

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2015 Vol.57 No.10

10

論 説

- クリスパタス菌KT-11株の食品としての機能性と安全性について
- アルカリ抽出米胚乳タンパク質中のPBS (塩化ナトリウム含有リン酸緩衝液) 可溶性分画の免疫調節機能
Immunomodulatory function of a PBS (phosphate buffer containing sodium chloride)
-soluble fraction in alkaline-extracted rice brain proteins
- 澱粉質食品に及ぼすトレハロース添加の影響
The Effect of Adding Trehalose to Starch Based Foods
- イカリ消毒 presents -食品衛生の今- 最近の動向から衛生管理を考える
一般異物混入防止対策の今
- サツマイモ葉身中のカフェオイルキナ酸類分析法の単一試験室での妥当性確認とその活用
- エネルギー密度に注目した食事の選択 - デンシエット (Densiet) -
- 国産果実への抗酸化評価 (H-ORAC) 法の適応 - 国産果実のH-ORAC値と果実成分の関係 -

連 載

- 健康食品のエビデンス 第6回 柿 渋

連載コラム 野山の花 - 身近な山野草の食効・薬効 -

- サネカズラ *Kadsura japonica* (L.) Dunal (マツブサ科 Schisandraceae)

連載コラム 中国の食材 食効・薬効

- 夏バテに効く 緑豆湯 (りょくとう)

隔月連載 組織の活性化と人材の育成～

- -信頼される営業をめざして- ～当社営業部の人材育成への取り組み～

特集◆牡蠣エキス Oyster Extract

- カキ肉エキス生理活性成分の機能解析とその有効利用
- 牡蠣エキスの脂質低下作用 Hypolipidemic activities of oyster extract
- カキ肉エキス摂取の薬物惹起性疾病に対する予防・改善効果
- まるごと濃縮かきエキスTMによる皮膚機能低下の改善およびアルコール吸収抑制作用



論 説

- ☐ クリスパタス菌 KT-11 株の食品としての機能性と安全性について
..... 飛田 啓輔, 渡邊 樹, 黒崎 晃彦 1
- ☐ アルカリ抽出米胚乳タンパク質中の
PBS (塩化ナトリウム含有リン酸緩衝液) 可溶性分画の免疫調節機能
Immunomodulatory function of a PBS (phosphate buffer containing sodium
chloride)-soluble fraction in alkaline-extracted rice brain proteins
..... 大谷 元, 齊藤 雄飛, 田附 里菜, 藤井 幹夫 5
- ☐ 澱粉質食品に及ぼすトレハロース添加の影響
The Effect of Adding Trehalose to Starch Based Foods
..... 平尾 和子, 高橋 節子 15
- ☐ イカリ消毒 presents – 食品衛生の今 – 最近の動向から衛生管理を考える
一般異物混入防止対策の今
..... 尾野 一雄 27
- ☐ サツマイモ葉身中のカフェオイルキナ酸類分析法の
単一試験室での妥当性確認とその活用
..... 佐々木 一憲, 沖 智之, 奥野 成倫 35
- ☐ エネルギー密度に注目した食事の選択 — デンシエット (Densiet) —
..... 奥村 仙示, 多々納 浩 43
- ☐ 国産果実への抗酸化評価 (H-ORAC) 法の適応
— 国産果実の H-ORAC 値と果実成分の関係 —
..... 庄司 俊彦 51

連 載 健康食品のエビデンス 第 6 回

- ☐ 柿 渋
..... 濱舘 直史 58

連載コラム 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

- ☐ サネカズラ *Kadsura japonica* (L.) Dunal (マツブサ科 Schisandraceae)
..... 白瀧 義明 60

Contents

2015 年 10 月号

連載コラム 中国の食材 食効・薬効 No.2

□ 夏バテに効く 緑豆湯

..... 生 宏, 坂上 宏, 白瀧 義明 62

隔月連載

□ 組織の活性化と人材育成～

～信頼される営業をめざして ～当社営業部の人材育成への取り組み～

..... 大泉 浩史 63

特集◆牡蠣エキス Oyster Extract

□ カキ肉エキス生理活性成分の機能解析とその有効利用

..... 武田 厚司, 玉野 春南 71

□ 牡蠣エキスの脂質低下作用 Hypolipidemic activities of oyster extract

..... 田中 一成 76

□ カキ肉エキス摂取の薬物惹起性疾病に対する予防・改善効果

..... 細見 亮太, 春松 慎, 福田 卓, 松田 芳和, 福永 健治, 吉田 宗弘 85

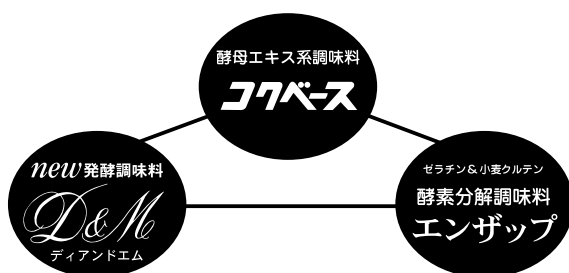
□ まるごと濃縮かきエキスTMによる皮膚機能低下の改善

およびアルコール吸収抑制作用

..... 佐藤 敬, 友澤 寛, 北村 整一, 鏑田 仁人, 山口 和也 91

おいしさと健康に真剣です。

酵素分解調味料なら
大日本明治製糖へ



(新発売!) 乳製品にベストマッチな調味料

コクベス
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。



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

クリスパタス菌 KT-11 株の 食品としての機能性と安全性について

飛田 啓輔 (TOBITA Keisuke) 渡邊 樹 (WATANABE Itsuki) 黒崎 晃彦 (KUROSAKI Akihiko)

株式会社キティー バイオ事業部

Key Words：クリスパタス菌 KT-11 株 抗アレルギー作用 インフルエンザ 歯周病 予防

はじめに

クリスパタス菌 (ラクトバチラス・クリスパタス) は、哺乳類の消化管をはじめ、膣や口腔内に常在する乳酸菌の一種である。一般的に、膣内優勢細菌であるクリスパタス菌は、通常分娩では出産の過程において新生児の消化管に移行し、速やかに腸内細菌叢を形成すると考えられている。一方、帝王切開で誕生した乳児は、経膣分娩で誕生した場合と比較して、感染症やアレルギーの発症リスクが高まることが知られている。これは、帝王切開分娩では膣内優勢細菌であるクリスパタス菌の母子間伝播が成立しないことに起因すると考えられる。すなわち、母子間伝播により受け継がれたクリスパタス菌は、新生児の感染症やアレルギー発症リスクを低減することが推察できる。そこで、著者らは母親から受け継ぐクリスパタス菌が、免疫力を調節する優れた力を有しているとの仮説に基づき、通常分娩により誕生した健康な乳幼児の腸管に常在するクリスパタス菌を検索したところ、感染症やアレルギー症状を強く改善する KT-11 株を見出した。本稿では、これまでに得られたクリスパタス菌 KT-11 株の食品としての保健機能に関するデータを中心に、抗アレルギー作用、抗インフルエンザ作用、歯周病の改善作用、および安全性について紹介する。

1. KT-11 株による抗アレルギー作用

近年、アレルギー患者が急増しており、3 人に 1 人が何らかのアレルギー疾患に罹患していると言われている。このように、歯止めの利かないアレルギーの蔓延は社会問題と化している。アレルギー蔓延の原因については諸説あるが、国内における帝王切開分娩率は、1990 年では約 10%、2011 年では約 20% と、20 年間で約 2 倍に上昇している。このことは、帝王切開分娩率の上昇が母子間におけるクリスパタス菌の伝播を阻害することで、アレルギー蔓延の引き金になっているものと推察される。そこで、著者らはアレルギー罹患モデルマウスを用いて、アレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎に対する KT-11 株の改善効果を調べたところ、KT-11 株の摂取によりアレルギー症状が改善されることを確認した^{1,2)}。また、毎年スギ花粉が飛散する春先において花粉症を発症する健康なボランティアに対して、KT-11 株を 1 日 50 mg を含む錠剤を 1 月中旬から 90 日間毎日摂取させたところ、例年と比較して症状が緩和されることを明らかにした (未発表データ)。このように、クリスパタス菌である KT-11 株を摂取することで、アレルギー症状を改善に導くことが期待できる。

ところで、アレルギーは、その発症のメカニズムの違いにより I 型～IV 型の 4 つに大別さ

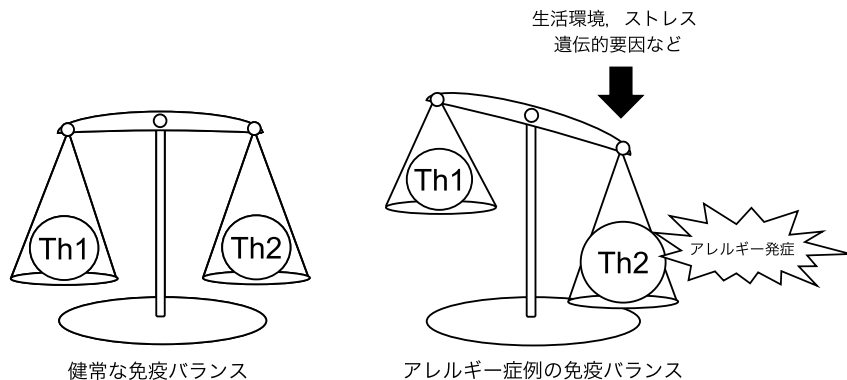
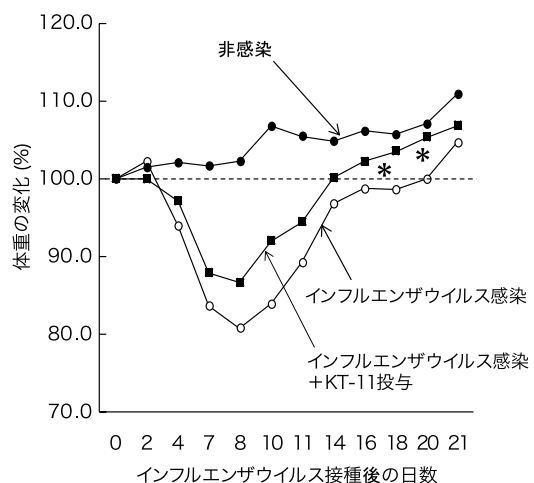


図1 Th1/Th2 バランスとアレルギー発症

れる。その中でも、とりわけ高い頻度で発症する花粉症やアレルギー性皮膚炎の多くは、イムノグロブリン E (IgE) が発症に関与する I 型アレルギーに分類される。我々の免疫系は、司令塔の役割を果たす I 型ヘルパー T 細胞 (Th1) と II 型ヘルパー T 細胞 (Th2) により巧みに調節されている。しかし、アレルギー患者では、Th1 と Th2 のバランスが Th2 優位となり、血液中のアレルゲンに対する IgE レベルの上昇が顕著に観察されることから、I 型アレルギーの発症には Th1/Th2 バランスの破綻が関わっていると考えられている (図 1)。KT-11 株は、Th1 の誘導を介して Th1/Th2 バランスの是正を促すとともに、既知の乳酸菌と比較しても高い Th1 誘導作用を有することが確認されている¹⁾。さらに、加熱処理を加えることで、その作用が高まることも特徴の一つである。このように、KT-11 株は Th1/Th2 バランスの是正を介して、アレルギー症状を改善に導くことが明らかにされている。

2. KT-11 株による抗インフルエンザ作用

インフルエンザは、インフルエンザウイルスの感染が招く急性の呼吸器系感染症であり、国内では毎年 12 月から 3 月の冬季に全国的な流行を起こす。インフルエンザウイルスは、上気道へ感染して急激に増殖し、急性の気管支炎を引き起こす。免疫力の弱い乳幼児や高齢者は、



飛田 (2015) より図を一部改変

図2 抗インフルエンザ作用

感染すると重症化を招きやすく、稀に肺炎を併発するなどして死に至らしめる。したがって、乳幼児や高齢者においては日常的にインフルエンザウイルスによる感染を予防できることが望ましい。

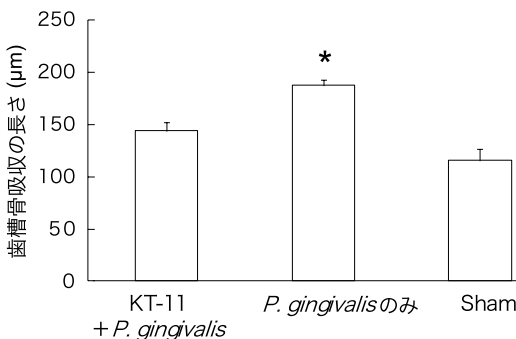
このような背景に基づき、著者らは KT-11 株による抗インフルエンザ作用について調べた³⁾。まず、KT-11 株をマウスに経口投与した後、インフルエンザ H1N1 ウイルスを経鼻接種し、インフルエンザウイルスの感染に伴う体重の変化率を観察した。図 2 に示した通り、体重変化率はインフルエンザウイルス感染群ではインフ

ルエンザウイルスの接種 8 日目に約 20% 低下し、10 日目より上昇した。一方、インフルエンザウイルス感染+KT-11 株投与群では、インフルエンザウイルス感染群と比較した場合、体重の減少は穏やかであり、18 日目および 20 日目において有意な差が認められた。このように、KT-11 株はインフルエンザウイルスの感染による重篤化を予防することが明らかとなった。

3. KT-11 株による歯周病の改善作用

近年、歯周病罹患率は増加傾向にある。例えば、国内における歯周病罹患率は、20 歳から徐々に増加し、55 歳以上になると 40% 以上になると言われている。歯周病は、歯と歯肉の隙間から侵入した細菌が歯肉周辺の炎症を引き起こす、口腔内の炎症性疾患である。一般的に、歯周病の病態では、歯を支える歯槽骨の吸収が高い頻度で観察される。さらに、興味深いことに、歯周病は糖尿病、心血管疾患、呼吸器感染などの全身疾患を引き起こす原因となりうるということが報告されている。したがって、歯周病予防は単に口腔疾患の予防ではなく、全身的な健康維持として注目されてきている。

Taguchi らは、歯周病を引き起こす細菌の一種である *Porphyromonas* (*P.*) *gingivalis* を口腔感染させた歯周病モデルマウスを用いて、KT-11 株の摂取による歯槽骨吸収の抑制作用について報告した⁴⁾。すなわち、マウスに KT-11



Taguchi et al. (2015) より図を一部改変

図3 歯周病の改善効果

株を含む飼料を摂取させた後、*P. gingivalis* を口腔感染させ、歯周病の症状を観察した。その結果、KT-11 株含有飼料を摂取させたマウスでは、歯槽骨吸収の長さは顕著に抑えられていた(図3)。また、KT-11 株の摂取により唾液中の総 IgA や血液中の *P. gingivalis* に特異的な IgG レベルの上昇が観察された。これらの結果から、KT-11 株の摂取は *P. gingivalis* の感染に対して、口腔内や全身における免疫応答を誘導することで、歯周病の症状を改善されるというものである。

一方、著者らは、健康なボランティア 7 名に対して、KT-11 株を 1 日あたり 30 mg を 2 週間、毎日摂取させたところ、唾液中の IgA レベルは摂取前と比較して約 20% 上昇することを観察した(未発表データ)。唾液中の IgA は、歯周病や齲歯の原因となる細菌の感染を阻害し、口腔内環境を正常に保つ重要な役割を担う(図4)。したがって、KT-11 株は口腔内の IgA レベルを上昇させることで歯周病菌の感染を阻害し、歯周病の改善に導くことが推察された。このように、KT-11 株の摂取は、歯周病の予防や改善において極めて有用であることが考えられる。

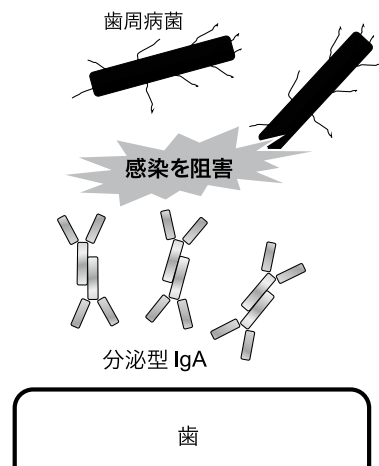


図4 IgA による歯周病菌の感染阻害(イメージ)

4. 安全性

一般的に、乳酸菌は乳製品や漬物などの発酵食品を介して十分な食経験を有するとともに、様々な生物の消化管内に常在し、宿主に有益な作用をもたらすことは周知のとおりである。なお、これらの事実は乳酸菌の一種であるクリスパタス菌 KT-11 株についても例外ではないが、著者らは KT-11 株について独自で安全性を調べた(表 1)。その結果、マウスやラットにおいて体重 1 kg あたり 2,000 mg の単回投与、またはビーグル犬において体重 1 kg あたり 900 mg を 3 ヶ月間、毎日投与した場合においても毒性は認められなかった。また、健康なボランティアに対して 1 日 1,000 mg を 2 ヶ月間、毎日投与した場合においても有害事象は観察されなかった。さらに、小核試験や Ames 試験によって遺伝毒性について調べたところ、染色体異常誘発作用や変異原性は認められなかった。これらの結果から、KT-11 は日常的に摂取する上で、安全性において何ら問題はないことが示された。

表 1 KT-11 株の安全性試験

安全性試験	対象	投与量
単回投与試験	マウス・ラット	2,000 mg/kg
反復投与試験 (3 ヶ月間)	ビーグル犬	900 mg/kg/ 日
反復投与試験 (2 ヶ月間)	健康なボランティア	1,000 mg/ 日
小核試験	げっ歯類	-
Ames 試験	細菌 5 種	-

おわりに

本稿では、クリスパタス菌 KT-11 株の抗アレルギー作用、抗インフルエンザ作用、歯周病の改善作用、および安全性について解説してきた。以上のように、クリスパタス菌 KT-11 株は高い安全性を有するとともに、アレルギー疾患や感染症の症状を改善することが明らかになっている。また、これらの機能性や安全性データに基づき、KT-11 株は花粉症対策やオーラルケアを目的としたサプリメント、食品、ペットフードなど、様々な用途において活躍の場を広げている。

参考文献

1. Tobita K, Yanaka H, Otani H.: Heat-treated *Lactobacillus crispatus* KT strains reduce allergic symptoms in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**: 5586-5590, 2009.
2. Tobita K, Yanaka H, Otani H.: Anti-allergic effects of *Lactobacillus crispatus* KT-11 strain on ovalbumin-sensitized BALB/c mice. *Animal Science Journal*, **81**: 699-705, 2010.
3. 飛田 啓輔：マウスにおけるインフルエンザウイルスの感染とマクロファージのサイトカイン産生に及ぼす加熱処理 *Lactobacillus crispatus* KT-11 株の影響。日本食品科学工学会誌, **62**: 130-134, 2015.
4. Taguchi C, Arikawa K, Saitou M, Uchiyama T, Watanabe I, Tobita K, Kobayashi R, Kurita-Ochiai T, Nasu I.: Orally ingested *Lactobacillus crispatus* KT-11 inhibits *Porphyromonas gingivalis*-infected alveolar bone resorption. *International Journal of Oral-Medical Sciences*, **13**: 102-109, 2015.

アルカリ抽出米胚乳タンパク質中の PBS（塩化ナトリウム含有リン酸緩衝液）可溶性分画の免疫調節機能

Immunomodulatory function of a PBS (phosphate buffer containing sodium chloride)-soluble fraction in alkaline-extracted rice brain proteins

大谷 元 (OTANI Hajime)^{1,2} 齊藤 雄飛 (SAITO Yuhi)^{1,3} 田附 里菜 (TADUKE Rina)¹
藤井 幹夫 (FUJII Mikio)³

¹ 信州大学学術研究院（農学系）大学院農学研究科 機能性食料開発学専攻

² 信州大学名誉教授，伊那食品工業（株）顧問，（株）キティー顧問

³ 亀田製菓株式会社

Key Words：米胚乳タンパク質 グロブリン パリエル板細胞培養系 Balb/c 系マウス 経口摂取
I 型アレルギー 抗アレルギー IL-10誘導

はじめに

近年，食品成分の有する生活習慣病をはじめとした疾病予防機能が注目され，それらの機能をヒトで科学的に証明した食品にその機能を表示できる食品（特定保健用食品）がわが国では法律により許可される仕組みが出来ている。

特定保健用食品の有効成分は，私たちが日常摂取している天然界の食物中のものでなくてはならず，大豆タンパク質や牛乳タンパク質およびそれらの消化により生じるペプチドを原料にしたものは皆無ではない。しかし，米タンパク質やそのペプチドを原料にしたものは皆無であるばかりではなく，米タンパク質やその消化物の免疫調節機能をはじめとした保健機能に関する研究報告は殆どないのが現状である。

そのような現状に鑑み，筆者らは先に完全栄養で飼育している健常マウスに，牛乳全カゼイン，牛乳ホエイタンパク質濃縮物，大豆タンパク質又はアルカリ抽出米胚乳タンパク質を1日あたり5mg胃内に5週間直接経口投与したときの免疫機能を比較検討した¹⁾。その結果，大豆タンパク質を投与することにより自然細胞

性免疫系が他のタンパク質を投与した場合よりも顕著に強くなること，並びに牛乳タンパク質の投与は獲得免疫系に対して他のタンパク質を投与した場合よりも顕著に抑制的に働くことが示された。しかし，アルカリ抽出米胚乳タンパク質の投与では，特徴的な免疫系の変化は確認できなかった。その要因として，米胚乳タンパク質は溶解性により，水溶性のアルブミン，塩可溶性（塩化ナトリウム含有リン酸緩衝液，PBS）のグロブリン，エタノール可溶性のプロラミンおよびアルカリや酸可溶性のグルテリンに大別され²⁾，特にプロラミンとグルテリンの消化液に対する溶解性が極めて低いことやプロラミンの消化性が極めて低いこと³⁾などに起因することが考えられた。

一方，免疫調節機能の研究は，実験動物への経口投与試験と並行して，免疫細胞培養系を用いて行われている。しかし，細胞培養系を用いての研究では，全ての試験試料が培養系で完全に溶解することが不可欠である。その理由は，すべての試験成分が完全に溶解していないと試験試料の膜殺菌ができず，細菌やその成分が混

入するためや、溶解状態の異なる複数成分が存在すればどの成分の作用を見ているのかが正確に把握できず再現性が取りにくいためである。アルカリ抽出米胚乳タンパク質標品の主要タンパク質は PBS 可溶性タンパク質のグロブリン、エタノール可溶性タンパク質のプロラミンおよび酢酸可溶性タンパク質のグルテリンである⁴⁾。そのために、アルカリ抽出米胚乳タンパク質標品をそのまま細胞培養系に加えて培養すると、殺菌が十分でないことやどの成分の作用を見ているのかが明らかでないという問題が生じる。

そこで、本小論では、まず、亀田製菓株式会社で調製されたアルカリ抽出米胚乳タンパク質標品から、1M 塩化ナトリウムを含む 0.01M リン酸緩衝液（pH7.2, 以後、PBS という）可溶性分画を調製し、それを SDS- ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した後、クマシーブルー染色、およびグロブリン、グルテリン又はプロ

ラミンに対する抗体で染色した。その結果、図 1 に示すように PBS 可溶性タンパク質は 22-23 kDa の α -グロブリン抗体で染色されたが、図には示していないがグルテリンおよびプロラミン抗体では全く染色されなかった。そこで以下に、まず PBS 可溶性アルカリ抽出米胚乳タンパク質、すなわち、米胚乳中の主として 22-23 kDa α -グロブリンの健常マウスパイエル板細胞培養系での免疫調節機能を述べる。

1. 健常マウスから調製したパイエル板細胞培養系におけるアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画の免疫調節機能

6 週齢オス健常 C3H/HeN 系マウスから調製したパイエル板細胞に 0, 10, 50 および 100 μ g/mL の PBS 可溶性アルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画を添加して 18 時間又は 48 時間培養し、培養後のパイエル板細胞の IFN- γ , TNF- α , IL-6 および IL-12 の mRNA 発現、並びに IFN- γ 陽性 CD49b 陽性細胞, TNF- α 陽性 CD49b 陽性細胞, IL-6 陽性 CD11b 陽性細胞, IL-12 陽性 CD11b 陽性細胞および TNF- α 陽性 CD11b 陽性細胞割合を調べ、その結果をそれぞれ図 2 および図 3 に示した。まず、図 2 から、PBS 可溶性分画はマウスパイエル板細胞の IFN- γ , TNF- α , IL-6 および IL-12 の mRNA 発現を無添加の場合と比べて有意に ($P < 0.01$) 増強し、特に IFN- γ の増強作用は無添加の場合よりも 50 および 100 μ g/mL の添加により約 50 倍高くなることがわかる。また、図 3 から、PBS 可溶性分画はパイエル板細胞の IFN- γ 陽性 CD49b 陽性細胞, TNF- α 陽性 CD49b 陽性細胞, IL-6 陽性 CD11b 陽性細胞, IL-12 陽性 CD11b 陽性細胞および TNF- α 陽性 CD11b 陽性細胞割合を有意に増やすことがわかる。

