
クロロゲン酸	54.4 ± 3.8	61.5 ± 2.5	21.2 ± 2.6	16.7 ± 3.3
ロスマリン酸	57.2 ± 1.3	48.9 ± 1.4	38.6 ± 2.3	42.2 ± 2.1
没食子酸	41.5 ± 1.4	38.5 ± 3.6	-6.5 ± 7.0	10.0 ± 2.9
プロトカテキュ酸	-6.8 ± 0.7	0.4 ± 0.5	-5.6 ± 4.6	-9.2 ± 2.3
シリング酸	-0.9 ± 14.3	-8.0 ± 2.0	-5.0 ± 8.6	-8.6 ± 9.7
レスベラトロール	-13.3 ± 2.5	—*1	-13.5 ± 0.3	19.9 ± 1.5
ピセアタンノール	35.5 ± 7.7	98.4 ± 6.0	-10.1 ± 6.1	-3.0 ± 8.5
タキシフォリン	5.3 ± 0.5	16.8 ± 5.6	-30.8 ± 2.6	5.6 ± 2.9
ケルセチン	—*1	—*1	-8.9 ± 3.1	-7.1 ± 6.2
(+)-カテキン	37.8 ± 4.4	—*2	-31.5 ± 3.0	-19.0 ± 2.4
(-)-エピカテキン	29.9 ± 2.8	—*2	-14.2 ± 1.4	-17.9 ± 4.9
ヒドロキシチロソール	-96.2 ± 2.7	-122.8 ± 8.9	-16.5 ± 4.1	-6.6 ± 1.1
プロピルガレート	39.2 ± 0.4	80.7 ± 1.4	-9.8 ± 1.4	-4.3 ± 2.0
α-トコフェロール	-3.4 ± 4.5	-7.6 ± 2.9	-9.9 ± 4.1	—*1
ゲンチジン酸	-28.9 ± 4.7	-25.4 ± 2.7	-11.1 ± 4.8	-12.3 ± 4.5
セコイソラリシレジノール	11.1 ± 3.8	40.0 ± 0.8	-10.2 ± 4.1	—*1
エラグ酸	44.6 ± 3.9	83.4 ± 1.9	-1.7 ± 3.0	-1.6 ± 1.0
カルノソール	3.7 ± 1.1	—*1	-12.4 ± 3.9	—*1
カルノシックアシド	1.6 ± 0.6	-5.8 ± 11.5	-11.1 ± 4.0	—*1
ノルジヒドログアイアレチン酸	33.4 ± 3.4	—*1	-17.9 ± 2.2	—*1

*1 サンプル懸濁のためデータを得られず。

*2 ポリフェノール自身の酸化発色によりデータを得られず。

実際のポリフェノール酸化物の有するチロシナーゼ阻害活性の評価には、反応追跡の容易なDOPA法を用いた。すなわち反応2分間に生成するL-DOPAの酸化物を475 nmの吸光度で測定する方法を用いてサンプルのチロシナーゼの阻害率を算出し、これを%inhibitionとして阻害活性評価とした⁵⁾。なお、対照として酸化前のポリフェノールも同様に測定し、その結果を表2に示した。残念ながら、多くのポリフェノールにおいて、酸化物は元の物質よりチロシナーゼ阻害活性が弱くなっていた。ところが、ロスマリン酸の酸化物については、酸化前のロスマリン酸と同程度のチロシナーゼ阻害活性を維持していることがわかった。つまり、ロ

スマリン酸酸化物が多様な酸化物の混合物であれば、その中に、ロスマリン酸よりも濃度が低くともロスマリン酸同様のチロシナーゼ阻害活性を示す物質が含まれている可能性が考えられた。そこで、その物質を明らかにすべく、ロスマリン酸酸化物の精製を行った。

5. チロシナーゼ阻害活性を有するロスマリン酸酸化物

ロスマリン酸は、カフェ酸と3,4-dihydroxyphenyllactic acidのエステルで、セージ、レモンバーム、ローズマリー、オレガノなど広くシソ科の植物に含まれている。ロスマリン酸には、

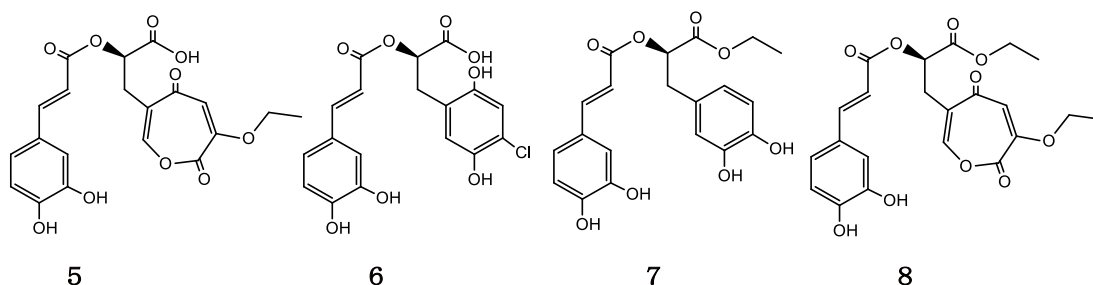


図3 チロシナーゼ阻害活性を有するロスマリン酸酸化反応生成物の化学構造

抗酸化性をはじめ、抗ウイルス性、抗菌性、抗アレルギー性のような多くの機能をもつことが知られており、健康増進効果が期待され、ガンや消化性潰瘍、白内障のような病気の治療にも使用されている⁶⁾。鉄触媒の酸素酸化で得られたロスマリン酸の酸化物をHPLCで分析すると、幸運にも、酸化物はそれほど複雑ではなく、残存原料のロスマリン酸以外に5つのピークが主に見られたのみであった。これらのピークの中にロスマリン酸よりも強いチロシナーゼ阻害活性を示す化合物が含まれていると考え、ピーク物質の単離を試みた。ロスマリン酸酸化物を、ODSカラムによりメタノール含量の違いで分画して6つのフラクションに分け、それぞれのフラクションを、次にODSカラムによる分取HPLCを用いて精製を行い、ピーク物質5種、すべての単離に成功した。そのうち1種は、ロスマリン酸の分解物であるカフェ酸であるとわかったので、残りの4種の物質(5-8)の構造決定を、NMR、MSなどの機器分析により行った。化合物5は、新規構造の化合物であり、MSによる分子式は $C_{20}H_{18}O_{10}$ で、ロスマリン酸より $C_2H_2O_2$ 多く、 1H NMRより一つのエトキシ基の存在が観測された。加えて、酸化による酸素一つ分の増加も見られた。また ^{13}C NMRにより観測された新たな2つのカルボニル基とそのカルボニル基周辺の構造をHMBC測定により解析したところ、化合物5はロスマリン酸の一つのカテコール部分が、酸素を含む特異的

な7員環構造へ変化した構造であると考えられた⁷⁾。化合物6は、MSよりロスマリン酸に塩素が置換した化合物と予想でき、その塩素の位置は、ベンゼン環上の置換基の化学シフトの置換効果を計算することにより求めて構造を推定した。化合物7については、MS、NMRデータからロスマリン酸のエチルエステルで、酸化物ではなかったが、8は酸化物5のエチルエステルであると決定した。

単離したピーク物質のチロシナーゼ阻害活性測定し、その活性強度の指標として IC_{50} 値を求めた。結果、化合物5が0.08 mM、化合物6が0.05 mM、化合物7が0.08 mM、化合物8が0.13 mMとなった。なお、ロスマリン酸は1.4 mM、カフェ酸が6.2 mMであったので、酸化反応生成物のうち、ロスマリン酸の分解物であるカフェ酸の阻害能は弱い、その他の物質の阻害活性はロスマリン酸より10倍以上強いと言える⁸⁾。したがって、これらが、中心となりロスマリン酸酸化物のチロシナーゼ阻害活性に寄与しているものと考えられ、その化学構造と活性の増強機構に興味を持たれる。

おわりに

はじめにでも述べたように、最近、ポリフェノールの健康機能が様々な手法で調べられている。その多くは、ポリフェノール自体の機能として調べられているが、ある種のポリフェノールが非常に酸化的に変化しやすいことを考える

と、中にはその酸化物の機能を見ているかもしれない。特に、長時間の実験を要し、微量で特異に発揮される機能の中には、実験系内で酸化されたポリフェノールの効果が検出されている可能性も否定はできないであろう。

最近、我々の研究室において、レスベラトロールは、鉄触媒の酸素酸化法でほとんど酸化されないにも関わらず、その処理によって強いロキシゲナーゼ阻害活性を示すようになることが見出された。また、レスベラトロールを溶液で長時間おいてもロキシゲナーゼ阻害活性が非常に強くなることも確認しており、これも微量に生じる酸化物の影響と考えられる⁹⁾。基本的に物質の酸化を完全に防ぐことは不可能である。したがってむしろ食品や生体のような複合系におけるポリフェノールの機能とは、その酸化物の機能も含めた効果として考えてもいいのかもしれない。ある種の機能性物質は、生体内において代謝活性化されて機能を示すのはよくあることであり、細胞系の活性測定系においても、細胞への取り込みなど、本来の機能にないような物質の物理化学的性質も要求される。それらを含めてのものが、食品および生体での機能と言えよう。しかし物質科学的には、どのような構造のものが機能しているかわからないというのも問題である。生体系でポリフェノール

は、そのフェノール部位でグルクロン酸や硫酸に抱合化されて体内に入ることが突き止められている。その体内に入る前に、酸化的な変化を受けてしまったポリフェノールはどのようなになるであろうか。今後もポリフェノールの物質科学的な理解が求められる。

また、ポリフェノールが食品などの生物素材にあるとき、その酸化されやすい性質から、素材より先に酸化されることにより、酸化的劣化から守っている。たとえば、食品を例にすると、栄養成分が酸化的に劣化してしまっはもはや商品にならないが、そのような状態になる以前に、含有ポリフェノールの状態をモニターすることで、酸化の状況を把握するシステムが構築できるかもしれない。ポリフェノールが天然物であるゆえの不安定性、そして反応することによって機能を示すという特異な物質である点を逆に食品の品質評価に応用する試みも今後は検討して行きたいと考えている。

謝辞

ポリフェノールおよびその酸化物の細胞毒性評価は、徳島大学大学院 SAS 研究部生体情報学研究室小山保夫教授のもとで行われました。そのことを記して感謝いたします。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Fujimoto, A.; Sakanashi, Y.; Matsui, H.; Oyama, T.; Nishimura, Y.; Masuda, T.; Oyama, Y., Cytometric Analysis of Cytotoxicity of Polyphenols and Related Phenolics to Rat Thymocytes: Potent Cytotoxicity of Resveratrol to Normal Cells. *Basic, Clinic. Pharmacol. Toxicol.*, **104**, 455-462 (2009)
- 2) Masuda, T.; Shingai, Y.; Fujimoto, A.; Nakamura, M.; Oyama, Y.; Maekawa, T.; Sone, Y. Identification of Cytotoxic Dimers in Oxidation Product from Sesamol, a Potent Antioxidant of Sesame Oil. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 10880-10885 (2010)
- 3) Masuda, T.; Fujimoto, A.; Oyama, Y.; Maekawa, T.; Sone, Y., Structures of Cytotoxic Products from Fe-Catalyzed Oxidation of Sesamol in Ethanol. *Tetrahedron Lett.*, **50**, 3905-3908 (2009)
- 4) Fujimoto, A.; Shingai, Y.; Oyama, B. T.; Kawanai, T.; Hashimoto, E.; Koizumi, K.; Kimura, K.; Masuda, T.; Oyama, Y., Apoptosis-Inducing Action of Two Products from Oxidation Sesamol, An Antioxidative Constituent of Sesame Oil :A Possible Cytotoxicity of Oxidized Antioxidant. *Toxicol.in Vitro.*, **24**,1720-1726 (2010)
- 5) Masuda, T.; Someya, T.; Fujimoto, A., Phenolic Inhibitors of Chemical and Enzymatic Oxidations in the Leaves of *Myrica rubra*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 212-215 (2010)
- 6) Petersen, M; Simmonds, M. S. J. Rosmarinic Acid. *Phytochemistry*, **62**, 121-125 (2003)
- 7) Fujimoto, A.; Shingai, Y.; Nakamura, M.; Maekawa, T.; Sone, Y.; Masuda, T., A Novel Ring-Expanded Product with Enhanced Tyrosinase Inhibitory Activity from Classical Fe-Catalyzed Oxidation of Rosmarinic Acid, A Potent Antioxidative Lamiaceae Polyphenol. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 7393-7396 (2010)
- 8) 藤本 彩, 新開 愛美, 中村 光裕, 増田 俊哉, ロスマリン酸の酸化により生成した特異的な 7 員環物質の化学的性質, 日本農芸化学会 2011 年度大会講演要旨集 (京都)
- 9) 新開 愛美, 藤本 彩, 中村 光裕, 増田 俊哉, ポリフェノール酸化物のリポキシゲナーゼ阻害活性 - レスベラトロール酸化物の解析について -, 日本農芸化学会 2011 年度大会講演要旨集 (京都)

発芽小麦ふすまの製パン性に及ぼす影響

(本文は *Cereal Chem.* 2010. 87(3):231-236. にもとづく解説である。)

瀬口 正晴*

* *SEGUCHI Masaharu* (神戸女子大学)

Key Words: ふすま・発芽小麦・製パン

要 約

小麦を 24℃の暗所で 1, 2, 3, 5, 8 日間発芽させて、そこからふすまを調製した。ふすまを小麦粉に 10% 加えたものを用いて製パン試験を行った。製パン特性 (パン高 mm, 比容積 cm^3/g) は、発芽ふすまを小麦粉にブレンドすることによって経時的に次第に改良された。5 日目のふすまを混合したものが最も製パン性がよかった。しかし 8 日目になると製パン性改良効果は失われた。RVA, ファリノグラフの測定結果から、RVA 最高粘度とファリノグラフのテール角度 (下方への) の最大増加は、それぞれ 3 日目と 5 日目のふすまを混合した小麦粉で得られた。それらの変化はふすま中の酵素の作用によると思われた。 α 、 β -アミラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼ、キシラナーゼ活性を調べたが、そのうち製パン特性と α -アミラーゼ、キシラナーゼ活性との間に大きな相関があった。

紹 介

ふすまは小麦胚芽と外果皮からなるが、それらを小麦粉に混合した場合、製パン特性 (パン高 mm, 比容積 cm^3/g) は低下することが知られている。ふすまの粒度が荒いほど製パンの悪変は大きい (Pomeranz *et al* 1977)。悪変させる原因は、ドウ中のガスの保持容量の低下に起因している。Gan (1992) は外果皮がパン容積低下やクラム構造の悪化に影響を与えると報告している。Galliard (1986), Barnes と Lowy (1986) は、ふすま中の酵素活性で脂質分解が起こり、遊離脂肪酸の生成でパン高の低下の起ることを報告した。ふすまにはタンパク質、油脂、Na, Zn, Cu, Ca, Mg, Fe, フィチン酸、フェルラ酸、食物繊維等が含まれている。食物繊維は、低カロリーで、血清コレステロール、肥満、糖尿病等に効果がある (Bosello *et al* 1980)。Kim

et al (2004) と Wang *et al* (2003) は、マウスに長期にフェルラ酸を与えると、アミロイド β ペプチド ($A\beta$) による学習記憶障害や脳虚血の回復を認めた。ふすまは、人々の健康に大切な効果があるが、食品加工上、前述のような悪影響があるためにうまく利用されていない。Lai *et al* ら (1989) は、製パン時に吸水性を増加させ、ショートニングと sodium stearoyl lactylate (SSL) 添加し、さらに微粉碎化した小麦ふすまをパン生地に加えて悪影響を克服した。Katina *et al* (2006) はふすまの発酵が、ふすま添加パンの悪変を克服したと報告した。本研究では、発芽小麦からとったふすまを小麦粉に加えて製パンする方法とその結果を報告する。多種の酵素活性を含むふすまを、発芽小麦より集めた。発芽小麦のふすまを小麦粉に混合することによって、製パン性の改良が認められた。

1. 材料と方法

1) 材料

製パン実験に日清製粉（株）のカメリア小麦粉を使った。カメリア小麦粉はNo.1CW麦を製粉したものである。タンパク質と灰分含量はそれぞれ13.6%と0.4%であった。ふすまの調製には、ASW小麦を用いた。小麦500gを1Lの水（4℃）に15時間浸した後、水から出して湿った布で包む。1, 2, 3, 5, 8日間、25℃の暗所で発芽させ、その後60℃で乾燥した。芽、根を除去後、穀粒を5000rpm10分間ワーリングブレンダー処理を行い、鉄ふるいを用いてふすまを集めた。ふすまの平均粒径は349μmであった。ふすまを混合したパンの色差（*L.a.b*）は、*L.a.b*色仕様システム色差計で測られた。*L.a.b*はそれぞれパンの白さ、赤さ、黄色さを示す。

2) ブラベンダーファリノグラフ試験と製パン方法

製パン試験（Seguchi *et al* (1997)）は、ふすまを小麦粉に10%混合して行った。ファリノグラフ試験には300gを用いた。製パン方法は以下のものであった。

小麦粉290g、コンプレストイースト8.7g、砂糖14.5g、塩2.9g、水（ファリノグラフで500BUから計算する）をナショナルの製パン機（SD-BT6）中で30℃、2時間20分1次醗酵した。混合ははじめ15分間、次に50分間休み、さらに5分間混合を行った。その後70分間発酵させた。パン生地は製パン機から取り出し120gずつにわけ、丸く成形し容器にいった（AACC法）。さらに38℃で22分15秒間発酵させ、210℃、30分間オーブン中で焼いた。パン高（mm）、比容積（cm³/g）を測り、写真を取り評価した。

3) RVA テスト

Visco Analyser RVA-4で小麦粉の粘度特性を測った。

4) α, β - アミラーゼ, リパーゼ, プロテアーゼ, キシラナーゼ活性

ふすま200mgを水4mLに懸濁後、60sec 38kHzの超音波処理をした。12,000rpmで5分間、遠心分離し、その上澄みをフィルターに通して測定に用いた。α, β-アミラーゼ, リパーゼ, プロテアーゼ, キシラナーゼはElbin *et al* (1993), Kurooka and kitamura (1978), Dominguez and Cejudo (1996), Cleemput *et al* (1997)の方法によってそれぞれ測された。β-アミラーゼはMegazyme Assay kitを使った。

5) SDS-PAGE

10-25%グラジエント下でLaemmli (1990)の方法によりSDS-PAGEを行った。染色はcoomassie brilliant blue R-250を用いた。

6) 統計分析

統計ソフト（SPSS）を用いて統計分析した。パンを4個それぞれ焼き、パン高（mm）、比容積（cm³/g）を測り、それぞれのサンプルの平均値を求め、Duncan試験を行った。

2. 結果と考察

1) 発芽小麦からのふすま調製

小麦を25℃の暗所で発芽させた。1日発芽させると、わずかな芽（2.4mm）と根（4.0mm）が見られた。2日目でそれぞれ7.2mmと22.2mmと増加し、3日目では芽の幅は根の幅より大きくなった。5日目以降では、芽と根の外見は著しく異なった。8日目では芽の色が緑色になった（図1）。ふすまの一般分析は表1に示された。

2) 製パン結果

小麦粉に10%ふすまを混ぜた時の製パン結果を表2と図2に示した。未発芽（0日）のふ

すまを混合した製パン性をコントロール（未添加）と比較すると、パン高、比容積ともにわずかに増加する。製パン性の増加は0日目から1日目、2日目、3日目と増加する。5日目では、パン高（99.4mm）、比容積（4.70cm³/g）となり、コントロール（78.7mm、3.42cm³/g）と比較して1.2-1.4倍増加した。しかし、8日目では製パン性はそれぞれ83.3mmと3.62cm³/gと減少した。5日目のふすまを混合した小麦粉の時、パン高、比容積ともに、最も大きく増加した。5日目のふすま混合のパンの*L*値（28.5）はコ

ントロールの値（42.3）より低く、より暗いクラムの色を示した。パンにわずかな甘味があったが、おそらくβ-アミラーゼによって産生されるマルトースによるものだろう。

3) 小麦に10%ふすま混合した時のファリノグラフ結果

図3は小麦10%ふすま混合時の小麦粉のファリノグラフの結果である。0日目のふすま混合はプロフィールに変化はなかった。しかし1日目では、ふすまからファリノグラムに変化が認められ、テール角は下方7度下がった。

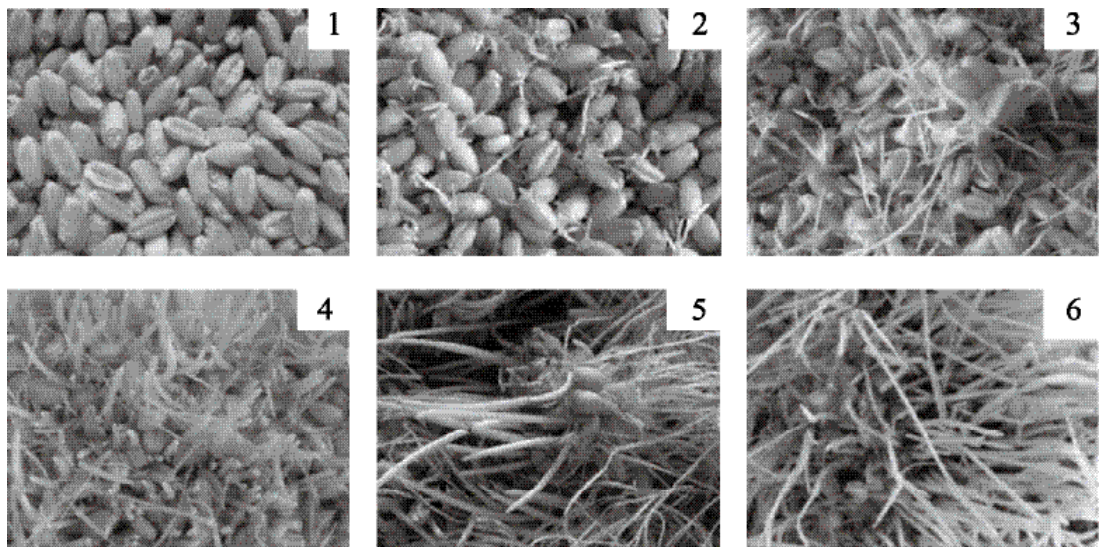


図1 Germination of wheat grains at room temperature (25°C); (No. 1) at 0 day (ungerminated), (No. 2) at 1 day germination (DG1) (bud 2.4 ± 0.5 mm in length and root 4.0 ± 1.4 mm), (No. 3) at DG2 (bud 7.2 ± 0.8 mm and root 22.2 ± 3.6 mm), (No. 4) at DG3 (bud 16 ± 2.3 mm and root 37 ± 7.5 mm), (No. 5) at DG5 (bud 36 ± 7.6 mm and root 59 ± 21.0 mm), and (No. 6) at DG8 (bud 67.6 ± 5.7 mm).

表1 General Analysis of Outer Bran Layers from Wheat Grains (500g)

Germination (day)	Outer Bran Layers (g)	Moisture (%)	Protein (%)	Ash (%)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
0	52.4	6.4a(0.3)	15.5a(0.6)	3.3a(0.0)	77.0a(0.0)	2.7a(0.0)	15.8a(0.0)
1	96.0	6.4a(1.3)	16.2b(0.1)	2.4b(0.2)	72.7b(0.4)	3.0a(0.0)	13.9b(0.1)
2	105.1	7.9a(1.3)	13.4c(0.3)	1.8c(0.1)	89.5c(0.0)	1.1b(0.0)	15.8a(0.0)
3	80.5	11.4b(0.2)	14.8d(0.0)	1.9c(0.0)	65.0d(0.4)	4.9c(0.3)	16.0a(0.2)
5	86.1	13.1b(1.1)	13.4c(0.3)	1.4d(0.0)	64.6d(0.0)	4.1d(0.0)	15.9a(0.1)
8	131.4	12.0b(0.1)	13.9d(0.1)	1.1d(0.0)	57.1e(4.6)	3.6e(0.3)	14.2b(1.7)

Values represent means of 2 replicates with SD in parenthesis.

Means followed by the different letters in columns are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

表2 Effect of Outer Bran Layers from Wheat Grains on Breadmaking Properties

	Bread Height (mm)	Specific Volume (cm ³ /g)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Control	78.7a(1.1)	3.42a(0.07)	42.3a(2.9)	13.9ab(2.1)	19.8a(2.1)
+10% Outer Bran Layer, 0day	81.6b(1.8)	3.58b(0.10)	42.9a(3.0)	14.9a(1.3)	18.9a(2.2)
,1	83.9b(1.8)	3.73c(0.03)	37.5ab(6.3)	12.6bc(1.4)	15.9ab(4.2)
,2	91.1c(1.3)	4.29d(0.05)	32.2bc(0.3)	12.5bc(0.7)	11.5b(1.2)
,3	93.0c(1.7)	4.49e(0.10)	31.8bc(5.1)	12.2bc(1.6)	12.0b(3.8)
,5	99.4d(3.0)	4.70f(0.09)	28.5c(2.9)	11.1c(1.0)	12.4b(3.5)
,8	83.3b(1.9)	3.62bc(0.11)	35.3bc(1.5)	13.6bc(0.4)	15.0b(0.9)

Values represent means of 2 replicates with SD in parenthesis.

Means followed by the different letters in columns are significantly different at $p<0.05$ according to Duncan's multiple range test.

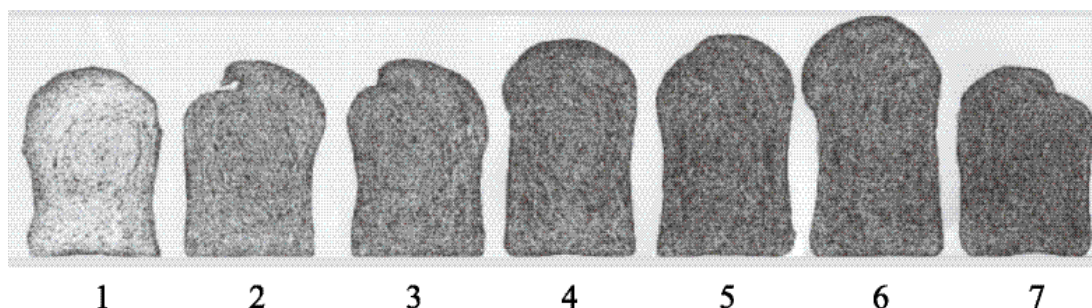


図2 Effect of outer bran layers (10%) on breadmaking properties; (No. 1) control (no addition), (No. 2) blended with outer bran layers from ungerminated grains, (No. 3) 1 day, (No. 4) 2 days, (No. 5) 3 days, (No. 6) 5 days, and (No. 7) 8 days germinated grains.

表3 B.Farinograph and RVA Data of Wheat Flour/Outer Bran Layer

	Day	control	0	1	2	3	5	8
Farinograph % RVA								
Farinograph								
Angle of tail(Degree)		4	4	7	6	7	14	9
RVA								
Peak Viscosity(RVU)		331.1	295.2	42.3	22.8	17.1	23.8	215.8
Time minutes(min)		6.3	6.3	3.5	3.0	2.9	3.1	5.7
Pasting Temperature(°C)		82.4	83.9	69.4	70.4	40.2	40.2	83.9

一方テール幅は狭くなった(図3-3)。この角度は3日目まで維持され、5日目では14度に増加し、テール幅は狭くなった。これはキシラナーゼとプロテアーゼ活性の増加によるものと考えられた。8日目では角度は9度に減少した(図3-7)。パン高、比容積(表2)とテールの角度の相関係数はそれぞれ0.758と0.658で

あった(表4)。

5) RVA プロフィール

図4は10%ふすま添加小麦粉のRVAプロフィールを示した。0日目のふすまを混ぜたものは、わずかに最高粘度を減少させた(図4b)。1日目では最高粘度の顕著な低下(42.3RVU)とその時間の低下(3.5分)が観察

表4 Relation(r) between Breadmaking Properties and Each Tests

	Bread Height(mm)	Specific Volume(cm ³ /g)
Angle of tail(Farinograph)	r=0.758	r=0.658
Peak Viscosity(RVA)	r=-0.814	r=-0.832
α -amylase	r=0.855	r=0.929
β -amylase	r=0.425	r=0.569
Lipase	r=0.737	r=0.783
Protease	r=0.767	r=0.688
Xylanase	r=0.957	r=0.943

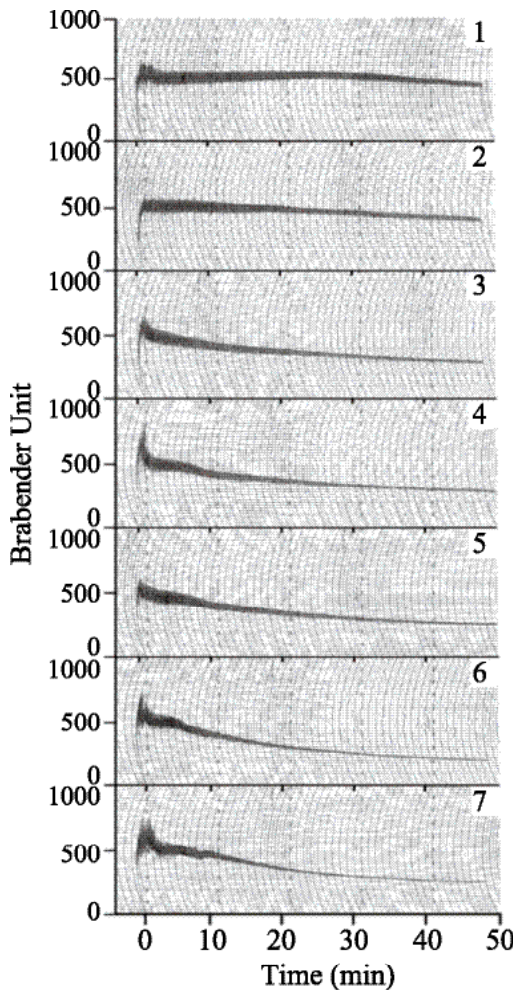


图3 Farinograph profiles of (No. 1) wheat flour, (No.2) blended with 10% outer bran layers from ungerminated grains, (No.3) from 1-day germinated grains, (No. 4) from 2-days, (No. 5) from 3-days, (No. 6) from 5-days, and (No. 7) from 8-days.

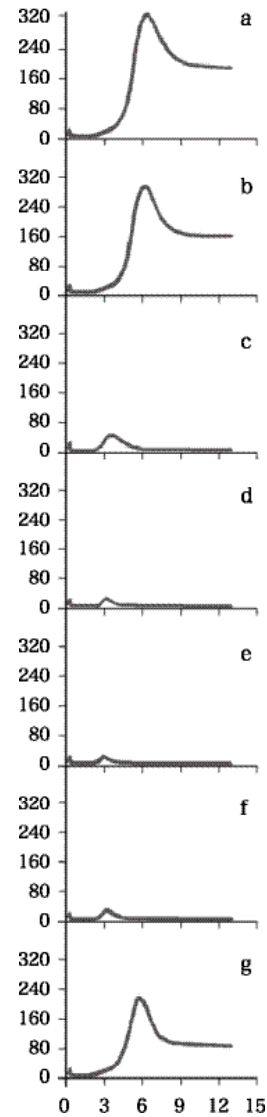


图4 RVA profiles of (No. 1) wheat flour, (No.2) blended with 10% outer bran layers from ungerminated grains, (No.3) from 1-day germinated grains, (No. 4) from 2-days, (No. 5) from 3-days, (No. 6) from 5-days, and (No. 7) from 8-days.