免疫系の調節はサイトカインにより行われる。サイトカインとは、細胞から生産され、細胞の活性化、増殖および分化を調節するタンパク質である。サイトカインは、主に T 細胞, B 細胞, ナチュラルキラー細胞, マクロファージ

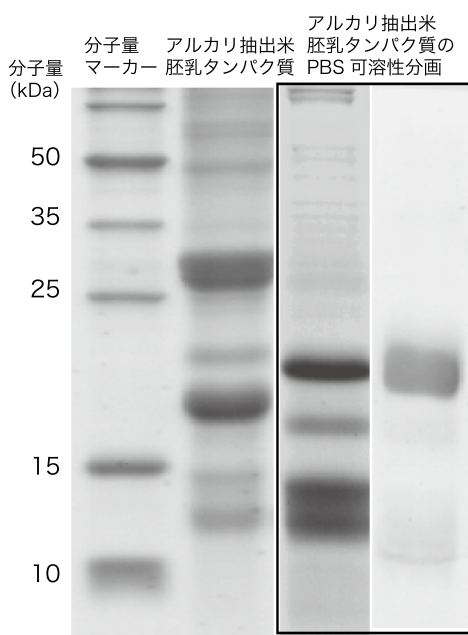


図 1 アルカリ抽出米胚乳タンパク質とその PBS 可溶性分画の SDS-PAGE

分子量マーカー、アルカリ抽出コメ胚乳タンパク質、並びに PBS 可溶性分画の左側のカラムはクマシーブルー染色を行ったものであり、PBS 可溶性分画の右側のカラムは、 α -グロブリン抗体で染色したものである。

などの免疫細胞から生産され、自己や他の免疫細胞に作用することにより免疫系を調節する。その調節には、特に T 細胞の生産するサイトカインが重要であると言われている。すなわち、ナイーブ T 細胞はマクロファージや抗原提示細胞から抗原の情報を得ると、細胞性免疫

に関わる Th1 細胞、獲得液性免疫に関わる Th2 細胞および免疫系の制御に関わる Th3 細胞に分化する⁵⁾。Th1 細胞の生産するサイトカイン（Th1 型サイトカインと言う）には IFN- γ 、IL-2 および IL-12 などがあり、Th2 型サイトカインには IL-4 や IL-5 があり、Th3 型サイトカインには IL-10 がある。そのために、Th1、Th2 および Th3 型サイトカインの生産性を調べることで、どのような免疫系が影響を受けるかを予測することができる。そこで、本小論では、健常マウスのパイエル板細胞をアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS- 可溶性分画存在下で 18 時間培養し、培養後の IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 および IL-12 の mRNA 発現を米胚乳タンパク質無添加での培養の場合と比較したところ、アルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画添加での培養により、調べたすべてのサイトカインの mRNA 発現が分画無添加の場合よりも有意に高くなり、特に IFN- γ の mRNA 発現は無添加の場合よりも 50 倍以上高くなった（図 2）。

そこで、健常マウスのパイエル板細胞をアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS- 可溶性分画存在下で 48 時間培養し、培養後の IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 および IL-12 生産能のある細胞の

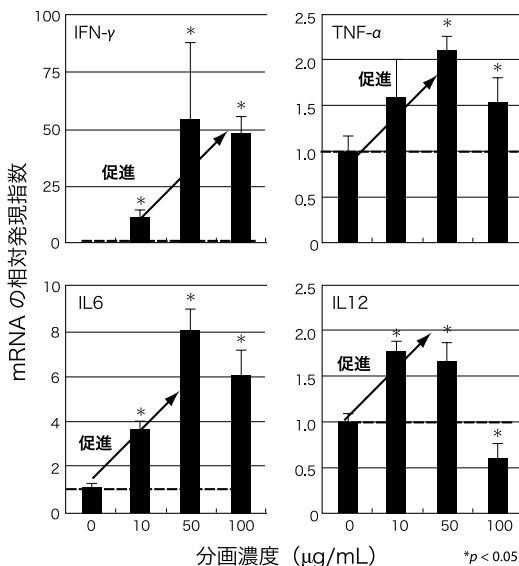


図 2 PBS 可溶性分画と培養したパイエル板細胞のサイトカイン mRNA 発現レベル

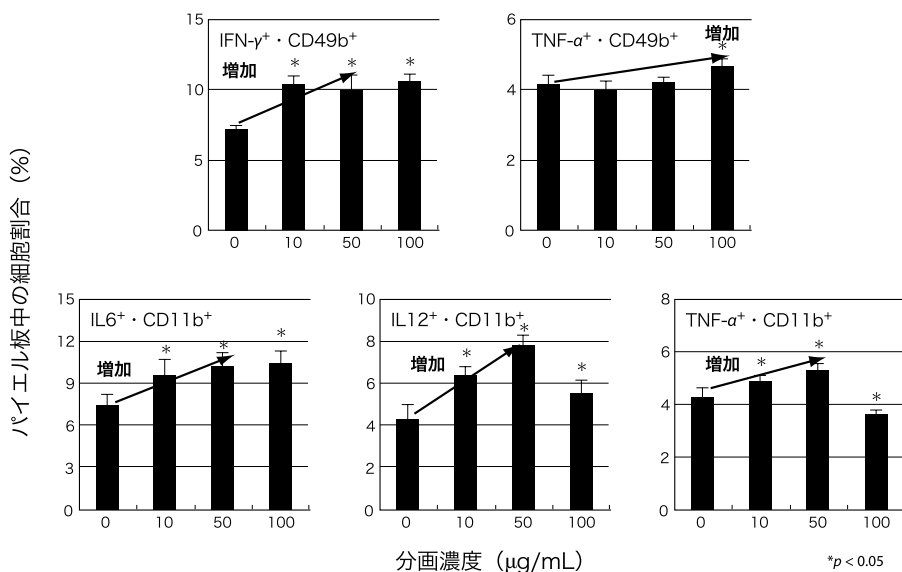


図 3 PBS 可溶性分画と培養したパイエル板細胞の免疫細胞割合

割合を米胚乳タンパク質無添加での培養の場合と比較したところ、IFN- γ 陽性 CD49b 陽性細胞、TNF- α 陽性 CD49b 陽性細胞、IL-6 陽性 CD11b 陽性細胞、IL-12 陽性 CD11b 陽性細胞および TNF- α 陽性 CD11b 陽性細胞割合が有意に高くなることが確認された（図 3）。CD49b および CD11b はそれぞれナチュラルキラー細胞およびマクロファージの細胞表面抗原である⁵⁾。したがって、これらのことから、アルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画はマクロファージとナチュラルキ

ラー細胞数を増加および活性化すること、すなわち、PBS-可溶性分画の主として α -グロブリンは自然細胞性免疫系をはじめとした細胞性免疫系を優位にすることを示している。

ナチュラルキラー細胞の機能の一つとして、腫瘍細胞に対する障害作用があり、マクロファージの機能として食作用がある。そこで、6 週齢オス健常 C3H/HeN 系マウスから調製したパイエル板細胞に 0, 10, 50 および 100 $\mu\text{g/mL}$ のアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画と株化腫瘍細胞である YAC-1 細胞を添加して培養し、培養後の YAC-1 細胞の生存率を求めた結果を図 4 の左側に、また、6 週齢オス健常 C3H/HeN 系マウスの腹腔にチオグルコール酸培地を注入して誘導したマクロファージに 0, 10, 50 および 100 $\mu\text{g/mL}$ のアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画とラテックスビーズを加えて培養し、細胞内に取り込まれたラテックスビーズの数を指標とした食作用指数を図 4 の右側に示した。図 4 の左側から、パイエル板細胞およびパイエル板細胞数の 1/50 の数の YAC-1 細胞にアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画を加えて培養すると、加えた分画の濃度に依存して YAC-1 細胞の生

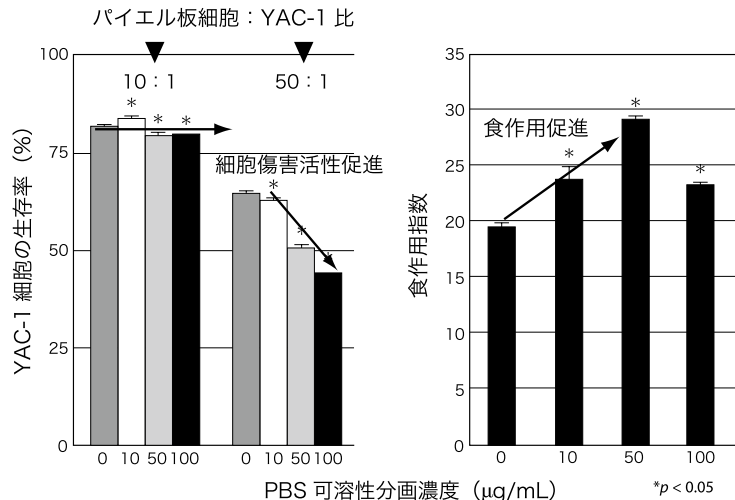


図 4 PBS 可溶性分画のマウスパイエル板細胞の細胞障害活性と腹腔マクロファージの食作用に及ぼす影響

存率が低下することがわかる。また、図 4 の右側から、腹腔マクロファージにアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画を加えて培養すると、50 $\mu\text{g/mL}$ 濃度までは加えた分画の濃度に依存して食作用指数が増加することがわかる。すなわち、これらの結果はアルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画はマウスパイエル板細胞の細胞障害活性および腹腔マクロファージのラテックスビーズの取り込みを指標にした食作用活性を共に有意に促すことを示している。また、これらの結果から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画は、細胞性免疫に関係する免疫細胞割合を増やすだけではなく、パイエル板のナチュラルキラー細胞による細胞障害活性や腹腔マクロファージの食作用活性も促すことが明らかである。

2. アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料で飼育した牛乳 β -ラクトグロブリンで誘導した I 型アレルギーマウスのアレルギー症状と免疫系⁶⁾

最近、先進国において花粉症患者が著しく増加していると言われているが、花粉症は I 型アレルギーである。I 型アレルギーは、肥満細胞

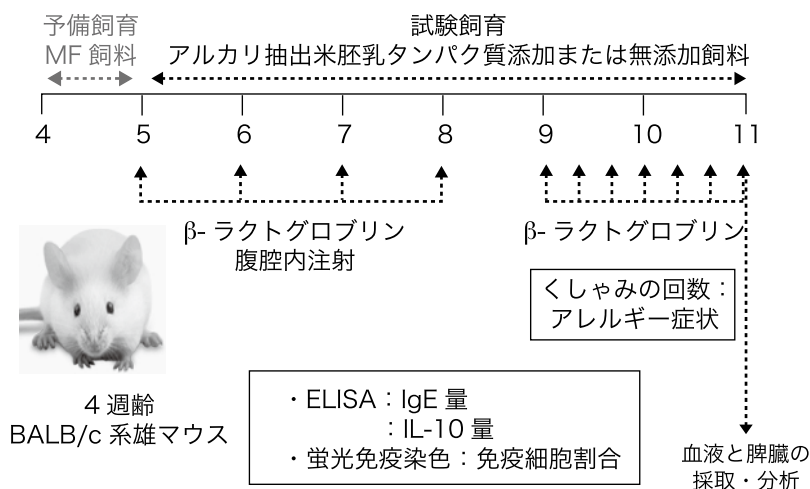


図5 米胚乳タンパク質添加飼料での飼育がマウスの1型アレルギー症状に及ぼす影響の検討方法

上に存在する Fcε 受容体に結合した免疫グロブリン E (IgE) に抗原が結合して肥満細胞表面で架橋構造ができ、脱顆粒が起こることにより生じる症状である⁵⁾。I 型アレルギー症状は先進国の人々の 25% 以上を悩ましており⁷⁾、先進国における衛生状態の改善や文明的な生活がその主要な要因と考えられている⁸⁾。特にわが国では、およそ 2 人に 1 人が何らかのアレルギー疾患に罹患していると推定され、40% 以上が花粉症を含むアレルギー性鼻炎に悩まされていると言われている⁹⁾。

I 型アレルギーには、I 型ヘルパー T (Th1) 細胞と II 型ヘルパー T (Th2) 細胞の割合が Th2 細胞優位になり、IgE が過剰産生されることが関係する場合が多く、Th1 細胞割合が高くなり細胞性免疫優位になると I 型アレルギーは軽減することが明らかにされている¹⁰⁾。一方、IL-10 は免疫抑制サイトカインの 1 つであり、ヒトおよびマウスの免疫応答の調節に重要な役割を果たしていると考えられている。例えば、IL-10 ノックアウトマウスの気道炎症は、野生型マウスと比較してより強い¹¹⁾。また、Nawijn らは¹²⁾、I 型アレルギーの 1 つである喘息のモデルマウスにおいて、制御性 T 細胞がアレルギー炎症および喘息の症状を抑制する

ことを見出している。

このように解明されつつある I 型アレルギーの発生機序をもとに多くの抗アレルギー薬が開発されている。しかし、抗アレルギー薬の副作用が懸念され、近年、副作用の心配がない抗アレルギー機能を有する食品の探索が活発になっている。事実、日本型食生活に欠かせない幾つかの食品には I 型アレルギー軽減機能があることが明らかにされている。例えば、Kobayashi らは¹³⁾、スギ花粉症の患者を被験者とした臨床試験において、醤油に含まれる多糖類がアレルギー症状を有意に軽減することを明らかにしている。また、山本らは¹⁴⁾、「べにふうき」緑茶粉末がアレルギー症状を軽減し、それらの症状はショウガエキスとの組み合わせにより更に軽減されることを報告している。

米の主要成分はデンプンであるため、米は重要なエネルギー源としての認識が強く、コシヒカリをはじめとした日本人が好む米の品種はタンパク質含量が低いことから¹⁵⁾、米のタンパク質に関してはこれまであまり注目されてこなかった。合わせて、グロブリン画分には強いアレルギー性が確認されており¹⁶⁾、米タンパク質の免疫調節作用に着目した研究報告は筆者の知る限りではほとんどない。

筆者らは、アルカリ抽出米胚乳タンパク質の PBS 可溶性分画がマウスパイエル板細胞培養系において細胞性免疫優位にすることを上述した。このことは、アルカリ抽出米胚乳タンパク質は I 型アレルギー症状を軽減する可能性を示唆している。

Tobita らは¹⁷⁾、I 型アレルギーの 1 つであるアレルギー性鼻炎は、BALB/c 系マウスに抗原と水酸化アルミニウムゲルの混合物を腹腔内注射した後、抗原を含む水溶液を連続的に鼻腔内投与することにより誘導できることを示している。そこで、本項では、図 5 に示した実験計画でアルカリ抽出米胚乳タンパク質含有飼料で後天的 I 型アレルギーマウスを飼育し、そのマウスのアレルギー症状と免疫系をアルカリ抽出米胚乳タンパク質非含有飼料で飼育した場合と比較検討したので、その結果を以下に述べる。

まず、タンパク質源として、卵白アルブミンのみを 25% 加えた飼料（無添加飼料）および卵白アルブミン 15% とアルカリ抽出米胚乳タンパク質 10% を添加した飼料（アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料）で 7 週間飼育したマウスの体重変化を図 6 に示した。図 6 から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料で飼育したマウスの増体重と無添加飼料で飼育したマウスの増体重の間に有意な違いはないことがわかる。本結果から、アルカリ抽出米胚乳タンパ

ク質添加飼料での飼育と無添加飼料での飼育の間には、栄養価やストレスの違いはなく、以下の米胚乳タンパク質添加飼料での飼育によるアレルギー症状の軽減は、飼料中のアルカリ抽出米胚乳タンパク質の免疫調節機能によるものと考えられる。

一方、図 7 に示した通り、くしゃみの回数（アレルギーの指標）は、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育により無添加飼料での飼育の場合よりも試験飼育開始後 29 日目から 41 日目において有意（ $P < 0.05$ ）に低下することがわかる。

I 型アレルギー症状を抑制する要因の 1 つとして、抗原特異 IgE 量の減少が知られている^{18, 19)}。そこで、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料および無添加飼料で飼育したマウスの血清中の総 IgE 量および β -ラクトグロブリン特異 IgE レベルを調べた。その結果、図 8 に示した通り、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育により血清総 IgE 量は、無添加飼料での飼育の場合よりも明らかに低下し、血清 β -ラクトグロブリン特異 IgE レベルはアルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育により無添加の場合よりも有意に低下した。すなわち、本結果は、上述したアルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育により無添加飼料での飼育の場合よりもアレルギー症状が軽減したことを

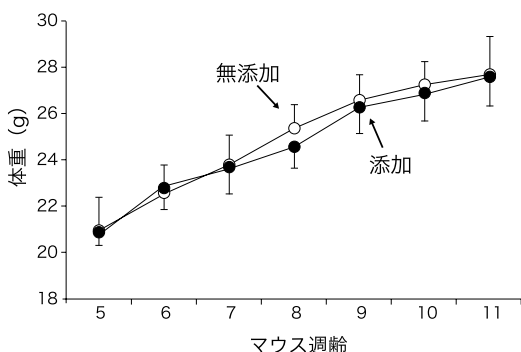


図 6 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウスの増体重

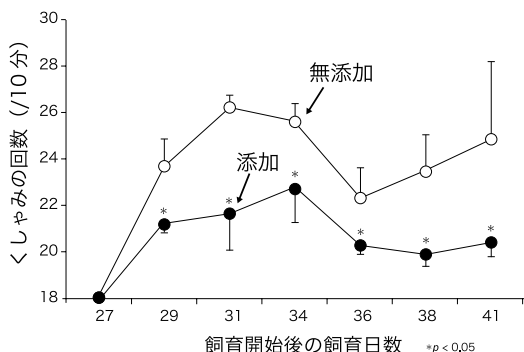


図 7 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウスのアレルギー症状としてのくしゃみの回数

免疫学的に裏付けている。合わせて本結果は、米胚乳タンパク質添加飼料が抗原特異 IgE レベルを減少させてエフェクター相のアレルギー性鼻炎を抑制することを示している。

そこで続いて、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料および無添加飼料で飼育したマウスの脾臓中の IgE 陽性 B220 細胞割合を調べ、その結果を図 9 に示した。図 9 から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育により、無添加飼料での飼育の場合よりも IgE 陽性 B220 細胞割合が有意に ($P < 0.05$) 低いことがわかる。IgE 陽性 B220 細胞は IgE 産生 B（形質）細胞である⁵⁾。Anderson らは²⁰⁾、IgE⁺B220⁺ 細胞の増加は、IgE 媒介性感作物質のマーカーであると報告している。すなわち本結果は、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育によりアレルギー症状が軽減したのは IgE 産生細胞数が減少し、IgE 産生量が減少したことによることを示している。

I 型アレルギーには、I 型ヘルパー T (Th1) 細胞と II 型ヘルパー T (Th2) 細胞の割合が Th2 細胞優位になり、IgE が過剰産生されることと関係する場合が多く、逆に Th1 細胞割合が高くなり細胞性免疫優位になると IgE 産生が抑制され I 型アレルギーは軽減することが報告されている¹⁰⁾。脾臓は、獲得免疫応答に関わり、免疫の恒常性に重要な役割を果たしている。Th2 細胞により産生される IL-4 は IgE の産生を刺激し、Th1 細胞から産生される IFN- γ は Th2 細胞の IL-4 の産生を抑制する。そこで、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料および無添加飼料で飼育したマウスの脾臓の IFN- γ 陽性 CD4 陽性 / IL-4 陽性 CD4 陽性細胞割合、すなわち、Th1/Th2 バランスを調べ図 10 に示した。図 10 からアルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料で飼育したマウスと無添加飼料で飼育したマウスの Th1/Th2 バランスには有意な違いがない

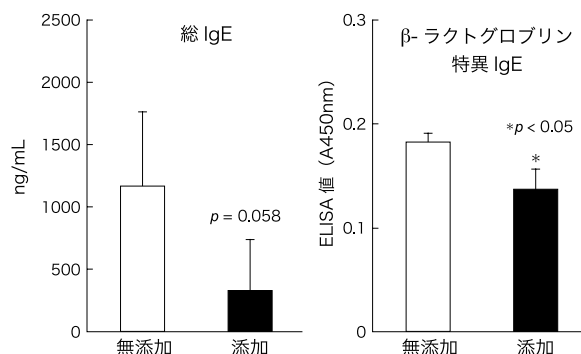


図 8 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウスの血清総 IgE 量と β -ラクトグロブリン特異 IgE レベル

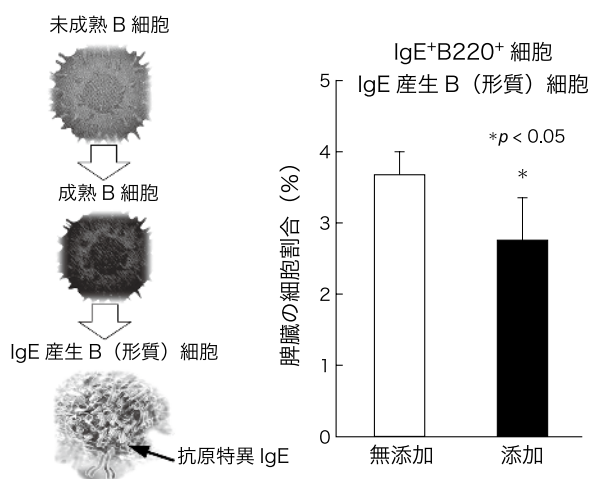


図 9 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウスの脾臓の IgE 産生 B（形質）細胞割合

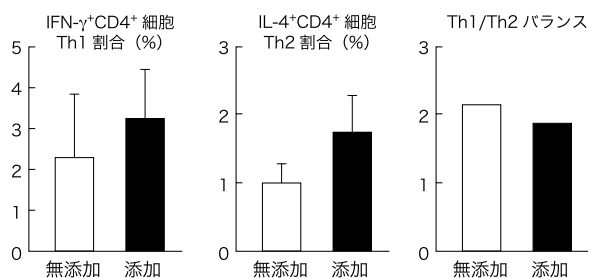


図 10 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウス脾臓の IFN- γ ⁺CD4⁺ (Th1) 細胞および IL-4⁺CD4⁺ (Th2) 細胞割合

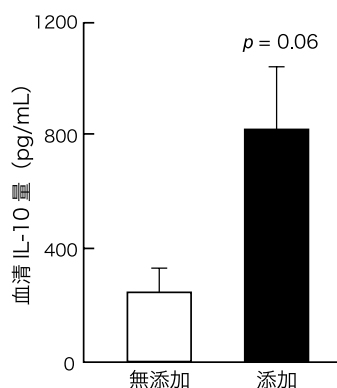


図 11 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウス血清 IL-10 量

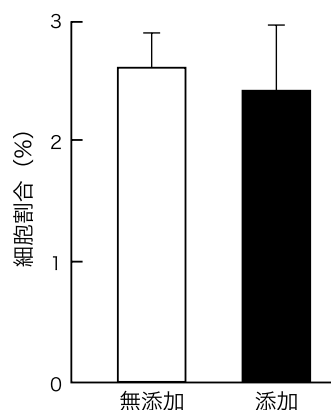


図 12 米胚乳タンパク質無添加および添加飼料で飼育したマウス脾臓の FcεRIα⁺CD117⁺ 細胞（高親和性 IgE レセプター保有肥満細胞）割合

ことがわかる。本結果は、アルカリ抽出米胚乳タンパク質によるアレルギー症状の軽減は Th1/Th2 バランスの改善によるものではないこと、すなわち、アルカリ抽出米胚乳タンパク質は Th1 細胞および Th2 細胞割合には影響を与えないことを示している。

一方、IL-10 は IgE 産生を抑制して抗アレルギー作用を有することを既に述べた。そこで、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料および無添加飼料で飼育したマウスの血清の IL-10 量を調べ、図 11 に示した。図 11 からアルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料で飼育したマウスの血清 IL-10 量は無添加飼料で飼育したマウスより約 3.3 倍高いことがわかる。すなわち、本結果から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質のアレルギー軽減作用は、免疫制御性サイトカインである IL-10 の生産を促し、総および β -ラクトグロブリン特異 IgE 産生を減少させることにより生じたことが明らかである。

他方、肥満細胞の脱顆粒は、I 型アレルギー反応の過程で肥満細胞に存在する高親和性 IgE レセプターである FcεRIα 上の IgE にアレルギー抗原が結合することにより IgE レセプターが架橋を生じることにより起こり、その結果、I 型アレルギー症状が発症する。そのようなアレルギーに関係する肥満細胞の表面には、FcεRIα

分子および CD117 分子がに発現しており⁵⁾、高親和性 IgE レセプター保有肥満細胞数が少なくなればアレルギー症状が軽減する。そこで、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料および無添加飼料で飼育したマウスの脾臓の FcεRIα 陽性 CD117 陽性細胞（高親和性 IgE レセプター保有肥満細胞）割合を調べ、図 12 に示した。図 12 から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料と無添加飼料で飼育したマウスの脾臓の FcεRIα 陽性 CD117 陽性細胞割合、すなわち、高親和性 IgE レセプター保有肥満細胞数には殆ど差がないことがわかる。本結果は、アルカリ抽出米胚乳タンパク質は肥満細胞数には影響を与えないことを示している。

以上の結果から、アルカリ抽出米胚乳タンパク質は後天的 I 型アレルギー症状軽減作用を有しており、その作用は、免疫抑制サイトカインである IL-10 の生産を促して IgE 産生 B（形質）細胞数を減少させることにより生じていると結論される。

おわりに

近年、米を主食とした日本型食生活に欠かさない食品である醤油や緑茶は I 型アレルギー症状を軽減することが報告されている。しかし、日本型食生活の主食である米の抗アレルギー機

能に関する報告はない。

最近、筆者らは、アルカリ抽出米胚乳タンパク質中の PBS 可溶性分画が細胞性免疫を刺激することを見出したのに基づき、アルカリ抽出米胚乳タンパク質添加飼料での飼育が β -ラクトグロブリンをアレルゲンにした後天的 I 型アレルギーマウスのアレルギー症状に及ぼす影響をアルカリ抽出米胚乳タンパク質無添加飼料での飼育の場合と比較検討した。

その結果、アルカリ抽出米胚乳タンパク質は後天的 I 型アレルギー症状軽減作用を有していることが明らかになった。また、その作用は、米胚乳タンパク質が Th1 細胞優位に導くためではなく、IL-10 の生産を刺激して IgE 産生 B（形質）細胞数を減少させることにより起因することが明らかになった。そのために、アルカリ抽出米胚乳タンパク質の抗アレルギー作用は、細胞培養系で確認された PBS 可溶性タンパク質の

グロブリンによるものではないと考察される。

一方、近年、Chen らは²¹⁾、米プロラミンが細胞性免疫系を促すことにより抗白血病作用を有することを報告している。したがって、本小論で示したアルカリ抽出米胚乳タンパク質の I 型アレルギー軽減作用もプロラミンに起因する可能性を否定できない。

最近、世界的に和食の重要性が注目されているが、I 型アレルギー患者が増加の一途にある昨今、本小論で示した成果が米食を促すのに寄与すれば幸いである。

[謝辞]

本研究の一部は、平成 23 年度～平成 25 年度農林水産会議委託プロジェクト研究補助金（研究代表者 門脇 基二）の援助により行ったものであり、記して感謝する。

参考文献

1. 大谷 元, 石川 和正, 柴宮 和希, 藤井 幹夫: 主要食品タンパク質を経口摂取したマウスの免疫調節因子の特性. *New Food Industry*, **57**(7): 19-26, 2015.
2. Cagampang, GB., Cruz, LJ., Espiritu, SG., Santiago, RG., Juliano, BO.: Studies on the extraction and composition of rice proteins. *Cer. Chem.*, **43**, 145-155, 1966.
3. Kumagai, T., Kawamura, H., Fuse, T., Watanabe, T., Saito, Y., Masumura, T., Watanabe, R., Kadowaki, M.: Production of rice protein by alkaline extraction improves its digestibility. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **52**: 467-472, 2006.
4. 山田 千佳子, 和泉 秀彦, 加藤 保子: 米アレルゲンタンパク質とその低減化. 川崎医療福祉学会誌, **16**(1): 21-29, 2006.
5. 大谷 元: 母乳の力ー母乳タンパク質に秘められた生体防御機能. 食品資材研究会, 2011.
6. 大谷 元, 小林 大介: 米タンパク質の新規生体調節機能性の先導的開発と機能解析 機能性成分の生体調整機能の研究開発ー消化管細胞性免疫調節機能の解明, 農林水産資源を活用した新需要創出プロジェクト研究成果 529 (2015. 2). 農林水産省, 2015.
7. Wallner, M., Himly, M., Neubauer, A., Erler, A., Hauser, M., Asam, C., Mutschlechner, S., Ebner, C., Briza, P., Ferreira, F.: The influence of recombinant production on the immunologic behavior of birch pollen isoallergens. *Pub. Library Sci.*, **4**, e845, 2009.
8. Ouwehand, C.: Antiallergic effects of probiotics. *J. Nutr.*, **137**: 794S-797S, 2007.
9. 厚生労働省: アレルギー疾患対策の方向性等. 2011.
10. Kidd P.: Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alter. Med. Rev.*, **8**: 223-246, 2003.
11. Urry, Z., Xystrakis, E., Hawrylowicz, CM.: Interleukin-10- secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Cur. Aller. Asth. Rep.*, **6**: 363-371, 2006.
12. Nawijn, MC., Motta, AC., Gras, R., Shirinbak, S., Maazi, H., van Oosterhout, AJ.: TLR-2 activation induces regulatory T cells and long-term suppression of asthma manifestations in mice. *Pub. Lib. Sci. ONE*, **8**, e55307, 2013.
13. Kobayashi, M., Matsushita, H., Tsukiyama, R., Saito, M., Sugita, T.: Shoyu polysaccharides from soy sauce

- improve quality of life for patients with seasonal allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical study. *International J. Mol. Med.*, **15**: 463-467, 2005.
14. 山本（前田）万里, 永井 寛, 江間 かおり, 神田 えみ, 岡田 典久, 安江 正明: 季節性アレルギー性鼻炎有症者を対象とした「べにふうき」緑茶の抗アレルギー作用評価とショウガによる増強効果. 日食科工誌, **52**(12): 32-41, 2005.
 15. 石谷 孝佑, 大坪 研一: 米の科学. 朝倉書店, 東京, 1998.
 16. Shibasaki, M., Suzuki, S., Nemoto, H., Kuroume, T.: Allergenicity and lymphocyte-stimulating property of rice protein. *J. Aller. Clin. Immun.*, **64**: 259-65, 1979.
 17. Tobita, K., Yanaka, H., Otani, H.: Anti-allergic effects of *Lactobacillus crispatus* KT-11 strain on ovalbumin-sensitized BALB/c mice. *Anim. Sci. J.*, **81**: 699-705, 2010.
 18. Fu, L.S., Tsai, J.J., Chen, Y.J., Lin, H.K., Tsai, M.C., Chang, M.D.: Heparin protects Balb/c mice from mite-induced airway allergic inflammation. *Inter. J. Immunopath. Pharmacol.*, **26**: 349-359, 2013.
 19. Li, A.L., Meng, X.C., Duan, C.C., Huo, G.C., Zheng, Q.L., Li, D.: Suppressive effects of oral administration of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* on T helper-17 immune responses in a bovine β -lactoglobulin-sensitized mice model, *Biol. Pharmaceut. Bull.*, **36**: 202-207, 2013.
 20. Anderson, S.E., Wells, J., Fedorowicz, A., Butterworth, L.F., Meade, B., Munson, A.E.: Evaluation of the contact and respiratory sensitization potential of volatile organic compounds generated by simulated indoor air chemistry. *Toxicol. Sci.*, **97**: 355-363, 2007.
 21. Chen, Y.J., Chen, Y.Y., Wu, C.T., Y. C.C., & Liao, H.F.: Prolamin, a rice protein, augments anti-leukaemia immune response. *Journal of Cereal Science*, **51**: 189-197, 2010.

澱粉質食品に及ぼすトレハロース添加の影響

The Effect of Adding Trehalose to Starch Based Foods

平尾 和子 (HIRAO Kazuko)¹ 高橋 節子 (TAKAHASHI Setsuko)²

¹ 愛国学園短期大学

² 共立女子大学 家政学部

Key Words: トレハロース 澱粉 糖類 菓子 冷蔵 凍結・解凍サイクル 物性 離水率 官能評価

Abstract.

After being cooked and gelatinizing, as time passes, the hardness, whiteness, and syneresis rate of starch based foods increases and retrogradation sets in. Confectionary that is cooked using flour that contains starch, or contains starch itself, is prepared by using sugars, which help to suppress retrogradation and limit the amount of damage caused when cooling or freezing. In this study it was decided to examine the effect that partly or completely substituting sucrose with trehalose has on the physical properties and sensory evaluation of *warabimochi* (bracken starch cake), *kuzukiri*, *kuzumochi* (kudzu starch cake), *dango* (sweet dumplings), *mushi-yokan* (steamed sweet bean jelly), *imo-yokan* (sweet potato jelly), biscuit, *muchi-kasutera* (steamed sponge cake) and pie filling. The effect that using trehalose has on preventing retrogradation and reducing damage when cooling, freezing and defrosting the confectionary was also measured. The results of the findings showed that when trehalose is added to starch based foods retrogradation when cooling or freezing is dramatically reduced, compared to when sucrose is added. However, the level of effectiveness differs not only depending on the amount of trehalose added, but also on the type of starch and the amount of used, water amount and preparation method.

はじめに

澱粉は、地上では穀類、種実類や樹幹に、地下ではイモ類などの植物の根に蓄積する貯蔵炭水化物である。植物の種類、生育する土壌や気象条件により、澱粉粒の大きさ、アミロース含量、アミロペクチンの鎖状分布が異なり、それに伴って膨潤力・溶解度、透明度、糊化および老化特性などの理化学的性質に違いが生じる。

澱粉は、加水加熱すると澱粉粒が吸水・膨潤後糊化して粘性を生じ、高濃度では冷却するとゲル (gel) を形成する。また、水分を用いず油脂で炒めることによりデキストリンが生じるなど、調理・加工面では重要な食材であり、食

品の骨格を形成するのに大きく関わっている。このような澱粉を含む食品、すなわち澱粉質食品を調理する場合、澱粉と水だけを使用することは珍しく、澱粉の他にタンパク質、脂質を含む食材や糖類、醤油などの調味料を加えることも多い。糖類は食品に甘味を付与するだけではなく、物性の改変や老化防止機能を目的として使用されている。近年、食品の冷蔵および冷凍保存が日常的に行われるようになり、澱粉質食品も例外ではない。澱粉質食品の品質を損わないためには、冷蔵および冷凍・解凍耐性の強い澱粉や糖の種類を選定する必要がある。

トレハロース (α -D-glucopyranosyl α -D-

glucopyranoside) は、グルコースが α -1,1 結合でグリコシド結合した二糖類で、シイタケ等のキノコ類やエビ・海藻等の食品に含まれる。トレハロースの製造法については多くの研究が行われてきたが、澱粉に2種類の酵素を作用させて直接トレハロースを製造する方法が近年開発され、安価で高純度のトレハロースを大量生産することが可能となった¹⁾。

トレハロース^{2,3)}には、澱粉の老化抑制および結晶成長抑制作用による冷凍耐性、低甘味(ショ糖の約38%)、高温・多湿安定性、耐酸性、吸放湿防止、タンパク質変性抑制および保存による脂質の変敗抑制などの機能がある。澱粉の老化抑制作用については、トレハロースがショ糖、グルコースに比べて動的水和数および赤道方向に配置した-OH基が多く、アミロペクチンに対する老化抑制効果が高いためと考えられている⁴⁾。

トレハロースを実際の調理に用いた場合の効果については、筆者らはこれまでわらび餅⁵⁾、くず餅⁶⁾、粉皮、くずきり、団子⁷⁾、蒸し羊羹⁸⁾、芋羊羹⁹⁾、ビスケット¹⁰⁾、分離大豆たん白クッキー¹¹⁾、蒸しカステラ¹²⁾、パイフィリング¹³⁾などの澱粉質食品において、ショ糖の一部あるいは全部をトレハロースで置換して調製し、ショ糖のみで調製した場合と比較・検討してきた。本稿では、わらび餅、くず餅、団子、蒸し羊羹、芋羊羹、ビスケット、蒸しカステラを選び、調理における物性測定および官能評価の結果から、トレハロースの添加効果の有無について述べる。

なお、試料および機器に記載する企業名は、原則として、実験を行った時点での供与および購入企業名を使用することにした。

1. わらび餅

わらび餅は本来わらび澱粉を用いて作る日本の伝統的和菓子の一つであり、透明感と弾力のある食感を楽しむ菓子である¹⁴⁾。しかし、わらび澱粉は入手しにくく、高価なため、最近ではサツマイモから抽出する甘藷澱粉を主原料としてくず澱粉等を混合した「わらび粉」を用いる場

合が多い。その他にわらび粉として代替が期待される澱粉としてはサゴ澱粉がある。熱帯湿地に生育し樹幹に澱粉を蓄積するサゴヤシの澱粉は、膨潤・溶解しやすく透明度に優れ、アミロース含量が高く、ゲル形成性に優れていることが知られており^{15,16)}、甘藷澱粉、クズ澱粉、馬鈴薯澱粉およびトウモロコシ澱粉と一部の性質が近似している。そこで、これら4種の澱粉およびサゴ澱粉を用いて澱粉ゲルおよびわらび餅を調製し、澱粉の種類ならびにトレハロースの添加効果を検討した。

実験材料は、馬鈴薯(ホクレン中斜里工場)、トウモロコシ(日本食品化工(株))、甘藷(島田化学工業(株))およびサゴ(マレーシア連邦サラワク州産、島田化学工業(株))の澱粉を用い、糖はショ糖(マルハ(株))およびトレハロース((株)林原)を用いた。澱粉濃度は全重量の11%、糖添加は全量の30%とし、試料澱粉の糊液はラビッドビスコアナライザー(RVA-3D, フォスジャパン(株))を用いて調製した。また澱粉ゲルの凍結・解凍耐性を知るため、澱粉糊液を-20℃で22時間凍結後、室温で2時間解凍を1サイクルとし、1, 3, 5および7サイクル目の離水率、白度および物性(テンシプレッサー TTP-50-BX, (有)タケトモ電機)を測定した。官能評価は評点法を用い、特性評価および嗜好について評価した。

調製直後の各種澱粉ゲルの硬さには大きな差は認められず、いずれの澱粉も凍結・解凍サイクルを繰り返すことにより硬さが増加する傾向がみられた。図1にサゴ澱粉および馬鈴薯澱粉ゲルにショ糖およびトレハロースを添加した場合の硬さを示した。サゴ澱粉ゲルでは、ショ糖添加では3サイクル目まで硬さの増加が抑制され、トレハロース添加では7サイクル目まで硬さの増加は認められなかった。馬鈴薯澱粉においても、ショ糖およびトレハロース添加により硬さの増加抑制は大きであったが、サゴ澱粉に比べて3サイクル目以降は硬さが増加した。しかし、トレハロース添加の方がショ糖に比べて5サイクル目以降の硬さの変化は少なく、いず

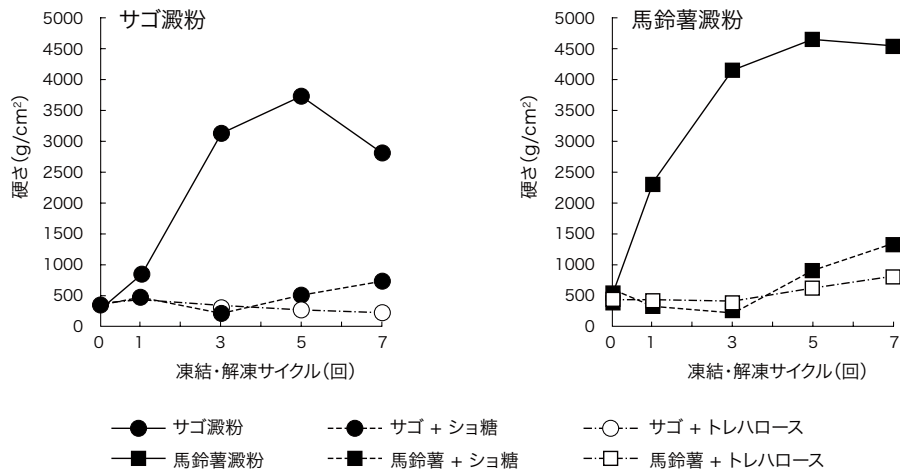


図1 わらび餅の硬さ

れの澱粉においてもトレハロースの老化抑制効果が認められた。しかしその効果は、澱粉の種類によって異なり、サゴ澱粉の方がトレハロースの老化抑制効果は大きかった。図2には各種澱粉を用いて調製したわらび餅の付着力を示した。糖類無添加では凍結・解凍サイクルの回数が増すに従って付着力は増加したが、糖類を添加すると付着力の増加は抑制され、特にトレハロース添加のゲルではいずれの澱粉においても7サイクル目まで付着力の増加は認められなかった。図3には老化の指標の一つである離水率を示した。ショ糖添加の離水率は、馬鈴薯、甘藷、トウモロコシの澱粉ゲルでは3サイクル目から、サゴ澱粉においては5サイクル目から認められた。しかし、トレハロース添加の場合、サゴ澱粉では5サイクル目以降でも離水率が低く、7サイクル目後においてはショ糖添加時の約1/4と顕著に離水が抑制された。また、図には示さなかったが、冷蔵保存の際のゲルの白度は、ショ糖添加よりもトレハロース添加において白度の増加が抑制され、特にサゴ澱粉では冷蔵7日目において約20%抑制された。

予備実験として各種澱粉とショ糖を用いて実際にわらび餅（仕上がり澱粉濃度15%）を調製して官能評価を行ったところ、最も好まれたのがサゴ澱粉、次いで馬鈴薯澱粉であった。そ

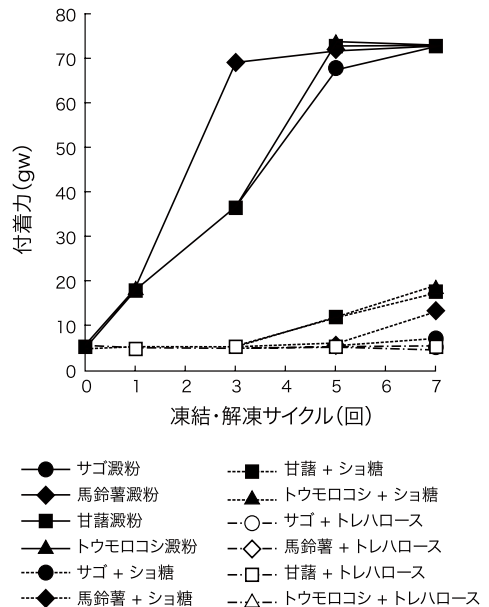


図2 わらび餅の付着力

こでこの2種の澱粉とトレハロースを用いて、官能評価を行ったところ、図には示さなかったが特性評価ではサゴ澱粉を用いたわらび餅は馬鈴薯澱粉を用いたものよりも色があり、軟らかく、歯ごたえがややなく、べたつきがあると評価された。着色は糖による褐変反応ではなく、サゴ澱粉に含まれるポリフェノールによるものと考えられる。またトレハロースの甘味度は

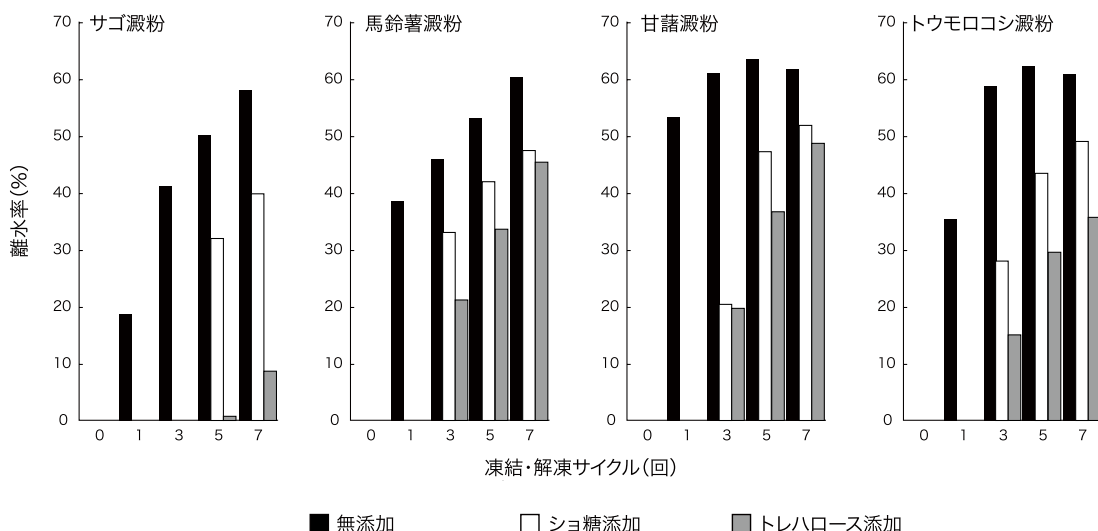


図3 わらび餅の離水率

38%と低いため、ショ糖を用いたわらび餅よりも甘味がないと評価された。嗜好では、サゴ澱粉を用いたわらび餅はトレハロースを添加すると透明度が高いと評価され、有意に好まれた。さらに、各種澱粉を用いたショ糖添加のわらび餅について調製直後と凍結・解凍3サイクル目を比較すると、凍結・解凍後ではいずれの試料においても透明度とべたつきがないと評価され老化の進行が示された。しかし、各々の澱粉にトレハロースを添加したわらび餅では、凍結・解凍サイクルが増しても、軟らかく、歯ごたえがないと評価された。特にサゴ澱粉では、トレハロース添加した凍結・解凍3サイクル目のわらび餅は、甘味、硬さ、歯ごたえ、べたつきおよび総合評価の項目で有意に好まれた(図4)。

以上より、わらび餅は、糖類無添加では冷蔵および凍結・解凍サイクルを繰り返すことにより老化するが、糖類の添加により老化は抑制された。さらにトレハロースを添加したわらび餅は、ショ糖添加に比べて、いずれの澱粉ゲルにおいても老化の指標となる硬さ、付着力、離水率および白度の増加が抑制された。また、澱粉の種類によっても差が認められ、特にサゴ澱粉で調製したわらび餅は、トレハロースの添加効果が顕著に認められた。

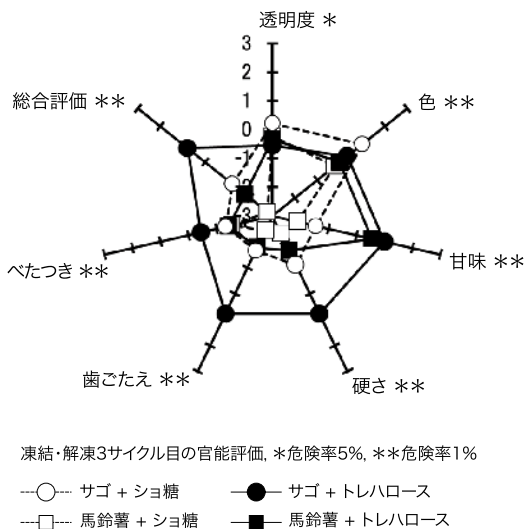


図4 わらび餅の官能評価(嗜好)

2. くず餅

くず餅はクズ澱粉に小麦澱粉、薄力粉、糖を混合して作る和菓子である。澱粉を加水膨潤後、糖類と熱湯を混合して半糊化させて蒸し加熱し、通常黒蜜やきなこをつけて供す。

クズ澱粉は高価な澱粉であるため、代替として比較的安価なサゴ澱粉、耐冷凍性に優れたヒドロキシプロピル化小麦澱粉(加工小麦澱粉: 米国 MGP (株))を用いて調製し、クズ澱粉で

調製したくず餅と比較した。凍結・解凍サイクルは0, 1, 3, 7サイクルとし、物性および官能評価を行った。

試料は、クズ澱粉（(株)井上天極堂）または代替澱粉は9.0%, 小麦澱粉（千葉製粉（株））9.0%, 薄力粉（日清製粉（株））4.5%とし、水22.5%を加えて膨潤させ、その後ショ糖およびトレハロースを総重量の10.0%添加し、熱湯45.0%を加えて半糊化させたものを型に入れて蒸し加熱した。

凍結・解凍サイクルを繰り返すと、ショ糖を添加したクズ澱粉およびサゴ澱粉を用いたくず餅は1サイクル目以降の硬さが増加するのに対し、トレハロースを添加した場合は、凍結・解凍による硬さの増加を抑制する効果が、ショ糖添加に比べて大きかった。一方、加工小麦澱粉および小麦澱粉のみで調製したくず餅は、ショ糖・トレハロースのいずれの糖においても硬さの変化が少なかった。加工小麦澱粉は、凍結・解凍を繰り返しても軟らかく、小麦澱粉のみで調製した場合は硬いくず餅となった。付着性は、いずれの澱粉においてもショ糖添加では1サイクル目で増加したが、トレハロース添加では、凍結・解凍サイクルに伴う変化が緩やかで安定していた。澱粉の種類別に糖の添加効果をまとめると、加工小麦澱粉と小麦澱粉で調製したくず餅の物性は、ショ糖およびトレハロース添加のいずれも近似の値を示したが、クズ澱粉およびサゴ澱粉はトレハロースの添加によりショ糖よりも硬さ、付着性、弾力性の変化が少なくなり、トレハロース添加効果のある澱粉と考えられた。

官能評価の特性評価では、ショ糖で調製したくず餅は甘さ、なめからさ、べたつきがあるとされ、トレハロースで調製したくず餅は甘さ・べたつきがなく、歯切れの良さがあると評価された（図5）。澱粉の種類では加工小麦澱粉が最も好まれ、クズ澱粉およびサゴ澱粉は、加工小麦澱粉に次いで好まれた。