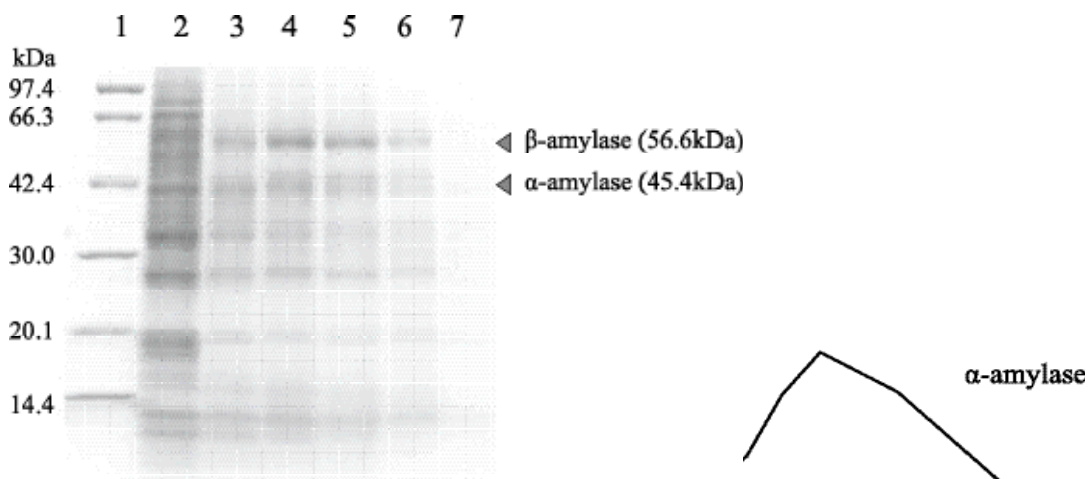


図 5 SDS-PAGE profile of extracts from outer bran layers: lane 1, marker proteins: lane 2, ungerminated (0 day) grains: lane 3, 1 day germinated (DG1) grains: lane 4, DG2 grains: lane 5, DG3 grains: lane 6, DG5 grains: lane 7, DG8 grains.

された (図 4c)。しかし製パン性の増加は起らなかった (表 2)。2 日目と 3 日目では最高粘度のピークは減少しつづけ、5 日目と 8 日目では最高粘度と時間低下は減少した (図 4c-g)。RVA のこれらの変化は主に発芽穀物中の α -アミラーゼ活性が関係したものであろう。最高粘度のピークは 8 日目で 1, 2, 3, 5 日目よりも高くなり、これは α -アミラーゼ活性の消失を示すものであろう。製パン結果と RVA 結果の間の相関係数はそれぞれ $r = -0.814$ (パン高) と -0.832 (比容積) であった (表 4)。

4) ふすま抽出物の SDS-PAGE

ふすま (0 ~ 8 日目) から抽出したサンプルを SDS-PAGE にかけた (図 5)。小麦 α -アミラーゼ (45.4 kDa, Baulcombe *et al* 1987), 小麦 β -アミラーゼ (56.6 kDa, Wagner *et al* 1996), 小麦リパーゼ (39.1 kDa, Saunders 1999), 小麦プロテアーゼ (39.2 kDa, Tsuji *et al* 2004; 40.8 kDa, Kiyosaki *et al* 2009; 41.1 kDa, Jing *et al* 2004; 41.4 kDa, Grolach *et al* 1996; 42.0 kDa, Chisholm *et al*

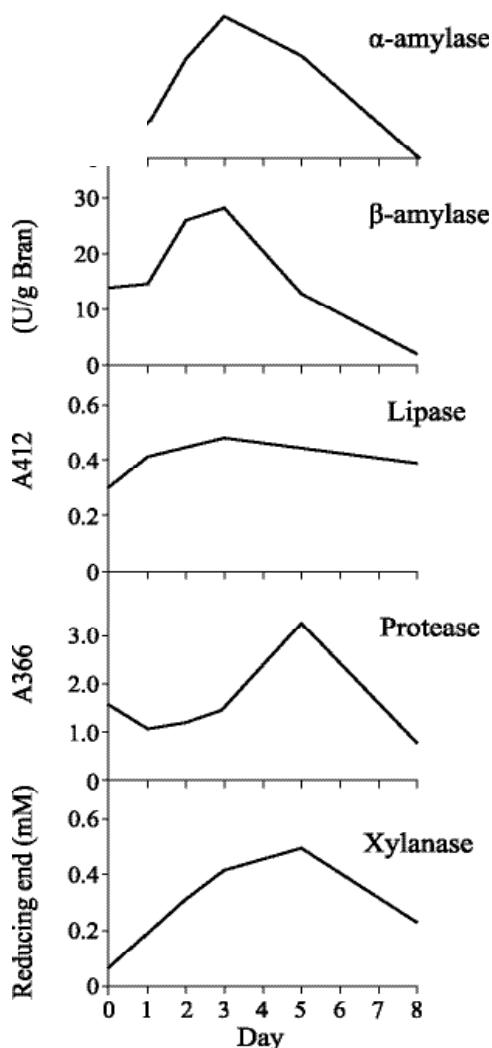


図 6 Enzyme activities in outer bran layers separated from germinated wheat grains. α - and β -amylase activities are indicated by U/g outer bran layer; lipase activity was indicated by absorbance at 412 nm; protease was indicated by absorbance at 366 nm; xylanase was indicated by reducing end (Mm).

2002; 54.0 kDa, Tamura *et al* 2007; 59.2 kDa, Arroz *et al* 2008; 76.5 kDa, Griffiths *et al* 2006), 小麦キシラナーゼ (47.6 kDa, Sidhu and Fincher 1999) 等が報告されている。それらの酵素活性を測定した。 α 、 β -アミラーゼとリパーゼの活性は3日目に最大値に達し、その後減少した。SDS-PAGE 結果から α 、 β -アミラーゼの存在とその増加と減少が観察された。プロテアーゼとキシラナーゼ活性は5日目で最大値を示して、そこから減少した。

4) 製パン結果と RVA, ファリノグラフ, 各種酵素活性との関係

表4は製パン適性結果と、テール角度(ファリノグラフ), 最高粘度(RVA), α 、 β -アミラーゼ, リパーゼ, プロテアーゼ, キシラナーゼ活性との相関係数(r)を示した。最高粘度(RVA)とのピークの相関関係は、 α -アミラーゼ活性との相関係数に類似していた。ふすまの α -アミラーゼには製パン性の改善にかなり高い相関関係があった。製パン性とテール角度との r 値と、プロテアーゼとの r 値はかなり近かった。しかしそれはRVAや α -アミラーゼのものより

低い。 r 値の高さはキシラナーゼ活性との間で最も高かった。これらのデータより、ふすまのキシラナーゼ活性がパン高と比容積改善により関連があることが示唆された。製パンに対する影響は、キシラナーゼと他酵素との相互作用によるものということも示唆された。 β -アミラーゼの活性が L 値とパンの甘味に貢献することが暗示された。

結 論

発芽5日目のふすまを小麦粉に10%混合したとき、その製パン結果(パン高(mm), 比容積(cm^3))はコントロール(未添加)より1.2-1.4倍大きかった。小麦粉+10%ふすまのファリノグラフとRVAの結果から、ふすま中の酵素活性上昇によりそれぞれ下方へのテール角度増加と最高粘度の低下が認められた。これらの酵素は、発芽中にふすまに蓄積したものである。発芽小麦からのふすま中の酵素類の内、キシラナーゼ、 α -アミラーゼ活性が製パン性改善に特に関連があった。

．．．．． 文 献 ．．．．．

- 1) AACC International. 2000. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Method 08-01, 46-10, 10-10A, 54-21, 76-21: The Association: St. Paul, MN.
- 2) Arroz, J. A., Teixeira, A., and Ferreira, R. B. Submitted 2008. Subtilisin protease expression during leaf age and nitrogen deprivation. the EMBL/Gen Bank/DDBJ databases.
- 3) Barnes, P. J., and Lowy, G. D. A. 1986. The effect on baking quality of interaction between milling fractions during the storage of wholemeal flour. *J. Cereal Sci.* **4**: 225-232.
- 4) Baulcombe, D. C., Huttly, A. K., Martienssen, R. A., Barker, R. F., and Jarvis, M. G. 1987. A novel wheat alpha-amylase gene (alpha-Amy3). *Mol. Gen. Genet.* **209**: 33-40.
- 5) Bosello, O., Ostuzzi, R., Armellini, F., Micciolo, R., and Scuro, L. A. 1980. Glucose tolerance and blood lipids in bran-fed patients with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care.* **3**: 46-49.
- 6) Chisholm, D. A., Tang, X.-S., and Diner, B. A. 2002. Analysis of the c-terminal protease gene family in *Synechocystis* 6803. Submitted (FEB-2002) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases.
- 7) Cleemput, G., Hessing, M., Van Oort, M., Deconynck, M., and Delcour, J. A. 1997. Purification and characterization of a β -D-xylosidase and an endo-xylanase from wheat flour. *Plant Physiol.* **113**: 377-386.
- 8) Dominguez, F., and Cejudo, F. J. 1996. Characterization of the endoproteases appearing during wheat grain development. *Plant Physiol.* **112**: 1211-1217.

- 9) Elbin, C. S., Becks, S., and Lepp, C. A. 1993. Evaluation of silyl-blocked p-nitrophenylmaltoheptaoside as a substrate for α -amylase reagents. *Clin. Chem.* 39:112-118.
- 10) Gan, Z., Galliard, T., Ellis, P. R., Angold, R. E., and Vaughan, J. G. 1992. Effect of the outer bran layers on the loaf volume of wheat bread, *J. Cereal Sci.* 15:151-163.
- 11) Galliard, T. 1986. Hydrolytic and oxidative-degradation of lipids during storage of wholemeal flour-effects of bran and germ components. *J. Cereal Sci.* 4: 179-192.
- 12) Gorlach, J., Volrath, S., Knauf-Beiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K. H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H., and Ryals, J. 1996.
- 13) Griffiths, S., Sharp, R., Foote, T. N., Bertin, I., Wanous, M., Reader, S., Colas, I., and Moore, G. 2006. Molecular characterization of Ph1 as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature*. 439:749-752.
- 14) Jing, R., Zang, Q., Guo, Z., and Chang, X. 2004. A Triticum aestivum Cysteine Proteinase Gene and Its Utilization. Submitted (NOV-2004) to the EMBL/GenBank/DDBJ databases.
- 15) Katina, K., Salmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forsell, P., and Autio, K. 2006. Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *Food Science and Technology* 39(5): 479-491.
- 16) Kim, H. S., Cho, J. Y., Kim, D.H., Yan, J. J., Lee, H. K., Suh, H. W., and Song, D. K. 2004. Inhibitory effects of long-term administration of ferulic acid on microglial activation induced by intracerebroventricular injection of beta-amyloid peptide (1-42) in mice. *Biol Pharm. Bull.* 27: 120-121.
- 17) Kiyosaki, T., Asakura, T., Matsumoto, I., Tamura, T., Terauchi, K., Funaki, J., Kuroda, M., Misaka, T., and Abe, K. 2009. Wheat cysteine proteases triticain alpha, beta and gamma exhibit mutually distinct responses to gibberellin in germinating seeds. *J. Plant Physiol.* 166:101-106.
- 18) Kurooka, S., and Kitamura, T. 1978. Properties of serum lipase in patients with various pancreatic diseases. *J. Biochem.* 84:1459-1466.
- 19) Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- 20) Lai, C. S., Hoseney, R. C., and Davis, A. B. 1989. Effects of wheat bran in breadmaking. *Cereal Chem.* 66: 217-219.
- 21) Megazyme, BETA-AMYLASE Assay procedure (BETAMYL-3 METHOD). 2009. Megazyme International Ireland Ltd., Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, IRELAND.
- 22) Pomeranz, Y., Shogren, M. D., Finney, K. F., and Bechtel, D. B. 1977. Fiber in breadmaking-effects on functional properties. *Cereal Chem.* 54:25-41.
- 23) Saunders, C. M. Thesis 1999. Department of School of Biosciences, University of Wales, Cardiff., Cardiff, United Kingdom. The biochemistry and molecular biology of wheat grain lipases.
- 24) Seguchi, M., Hayashi, M., and Matsumoto, H. 1997. Effect of gaseous acetic acid on dough rheological and breadmaking properties. *Cereal Chem.* 74:129-134.
- 25) Sidhu, P. K., and Fincher, G. B. 1999. Isolation and Characterization of a Gene Encoding a (1->4)-b-Xylan Endohydrolase from Wheat (Triticum aestivum) (Accession No. AF156977). (PGR99-146). *Plant Physiol.* 121:685-685.
- 26) Tamura, T., Terauchi, K., Kiyosaki, T., Asakura, T., Funaki, J., Matsumoto, I., Misaka, T., and Abe, K. 2007. Differential expression of wheat aspartic proteinases, WAP1 and WAP2, in germinating and maturing seeds. *J. Plant Physiol.* 164:470-477.
- 27) Tsuji, A., Tsuji, M., Takami, H., Nakamura, S., and Matsuda, Y. 2004. Molecular cloning and expression analysis of novel wheat cysteine protease. *Biochim. Biophys. Acta.* 1670:84-89.
- 28) Wagner, G. B., Haeger, K.-P., and Ziegler, P. 1996. Nucleotide sequence of a cDNA from wheat leaves encoding ubiquitous beta-amylase. *Plant Physiol.* 112:1735.
- 29) Wang, Q., Xiong, L. Z., and Chen, S. Y. 2003. Effect of sodium ferulate on activation of extracellular signal regulated kinase after cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 23: 918-921.

滴定による簡便で正確な緩衝能測定法について

星 祐二 *

*HOSHI Yuji (宮城学院女子大学 食品栄養学科)

Key Words：緩衝能・滴定・熱力学的酸解離定数・濃度酸解離定数・活量・活量係数

はじめに

緩衝能 (β) とは、Van Slyke によって最初に提唱された概念で、pH を 1 単位変化させるのに必要な塩基のモル濃度と定義され¹⁾、緩衝価 (buffer value) と呼ばれる。食品のコクや旨味、渋味、酸味、味のふくらみなどは、弱電解質の量と組成に大きく影響されるので緩衝能との関係も深く²⁾、また、食品の緩衝能は、味噌、醤油、日本酒の熟成程度の判定やお茶の品質評価の目安ともなる重要な物理化学的特性である³⁾。例えば、味噌では、古くから緩衝作用と熟成期間や官能結果との間に相関が認められており^{4,5)}、緑茶でも緩衝能の強さの順と通念による品質の順位の間に関係が認められている⁶⁾。茶類に関しては、緑茶、紅茶、ウーロン茶の緩衝能の比較も行われ、「ウーロン茶は二番出しを飲む方が味は良い」という経験的な言い伝えと緩衝能とがよく一致する結果も得られている²⁾。清酒においても、緩衝能は清酒の香味、ことにゴク味、ふくらみに関係する因子として古くから研究されてきたが、梅津らは清酒の緩衝能におよぼす成分各区分の寄与率を求めている⁷⁾。さらに、一般に言われているだしのコクの強さと緩衝能曲線の高低が一致していることから、昆布・かつお節などのだし汁の最適抽出時間と緩

衝能の関係など、調理科学的側面からも食品の緩衝能測定は有用な情報を提供する手段となっている⁸⁾。このように食品の品質と緩衝能の関係は深く、以前から食品分野でも注目され、幅広く研究されている。

緩衝能の測定法としては、Lehmann による近似法⁹⁾、Tsuji の開発した専用の測定装置を用いる方法¹⁰⁾、Yamano らの pH メーターとコンピューターをオンラインで接続した解析システムを用いる方法などが報告されているものの¹¹⁾、緩衝能の測定が簡単かつ正確に行える環境にあるとは言えなかった。そのような中、著者は、pH メーターと通常の実験室に常備されている器具を用いた、簡便で正確な緩衝能測定法について検討し、実用化の可能性を示した¹²⁾。しかしながらその後、多くの食品が緩衝能を有する中性 pH 領域において、実質的な問題はないとは言え、強酸性・強塩基性領域で誤差を生じる理論的誤りのあることが判明した。また、二塩基酸や三塩基酸では、理論緩衝能曲線と実測曲線との一致性が必ずしも良好でないこともあり、今回、測定理論の修正を行うとともに、実測曲線と理論曲線の乖離の原因について検討した。その結果、理論曲線の導出にあたっては、緩衝成分の酸解離定数におよぼすイオン環境変化の影響を

考慮する必要がある、活量係数を用いて熱力学的酸解離定数を補正することで、理論曲線と実測曲線の一致性が改善されたので報告する。

1. 理論

1-1. 緩衝能の理論式

酢酸のような一塩基酸の場合、緩衝能は水素イオン濃度 $[H^+]$ 、酸の濃度酸解離定数 K_a' 、酸のモル濃度 C_a 、水のイオン積 K_w' の値から解析的に求められる。酸の溶液に塩基が加えられるとした場合、以下の諸式が成り立つが、

$$[A^-] + [HA] = C_a \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$\frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a' \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$[H^+][OH^-] = K_w' \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$[H^+] + C_{base} = [OH^-] + [A^-] \quad \dots\dots\dots(4)$$

$[HA]$ は非解離型の酸のモル濃度、 $[A^-]$ は解離型の酸濃度、 C_{base} は塩基濃度である。

(2) 式から (5) 式が得られ、

$$[HA] = \frac{[H^+][A^-]}{K_a'} \quad \dots\dots\dots(5)$$

これを (1) 式に代入して整理すると (6) 式となり、

$$[A^-] = \frac{C_a K_a'}{K_a' + [H^+]} \quad \dots\dots\dots(6)$$

(6) 式、および (3) 式の関係 ($[OH^-] = K_w' / [H^+]$) を (4) 式に代入することにより、特定の水素イオン濃度における塩基濃度が求められる。

$$C_{base} = \frac{C_a K_a'}{K_a' + [H^+]} - [H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \quad \dots\dots\dots(7)$$

一方、緩衝能は (7) 式を pH について微分することにより求められるが、

$$\frac{dC_{base}}{dpH} = \frac{dC_{base}}{d[H^+]} \frac{d[H^+]}{dpH}$$

および

$$\frac{d[H^+]}{dpH} = -2.303 [H^+]$$

なので、緩衝能の理論式、 $\beta = dC_{base}/dpH$ は、

$$\begin{aligned} \frac{dC_{base}}{dpH} &= \frac{dC_{base}}{d[H^+]} \frac{d[H^+]}{dpH} \\ &= \left[\frac{-C_a K_a'}{(K_a' + [H^+])^2} - 1 - \frac{K_w'}{[H^+]^2} \right] (-2.303 [H^+]) \\ &= 2.303 \left[\frac{C_a K_a' [H^+]}{(K_a' + [H^+])^2} + [H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \right] \end{aligned} \quad \dots\dots\dots(8)$$

となる。なお、 $2.303 ([H^+] + K_w' / [H^+])$ の項は、水の緩衝能と呼ばれるものである。

一方、酢酸とトリスヒドロキシメチルアミノメタン (以下トリス) の混合系のように、複数の緩衝成分が存在する場合、以下に示すような諸式が成立する。

$$\frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_{a1}' \quad \dots\dots\dots(9)$$

$$\frac{[H^+][B]}{[HB^+]} = K_{a2}' \quad \dots\dots\dots(10)$$

$$[H^+][OH^-] = K_w' \quad \dots\dots\dots(11)$$

$$[HA] + [A^-] = C_{ace} \quad \dots\dots\dots(12)$$

$$[HB^+] + [B] = C_{tri} \quad \dots\dots\dots(13)$$

$$[H^+] + C_{base} + [HB^+] = [A^-] + [OH^-] \quad \dots\dots\dots(14)$$

ここで、 K_{a1}' 、 K_{a2}' はそれぞれ酢酸とトリスの濃度酸解離定数、 C_{ace} と C_{tri} は酢酸とトリスのモル濃度である。(9)式から(15)式が得られ、

$$[HA] = \frac{[H^+][A^-]}{K_{a1}'} \quad \dots\dots\dots(15)$$

これを (12) 式に代入して整理すると (16) 式が得られる。

$$[A^-] = \frac{C_{ace} K_{a1}'}{K_{a1}' + [H^+]} \quad \dots\dots\dots(16)$$

一方、(10) 式からは (17) 式が得られ、

$$[B] = \frac{K_{a2}' [HB^+]}{[H^+]} \quad \dots\dots\dots(17)$$

これを (13) 式に代入して整理すると (18) 式となる。

$$[HB^+] = \frac{C_{tri} [H^+]}{K_{a2}' + [H^+]} \quad \dots\dots\dots(18)$$

(11), (16), (18) 式を (14) 式に代入して C_{base} を求め、

$$C_{base} = \frac{C_{ace} K_{a1}'}{K_{a1}' + [H^+]} - \frac{C_{tri} [H^+]}{K_{a2}' + [H^+]} - [H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]}$$

さらに、pH について微分すると (19) 式が得られる。

$$\frac{dC_{base}}{dpH} = 2.303 \left[\frac{C_{ace} K_{a1}' [H^+]}{(K_{a1}' + [H^+])^2} + \frac{C_{tri} K_{a2}' [H^+]}{(K_{a2}' + [H^+])^2} \right] + 2.303 \left([H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \right) \quad (19)$$

(19) 式から、複数の緩衝成分が存在する場合、緩衝能には加成性が成り立つことがわかる。

コハク酸のような二塩基酸については、下記の (20) ~ (24) 式が成り立つ。

$$\frac{[H^+][HA^-]}{[H_2A]} = K_{a1}' \quad (20)$$

$$\frac{[H^+][A^{2-}]}{[HA^-]} = K_{a2}' \quad (21)$$

$$[H_2A] + [HA^-] + [A^{2-}] = C_a \quad (22)$$

$$[H^+][OH^-] = K_w' \quad (23)$$

$$[H^+] + C_{base} = [HA^-] + 2[A^{2-}] + [OH^-] \quad (24)$$

これらの諸式から、 C_{base} を求める (25) 式が得られ、

$$C_{base} = \frac{C_a (K_{a1}' [H^+] + 2K_{a1}' K_{a2}')}{[H^+]^2 + K_{a1}' [H^+] + K_{a1}' K_{a2}'} - [H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \quad (25)$$

(25) 式を pH について微分すると、理論式 (26) が得られる。

$$\frac{dC_{base}}{dpH} = \frac{2.303 C_a K_{a1}' ([H^+]^3 + 4K_{a2}' [H^+]^2 + K_{a1}' K_{a2}' [H^+])}{([H^+]^2 + K_{a1}' [H^+] + K_{a1}' K_{a2}')^2} + 2.303 \left([H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \right) \quad (26)$$

緩衝能の理論式は、一般には (27) 式で求められる¹³⁾。

$$\frac{dC_{base}}{dpH} = -2.303 [H^+] \frac{dC_{base}}{d[H^+]}$$

$$= 2.303 \left\{ \sum_{i=1}^M C_i [H^+] (w_i' a_i - w_i' a_i') a_i^{-2} \right\} + 2.303 \left([H^+] + \frac{K_w'}{[H^+]} \right) \quad (27)$$

ここで、

$$a_i = \sum_{q=0}^{m_i} k_{iq} [H^+]^{-q} \quad (\text{ただし } k_{i0}=1) \quad (28)$$

$$k_{iq} = \prod_{p=1}^q K_{ip}' \quad (29)$$

$$a_i' = \frac{da_i}{d[H^+]} \quad (30)$$

$$w_i = \sum_{q=0}^{m_i} (n_i - q) k_{iq} [H^+]^{-q} \quad (31)$$

$$w_i' = \frac{dw_i}{d[H^+]} \quad (32)$$

である。また、 M は系に含まれる緩衝成分の数、 C_i は第 i 緩衝成分の濃度、 n_i は第 i 緩衝成分の最大陽イオン価数 (例えば、コハク酸ではゼロ)、 m_i は第 i 緩衝成分のイオン種の数 (例えば、コハク酸では 2)、 K_{ip}' は第 i 緩衝成分の第 p 平衡の濃度酸解離定数であり、二塩基酸の場合、第 1 平衡は (20) 式のことを指す。

1-2. 滴定による緩衝能曲線の導出

理論緩衝能は (27) 式から得られるが、実際の食品では、緩衝成分の種類やその濃度が既知であることは稀であり、理論式を直接適用できる例は少ない。そのため、滴定曲線に引いた接線の傾きの逆数から食品の緩衝能を求めることになるが、これまで報告されてきた測定法では、系に存在する緩衝成分よりもかなり高い濃度の塩基を用いて、希釈の影響が最小となるように配慮していることが多かった¹⁰⁾。一方、ビュレットを用いて滴定中の pH 変化から緩衝能を求める場合には、ビュレットの読み取り精度を考慮すると、滴定に用いる塩基 (または酸) 溶液はある程度希薄であることが望ましく、その場合、滴定にともなう液量の増加が無視できず、滴定曲線を直接数値微分しても真の緩衝能曲線

とはならない。したがって、滴定により緩衝能を求めるには、滴定にともなう液量増加の影響を考慮する必要がある。液量増加を考慮した一塩基酸の緩衝能は、塩基として水酸化ナトリウムを滴下する場合、以下のように求められる。

$$[\text{HA}] + [\text{A}^-] = C_{\text{ai}} \frac{V_i}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots(33)$$

$$[\text{Na}^+] = C_{\text{NaOH}} \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots(34)$$

$$\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K_{\text{a}}' \dots\dots\dots(35)$$

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_{\text{w}}' \dots\dots\dots(36)$$

$$[\text{H}^+] + [\text{Na}^+] = [\text{OH}^-] + [\text{A}^-] \dots\dots\dots(37)$$

ここで、 C_{ai} は酸の初濃度、 V_i は被滴定液の開始液量、 V_{NaOH} は滴定量、 $[\text{Na}^+]$ は被滴定溶液中のナトリウムイオン濃度（水酸化ナトリウムは完全に解離するものと扱った）、 C_{NaOH} は滴定に用いた水酸化ナトリウム溶液の濃度である。(33)、(35) 式から (38) 式が得られ、

$$[\text{A}^-] = \frac{K_{\text{a}}'}{K_{\text{a}}' + [\text{H}^+]} C_{\text{ai}} \frac{V_i}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \dots\dots\dots(38)$$

(34)、(36)、(38) 式を (37) 式に代入して整理すると、(39) 式となる。

$$\begin{aligned} \frac{C_{\text{NaOH}} V_{\text{NaOH}}}{V_i} = & \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \\ & + \frac{C_{\text{ai}} K_{\text{a}}'}{K_{\text{a}}' + [\text{H}^+]} \dots\dots\dots(39) \end{aligned}$$

滴定にともない変化する V_{NaOH} を $[\text{H}^+]$ について微分すると (40) 式が得られ、

$$\begin{aligned} \frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d[\text{H}^+]} = & \frac{-C_{\text{ai}} K_{\text{a}}'}{(K_{\text{a}}' + [\text{H}^+])^2} \\ & + \frac{1}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d[\text{H}^+]} \\ & - \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]^2} + 1 \right) \dots\dots(40) \end{aligned}$$

また、 $d[\text{H}^+]/d\text{pH} = -2.303[\text{H}^+]$ であるから、

$$\frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d\text{pH}} = \frac{2.303 C_{\text{ai}} K_{\text{a}}' [\text{H}^+]}{(K_{\text{a}}' + [\text{H}^+])^2}$$

$$\begin{aligned} & + \frac{1}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d\text{pH}} \\ & + 2.303 \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} + [\text{H}^+] \right) \end{aligned}$$

となり、上式を変形すると (41) 式が得られる。

$$\begin{aligned} 2.303 \left[\frac{C_{\text{ai}} K_{\text{a}}' [\text{H}^+]}{(K_{\text{a}}' + [\text{H}^+])^2} + [\text{H}^+] + \frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} \right] = \\ \frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d\text{pH}} - \frac{1}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d\text{pH}} \\ - 2.303 \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} + [\text{H}^+] \right) \dots\dots\dots(41) \end{aligned}$$

(41) 式の左辺は緩衝能を求める理論式であり、したがって、pH 測定から求められる水素イオン濃度、滴定に用いた水酸化ナトリウム濃度、被滴定液の開始液量、および滴定間隔 (dV_{NaOH}) ごとの pH 変化量 ($d\text{pH}$) を右辺に代入することにより、特定の pH における実測の緩衝能値を求めることができる。前報では、(41) 式右辺の項、

$$- \frac{1}{V_i} \left(\frac{K_{\text{w}}'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) \frac{dV_{\text{NaOH}}}{d\text{pH}}$$

が欠如していたが¹²⁾、多くの食品で緩衝能が発現する pH 領域においては、 $(K_{\text{w}}'/[\text{H}^+]-[\text{H}^+])$ の項は無視できる値であるため、実用上の問題は少なかった。

また、コハク酸などの多塩基酸の緩衝能理論式についても (41) 式が成り立つことは、上記と同様な計算をすれば確かめられる。なお、(41) 式の右辺から $2.303 ([\text{H}^+] + K_{\text{w}}'/[\text{H}^+])$ の値を差し引けば、水の緩衝能を除いた緩衝成分に由来する緩衝能を求められる。

1-3. イオン強度による濃度酸解離定数の補正

水酸化ナトリウム溶液を滴下して緩衝能曲線を求める場合、系にナトリウムイオンが加えられること、また、被滴定溶液の pH 変化にともない、緩衝成分のイオン種の状態にも変化が生じることから、系のイオン環境も pH とともに変化することになる。そのため、実測の緩衝能

曲線と理論緩衝能曲線との比較にあたっては、イオン強度の変化にともなう濃度酸解離定数変動の影響を考慮して理論緩衝能曲線を求める必要がある。あるイオン強度における濃度酸解離定数の値は、活量係数をもとに (44) 式で求められるが、活量係数は下記の式で見積もられる¹³⁾。

$$\gamma = \frac{(C)}{[C]} = 10^{-z^2 N} \dots\dots\dots (42)$$

ここで、 γ は活量係数、 (C) はイオン種の活量、 $[C]$ はイオン種のモル濃度（正確にはモル濃度を 1mol/dm^3 で除したもの）、 z はイオン種の価数、 N は、次式で定義されるイオン強度 I の関数である¹³⁾。

$$\frac{0.509\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - 0.1I \dots\dots\dots (43)$$

濃度酸解離定数 K_{aj}' と熱力学的酸解離定数 K_{aj} との間には、各イオン種の活量係数を介して下記の関係が成り立つ。

$$\begin{aligned} K_{aj}' &= \frac{[C_j][H^+]}{[C_{j-1}]} = \frac{(C_j)(H^+)}{(C_{j-1})} \frac{\gamma_{j-1}}{\gamma_j \gamma_h} = K_{aj} \frac{10^{-z_{j-1}^2 N}}{10^{-z_j^2 N} 10^{-N}} \\ &= K_{aj} \frac{10^{-(n-j+1)^2 N}}{10^{-(n-j)^2 N} 10^{-N}} = K_{aj} 10^{2(j-n)N} \dots\dots (44) \end{aligned}$$

ここで、 γ_{j-1} および γ_j は、平衡に関わるイオン種の活量係数（中性分子の活量係数は 1 とする）、 γ_h は水素イオンの活量係数、 $z_j = n - j$ (n は陽イオン最大荷電数、 j は平衡式の序数で $j \geq 1$) である。例えば、コハク酸のような二塩基酸の平衡の場合、陽イオンの最大荷電数 n はゼロで、 $j=1$ は平衡式 (20)、 $j=2$ は平衡式 (21) に相当する。また、その場合、 C_0 は分子種 H_2A を、 C_1 はイオン種 HA^- を、 C_2 は A^{2-} をそれぞれ表す。同様に、酢酸のような一塩基酸では、 $n=0$ 、 $j=1$ なので、 $K_{a1}' = K_{a1} 10^{2N}$ となる。一方、トリスの濃度酸解離定数については、 $n=1$ 、 $j=1$ なので、 $K_{a1}' = K_{a1}$ となり、 C_0 はプロトン化型の HB^+ を、 C_1 は中性の分子種 B を表す。

2. 実験方法

2-1. 試薬類

コハク酸、クエン酸、トリスヒドロキシメチルアミノメタン、容量分析用 0.2 M 酢酸、0.1 M および 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液は、和光純薬製のものをそのまま使用した。

2-2. 滴定による緩衝能曲線の測定

実測緩衝能曲線を求めるための滴定は、0.1 M または 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液を入れた 50 mL 容量のビュレットの先端にシリコンチューブ（外径 3 mm、内径 1 mm）を接続し、ローラーポンプ（GILSON Minipuls2）を用いて 0.2 mL/min の流速で行った。シリコンチューブの他端には外径 1.5 mm、内径 0.8 mm、長さ 220 mm のステンレスチューブを挿入し、ステンレスチューブの先端は被滴定溶液中に浸るようにして滴定液を注入した。外部恒温槽（アドバンテック IMMERSION CIRCULATOR LP-3110）から 25℃ に設定した水を循環させた 100 mL 容量の二重ビーカーに、所定の濃度に調整した各被滴定液 20 mL を入れ、攪拌しながら一定滴定間隔ごとに被滴定液の pH を 0.001 pH 単位まで読み取った（METTLER TOLEDO MP230）。被滴定液の pH が 2 よりも高い場合には、濃塩酸を用いて pH を 2 程度に調整後、所定の濃度に希釈してから滴定を開始した。予備実験の結果から、滴定に用いる水酸化ナトリウム濃度は被滴定液の濃度と同等か 2 倍程度濃いものを用い、0.5 mL 滴定するごとに pH の読み取りを行うこととした。また、滴定曲線の数値微分と平滑化は、前報に従って中心差分法および 7 点法で行った¹²⁾。滴定曲線の数値微分と平滑化、および後述する活量係数を考慮した理論緩衝能曲線を求めるのに必要な pH ごとの各イオン種濃度やイオン強度などの計算は、Microsoft Excel 2007 を用いて行った。なお、(41) 式の

右辺の計算を行って実測の緩衝能を求めるには、水素イオンのモル濃度が必要であるが、pH メーターの示度値は水素イオン活量の逆数の対数値であり、活量係数を用いて水素イオン濃度に変換する必要がある。しかしながら、実際の食品では、先述のように系のイオン環境が不明であることが多く、実用上の観点から、pH 示度値から $10^{-\text{pH}}$ で求められる値をそのまま水素イオン濃度として扱うこととした。

2-3. 活量係数を考慮した理論緩衝能曲線

理論緩衝能値は、pH2 から 0.1pH 間隔で pH12 まで求めることとした。イオン環境の変化を考慮した理論緩衝能曲線の導出にあたっては、pH ごとに各イオン種の濃度を求め、その値をもとにして得られるイオン強度と活量係数から濃度酸解離定数を補正する必要がある、例えば酢酸のような一塩基酸の場合、pH 値ごとに (3), (6), (7) 式から関係するイオン種の濃度、およびそれらの値からイオン強度を求め、濃度酸解離定数の活量係数による補正を行った。その際、各 pH 値から $10^{-\text{pH}}$ で求められる値は、実測の緩衝能曲線を求める際には水素イオン濃度として扱ったが、濃度酸解離定数を補正した理論曲線の導出にあたっては、水素イオン活量とし、活量係数を適用して水素イオンおよび水酸化物イオンのモル濃度に変換した。実際の補正は、1 ステップ前の各イオン種成分のモル濃度からイオン強度を算出して行った。なお、モル濃度を用いた水のイオン積は下記の式によって、

$$K_w' = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = \frac{(\text{H}^+)}{\gamma_{\text{H}}} \frac{(\text{OH}^-)}{\gamma_{\text{OH}}} = K_w 10^{2N} \quad \dots(45)$$

熱力学的な水のイオン積の値と関連づけられるが、 K_w' としては 25°C における熱力学的な水のイオン積の値 1.00×10^{-14} をそのまま用いると、実測緩衝能曲線との一致性が向上したので、今回は、(45) 式による補正は行わなかった。これは、(41) 式の右辺から実測の緩衝能を求め

るには、本来ならば水素イオン濃度を用いるべきであるが、上述のように実用上の観点から、pH メーターの示度値をそのまま水素イオン濃度として使用したためと考えられた。

ところで、今回の滴定の実施にあたっては、「2. 実験方法 2-2.」にも記載したように、初期 pH を 2 程度に調整してから水酸化ナトリウム溶液による滴定を開始することとしたが、例えば、0.1 M 酢酸溶液の初期 pH を塩酸で 2 に調整する場合、調整に必要な塩化物イオン濃度を $[\text{Cl}^-]_{\text{int}}$ とし、(34), (36), (38) 式、および電気的中性の条件から (46) 式の関係が得られ、

$$[\text{H}^+] + C_{\text{NaOH}} \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_i + V_{\text{NaOH}}} = [\text{Cl}^-]_{\text{int}} \frac{V_i}{V_i + V_{\text{NaOH}}} + \frac{K_w'}{[\text{H}^+]} + \frac{K_a'}{K_a' + [\text{H}^+]} C_{\text{ai}} \frac{V_{\text{NaOH}}}{V_i + V_{\text{NaOH}}} \quad \dots\dots\dots(46)$$

(46) 式を整理すると (47) 式となり、

$$\frac{C_{\text{NaOH}}}{V_i} V_{\text{NaOH}} = [\text{Cl}^-]_{\text{int}} + \frac{V_i + V_{\text{NaOH}}}{V_i} \left(\frac{K_w'}{[\text{H}^+]} - [\text{H}^+] \right) + \frac{C_{\text{ai}} K_a'}{K_a' + [\text{H}^+]} \quad \dots\dots\dots(47)$$

(47) 式の V_{NaOH} を $[\text{H}^+]$ (あるいは pH) について微分すると、 $[\text{Cl}^-]_{\text{int}}$ の項はゼロとなるので、緩衝能曲線におよぼす直接の影響はないことがわかる。一方、活量係数を考慮した理論緩衝能曲線を導出するにあたって、初期 pH 調整に必要な塩化物イオン濃度は、初期塩基濃度をゼロとした電気的中性条件に (3), (6) 式を代入して得られる (48) 式の $[\text{H}^+]$ に、

$$[\text{Cl}^-]_{\text{int}} = -\frac{C_{\text{ai}} K_a'}{K_a' + [\text{H}^+]} + [\text{H}^+] - \frac{K_w'}{[\text{H}^+]} \quad \dots\dots\dots(48)$$

pH2 に相当する 10^{-2} を代入することで見積もり、その値とその時の酢酸イオンなどの濃度から濃度酸解離定数の補正を行った。

3. 結果および考察

滴定にともなうイオン環境の変化を熱力学的酸解離定数値に反映させた理論緩衝能曲線と実測の緩衝能曲線を比較した結果を図1～図4に示した。図1は一塩基酸の0.1 M 酢酸を0.1 M 水酸化ナトリウム溶液で滴定した結果である。図中の「理論曲線1」が、酢酸の熱力学的酸解離定数として 1.74×10^{-5} を用いたもの¹⁴⁾、「理論曲線2」が pH ごとにイオン強度を求め、(44)式にもとづいて熱力学的酸解離定数を補正したものである。一方、0.1 M 酢酸溶液 20 mL の入った容器にビュレットから0.1 M 水酸化ナトリウム溶液を 0.2 mL/min の流速で攪拌しながら滴定し、0.5 mL 滴定するごとに pH 値を読み取り、その時の水素イオン濃度や滴定量を (41) 式の右辺に代入して求めたのが実測緩衝能曲線(「実測曲線」)である。これらの凡例は、図2～図4まで同じである。

酢酸のような一塩基酸の場合、(8)式をさらに微分し、ゼロとなる水素イオン濃度を求めれば明らかのように、酢酸の酸解離定数の逆数の対数値 $[pK_a = \log(1/K_a)]$ である pH4.7～4.8 付近で緩衝能は最大となるが、実測の緩衝能曲線では若干酸性側に移動していた。一方、熱力学的酸解離定数におよぼすイオン強度の影響を考慮した理論曲線2のピークは、ほぼ実測曲線と

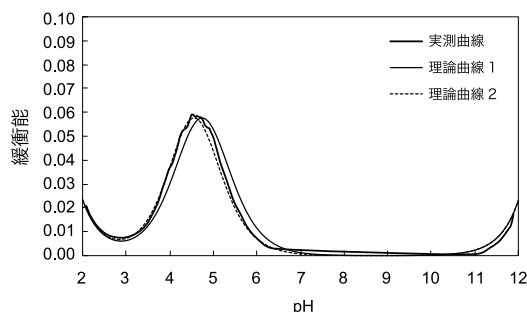


図1 0.1M 酢酸溶液の緩衝能曲線

一致するものであった。従来の緩衝能測定法においても、理論曲線と実測曲線の比較には酢酸溶液が用いられることが多く^{1, 15)}、この程度の差は問題とならなかったり、あるいは系のイオン強度を推定し、いわゆる実用酸解離定数を求めて理論緩衝能曲線を導出したりするために、一致性が良いものになったと考えられた¹⁶⁾。

図2は系に複数の緩衝能成分が存在することを想定して、0.1 M 酢酸と0.1 M トリスを含む混合溶液の緩衝能曲線について検討した結果である。この場合も、理論曲線1の最大値は、酢酸の pK_a 値である pH4.7 と トリスの pK_a 値 (トリスの酸解離定数値: 8.71×10^{-9}) である pH8.1 付近に存在した¹⁴⁾。実測緩衝能曲線も pH4.6 と 8.2 付近に最大値が存在し、2つのピークの高さもほぼ同じで、加成性が成り立つことが示された。一方、酢酸単独の時と同様、酢酸由来のピーク位置は理論曲線よりも若干酸性側に移動しているのに対し、トリス由来のピーク位置は理論値よりも若干塩基性側に移動していた。酢酸-トリス系の場合も、活量係数を用いて酸解離定数を補正した場合は、図のように両者は非常によく一致するようになった。

次に、一つの緩衝成分が複数の解離基を有する場合を想定し、二塩基酸のコハク酸を用いて検討した。コハク酸の酸解離定数として 6.17×10^{-5} ($pK_1=4.21$) と 2.29×10^{-6} ($pK_2=5.64$) を用いた¹⁴⁾。図3は0.1 M コハク酸溶液

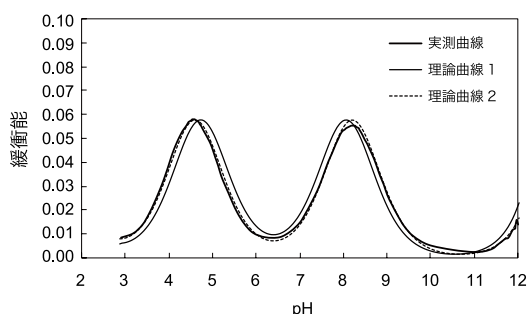


図2 0.1M 酢酸-0.1M トリスヒドロキシメチルアミノメタン混合溶液の緩衝能曲線

を 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液で滴定して緩衝能曲線を求めた結果である。酢酸や酢酸-トリリス系では実測緩衝能曲線と熱力学的酸解離定数をそのまま用いた理論曲線の乖離は少ないものであったが、コハク酸の場合は、図から明らかのように理論曲線 1 と実測曲線との乖離は著しかった。二塩基酸以上の場合、緩衝能が最大となる pH 値と酸解離定数の間には、一塩基酸のような単純な関係はなく、理論曲線 1 では pH4.4 と pH5.4 に緩衝能のピークを有する曲線となったが、実測曲線では 2 つのピークが近接して一つのなだらかな曲線となった。一方、熱力学的酸解離定数を補正した理論曲線 2 は、実測曲線とほぼ一致するようになった。今回は、二塩基酸としてコハク酸を用いたが、同様の結果はリンゴ酸についても得られている。さらに、三塩基酸としてクエン酸 (0.1 M) を 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液で滴定した場合についても検討し、その結果を図 4 に示した。クエン酸の酸解離定数としては、 7.41×10^{-4} ($pK_1=3.13$), 1.74×10^{-5} ($pK_2=4.76$), 3.98×10^{-7} ($pK_3=6.40$) を用いた¹⁴⁾。理論曲線 1 では、pH3.1, 4.7, 6.3 付近にピークが存在したが、実測曲線ではピークは 3 ヶ所に認められたものの、全体的に酸性側に移動し、ピークの高さも理論値よりも高かった。酸解離定数を補正した理論曲線 2 は、コハク酸の時と同様、実測曲線とよく一致するようになった。

今回、結果としては示していないが、塩基性

領域にも解離基を有する三塩基酸として、リン酸についても検討したところ、酸性および中性 pH 領域では、クエン酸と同様、活量係数を用いて熱力学的酸解離定数を補正することで、一致性が向上したが、塩基性領域ではずれが残り、非解離型分子種にスクロースの実測の活量係数を適用することで¹⁷⁾、一致性を向上させることができた。一方、アミノ酸のグリシンやグルタミン酸では、活量係数による熱力学的解離定数の補正のみでは実測曲線との一致性を改善できないこともあったが、等電点型の分子種にも活量係数を適用したり¹³⁾、2 価イオンの理論活量係数に対する補正を行ったりすることにより¹⁸⁾、実測曲線との一致性を高めることができた。

緩衝能の理論式は (27) 式で求められ、本来ならば、実測曲線を補正して理論曲線に近づけるべきではあるが、実際の食品の緩衝成分の種類や濃度が明確なことはほとんどなく、実測曲線の補正は事実上困難である。そこで、pH ごとにイオン強度を求め、活量係数による熱力学的酸解離定数の補正を施した理論緩衝能曲線を作成し、実測曲線との比較を行うこととした。その結果、図 1～図 4 に示したように、特に、二塩基酸や三塩基酸において、実測曲線と理論曲線との一致性が改善された。従来、実測緩衝能曲線による食品中の緩衝成分の同定・定量は、緩衝成分の熱力学的酸解離定数をもとにして行われることが多かったが、今回のような測定条件のもとでは、特に、緩衝成分が複数の解離基

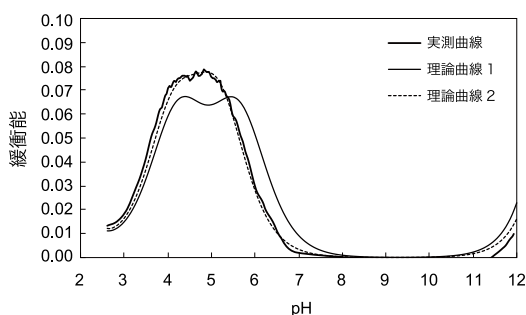


図 3 0.1M コハク酸溶液の緩衝能曲線

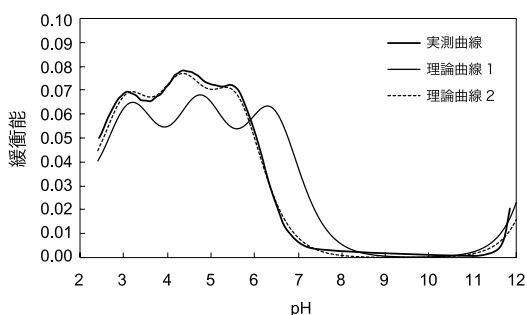


図 4 0.1M クエン酸溶液の緩衝能曲線

を有する場合など、実測曲線との乖離が著しく、理論緩衝能曲線との比較から解離基成分に関する情報を得ることには問題が残ると考えられる。今後は、イオン環境の再現性という点で完全とは言えないまでも、食品に含まれる緩衝成分を予測し、それらの実測の緩衝能曲線を規格化し（標準緩衝能曲線）、標準緩衝能曲線を組み合わせることによって、食品中の緩衝成分について考察していく必要があると思われる。なお、系に高濃度の中性塩を加えてイオン強度が一定と見なせるような条件で測定すれば、イオン環境の再現性についても改善できるものと考えられる。

現在、著者は種々の標準物質の緩衝能曲線を測定し、それらを規格化したデータベースをもとに、重回帰分析による食品中の緩衝成分の同定・定量法について検討している。

おわりに

滴定による、簡便で正確な緩衝能測定法について検討した。所定の濃度に調整した被滴定

液 20 mL を 0.1 M または 0.2 M 水酸化ナトリウム溶液を用いて滴定し、0.5 mL 滴定するごとに 0.001pH 単位まで pH を読み取り、中心差分法による数値微分を行って実測緩衝能曲線を得た。

熱力学的酸解離定数を適用して得られる理論緩衝能曲線と実測曲線とを比較したところ、酢酸のような一塩基酸、あるいは酢酸 - トリスヒドロキシメチルアミノメタン混合系においては、両者はほぼ一致したが、コハク酸のような二塩基酸やクエン酸のような三塩基酸では、理論曲線との乖離が著しかった。その原因として、滴定にともなうイオン環境の変化を理論曲線導出に反映させないためと考え、活量係数による熱力学的酸解離定数の補正を行ったところ、得られた理論緩衝能曲線は実測曲線とよく一致するようになった。

滴定にともなう希釈の影響が無視できない場合、緩衝能曲線による食品中の緩衝成分の同定・定量は、緩衝成分の実測曲線に基づいて行われることが望ましいと考えられた。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Van Slyke, D.D.: On the Measurement of Buffer Values and on the Relationship of Buffer Value to the Dissociation Constant of the Buffer and the Concentration and Reaction of the Buffer Solution, *J. Biol. Chem.*, **52**, 525-570, 1922.
- 2) 辻啓一：食品と緩衝能曲線, *New Food Industry*, **27**(10), 51-59, 1985.
- 3) 星祐二：食品の緩衝能－理論と応用－, 宮城学院女子大学生生活環境科学研究所研究報告, **34**, 1-15, 2002.
- 4) 伊東清枝, 木名瀬美智子：味噌汁の調理について（第一報）, 家政学雑誌, **8**, 209-212, 1957.
- 5) 伊東清枝：味噌に関する調理学的研究（第2報）味噌の品位と緩衝能, 家政学雑誌, **14**, 5-7, 1963.
- 6) 辻啓一, 竹尾忠一：緑茶の緩衝能曲線, 農化誌, **57**, 461-463, 1983.
- 7) 梅津雅裕, 藪木聡博, 佐藤友清：清酒の緩衝能に関する研究（第1報）清酒成分の分別とそれら成分の示す緩衝能について, 醸工, **7**, 529-537, 1968.
- 8) 宮川金二郎, 難波敦子：食品の緩衝能, *New Food Industry*, **33**(4), 65-76, 1991.
- 9) Lehmann, G.: Die Messung der Pufferung, *Biochemische Zeitschrift*, **133**, 30-45, 1922.
- 10) Tsuji, K: β -Titrator, a Device for Direct Recording of Buffer Capacity Curves: I. Theory and Apparatus, *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 677-682, 1982.
- 11) Yamano, H., Miyagawa, K.: Buffer Capacity Curves of Green Tea Extracts Using a Personal Computer with Numerically Treated Online Software, *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **3**, 69-73, 1997.
- 12) 星祐二：簡便な緩衝能曲線測定法について－シミュレーション－, 宮城学院女子大学生生活環境科学研究所研究報告, **35**, 7-14, 2003.
- 13) Okamoto, H., Mori, K., Ohtsuka, K., Ouchi, H., Ishii, H.: Theory and Computer Programs for Calculating Solution pH, Buffer Formula, and Buffer Capacity for Multiple Component System at a Given Ionic Strength and Temperature, *Pharmaceutical Research*, **14**, 299-302, 1997.
- 14) ペリン, D. D., デンプシー, B. 著, 辻啓一訳：付録Ⅲ緩衝剤となりうる化合物の熱力学的 pK_a 値, 緩衝液の選択と応用 水素イオン・金属イオン, 三木章, 東京, 講談社サイエンティフィク, 156-162, 1981.
- 15) 宮川金二郎, 難波敦子：食品の緩衝能曲線とその利用, 表面, **29**, 646-652, 1991.
- 16) ペリン, D. D., デンプシー, B. 著, 辻啓一訳：緩衝作用の理論, 緩衝液の選択と応用 水素イオン・金属イオン, 三木章, 東京, 講談社サイエンティフィク, 4-25, 1981.
- 17) 坪村 宏：電解質溶液の熱力学, 新物理化学（上）, 塩田博幸, 京都, 化学同人, 197-236, 1994.
- 18) Chang, R. 著, 岩澤康裕, 北川禎三, 濱口宏夫訳：電解質溶液, 化学・生命科学系のための物理化学, 小澤美奈子, 東京, 東京化学同人, 156-188, 2003.

過熱蒸気を熱源とする 減圧噴霧乾燥機（VSD）の構築

北村 豊^{*1} 山野 善次^{*2} 山崎 和彦^{*3}

^{*1} KITAMURA Yutaka（筑波大学 生命環境科学研究科）

^{*2} YAMANO Yoshitsugu, ^{*3} YAMAZAKI Kazuhiko（田辺工業株式会社）

Key Words：減圧噴霧乾燥・過熱蒸気・食品加工・保存食品・長期保存・粉体・乳酸菌

はじめに

乾燥は食品の長期保存や加工運搬に必要な不可欠な単位操作である。乾燥には、熱の供給方法や周囲の気体の状態により様々な技術が知られている¹⁾。本稿で紹介する減圧噴霧乾燥機（Vacuum Spray Dryer, 以下 VSD）は、対流熱風乾燥の一つである噴霧乾燥機（Spray Dryer, 以下 SD）を基盤として開発したものである。SD は一般に乾燥塔内における高温気流中に液状物質を噴霧して、瞬間的に乾燥する方法であり²⁾、液状素材から直接粉粒が得られる、連続・大量生産が可能である等の長所が挙げられる³⁾。そのため、全脂・脱脂粉乳やインスタントコーヒー、粉末油脂、粉末調味料、粉末果汁などの食品にとどまらず、ファインセラミックス、超合金や顔料、染料、有機化合物、無機化合物、医薬品など広範囲な産業素材の造粒製造設備として採用されている。しかし、SD では水の沸点である 100℃以上の熱風が使用されることから、生成された粉粒は乾燥塔やサイクロンでしばしば高温にさらされる。そのため熱変性を起こしやすい成分たとえばプロバイオティクス（有用菌）、ビタミン、酵素、芳香物質などを含む素材の噴霧乾燥では、タンパク・脂質の変性、揮発成分の散逸など、望ましくない変

化の起きる可能性がある⁴⁾。これら感熱性素材を SD 乾燥する場合には、熱風温度を低めに設定する場合もあるが、乾燥塔壁面への製品付着とそのロス、不均一な乾燥等の問題を伴うことが指摘されている⁵⁾。

一方、食品の乾燥において品質的見地から見て理想的な方法として、凍結乾燥機（Freeze Dryer, 以下 FD）が知られている²⁾。この乾燥法は、材料を -30℃以下で凍結し、真空下で氷から蒸気に昇華させ乾燥する方式である。これにより、材料の熱劣化、香气成分の散失、酵素の失活などを受けにくい、復水により乾燥前の状態に戻りやすい多孔質の乾燥製品を得られる等の特長が得られる。しかし、FD は低温乾燥を行うため乾燥速度が非常に小さく、乾燥に長い時間と多量のエネルギーを要する、温度制御が難しい、運転費・設備費のコストが高いといった欠点も知られている⁶⁾。

これに対して著者らは、これら SD と FD の長所を併せ持つ乾燥機として、VSD を考案した。VSD は、乾燥塔内を減圧（真空）にすることで蒸気圧（蒸発温度）を低下させ、乾燥時の製品温度上昇を抑えることが出来る。例えば、水分蒸発温度は乾燥塔内圧 5 kPa で 33℃、10 kPa で 48℃となるので、乾燥製品が熱変質せず、

また酸素がほとんど存在しないので酸化も生じにくい。以上3つの乾燥機の特徴は、表1のようまとめられる。処理量，エネルギー効率，設備費については後段で触れる。

1. 過熱蒸気利用型 VSD

VSD において乾燥塔内は減圧状態に保たれているため，伝導伝熱の媒体となる空気が希薄である。従って VSD における乾燥の主要な熱源として，放射伝熱を行う遠赤外線ヒータを適用した⁷⁾。しかし遠赤外線ヒータは，スケールアップに伴う蒸発量の向上を目指して出力を上げると，装置内に残留する乾燥粉体を焦がすことがあった。ヒータの表面積あたりの出力(ワット密度)を適正に制御できれば VSD 熱源としての遠赤外線ヒータの適用性は向上すると思われるが，その形状や耐久性などさらに検討が必要である。そこで VSD のスケールアップに実用的な方法として，電気ヒータで加熱した高温の飽和水蒸気を利用する過熱蒸気加熱の導入を検討した⁸⁾。過熱蒸気とは，100℃で蒸発した飽和蒸気をさらに過熱した熱放射性的の水ガスであり，加熱，焼成，焙煎，炭化，殺菌等の様々な用途で使用できることから，食品加工・工業製品への応用など多分野で注目を集めている熱

源である⁹⁾。

過熱蒸気利用の利点は以下のとおりである。

1. 過熱蒸気は同じ熱量を与える際に，蒸気の温度と供給量の2つの組み合わせで調整できるので，処理能力の制御に容易に対応できる。
2. 過熱蒸気の導入により与えられる激しい気流は，乾燥塔内壁への乾燥物の付着防止とサイクロンにおける粉体の分級に有効である。

図1に過熱蒸気利用型 VSD のシステムフローを，図2に VSD の装置構成イメージを示す。定量ポンプを通じて送られる原料液は2流体ノズルにより蒸発缶内に噴霧される。2流体ノズルは原液の微粒化に圧縮空気を用いるため，1流体ノズルと比較して蒸発缶の真空度の維持には不利であるが，高压ポンプ・配管が不要である，10～50 μm のより微細化した液滴が得られる，維持管理が容易であるなどの利点が認められる。2流体ノズルから噴霧された液滴は，電気ヒータを経由して蒸気ノズルから噴出された過熱蒸気と接触して熱交換が行われる。液滴の水分蒸発に要する潜熱は，過熱蒸気の顕熱により供給されるので，乾き空気に比べて熱容量が高い過熱蒸気は，単位容量あたりより多くの熱量を供給することが可能である。ここで用いられる過熱蒸気の温度は190℃と高温であるが，通常液滴は絶乾状態まで瞬時に乾燥

表1 主要な食品向け乾燥機の特徴

	VSD	SD	FD
熱源	過熱蒸気	熱風	冷凍
熱源温度	150～250℃	200～400℃	-40℃以下
品温	33～48℃	100℃以上	-40℃
運転圧力	5～10kPa	大気圧以下	4Pa
運転方式	連続運転	連続運転	バッチ運転
	間欠排出（機構は複雑）		間欠排出（機構は単純）
熱変質	少	多	少
酸化	少	多	少
処理量	少	多	少
粉碎工程 ^注	不要	不要	必要
エネルギー効率	小	大	小
設備費	中	安価	高価

注：粉碎工程は製品を粉末として取り扱う場合

することはないので、製品温度は蒸発缶の真空度約 5 kPa に対応する飽和蒸気温度 33℃以上の温度にはならない。なお真空ポンプにより減圧される蒸発缶本体も、ジャケット式の温水循環により所定の温度に保持される。乾燥粉粒は、飽和蒸気の流れに乗って蒸発缶から排出される

ことから、第一または第二のサイクロンで完全に捕集される。なお乾燥粉末の蒸発缶内壁への付着防止やサイクロンにおける分級の為に多量の空気や窒素を使用すると真空ポンプが大きくなり取り扱いが非常に困難になる。しかし過熱水蒸気であればコンデンサーで冷却して水とし

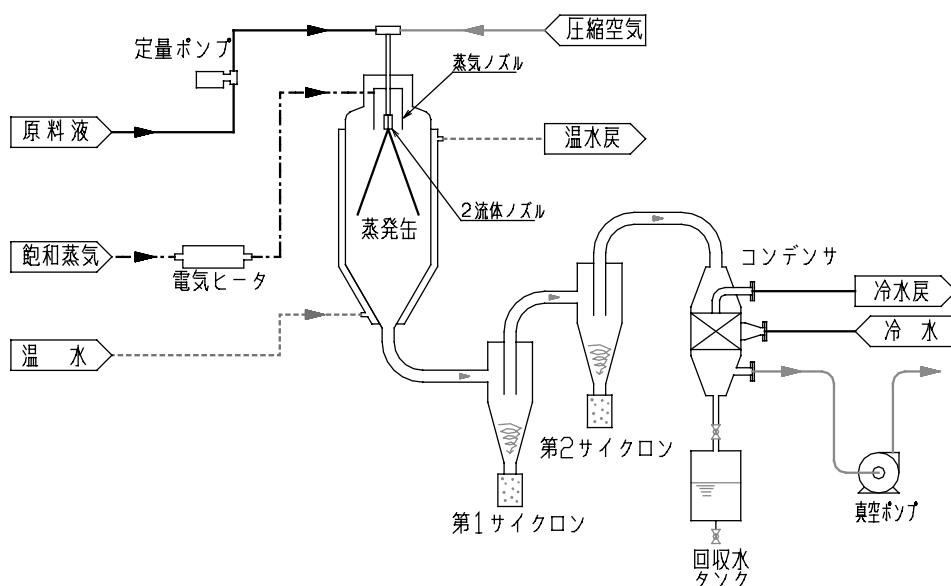


図1 過熱蒸気利用型 VSD のシステムフロー

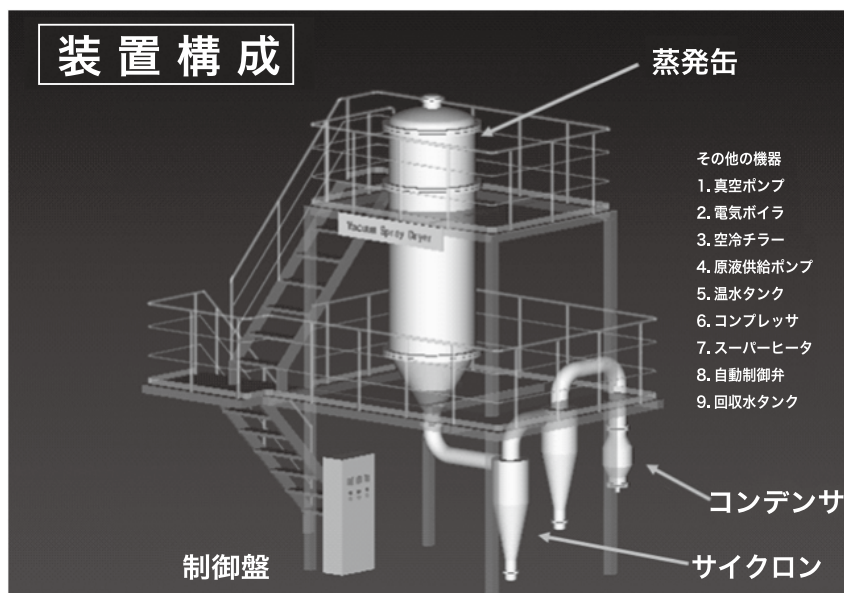


図2 過熱蒸気利用型 VSD の装置構成イメージ

て回収することにより容積を大きく減ずることができるので、真空ポンプが小型化でき真空度の維持が容易になる。ただしこの場合、蒸気凝縮のためのエネルギー消費すなわち蒸気潜熱の排熱化の問題は残っている。