以上のことより、トレハロースを用いたくず餅は物性の変化が小さく、老化抑制効果が大きいことが明らかとなった。澱粉の種類では、

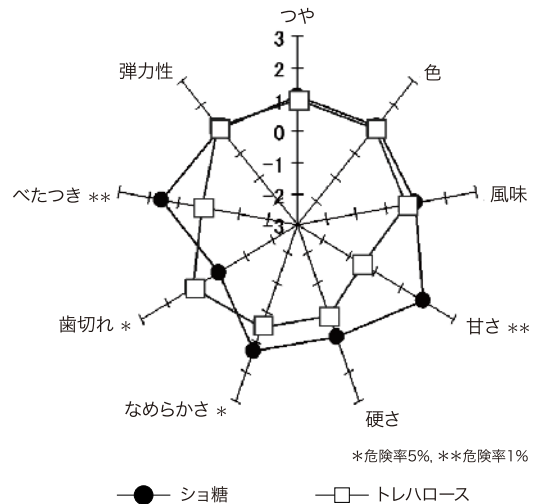


図5 クズ澱粉を用いたくず餅の官能評価（特性評価）

サゴ澱粉に対するトレハロース添加効果が大きく、次いでクズ澱粉であった。官能評価では、老化抑制効果の大きな加工澱粉であるヒドロキシプロピル化小麦澱粉で調製したくず餅が有意に好まれた。

3. 団子

近年雑穀はアレルギー代替穀物として注目され、ヒエはその効果が大きいと言われている。そこでヒエ粉を米粉に添加して団子を調製し、ヒエ粉およびトレハロースの添加効果を物性および官能評価から検討した。ヒエ粉は岩手県軽米町産のだるま・梗種を用い白干法で製粉したものをを用い、米粉は日本晴（(独)作物研究所）の米から調製し、糖はショ糖（塩水港精糖（株））およびトレハロースを用いた。材料配合は米粉50%, 糖10%（米粉重量に対して20%）とし、米粉の内10, 20, 30, 100%をヒエ粉で置換した。団子の調製は、米粉と糖を熱湯（米粉重量に対して70%）でこね、15分間蒸したものを成形後1時間放置したものを調製直後とし、5℃で1, 3および7日間保存した。団子は、カードメーター（イケダテクノス社）を用い、3mm径の感圧軸による侵入度試験で硬さ・破断力を求めた。官能評価は7段階評点法により、特性評価

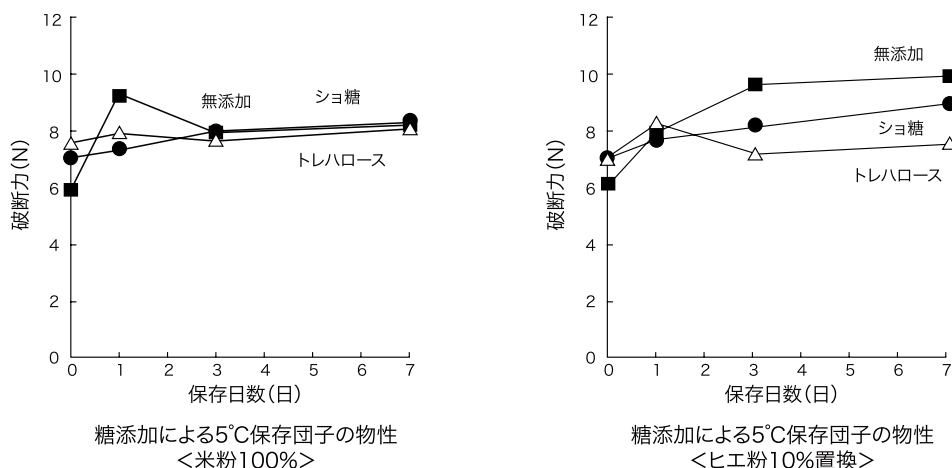


図6 冷蔵保存団子の破断力の変化

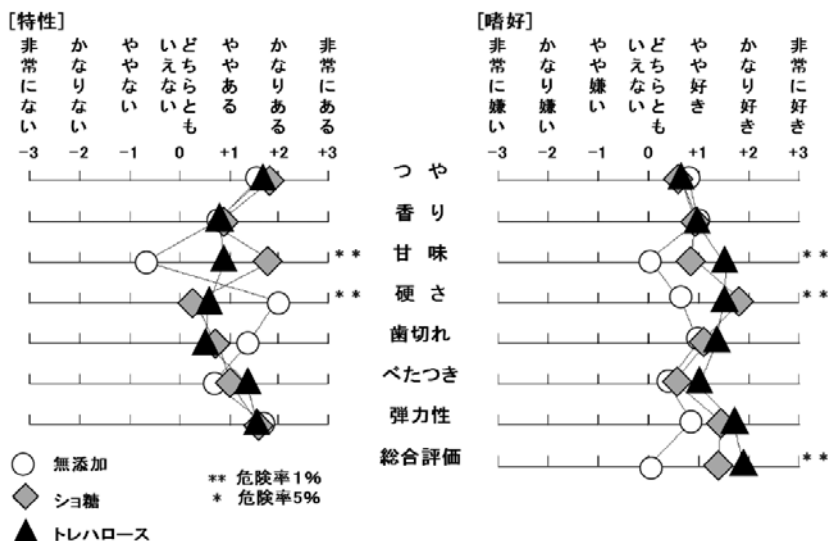


図7 ヒエ粉団子の官能評価(5°C保存・3日目)

と嗜好について行った。

団子の硬さ、破断力ともにヒエ粉の添加量が増すに伴い値は増加したが、10%置換では米粉100%と近似の値となった。官能評価から、ヒエ粉は米粉の10%置換が好まれたため置換量は、米粉に対して10%とした。図6は左が米粉100%の団子、右は米粉をヒエ粉に10%置換した団子に糖を添加し、5°Cで冷蔵保存した時の破断力の変化を示したグラフである。ヒエ粉10%置換団子では、糖無添加は保存によ

り破断力が7日後まで増加の傾向を示し、トレハロース添加はショ糖添加よりも低温保存時の破断力の増加を抑える効果が認められた。官能評価ではトレハロース添加ヒエ粉団子の嗜好性はショ糖添加と有意の差は認められなかったが、冷蔵3日後の嗜好においても、トレハロース添加のヒエ粉10%置換団子は、甘味、総合評価の項目で糖無添加団子よりも有意に好まれた(図7)。

以上より、ヒエ粉を10%置換した団子は、

トレハロースを添加することにより、冷蔵保存における硬さ、破断力の変化が少なく、老化抑制効果が認められた。

4. 蒸し羊羹

蒸し羊羹はクズ澱粉懸濁液と練りあんを加熱し半糊化させた後、蒸し加熱して作る和菓子である。

材料として、クズ澱粉またはサゴ澱粉を用い、糖はショ糖（マルハ（株））とトレハロース、乳果オリゴ糖（塩水港製糖（株））を用いた。糖は出来上がり重量に対して60%添加とし、ショ糖およびショ糖の50%あるいは100%を乳果オリゴ糖とトレハロースで調製した。練りあんは事前に各糖で調製したものを使用した。調製後の蒸し羊羹は、5℃で0、1、3および7日間冷蔵ならびに凍結・解凍サイクルを経た後、物性および官能評価を行った。

図8に示すように、5℃で冷蔵した場合、トレハロース100%添加の蒸し羊羹は、両澱粉ともにショ糖添加に比べて時間の経過に伴う硬さの増加が少なかった。ここには示していないが、付着性においても同様の傾向が認められた。サゴ澱粉では特にトレハロース50%添加において、その効果が顕著であった。一方、クズ澱粉では乳果オリゴ糖100%とトレハロース50%、

100%はショ糖に比べて付着性の変化が小となったが、この付着性の増加を抑制する効果はサゴ澱粉の方が大であった。凍結・解凍サイクルにおいては、トレハロースはいずれの澱粉においても、硬さの増加が抑制された。サゴ澱粉はいずれの糖を用いた場合も凍結・解凍3サイクル目は硬さが低下し、凍結・解凍サイクルによる物性変化が小さかった。

官能評価ではトレハロース添加の蒸し羊羹はつやがあり、歯切れの良さがないと評価された。またトレハロース、乳果オリゴ糖を100%添加すると甘みがないと評価されたため、トレハロースを200%添加して官能評価を行ったところ、トレハロース100%添加に比べて硬さ、弾力性が有意にあると評価され、嗜好では歯切れ、べたつきの項目で有意に好まれた（図9）。

以上より、蒸し羊羹の場合は、トレハロース100%添加は冷蔵時の硬さ・付着性の変化が少なく、老化抑制効果が認められた。官能評価によりトレハロースは、甘さが好まれない結果となったため、使用量はショ糖の50%をトレハロースに置換するのが適正と考えられた。澱粉の種類では、サゴ澱粉はトレハロース添加効果が大きく、50%添加でも効果が明らかとなり、凍結・解凍サイクルに伴う硬さ、凝集性の変化も穏やかで保存性は向上した。

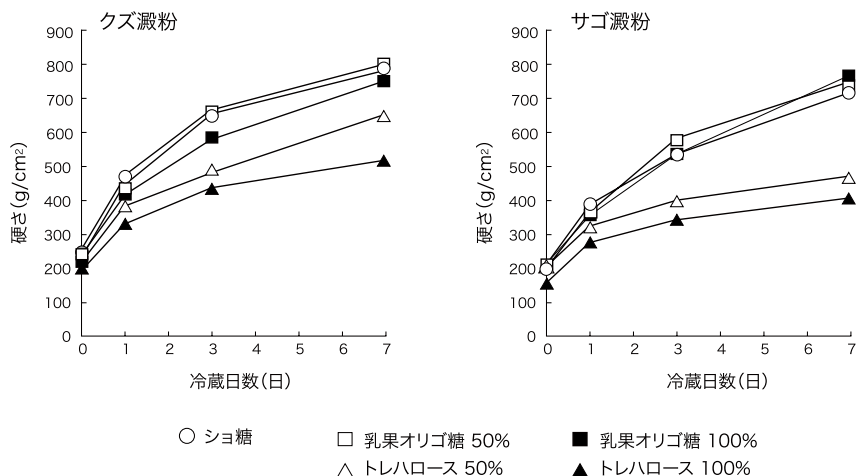


図8 冷蔵保存による蒸し羊羹の硬さ

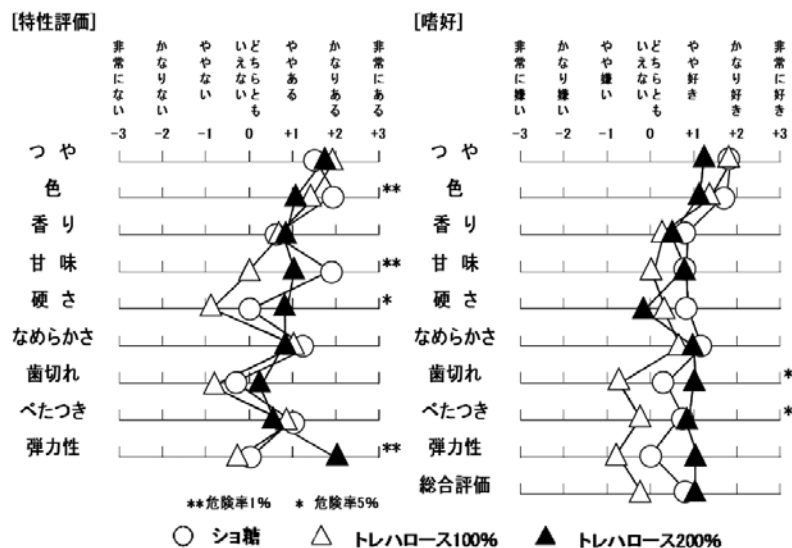


図9 蒸し羊羹の官能評価

5. 芋羊羹

芋羊羹は甘藷にショ糖を添加して調製する和菓子で、寒天の使用・不使用の調製法がある。ここでは、寒天を用いる調製法を用いてショ糖およびトレハロースを添加し、その効果を物性、官能評価から検討した。

試料は、甘藷は鹿児島産のベニサツマ、糖はショ糖（株）パールエース）およびトレハロース、その他として粉末寒天（伊那食品（株））を用いた。甘藷は全量に対して40%、糖は40%とし、トレハロースはショ糖の25、50、75、100%を置換した。芋羊羹は、甘藷を加熱後裏ごしし、総重量の3%の寒天を50%糖液に膨潤・加熱・溶解したものに混合して型に流し入れ、5℃で20時間冷却した。調製後1、3および7日間5℃で冷蔵保存し、室温で2時間放置後物性を測定した。また、凍結・解凍サイクルは、1、3および7サイクルにおける物性の変化を検討した。物性はテンシプレッサー（TTP-50-BX、（有）タケトモ電機）を用いて80%圧縮試験を行い、官能評価は評点法を用いて特性評価および嗜好について行った。

トレハロースに置換した芋羊羹の硬さおよび破断応力に大きな違いは認められなかった。ま

た5℃で冷蔵保存した場合も同様、硬さ、もろさ、付着性は、ショ糖、トレハロース置換ともに変化が少なく、物性の変化は認められなかった（図10）。しかし、凍結・解凍サイクルにおいては、ショ糖は3サイクル目までの硬さ、もろさ、付着性ともに大きく低下したのに対して、トレハロースに置換した芋羊羹では変化が穏やかで老化抑制効果が認められた。特にトレハロース25%置換の芋羊羹については7サイクル目の硬さ、もろさ、付着性の変化はわずかであり、凍結・解凍安定性が認められた。

ショ糖100%、トレハロース25%置換、50%置換の芋羊羹の官能評価を行ったところ、特性評価において、つや、なめらかさの項目に有意の差が、嗜好では硬さ、歯切れのよさ、なめらかさ、粘り、総合評価においてトレハロース25%置換の芋羊羹、すなわち全量に対するトレハロース10%の芋羊羹が対照と同様に有意に高い嗜好性が認められた。

以上より、芋羊羹にトレハロースを置換した場合、対照のショ糖に比べてやわらかく、もろさのない芋羊羹が得られた。特にトレハロース25%置換の芋羊羹は冷凍保存に伴う硬さの変化が穏やかで、老化抑制効果および低温安定性

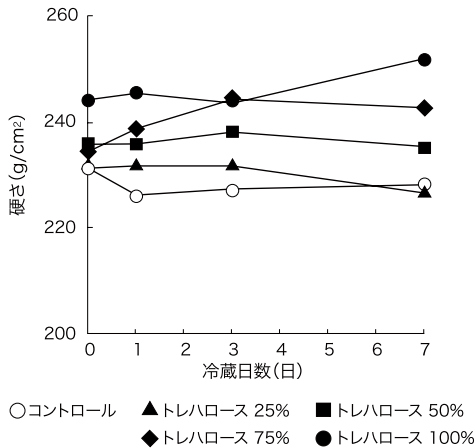


図 10 冷蔵保存における芋羊羹の硬さ

に優れていた。しかし、官能評価の嗜好では、トレハロース 50% 置換ではなく 25% 置換の芋羊羹が対照と同様に好まれたことから、トレハロースを使用する場合には適正の使用量があると考えられた。

6. ビスケット

ビスケットは小麦粉、バター、砂糖、卵を基本材料とする焼菓子であるが、小麦粉の一部を澱粉で置換して作るものにアロールトビスケットがある。小麦粉の 50% を澱粉で置換して物性測定および官能評価をおこなったところ、サゴ澱粉に置換した場合、膨化が大で軟らかくもろさのあるビスケットが得られ、サクサクとした食感が好まれた¹⁷⁾。そこでサゴ澱粉ビスケットを用い、糖の種類が物性・官能評価に及ぼす影響について検討した。

糖類はショ糖（塩水港精糖（株））、上白糖（三井製糖（株））、粉糖（三井製糖（株））、トレハロースおよびエリスリトール（日研化学（株））を用いた。トレハロースとエリスリトールはショ糖の 25% あるいは 50% を置換した。ビスケットのドウおよび焼成品について、水分、膨化率、重量減少率、直径、厚さおよび 80% 圧縮時の物性を測定した。官能評価は評点法を用いて、特性評価および嗜好について行った。

トレハロースで調製したものは置換量が多い

ほど直径が小さく、厚さがあり、横広がりの場合も小さく、ショ糖を用いたビスケットと似た焼き上がりとなった。膨化率はトレハロース、エリスリトールを 25% 置換したビスケットが最も大きかった。トレハロース、エリスリトールを用いたビスケットの水分は、粉糖、上白糖に比べて多くなったが、焼成時間を長くすると水分が減少することから、他の糖類に比べて水分の蒸発が遅いためと考えられた。物性測定ではトレハロース 25% 置換はショ糖と有意の差は認められず、50% 置換では有意に硬さを増し、もろさが大となった。

官能評価において特性評価ではきめ、色、硬さ、口どけの良さに、嗜好では形状、きめ、色、硬さ、もろさ、舌ざわり、口どけおよび総合評価の項目で有意の差が認められた。粒子の細かい糖ほどきめが良いと評価され、熱による着色が少ないトレハロース、エリスリトールは色がないと評価された（図 11）。嗜好ではトレハロース 50% 置換のものは、硬さ、もろさ、口どけ、総合評価の項目でショ糖と同様の高い嗜好性が示された。トレハロースおよびエリスリトールを 50% 置換して調製したクッキーの食感はやいと評価されたが、焼き色がうすく、甘みが少ない点で好まれなかった。そのため、トレハロースビスケットはチーズクッキーのように甘みが少なくてすむものに用いると嗜好性が向上すると考えられた。

以上より、トレハロース、エリスリトールで調製したビスケットは、厚みがあり、特にショ糖の 25% 置換で膨化率が有意に大であった。また、トレハロースに 50% 置換したビスケットは硬さ、もろさが有意に大となり、官能評価では硬さ、口どけ、総合評価の項目でショ糖と同様の嗜好性が認められた。

7. 蒸しカステラ

新形質米の米粉の調理特性を明らかにする目的で、アミロース含量の異なる 3 種の米粉を用いて蒸しカステラを調製した。米粉のアミロース含量の違いが、カステラの性状に与える影響

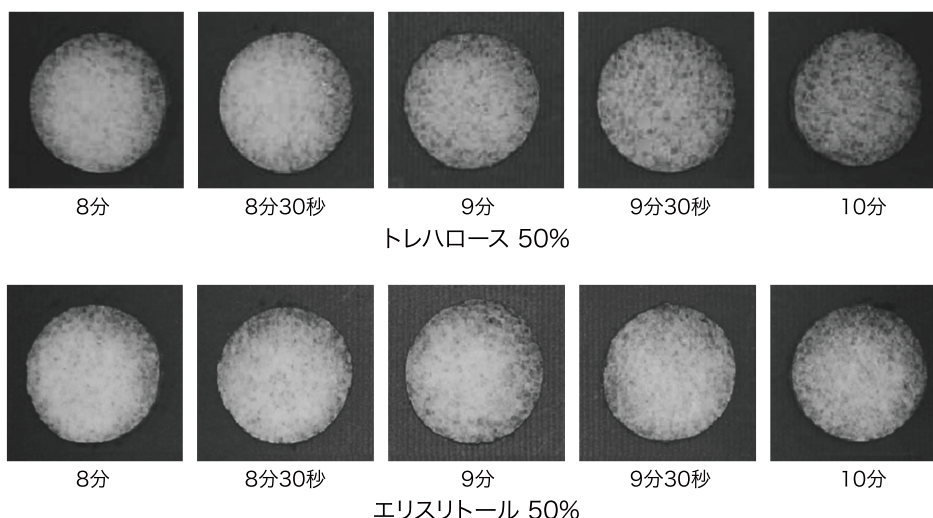


図 11 焼成時間によるビスケットの焼き色の変化

を物性測定ならびに官能評価から検討し、凍結・解凍サイクルを用いた安定性について、トレハロースとショ糖で比較した。

試料の米粉は基準米の日本晴（（独）作物研究所）、低アミロース米のスノーパール（（独）東北農業研究センター）および高アミロース米の夢十色（（独）北陸農業研究センター）を用いた。蒸しカステラは米粉ならびに糖を総重量の31%、鶏卵を38%配合し、攪拌混合した後型に流し入れ蒸し加熱した。糖総重量31%のうち、ショ糖（マルハ（株））の50%あるいは100%をトレハロース置換した。凍結・解凍安定性については、1, 3, 7サイクル目の物性の変化をテンシプレッサー（（有）タケトモ電機）で測定した。官能評価は評点法を用いて行った。

図 12, 図 13 に示すように、ショ糖で調製したカステラは日本晴、スノーパール、夢十色ともに表面の硬さが凍結・解凍1サイクル以後急激に増加し、硬さ、しなやかさ、こしは減少した。しかし、トレハロースに置換して調製することにより、日本晴、スノーパール使用カステラは表面の硬さの増加抑制、硬さ、しなやかさ、こしの減少抑制がみられ、凍結・解凍を繰り返しても品質の低下しにくいカステラが得られた。高アミロース米の夢十色は他の米粉に比

べて、ショ糖とトレハロース添加による差は認められなかった。官能評価では特性評価、嗜好のいずれも米の品種による差は認められたが、糖の種類による差は明らかではなかった。米粉の種類では、低アミロース米のスノーパールを用いた蒸しカステラは、ショ糖100%およびトレハロース50%添加のいずれにおいても硬さ、こし、飲み込みやすさ、後味の良さおよび総合評価の項目において有意に好まれ高い評価が得られた。

以上、3種の新形質米の米粉にトレハロースを添加したカステラは、スノーパール、日本晴では凍結・解凍サイクルによるテクスチャーの変化が少なく、老化が抑制され、対照のカステラと同様に、硬さ、こし、飲み込みやすさ、後味の良さおよび総合評価の項目において有意に高い嗜好性が得られるなど、米粉製品へのトレハロース添加効果が明らかであった。

おわりに

澱粉質食品に糖類を加えると確実に老化抑制効果が増すことは明らかであり、本稿においても、使用した糖類はそれぞれ老化を抑制したが、その効果の程度には違いがみられた。特にトレハロースを添加した食品は、冷蔵や冷凍による

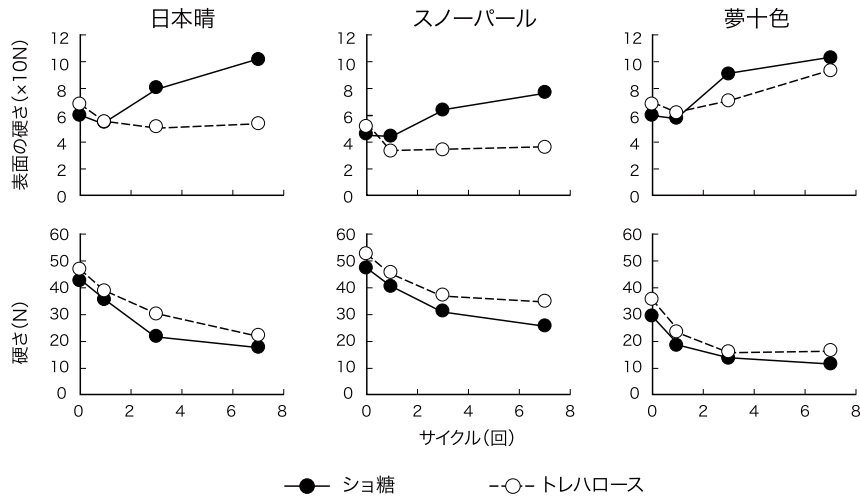


図 12 米粉蒸しカステラの硬さ

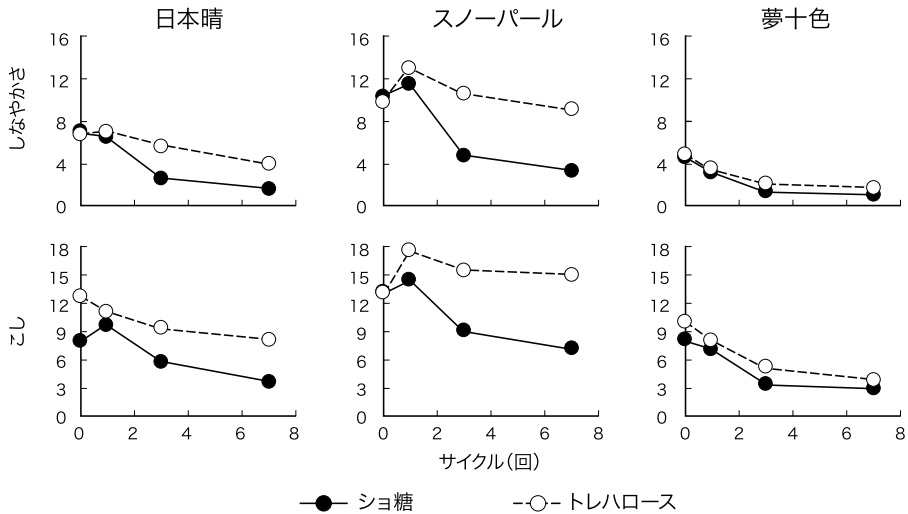


図 13 米粉蒸しカステラのこし、しなやかさ

老化抑制、品質劣化抑制、離水抑制ならびに白度上昇抑制効果が顕著に示された。これは、調製後の経時的な要因とも関連しており、調製直後は糖の種類による差は認められなかったが、冷蔵保存日数および凍結・解凍サイクルの回数が増すほど、その効果は顕著であった。官能評価においてもショ糖を添加した場合と同様、もしくはトレハロース添加したものの方が食感、甘味の項目において好まれる食品が多いことが明らかになった。これらはトレハロースの水