2. 過熱蒸気利用型 VSD における乾燥特性

乳製品系液体試料を用いて、VSD による粉末化試験を行った。VSD 乾燥における運転パラメータ値を表 2 に示す。温度約 155℃の過熱蒸気が、圧力約 0.30 MPa、流量 37 ~ 41 kg/h で、真空度 5.2 ~ 5.5 MPa の蒸発缶内に供給される。原料の送液量は約 1.3 L/h としたが、これは従来の遠赤外線加熱器（約 300 W）を採用する VSD の処理量の約 6.5 倍である。これに対して乾燥塔内の温度は、蒸気供給口から離れるにつれて 57 ~ 66℃（蒸発缶上部）から約 50℃（蒸発缶出口）にまで低下し、また蒸発缶のジャケットの温水は 45℃前後に維持されたことから、粉末がこれらの温度以上の高温にさらされることは全くなかった。なお固形分濃度

25 wt% の材料については 2 時間近い運転を行うことができたが、固形物 38 wt% に調整した試料は、運転途中でスプレーノズルの目詰まりが観察され、運転を休止した。固形率の高い材料の噴霧に対応できるノズルの採用が今後の課題の一つといえる。

二種類の食品素材の VSD 乾燥における物質収支を表 3 に示す。表中の粉体捕集量の中でも、サイクロン自然体積は、写真 1 に示すように製品として容易に捕集できる粉末である。脱脂粉乳還元液については、原料送液量の固形分基準で約 42% の粉末がここで回収されたのに対して、無糖濃縮乳では 10% しか回収されなかった。一方、サイクロンに付着する形で回収された粉末は、脱脂乳還元液で 15% であったのに対して、無糖練乳では 46% となった。これは原料中の脂肪分の有無によるものと考えられる。しかし、蒸発缶あるいは配管中における付着量に大きな差異は存在しないこと、サイクロン付着粉末は装置の改良により製品として捕集可能であることから、今後の改良により脂肪含有原料への適用性に問題はないと考えている。なおロス分は

表 2 VSD 運転パラメータ

		実験 1			実験 2		
		最高	最低	平均	最高	最低	平均
過熱蒸気噴出温度	℃	158.4	156.9	157.6	159.6	153.6	156.8
過熱蒸気供給圧力	MPa	0.29	0.27	0.28	0.29	0.27	0.28
過熱蒸気供給量	kg/h	41.1	38.3	39.9	41.2	37.5	39.8
蒸発缶内真空度	kPa	5.56	5.36	5.45	5.53	5.19	5.38
蒸発缶ジャケット温水温度	℃	45.1	44.6	44.8	45.0	44.5	44.8
噴霧エア圧力	MPa	0.48	0.46	0.47	0.48	0.47	0.48
噴霧エア量	L/min	39.7	39.1	39.2	38.3	38.0	38.1
送液量	L/h	1.32	1.28	1.31	1.31	1.28	1.30
蒸発缶上部温度	℃	66.3	60.1	62.1	60.0	55.5	57.3
蒸発缶中部温度	℃	59.9	55.1	56.2	57.4	54.0	55.0
蒸発缶下部温度	℃	58.7	54.2	56.3	57.2	54.0	54.9
蒸発缶出口温度	℃	58.1	48.7	50.8	54.4	48.5	51.4
原料調整							
ヨーグルト（市販プレーンヨーグルト）		1700g			882g		
脱脂粉乳		780g			573g		
ミネラルウォーター		無し			1279g		
固形分（METTLER 水分計測定値）		38.3%			24.6%		

表3 VSD における物質収支

		原 料 名	単 位	無糖濃縮乳	脱脂粉乳還元液
粉体捕集量・回収率		送 液 量	kg/h	1.3	1.5
		サイクロン捕集 (自然排出)	%	10.5	42.5
		サイクロン付着 (掻取排出)	%	46.5	15.4
		小 計	%	57.0	57.9
	機 器 に 付 着	蒸発缶付着	%	14.4	13.9
		配管付着	%	4.6	3.2
		小 計	%	19.0	17.1
		ロス分	%	24.0	24.9

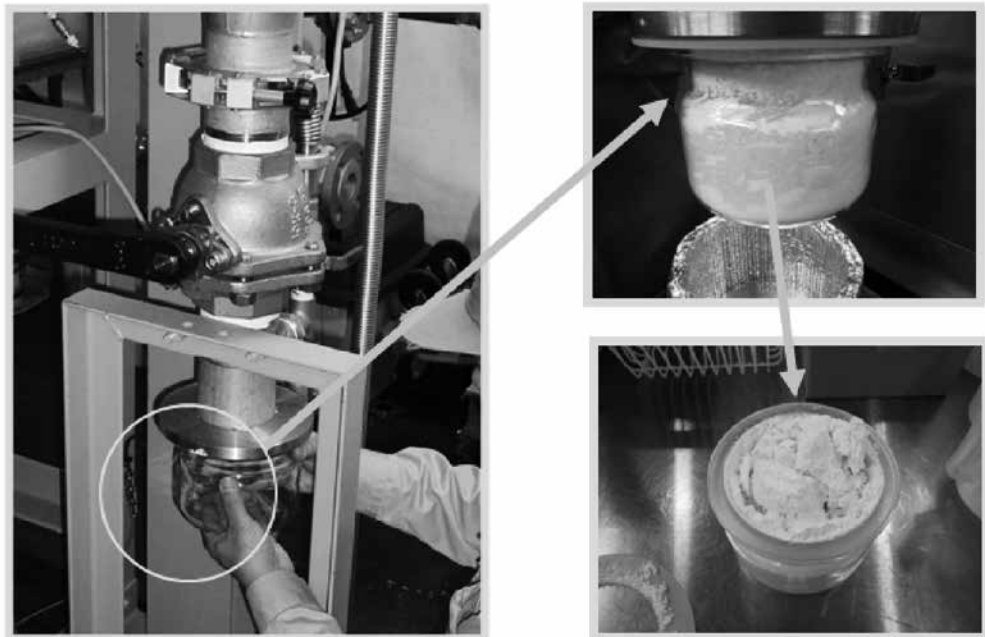


写真1 乾燥粉体捕集状況

噴霧液滴のうち、液滴径が大きくなり十分に蒸発せずに水分を多量に含んだ粒子が装置壁面に付着し回収困難になったものである。特に運転開始時は送液が不安定になりこの様なロスが増える傾向にある。

プロバイオティクスである乳酸菌を含有させた材料をVSD乾燥した際の乾燥前後の菌数変化を粉末回収部位ごとに表4に示す。原料固形分は、30～40%に調整したものであり、粉末の固形分が約95%であったことから、固形分あたりの乳酸菌数は表中の値にそれぞれ0.3～

表4 VSD 乾燥前後の乳酸菌数

サンプル	乳酸菌数 (CFU/g)
原 料	$1 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$
蒸発缶付着粉	$4 \times 10^5 \sim 9 \times 10^5$
サイクロン付着粉	$1 \times 10^4 \sim 6 \times 10^5$
サイクロン自然体積粉	$2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$

0.4, 0.95 を乗じた値となる。従って表に示す値より、乾燥前後の乳酸菌数にはほとんど差異はみられず、VSDによる低温乾燥が熱感受性の強い乳酸菌の保持に効果的であることが示された。なおサイクロン付着の粉末の低位菌数値

が一桁低い値となっていることについては、かきとり作業における物理的作用が影響したと考えている。

おわりに

過熱蒸気利用型 VSD は液体素材を粉碎過程なしに直接かつ連続的に低温 (33 ~ 48℃) で粉末化できるという遠赤外線ヒータ利用の VSD の特性をそのまま維持しながら、その処理量を大幅に向上できるスケールアップ対応型の技術である。蒸発缶に粉末が滞留しないため熱風にさらされることもなく、熱感受性の高いプロバイオティクス (乳酸菌やビフィズス菌) や酵素は勿論、低酸素雰囲気下での乾燥が可能ることから、ビタミン類や油脂、天然の食香料といった易酸化物の乾燥粉末化にも適用性が高いと思われる。一方、従来の噴霧乾燥機と比較して、過熱蒸気の生成系、乾燥塔・サイクロ

ン等加温のための温水循環系、減圧のための真空操作系、過熱蒸気の凝縮系など、新規の設備投資を必要とする欠点がある。また前述したとおり、過熱蒸気は一旦凝縮して系外に排出させる必要があるため、冷却系を必要とするばかりでなく、システム全体のエネルギー効率を低下させる問題もある。試算によれば、SD などの直接加熱を行う乾燥法で 40 ~ 70%, ドラムドライヤーなどの間接加熱乾燥法で 50 ~ 85% といわれる熱効率について、VSD では実験の実績で約 5% 程度、将来改良が進んでも 20% 前後になると推算されている。従って、過熱蒸気型 VSD の導入プロセスは、当面、付加価値の高い素材を粉末化の対象とするとともに、1. 原料の処理量をさらに増加する、2. 粉体捕集効率を上げる、3. エネルギー消費量を減少する、4. 装置構造をよりシンプルにするなど、いくつかの解決すべきプロセス改善に着手する。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 林弘通: 第 2 章 食品の乾燥装置とその関連技術, 食品と乾燥, 木村進, 亀和田光男監修, 東京, 光琳, 51-112, 2008.
- 2) 高野玉吉, 唯野哲男: 第 2 章 食品の噴霧乾燥, 食品工業の乾燥, 東京, 光琳, p102, 1972.
- 3) 木内照男: 第 2 章 新增補 乾燥, 三澤忠則編, 東京, 化学工学社, p97, 1988.
- 4) 山本修一: 第 2 部 第 2 章 噴霧乾燥, 食品の高機能粉末・カプセル化技術, 古田武, 村勢則郎, 安達修二ら編, 東京, (株)サイエンスフォーラム, 165-172, 2003.
- 5) 小林通有: 新乾燥技術「低温噴霧乾燥」, DA Journal of GMP and Validation in Japan, **3**(1), 20-26, 2001.
- 6) 古田武: 第 4 章 乾燥, 食品工学基礎講座 - 濃縮と乾燥, 矢野俊正, 桐栄良三監修, 東京, 光琳, p 244, 1989.
- 7) 特許公開 2010-281523 粉末製造方法, 粉末製造装置.
- 8) YUTAKA KITAMURA, HIROSHI ITOH, HIROSHI ECHIZEN *et al.*: EXPERIMENTAL VACUUM SPRAY DRYING OF PROBIOTIC FOODS INCLUDED WITH LACTIC ACID BACTERIA. *Journal of Food Process and Preservation*. **33**(6), 695-713, 2009.
- 9) 新熱工業ホームページ, <http://www.shinnetsu.co.jp/products/19/index.html>

大豆イソフラボンサプリメントが 閉経期女性の骨代謝マーカーに及ぼす影響 — 無作為化比較試験のメタ分析 —

卓 興鋼^{*1} 石見 佳子^{*2}

^{*1} TAKU Kyoko (独立行政法人国立健康・栄養研究所 情報センター),

^{*2} ISHIMI Yoshiko (独立行政法人国立健康・栄養研究所 食品保健機能プログラム)

Key Words：大豆イソフラボンサプリメント・閉経期女性・骨粗鬆症・骨代謝マーカー・メタ分析

はじめに

閉経後骨粗鬆症は、エストロゲン (estrogens) 濃度の急激な減少により引き起こされた高回転骨代謝に起因すると考えられている^{1, 2)}。高回転骨代謝は骨密度の低下と骨折リスクの上昇とも関連している³⁾。骨密度とともに、骨代謝マーカーは骨折リスクの生体指標と考えられるようになった⁴⁾。骨代謝マーカーは、骨吸収マーカー (例えば、尿デオキシピリジノリン (DPD), 尿 I 型コラーゲン架橋 N- テロペプチド (NTX), I 型コラーゲン架橋 C- テロペプチド (CTX)) 及び骨形成マーカー (例えば、血清骨型アルカリフォスファターゼ (BAP), オステオカルシン (OC), I 型プロコラーゲン-N- プロペプチド (PINP)) に分けられ、骨粗鬆症の診断及び治療効果の評価に使用されている⁵⁾。

骨代謝マーカーは骨密度或いは骨折リスクの変化より早く変動し、且つ大きく変化する。治療の初期における骨代謝マーカーの低下は、長期的な骨折リスクの低減を反映する可能性が高い^{6, 7)}。従って、骨代謝マーカーの適切な評価は、特定の治療を継続するか否かについて最も早い指標を提示することになる。骨粗鬆症治療薬 (例えば、ビスホスフォネート, ラロキシフェン, エストロゲン) は DPD や NTX, CTX,

BAP, PINP で評価可能であり、治療の過程において骨代謝マーカーが初期値からの変化が最小有意変化 (minimum significant change : MSC) を超えたときにのみ、薬剤効果があると判定できる⁸⁾。

エストロゲンは骨代謝マーカーに影響することが知られているが、ホルモンに関連するがんリスクの上昇⁸⁻¹⁰⁾ 及び他の望ましくない副作用^{11, 12)} が懸念されている。植物エストロゲン (phytoestrogens) はエストロゲン様作用があるため、閉経後女性において骨粗鬆症をある程度抑える可能性がある¹³⁾。疫学研究では、大豆食品の摂取は閉経後女性、特に閉経後初期において、骨折リスクを低下することが示唆されている¹⁴⁾。その一方、閉経期女性の一部は、ステロイドホルモンによる望ましくない副作用を引き起こされないため、植物性エストロゲンを利用している^{11, 15)}。良く摂取されている植物性エストロゲンは大豆イソフラボンであり、その化学構造はエストロゲンと似ている¹⁶⁾。先行のメタ分析では、閉経期女性において、大豆イソフラボンの摂取はプラセボに比べ、腰椎骨密度を上昇させることが認められた^{17, 18)}。9 報の無作為化比較試験 (randomized controlled trial : RCT) を採用したメタ分析では、大豆イソフラ

ボン是对照群に比べ、閉経期女性の DPD を有意に 2.08 nmol/mmol 低下させ、BAP を有意に 1.48 µg/L 上昇させた¹⁹⁾。それぞれの研究は骨代謝マーカーのデータを異なる単位で報告することがあり、研究間では結果のデータが異なることもある。上記のメタ分析では、異なっている単位を統一せずに、各骨代謝マーカーのデータを統合したようである。我々はこのメタ分析に採用されていなかった数報の関連研究を合わせ、メタ分析を行った。

本系統的レビュー・メタ分析の主な目的は、閉経期女性において、初期値からの変化率データを統合することで、より完全に且つ正確に大豆イソフラボンサプリメントの尿中 DPD 及び血中 BAP への効果を解明することである。また、他の骨代謝マーカーにおける大豆イソフラボンの効果も評価した。

1. 方法

2009 年 6 月に、文献データベース PubMed, CENTRAL, ICHUSHI, CNKI を対象に、発表された関連の RCT 論文を検索した (付録)。PubMed と CENTRAL での検索式は、コクランハンドブックガイドラインに基づいて考案した。関連の系統的レビュー・メタ分析論文の参考文献から必要な論文を検索・収集した¹⁹⁻²¹⁾。入手した論文の全文をレビューし、下記の基準をすべて満たした研究をメタ分析に採用することにした。

- 1) 閉経期女性 (閉経周辺期又は閉経後) を対象者としている。
- 2) イソフラボン抽出物を含むサプリメントの介入研究で、イソフラボンの用量が明確に記載されている。
- 3) 少なくとも関連する一組の比較 (すなわち、大豆イソフラボンサプリメントとプラセボとの比較、或いは両方に非エストロゲンの

併用がある) があり、プラセボはイソフラボン或いはエストロゲンを含まず且つ外見と味が対照となる大豆イソフラボンサプリメントと同等である。

- 4) 少なくとも一つの骨代謝マーカー (DPD, BAP, OC, NTX, CTX) への効果を報告している。
- 5) 平行群間或いはクロスオーバー RCT である。
また、下記の基準に当てはまる研究はメタ分析より除外した。
- 1) オリジナル研究の重複或いはサブグループ解析の報告である。
- 2) 骨代謝マーカーのデータが正規分布していない、或いは初期値からの平均変化及びその標準偏差 (SD) 又は標準誤差 (SE) データがない。
- 3) 明らかな持ち越し効果のあるクロスオーバー研究で、第 1 期のデータが報告されていない。
各研究の関連データをメタ分析用に抽出し、介入前後の変化率の標準偏差は必要に応じて報告されている統計値 (例えば、信頼区間、標準誤差、p 値、t 値、F 値) より計算したり、介入前後値間の相関係数を推定して得た²²⁾。必要な場合は、骨代謝マーカーのデータは報告されているグラフより入手した。また、可能な場合は、著者に連絡し報告されていない必要なデータを取得した。

研究の質は Jadad scale (3 点未満は低品質とされる)²³⁾ と米国医療研究品質局 (AHRQ) の ABC グレード法 (C カテゴリーはバイアスがあり、質が低いとされる)²⁰⁾ を用いて評価した。介入割付の隠蔽性は「十分」、「不十分」、「不明」と評価した²⁴⁾。

研究の取捨選択、関連データの抽出、研究の質の評価は 2 人で行い、結果が一致しない場合は議論により合意を得た。

メタ分析は RevMan (バージョン 5.0.22; Nordic Cochrane Center, Oxford, England) を用

いた。大豆イソフラボンサプリメントの摂取による骨代謝マーカーへの効果は、初期値からの変化率の群間平均差（イソフラボン摂取群の変化率－プラセボ摂取群の変化率）として評価した。各研究間の異質性が有意な場合（ $p < 0.1$ ）は、変量効果モデルによる結果を示し、そうでない場合は固定効果モデルによる結果を示した²²⁾。感度解析は介入前後値間の相関係数レベル（計算された相関係数の平均値を使う）、骨代謝マーカーデータの測定時点（別の測定時点でのデータを使う）、研究の質（質の低い研究を除外する）、研究デザイン（クロスオーバー研究を除外する）に基づいて行った。骨吸収と骨形成マーカーは治療3ヶ月と6ヶ月後にそれぞれ測定することが推奨されているため⁵⁾、研究の期間に基づく感度解析も行った（骨吸収マーカーの場合は3ヶ月、骨形成マーカーの場合は6ヶ月未満の研究データを除外する）。研究が10報以上ある場合は、被験者の地域、閉経状況、サプリメントタイプ、イソフラボンの摂取量、介入期間に基づき、サブグループ解析及びメタ回帰を行った。食品安全委員会は、大豆イソフラボン（アグリコンとして）の摂取上限量は1日当たり75 mg 安全としているため、イソフラボン摂取量に基づくサブグループ解析は75 mg/日以下あるいは75 mg 超に分けて行った。潜在的な発表バイアスは、ファンネルプロット、Egger's と Begg's test にて検討した。メタ回帰、Egger's と Begg's test は Stata 10.1（StataCorp LP, College Station, Tex）を用いて解析した。

2. 結果

2-1. 文献検索及び取捨選択の結果

3740 報関連論文をスクリーニングし、531 報論文の全文を入手した（図1）。37 報の研究^{11, 25-60)} は4つ（第1, 2, 4, 5）の選択基準に満たした。37 報論文のうち、13 報^{26-28, 31, 33, 35, 40, 43,}

45, 46, 51, 54, 59) は第3の選択基準を満たさないため除外された。また、除外基準の適用により、1報の論文⁵⁸⁾ を除外した。最終的に、全ての選択基準と除外基準に合った21の研究（23報の論文）を採用した^{11, 25, 29, 30, 32, 34, 36-39, 41, 42, 44, 47-50, 52, 53, 55-57, 60)}。2つの研究はそれぞれ2報^{41, 60)} と別の2報^{52, 53)} の論文に報告されたため、23報の論文となった。

1つの研究²⁹⁾ は非正規分布のDPD データを報告していた。1つウォッシュアウト期間のな

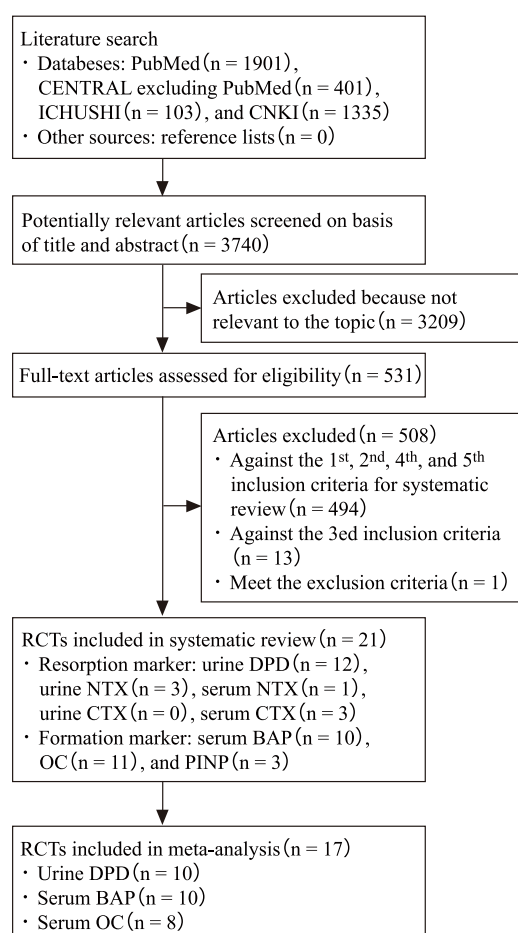


図1 無作為化比較試験（RCTs）の検索及び選択⁷¹⁾

DPD, デオキシピリジノリン; NTX, I型コラーゲン架橋 N- テロペプチド; CTX, I型コラーゲン架橋 C- テロペプチド; BAP, 骨型アルカリフォスファターゼ; OC, オステオカルシン; PINP, I型プロコラーゲン N- プロペプチド。

表1 メタ分析に採用された17無作為化プラセボ対照試験の特徴⁷¹⁾

Study	Design ^a	Duration	Participants ^b	Intervention ^c	Outcomes ^d
Albertazzi 2005 ²⁵⁾	CO; R+, DB+, WD; JS = 5; A	6 wk × 2	100/99 (1%) Post; mean age: 54 y; Italy	Arm1: placebo capsules without Ge Arm2: capsules containing 90 mg 98.9% pure Ge/d	OC: 32.04 (unit not described)
Brink 2008 ²⁹⁾	P; R, DB+, WD; JS = 4	53 wk	300/237 (21%) Post; mean age: 53 y; Netherlands, Italy, France	Arm1: placebo biscuits and bars Arm2: biscuits and bars added with 110 mg SI (25–35% De, 60–75% Ge, 1–5% Gle)/d	DPD: 12.75/creatinine (non-normal distributed) BAP: 26.66
Brooks 2004 ³⁰⁾	P; R, DB+, WD; JS = 4; A	16 wk	46/44 (4%) Post; mean age: 53 y; Canada	Arm1: placebo muffin of whole-wheat flour Arm2: muffin of 25 g soy flour containing 41.9 mg SI (37% De, 61% Ge, 2% Gle)/d Arm3: flaxseed muffin	DPD: 9.27 BAP: 15.41
Dalais 2003 ³²⁾	P; R+, DB+, WD; JS = 5	3 mo	106/77 (27%) Post; mean age: 60 y; Australia	Arm1: placebo casein protein Arm2: 40 g soy protein containing 69 [118] mg SI (32% De, 64% Ge, 4% Gle)/d	DPD: 14.86
Harkness 2004 ³⁴⁾	CO; R+, DB, WD; JS = 4	6 mo × 2	20/19 (5%) Post; mean age: 71 y; USA	Arm1: placebo capsules Arm2: capsules containing 110 mg SI (40% De, 52% Ge, 9% Gle)/d	BAP: 26.26 OC: 12.60
Kenny 2009 ³⁶⁾	P; R, DB+, WD; JS = 4	3, 12 mo	131/97 (26%) Post; mean age: 73 y; USA	Arm1: control protein (50% casein, 25% whey, and 25% egg) + placebo tablets Arm2: control protein + tablets containing 105 mg SI (40% De, 52% Ge, 9% Gle)/d Arm3: 18 g alcohol-washed soy protein/d + placebo tablets Arm4: alcohol-washed soy protein + SI tablets	BAP: 24.17
Knight 2001 ³⁷⁾	P; R+, DB+, WD; JS = 5; A	12 wk	24/24 (17%) Post; mean age: 54 y; Australia	Arm1: isoflavone-free casein-based placebo powder Arm2: 60 g TakeCare™ powder containing 77.4 [134.4] mg SI (33% De, 64% Ge, 4% Gle)/d	OC: 5.97
Kreijkamp-Kaspers 2004 ³⁸⁾	P; R+, DB+, WD; JS = 5; A	12 mo	202/175 (24%) Post; mean age: 67 y; Netherlands	Arm1: placebo total milk protein Arm2: 25.6 g soy protein containing 99 mg SI (41% De, 53% Ge, 6% Gle)/d	BAP: 12.8 µg/L
Marini 2007 ⁴¹⁾	P; R+, DB+, WD; JS = 5	1, 2 y	389/389 (10, 22%) Post; mean age: 55 y; Italy	Arm1: placebo tablets Arm2: tablets containing 54 mg 98% pure Ge/d	DPD: 21.41 BAP: 10.35 µg/L

Morabito 2002 ⁽¹⁾	P; R, DB+, JS = 3	6, 12 mo	90/90 Post; mean age: 52 y; Italy	Arm1: placebo tablets Arm2: tablets containing 54 mg ~98% pure Ge/d, Arm3: HRT	DPD: 25 BAP: 9.57 µg/L OC: 12.67
Mori 2004 ⁽²⁾	P; R, DB, WD; JS = 3	4 wk	102/67 (34%) Pre and Post; age: 40–63 y; Japan	Arm1: placebo tablets (vehicle only) Arm2: tablets containing 14.4 [40] mg SI (58% De, 13% Ge, 29% Gle)/d Arm3: vitamin tablets (C and E)	DPD: 42.88 mmol/day
Nikander 2004 ⁽⁴⁾	CO; R+, DB+, WD; JS = 5	3 mo × 2 (washout = 2 mo)	66/55 (11%) Post; mean age: 55 y; Finland	Arm1: placebo tablets Arm2: tablets containing 114 mg SI (36% De, 6% Ge, 58% Gle)/d	DPD: 19.4 BAP: 14.3 µg/L
Uesugi 2002 ⁽⁴⁸⁾	P; R, DB, WD; JS = 3	4 wk	23/23 (0%) Peri; mean age: 52 y; Japan	Arm1: placebo capsules Arm2: capsules containing 38.4 [61.8] mg SI (52% De, 11% Ge, 37% Gle)/d	DPD: 10.9 OC: 7.9 µg/mL
Wu 2006a ⁽⁵²⁾ , b ⁽⁵³⁾	P; R, DB+, WD; JS = 4	6, 12 mo	136/128, 108 (6, 21%) Post; mean age: 55 y; Japan	Arm1: placebo capsules Arm2: capsules containing 47 [75] mg SI (54% De, 13% Ge, 34% Gle)/d Arm3: placebo capsules + walking Arm4: SI capsules + walking	DPD: 7.40 BAP: 29.11 OC: 9.93
Xu 2007 ⁽⁵⁵⁾	P; R, DB; JS = 2	3 mo	96/37 (61%) Post; mean age: 45–65 y; China	Arm1: placebo capsules (corn flour) Arm2: calcium capsules Arm3: capsules containing isoflavone of pueraria root Arm4: capsules containing 66 mg 97% pure SI/d Arm5: calcium capsules + SI capsules	OC: 4.29
Yamori 2002 ⁽⁵⁶⁾	P; R, DB; JS = 2	3, 10 wk	40/unknown Post; mean age: 53 y; Brazil	Arm1: placebo composed only of sesame Arm2: 6 g soybean germ and sesame containing 22.7 [37.3] mg SI (54% De, 15% Ge, 30% Gle)/d	DPD: 6.4
Ye 2006 ⁽⁵⁷⁾	P; R+, SB, WD; JS = 3	6 mo	90/78 (13 %) Post; mean age: 52 y; China	Arm1: placebo capsules (starch) Arm2: capsules containing 84 mg SI (52% De, 15% Ge, 33% Gle)/d Arm3: capsules containing 126 mg SI/d	DPD: 7.39 BAP: 32.23 OC: 5.47

^a CO, crossover; R+, randomized by appropriate method (gives 2 points to Jadad scale); DB+, double-blinded by appropriate method (2 points); WD, withdrawals and dropouts described (1 point); JS, Jadad scale (1–5 points); A, adequate concealment of treatment allocation; P, Parallel; R, randomized (1 point); DB, double-blinded (1 point); SB, single-blinded.

^b Randomize/analyzed number (dropout rate) of participants; Post, Pre, and Peri, post-, pre-, and perimenopausal women, respectively.

^c Ge, genistein; SI, soy isoflavones (aglycone equivalents, bracketed are values including glycoside forms); De, daidzein; Gle, glycitein; HRT, hormone-replacement therapy.

^d Baseline mean values of bone turnover markers. OC, serum osteocalcin (ng/mL, unless specified); DPD, urine deoxypyridimoline (nmol/mmol creatinine, unless specified); BAP, serum bone alkaline phosphatase (U/L, unless specified).

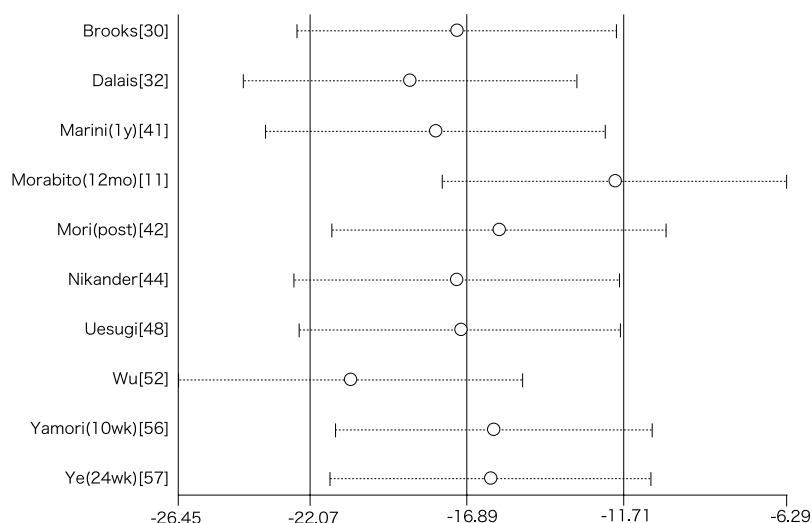


図2 大豆イソフラボンの尿中 DPD への効果 (%) における各研究の影響⁷¹⁾

The vertical center line and the two lines on both sides of it respectively denote the combined overall effect and 95% CI for all included studies (fixed effect model). The open circles (○) and horizontal dotted lines respectively denote the combined overall effect and 95% CI when each study is omitted, thereby demonstrating the influence of this study on the overall effect.

いクロスオーバーデザイン研究⁴⁷⁾は第1期間の尿中 DPD データを報告せずに、全期間の中央値と4分位値を報告していた。1つの研究⁴²⁾は閉経前と閉経後女性の血中 OC データを報告していた。1つの研究⁴⁹⁾は血中 OC の平均値の SD/SE が取れなかった。最終的に、17 報の無作為化比較試験をメタ分析に採用した。そのうち、10 報^{11, 30, 32, 41, 42, 44, 48, 52, 56, 57)}、10 報^{11, 29, 30, 34, 36, 38, 41, 44, 52, 57)}、8 報^{11, 25, 34, 37, 48, 52, 55, 57)}を採用し、それぞれ尿中 DPD、血中 BAP、血中 OC への効果を解明するためのメタ分析を行った。3 報の研究は尿中 NTX^{36, 44, 49)}、血中 CTX^{25, 39, 60)}、血中 PINP^{29, 39, 44)}への効果を報告し、1 報の研究は血中 NTX⁵⁰⁾への効果を報告し、全ての選択基準及び除外基準に合った。尿中 CTX への効果を報告し、且つ全ての基準に合った研究はなかった。これらの骨代謝マーカーへの効果について、関連する研究の数が足りないため、メタ分析は行わなかった。

2-2. 採用された研究の概要

採用された 17 報研究の概要を表 1 に示した。4 つの研究は、介入割り付けの隠蔽性が「十分」と評価され、残りの研究は情報が不足しているため「不明」と評価された。1 つの研究は解析された介入後の被験者数が不明であったため、介入前の人数と同じとした⁵⁶⁾。1 つの研究は使用されたイソフラボンの型が明確に報告されていなかったが⁵⁵⁾、我々はアグリコン型と推定し、イソフラボンの平均摂取量を算出した。2 つクロスオーバーデザインの研究について、第 1 期介入期間のデータのみをメタ分析に使用した^{25, 34)}。別の 1 つクロスオーバー研究では⁴⁴⁾、ウォッシュアウト期間があり、持ち越し効果と期間効果とも検出されなかったため、平行群間比較デザインと同様に全期間のデータをメタ分析に使用した。5 つの研究は反復測定データがあり、3 つの研究^{11, 36, 41)}は介入 12 ヶ月後のデータを、1 つの研究⁵⁶⁾は介入 10 週後のデータを、1 つの研究⁵²⁾は介入 6 ヶ月後のデータを優先

的に使用した。1つの研究⁵⁷⁾は2用量のイソフラボンを使用していたが、2用量のデータを1つのイソフラボン群に統合してプラセボ群と比較した。1つの研究³⁰⁾は3つの介入群があったが、亜麻仁介入群のデータを除外した。2つの2×2因子デザイン研究^{36, 52, 53)}は、2因子間に交互作用の可能性があるので、arm1とarm2のデータのみを使用した。1つ研究⁵⁵⁾は5つの介入群があったが、比較できるarm1とarm4のデータのみを使用した。

各研究内比較群間の被験者の大豆イソフラボン、カルシウム、ビタミンDの摂取量及び身体活動はほぼ同様であった。ほとんどの研究は参加者の普段の食事、ライフスタイル、体重を維持するように設計されていた。いくつかの研究は副作用についての報告が不十分であるが、イソフラボンと対照群とほぼ同様であり、重篤な副作用が報告されなかった。

2-3. 大豆イソフラボンサプリメントの尿中DPDへの効果

初期値と介入後値間の相関係数は2報の研究^{32, 34)}より、4つ(0.75～0.79)が計算されたが、それぞれの値は近似しており、平均値は0.77であった。887被験者を含む10報の研究をメタ分析したところ、有意な異質性が認められたが($p = 0.0001$; $I^2 = 73\%$)、全体の統合結果に著しく影響する研究はなかった(図2)。変量効果モデルを用いてメタ分析した結果、1日平均して56 mg (14～114 mg, アグリコンとして)の大豆イソフラボンを10週～12ヶ月間摂取した群はプラセボ群に比べ、DPDを有意に18.0% (95% CI, -28.4%～-7.6%; $p = 0.0007$)上昇させた(図3)。採用された10報の研究のうち、9報はイソフラボン摂取によるDPDの変化率がプラセボに比べよ

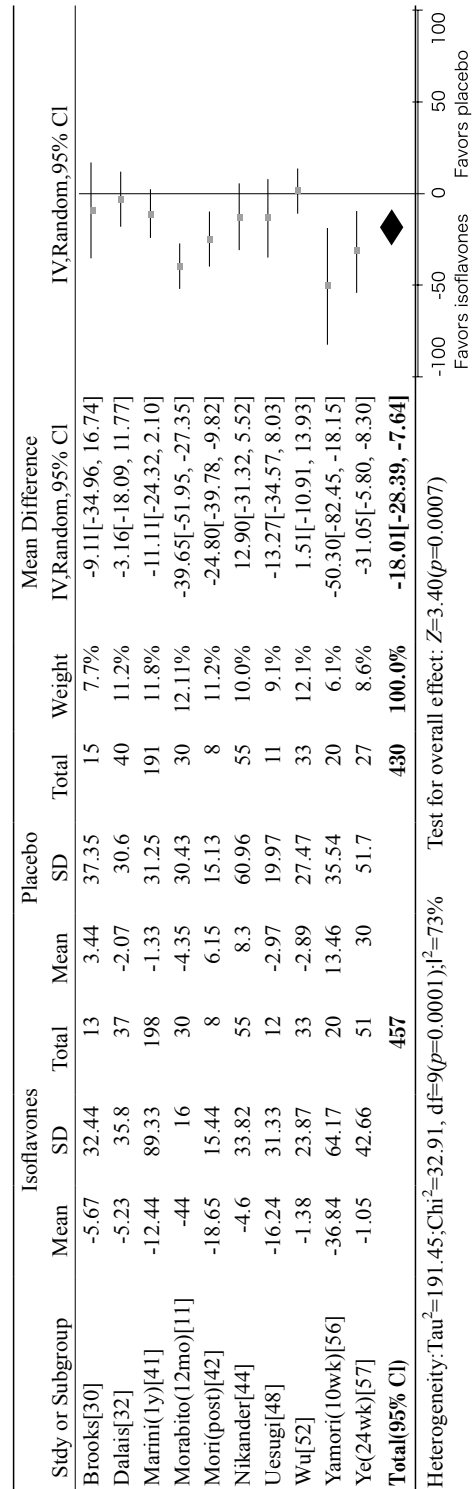


図3 大豆イソフラボンの尿中DPDへの効果 (%) ⁷¹⁾

Mean difference, mean percentage changes (%) of urine deoxypyridinoline (DPD) from baseline for soy isoflavones minus that for placebo; Random, random effects model. ◆, effect estimate of each study (size of the square corresponds to its Weight); horizontal line denotes the 95% CI; ◆, combined overall effect.

表2 大豆イソフラボンの尿中DPDへの効果に関するサブグループ解析⁷¹⁾

Variables	Trials	Sample size	P value for heterogeneity	Fixed effect model		Random effects model	
				WMD (95% CI), %	P value	WMD (95% CI), %	P value
Total	10	887	0.0001	-16.89 (-22.06, -11.71)	<0.00001	-18.01 (-28.39, -7.64)	0.0007
Participants' region					[0.51]		
Asian ^{42, 48, 52, 56, 57)}	5	223	0.005	-14.87 (-22.77, -6.98)	0.0002	-20.71 (-37.25, -4.18)	0.01
Western ^{11, 30, 32, 41, 44)}	5	664	0.002	-18.41 (-25.27, -11.55)	<0.00001	-15.95 (-30.89, -1.02)	0.04
Menopause status					[0.73]		
Perimenopausal ⁴⁸⁾	1	23	Not applicable	-13.27 (-34.57, 8.03)	0.22	-13.27 (-34.57, 8.03)	0.22
Postmenopausal ^{11, 30, 32, 41, 42, 44, 52, 56, 57)}	9	864	<0.0001	-17.11 (-22.45, -11.78)	<0.00001	-18.57 (-29.91, -7.23)	0.001
Supplement type					[0.29]		
Isoflavone extracts ^{11, 41, 42, 44, 48, 52, 57)}	7	742	0.0003	-18.23 (-23.97, -12.49)	<0.00001	-18.53 (-30.61, -6.45)	0.003
Soy foods with isoflavones ^{30, 32, 56)}	3	145	0.03	-11.01 (-23.00, 0.99)	0.07	-17.80 (-43.12, 7.53)	0.17
Isoflavone dose					[0.64]		
≤ 75 mg/d ^{11, 30, 32, 41, 42, 48, 52, 56)}	8	699	<0.0001	-16.41 (-21.96, -10.85)	<0.00001	-17.38 (-29.72, -5.05)	0.006
> 75 mg/d ^{44, 57)}	2	188	0.22	-20.09 (-34.41, -5.77)	0.006	-20.70 (-38.31, -3.09)	0.02
Intervention duration					[0.13]		
< 3 months ^{42, 48, 56)}	3	79	0.17	-24.70 (-36.15, -13.25)	<0.0001	-25.93 (-42.48, -9.38)	0.002
≥ 3 months ^{11, 30, 32, 41, 44, 52, 57)}	7	808	0.0001	-14.88 (-20.68, -9.07)	<0.00001	-14.91 (-27.74, -2.08)	0.02

WMD, weighted mean difference in percentage change (%) from baseline between soy isoflavones and placebo (i.e., mean value for soy isoflavones minus that for placebo); P value, test for overall effect of each subgroup; bracketed P values, test for subgroup differences.

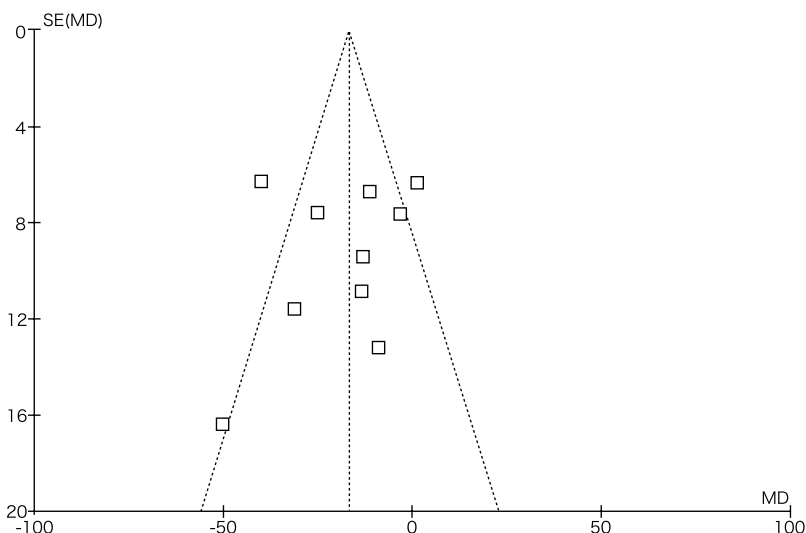


図4 大豆イソフラボンの尿中 DPD への効果 (%) に関するファンネルプロット⁷¹⁾

MD, mean percentage changes (%) of urine deoxypyridinoline (DPD) from baseline for soy isoflavones minus that for placebo; SE(MD), standard error of MD. The vertical center broken line and two broken lines on both sides of it respectively denote the combined overall effect and 95% CI (fixed effect model).

り顕著であった。大豆イソフラボン介入後は採用された全 10 報の研究で DPD が低下したのに対し、プラセボ介入後はわずか 5 報で DPD が低下した。統合されたイソフラボンとプラセボによる DPD の変化率はそれぞれ -14.1% (95% CI, -26.8% ~ -1.5%; $p = 0.03$; 異質性 $p < 0.00001$; $I^2 = 93\%$) と 2.0% (95% CI, -2.6% ~ 6.7%; $p = 0.39$; 異質性 $p = 0.07$; $I^2 = 44\%$) であった (変量効果モデル)。

下記の感度解析を行ったが、大豆イソフラボンの DPD への統合結果は同じであった。

- 1) 初期値と介入後値との相関係数を計算された係数の平均値 (0.77) と仮定した場合
- 2) 骨代謝マーカーを反復測定している研究^{11, 41, 52, 53, 56, 57)} の別時点のデータを使用した場合
- 3) 介入期間が 3 ヶ月未満 (実際に 10 週間) の 1 つ研究⁵⁶⁾ を除外した場合
- 4) 低品質の研究を除外した場合^{32, 42, 56)}
- 5) 1 つクロスオーバーデザインの研究⁴⁴⁾ を除外した場合

大豆イソフラボンの DPD への効果について、事前に計画された 5 つの因子 (①被験者の地域、②閉経状況、③サプリメントの形態、④イソフラボン用量、⑤介入期間) に基づきサブグループ解析を行った、その結果を表 2 に示した。固定効果モデルを用いた結果、上記 5 つ因子でのサブグループ間に有意差はなかった。閉経後女性で行った研究サブグループ又は大豆イソフラボン抽出物を検証した研究サブグループでは、固定効果モデルと変量効果モデルと両方で大豆イソフラボンの DPD への有意な効果が見られたが、閉経周辺期女性で行った研究サブグループ又はイソフラボンを含む大豆食品を検証した研究サブグループでは、DPD への効果は有意でなかった。上記の 5 つ因子のそれぞれ或いは全てを解析したメタ回帰では、研究間で異なるイソフラボンの DPD への効果に有意に関連する因子は認めなかった。ファンネルプロット (図 4)、Egger's ($p = 0.58$) と Begg's ($p = 0.245$) 検定より、明らかな発表バイアスは認められなかった。

2-4. 大豆イソフラボンサプリメントの血中 BAP への効果

初期値と介入後値間の相関係数は 4 報の研究^{34, 38, 41, 44)}より, 8 つ (0.70 ~ 0.97) が計算され, それぞれの値は近似しており, 平均値は 0.84 であった。1210 名の被験者を含む 10 報の研究をメタ分析したところ, 有意な異質性が認められたが ($p < 0.0001$; $I^2 = 98\%$), 変量効果モデルを用いてメタ分析した結果, 1 日平均して 84 mg (42 ~ 114 mg, アグリコンとして) の大豆イソフラボンを 3 ~ 12 ヶ月間摂取した群はプラセボ群と比較し, BAP を 8.0% (95% CI, -4.2% ~ 20.2%; $p = 0.20$) 上昇させたが, 有意ではなかった (図 5)。

下記の感度解析を行ったが, 大豆イソフラボンの BAP への統合結果は同じであった。

- 1) 初期値と介入後値との相関係数を計算された係数の平均値 (0.84) と仮定した場合
- 2) 骨代謝マーカーを反復測定している研究^{11, 36, 41, 52, 53, 57)}の別時点のデータを使用した場合
- 3) 介入期間が 6 ヶ月未満の 2 つ研究^{30, 44)}を除外した場合
- 4) 低品質の研究^{29, 36, 38)}を除外した場合
- 5) 1 つクロスオーバーデザインの研究⁴⁴⁾を除外した場合

大豆イソフラボンの BAP への効果について, 事前に計画された 5 つの因子のうち 1 つの因子 (閉経状況) に基づくサブグループ解析は実施できなかった。イソフラボン用量に基づくサブグループ解析では, 1 日 75 mg 以下のイソフラボンを検証した研究サブグループは大豆イソフラボンが血中 BAP を有意に 20.3% (95% CI, 4.6% ~ 36.1%, $p = 0.01$; 異質性 $p < 0.00001$; $I^2 = 92\%$; 変量効果モデル) 上昇させたが, 1 日 75 mg を超えるイソフラボンを使用した研究サブグループでは有意な効果が見られなかった。残りの 3 つの因子 (被験者の地域, サプリメントの形態, 介入期間) と事後に追加した 1 つの因

子 (被験者の年齢: 70 歳以上と 70 歳未満) に基づくサブグループ解析では, 血中 BAP への有意な効果を示すサブグループはなかった。イソフラボン用量を解析したメタ回帰は, 研究間で異なるイソフラボンの血中 BAP への効果とイソフラボン用量との間に有意な関連が見られたが, その他の因子を解析したメタ回帰はイソフラボンの BAP への効果に関連する因子を認めなかった。ファンネルプロット, Egger's ($p = 0.60$) と Begg's ($p = 0.18$) 検定より, 明らかな発表バイアスは認められなかった。

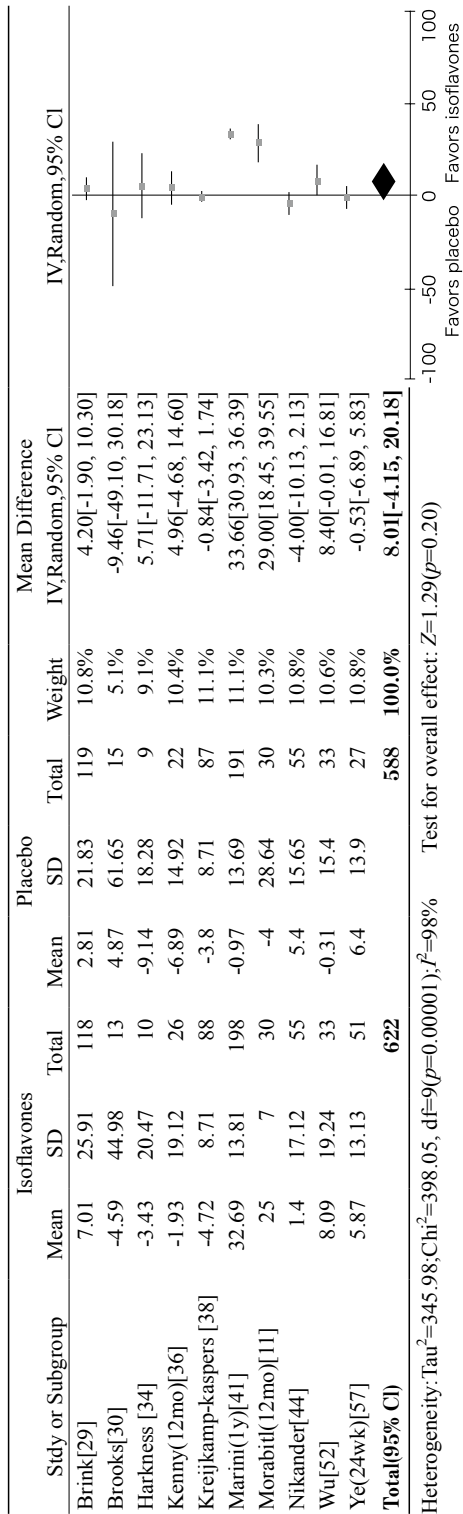
2-5. 大豆イソフラボンサプリメントの血中 OC への効果

血中 OC について, 初期値と介入後値間の相関係数は 2 報の研究^{25, 34)}より, 3 つ (0.34 ~ 0.89) が計算され, 平均値は 0.68 であった。380 名の被験者を含む 8 報の研究をメタ分析したところ, 有意な異質性が認められたが ($p = 0.002$; $I^2 = 69\%$), 変量効果モデルを用いてメタ分析した結果, 1 日平均して 73 mg (38 ~ 110 mg, アグリコンとして) の大豆イソフラボンを 6 週 ~ 12 ヶ月間摂取した群はプラセボ群と比較し, OC を 4.6% (95% CI, -0.98% ~ 10.2%; $p = 0.11$) 上昇させたが, 有意ではなかった (図 6)。

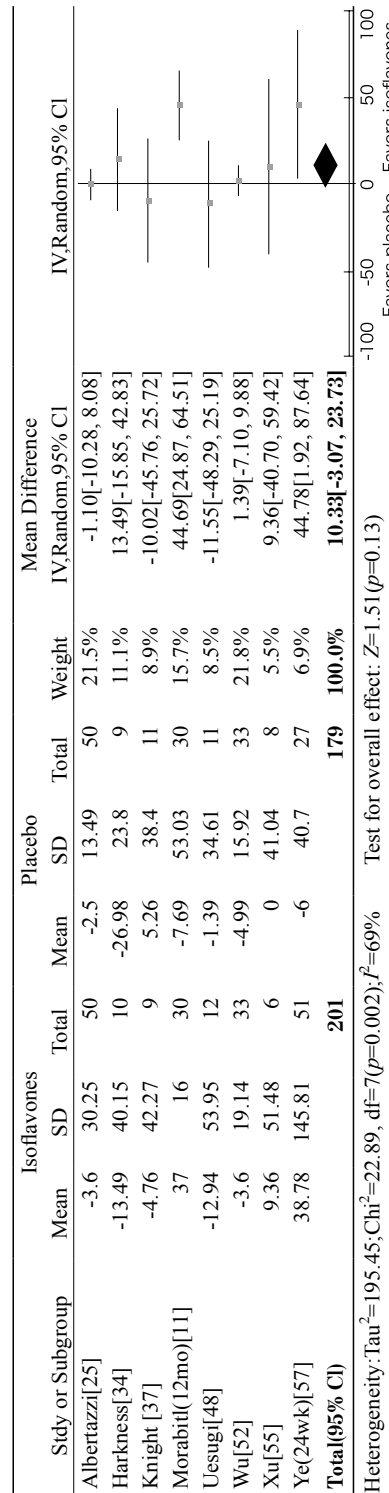
下記の感度解析を行ったが, 大豆イソフラボンの BAP への統合結果は同じであった。

- 1) 初期値と介入後値との相関係数を計算された係数の平均値 (0.68) と仮定した場合
- 2) 血中 OC を反復測定した研究^{11, 52, 53, 57)}の別時点のデータを使用した場合
- 3) 介入期間が 6 ヶ月未満の研究^{25, 37, 48, 55)}を除外した場合
- 4) 低品質の研究⁵⁵⁾を除外した場合
- 5) 1 つクロスオーバーデザインの研究⁴⁴⁾を除外した場合

ファンネルプロット, Egger's ($p = 0.36$) と Begg's ($p = 0.46$) 検定より, 明らかな発表バイアスは認められなかった。

図5 大豆イソフラボンの血中BAPへの効果 (%) ⁷¹⁾

Mean difference, mean percentage changes (%) of serum bone alkaline phosphatase (BAP) from baseline for soy isoflavones minus that for placebo; Random, random effects model. ■, effect estimate of each study (size of the square corresponds to its Weight); horizontal line denote the 95% CI; ◆, combined overall effect.

図6 大豆イソフラボンの血中OCへの効果 (%) ⁷¹⁾

Mean difference, mean percentage changes (%) of serum osteocalcin (OC) from baseline for soy isoflavones minus that for placebo; Random, random effects model. ■, effect estimate of each study (size of the square corresponds to its Weight); horizontal line denote the 95% CI; ◆, combined overall effect.

表3 骨粗鬆症で保険適用の骨代謝マーカーの最小有意変化 (minimum significant change: MSC)⁶²⁾

マーカー	測定方法	単位	MSC
血清 BAP	EIA	U/L	23.1
尿 DPD	ELISA	nmol/mmol・Cr	29.6
尿 CTX	ELISA	μg/mmol・Cr	51.1
尿 NTX	ELISA	nmolBCE/mmol・Cr	35.0
血清 NTX	ELISA	nmolBCE/L	14.2

MSC は閉経後骨粗鬆症患者の早朝の日差変動の2倍を示す (%)。

MSC の信頼性は、8% 以下の危険率に相当する。

変動値には施設間差があることに注意する。

2-6. 大豆イソフラボンサプリメントの NTX, CTX, PINP への効果

それぞれ3報^{36, 44, 49)}と1報⁵⁰⁾の研究では、大豆イソフラボンサプリメントの尿中 NTX と血中 NTX への効果は認められなかった。2報の研究^{25, 39)}では、大豆イソフラボンサプリメントの血中 CTX への効果は見られなかった。しかし、1日 54 mg ゲニステインを3年間摂取した場合は血中 CTX が初期値 ($p < 0.001$) と2年目の値 ($p < 0.01$) より有意に低下したが、プラセボ群では同様の効果は見られなかった⁶⁰⁾。また、プラセボに比べ、ゲニステインは2年と3年目に血中 CTX を有意に低下させた ($p < 0.001$)。3報の研究^{29, 39, 44)}では、大豆イソフラボンサプリメントの血中 PINP への効果は認められなかった。

3. 考察

3-1. 大豆イソフラボンサプリメントの尿中 DPD への効果

本メタ分析では、閉経期女性において、1日約 56 mg (アグリコンとして) の大豆イソフラボンを10週～12ヶ月間摂取した群は初期値に比べ、骨吸収マーカーである尿中 DPD が有意に 14.1% 低下した。プラセボに比べ、尿中 DPD が 18.0% 低値を示した。感度解析では、大豆イソフラボンの尿中 DPD への効果が頑強であることが示された。この効果は骨粗鬆症治

療薬 (最小変化率が 29.6% 以上でないと治療効果があると言えない、表3に比べ弱く、研究間において異なるが、大豆イソフラボンサプリメントは確かに尿中 DPD を中程度に低下させる効果があった。1日あたり 56 mg (アグリコン換算) の大豆イソフラボンの摂取は、日本で普段摂取されている量 (平均 47.2 mg/日) の約 1.2 倍に相当する⁶¹⁾。閉経後女性はエストロゲン濃度が急激に減少し高回転骨代謝を引き起こし^{1, 2)}、これは骨密度の低下と骨折リスクの上昇に関連している³⁾。また、治療の初期における骨代謝マーカーの低下は長期的骨折リスクの低下を反映している^{6, 7)}。従って、我々のメタ分析は、大豆イソフラボンサプリメントが閉経期女性の骨密度を上昇させ、骨折リスクを低下させる可能性があることを示唆している。

大豆イソフラボンサプリメントの尿中 DPD への統合効果、閉経状態とサプリメントの形態に基づくサブグループ解析の結果は、先行のメタ分析¹⁹⁾の結果とほぼ一致した。従って、大豆イソフラボンサプリメントは、特に抽出物の場合、と閉経後女性の骨吸収マーカー DPD を有意に低下させる効果があることが示唆された。このメタ分析は、別の3つの研究^{41, 52, 57)}を採用すること、プラセボと比較すること、初期値からの変化率を統合することでより完全に精密に大豆イソフラボンの DPD への効果を解明した。初期値からの変化率指標を使用することで、異なる単位を使っている施設間での

比較, また, 他の抗骨吸収薬の効果との比較が可能になる。我々のサブグループ解析では, 被験者の地域, イソフラボン用量, 介入期間の影響は見られなかった。大豆イソフラボンサプリメントの尿中 DPD への効果に影響する因子を解明するのに, さらなる研究が必要である。イソフラボンの骨吸収抑制効果の作用機序はまだ不明であるが, イソフラボンの化学構造と生理的作用が抗骨吸収薬として利用されているエストロゲンと似ていることによるものと考えられる^{5, 62)}。エストロゲンの欠乏は迅速且つ持続的に骨格の再生を引き起こし, その結果, 骨吸収と形成マーカーが平均して 50 ~ 100% 上昇すると報告されている⁶³⁾。ホルモン (エストロゲン) 代替療法は骨吸収マーカーを早くて 2 週間で迅速に低下させ, 3 ~ 6 ヶ月以内に効果が安定すると言われている。

3-2. 大豆イソフラボンサプリメントの血中 BAP と OC への効果

本メタ分析では, 大豆イソフラボンサプリメントの摂取は骨形成マーカーである血中 BAP と OC に対して影響しなかった。感度解析の結果も同様であった。サブグループ解析とメタ回帰では大豆イソフラボンの用量が血中 BAP への効果に関連していることが見られ, 1 日当たり 75 mg 以下の用量を使用した 4 つの研究^{11, 30, 41, 52)}では, 血中 BAP が有意に上昇したが, 1 日当たり 75 mg を超える用量の研究では効果が見られなかった。血中 BAP へ有意な効果を示したサブグループの結果は, 1 日当たり 54 mg ゲニステインを使用した 2 つの研究^{11, 41)}に大きく影響されていた。この用量のゲニステインは他のイソフラボンより骨吸収マーカーを大きく上昇させる効果があることが示唆された。ゲニステインを使用した研究の数が少ないため, その効果を検証するのにさらなる研究が必要である。

エストロゲンにより骨形成マーカーの低下

が遅延することは, 骨の吸収に骨形成が連動する生理的作用を反映しており, 通常では 6 ~ 12 ヶ月でその効果は安定する⁶⁴⁾。骨形成マーカーの変化は骨吸収マーカーの変化より遅れるため, 治療の初期と 6 ヶ月以後に測定することが推奨されている^{5, 62)}。これは, このメタ分析で大豆イソフラボンの BAP と OC への効果が見られないことに関連するかもしれない。なぜなら, BAP のメタ分析に採用された 10 報の研究のうち 2 報, OC のメタ分析に採用された 8 報の研究のうち 4 報は介入期間が 6 ヶ月未満であったためである。6 ヶ月以上介入させた研究の数が少ないため, 大豆イソフラボンの BAP と OC への有意な効果を検出する統計パワーが足りないことも考えられる。

3-3. 大豆イソフラボンサプリメントの NTX, CTX, PINP への効果

大豆イソフラボンの骨代謝マーカー NTX, CTX, PINP への効果を報告した研究の数は少なく, 殆どの研究では, これらの骨代謝マーカーへの効果を認めなかった。1 報の追跡研究では, 1 日当たり 54 mg ゲニステインを 2 年又は 3 年間摂取した群はプラセボに比べ, 血中 CTX が有意に低下したが, 元の 389 名研究対象者のうちわずか 138 名 (脱落率約 65%) のデータが解析されたため, 結果の信頼性が問われる。NTX, CTX, PINP への効果を報告した研究の数が少ないため, メタ分析は行わなかった。これらの骨代謝マーカーへの効果を検証するためにはさらなる研究が必要である。

3-4. 各研究間の異質性

大豆イソフラボンサプリメントの尿中 DPD (図 3), 血中 BAP (図 5) と OC (図 6) への効果について, 各研究間に有意な異質性が見られた。変量効果モデルによる結果を示したが²²⁾, 各研究において大豆イソフラボンサプリメントのこの 3 つの骨代謝マーカーへの効果は大きく異なっていた。大豆イソフラボンサプリメント