和力の強さによる澱粉の老化抑制効果、結晶成長抑制作用による冷凍耐性、甘味の品位の向上効果によるもの^{3,4)}と考えられる。

本稿で紹介した食品において、わらび餅やくず餅などの比較的水分量の多い食品はトレハロースの添加効果がショ糖に比べて大きく、ビスケットなどの低水分系のものでは、トレハロースとショ糖の差は小さかったように思われる。また、澱粉の種類では、サゴ澱粉を用いた食品はトレハロースとショ糖の添加効果に差が

みられたが、元々老化しにくいとされるヒドロキシプロビル化小麦澱粉では、老化抑制効果はみられたが、糖の種類による差は小さかった。このように、食品によりトレハロースの添加効果に違いがみられたが、これはトレハロースの配合割合はもちろんのこと、澱粉の種類や使用量、水分量、調製法が関係すると考えられた。

近年、女性の社会進出や生活形態の変化により、中食が増え、家庭においても食品の冷蔵および冷凍がさかんに行われている。澱粉質食品の作りたての品質を長期間維持するためには、冷蔵・冷凍耐性の強い澱粉や糖質の種類、最適添加量を選定することが必要となる。

これからのトレハロースの検討課題としては、1) 添加効果が明白に表れる食品の分類、2)

食品の種類に対する適正な使用量、3) 使用澱粉の粒度の違いによる添加効果、4) 甘みを必要としない麺類などへの添加効果、5) 高齢者食への利用などを、他の糖質とともに検討したいと考えている。

近年、必要なエネルギーや栄養素を摂取できない高齢者が増加している。トレハロースの糖度はショ糖の38%と低く、ショ糖と同様の甘味度にするには約倍量のトレハロースの使用が可能である。今後高齢者食への利用を考える上で、生理的效果も含め、トレハロースは重要な糖の一つであると考えられる。

機能性のある糖類は数多い³⁾。各糖の特性や使用目的に応じた効果的な利用法について、さらに研究を続けていきたい。

参考文献

1. Maruta, K., Nakada, T., Kubota, M., *et al.*: Formation of trehalose from maltooligosaccharides by a novel enzymatic system. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**(10): 1829-1834, 1995.
2. 杉本 利行: 食品工業, **38**:34-39, 1995.
3. 三宅 晶子: トレハロース、オリゴ糖類 I 澱粉関連オリゴ糖. 貝沼 圭二, 久喜 輝夫, 早川 幸男 監修, 東京, (一社) 菓子・食品新素材技術センター, 94-114, 2015.
4. 西成 勝好, 藪添 朋子, 池田 新矢 他: 第4回トレハロースシンポジウム記録集. 不二たん白研究振興財団, 21-29, 2000.
5. 濱西 知子, 平尾 和子, 貝沼 圭二, 高橋 節子: サゴ澱粉ゲルの老化特性に及ぼすトレハロース添加の影響. 応用糖質科学会 平成14年度大会, p.449, 2002.
6. 平尾 和子, 米山 陽子, 松永 直子 他: サゴ澱粉を用いたくず餅の調理・加工特性. 日本調理科学会 平成15年度大会要旨集, 24, 2003.
7. 平尾 和子, 西澤 恭子, 濱西 知子, 高橋 節子: ヒエ粉およびトレハロース添加が団子の物性に及ぼす影響. 日本調理科学会 平成14年度大会要旨集, 15, 2002.
8. 濱西 知子, 松永 直子, 平尾 和子 他: サゴ澱粉を用いたくず蒸しようかんの調理・加工特性. 日本調理科学会誌, **35**: 287-296, 2002.
9. 平尾 和子, 松永 直子, 高橋 節子: 芋羊羹へのトレハロースおよびシルクゲルの添加効果. 日本家政学会 第54回大会要旨集: 155, 2002.
10. 平尾 和子, 反町 秀子, 濱西 知子 他: サゴ澱粉を用いたビスケットの物性, 官能評価に及ぼす各種糖類の影響. 応用糖質科学会 平成14年度大会要旨集: 449, 2002.
11. 米山 陽子, 平尾 和子, 江木 伸子 他: 大豆臭の少ない分離大豆たん白クッキーの調製法. 日本調理科学会平成24年度大会 研究発表要旨集, 1D-a2, 2012.
12. 平尾 和子, 梅國 智子, 松永 直子, 高橋 節子: 米粉の膨化調理に関する研究(第1報) 新形質米の米粉およびトレハロースが蒸しカステラの物性, 官能評価に及ぼす影響. 日本調理科学会 平成14年度大会要旨集, 11, 2002.
13. 米山 陽子, 石井 郁乃, 濱西 知子 他: 化工小麦澱粉およびトレハロースを用いたパイフィリングの調理特性. 共立女子大学家政学部紀要, **50**: 55-64, 2004.
14. 高橋 節子: 和菓子の魅力ー素材特性とおいしさー 日本調理科学会監修. クッカーサイエンス 005, p.152, 2012.
15. 高橋 節子, 平尾 和子, 貝沼 圭二: サゴ澱粉の物性と調理特性. *SAGO PALM*, **3**(2): 72-82, 1995.
16. 高橋 節子, 近堂 知子, 平尾 和子 他: デンプンの特性と利用 サゴヤシー 21世紀の資源植物ー. 京都大学学術出版会, 255-299.
17. 平尾 和子, 金毛利 加代子, 米山 陽子, 高橋 節子: サゴ澱粉を用いたビスケットの物性と食味評価. 日本家政学会誌, **55**: 715-723, 2004.

一般異物混入防止対策の今

株式会社イカリ消毒 尾野 一雄 (ONO Kazuo)

Key Words：食品 衛生管理 異物混入 防止策 5S 7S インターネット SNS クレーム対応

はじめに

2014 年末から 2015 年の頭にかけでの異物混入騒動で、今までになく異物混入に注目が集まってきている。実際には、健康に影響を及ぼさないような異物混入や明らかに他の商品に影響がなく単発クレームで終わりそうな異物混入であったとしても、回収している事例が多く見られる。確かに、企業存続を考えると製品回収も致し方ないことかもしれないが、健康危害がない異物混入で製品回収し、その製品を廃棄する（再利用もあるのかもしれないが）ことは現状の日本の食品事情からすると問題を感じる。それは、廃棄量低減、自給率アップなどの活動にブレーキをかけることになっているのではないかということである。しかし、これはそれほど単純なことではないのかもしれない。消費者意識、企業存続、環境保護、自給率など様々な問題が入り組んでおり、一企業、一個人の力ではいかんともしがたい問題だと感じる。ただ、だからといって考えることをやめてしまっただけでは、先には進めない。筆者がこのようなことを書くことは差し出がましいような気もするが、折角の機会であるので現状の異物対策について考えてみようと思う。

1. 一番変わったのは消費者意識か？

昔と今では、消費者の異物混入に対する意識が大きく変わっていると感じている人は多いと思う。特に昔から食品業界で働いている年配の方々はより強くそう感じていることだろう。確かに、1990 年代中頃までの異物混入クレームは、菓子折を持って謝罪に訪問することで解決する程度の認識であった。以前は誠意を持って謝罪すれば問題なかった消費者対応も、今では混入していた異物の分析、混入原因の特定、再発防止策の提示まで明確にしなければ納得していただけない状況になってきた。それに加え、異物の分析も自社ではなく第三者に依頼しなければ信用してもらえないというケースが増えてきた。しかし、消費者意識が高まるには理由があるはずである。何もなければ消費者意識が高まることもない。つまり、消費者意識が高まっていることは事実であるが、消費者意識を高めている根本的な問題があるはずである。

2. 異物検体の件数の推移

次に示しているのは、当社の検査部門に送られてきたクレームになった異物検体数の推移を表したグラフである。

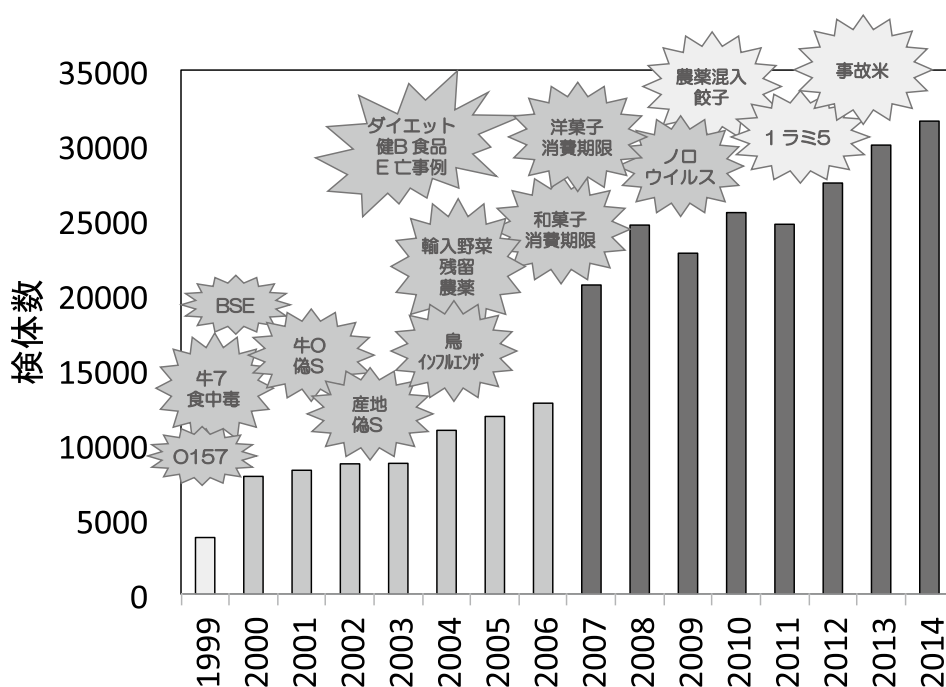


図1 異物検査数推移
(イカリ消毒株式会社 LC 環境検査センター提供)

これを見ると件数がどんどん増加していることがわかる。

不信感や不安感は、これらのクレームで検査機関に届けられる異物のサイズにも現れている。1990年代以前では、明らかに目に付く大きな異物が大半を占めていた。ゴキブリ、ネジ、ボールペンのキャップなどである。しかし、最近では、1mmにも満たないものが非常に多くなってきている。これほど小さなものをよく発見したものだと感心してしまうほどの小さいサイズの異物が増えている。

これは、食品を食べるときに、非常に注意深く食品を見て食べているからではないかと考えられる。食品に対しての不信感や不安感があるため、自分が飲食する時、お子さんに飲食させるときに注意して食品をチェックしているのではないだろうか。

消費者が食品から異物を見つけると、「本当にこの異物は問題ないものなのだろうか？」という気持ちになる。その不安な気持ちが、メー

カーに電話をして、問題がないのかどうかを確認しようという行動につながる。その際に、メーカー側の消費者への対応に不備があると「この会社は信用できないぞ!!」、「この会社は大事なことを私に隠しているのではないだろうか?」と、それがさらに不安な気持ちを大きくしていく結果を招いているものと思われる。

3. 異物検体数と食品事故・事件

図1のグラフから、検査依頼の件数が目立って増加している年があることがわかる。一方、食品業界で起こった様々な食中毒事故や食品偽装事件、意図的な食品への異物混入事件などを時系列にして表1にまとめた。これらは筆者にわかる範囲での情報であるため、他にも印象に残っている事件・事故があるかもしれないが、図1のグラフで件数が増加している年と比較すると、1990年以降で特に世間から注目を浴びた事件・事故があった時に大きく増加していることがわかる。

表1 主な食品に関する事故・事件・偽装などの出来事¹⁾

年 代	名 称	死者数	発症者数
1925 年	岐阜県高山集団食中毒	9 名	400 名以上
1933 年	粕取り焼酎メタノール混入	30 名	多数
1936 年	浜松一中大福餅事件（ネズミ由来のサルモネラ菌食中毒）	44 名	2,244 名
1942 年	浜名湖アサリ貝毒事件	144 名	334 名
1948 年	食糧配給大豆粉 黄色ブドウ球菌食中毒	2 名	約 800 名
1950 年	大阪府南部白子干し 腸炎ビブリオ食中毒	20 名	272 名
1955 年	森永ヒ素ミルク事件（安定剤由来のヒ素の混入）	130 名以上	13,000 名
	雪印八雲工場脱脂粉乳食中毒事件（溶血性ブドウ球菌）	—	1,936 名
1968 年	岩手県・宮城県薩摩揚げ サルモネラ菌食中毒	4 名	608 名
	カネミ油症事件（配管不良による PCB などの混入）	—	多数
1982 年	" 札幌市 西友清田店 集団食中毒 （水由来のカンピロバクター・ジェジュニ、病原大腸菌） "	—	7,751 名
1984 年	辛子蓮根ボツリヌス菌食中毒	11 名	多数
1995 年	EU による水産加工施設等の査察	—	—
	製造物責任法（PL 法） 施行	—	—
	総合衛生管理製造過程（丸総） 承認制度開始	—	—
1996 年	O157 食中毒事件（堺市）	3 名	7,996 名
2000 年	雪印集団食中毒事件（黄色ブドウ球菌）	—	14,780 名
2001 年	BSE 問題	—	—
	ハンナン牛肉偽装事件	—	—
2002 年	日本ハム牛肉偽装事件	—	—
	雪印牛肉偽装事件	—	—
2003 年	飛騨牛偽装事件	—	—
2004 年	鳥インフルエンザ事件（京都府丹波町）	—	—
2005 年	ISO22000 認証開始	—	—
2007 年	不二家使用期限切れ原料使用事件	—	—
	ミートホープ食肉偽装事件	—	—
	白い恋人賞味期限改ざん事件	—	—
	比内地鶏偽装事件	—	—
	赤福餅表示偽装	—	—
	御福餅偽装表示	—	—
	船場吉兆産地偽装	—	—
	中国製冷凍餃子事件	—	10 名
2008 年	こんにゃくゼリー事故	1 名	—
2009 年	事故米不正転売事件	—	—
2011 年	福島第一原子力発電所炉心溶融・水素爆発事故による放射能問題	—	—
	ユッケによる O111 集団食中毒事件	5 名	24 名
2012 年	白菜の浅漬けによる O157 集団食中毒事件	8 名	169 名
2013 年	ホテル食材偽装問題	—	—
	中国産薬漬け・病気 鶏肉問題	—	—
	アクリフーズ農薬混入事件	—	約 1,400 名

※記載内容は、当社調べであり数値的な誤差があることをご了承ください。

表2 日本で注目された海外での主な食品に関する事故・事件・偽装などの出来事¹⁾

年 代	名 称	死者数	発症者数
1993 年	ジャック・イン・ザ・ボックスの大腸菌集団感染（ハンバーガー）：アメリカ	4 名	732 名
1997 年	米国、自国に輸入する水産食品に HACCP 管理を要求	—	—
2000 年	BSE 問題：イギリス	—	—
2004 年	偽粉ミルク（偽の粉ミルクによる幼児の栄養失調）：中国	50 ～ 60 名	100～200名
2007 年	ペットフード大量リコール事件：中国	—	—
	中国製冷凍餃子事件	—	—
	ダンボール肉まん：中国	—	—
2005 年	ISO22000 認証 開始	—	—
2008 年	メラミン入り粉ミルク：中国	—	14 名
2011 年	欧州における腸管出血性大腸菌感染事件：ヨーロッパ	43 名	3,792 名
2013 年	中国産薬漬け&病気鶏肉問題	—	—
2014 年	地溝油（下水溝の廃油や残飯から作る食用油）	—	—

※数値などは当社調べであり、誤差があることをご了承ください。

また、このグラフは、異物検体数なので必ずしもクレーム数と一致するわけではないが、傾向としては消費者の不信感・不安感がクレーム増加につながっているひとつの根拠にはなると考えている。

こういった食品への不信感・不安感は、国内だけでなく、国外の食の事件・事故も少なからず影響を与える。

特に、輸入量が多いこととマスコミの報道により中国での事件・事故は日本国内でも反響を呼ぶ。中国に関する報道はたとえそれが食品ではなかったとしても、中国製の製品全体への不信感・不安感を呼び、食品自体や食品産業へも影響を及ぼす。

つまり、食品事故・事件は、自社だけがしっかり対策していれば大丈夫というわけではなく、国内外、自社他社を問わず問題が起きれば食品業界全体に影響していると感じる。

4. マスメディアの影響

前述のような事情を踏まえると、昔は大きな事故があってもそれほど大問題ではなかったのに、1990 年以降はなぜこんなに大きな問題になってしまうのかという疑問がわく。そのひとつの影響は、マスコミの取り上げ方と SNS の

普及であると感じる。

最近では事件・事故が起こるとマスコミが大きく取り上げ、世間の注目をひくことになる。さらに、その時点での対応が悪ければ、「対応が悪い」、「企業の姿勢はどうなっているのか？」とマスコミにより大きく報道されてしまう。

マスコミの報道の過熱ぶりにも疑問を感じる部分があるのだが、食品企業や経営者の対応にも問題がある。実際に、消費者の目線で見ると納得がいけない説明や対応が目につく。

また、あまりにも多くのクレームに対処していると相手の消費者のことを「クレマーではないか」とか、「このクレームはお客様のところで混入したのではないのか」といった先入観を持ってしまうこともある。

こういったクレーム対応の不備も、その企業だけではなく、食品自体、食品業界全体への不信感を増長させる。

5. 異物混入は増えているのか？

消費者意識が高まり、マスコミの報道が過熱し、異物検体の件数が増加する。これだけを見ると異物混入が増えているような感じを受ける。本当に異物混入が増えてきているのだろうか？ 実際に食品工場を訪問すると 1990 年代

に比べて食品工場の衛生管理の状況は良くなっていると感じる。実感としては、工場によって差はあるものの全体的には向上しているはずだといえる。

ということは、食品事故や食品偽装が異物混入を増加させているのではなく、今までクレームとして届けられていなかった異物混入が表面化しているだけということかもしれない。実

際の異物混入は今までも多く起こっていたのだが、異物が小さすぎて消費者が気づいていなかったり、気づいても異物をよけて食べていたりして、クレームになっていなかっただけかもしれない。つまり、事故や事件を契機に異物に気づいたり、クレームとして申し出されたりする割合が上がっているだけなのではないかということである。もしかしたら各企業の努力に

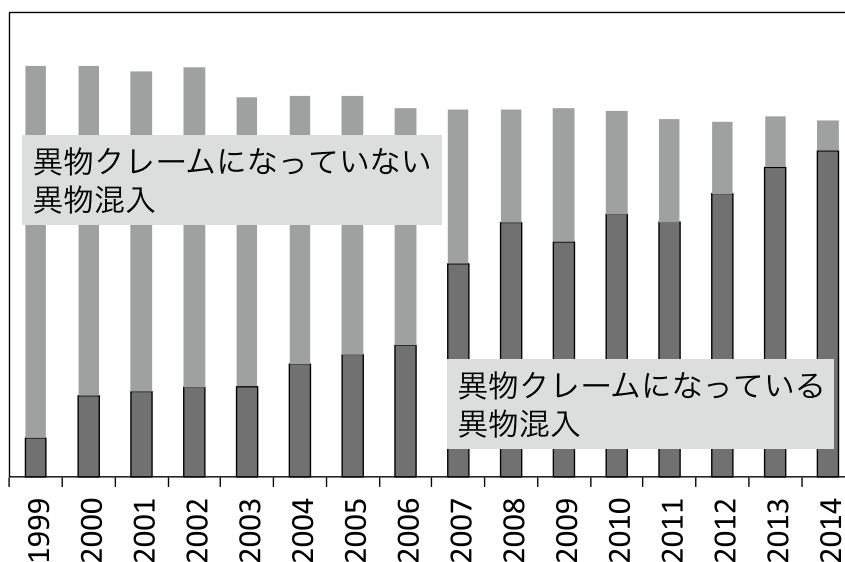


図2 異物混入とクレームとの関係イメージ

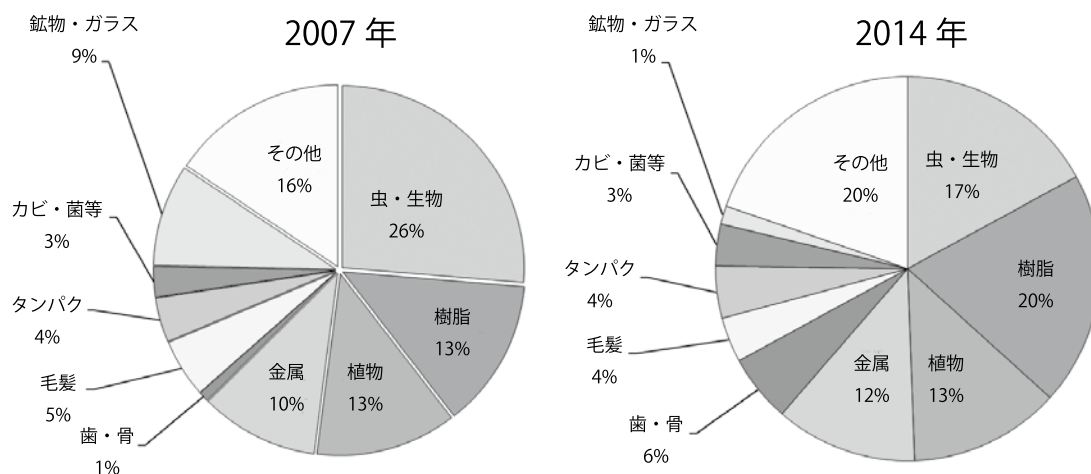


図3 異物検査の内訳

(イカリ消毒株式会社 LC環境検査センター提供)

よって異物混入は減っているにもかかわらずクレームが増えているという可能性すらあるのではないだろうか？

実際に昨年から今年にかけての異物混入事故を見てみると結局、それほど変わったものが混入しているわけではない。

当社の検査部門での2007年と2014年に検査依頼のあった異物を比べてみても、多少、比率は変わるが、混入している異物に特別の大きな変化があったわけではないことがわかる

6. 今、実施すべき異物混入防止対策

異物混入の事例を見ていると、その多くは製造現場近くにある物ばかりである。異物混入防止対策として重要なことが、製造現場で「異物混入が起らない状況を作り出す」ということであるのは、今も昔も変わっておらず、今までと同じように異物混入防止対策を実施していくべきである。ただし、それは起こっているクレームを減らすだけでなく、水面下に眠っている異物混入を減らすということである。そのため、異物混入の危険性をしっかりと予測して、予防していくことも重要である。ただし、被害を大きくしないためには、製造現場の対策だけでなく、クレーム対応、マスコミ対応、SNS対応なども併せて実施する必要がある。

異物混入を予防すること、起こったクレームにしっかりと対応することの両面からの対応が求められる。

6-1. 製造現場の異物混入防止対策

異物混入防止対策として、クレーム処理をしたり、原因究明をしたりすることは非常に重要なことで、それが消費者の不信感・不安感を軽減させる。しかし、それだけでは起こってしまった異物混入に対処しているだけにすぎない。いつまたどこかの企業の事故や事件で、水面下に眠っている異物混入が表面化し、大きな問題になるかわからない。

異物混入として取り上げられるものは、金属片、プラスチック片、ビニール片、糸くず、化

学薬品、虫、ネズミの毛、毛髪、文具など多岐にわたる。それらが混入しないために対策として実施すべきことは、大きくは一般異物混入防止対策、有害生物管理、毛髪混入防止対策などに分けられる。これら個別の対策については、今回は説明を省くが、すべての対策に共通する事項がある。それが、5Sである。最近では、7Sという食品工場が受け入れやすいものも考えだされている。

いずれにしても、製造現場で「異物混入が起らない状況を作り出す」ということが重要である。この状況を作り出すことができれば、大半の異物混入の問題は解決する。5Sや7Sが実施できれば、以下のような状況が解決される。

- ・現場に不要物があふれる
- ・モノがなくなってもわからない状況になる
- ・製造機械などに食品残渣が残る
- ・排水溝などで昆虫類が発生する

逆にいえば、このような状況が解決されていなければ、いくら異物混入防止対策を実施しても問題は解決しない。5Sおよび7Sを実施することで、現場のものは減り、モノがなくなっても気づける状況になり、汚れや残渣もなくなり、昆虫類が発生することもなくなる。

また、5Sおよび7Sが適切に実施できているということは、従業員へのルールの落とし込み、教育訓練、実施状況の確認といった態（習慣づ

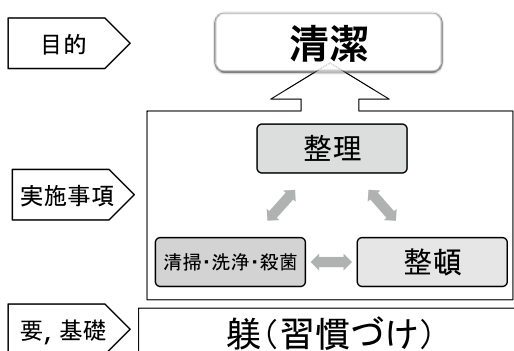


図4 食品衛生 7S の概念図²⁾

け)の活動も上手くいっているということなので、追加でいろいろな対策を実施したとしても上手く機能する可能性が高い。

6-2. 危機管理

前述したように現場の衛生管理だけでなく、クレーム対応も重要である。今までは、単なるひとつのクレームでしかないのかもしれないが、今後は企業の存続を揺るがす危機だとして対応していく必要がある。ただし、これはあくまで企業規模によると考える。一部上場企業や知名度の高い企業は、たとえ異物混入であったとしても企業存続に影響することになりかねないが、中規模・小規模企業の場合は、それほど大きな問題にならない可能性もある。ひとつは、企業の知名度がそれほど高くないとマスコミやSNSでそれほど騒ぎにならない可能性が高いからである。だからといって対応が適当で良いわけではないので、対応はしっかりしなければならない。ただし、危機管理として、食中毒などと併せて、異物混入が自社の経営に及ぼす可能性を把握しておく必要はある。

危機管理としては、緊急連絡網作り、危機対応マニュアル作り、連絡・情報共有ルートとルールづくり、社内コミュニケーションを重んじる社風築き、予防設備の充実、危機への予測と対策、消費者・メディア対応トレーニングなどが挙げられる。いずれに関してもルールを作るだけではなく、トレーニングを行い、実際に機能するのかどうかを確認しなければならない。筆者も偶然ではあるが、製品回収の現場に居合わせたことがある。いろいろとマニュアルが存在したが、いろいろな人がそれぞれの意見を言い、実際に回収すると判断されるまでに1時間ほどかかった。机上だけでは中々危機に対する対応と言うのは上手くいかないの、いろいろなことを想像し、想定する上でもトレーニングを繰り返すことは重要だと思う。

6-3. SNS 対応

SNS への対応に関しては、筆者の知る限りにおいて、確実に良い方策といった手法が確立されているわけではない。現在も様々な企業が試行錯誤している状態であろう。

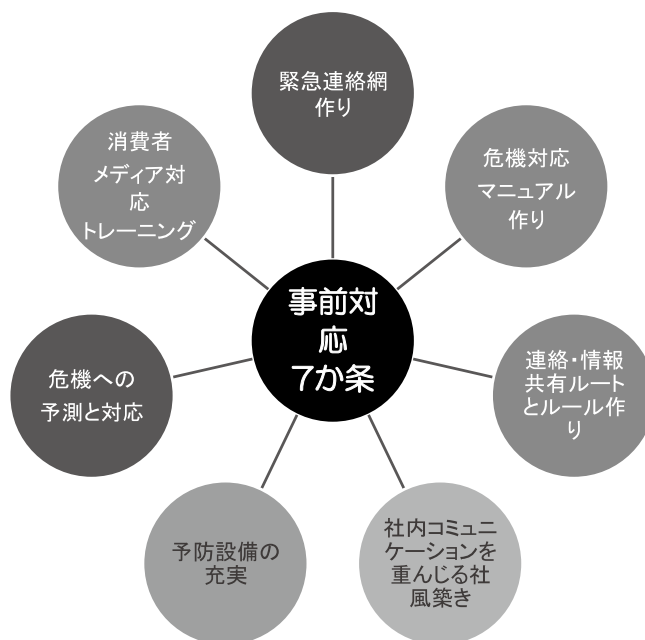


図5 危機の事前対応7カ条

私がひとつ重要だと考えるのは、事故が起こり、SNSなどで大きな騒ぎになった後から火消しを行うことは適切ではないと考える。一度、騒ぎになってしまってからでは何を言っても言い訳にしか聞こえないからである。

そのためには、常日頃から自社の食品安全に対する姿勢、衛生管理の活動などをオープンにしておくことが重要ではないかと思う。その際に、テレビCMやホームページだけでなく、ツイッター、ライン、フェイスブックなどあらゆる媒体を利用しておく方が良いと思う。それは、消費者がどの媒体から情報を得ているのかを計り知れないからである。今まで一番情報が拡散する媒体はテレビCMであったが、今後はあらゆる媒体から情報が拡散すると考えておいた方が良いのではないだろうか。

また、他の食品企業、海外の食品企業、同業種の企業が事件や事故を起こした場合にも自社への影響や問い合わせが増える可能性がある。その時の対応も問題があれば、大きな問題になるかもしれない。そのため、前述のような食品に関する事故・事件があった際には、それらの

事故・事件の原因に対して、自社ではどのような活動や予防策を講じているのかを様々な媒体を使って配信することも危機を回避するために有効かもしれない。

さいごに

今回は、多くの食品企業様からの依頼をいただいている中で感じた、異物混入の今に関して書かせていただいた。

製造現場の改善については、今も昔も変わらず5Sや7Sが重要であることは変わっていないと感じている。

しかし、クレームの対応、事故の対応に関しては、企業の規模や知名度、取引先などを考慮して自社にあった危機管理を考えなくてはならない時代になってきていると感じている。また、SNS対策など未だ対策が明確でない状況もあるため、現状はその時その時の状況を判断して対応するしかない。そんな中、今はいろいろは情報や事例を収集して自社の規模にあった危機管理を構築していく必要があると思う。

参考文献

1. 米虫 節夫 他：食品衛生 7S でおこなう異物混入対策とフードディフェンス。日刊工業新聞社，2015.
2. 米虫 節夫 他：食品衛生 7S 入門 Q & A。日刊工業新聞社，2008.
3. 山見 博康：企業不祥事・危機対応広報完全マニュアル。自由国民社，2013.

サツマイモ葉身中のカフェオイルキナ酸類分析法の 単一試験室での妥当性確認とその活用

佐々木 一憲 (SASAKI Kazunori) 沖 智之 (OKI Tomoyuki) 奥野 成倫 (OKUNO Shigenori)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター

Key Words：サツマイモ カフェオイルキナ酸類 ポリフェノール 分析法 相対感度係数

はじめに

サツマイモ (*Ipomoea batatas* L.) は痩せ地でも良く育ち強風にも強いいため、日本では重要な救荒作物として江戸時代には飢饉の際に大いに活躍し、現在では北海道から沖縄まで広く栽培されている。サツマイモの塊根はミネラル、ビタミンなどの栄養バランスが非常に良く、さらにポリフェノール成分、あるいはカロテンなどが多く含まれており、準完全栄養食品と言われている¹⁾。また、サツマイモの塊根は青果としてのみならず、焼酎などのアルコール類やでん粉、加工食品などの原料として幅広く利用されている。

一方、サツマイモ茎葉部はアジアやアフリカ諸国、日本では沖縄地域において食材としての利用はあるが、葉身部にはえぐみや青臭さがあるため²⁾、今日の日本での食材としての利用は限られている。しかし、九州沖縄農業研究センターで開発された品種「すいおう」³⁾ (図1) は葉身部のえぐみや青臭さが少ない良食味を特徴としており、茎葉部の食用に適している。また、生育が旺盛なため年数回の収穫が可能であり、1アール当たり1トン以上収穫されること



図1 サツマイモ茎葉利用品種「すいおう」

が報告されている⁴⁾。

「すいおう」の葉身部は栄養価も高く、タンパク質、繊維およびミネラル類、特にカリウム、リン、カルシウム、マグネシウム、鉄、マ

連絡先：〒861-1192 熊本県合志市須屋 2421

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター

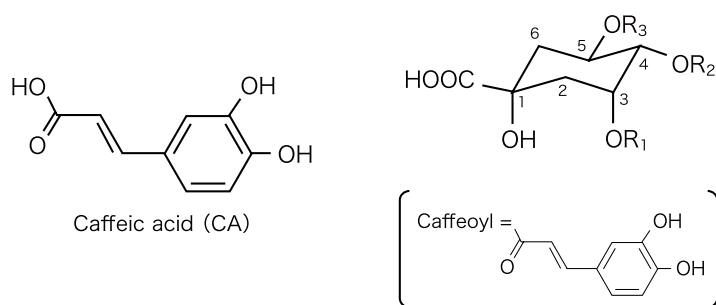
E-mail: sasakikk@affrc.go.jp

ンガンが豊富に含まれている⁴⁾。さらに「すいおう」葉身中には機能性成分として着目されているポリフェノールの一種、カフェオイルキナ酸類 (Caffeoylquinic acids : CQAs) の含量も多いことが明らかとなっており⁵⁾、健康増進機能等も報告されている。そこで九州沖縄農業研究センターでは「すいおう」を日々の食生活に取り入れるため、生葉に加えて一次加工品であるペーストやパウダーを利用した料理レシピの開発を行い、「すいおう」活用の促進に取り組んできた。他方で「すいおう」の加工品も市場に登場し、ポリフェノール成分に着目した青汁や茶様飲料が製品化されている。

一方で、「すいおう」中の主要なポリフェノール成分である CQAs の分析法については、標準化された分析法が存在しないのが現状である。そこで筆者が所属するグループでは、サツマイモ茎葉品種「すいおう」葉身部に含まれるカフェ酸 (Caffeic acid : CA) および 7 種の CQAs の分析法について、単一試験室において妥当性を確認するとともに、「すいおう」中の CQAs の部位別比較やサツマイモ品種・系統の葉身における CQAs の測定を試みてきた。本稿ではこれら一連の内容を紹介する。

1. サツマイモ茎葉中のカフェオイルキナ酸類

「すいおう」葉身部の栄養価は一般的な野菜と比較してもトップクラスである。また機能性成分であるルテインやポリフェノールの含量も多い。「すいおう」に含まれる主要なポリフェノール成分としては CA や CQAs が知られている。CQAs は CA とキナ酸が脱水縮合した化学構造を有する化合物群の総称であり、CA の結合位置や結合数により様々な異性体が存在する。「すいおう」中には 7 種の CQAs が存在することが知られており、それらは図 2 に示したようにキナ酸に CA が一分子結合したモノカフェオイルキナ酸が 3 種 (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA)、キナ酸に CA が二分子結合したジカフェオイルキナ酸が 3 種 (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA)、キナ酸に CA が三分子結合したトリカフェオイルキナ酸が 1 種 (3,4,5-triCQA) である。CQAs はサツマイモ塊根、コーヒー豆、ゴボウ、シュンギクをはじめとした様々な農作物に含まれており、我々が 1 日に摂取する含量は 1.0 g と推算されている⁶⁾。特に、コーヒー豆 (27.9 ~ 52.0 g/kg・乾物重)、ナス (14.1 ~ 28.0 g/kg・乾物重)、マテ茶葉 (4.8 ~ 24.9 g/kg・乾物重) などが一般的な野菜よりも



化合物名	略称	一般名称	置換基
3-caffeoylquinic acid	3-CQA	Neochlorogenic acid	$R_1 = \text{Caffeoyl}, R_2 = R_3 = \text{H}$
4-caffeoylquinic acid	4-CQA	Cryptochlorogenic acid	$R_2 = \text{Caffeoyl}, R_1 = R_3 = \text{H}$
5-caffeoylquinic acid	5-CQA	Chorogenic acid	$R_3 = \text{Caffeoyl}, R_1 = R_2 = \text{H}$
3,4-dicafeoylquinic acid	3,4-diCQA	Isochlorogenic acid B	$R_1 = R_2 = \text{Caffeoyl}, R_3 = \text{H}$
3,5-dicafeoylquinic acid	3,5-diCQA	Isochlorogenic acid A	$R_1 = R_3 = \text{Caffeoyl}, R_2 = \text{H}$
4,5-dicafeoylquinic acid	4,5-diCQA	Isochlorogenic acid C	$R_2 = R_3 = \text{Caffeoyl}, R_1 = \text{H}$
3,4,5-tricafeoylquinic acid	3,4,5-triCQA	—	$R_1 = R_2 = R_3 = \text{Caffeoyl}$

図 2 サツマイモ葉身中に含まれるカフェオイルキナ酸類

CQAs が高含有であることが知られており、サツマイモ葉身部では 14.2 ～ 171 g/kg- 乾物重の範囲で含まれている^{5, 7-9)}。また、CQAs は抗酸化作用、抗がん作用、メラニン生成抑制作用、神経保護作用などの様々な機能性を示すことが報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾。「すいおう」茎葉部においても動物実験での血圧降下作用やヒトでの LDL 酸化抑制効果が報告されており^{15, 16)}、それら機能性は CQAs によるものと考えられている。

2. サツマイモ葉身中の CA と 7 種の CQAs の分析法と単一試験室での妥当性確認

分析法を標準化するためには、分析法の妥当性を確認することが不可欠である。分析法の妥当性確認とは、ISO/IEC 17025 において、「意図する特定の用途に対して個々の要求事項が満たされていることを調査によって確認し、客観的な証拠を用意することである。」と記載されている。すなわち、標準作業手順書に従って、誰がどこで分析しても測定値がある一定の範囲内に収まることを実証することにより、分析法の妥当性が確認される。具体的には、複数の試験所が参加する室間共同試験を実施するが、その前に単一試験室において設定した分析法の能力を確認し、さらに単一試験室で分析法の妥当性確認を行う必要がある。そこで筆者らはサツマイモ葉身中の CQAs 分析法の単一試験室での妥当性確認に着手した。

九州沖縄農業研究センターの研究グループでは 10 年以上前からサツマイモ茎葉中の CQAs

に着目した研究に取り組んでおり、CQAs の分析は ODS カラムを用いた逆相クロマトグラフィーにより行い、CA および 5 種の CQAs (5-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA, 3,4,5-triCQA) を分析対象としていたが⁵⁾、その分析法の妥当性は確認されていなかった。そこで筆者らは、まず Okuno らの方法¹⁷⁾に 4 つの改変を加えた後、単一試験室で分析法の妥当性の確認を行った。改変点は以下のとおりである。

- 1) これまで分析対象であったサツマイモ茎葉中の CA および 5 種の CQAs にマイナー成分である 2 種のモノカフェオイルキナ酸類 (3-CQA と 4-CQA) を加え、分析対象を 8 成分にした。
- 2) サツマイモの茎葉に加えて塊根中の CQAs も測定を可能とするように、Okuno らがサツマイモ葉身中の CQAs 分析のために選定した ODS カラムの長さおよび HPLC 分析条件に改変を加え、CA と 7 種の CQAs の計 8 成分がサツマイモ葉身および塊根由来の成分と良好に分離する条件を設定した (図 3)。
- 3) カンショ葉身の凍結乾燥品から CA と 7 種の CQAs を抽出する条件において、従来の 80% (v/v) エタノールを抽出溶媒に用いたまま、抽出溶媒量と抽出回数最適化を行った。
- 4) これまで 5-CQA の相当量として定量されていた成分について、高純度の試薬として高価ではあるものの入手可能であったことから、それら成分のモル吸光係数を求め

表 1 サツマイモ葉身中の 7 種の主要カフェオイルキナ酸類の相対感度係数

化合物名	CAS 登録番号	モル吸光係数※ (326 nm)	分子量	相対感度係数※ (RRF)
3-caffeoylquinic acid	906-33-2	19,300 ± 300	354.31	1.005
4-caffeoylquinic acid	905-99-7	17,300 ± 200	354.31	1.121
5-caffeoylquinic acid	327-97-9	19,400 ± 300	354.31	1.0
3,4-dicaffeoylquinic acid	14534-61-3	33,700 ± 400	516.45	0.839
3,5-dicaffeoylquinic acid	2450-53-5	29,600 ± 500	516.45	0.955
4,5-dicaffeoylquinic acid	32451-88-0	35,000 ± 600	516.45	0.808
3,4,5-tricaffeoylquinic acid	86632-03-3	45,500 ± 800	678.59	0.817

※既報²¹⁾ から引用した数値

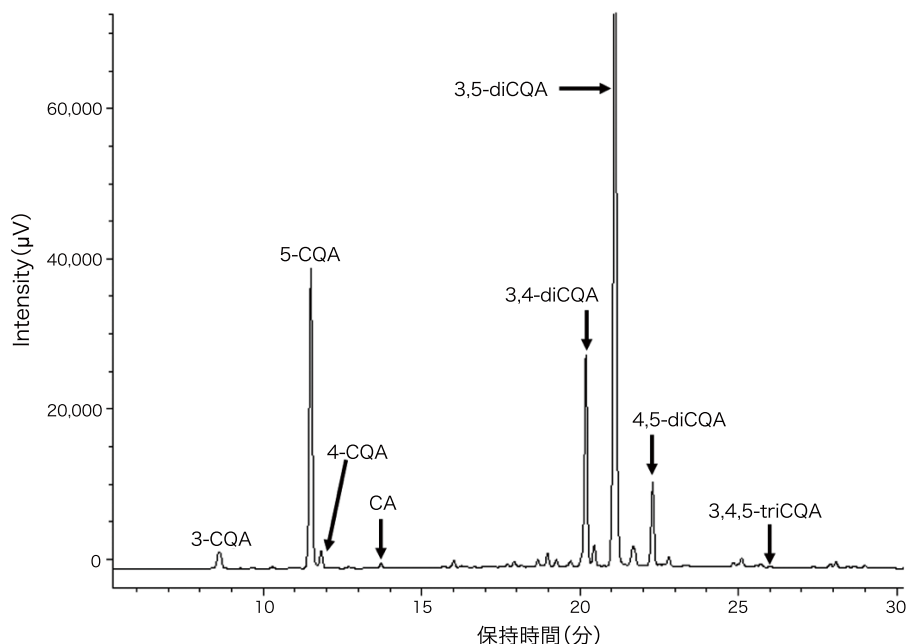


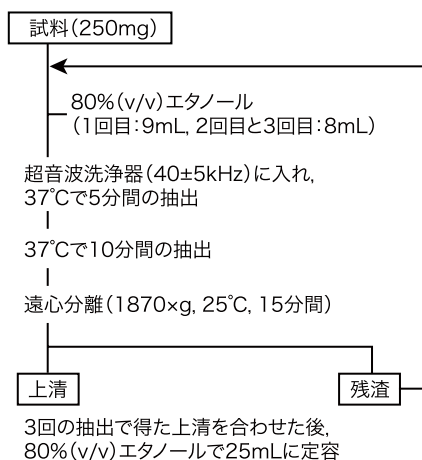
図3 サツマイモ茎葉利用品種「すいおう」葉身のクロマトグラム

図中の略称の正式名称は図2を参照

<HPLC分析条件>

カラム: Cadenza CD-C18
(Imtakt社, 内径4.6mm×250mm, 粒子径3μm)
溶離液: (A) 水:ギ酸=100:0.2,
(B) アセトニトリル
溶離条件: 7% (B) → 40% (B), 33分間 (1%/min)
流速: 1mL/min
カラム温度: 40℃
試料注入量: 5μL

<抽出操作>



<カフェオイルキナ酸類の算出式>

$$C = [(A_{\text{sample}} - A_{\text{intercept}}) \times V_{\text{sample}} \times d \times \text{RRF}] / [S \times M_{\text{sample}} \times 10^3]$$

C: カフェオイルキナ酸量 (μg/g)

A_{sample} : 各カフェオイルキナ酸類のピーク面積

$A_{\text{intercept}}$: 検量線の切片

V_{sample} : 試料抽出量 (L)

d: 試料希釈倍率

RRF: 相対感度係数

S: 5-CQAで作成した検量線の傾き

M_{sample} : 試料量 (g)

図4 サツマイモ葉身中のカフェオイルキナ酸類分析法の概要

て、モル吸光係数と分子量から表 1 に示した相対感度係数 (Relative Response Factor : RRF) を算出し、絶対量として定量することを可能とした。すなわち、CA および 5-CQA はそれぞれの標品を用いて作成した検量線で定量して、それら以外の 6 種の CQAs は 5-CQA で作成した検量線を用いて 5-CQA 相当量として測定した後、RRF を乗じることにより各 CQAs を絶対量として算出する方法を適用した。

なお、RRF を用いた定量法は、大豆中のイソフラボン類¹⁸⁾や茶中のカテキン類¹⁹⁾の定量にも用いられており、標準品の入手に要する費用が抑えられる、実験操作もより簡便となるという利点がある。以上の改変を加えたカンショ葉身中の CA と 7 種の CQAs の分析方法の概略は図 4 に示したとおりである。

次いで、実験器具、実験操作および解析方法について詳細に記した標準作業手順書を作成し、標準作業手順書に従った分析により試料であるサツマイモ葉身の凍結乾燥品から分析対象である CA や CQAs が回収できているかを検討する添加回収試験を行った。すなわち、アメリカ分析化学会 (AOAC) のガイドラインに基づき、試料にサツマイモ茎葉濃縮エキスから調製した CA と CQAs の濃度が異なる 3 種の溶液をそれぞれ添加して、一日あたり 2 反復の測定を行い、その測定を異なる 5 日間繰り返して分析することで、添加回収率を確認すると同時に単一試験室での分析精度を確認した。サツマイモ葉身での添加回収試験では、試料に添加した CA と CQAs の量に対する抽出操作により回収された量の割合である回収率が 3,4,5-triCQA を除く 7 種の分析対象において 93.9 ~ 101.0% であった。AOAC が濃度別に定めた許容される回収率²⁰⁾と比較したところ、分析対象である 7 成分すべてにおいて回収率が許容範囲内に収まり、標準作業手順書に従った分析での回収率には問題がないことが示されている。また、標準作業手順書に基づく計 10 回の繰り返し分析から算出した併行相対標準偏差および中間再現性

相対標準偏差は、それぞれ 1.3 ~ 3.3%, 1.9 ~ 5.5% の範囲であり、サツマイモ葉身中の CA と 7 種の CQAs の分析法は良好な併行精度および室内再現性を示すことが確認されている²¹⁾。AOAC のガイドラインによると、これまでの室間共同試験の結果から考案された Horwitz 式に試料中の分析対象の濃度 (質量分率) を代入して予測される室間再現相対標準偏差に対する単一試験室での繰り返し分析により求められた中間再現性相対標準偏差の比が $0.3 < \text{HorRat} \leq 1.3$ であると満足のいく分析精度が得られたと判断できる²²⁾。本研究における分析法では、8 成分の HorRat が 0.5 ~ 1.0 の範囲であったため、満足のいく分析精度が得られたと判断された²¹⁾。

3. サツマイモ茎葉利用品種「すいおう」における CA および CQAs の部位別比較

サツマイモの地上部は葉身、葉柄および茎で構成されている。そこで、サツマイモ茎葉利用品種「すいおう」の地上部を 3 部位に分けて、それぞれの部位に含まれる CA および CQAs の量を上記の単一試験室にて妥当性が確認された分析法で測定した。その結果、2013 年 4 月に九州沖縄農業研究センター (都城研究拠点) で収穫された「すいおう」の葉身と茎では CA と 7 種の CQAs が検出されたが、葉柄においては 3,4,5-triCQA のみ検出限界以下で定量できなかった。また、CA と 7 種の CQAs の合計量は、葉身で最も多く 41,532 $\mu\text{g/g}$ -乾物重であり、茎 (12,176 $\mu\text{g/g}$ -乾物重) の約 3.4 倍、葉柄 (9,003 $\mu\text{g/g}$ -乾物重) の約 4.6 倍であった。一方で「すいおう」の葉身、葉柄および茎における CA および CQAs の組成は図 5 に示したように、部位により特徴があることが示された。すなわち、葉身では 3, 5-diCQA が最も多く含まれており (61.2%), 次いで 5-CQA (12.8%), 3,4-diCQA (11.7%) の順であった (図 5A)。葉柄および茎においても同様に 3,5-diCQA の含量が最も多く、3,4-diCQA および 5-CQA も多く含まれており、これら 3 種の CQAs の合計量