の形態と被験者の閉経状態に基づくサブグループ解析では、この2つ因子が尿中 DPD への効果に関連していることを示唆した。残りの3つ因子（被験者の地域、イソフラボンの用量、介入期間）に基づくサブグループ解析及び上記5つ因子に基づくメタ回帰では、大豆イソフラボンの尿中 DPD への効果との関連性を認めなかった。イソフラボン用量に基づくサブグループ解析とメタ回帰ではイソフラボンの用量が血中 BAP への効果に関連していることを示唆したが、他の因子が血中 BAP への効果に関連しないことを示唆した。

各研究間の結果における異質性は現段階では明確にできないが、大豆イソフラボンの習慣的摂取⁵³⁾、閉経期間の長さ⁶⁵⁾、各イソフラボンの化学的構造と組成⁶⁶⁻⁶⁸⁾、被験者の人種の違いに由来すると考えられる。イソフラボン配糖体は健常成人の腸上皮細胞によって完全に吸収されず、その生物利用には、まず腸内 β グルコシダーゼによる加水分解が必要である⁶⁸⁾。アジア人と西洋人はダイゼインをその代謝産物であるエクオールに変換する腸内細菌叢が異なる⁶⁹⁾。エクオールは容易に吸収され、エストロゲン α および β 受容体の両方に結合し、強いエストロゲン様作用を示す⁶⁷⁾。また、エクオールは大豆イソフラボンの骨量減少予防効果にもっとも関与しているとの報告がある⁷⁰⁾。しかし、エクオール産生能の骨への効果を検証するために

は、さらなる研究が必要である。本メタ分析では、解析できる研究の数が限定的であること及び必要なデータが不足しているため、大豆イソフラボンの習慣的摂取、閉経期間の長さ、各イソフラボンの化学的構造と組成、被験者の人種、血中イソフラボンの濃度、尿中イソフラボンの排泄、エクオール産生能等の因子と大豆イソフラボンサプリメントの骨代謝マーカーへの効果との関連を検証できなかった。

3-5. 結論

本メタ分析では、閉経期女性において、大豆イソフラボンサプリメントは骨吸収マーカーである尿中 DPD を有意に低下させたが、骨形成マーカーである血中 BAP と OC に影響しなかったことを示した。また、大豆イソフラボンの DPD への有意な低下効果はエストロゲン或いはビシホスフォネートと比較して中程度であり、イソフラボンと骨粗鬆症治療薬との交互作用を検証する研究が必要であった。大豆イソフラボンの尿中 DPD への効果に関連する因子を解明し、他の骨代謝マーカーへの効果を検証するためには、さらなる研究が必要である。

謝辞

本研究は、部分的に（財）不二たん白質研究振興財団の研究助成金（特定研究）により実施された。

◆ 付 録 ◆

PubMed^a

- #1: soy* OR isoflavone OR phytoestrogen OR genistein OR genistin OR daidzein OR daidzin OR glycitein OR glycitin
 #2: randomized controlled trial [pt]
 #3: random [tiab] OR randomized [tiab] OR randomly [tiab]
 #4: control [tiab] OR controlled [tiab] OR placebo [tiab]
 #5: #2 OR (#3 AND #4)
 #6: #1 AND #5

CENTRAL excluding PubMed^b

- #1: (soy* OR isoflavone OR phytoestrogen OR genistein OR genistin OR daidzein OR daidzin OR glycitein OR glycitin) in Clinical Trials
 #2: "accession number" near pubmed in Clinical Trials
 #3: (#1 NOT #2)

ICHUSHI^c

- #1: 大豆 /TH or 大豆蛋白質 /TH or 大豆 /AL or だいず /AL or ダイズ /AL or イソフラボン /AL or Isoflavones/TH or Genistein/TH or Daidzein/TH or Glycitein/TH or Genistin/TH or Daidzin/TH or Glycitin/TH or soy/AL or isoflavone/AL or genistein/AL or daidzein/AL or glycitein/AL or genistin/AL or daidzin/AL or glycitin/AL
 #2: RD= ランダム化比較試験, 準ランダム化比較試験
 #3: (random/TA or randomized/TA or randomly/TA or ランダム /TA or 無作為 /TA or 割り付 /TA or 割付 /TA or blind/TA or blinded/TA or mask/TA or masked/TA or double-blind/TA or double-blinded/TA or single-blind/TA or single-blinded/TA or single-mask/TA or single-masked/TA or double-mask/TA or double-masked/TA or 盲検 /TA or 遮蔽 /TA) and (control/TA or controlled/TA or placebo/TA or 対照 /TA or プラセボ /TA or 偽薬 /TA)
 #4: #2 or #3
 #5: #1 and #4

CNKI^d

- SU=soy+soya+soybean+isoflavone+phytoestrogen+daizein+daidzin+genistein+genistin+glycitein+glycitin+ 大豆 + 黄豆 + 染料木 + 金雀异黄素 + 异黄酮 and SU=random+control+placebo+ 随机 + 盲 + 对照 + 安慰剂 + 伪药

a [PT] and [TIAB] are PubMed (URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) search field tags of Publication Type and Title/Abstract, respectively.

b CENTRAL, Cochrane Central Register of Controlled Trials (URL: http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/cochrane_clcentral_articles_fs.html).

c ICHUSHI, Japana Centra Revuo Medicina (URL: <http://www.jamas.or.jp>); /TH, /AL, RD, and /TA are search field tags of thesaurus terms, all fields, research design, and Title/Abstract, respectively.

d CNKI, China Naitonal Knowledge Infrastructure (URL: <http://www.cnki.net>); SU, search tag including Chinese and/or English title, keywords, and abstracts fields; +, represents the Boolean term "or" .

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Nielsen TF, Ravn P, Bagger YZ, *et al*: Pulsed estrogen therapy in prevention of postmenopausal osteoporosis. A 2-year randomized, double blind, placebo-controlled study. *Osteoporos Int*, **15**(2):168-174, 2004.
- 2) Seeman E: Estrogen, androgen, and the pathogenesis of bone fragility in women and men. *Curr Osteoporos Rep*, **2**(3):90-96, 2004.
- 3) Garnero P, Sornay-Rendu E, Clausturat B, *et al*: Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res*, **15**(8):1526-1536, 2000.
- 4) Miller PD, Hochberg MC, Wehren LE, *et al*: How useful are measures of BMD and bone turnover? *Curr Med Res Opin*, **21**(4):545-554, 2005.
- 5) Nishizawa Y, Nakamura T, Ohta H, *et al*: Guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis (2004). *J Bone Miner Metab*, **23**(2):97-104, 2005.
- 6) Bjarnason NH, Sarkar S, Duong T, *et al*: Six and twelve month changes in bone turnover are related to reduction in vertebral fracture risk during 3 years of raloxifene treatment in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, **12**(11):922-930, 2001.
- 7) Eastell R, Barton I, Hannon RA, *et al*: Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res*, **18**(6):1051-1056, 2003.
- 8) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet*, **350**(9084):1047-1059, 1997.
- 9) Anderson GL, Judd HL, Kaunitz AM, *et al*: Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA*, **290**(13):1739-1748, 2003.
- 10) Beral V: Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*, **362**(9382):419-427, 2003.
- 11) Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, *et al*: Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res*, **17**(10):1904-1912, 2002.
- 12) Salamone LM, Pressman AR, Seeley DG, *et al*: Estrogen replacement therapy. A survey of older women's attitudes. *Arch Intern Med*, **156**(12):1293-1297, 1996.
- 13) Adlercreutz H, Mazur W: Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med*, **29**(2):95-120, 1997.
- 14) Zhang X, Shu XO, Li H, *et al*: Prospective cohort study of soy food consumption and risk of bone fracture among postmenopausal women. *Arch Intern Med*, **165**(16):1890-1895, 2005.
- 15) Messina MJ: Soy foods and soybean isoflavones and menopausal health. *Nutr Clin Care*, **5**(6):272-282, 2002.
- 16) Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, *et al*: Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, **139**(10):4252-4263, 1998.
- 17) Taku K, Melby MK, Takebayashi J, *et al*: Effect of soy isoflavone extract supplements on bone mineral density in menopausal women: meta-analysis of randomized controlled trials. *Asia Pac J Clin Nutr*, **19**(1):33-42, 2010.
- 18) 卓興鋼, 石見佳子: 大豆イソフラボン抽出物サプリメントの閉経期女性の骨密度への影響 —無作為化比較試験のメタ分析—. *New Food Industry*, **52**(9):1-11, 2010.
- 19) Ma DF, Qin LQ, Wang PY, *et al*: Soy isoflavone intake inhibits bone resorption and stimulates bone formation in menopausal women: meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr*, **62**(2):155-161, 2008.
- 20) Balk E, Chung M, Chew P, *et al*. Effects of Soy on Health Outcomes: Evidence Report/Technology Assessment No. 126. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality;2005. AHRQ Publication No. 05-E024-2.
- 21) Sacks FM, Lichtenstein A, Van Horn L, *et al*: Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for professionals from the Nutrition Committee. *Circulation*, **113**(7):1034-1044, 2006.
- 22) Higgins JPT, Green S (editors). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.0.1 [updated September 2008]. The Cochrane Collaboration, 2008. Available from www.cochrane-handbook.org.

- 23) Jadad AR, Moore RA, Carroll D, *et al*: Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials*, **17**(1):1-12, 1996.
- 24) Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, *et al*: Empirical evidence of bias. Dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. *JAMA*, **273**(5):408-412, 1995.
- 25) Albertazzi P, Steel SA, Bottazzi M: Effect of pure genistein on bone markers and hot flushes. *Climacteric*, **8**(4):371-379, 2005.
- 26) Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, *et al*: Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*, **72**(3):844-852, 2000.
- 27) Arjmandi BH, Khalil DA, Smith BJ, *et al*: Soy protein has a greater effect on bone in postmenopausal women not on hormone replacement therapy, as evidenced by reducing bone resorption and urinary calcium excretion. *J Clin Endocrinol Metab*, **88**(3):1048-1054, 2003.
- 28) Arjmandi BH, Lucas EA, Khalil DA, *et al*: One year soy protein supplementation has positive effects on bone formation markers but not bone density in postmenopausal women. *Nutr J*, **4**:8, 2005.
- 29) Brink E, Coxam V, Robins S, *et al*: Long-term consumption of isoflavone-enriched foods does not affect bone mineral density, bone metabolism, or hormonal status in early postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *The American journal of clinical nutrition*, **87**(3):761-770, 2008.
- 30) Brooks JD, Ward WE, Lewis JE, *et al*: Supplementation with flaxseed alters estrogen metabolism in postmenopausal women to a greater extent than does supplementation with an equal amount of soy. *The American journal of clinical nutrition*, **79**(2):318-325, 2004.
- 31) Chiechi LM, Secreto G, D'Amore M, *et al*: Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. *Maturitas*, **42**(4):295-300, 2002.
- 32) Dalais FS, Ebeling PR, Kotsopoulos D, *et al*: The effects of soy protein containing isoflavones on lipids and indices of bone resorption in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **58**(6):704-709, 2003.
- 33) Gallagher JC, Satpathy R, Rafferty K, *et al*: The effect of soy protein isolate on bone metabolism. *Menopause*, **11**(3):290-298, 2004.
- 34) Harkness LS, Fiedler K, Sehgal AR, *et al*: Decreased bone resorption with soy isoflavone supplementation in postmenopausal women. *J Womens Health (Larchmt)*, **13**(9):1000-1007, 2004.
- 35) Huang HY, Yang HP, Yang HT, *et al*: One-year soy isoflavone supplementation prevents early postmenopausal bone loss but without a dose-dependent effect. *The Journal of nutritional biochemistry*, **17**(8):509-517, 2006.
- 36) Kenny AM, Mangano KM, Abourizk RH, *et al*: Soy proteins and isoflavones affect bone mineral density in older women: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 2009.
- 37) Knight DC, Howes JB, Eden JA, *et al*: Effects on menopausal symptoms and acceptability of isoflavone-containing soy powder dietary supplementation. *Climacteric*, **4**(1):13-18, 2001.
- 38) Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, *et al*: Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA*, **292**(1):65-74, 2004.
- 39) Lydeking-Olsen E, Beck-Jensen JE, Setchell KD, *et al*: Soymilk or progesterone for prevention of bone loss--a 2 year randomized, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr*, **43**(4):246-257, 2004.
- 40) Mackey R, Ekangaki A, Eden JA: The effects of soy protein in women and men with elevated plasma lipids. *Biofactors*, **12**(1-4):251-257, 2000.
- 41) Marini H, Minutoli L, Polito F, *et al*: Effects of the phytoestrogen genistein on bone metabolism in osteopenic postmenopausal women: a randomized trial. *Ann Intern Med*, **146**(12):839-847, 2007.
- 42) Mori M, Sagara M, Ikeda K, *et al*: Soy isoflavones improve bone metabolism in postmenopausal Japanese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **31** Suppl 2:S39-41, 2004.
- 43) Murray MJ, Meyer WR, Lessey BA, *et al*: Soy protein isolate with isoflavones does not prevent estradiol-induced endometrial hyperplasia in postmenopausal women: a pilot trial. *Menopause*, **10**(5):456-464, 2003.
- 44) Nikander E, Metsa-Heikkilä M, Ylikorkala O, *et al*: Effects of phytoestrogens on bone turnover in postmenopausal women with a history of breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, **89**(3):1207-1212, 2004.
- 45) Roughead ZK, Hunt JR, Johnson LK, *et al*: Controlled substitution of soy protein for meat protein: effects on

- calcium retention, bone, and cardiovascular health indices in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, **90**(1):181-189, 2005.
- 46) Spence LA, Lipscomb ER, Cadogan J, *et al*: The effect of soy protein and soy isoflavones on calcium metabolism in postmenopausal women: a randomized crossover study. *The American journal of clinical nutrition*, **81**(4):916-922, 2005.
- 47) Uesugi S, Watanabe S, Ishiwata N, *et al*: Effects of isoflavone supplements on bone metabolic markers and climacteric symptoms in Japanese women. *Biofactors*, **22**(1-4):221-228, 2004.
- 48) Uesugi T, Fukui Y, Yamori Y: Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: a four-week study. *J Am Coll Nutr*, **21**(2):97-102, 2002.
- 49) Upmalis DH, Lobo R, Bradley L, *et al*: Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause*, **7**(4):236-242, 2000.
- 50) Vupadhyayula PM, Gallagher JC, Templin T, *et al*: Effects of soy protein isolate on bone mineral density and physical performance indices in postmenopausal women--a 2-year randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Menopause*, **16**(2):320-328, 2009.
- 51) Wangen KE, Duncan AM, Merz-Demlow BE, *et al*: Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, **85**(9):3043-3048, 2000.
- 52) Wu J, Oka J, Higuchi M, *et al*: Cooperative effects of isoflavones and exercise on bone and lipid metabolism in postmenopausal Japanese women: a randomized placebo-controlled trial. *Metabolism*, **55**(4):423-433, 2006.
- 53) Wu J, Oka J, Tabata I, *et al*: Effects of isoflavone and exercise on BMD and fat mass in postmenopausal Japanese women: a 1-year randomized placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res*, **21**(5):780-789, 2006.
- 54) Xin Y, Yang HY: Influence of daidzein tablets on climacteric syndrome and bone mineral density of women (in Chinese). *Chin J Osteoporosis*, **12**(2):149-151, 2006.
- 55) Xu F, Jin BQ, Wu WP, *et al*: Effects of phyto-estrogens on the bone mineral density and biochemical markers of bone metabolism in postmenopausal women (in Chinese). *Maternal and Child Health Care of China*, **22**(11):1517-1519, 2007.
- 56) Yamori Y, Moriguchi EH, Teramoto T, *et al*: Soybean isoflavones reduce postmenopausal bone resorption in female Japanese immigrants in Brazil: a ten-week study. *J Am Coll Nutr*, **21**(6):560-563, 2002.
- 57) Ye YB, Tang XY, Verbruggen MA, *et al*: Soy isoflavones attenuate bone loss in early postmenopausal Chinese women : a single-blind randomized, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr*, **45**(6):327-334, 2006.
- 58) Ye YB, Su YX: The attenuating effect of soy isoflavones extract on bone loss in postmenopausal women (in Chinese). *Ying Yang Xue Bao*, **26**(1):49-53, 2004.
- 59) Cheong JM, Martin BR, Jackson GS, *et al*: Soy isoflavones do not affect bone resorption in postmenopausal women: a dose-response study using a novel approach with ⁴¹Ca. *J Clin Endocrinol Metab*, **92**(2):577-582, 2007.
- 60) Marini H, Bitto A, Altavilla D, *et al*: Breast safety and efficacy of genistein aglycone for postmenopausal bone loss: a follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*, **93**(12):4787-4796, 2008.
- 61) Arai Y, Watanabe S, Kimira M, *et al*: Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J Nutr*, **130**(9):2243-2250, 2000.
- 62) 日本骨粗鬆症学会骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用に関する指針検討委員会：骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン（2004年度版）. *Osteoporosis Japan*, **12**(2):11-27, 2004.
- 63) Delmas PD, Eastell R, Garnero P, *et al*: The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis Int*, **11** Suppl 6:S2-17, 2000.
- 64) Johansen JS, Riis BJ, Delmas PD, *et al*: Plasma BGP: an indicator of spontaneous bone loss and of the effect of oestrogen treatment in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest*, **18**(2):191-195, 1988.
- 65) Pouilles JM, Tremollieres F, Ribot C: Effect of menopause on femoral and vertebral bone loss. *J Bone Miner Res*, **10**(10):1531-1536, 1995.

- 66) Morito K, Aomori T, Hirose T, *et al*: Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta (II). *Biol Pharm Bull*, **25**(1):48-52, 2002.
- 67) Morito K, Hirose T, Kinjo J, *et al*: Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta. *Biol Pharm Bull*, **24**(4):351-356, 2001.
- 68) Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L, *et al*: Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, **76**(2):447-453, 2002.
- 69) Arai Y, Uehara M, Sato Y, *et al*: Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. *J Epidemiol*, **10**(2):127-135, 2000.
- 70) Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E: The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr*, **132**(12):3577-3584, 2002.
- 71) Taku K, Melby MK, Kurzer MS, *et al*: Effects of soy isoflavone supplements on bone turnover markers in menopausal women: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Bone*, **47**(2):413-423, 2010.

白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸
カルシウム
とは？

古くから食品に使用されている
安全性・吸収性に優れたカル
シウム源です。
用途も栄養強化はもちろんの
こと、練製品の弾力増強など
の品質改良、粉体の流動性
向上・固結防止といった加工
助剤などその目的は多彩です。

分散性・混合性に優れたものや、飲料用として
沈澱を抑制したタイプ等、品揃えしております。

一般の栄養強化には、「ホワイトン」

機能を求めるならば、「コロカルソ」

飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」

詳細につきましては、弊社営業担当に
お気軽にお尋ね下さい。

 白石カルシウム株式会社

食品部：東京都千代田区岩本町 1-1-8 TEL. 03-3863-8913
本社：大阪市北区同心 2-10-5 TEL. 06-6358-1181

News Release



「メトセル™」シリーズ発売について

ユニテックフーズ株式会社は、ザ・ダウ・ケミカル・カンパニー（以下 ダウ・ケミカル）のメチルセルロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）製品、ブランド名「メトセル™」シリーズの販売を開始いたしました。同社が蓄積している処方ノウハウも併せ、特徴ある物性を活かして様々なアプリケーションへの利用を提案してまいります。また当社が取扱っておりますベクチン、カラギナンなどの増粘多糖類と組合せた新しい利用法も開発し提案してまいります。

ダウ・ケミカルについて

ダウ・ケミカルは米国・化学品大手で世界 160 カ国において事業展開しており、年間売り上げは 537 億ドル、従業員数は 5 万人です。セルロース誘導体製品については 60 年以上にわたり製造販売を行っており「メトセル™」シリーズでは FDA の認可を受けた食品グレード及び医薬品グレードをラインナップしています。近年は安定供給を図るための設備投資を続けており、現在アメリカ及びドイツに設けた 6 カ所の cGMP 導入工場幅広い製品群を製造しております。

メトセル™ シリーズについて

メトセル™ シリーズは、ウッドパルプなどの植物素材を主原料とする水溶性のセルロース誘導体で、粘度調整や乳化安定、水分保持などを目的として様々な食品に広く使用されています。メトセル™ シリーズの最大の特長は、高温になるとゲル化し、常温ではゾルに戻る「熱可逆性」が挙げられます。これにより、加熱調理中の食品の保形、保水など安定性を向上させるだけでなく、喫食時の各温度帯での食感を調整することが可能となります。また加熱することで繰り返しゲル化するため、冷凍食品などのレンジアップする食品に適しています。

メトセル™ シリーズには、メチルセルロースおよび HPMC のラインナップがあり、ゲル強度やゲル化温度などから最適なグレードをお選びいただくことができます。

メトセル™ シリーズの応用

食品用グレードのメトセル™ シリーズは世界中で広く使用されており、日々新しいアプリケーションが開発されています。メトセル™ シリーズの主な応用例は次の通りです。

- ・調理食品：離水防止や歩留り向上
- ・フライ製品：吸油率低減やジューシー感改善
- ・ベーカリー製品：ボリュームアップ／小麦製品：食感改良
- ・低カロリー食品：脂肪代替としての食感付与

ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

第6回 南アジア—インドの都市部・農村部の事例1： 乳のみの乳製品

平田 昌弘*

*HIRATA Masahiro (帯広畜産大学)

Key Words：乳加工・乳製品・都市・農村・インド・南アジア

インドには、ユーラシア大陸においてインドのみにしか観られない乳加工技術がある。ライム汁（植物有機酸）を凝固剤にしてチーズを加工したり、加熱濃縮系列群の乳加工を採用したりと、大変珍しい技術が存在している。また、乳製品の菓子である乳菓にも種類が多い。鴛田の報告（1992）からも分かるように、類似した乳加工技術や乳製品がインドでは多種多様に発達している（図1）。新しい乳菓を開発しようとしている菓子職人、和食と乳製品との融合を図ろうとしている開発者には、ぜひインドを訪問されてみられるとよい。斬新なアイデアが得られることであろう。

本稿と次号 Vol.53 No.7 ではインドの都市と農村での事例を中心にして、乳製品の種類とその加工法、そして、利用のされ方について紹介する。インド乳製品の多様性の整理を試みるために、本稿では類型分類法として、乳のみを素材とした乳製品と添加物を付加した菓子的な乳製品とを区別するために、乳のみを原材料として加工した乳製品を「乳のみの乳製品」、乳を主な材料にし、砂糖やナッツ類などを添加して加工した菓子様乳製品を「乳菓」として区別する。「乳のみの乳製品」には、酸乳、バター、チーズ、バターオイル、バターミルク、クリームな

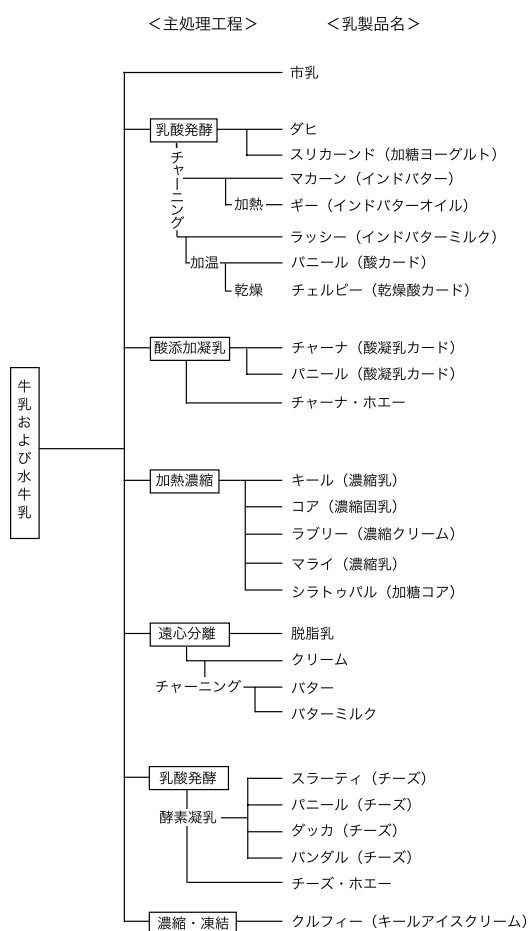


図1 鴛田（1992）によるインドの主な乳加工技術と乳製品の類型分類。

類似した乳加工技術や乳製品が認められる。

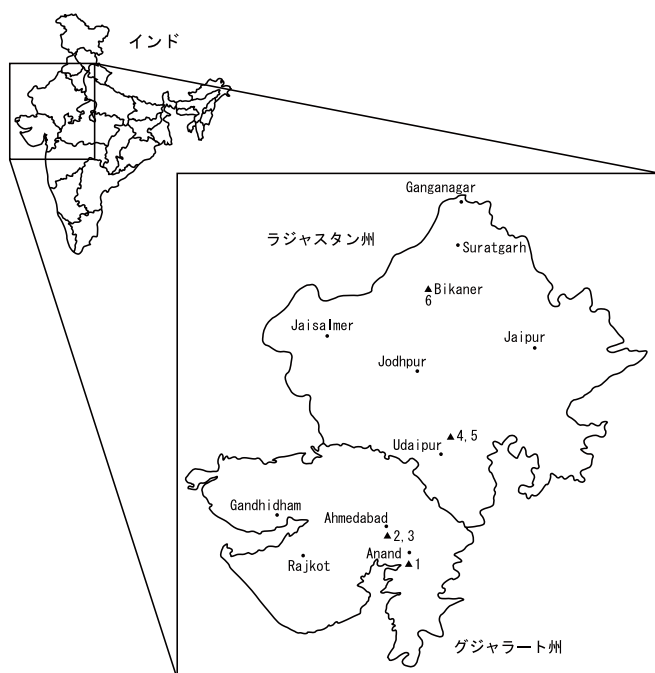


図2 インド西部の都市・農村部における乳加工専業世帯(▲)の調査地点

どを含み、その製造工程は乳のみを原料とした加工技術により構成される。一方、「乳菓」を加工する工程は、「乳のみの乳製品」に添加物を付加し、乳製品を様々な菓子に加工する乳加工技術となる。本稿では、インドの複雑な乳製品の土台となる「乳のみの乳製品」について先ずは報告する。

調査地は、インド西部のグジャラート州とラジャスタン州である(図2)。2003年に都市・農村部を6地点(▲1～▲6)調査した際の観察とインタビューとに基づいている。グジャラート州で聞き取った語彙には(R)を、ラジャスタン州で聞き取った語彙には(G)を、乳製品の語彙の後に付した。

1. 生乳の利用

西アジア、中央アジア、北アジアの牧畜地帯において、牧畜民は生乳をそのままではほとん

ど飲まない。本シリーズで紹介しているように、この生乳不飲は、牧畜民に極めて共通した乳文化である。これには、大人になって乳糖を分解できる酵素が生成されなくなること起因する乳糖不耐症の問題が大きく関係しているものと考えられる。しかし、都市や農村になるほど、生乳はそのまま飲用される量が増える。インドにおいても同様で、都市・農村部では生乳を積極的に飲み、また、生乳を料理に多用している。

インドの都市・農村部の一般消費者の各世帯、小規模な乳製品屋や工場では、個別契約している牧畜民や酪農業者から、生乳が毎日届けられる(写真1)。以下に説明する通り、生乳からクリームを分離することが近年になって発達した。その結果、

全乳の生乳とスキムミルクの生乳とが市場に流通することとなった。全乳の生乳の方が、乳脂



写真1 早朝に搾乳したドゥード(生乳)を契約先世帯に配達する個人業者。

肪率が高く、より旨く、乳加工にも優れている。そこで、消費者や乳業関係業者は、全乳による生乳を確実に得るために、市場の乳製品屋から生乳を購入するのではなく、信頼のおける牧畜民や酪農業者と個別契約し、全乳を直接に配達して貰う傾向が強まっている。届けられた生乳は、直ぐに加熱殺菌される。現在、工場と市場とには、ウシとスイギュウの乳のみ流通し、ヒツジとヤギの乳は牧畜民の自家消費のみに用いられている。かつては、ヒツジ・ヤギの乳も市場に流通していた。しかし、インドに酪農協同組合ができてはじめる 20 世紀中頃からは、より乳脂率の高いウシ・スイギュウの乳が好まれ、結果的にヒツジ・ヤギの乳は酪農協同組合に買い上げられなくなり、ヒツジ・ヤギの乳は市場から姿を消すこととなった。

生乳は、ラジャスタン州とグジャラート州ともにドゥード dudh (R)(G) と呼ばれる。比較的大きめの都市の路上には、屋台のホットミル

ク屋がいたるところに見受けられる (写真 2)。殺菌と濃縮することを意図して、生乳を加熱する。グラスに多めに砂糖を入れて、熱いミルクをたっぷりと注ぎ込む。甘く濃いホットミルクは、体の疲れを優しく癒してくれる。この街角のホットミルク・スタンドバー、家畜品種別や飼養方法別で提供すれば、日本でもはやる販売法になるかもしれない。そして、乳茶としても生乳は頻繁に多量に利用されている。乳茶はチャイと呼ばれる。沸騰した湯に、アッサム茶葉、生乳と砂糖、そして、チャイ・マサラと呼ばれる乳茶用の香辛料や生姜を加えて、乳茶はつくられる (写真 3)。乳茶は、三度の食事や間食時、客人の訪問時などに用意し、1 日に合計 7 度くらいは乳茶を飲んでいる。更に、カレー味に味付けした米料理に、砂糖とたっぷりの生乳を注いで食事にすることも多い (写真 4-A)。米料理に生乳をかけて食べると、味がまるくなる。

このように、生乳を乳茶や料理に利用し、生



写真 2 路上のホットミルク・スタンドバー。煮詰めた乳に砂糖を混ぜて甘く濃い味わいにして供する。



写真 3 チャイ(乳茶)。乳に砂糖、グラム・マサラ(香辛料)、ショウガなどを加えてつくる。

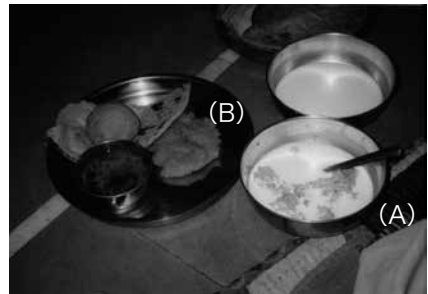


写真 4 生乳はカレー料理(A)や胚珠と混ぜてシーロ(B)と呼ばれる菓子などに利用される。

乳をそのまま摂取する量はインドでは確かに多い。そして、生乳として利用される乳量が多いのに加えて、様々な乳加工にも生乳は多量に用いられている。

2. 発酵乳系列群

酸乳（ヨーグルト）

乳にスターターとして前日の酸乳を加える。約 10 時間静置して乳酸発酵が進むと、ダヒ dahi (R)/dahee (G) と呼ばれる酸乳（ヨーグルト）となる（図 3-1）。酸乳はインド人にとっても好まれており、特に夏には体を冷やすという理由から多量に消費されている（写真 5）。インドの街角を歩いていると、きっとダヒ屋に出くわす。そして、その白さと清々しさに惹かれてきっとダヒを注文してしまう。ダヒを注文すると、目の前で小皿に一人分取り分けて、差し出してくれる。ダヒは、その瑞々しさと爽やかさで、脱水した身体に潤いを与えてくれる。ヨーグルトを目の前で小分け売りするスタイルは日本にはなく、観光地や地域おこしで新しい販売法になれるかもしれない。