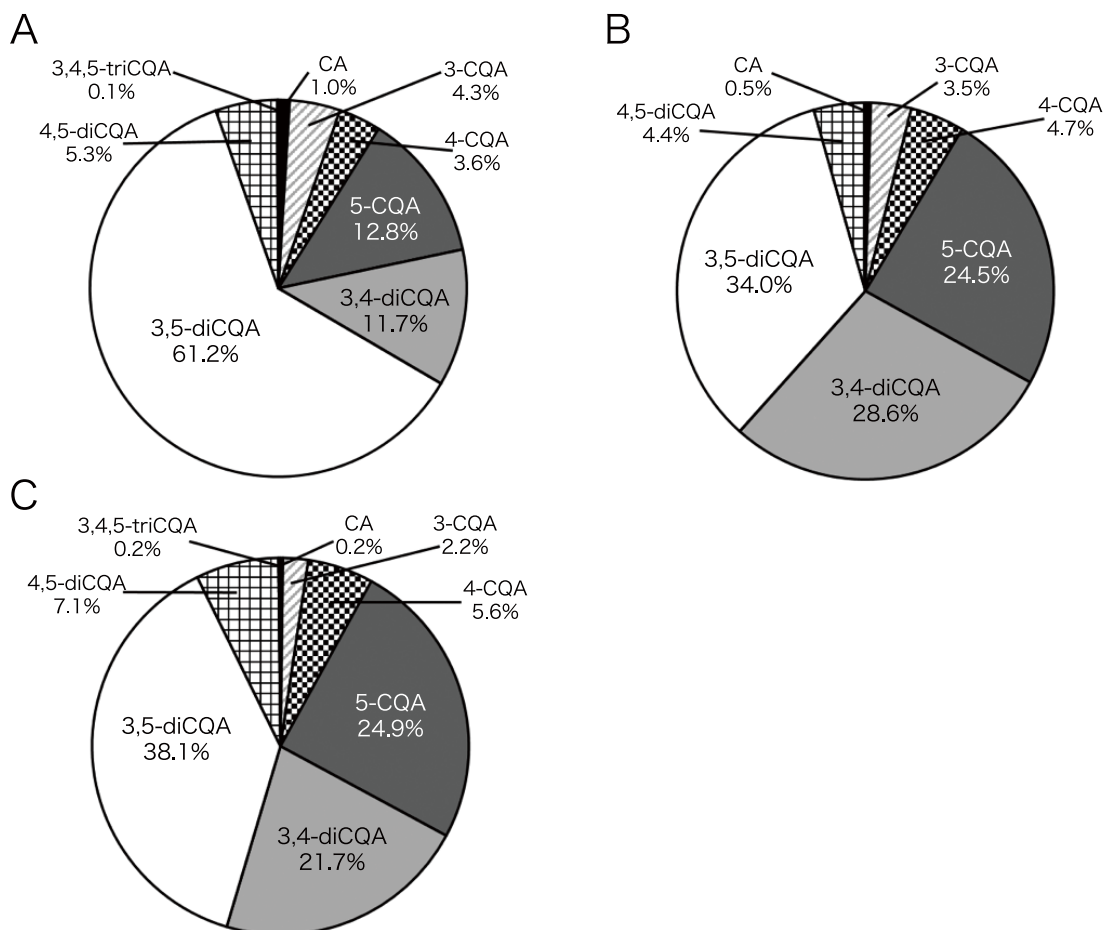


図5 サツマイモ茎葉利用品種「すいおう」の葉身 (A)、葉柄 (B)、茎 (C) におけるカフェオイルキナ酸類組成

図中の略称の正式名称は図2を参照

が全体の85%以上を占めていた。しかし、葉柄における3,5-diCQA、3,4-diCQAおよび5-CQAの全体に占める割合はそれぞれ34.0%、28.6%、24.5% (図5B)であり、茎ではそれぞれ38.1%、21.7%、24.9% (図5C)であることから、葉身と比べた場合、葉柄と茎では3,5-diCQAの割合が低く、3,4-diCQAと5-CQAの割合が高いことが判明した。

4. サツマイモ茎葉19品種・系統中のCAおよびCQAsの含量

九州沖縄農業研究センター (都城研究拠点)

で2012年の5月に収穫されたサツマイモ19品種・系統の葉身を試料として、単一試験室において妥当性を確認した分析法でCAおよびCQAsの定量を行い、葉身中のそれら成分量の品種・系統間における比較を行った。その結果、図6のグラフに示したように、「すいおう」と同じく葉身が緑色であるサツマイモ10品種・系統中のCAと7種のCQAsの合計量 (CQAs総量) は29,468 ~ 53,678 $\mu\text{g/g}$ 乾物重の範囲で平均値は42,022 $\mu\text{g/g}$ 乾物重であった。一方、サツマイモ葉身にアントシアニンが存在することにより、葉身が紫色をしている9品種・系

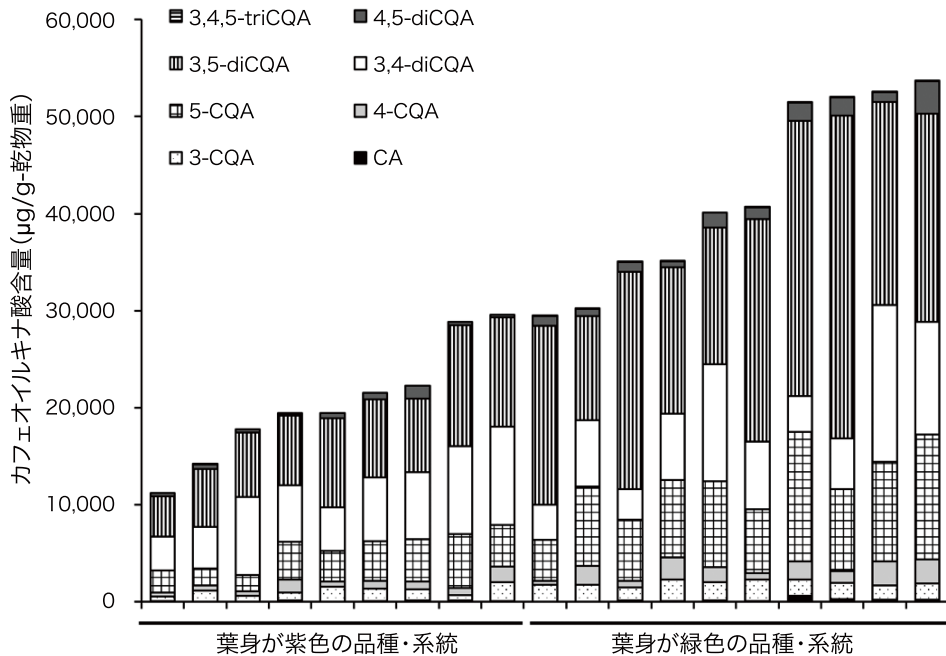


図6 サツマイモ 19 品種・系統の葉身中のカフェオイルキナ酸類含量
図中の略称の正式名称は図2を参照

統中の CQAs 総量は 11,209 ~ 29,581 µg/g・乾物重の範囲で平均値は 20,464 µg/g・乾物重であった。そのため、今回測定したサツマイモ品種・系統に限定された範囲での結果ではあるが、緑色を呈する葉身の CQAs 総量が紫色の葉身より多いことが示された。

また、サツマイモ葉身中の CQAs について、緑色を呈する葉身（10 品種・系統）の中では 1 品種、紫色を呈する葉身（9 品種・系統）の中では大半の 7 品種・系統で 3,4,5-triCQA が検出限界以下で定量できなかったが、それ以外の CA と 6 種の CQAs はすべての品種・系統の葉身において存在することが判明した。また、いずれの品種・系統においても、3 種の CQAs（3,5-diCQA, 3,4-diCQA, 5-CQA）の合計量が全体の 84.6% ~ 94.0% を占めており、さらに 3 種の CQAs の中では 1 品種を除いて、3,5-diCQA が最も多く含まれていた。しかし、紫色を呈する葉身では、9 品種・系統すべてにおいて、3,4-diCQA が 5-CQA より多く含まれていた一方で、緑色を呈する葉身では半数以上である 7

品種・系統で 5-CQA の方が多く、今回測定した試料においては葉身の色により CQAs の組成が異なる傾向であることが明らかとなった。

おわりに

我々の研究グループが確立したサツマイモ葉身中の CA および 7 種の CQAs（3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA, 3,4,5-triCQA）の分析法は相対感度係数（RRF）を用いることで、安価に入手可能な CA と 5-CQA のみを標準品にして分析可能であることから、簡便な手法で実施でき、かつ使用する機器は分光光度計および HPLC と一般的であることから汎用性は高いと考えられる。また、CQAs は様々な野菜や果物に含有されており、我々の日常生活において摂取する機会の多い機能性成分の一つである。そのため今後、サツマイモ茎葉および塊根だけではなく、様々な食資源にも本分析法を適用できるようにしていきたい。

[謝辞]

本研究を遂行することにあたり、サツマイモ
茎葉試料をご提供いただきました九州沖縄農業

研究センター（都城研究拠点）の甲斐由美氏に、
誌面を借りて深謝申し上げます。

参考文献

- 高畑 康浩, 北原 兼文, 中村 善行, 他: II章 3 節いもの成分. サツマイモ事典 (財団法人いも類振興会, 東京), 111-124, 2010.
- 甲斐 由美: サツマイモ茎葉利用品種の魅力と可能性. 農業技術, **65**: 370-374, 2010.
- Ishiguro, K., Toyama, J., Islam, M. S., *et al.*: Suioh, a New sweetpotato cultivar for utilization in vegetable greens. *Acta Hort.* **637**: 339-345, 2004.
- 石黒 浩二, 外山 潤, 吉元 誠: 茎葉利用サツマイモ「すいおう」における部位別の栄養・機能性の差異. 日本作物学会九州支部会報 **70**: 36-39, 2004.
- Islam, M. S., Yoshimoto, M., Yahara, S. *et al.*: Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 3718-3722, 2002.
- Chen, Z. Y., Peng, C., Jiao, R. *et al.*: Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. *J. Agric. Food Chem.* **57**: 4485-4499, 2009.
- Monteiro, M. C., Farah, A.: Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea arabica* cultivars from various consecutive years. *Food Chem.* **134**: 611-614, 2012.
- Mennella, G., Lo, Scalzo, R., Fibiani, M. *et al.*: Chemical and bioactive quality traits during fruit ripening in eggplant (*S. melongena* L.) and allied species. *J. Agric. Food Chem.* **60**: 11821-11831, 2012.
- Heck, C. I., Schmalko, M. and González, de Mejía, E.: Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). *J. Agric. Food Chem.* **56**: 8394-8403, 2008.
- Gebhardt, R.: Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **144**: 279-286, 1997.
- Kurata, R., Adachi, M., Yamakawa, O. *et al.*: Growth suppression of human cancer cells by polyphenolics from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *J. Agric. Food Chem.* **55**: 185-190, 2007.
- 下園 英俊, 小堀 真珠子, 新本 洋士, 他: サツマイモ抽出物によるマウスメラノーマ細胞のメラニン生成抑制. 日本食品科学工学会誌, **43**: 313-317, 1996.
- Han, J., Miyamae, Y., Shigemori, H. *et al.*: Neuroprotective effect of 3,5-di-O-Caffeoylquinic acid on SH-SY5Y cells and senescence-accelerated-prone mice 8 through the up-regulation of phosphoglycerate kinase-1. *Neuroscience* **169**: 1039-1045, 2010.
- Sasaki, K., Han, J., Shimozono, H. *et al.*: Caffeoylquinic acid-rich purple sweet potato extract, with or without anthocyanin, imparts neuroprotection and contributes to the improvement of spatial learning and memory of SAMP8 mouse. *J. Agric. Food Chem.* **61**: 5037-5045, 2013.
- 石黒 浩二, 吉元 誠, 鏑田 仁人, 他: サツマイモ茎葉の血圧降下作用. 日本食品科学工学会誌, **54**: 45-49, 2007.
- Nagai, M., Tani, M., Kishimoto, Y. *et al.*: Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves suppressed oxidation of low density lipoprotein (LDL) *in vitro* and in human subjects. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **48**: 203-208, 2011.
- Okuno, S., Ishiguro, K., Yoshinaga, M. *et al.*: Analysis of six caffeic acid derivatives in sweetpotato leaves by high-performance liquid chromatography using a short column. *JARQ* **44**: 415-420, 2010.
- Collison, M. W.: Determination of Total soy isoflavones in dietary supplements, supplement ingredients, and soy foods by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection: Collaborative study. *J. AOAC Int.*, **91**: 489-500, 2008
- ISO/CD 14502-2 (Committee Draft Number). Methods for determination of substances characteristic of green and black tea. Part 2: Determination of catechins in green tea - Method using high performance liquid chromatography; 9-10, 2005.
- Latimer, G. Jr.: AOAC Int., AOAC Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. "Official Methods of Analysis of AOAC Int.", 19th ed. Gaithersburg, MD, USA. 2012. http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf
- Sasaki, K., Oki, T., Kobayashi, T. *et al.*: Single-laboratory validation for the determination of caffeic acid and seven caffeoylquinic acids in sweet potato leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **78**: 2073-2080, 2014.
- Latimer, G. Jr.: AOAC Int., Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements. "Official Methods of Analysis of AOAC Int.", 19th ed. Gaithersburg, MD, USA. 2012. http://www.oma.aoac.org/app_f.pdf

エネルギー密度に注目した食事の選択 — デンシエット (Densiet) —

奥村 仙示 (OKUMURA Hisami) 多々納 浩 (TATANO Hiroshi)

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 医科栄養学科 臨床食管理学分野

Key Words：エネルギー密度 (ED) 満腹度 満足度 低エネルギー 食事 デンシエット (Densiet)

はじめに

ユネスコ無形文化遺産に「和食；日本人の伝統的な食文化」が登録された。和食（日本食）は、日本人の世界一長寿を支える根幹で、栄養バランスに優れた世界に誇れる健康的な食事であることは疑う余地がない。しかし、日本食を食べているはずの日本人も肥満や糖尿病が増加し食生活の改善が必要とされる人が多くなってきた。社会的なダイエット食ブームの中、社員食堂、大学、病院等からレシピ本、関連商品が販売され食事への関心の高さが示されているが、基になる日本食が何故良いかについて食事組成に関する研究は極めて少なく、科学的根拠が求められている。

食事の研究には、大きく分けて2つのアプローチが想定できる。1つは食品の効果、機能的成分やメカニズムを追求する研究、もう1つは、炭水化物、脂質、たんぱく質の組成に視点を置いた組み合わせの研究である。本項では、我々が取り組んでいる、「食卓」を想定した後者の組成の研究について紹介する。

1. エネルギー密度 (Energy Density: ED) とは

エネルギー密度 (ED) は食品 1g あたりのエネルギー (kcal/g) である。ED は、その食品の水分含量と脂質含量に大きな影響を受けるた

め、野菜や果物、スープなど水分の多い食品は低 ED の食品で、バターや洋菓子など脂質の多い食品は高 ED の食品となる。従って、食事に野菜を多く使用することで低 ED 食になる。生活習慣病改善のために減量や体重維持を考える際、低エネルギーでも満腹度・満足度が高い食べ方は大事である。細かな ED の数値にとらわれる必要はないが、日々の食事の ED を意識することは重要である。この概念の第一人者の Rolls BJ 博士の著書 Volumetrics¹⁾ や、OKINAWA DIET²⁾ の中に ED の概念が紹介されている。我々は、ED に注目し、日本人の嗜好に合わせ、主食を米飯とした昼食の検討を行った。

図 1 は、ED のイメージ図である。同じ 500 kcal なら、ハンバーガーは、重量が 200 g なので、 $500 \text{ kcal} \div 200 \text{ g} = 2.5 \text{ kcal/g}$ となり、高 ED となる。一方、ごはん、野菜、スープを中心にした日本食は、500 g の重量とすると、 $500 \text{ kcal} \div 500 \text{ g} = 1.0 \text{ kcal/g}$ となり、低 ED となる。

2. 低エネルギーでも満腹度・満足度の高い、デンシエット (Densiet) 弁当

デンシエット (Densiet) は、密度 (Density) に注目した食事 (Diet) という我々が考案した造語で、徳島大学が 2015 年に商標登録を行った。

食事提供の際、スタミナ、満腹、満足、ヘルシー、おいしい、健康など、お店が自由に謳い

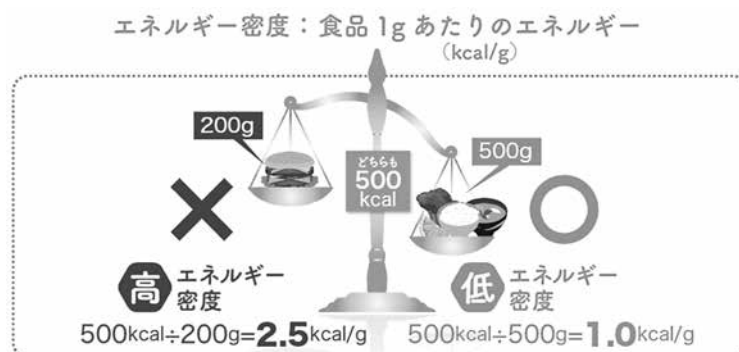


図1 エネルギー密度について

販売されているが、根拠が乏しいことが指摘されている。無制限に好きなものを好きなだけ食べることができれば、最も満腹度・満足度が高いが、健康を維持することができなくなることが容易に予想される。そこで、エネルギーは少ないが、満腹度・満足度が高い食べ方について検討した。

我々は、約 300 人に 6 種類のエネルギーや組成の異なる約 1800 食の無作為交差試験を行った³⁾。そして、約 500 kcal でも満腹度・満足度の高い食事組成について検討した。満腹度・満足度の高い食事組成を示すことで (図 2)、この基準の範囲にして食事を作成すると、各レストランやお弁当会社の味を大きく変えることなく、量や調理法を調整できるので、付加価値のある食事を提供することが可能となる。

低エネルギーでも満腹度・満足度が高い デンシエット (Densiet) 弁当

エネルギー：約 500 kcal
 野菜の量：200-240 g
 米飯：150 g
 塩分：3.0 g 以下
 エネルギー密度 (ED)：1.0 kcal/g 以下

エネルギー：約 500 kcal
 野菜の量：200-240 g
 米飯：100 g
 塩分：3.0 g 以下
 エネルギー密度 (ED)：1.0 kcal/g 以下

若い男性は、米飯 100 g で、
 主菜が多めの基準がお勧めです。

図2 デンシエット (Densiet) 弁当の基準

3. 対象と方法

3-1. 対象者

健常な成人 280 名 (男性 182 名、女性 98 名、年齢 42.0 ± 0.5 歳、BMI $23.3 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$) を対象とした。参加者は、座位中心の規則的な生活を送っている事務職員とした。なお、事前の食事嗜好調査表により、試験食材が嗜好に合わない者は除外した。本試験の実施に際しては、徳島大学病院倫理委員会の承認の下に、試験開始前の対象者に対して、試験内容及び方法などについて十分な説明を行い、文書による同意を得た。

3-2. 試験食

試験食として、6 種類のお弁当を用いた (表 1)。この試験食は 6 種共に毎回同じ食材を用い、見た目は変えずに調理法を変えることで油を付加した。基本食の① Control は米飯 150 g、主菜 40 g、野菜 240 g、エネルギー 500 kcal、ED 0.75 kcal/g、PFC 比は 20:14:66、② High meat (Hmeat) は、米飯を 100 g に減らし、代わりに主菜を 80 g に増やした。③ Medium fat Low vegetable (MfatLveg) は、主菜に脂身を多く含む部位に変え、野菜を 1/3 の 80 g に減らした。④ Low vegetable (Lveg) は、米飯・主菜量は同じで、野菜を 1/3 の 80 g に減

表 1 試験食の組成



		Control	Hmeat	Mfat Lveg	Lveg	Hfat	Hfat Lveg
米飯	g	150	100	150	150	150	150
主菜	g	40	80	40	40	40	40
エネルギー	kcal	500	513	520	427	896	824
たんぱく質	g(%)	25.0(20.0)	32.4 (25.3)	18.4 (14.2)	21.1 (19.8)	22.3 (10.0)	18.4 (9.0)
脂質	g(%)	7.5 (13.5)	11.8 (20.8)	17.4(30.2)	6.3 (13.3)	51.6(51.8)	50.4 (55.1)
炭水化物	g(%)	84.7 (66.5)	70.8 (53.9)	69.8 (55.6)	69.9 (66.9)	84.5(38.2)	69.8 (35.9)
食物繊維	g	7.6	7.5	2.9	2.9	7.6	2.9
食塩	g	2.3	2.9	1.8	1.8	2.3	1.8
ED	kcal/g	0.75	0.73	1.20	0.99	1.28	1.77
野菜重量	g	240	240	80	80	240	80

らした。⑤ High fat (Hfat) は、主菜に脂身を多く含む部位と脂質を多く使う調理法に変え、油の付加によりエネルギーを増加させた。⑥ High fat Low vegetable (HfatLveg) は、Hfat から野菜量を 1/3 の 80 g にした。

以下の 7 項目（満腹感は、満足感は、どれだけ食べられるか、おいしいものが食べたいか、甘いものが食べたいか、塩辛いものが食べたいか、脂っこいものが食べたいか）について、食前、食後 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 時間後に主観的評価尺度（VAS）試験を行った。

4. デンシエット・アルゴリズム

4-1. 年齢による違い³⁾

年齢に関わらず、野菜の摂取量が多い食事が、満腹度・満足度が高くなり、野菜の摂取量が重要性であることが示された。同じ 500 kcal の食事において、40 歳以上は、米飯 150 g の Control 食で、満腹度・満足度が高かった。（図 3）

4-2. 男女による違い⁴⁾

女性は男性に比し、米飯 100 g の Hmeat 食は、食後の甘味への欲求が高値を示し、米飯 150 g の Control 食では差がなかったことから、米飯 100 g では、女性において食後の甘味への欲求が高くなることが示された。

男性は脂っこいものや塩辛い物への欲求が高かった。野菜を 80 g 含む野菜が少ない食事において、女性は食後 2 時間で、甘味への欲求が高くなった。野菜を 240 g 含む野菜たっぷりの食事では、男性に比して女性は、脂質摂取量が多い食事ほど、甘味への欲求が高かった。

4-3. 年齢と男女を同時に調整した結果 （図 4, 5）

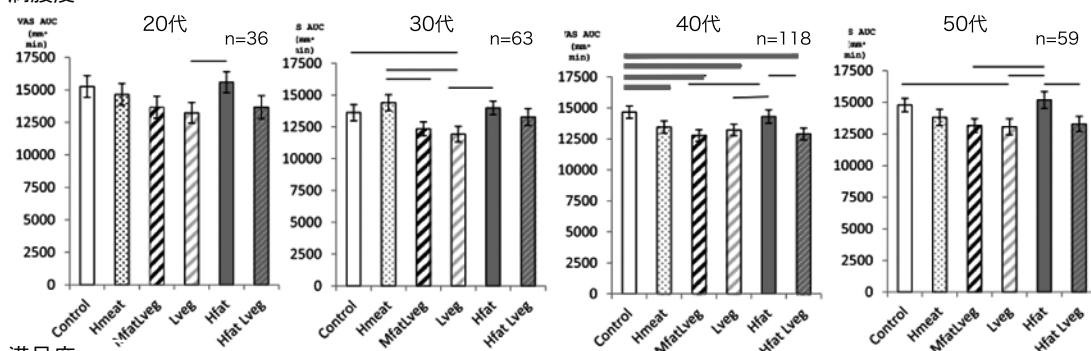
男女・年齢問わず、野菜の多い食事摂取で満腹度・満足度が高くなった。40 歳未満の男性は、主菜が多い Hmeat 食で、満腹度・満足度が高くなった。女性や 40 歳以上の男性は、Control 食で満腹度・満足度が高かった。年齢や性別によって、満腹度・満足度が高い組成を選択することが、低エネルギーでもつらくなく、個人にあった食事となると思われる。しかし、各種ホルモン分泌や健康への影響については不明であり、さらなる検討が必要である。

5. デンシエット (Densiet) 弁当の開発

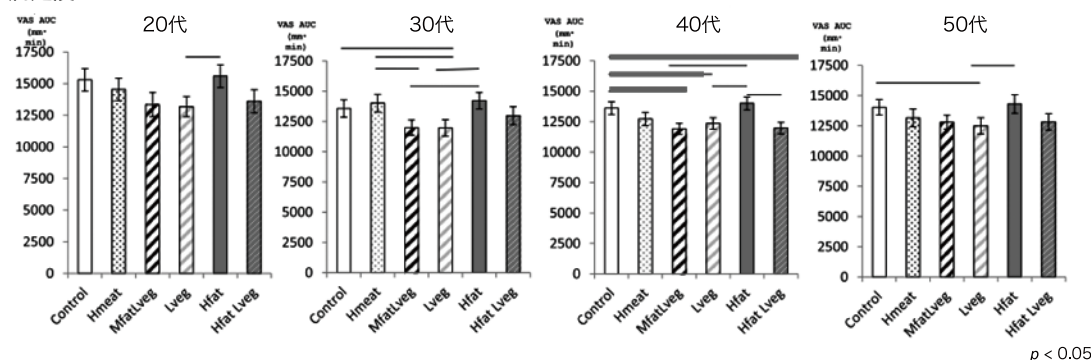
5-1. 調理法による検討

野菜は一般的に生で食べると嵩が高く歯ごたえもあるが、茹でると嵩が少なくなり歯ごたえもなくなる。そこで、調理法の違いによる満腹度・満足度の影響を見るため、30 g の水菜を生