写真5 街角のダヒ（酸乳）売り屋。注文すると小分けにして出してくれる。

脱水酸乳（ドライヨーグルト）

酸乳を布の上に曝して脱水する（写真 6-A）。更に、その布を折りたたみ、布と酸乳自体の重さで脱水を進める（写真 6-B）。2 時間ほど静置すれば、マスコ masko (G) と呼ばれる脱水酸乳（ドライヨーグルト）となる。マスコは、チャカー chakka とも広く呼ばれている（Aneja, 1996）。酸味は酸乳よりも強くなっている。脱水酸乳は、そのままでは食されず、乳菓であるシリカンド shrikhand (G) つくりなどに用いられる。

バターとバターミルク

酸乳をチャーニングして、バターであるマカン makhan (R)/makkhan (G) へ加工する（Vol.53 No.5 の写真 4 参照）。現在の小規模な乳製品屋や工場では、バター加工の効率上、クリームをチャーニングしてバターをつくる方が主となっている（写真 7）。チャーニングする際、よりよくバターができるように、冬の場合はお湯を加え、夏の場合は水や氷を加える。これは、チャーニングによるバター加工の適温が 7～13℃であるためである（鷹尾, 1993）。チャーニングは、インドでは伝統的に手動式の回転式



写真6 マスコ（脱水酸乳）づくり。酸乳を布の上に広げて脱水し（A）、酸乳を巻き込むように布を折りたたんで脱水を進める（B）。



写真7 クリームのチャーニングによるバターづくり。温度を下げるための氷が表面に見える。

攪拌棒と土製壺などが用いられている（前号 Vol.53 No.5 参照）。農村や牧畜民の各世帯では、今でもこの攪拌棒と壺とを用いてチャーニングしている。また、20年ほど前から電気式のチャーニング機が普及している。電気式チャーニング機も手動のものと同様に、回転式に攪拌する。しかし、電気式チャーニング機の普及率は依然と低く、多くの世帯では現在も手動でチャーニングをおこなっている。

チャーニングしてバターを収集した後に残ったバターミルクは、チャーシ chhash (G)/ チャーチ chaach (R) と呼ばれる。工場では、バターは更に加工されるが、バターミルクは更に加工されることはほとんどない。バターとバターミルクは共に売却される。

バターオイル

バターのマカンを加熱することにより、ギー ghee (R)(G) と呼ばれるバターオイルに加工する（写真8-A, B）。インドの食文化において、バターオイルは大切な保存食であり、貴重な調味料ともなっている。全粒粉でできたパンにバターオイルをからめて食べると、深く濃厚な味わいがし、それは素晴らしい（写真9）。調理



写真8 バターを加熱してピー（バターオイル）へ加工する（A）。（B）の黄色い液体が、できあがったバターオイル。

油として料理にバターオイルを加えると、風味と香りが増す。インドでは、酸乳と共にバターオイルは日々の食事に欠かせない重要な食材となっている。インド人のバターオイルに対する愛着はとても深い。インドは、旨味を油分で引き出す食文化の国である。日本ではバターオイルはまだ普及していない。バターオイルは加熱しても焦げることはなく、料理の食味を増してくれ、パンとの相性もいい。バターオイルは、日本でこれから新しい乳製品のジャンルを創出してくれるかもしれない。バターオイルはそんな存在である。

先にも説明したように、近代になってバターのマカンは、クリームの加熱から加工されるようにもなった。しかし、バターミルクのチャー



写真9 バターオイルがぬられたロティ（無発酵薄焼きパン）。これに、カレー料理をからめて食べる。

シ/チャーチをつくる都合上、バターオイルへは酸乳のチャーニング経由で加工することが多い。

3. 凝固剤使用系列群—フレッシュチーズ

凝固剤を加えて加工するチーズには、チェナー chhenaa (R) とパニール paneer (G) の2種類がある (図 3-2)。

ラジャスタン州のウダイプル市で観察したチェナーづくりは、乳を沸騰するまで加熱し、タータデー taatadee (R) と呼ばれる凝固剤を加える。タータデーは、粉末の酢酸 15g を水 2 リットルに溶かし、これを前回脱水した際に溜めておいたホエイと 1:1 で混ぜ合わせてつくる。沸騰した乳に、このタータデーを加えると、直ぐに凝固が始まる (写真 10-A)。タータデー添加 1 分後、布に注ぎ出し、凝固物を脱水する。

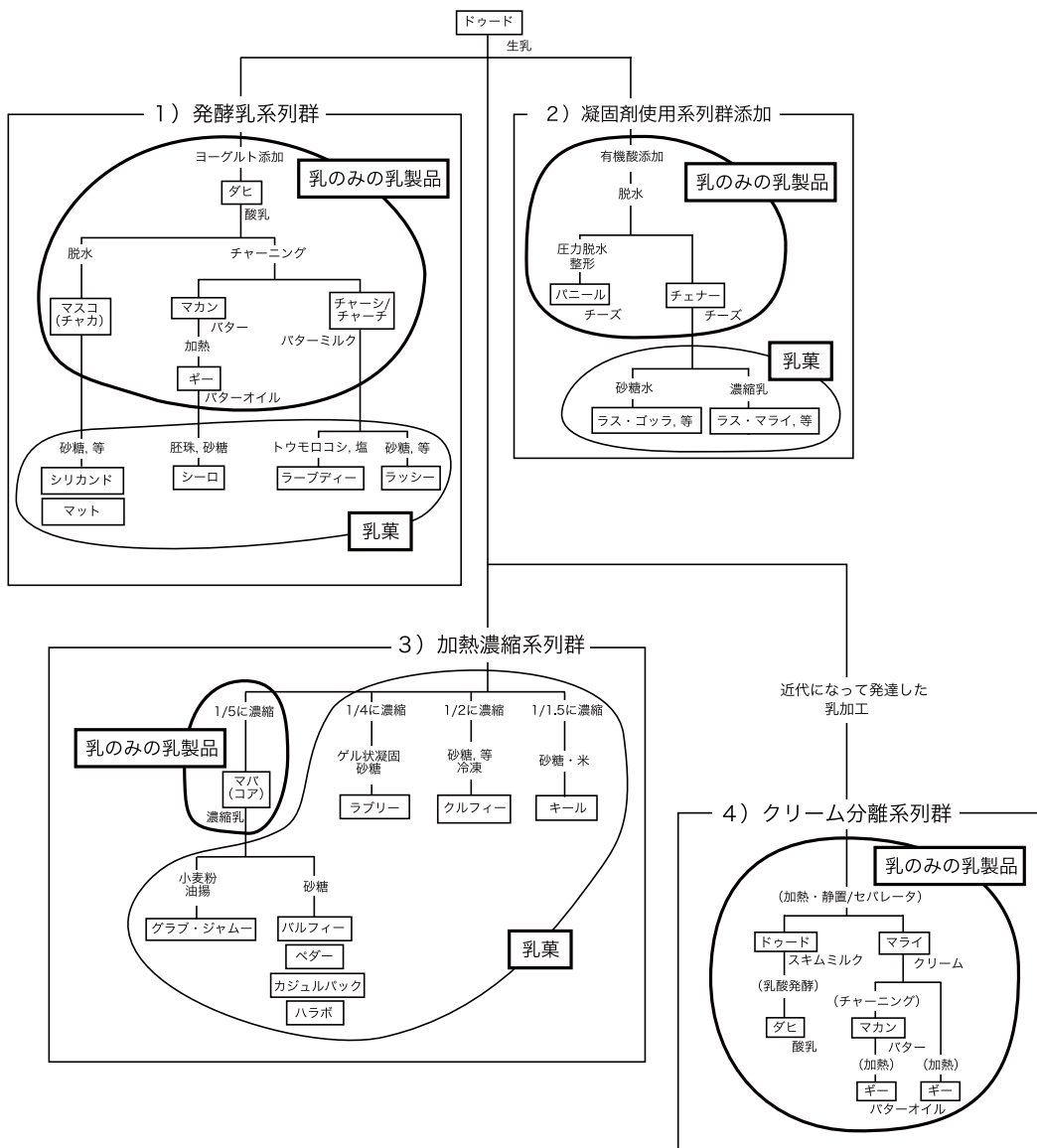


図3 インドの都市・農村部における乳加工体系

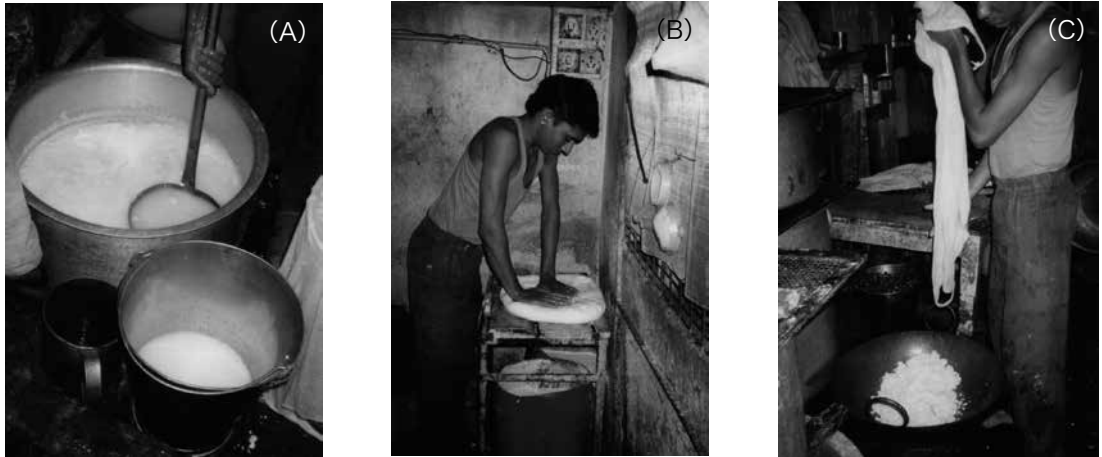


写真 10 チェナー（フラッシュチーズ）づくり。有機酸凝固剤のタータデーを加えると乳は直ぐに凝固する（A）。布に注ぎ、体重をかけて脱水する（B）。（C）はできあがったチェナー。

布で凝固物を包み込み、体重をかけて更に脱水する（写真 10-B, C）。これがチェナーである。フレッシュチーズに相当する。チェナーは、そのまま食されることはなく、様々な乳菓に利用される。かつては、ライムを搾った汁を凝固剤として用いてチーズを加工していたという。現在では、簡便さの理由で、市販の酢酸を利用している。日本の酪農家さんがつくる牛乳豆腐と同じ加工原理である。

一方、グジャラート州のアーナンド市で観察したパニールづくりは、乳を加熱し、凝固剤としてクエン酸を加える。クエン酸を添加すると直ぐに凝固が始まる。乳が凝固したら、穴の空いた容器に移して脱水する。更に、布に注いで、布を手で絞り込んだ後、機械で 30 分ほど強力に加圧し、脱水を進める。この加圧して脱水した凝固物がパニールである（写真 11）。このパニールを更に加工することはない。パニールは成形した後、売却される。パニールは、各世帯でカレー料理に利用したり、サラダに利用したりと、そのまま食されることとなる。

チェナーとパニールの加工で分かるように、インドでは凝固剤に有機酸を適応させており、レンネットを利用することは基本的にない。イ



写真 11 路上のパニール（チーズ）売り屋。パニールは機械で強く圧縮されて固くなっている。

ンドでは、有機酸により生乳の pH を下げて、等電点凝固によりチーズを得ている。このようにインドでのチーズ加工は、都市・農村部でおこなわれており、バターミルクの熱凝固・脱水による発酵乳系列群ではなく、有機酸を凝固剤とする凝固剤使用系列群の乳加工技術を用いてチーズをつくっている。

4. 加熱濃縮系列群—濃縮乳（無糖練乳）

中華鍋風の大型の凹状鍋に、ウシの生乳 20 リットルを注ぐ。強火で終始加熱し、2 つの細長い鉄製の匙を用いて、焦げ付かないように常



写真 12 マバ（濃縮乳）づくり。生乳を強火で常にかき混ぜながら加熱濃縮する（A）。濃縮が終わると、冷却して鍋にこびりついたマバを集める（B）。（C）はできあがったマバ。

に素早くかき混ぜ続ける（写真 12-A）。1 時間ほど強火で加熱すると、柔らかい固形状にまとまった乳製品ができあがってくる（写真 12-B）。これが、マバ mava (G)(R) と呼ばれる濃縮乳である（写真 12-C）（図 3-3）。一般的には、ヒンズー語でコア khoa と呼ばれている（Aneja, 1996）。食感は、甘く、舌にザラザラ感を感じる。生乳 20 リットルからマバは 4.0 ～ 4.5kg くらいできるという。別の事例では、スイギュウの生乳 2 リットルからマバが 400g できるという。つまり、生乳からマバへの加工は、1/5 の量が収集できることになる。加熱するための燃料は、都市部ではガスを用いているが、農村部では今でも薪を利用している。マバや次号 Vol.53 No.7 で説明するラブリーは、都市民や農民が加工し、牧畜民はつくらない。マバは、誰でもがつくる乳製品ではなく、特定の職人によって専門的につくられている。

乳製品屋によっては、生乳を加熱濃縮している間に、砂糖を加えることもある。加える砂糖の量は生乳 20 リットルに対して 1.5kg くらいである。しかし、砂糖を加えずマバをつくる方が一般的である。それは、マバを素材とし、後に様々な乳菓を製造するためである。マバこそは、インドの多様な乳菓の土台材料となり、インドの乳菓を特徴づける存在なのである。

5. クリーム分離系列群—近代に発達した乳製品

1895 年にスイスからクリームセパレータ機 2 台がグジャラート州ナディアッド村 Nadiad に輸入された。このセパレータ機の導入により、インドでクリームの生産加工が始まり、主にイギリス軍人のためにボンベイやアーメダバードの大都市へクリームの供給が始まった（Rutten, 1995：74-75）。以後、クリームとスキムミルクとを売却できること、クリームからのバターオイルへの加工がより多量により効率的におこなえること、スキムミルクからの乳製品も売却できることを主な理由とし、この比較的新しい技術であるクリーム分離は急速にインド全体に普及していった。また、クリーム分離が比較的新しい技術であるとする理由は、1) 牧畜民は基本的にはクリームを分離していない（平田, 2011）、2) クリームを分離してからの加工体系が十分に発達していない、3) 1895 年に初めてセパレータ機が導入されたことからによる。

クリームはマライ malay (R)/malaaee (G) と呼ばれる（図 3-4）。個人のセパレータ業者や乳製品工場では、クリームをセパレータ機で人工的に分離している（写真 13-A）。現在では、牧畜民も生乳をセパレータ業者に持ってゆき、ク



写真 13 マライ（クリーム）を分離する個人セバラーター業者（A）。と一般世帯でおこなわれている静置法によるクリーム分離（B）。

リームを分離している。一方、各世帯でも、生乳を 10 分程度加熱し、一晚静置させ、次の朝、表面に浮上したクリームをスプーンなどで収集することもある（写真 13-B）。クリームは次号 Vol.53 No.7 で説明する様々な乳菓に利用されることとなる。

クリームは、都市や農村の各世帯では、加熱することによりバターオイルであるギーへと更に加工される。一方、都市の小規模な乳製品屋や工場では、クリームをチャーニングによりバターに一旦してから、このバターを加熱することによりバターオイルへと加工している。クリームをチャーニングする際、酸乳を加え

て、1 時間ほどクリームを乳酸発酵させてから、チャーニングを始める。これは、やや酸性となるとチャーニング時間が短縮されるためである（中江，1989）。

クリームを掬い取った後に残ったスキムミルクもドゥードと呼ばれる。このドゥードは、加熱後、スターターを加えて酸乳のダヒにする。都市や農村の世帯では、このスキムミルクからの酸乳を更に加工することはほとんどない。しかし、牧畜民はこの酸乳をチャーニングしてバターにし、残存する乳脂肪を更に抽出することもある。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 鷹尾亨，1993.『牛乳・乳製品の実際知識』東洋経済新聞社，154-155 頁。
- 2) 鴫田文三郎，1992.「インドの乳製品今昔望見」雪印乳業健康生活研究所編『乳利用の民族誌』中央法規出版株式会社，139-154 頁。
- 3) 中江利孝，1989.「乳製品」内藤元男監修『畜産大辞典』養賢堂，961-975 頁。
- 4) 平田昌弘，2003.「インド西部での都市や農村における乳製品とその加工技術—（前編）」『食の科学』310: 24-32.
- 5) 平田昌弘，2011.「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第 5 回 南アジア—インドの牧畜民の事例」『New Food Industry』53(5): 75-81.
- 6) Aneja, R. P., 1996. Traditional Dairy Delicacies: A Compendium. In: R. P. Gupta (ed), *Dairy India 1997*. Baba Barkha Nath Printers, Delhi, India, pp.371-377.

注）本稿は、2003 年に『食の科学』誌に発表した「インド西部での都市や農村における乳製品とその加工技術—（前編）」をもとに大幅に書き改めたものである。

大阪淀屋橋散策 (適塾，道修町界隈)

門脇 修一郎*

* KADOWAKI Shuichiro (株式会社ベネシス)

§ はじめに（商都大阪）

勤務の関係で大阪に住んで5年になります。大阪は京都や奈良ほどには観光地化されてませんが大阪城や住吉大社，天神祭で有名な大阪天満宮などいたるところに歴史を感じることができます。船場という地名をお聞きになったことがあるでしょう。大阪梅田から地下鉄御堂筋線で南に一駅，淀屋橋があります。ここから次の本町，心斎橋にいたる一帯がいわゆる船場と呼ばれる地域で，江戸時代から戦前まで商都大阪の中心として栄えたところです。豪商だった鴻池邸跡，銅座跡，堂島米取引所跡などここかしこに残る遺跡，遺構に往時を偲ぶことができます。銅座というのは銀座ほどにはなじみがない言葉ですが日本は江戸時代を通じて世界有数の銅産出国でした。それで財を成したのが住友です。また堂島の米相場が今日につながる先物取引のさきがけになったのも有名な話です。かつての商都大阪は頼もしかったですね。本稿では会社周辺の散歩コースから薬に関係するところをご紹介します。

§ 適塾案内

私が毎日通勤に使う淀屋橋駅のすぐ近くに緒方洪庵の適塾が史蹟として保存されています。町家風の趣は商家を買い取って塾にしたからです。奇跡的に戦災を免れたのは洪庵の魂が宿っているからでしょうか。適塾が発展して大阪大学の医学部，そして総合大学の大阪大学に発展しました。適塾は今は大阪大学の施設として管理され一般公開されています。建物の1階が洪庵と家族の生活空間，2階が塾生部屋でした。急な階段を上って100畳くらいの塾生部屋に入ると当時の若者たちのむんむんとした熱気を今でも感じるすることができます。畳一枚が塾生一人に割り当てられた空間だったとか。部屋を見渡すと柱に刀傷があったりして殺気を感じますね。ズーフ辞書と呼ばれる蘭和辞典が一冊だけありました。それが置かれたズーフ部屋では塾生が毎晩遅くまで競いあって勉学に励んだと伝えられています。幕末の政情混乱の中，全国から志を抱いた若者がここに集い競い合って勉学に励んだということはそれ自体でひとつの奇跡といえるでしょう。福沢諭吉，大村益次郎はじめ綺羅星の如く人材を輩出し，彼らが明治という新しい時代を様々な分野でリードしたことは良く知られています。私の実家がある福島県からも数



適塾（Wikipedia から）



人の塾生が誕生してるのを展示パネルで確認したときは感激しました。若い学生さんたちには大阪に行ったらぜひ一度訪れてほしい所ですね。当時の適塾の姿や塾生の生活に関しては「適塾の謎」(芝哲夫著, 大阪大学出版会, 1575 円)に興味深く描かれてますので是非ご一読ください。

適塾に関連して興味ある本をもう一冊紹介しましょう。「洪庵のくすり箱」(米田談典著, 大阪大学出版会, 1575 円)です。

緒方洪庵が蘭方医として活躍したのは 150 年前ですが, 当時使用した薬箱が 4 代にわたって緒方家に大切に保存されています。著者は大阪大学薬学部の准教授で, その薬箱に保存された薬物の分析を行う機会を得てこの本の執筆につながりました。薬の保存状態は極めて良く, 駆虫薬として私の世代では子供の頃に飲んだ記憶があるサントニンが現在の使用にも耐えるレベルで保存されてるといのは驚きです。蘭方も漢方も生薬を基本とする点では共通です。ただ蘭方はアルコール抽出など製剤技術に優れておりサントニンのような有効成分の抽出にも成功しました。化学の進歩が背景にあったのですね。適塾でも塾生が中ノ島近くの川に船を浮かべて化学の抽出実験をやったと記録されていますが, 想像しただけで滑稽というか全く危険極まりない話です。蘭方薬は長崎出島を介した輸入品でしたから量も限られた貴重品だったのでしょう。洪庵の薬箱には蘭方薬だけでなく漢方薬も同じくらい保存されていますが, 漢方薬で蘭方薬の不足分を代替したのではないかと著者は想像しています。蘭方薬も漢方薬もそれを届けたのは道修町の薬種商でした。次は道修町をご案内しましょう。

§ 道修町散策

適塾のすぐ南に道修町と呼ばれる通りがあります。大阪の製薬会社が集まってる所として有名です。江戸時代, ここに薬種商が集まって株仲間を結成しました。株仲間は享保年間に 124 株(124 軒)でスタートし株数を増やして明治 5 年まで続いたということです。株仲間解散後も薬種商は結束を維持し発展を続けました。その中から武田, 田辺(現田辺三菱製薬), 塩野義といった今日の日本を代表する製薬会社が育ちました。一方で道修町の薬種商は協力して薬学の教育機関を設立しました。明治 19 年(1886 年)開校の大阪薬学校が今日の大阪大学薬学部に, 明治 23 年(1890 年)開校の大阪道修薬学校が私立の大阪薬科大学につながってます。

大正時代の道修町の地図を見ると薬問屋が軒を接して並んでる姿がよくわかります。武田, 田辺, 塩野義のいわゆる道修町御三家がひととき大きな店を構えているのが目立ちます。3 社の創業時期は田辺が 1687 年, 武田が 1781 年, 塩野義は 1878 年です。田辺が日本最古の製薬会社とばかり思っていたのですが念のため調べてみたら奈良県御所市にある三光丸本店が鎌倉時代から続く日本最古の製薬会社であることがわかり驚きました。その製品の三光丸の名前は後醍醐天皇から賜ったという面白い話がおまけについてます。子供のころに飲んだ記憶がある宇津救命丸も安土桃

山時代から続く企業の秘薬が起源とか。薬の歴史の古さを感じます。しかし今日あるような大手の製薬会社の中では田辺が日本最古といっても間違いではないでしょう。ちなみに世界最古はドイツの MerckKGaA といわれています。1668 年の創業で田辺に先んずることわずかに 19 年でした。話が脱線しますがアメリカの Merck は MerckKGaA の社長の一族がアメリカで創業した会社。血縁関係はあっても資本関係はないということで日本でいうと昔の田辺製薬と東京田辺製薬の关系到近いです。今は両社とも三菱ケミカルホールディングス傘下の田辺三菱製薬に結集してますから歴史は面白いですね。我々になじみのある MerckIndex や MerckManual はアメリカの Merck が提供するもので、一般的にはこちらの会社の方が有名です。

私が最初に道修町を訪れたのは 10 年前頃だったでしょうか。武田、田辺（現田辺三菱製薬）、塩野義、さらには藤沢薬品（現アステラス製薬）、大日本製薬（現大日本住友製薬）、小野薬品といった日本を代表する製薬会社が軒を接するように並んでいる姿を見たときは感動したものです。製薬企業に身を置くものにとっては聖地みたいなところですから。

道修町のシンボルはやはり「少彦名(すくなひこな)神社」でしょう。中国の薬の神様である伝説上の神農皇帝と日本の薬の神様である少彦名尊をお祭りしてます。少彦名神社は神農さんと呼ばれて親しまれてまして、毎年 11 月の 22, 23 日は神農祭で賑わいます。張子の虎の笹飾りをご覧になった方もいらっしゃるのではないのでしょうか。この神社を中心として江戸時代から薬種商が結束して町と事業を隆盛に導いたという歴史があります。株仲間結成に先立つ明暦 4 年（1658 年）に道修町の薬種商 33 人が偽薬の取締りを宣言し、違反者がいたら摘発して届けると奉行所に提出した連判状が今も残されています。そのころから薬の品質管理に厳しい姿勢を示してきた点は賞賛に値します。我々も見習うべきことが多く先人の志を忘れてはいけないと身の引き締まる思いがします。

神社に隣接して「くすりの道修町資料館」があり、江戸時代の株仲間時代の貴重な資料が保存されています。それを基にこうした道修町の歴史を学ぶことができるわけです。観光ガイドにあまり載ってないせいか殆んど見学者は見当たりません。もったいない話です。神社のお参りついでにぜひ立ち寄ってほしい所です（無料です）。また神社の入り口には春琴抄の記念碑が立っています。谷崎潤一郎のこの小説は道修町の薬問屋が舞台だったんですね。昔読んだときは気がつきませんでした。今読み直してみると街の雰囲気とか店の様子とか情景を身近なものとして目に浮かべることが



少彦名神社（ホームページから）



小西家住宅（Wikipedia から）

でき、より味わい深く読むことができます。

少彦名神社と並ぶ道修町のシンボリックな存在は「小西家住宅」でしょうか。黒堀の重要文化財ですが今も接着剤のボンドで有名なコニシの子会社が現役社屋として使っています。現役ですから内部見学はできません。残念です。コニシホームページをご参照ください。<http://www.bond.co.jp/news/history/kyukonishi/pdf/konishi.pdf>

小西家も昔は薬種商でした。洋酒も扱っていてそれがアサヒビールの源流になりました。また社員の一人だった鳥居信治郎が独立してサントリーを設立しました。アサヒビール、サントリーが道修町に縁があったことは興味深い話ですね。今日の話でやっと食と薬が結びつきました。

§ おわりに（食と薬の深い関係）

米国のFDA（食品医薬品局）、日本の国立医薬品食品衛生研究所の名前が示すように食品と医薬品は行政面でも研究面でも密接な関係にあります。また薬食同源という言葉があるように生活や文化面でも切り離せない関係です。栄西禅師の「喫茶養生記」にあるようにお茶も昔は薬でしたし、最近流行の薬膳料理も食と薬をつなぐ楽しいテーマです。道修町の薬種商が扱っていたのは主に漢方薬ですがそのかなりの原料が食材に近いのには驚きます。たとえば誰でも知ってる葛根湯を例にみてみましょう。葛根湯の構成原薬は葛根、麻黄、桂皮、芍薬、甘草、生姜、大棗です。葛根はくずです。桂皮はシナモン。甘草は抗炎症作用がありますがその名のとおり甘味成分で甘味料としても用いられます。生姜はショウガです。風邪に葛根湯といいますが何となくショウガとかシナモンとか風邪に良さそうなものがたっぷり入った甘いくず湯を飲むようなイメージがわきませんか。（実際の葛根湯はくず湯とはまったく別物で慎重使用の漢方薬ですので御注意を！）。原薬のひとつである大棗はナツメで韓国の有名なスープの参鶏湯（サンゲタン）には欠かせません。あとは麻黄と芍薬ですがこれは食材ではないのでちょっと説明しておきましょう。麻黄は発汗作用があり熱を下げる効果があります。有効成分はエフェドリン。麻黄を主成分とする麻黄湯はタミフル並にインフルエンザに効くと一時話題になりました。芍薬は筋肉の緊張を和らげる作用があり、甘草と合わせた芍薬甘草湯はこむらがり（足がつった状態）の特効薬だとか。ここまで読んでくれた方へのお礼としてこっそりお教えしました。足がつった時にお試しを。もっともこむらがりは何も飲まなくても治る場合が多いでしょうけど。

適塾、道修町と会社周辺の散歩コースを案内してるうちに話が食と薬のつながりに発展してしまいました。どちらも人間の生命と健康に関する点では共通で大変重要なものです。今回、食品関係の雑誌に寄稿させていただく機会をいただいたおかげで食と薬の関係を再認識することができ、食に対する関心が高まりました。ありがとうございました。



“薬膳”の知恵 (57)

Key Words : 薬膳 ■ 食養生 ■ 肥満 ■ 茶

荒 勝俊*

人間が体内に脂肪を溜め込む理由は、人類の歴史の中で飢餓に備えて余分な脂肪を体内に蓄えるように進化してきた証である。一方、飢餓の時代が去って飽食の時代になった現在、こうした脂肪を溜め込む機能はメタボリックシンドロームや生活習慣病を引き起こす原因となってしまった。こうした現代社会における肥満の引き金は数多くあり、その背景も昔と今ではずいぶん異なっており、その予防に大きな関心が注がれている。こうした予防に力を発揮するのが中医学的発想から構築された養生法である。

中医学は、《すべての物質は陰陽二つの気が相互作用し、表裏一体で構成されている》と考える（陰陽学説）と、《宇宙に存在する全ての事象は“木・火・土・金・水”と呼ばれる五つの基本物質から成り、その相互関係により新しい現象が起こる》と考える（五行学説）に基づいた独自の整体観から構成されている。中医学における治療は、古代帝王の神農が草木の薬効などを記した「神農本草」を基に、医療技術と調理技術を双方修得した食医がおかれ、医療と食

事を兼ね揃えた“薬食同源”という観点から食療法としての“薬膳”が形成された。即ち、“薬膳”とは《中医学の基礎概念である陰陽五行学説に基づき、健康管理や病気治療のために食材の持つ様々な機能を組み合わせて作った食養生》のことである。薬膳には①食養生としての薬膳と、②治療補助的な意味の薬膳があり、病気予防を目指す薬膳は“養生薬膳”に属している。

中医学において肥満体質は、主に腎と脾の2つの臓器から考える。そして、肥満の原因は、①食べ過ぎ、②食べたものがうまく代謝されない、③食べたものが身体の栄養にならずに脂肪として体内に残ってしまう、という3つに分類される。今月はこうした肥満に対する養生法を紹介する。



1. 肥満と食養生



古代の医学において、肥満は“肥胖（ひはん）”と呼ばれている。中医学の理論では、肥満と関

* ARA Katsutoshi (技術士, 国際薬膳師, 漢方アドバイザー (JACDS), 薬草ガーデンマスター (JGS), 中国茶アドバイザー, 日本茶インストラクター (NIA))

係が深い臓腑は主に「脾」「腎」と考える。脾は食物から栄養分を吸収し全身に運んだり、水分を運ぶ働きがある。陳士鐸が著述した「石室秘録」や喻嘉言が著述した「医門法律」には『肥人多痰，肥乃氣虚也。虚則氣不運行，故痰生也。（肥満者は痰が多く気虚である。虚により気が滞り，痰が生じる。）』と書かれており，肥満者には湿が多い。この“痰湿”の代謝に関係している臓腑が脾と腎である。即ち，肥満とは脾と腎の機能が落ちて代謝が乱れる事で，飲食物の正常な運化作用が低下し，脂肪が体内に溜まった状態をいう。痰湿は体内に溜まって血液を汚し，血液の循環障害（瘀血）となる。この痰湿と瘀血が体内に停滞すると内熱を生じ，体液を消耗し（陰虚燥熱：いんきょそうねつ），多飲・多食・多尿という“三多症状”が出る。

また，活動エネルギーを消費し過ぎた事で脾の機能の原動力である気や陽が不足し，水分などの代謝がうまくいかなくなる事で引き起こされた肥満もある。

1-1. 肥満の中医学的分類

中医学で肥満は，痰湿証（陽証）の脂肪太りタイプと気虚証（陰証）の水太りタイプの二つに分類される。

1) 痰湿証の肥満

痰湿証の肥満は，飲食の不摂生，長期にわたる過食，甘いものや油っこい食べ物の偏食による脾機能の乱れ，代謝異常によって痰湿が生成し，肥満が起こる。

症状の特徴は，赤ら顔の堅太りの外見を呈し，暑がりである。全身や手足が重だるい，便秘症といった症状を呈する。舌質は紅，舌苔は黄膩，脈は滑である。

食治原則として，甘いもの，油っこい食事を控え，食事量を減らす。痰湿とはパイプにこびりついた油汚れの様なものだと考えると良い。パイプの掃除をしてくれる様な痰湿を除く作用のある食材をとり，また，体の余分な熱を取ってくれる平寒涼性の食物をとる。

良く使われる食材としては，西瓜，胡瓜，茄

痰湿証改善の食材	気虚改善の食材
 西瓜  胡瓜  茄子  冬瓜  昆布  白キクラゲ  春菊  大根  黒豆  桃花  菊花  はと麦  桑の葉  蓮の葉	 ニラ  南瓜  トウモロコシ  人参  椎茸  胡桃  トマト  赤小豆  鶏肉  クコの実  棗  茯苓  朝鮮人参  黄芪

図1 肥満の食養生

子、冬瓜、大根、春菊、桃花、昆布、菊花、白キクラゲ、はと麦、桑の葉、蓮の葉、黒豆、などが用いられる（図1）。

2) 気虚証の肥満

気虚証の肥満は、活動エネルギーを消費し過ぎた事で脾の機能の原動力である気や陽が不足し、水分などの代謝がうまくいかなくなる事で余分なものが体に溜まり、肥満が起こる。

症状の特徴は、色白のぼつちりした外見を呈す。寒がりですぐ手足が冷えやすく、息切れがする。疲れやすく、すぐに横になりたがり、食欲もあまりない。新陳代謝が低下した状態なので、顔がむくんだり、少し動いただけで汗をかいたりする。舌質は淡・有歯痕、舌苔は薄白、脈は弱である。

食治原則として、寒涼性の食材を避け、平温熱の食材をとる。気虚による肥満は、水を汲みだすポンプの力が弱くて水が溜まってしまう様なものである。そこでポンプの力を高める為に、気や陽を補い、脾の機能を補う食材をとる。

良く使われる食材としては、ニラ、南瓜、トウモロコシ、人参、椎茸、胡桃、なつめ、枸杞子、茯苓、朝鮮人参、黄芪、鶏肉、トマト、小豆、などが用いられる（図1）。

1-2. 中医薬による肥満の改善

脾と腎の働きを強化し脂肪の分解・代謝を促進させる中医薬として、人参、黄耆、白朮、淫羊藿、何首烏、黄精、などが報告されている。気虚の肥満には、補中益気湯、香砂六君子湯などの補気薬を使用する。気虚証の人は朝食を必ず取り、気の補充をすることが大切である。また化痰降脂（水分の排泄と脂肪の分解）には、陳皮、沢瀉、大黃、決明子、荷葉など、瘀血を改善する活血化瘀薬（血液をきれいにし流れをよくする）としては丹参、蒲黄、などがよく用いられる。

防風通聖散（ぼうふうとうしょうさん）は、当帰、芍薬、川芎、山梔子、連翹、薄荷、生姜、

荊芥、防風、麻黄、大黃、白朮、桔梗、黄金、甘草、石膏、滑石という18種類の生薬を配合した漢方薬で、体力のある太鼓腹の肥満タイプで便秘がちの人に向く処方と報告されている。身体を冷まし病因を消散させる作用や、身体の水分循環を改善して便通をつける作用がある。

1-3. 肥満改善の茶

①決明子山査子茶

山査子の消化を促進する作用（消食化積、助消化、行滞、活血）と、決明子の腸を潤し便をスムーズに出す作用（精肝明目、潤腸通便）、を有するお茶である。ただし、決明子には身体を冷やす作用（甘苦・微寒）があるので、冷え性の人は控えめに飲むと良い様である。

②纖姿茶（ぜんしちや）

台湾高雄市立病院では肥満の患者に対し実際に処方されているお茶である。宿便や脂肪代謝を促進する効果がある。内容成分として、西洋参、川七、金銀花、五葉参、山楂、決明子、陳皮、甘草、絞股藍、杜仲葉、銀杏葉など18種類の生薬が用いられている。

③三爽茶

チベットで健康茶として飲まれている柳茶に、蓮の葉、すぎな、シベリア人参をブレンドしたお茶である。この茶を飲む事で体重や体脂肪が減少したという報告が多く報告されている。このお茶はダイエットの目的のみならず、中高年の基礎代謝の低下によるむくみにも使用できる。

④緑茶（日本茶）

緑茶に含まれているポリフェノールの一つであるカテキンが抗肥満作用を有する事が報告されている。緑茶に含まれるカテキンは、緑茶特有の渋みの元となっている成分で、血中脂質であるコレステロールや中性脂肪を減少させる作用がある。血中脂質を減少させるカテキンのすごいところは、悪玉コレステロールだけを減ら

して、善玉コレステロールは減らさないという点である。

茶にはカテキン、エピカテキン、ガロカテキンなど、主に8種のカテキン類が含まれ、特にカテキンの中でも、エピガロカテキンガレート(EGCg)が最も多く含まれており、その抗酸化作用は最も強い活性を示す。このエピガロカテキンガレートが脂肪代謝を高める効果を有すると言われている。

また茶葉に微量に含まれる茶サポニンが脂肪の吸収抑制効果を有する事が動物実験で報告されている。

⑤ギムネマ茶

ギムネマ茶のギムネマ酸が糖分の吸収を抑えて、糖尿病や肥満を改善する。ギムネマ酸は、糖尿病に効く治療薬としてインドでは古くから用いられており、血糖値、インスリンの上昇抑制効果が報告されている。ギムネマ・シルベスタという植物の葉から抽出されるギムネマ酸は、小腸での糖分の吸収を抑える働きがあり、また、舌が甘みを感じなくなる作用もあるため甘いものを食べたいという欲求が薄れる。そして、腸で吸収されなかった未消化物が食物繊維に似た働きをするので、便秘の解消にも有効である。

⑥普洱茶(プーアル茶)

プーアル茶は後発酵のお茶に分類されており、雲南省で生産される青緑茶を原料とし、渥堆という特別な工程を経て作られる。この渥堆という工程は、茶葉に麹菌を付着させ、水を噴き付けた後に蒸し暑い場所へ保存することで酸化発酵を促す。この渥堆の度合いによって、茶葉は黒や黒褐色に変色することから、黒茶に分類される。プーアル茶の最も重要な効能は、瘦身及び健康効果である。普洱茶に含まれる低分子の重合ポリフェノール分解物が炭水化物の分解酵素を阻害し、摂取した炭水化物の糖への分解が抑えられる。その結果、血糖値が下がり、

エネルギーの代替えとして脂肪の燃焼が促進される。

⑦ジュアール茶

ジュアール茶とは、アフリカの東部を原産とするつばき科の伝説的な野草「ジュアール」を乾燥し、煎じたお茶である。アフリカの東部では古来より薬の代用として万病に効果があると伝承されてきた。ジュアール茶は、活性酸素除去作用の数値が桁違いに高く(緑茶の50倍、ウーロン茶の30倍)、カフェイン、カルシウム、マンガン、鉄分、亜鉛、銅をはじめ、カテキン、ポリフェノール、セレン、といった抗酸化力の高い栄養素も豊富に含まれている。ジュアール茶は、カテキンが緑茶の2倍含まれており、肥満予防効果が高い。このほかジュアール茶には、体に蓄えられた脂肪をエネルギーとして使いやすい形に変え、脂肪の燃焼を強く促す苦み成分のカフェインも多く含まれている。

1-4. 太極拳による体質改善

太極拳はゆったりとした動きの中で深い呼吸に合わせて筋肉の緊張と緩和をゆっくり繰り返す運動であり、全身の経絡の流れを活発にする。また、太極拳は動きの中で精神を集中する事で



図2 八段錦(一段錦)

ストレス解消にも効果が大であり、他の運動競技に比べてエネルギー消費量はそれ程高くないが、健康維持を目指した有酸素運動としては最適なものである。

八段錦^{*1}や練功十八法^{*2}などの中国医療健康体操（養生気功）は、身体の気血の流れを改善し脂肪を燃焼させる事で、心身ともにリラックスし基礎代謝が改善される事で結果的に肥満が解消される。即ち、こうした体操は体内の気の流れをスムーズにし、腹式呼吸により腹腔全体の容量を小さくした状態で体を伸ばしたり、回転したりすることで内臓や神経系の病気治療にも効果があると言われている。さらに、腰の上下運動により足腰の筋肉を鍛えられ、踵を振動させる事で骨に刺激を与えて骨粗鬆症の予防にも効果がある事が証明されている。

例えば、八段錦の中の一段錦（両手托天理三焦）は、胃腸を丈夫にし、お腹のぜい肉を取ると共に肩こりにも効果がある錬功である。この動作は、①足を肩幅に開き自然に立つ。②両手を下腹部あたりで軽く組む。③組んだ手はお腹から拳一つくらい離し、息を全部吐き切る。④息を吸いながら両手をゆっくりと上に持ち上げ、肩の高さまで上げたら組んだ手を下に向け、息を吐きながらゆっくりと丹田まで下ろす。⑤下ろしたら手の力を緩め、息を吸いながら組んだ手をそのまま上方に上げていく。⑥顔のあたりで組んだ手を返して手のひらで天を支える様なイメージで上一杯に伸ばす（肩や腕に力はいれない）。⑦息を吐きながら組んだ手をほどき、

息を吐きながらゆっくりと両手で左右に円を描く様に下ろす（手を下ろす時はボールを水に沈める感じで、上げる時はボールが浮いてくる感じでイメージする）。

今回は《食べ過ぎ》の題材の古典落語を紹介する。

『そば清（そばせい）』は古典落語の演目の一つ。元々は上方落語の『蛇含草』という演目で、3代目桂三木助が東京に移植した。主な演者に4代目三遊亭圓生などがある。『そば清』の題名は主人公、そば好きの清兵衛の名からきたもので、別名を『蕎麦の羽織』、『羽織の蕎麦』とも言う。

【そば清】

江戸時代というものは大体がすいぶんと平和な時代でございまして、皆たいそうにのんびりとしておりました。で、こういう時代には呑む、打つ、買う、という道楽がたいそう発展をいたしました。酒を呑む、蕎麦を食べるなんてのが博打になりました。

蕎麦屋で無駄話をしている江戸っ子連中。蕎麦を食べていた見慣れない男の食いつぶりに感心し、

蕎麦屋常連：「ちょっとあんた、こないだから時々顔をお見せになるけど、お名前、なんとおっしゃる？」

清：「へい、清と申します。」

^{*1} 八段錦：“八段”とは八つの動作（功法に内包された多くの要素も含む），“錦”とは貴い動作（導引の術を集めたもの）を意味し、腹式呼吸と組み合わせる事で錦の布のように連綿としてまとまった健身方法の奥義（気功法）の意味を持つ。八段錦の創設者は定説が無いが、湖南省長沙馬王堆三号墓出土の“導引図”にそれらしきものが見られる。簡単な動きの中に全身の経路への配慮がいきとどいており、どの動作をしてもそれぞれの内臓が刺激され、健康増進の効果が有ると言われている。

^{*2} 練功十八法：中国上海で生まれた保険体操である。ゆっくりと全身の筋肉・間接を引き伸ばす運動を、中国音楽に乗せて行う。首・肩・腰・足の筋肉増強とリハビリに効果が有る事が認められており、中国では“延年益寿”体操と呼ばれている。

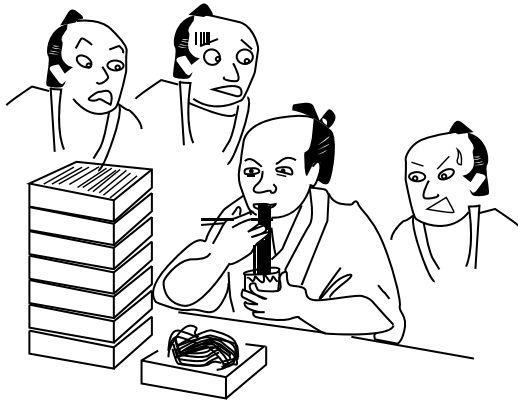


図3 そば清

蕎麦屋常連：「清さんかい。いやいや、昨日までのあなたの蕎麦の食べ口を見てただけだよ。いやあ、見事だねえ。ぴゅーっ、ぴゅーっが入っちゃう。なかなかああはいかないもんだよ。でさ、蕎麦賭けをしようってんですが、どうです。」

清：「ああ… 賭けでございますか。あの、どのくらい？」

蕎麦屋常連：「二十、あんたいつも十枚食べているんだから、蒸籠二十枚で一分じゃどうだい？」

清：「はあ、一分ねえ、これは痛でございますな。でも、本日はみなさんと顔つなぎでございますから、一分差し上げるような事になりますが、よろしくお願いします。」

蕎麦屋常連：「おっ、やるかい。うれしいねえ、どうも。よっ、親方、賭けだよ！二十、頼むよ！」店の方では心得ておりますから、ツツ、ツツと蒸籠が出て来る。

清：「あ、用意できました？有難うございます。ええ、私も引越してきたばかりですし…ズルズル…皆さんのお役に立てれば幸いです…ズルズル…しかし、蕎麦の大食いなんてなかなか出来る物では…ズルズル…何枚食べました？」

蕎麦屋常連：「全部食っちゃったよ、もう。」

清：「そうでございますか。では、掛け金の一分はいただいてまいります。」と言って、すっと帰ってしまう。

シャクに障った江戸っ子連中、翌日二分用意すると、男がやってくるのを待ち構えて…。

蕎麦屋常連：「今度は蒸籠三十枚で二分だ、勝負！」

清：「今度は三十枚。大丈夫ですかねえ…ズルズル…マア、昨日一分いただいたばかりですし…ズルズル…あのまま勝ち逃げするのは人間として…ズルズル…何か申し訳が無いような気が…ズルズル…いただきますからねえ…ズルズル…もう無くなりましたか、それでは掛け金をいただいて。」またすっと帰ってしまった。

啞然となった江戸っ子たちに、店の奥で酒を飲んでいた男が声をかける。

男：「あの人はね、本名を清兵衛さん、通称『そば清』さんという蕎麦の大食いでお有名な人なんですよ。何でも、蕎麦の賭けで家を3件も建てたとか。」

蕎麦屋常連：「早く言えよ、この野郎！」

このまま引き下がっては江戸っ子の恥。やけになった江戸っ子たちは、執念で一両の金を用意して清兵衛さんを待ち構えた。

蕎麦屋常連：「今度は50枚だ！勝ったら一両やろう！」

一両の金には食指が動いたが、流石に50枚も食べる自信の無い清兵衛さん。仕事があるからと店を逃げ出し、そのまま信州へ商売に出かけてしまった。

数ヵ月後、商売を終え、帰ろうとした清兵衛は山中で迷子になってしまう。途方にくれていると、向こうに狩人がいるのを発見。声をかけようとするが、狩人が何かを狙っているのに気づき、それが終わるまで待つことにした。

清：「何を狙っているのかな？」

気になって向こうを覗いてみると、そこに居たのはなんと大蛇！

固唾を呑んで見守っていると、狩人の一瞬の間をついて大蛇が狩人を飲んでしまった。しかし丸呑みはきつかったようで、大蛇の腹はボールのように膨らみ七転八倒。傍に生えていた黄色い草を、長い舌でペロペロ。たちまち膨れていた腹が小さくなって、そのまま向こうへ行ってしまった。

清：「へー、あの草は消化の薬になるんだ。これを使えば…」

清兵衛はほくそ笑み、その草を摘めるだけ摘んで江戸へ持ち帰った。

江戸に戻った清兵衛さんが蕎麦屋に行くと、やはり江戸っ子たちが待ち構えている。

清：「この前の勝負、受けさせていただきましょう！」

蕎麦屋には大勢の野次馬がつめかけ、清兵衛の前に大盛りのそばがずらり。

蕎麦屋常連：「では、はじめましょう」

その速いこと、そばの方から清兵衛の口に

吸い込まれていくようで、みるみるうちに三十、四十…。

このあたりでさすがの清兵衛も苦しくなり、肩で息を始める。

体に毒だから、もうここらで降参した方が身のためだという忠告をよそに、「少し休憩したいから」と言って廊下に出て、障子をピタリと閉めさせて例の草をペロリペロリ。

いつまでたっても出て来ないので、おかしいと思って一同が障子を開けると。

蕎麦が羽織を来て座っていた。

つまり、清さんがうわばみの腹薬だと思った黄色い薬草は蛇含草（じゃがんそう）とも呼ばれる、「人間を消化する」ための薬草だったという落ち。清さんはこれを舐めると腹の中の蕎麦が消化されて無くなると思ったが、実は蕎麦はそのままで清さんだけが溶けてしまった。

*****◀

・・・・・・・・・・・・・・・・引用文献・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 中医学の基礎 平馬直樹・兵頭明・路京華・劉公望監訳 東洋学術出版社
- 2) やさしい中医学入門 関口善太著 東洋学術出版社
- 3) 中医臨床のための中薬学 神戸中医学研究会編著 医歯薬出版
- 4) [詳解] 中医基礎理論 劉燕池・宋天彬・張瑞馥・董連榮著／浅川要監訳 東洋学術出版社
- 5) 東洋医学のしくみ 兵頭明監修 新星出版社
- 6) 中医食療方 瀬尾港二、宗形明子、稲田恵子著 東洋学術出版社
- 7) 全訳中医基礎理論 浅野周訳 たにぐち書店
- 8) 漢方アドバイザー養成講座テキスト 漢方に関する基礎知識編 第二巻 JACDS
- 9) 薬膳と中医学 徳井教孝・三成由美・張再良・郭忻共著 建帛社
- 10) 医学生のための漢方・中医学講座 入江祥史編著 医歯薬出版
- 11) 全訳中医診断学 王憶勤主編 たにぐち書店
- 12) 中医診断学ノート 内山恵子著 東洋学術出版社
- 13) 八段錦 健身気功 楊名時・帶津良一監修 ベースボール・マガジン社
- 14) 楊名時 八段錦・太極拳 楊名時著 海竜社
- 15) 気功革命 治療力 盛鶴延著 コスモスライブラリー
- 16) 気功法の本 学習研究社

築地市場魚貝辞典（マダイ）

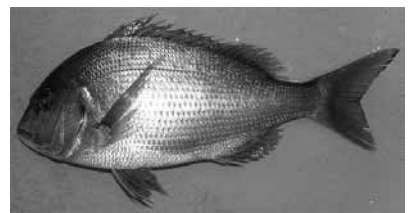
春のうららの隅田川。築地市場は、その隅田川に面している。市場の北側の入り口がかちどき門。その門を出ると、すぐかちどき橋である。ここから上流に向かって、川沿いの遊歩道が整備されている。遊歩道のあちこちには植栽があって、四季折々の花も見られる。築地周辺では、桜はそれほど多くはないが、それでも、桜が咲くと周囲が明るくなったような気がする。水ぬるむ川面を流れる桜の花弁は、春の風景の1つであろう。場内の隅田川沿いには、活魚売り場がある。たくさんの生簀が並び、毎日、生かしたまま日本各地から送られてくる魚が入れられる。北海道から生きたホッケ、九州からのハタの仲間。いろいろな種類にまじってマダイも入荷する。桜色をした生きたマダイは美しい。今回は、そんな春のマダイである。



活魚売場理

一分類一

マダイを分類学的に表すと、スズキ目タイ科マダイ属となる。サメやエイの仲間（軟骨魚類）を除いた魚（硬骨魚類）のうち、スズキ目にはハタやアジ、マグロなど多くの魚が含まれている。マダイもその一員ということは、魚らし



マダイ

い形をした魚の一つといえる。タイ科は、スズキ目の中ではイトヨリダイ（イトヨリダイ科）やフエフキダイ（フエフキダイ科）に近いと考えられている。背鰭のトゲが11本から13本、臀鰭（しりびれ）の

トゲが3本、眼の下から鼻孔周辺に鱗がない、などの特徴があるが、一般には分かりにくい。タイ科にはマダイのほか体色の黒いクロダイやヘダイ、マダイと同じように赤いチダイやキダイが含まれる。マダイ属は体が赤いことと、歯の形からほかのタイ類と区別され、日本ではマダイのみが含まれている。マダイ属はマダイのほか、ヨーロッパから南米沿岸に分布するヨーロッパマダイ、西アフリカに分布するアフリカマダイ、オーストラリアからニュージーランドに分布するゴウシュウマダイなどが知られている。ゴウシュウマダイはマダイとの違いが少なく、同種と考える研究者もいる。

一形態一

外形は、いかにも魚！といった感じの魚らしい形に見える。体の断面は、左右から押したようにやや平たい。頭（鰓穴より前の部分）の大きさは、体長のおよそ1/3。口は大きくも小さくもない。歯は独特で、先端部にはとがった大きな犬歯があるが、その後ろには丸みのある歯が2列に並んでいる。背鰭は1つで、前方の2/3は硬いトゲ、後方の1/3はしなやかな軟条（なんじょう）で支えられている。腹鰭は胸鰭の下あたりにある。尾鰭は中央付近の鰭条（きじょう；ひれすじ）が短く、2又に分かれたように見える。鱗はやや大きく、はがれにくい。

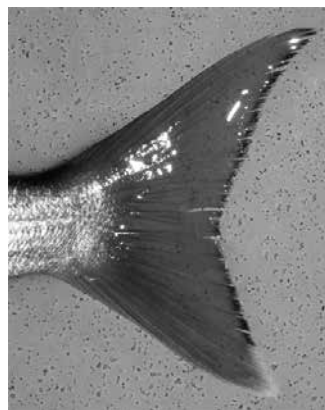
体色は、全身淡い赤、いわゆる桜色であるが、背中側は色濃く、腹側は白い。背中側には、鮮やかな青い小点が散在する。尾ひれの後端は黒く縁取られる。また、下の方は白くなっている。

体長（上顎の先端から尾びれの付根まで）1mになるといわれる。しかし、全長（下顎の先端から尾びれの先端まで）でも1mを超えるマダイを見る機会は少ない。日本の図鑑が書かれるようになったころには、まだそんな大きなマダイがいたのであろうか。

マダイに良く似た魚に、チダイがいる。一見するとマダイと見間違えそうであるが、チダイの鰓蓋（さいがい；えらぶた）の縁が赤く、



丸みのある歯



尾ひれ、縁が黒い

尾ひれの縁は黒くないので区別できる。さらに似ている魚に、オーストラリアやニュージーランドに分布するゴウシュウマダイがある。姿かたちは、ほぼマダイ。違う点といえば、体色が薄いのと、成長したオスのおでこが出っ張ることである。

—生態—

北海道から南シナ海までに分布する。沿岸から沖合の水深 30m から 200m の海底近くを泳ぎ、底にすむ甲殻類や頭足類、貝類などの小動物を食べる。冬季はやや沖合に、産卵期になると岸よりに移動する。産卵期は南で早く北に行くほど遅くなっていて、桜前線のように北上する。九州南部では 2 月から 5 月。本州中部では 3 月から 6 月、新潟県では 5 月から 7 月まで及ぶ。水深 50m 付近の急峻な岩礁で、集団で産卵する。鳴門や東京湾口は有名な産卵場である。1mm 前後の浮遊性の卵を、一度に 200 万から 900 万粒生む。ふ化した稚魚は、岸近くの浅い砂底や藻場で過ごし、夏以降、沖合へ移動する。1 年で体長 10cm, 2 年で 20cm, 3 年で 30cm, 4～5 年で 40cm に成長する。体長が 25cm ぐらいになると成熟しはじめる。

—漁業—

海底近くにすむので、網を船で曳く底曳網や、たくさんの餌を付けた釣り針を仕掛けた縄を海底に沈めた延縄で漁獲される。そのほか 1 匹ずつ丁寧に釣上たり、魚の通り道に仕掛けた定置網もある。各地の水産試験場や栽培漁業センターなどでは、親魚から採卵して稚魚を育て、その稚魚の放流を行っている。また稚魚を生簀に入れ、成魚まで育てる養殖も盛んである。養殖のマダイというと、色が黒く、身質も悪いイメージがあったが、養殖技術も改良され、より赤く天然物に近いマダイが作られるようになってきている。



黒ずんだマダイ

ターなどでは、親魚から採卵して稚魚を育て、その稚魚の放流を行っている。また稚魚を生簀に入れ、成魚まで育てる養殖も盛んである。養殖のマダイというと、色が黒く、身質も悪いイメージがあったが、養殖技術も改良され、より赤く天然物に近いマダイが作られるようになってきている。

築地市場には、鮮魚または活魚で入荷する。水槽の置かれた仲卸店舗を見ると、水槽にマダイの入っていない方が少ないかもしれない。生かしたまま売られているほか、生きて入荷したものを店でメタものが並ぶ店、氷の敷かれたトロ箱に入れられた鮮魚も店先に並んでいる。4 月ごろになると、マダイの産卵時期ということもあって、卵巣（タイの子）を見かけることもある。ほぼ通年入荷するが、4 月から 5 月の入荷量が最も多い。長崎や愛媛、福岡など西日本のほか、日本各地

から入荷する。天然物のほか、養殖のマダイも入荷する。場内では「ようだい」（養殖のマダイの意味）と呼ばれている。

輸入品はニュージーランドから鮮魚のゴウシュウマダイが入荷するほか、ブラジルから冷凍のヨーロッパマダイが入荷する。以前は、空輸されたゴウシュウマダイは、輸入鮮魚の定番であったが、ここ数年、ほとんど見かけなくなった。冷凍のヨーロッパマダイの入荷も少ない。

一利用一

透き通るような白身にほんのりと赤く血合いが乗った身は、見た目にも鮮やかで、生食のほかいろいろな料理に向いている。刺身、寿司、塩焼き、マダイを一緒に炊き込んだ鯛めし、鯛そうめん、椀だね、頭部を甘辛く煮付けた兜煮などなど。酢飯に軽くメたマダイを載せ、柿の葉で包んだ柿の葉寿司もおいしい。洋食のムニエル、ソテー、ブイヤベース、燻製などにも向く。我が家では、新鮮なマダイが手に入ると、身を薄く切って“づけ”にして、小ネギとゴマを振ったものを熱々のご飯に乗せる。そのままでも美味しいが、2杯目はそこへ出汁をかけて茶漬けにして食べるのが定番である。適度な歯ごたえと、旨みが口に広がり、至福のひと時である。

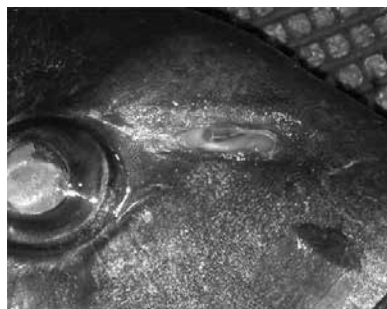
一般にはなじみがないが、卵巣の「鯛の子」も重要な食品であろう。天然物ではまかないきれないので、養殖のマダイを捌いた後に得られる「鯛の子」も入荷するようである。マダイの産卵期は春である。産卵期前の栄養を貯え、また群れで沿岸に集まる春が旬といえるであろう。この時期のマダイは、その体色も桜色で桜鯛と呼ばれる所以である。

一エピソード一

マダイの鼻孔は、ほかの魚と同様に左右2つずつある。しかし、鼻孔が1つに繋がってしまったものは養殖のマダイだと言われて、安価に買い叩かれてしまう。正常なマダイでも1cmぐらいのころは鼻孔が1つしかない。その後、間が塞がって2つになる。ところが人工的に



正常な鼻孔



繋がった鼻孔

種苗生産をすると、餌や飼育密度の関係からか、その過程で孔の間が塞がらず、1つ鼻孔のマダイが見られるようになる。生まれは陸上の施設であっても、その後、海に放流されれば天然のマダイとなんら変わるところはないので、安い1つ鼻孔のマダイは、お買い得かもしれない。



鮮魚



小鯛

キンメダイのように名前に～ダイと付く魚は多い。日本近海に分布するタイ科の魚は13種しかいないので、それ以外はタイではないタイということになる。築地市場に入荷する魚を見てみると、アオダイ（フエダイ科）、アカアマダイ（アマダイ科）、アコウダイ（フサカサゴ科）、イシダイ（イシダイ科）、イトヨリダイ（イトヨリダイ科）、イボダイ（イボダイ科）、キントキダイ（キントキダイ科）、キンメダイ（キンメダイ科）、コブダイ（ペラ科）、マトウダイ（マトウダイ科）、ハマダイ（フエダイ科）、ヒメダイ（フエダイ科）など実に多い。赤い魚ならともかく、銀色の滑らかな肌で馬面のマトウダイなど、どこがタイなのか首を傾げたくなる。これはタイが魚らしい魚なので、～ウオという名前と同じように～ダイと付けられたと考えられる。これも日本人がタイを好んだことの現れであろうか。

マダイの中にあるタイがある。いわゆる「鯛の鯛」である。鰓蓋の後ろ、胸鰭（むなびれ）の付根にある一連の骨の形が一見魚の形に見えるので「鯛の鯛」と呼ばれる。これは、胸鰭を支える骨である



マダイの鯛の鯛

肩甲骨と烏口骨である。魚を食べ終わった後、残った骨の形まで見ていた江戸の人たちは、あわただしい現代の日本人の生活を考えると、より豊かな生活を送っていたような気がしてしまう。

文 献

- 1) 坂本一男：旬の魚図鑑，主婦の友社（2007）
- 2) 仲坊徹次（編）：日本産魚類検索 全種の同定 第2版，東海大学出版会（2001）
- 3) 山田梅芳・時村宗春・堀川博史・中坊徹次：東シナ海・黄海の魚類誌，東海大学出版会（2007）

<http://www.newfoodindustry.com/>

ニューフードインダストリー 第53巻 第6号

印刷 平成 23 年 5 月 25 日

発行 平成 23 年 6 月 1 日

発行人 宇田 守孝

編集人 村松 右一

発行所 株式会社食品資材研究会

〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10(共同ビル新神田)

TEL:03-3254-9191(代表)

FAX:03-3256-9559

振込先:三菱東京UFJ銀行 京橋支店(普通)0070318

三井住友銀行 日本橋支店(当座)6551432

郵便振替口座 00110-6-62663

印刷所 株式会社アイエムアート

定価 2,100円(本体2,000円+税)(送料100円)

email:info@newfoodindustry.com