満腹度



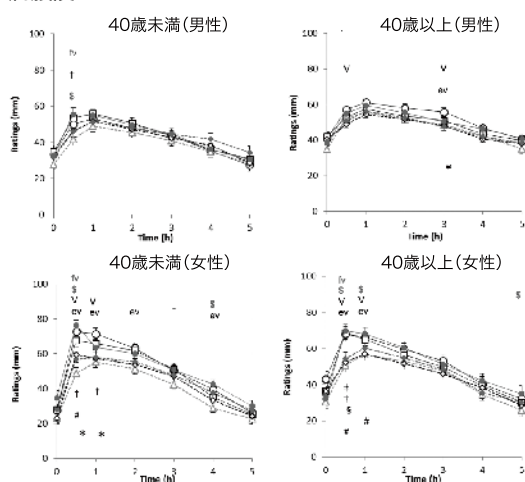
満足度



p < 0.05

図3 年代の違いによる満腹度・満足度への影響⁽³⁾

満腹度



満足度

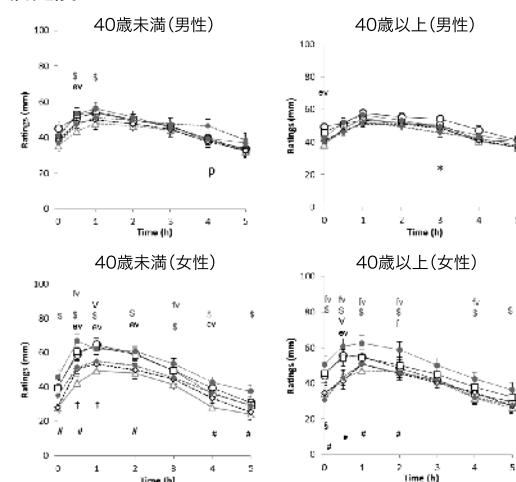
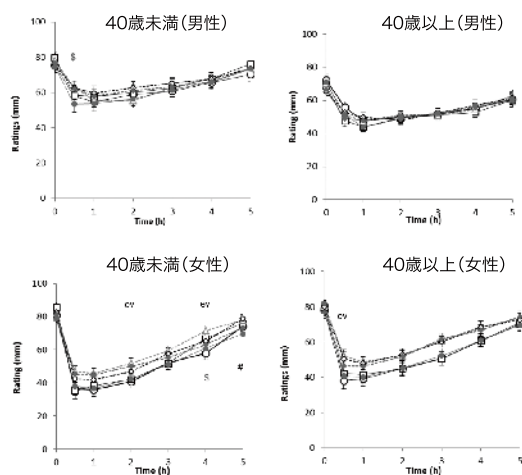


図4 年代と性別の違いによる嗜好への影響

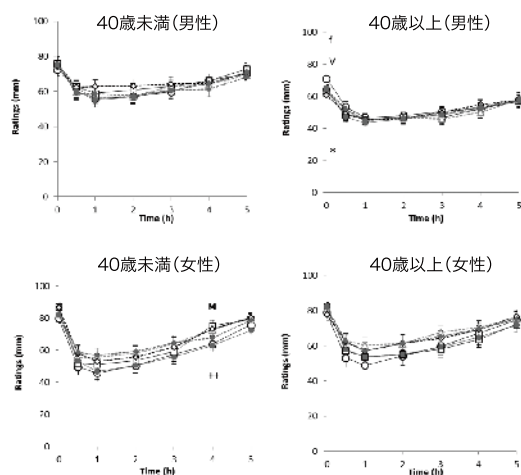
<図4 共通> M, Control vs. Hmeat; V, Control vs. MfatLveg; ev, Control vs. Lveg; *, Control vs. HfatLveg; fv, Hfat vs. HfatLveg; \$, Lveg vs. Hfat; f, Control vs. Hfat; ‡, Hmeat vs. MfatLveg; †, Hmeat vs. Lveg; ††, Hmeat vs. Hfat; \$, Hmeat vs. HfatLveg; #, MfatLveg vs. Hfat; p, MfatLveg vs. HfatLveg. p<0.05

○ Control
□ Hmeat
△ MfatLveg
◇ Lveg
● Hfat
◆ HfatLveg

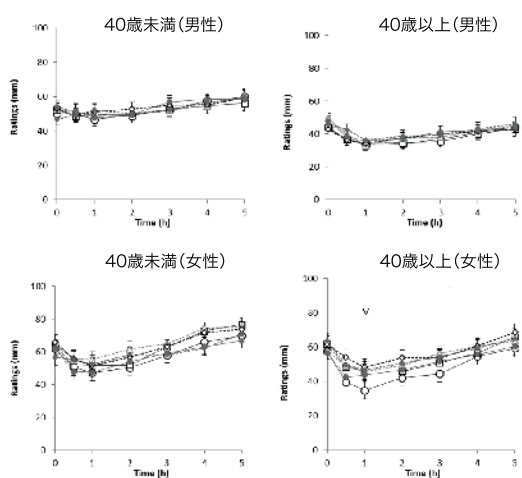
どれだけ食べられるか



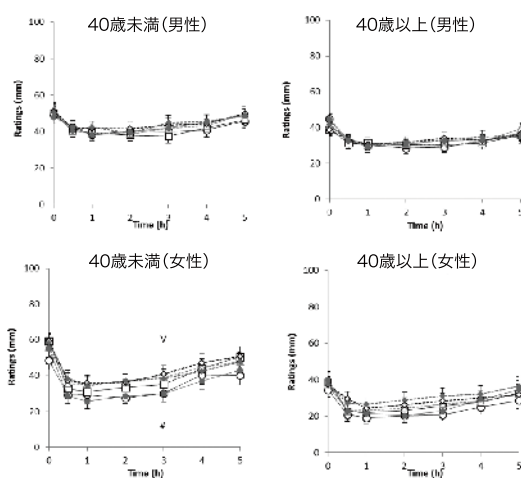
おいしいものが食べたいか



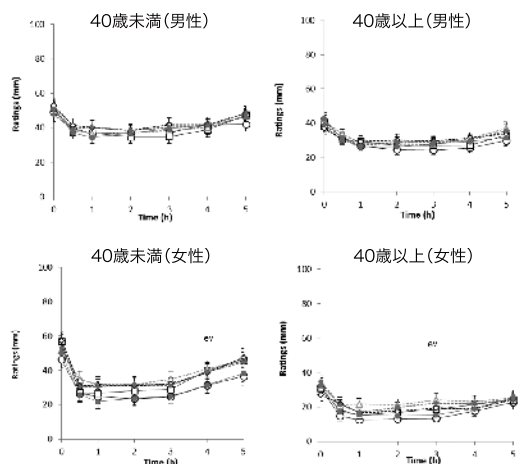
甘いものが食べたいか



塩辛いものが食べたいか



脂っこいものが食べたいか

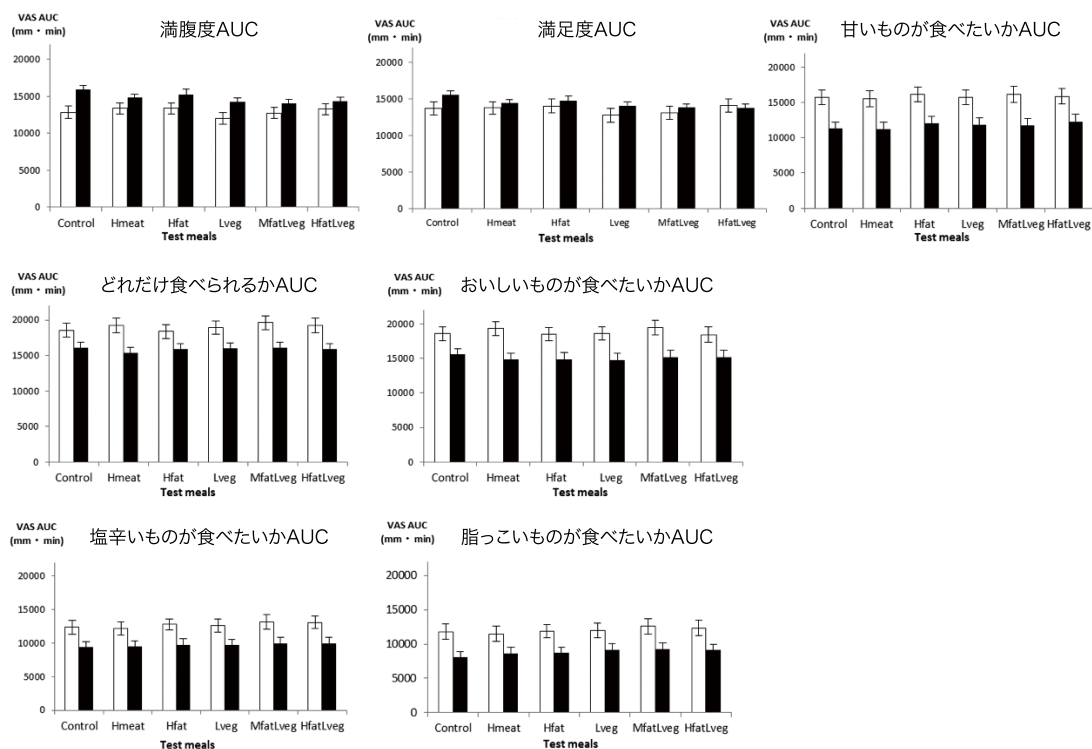


食と茹でた場合で検討した⁵⁾。生野菜摂取は、満腹度を上げるが、満足度を高めるものではなかった。食品によって、生での食べ易さは異なり、最適な調理法について、各々検討するのは不可能であるが、咀嚼をしにくい生野菜を過剰に摂取する場合、満腹度に反比例して、満足度が低下することに留意する必要がある。

5-2. 野菜の最適量の検討

野菜の推奨量は、1日350gとされている。従って、1食あたりは、約116gとなる。野菜量が少ないと満腹度・満足度が低値を示すが、

男性



女性

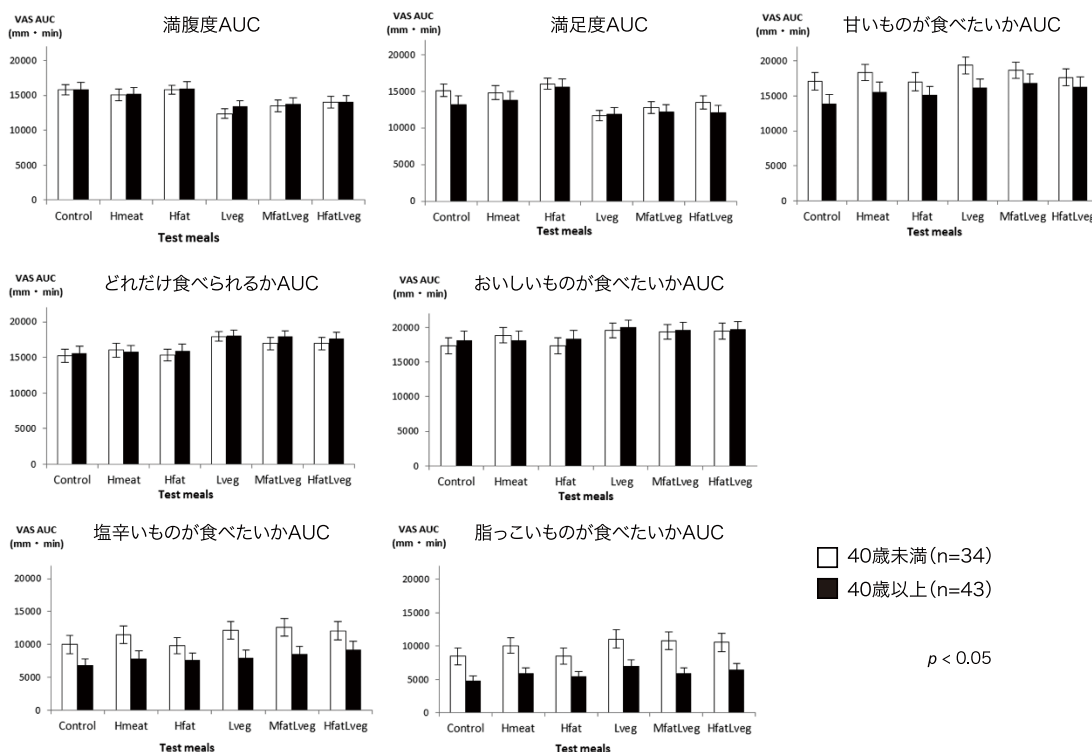


図5 年齢の違いによる AUC



大学の研究に基づいた食事という意味で、博士帽をかぶっています。
口の舌にあたる部分を「D」で表現しました。Densietの「i」には「愛♡」を込めています。
満腹度・満足度の高い食事で、心とカラダが満たされますように。という思いを込めています。
共同研究やご興味のある方はご相談下さい。

図6 デンシエット (Densiet) ロゴマーク

多ければ多いほど満腹度・満足度が増すということはないと考え、最適量の検討を行った⁶⁾。満腹度・満足度の高い野菜摂取量は、200 g以上であった。毎食この量を摂取すれば、1日600 g以上となるため、毎食摂取を推奨するわけではない。1日1食でもこのような量を摂取すると、低エネルギーでも満腹度・満足度の高い食事になり、さらに、野菜不足の改善になると考えている。

ただし、糖尿病が悪化し、糖尿病腎症へ移行した方は、野菜に多く含まれるカリウム (K) 制限が必要な場合がある。制限が必要かどうか個々の状態にあわせた食事内容が重要である。野菜は健康のイメージが強いが、どのような食品でも不足や過剰は有害になることを留意する必要がある。

5-3. ロゴマーク

図2の食品組成に沿って、お弁当やレストランで食事を提供する場合、満腹度・満足度の高い食事を提供することができる。基準の範囲に入っていれば、デンシエット (Densiet) 準拠

とし、デンシエット (Densiet) ロゴマーク (図6) を、相談の上使用することができるようにしている。

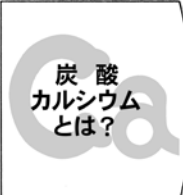
おわりに

これさえ食べれば「良い」という魔法の食べ物は存在しない。同じ食べ物でも、人の栄養代謝機能によって「良い」か「悪い」かが異なる。同じ人でも、身体の状態によって「良い」は変化する。また、仮に「良い」食べ物が存在したとしても、過不足があると、「悪い」へ容易に転じる。従って、個人にとって各々の必要な種類や量を知ることが、適切な食べ物を選択するための最初のステップである。

我々は栄養学を専門とする大学研究者・管理栄養士として、「選択」の手助けのための正しい情報を提供し、わかりやすく伝える事が使命であり、「何を、どのぐらい、どのように食べれば、何故良いのか？」の疑問に答えるために、さらに、研究・普及を発展させていきたいと考えている。

参考文献

1. Rolls BJ.: The Volumetrics eating plan: Techniques and Recipes for Feeling Full on Fewer Calories. WILLIAM MARROW PAPERBACKS, 2007.
2. Willcox BJ, Willcox DC, Suzuki M.: The OKINAWA DIET PLAN Get Leaner, Live Longer, and Never Feel Hungry, THREE RIVERS PRESS, 2004
3. Zhou B, Yamanaka-Okumura H, Adachi C, Kawakami Y, Inaba H, Mori Y, Katayama T, Takeda E.: Age-related variations of appetite sensations of fullness and satisfaction with different dietary energy densities in a large, free-living sample of Japanese adults. *J Acad Nutr Diet.* **113**(9):1155-64, 2013. doi: 10.1016/j.jand.2013.04.013. Epub 2013 Jun 28. PMID: 23816438
4. Zhou B, Yamanaka-Okumura H, Adachi C, Kawakami Y, Katayama T, Takeda E.: High-fat diet-related stimulation of sweetness desire is greater in women than in men despite high vegetable intake. *Public Health Nutr.* **18**(7):1272-81, 2015. doi: 10.1017/S1368980014001426. Epub 2014 Jul 31. PMID: 25079560
5. Zhou B, Yamanaka-Okumura H, Seki S, Tatano H, Adachi C, Takeda E.: What influences appetite more: eating approaches or cooking methods? *J Med Invest.* **61**(1-2):118-25, 2014. PMID: 24705757
6. Adachi C, Yamanaka-Okumura H, Takafumi K, Taketani Y, Takeda E.: Single vegetable meal content equivalence and alternative to fat for satiety: a randomised trial in Japanese women. *Asia Pac J Clin Nutr.* in press.

白石カルシウムの炭酸カルシウム	
	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	

国産果実への抗酸化評価(H-ORAC)法の適応

— 国産果実の H-ORAC 値と果実成分の関係 —

庄司 俊彦 (SHOJI Toshihiko)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所 栽培・流通利用研究領域

Key Words：果実 H-ORAC（親水性-酸素ラジカル吸収能） ポリフェノール

はじめに

果実や野菜には、カロテノイド類やポリフェノール類などの特徴的な機能性成分が含まれており、体内へ吸収された後、酵素阻害や遺伝子発現などに影響を与えるだけでなく、活性酸素種やスーパーオキシド (O_2^-) やヒドロキシラジカル (OH) などのフリーラジカルに直接作用し、生体調節機能に関与していると考えられている。活性酸素種 (ROS) やフリーラジカルのいわゆる酸化ストレスによって、タンパク質、脂質、遺伝子などの生体分子が損傷され、心疾患やガン、アルツハイマー病などの神経疾患など多くの慢性疾患を発症すると考えられている。生体には、活性酸素種を消去するためスーパーオキシドディスムターゼやカタラーゼなどの防御機構が備わっている。一方、病原体除去などの生体防御においては活性酸素が重要な役割を果たしており、健康維持には活性酸素のバランスを保つことが重要である。

食品抗酸化能の測定法は、酸素ラジカル吸収能 (ORAC) 法、血漿中の鉄減少能 (FRAP) 法、2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) 法、Trolox® 等価抗酸化能 (TEAC) 法などがある。ORAC 法は Prior らにより開発され、比較的簡便に測定することが可能であることから世界的に最も多用されている抗酸化能測定法の一つである¹⁾。また、ORAC 法はポ

リフェノール類などの親水性の物質を評価することが可能な hydrophilic-ORAC (H-ORAC) と、ビタミン E やカロテノイド類などの親油性物質を評価する lipophilic-ORAC (L-ORAC) がある。ラジカル発生剤 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) を用いてペルオキシラジカルを発生させ、分解されるフルオレセインの蛍光強度を経時的に測定し、試料がフルオレセインの分解を抑制する能力を標準物質 Trolox® 当量として算出する方法である。

欧米では、ORAC 法を使い様々な種類の食品について ORAC 値を測定、報告されている²⁻⁴⁾。また、いくつかの果実の成熟期間⁵⁾、貯蔵期間⁶⁾ および加工工程⁷⁾ での H-ORAC 値の変化について報告されている。いくつかの総説で指摘されているように、これまで報告されている食品の抗酸化能は様々な測定法によって測定されているため安易に比較することの危険性が指摘されている^{1,8)}。また、農研機構では、国産農産物の抗酸化値を測定しデータベースを公開することを目的に H-ORAC 法の検討を行った。しかしながら、渡辺らが行った試験室間共同試験の結果、室間再現性が低く、データのバラツキが観られたことから異なる試験室間でデータを比較することが困難であることが明らかとなった。そこで、ORAC 法を改良し、分析精度を向上させ、試験室間共同試験で妥当性が確認され

た改良 ORAC 法を確立することに成功した⁹⁾。

本編では、リンゴ、モモ、日本ナシ、カキ、ブドウなどの主要な国産果実の ORAC 値を測定した結果について報告する。果物や野菜の摂取が生活習慣病の予防に効果があることがいくつかの疫学研究によって示されている¹⁰⁻¹³⁾。特に、果実はポリフェノール類などの機能性成分の主要な摂取源であるが、国産果実に関する抗酸化値の報告は少ない。また、リンゴについては、主要な機能性成分であるポリフェノールの一つプロシアニジン類を重合度別に分析し、その含有量と ORAC 値の関係について検討したので合わせて報告する。

1. 供試果実の試料調製

果実は 2012 年に (国) 農業食品産業総合研究機構・果樹研究所 (ブドウ・カキ研究拠点 (広島県東広島市)、果樹研究所本所 (茨城県つくば市)、リンゴ研究拠点 (岩手県盛岡市)) の圃場において栽培された以下の品種を用いた。

【カキ】「太秋」, 「平核柿」, 「刀根早生」, 「甲州百目」, 「西村早生」, 「前川次郎」, 「早秋」, 「夕紅」

【ブドウ】「サニールージュ」, 「巨峰」, 「シャインマスカット」, 「クインシーナ」, 「キャンベル・アーリー」, 「ピオーネ」, 「マスカットベリー A」

【日本ナシ】「新高」, 「長十郎」, 「ゴールド二十世紀」, 「幸水」, 「豊水」, 「あきずき」, 「王秋」, 「なつしずく」, 「秀麗」, 「あきあかり」

【モモ】「日川白鳳」, 「ひなのたき」, 「あかつき」, 「平塚レッド」, 「白鳳」, 「錦」, 「もちづき」, 「清水白桃」, 「川中島白桃」, 「つきかがみ」

【リンゴ】「もりのかがやき」, 「きたろう」, 「こうたろう」, 「さんたろう」, 「ワルツ」, 「ポルカ」

試料は果実の可食部を測定するため、一果ごとに果皮、果芯および種などを取り除き、3 ~ 4 cm 程度の大きさに切り、液体窒素により速やかに冷凍した。樹種によっては、一つ当たりの果実重量が大きいため、果実を子午線方向に 8 分割し、隣り合わない部分のみを用いた。真

空凍結乾燥機 (FDU-2110: 東京理科器械) で約 5 日間凍結乾燥した後、ワーリングブレンダー (7011HS: 大阪化学) を用いて粉碎し、H-ORAC 値測定までの間 -30℃ で密閉保存した。各品種はそれぞれ 5 果ずつ調製し、試料とした。

2. H-ORAC 法による国産果実抗酸化能力の評価

H-ORAC 測定のため、果実凍結乾燥粉末約 1 g を精秤し、5 g のメタノール洗浄済み海砂 (和光純薬) と良く混合し、高速溶媒抽出装置 (ASE-200: Dionex) を用いて抽出した。n-ヘキサン: シクロロメタン (1:1) 混合溶媒によって親油性画分を除き、メタノール: 水: 酢酸 (90: 9.5: 0.5, MWA 溶媒) 混合溶媒により親水性画分を得た。得られた親水性画分は 50 mL に定容した後、H-ORAC 測定までの間 -80℃ で保存した。

H-ORAC 値の測定は渡辺らの方法⁹⁾に従って行った。すなわち、75 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) で適宜希釈した試料抽出液および Trolox[®] 溶液 (6.25, 12.5, 25, 50 μ M) を 96 穴マイクロプレートに 20 μ L 加え、さらに 94.4 nM フルオレセイン溶液を 200 μ L 加え、37℃ に保持した蛍光プレートリーダー (Powerscan HT: DS ファーマバイオメディカル) によって蛍光強度 (励起波長: 485 nm, 蛍光波長: 528 nm) を測定した。次に、31.7 mM AAPH 溶液を 75 μ L 加え、振盪攪拌後、添加 8 分後から 2 分間隔で 90 分間蛍光強度の変化を経時的に測定した。蛍光強度の経時的な変化から算出した曲線下面積 (AUC) からブランクの AUC を差し引いた値を求め、Trolox[®] 標準溶液から作成した検量線により各試料の H-ORAC 値を求めた。H-ORAC 値は新鮮重量 100 g あたりの Trolox[®] 相当量として示した。

3. 国産果実の H-ORAC 値測定結果

各果実の H-ORAC 値を図 1 に示した。国産主要果樹では、日本ナシ、カキ、ブドウ、リンゴ、モモの順に高い H-ORAC 値を示し、日本ナシ

では、 $278.5 \pm 33.2 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ ともっとも低値を示したのに対し、モモでは、 $2412.1 \pm 587.1 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ で約 8 倍の値であった。国産の野菜では、ホウレンソウの H-ORAC 値が $918.2 \sim 3302.7 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ 、小松菜が $517.5 \sim 2312.2 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ 、トマトが $264.0 \sim 491.7 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ 、キュウリが $152.8 \sim 265.7 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ であることが報告されている¹⁴⁾。栽培環境や品種による影響もあるが、果実の H-ORAC 値は野菜のものと同程度の値を示していた。

樹種ごとに、データを見てみると、モモでは、「つきかがみ」が最も高く、今回測定した果実の中で最も高い値 ($5945.5 \pm 2004.6 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$) を示した。モモで最も低かった「錦」の約 5 倍の値を示していた。佐藤らは、国産のスモモ 38 品種を測定し、 $1.53 \sim 7.06 \text{ mmol TE}/100 \text{ g FW}$ で、品種・系統による差異が大きいことを報告している¹⁵⁾。佐藤らの報告とは、抽出溶媒や H-ORAC 値の測定方法が

異なる部分はあるものの、モモやスモモなどの核果類は主要果樹の中では、比較的高い H-ORAC 値を示すことが明らかとなった。

リンゴでは、「ボルカ」が $367.2 \pm 27.2 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ で最も低い値を示し、「ふじ」や「さんたろう」では、 2263.7 ± 350.2 および $2257.4 \pm 337.3 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ で最も高い値を示した。リンゴの果皮の色による H-ORAC 値の違いは見られず、品種の系統による違いが影響していると考えられた。また、果皮部分を含むなど試料の調製方法や H-ORAC 値の測定方法が異なるため、直接比較することはできないが、米国産のリンゴの H-ORAC 値は $22.05 \sim 42.34 \mu\text{mol TE}/\text{g FW}$ であることが報告されており、我々の結果と同程度の値を示していた²⁾。

ついで、H-ORAC 値が高い値を示したブドウでは、「キャンベルアーリー」が最も高く $2243.4 \pm 253.9 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ であった。今回検討したブドウの品種の種類は少ないものの、白ブドウ品種で H-ORAC 値は低く、黒ブ

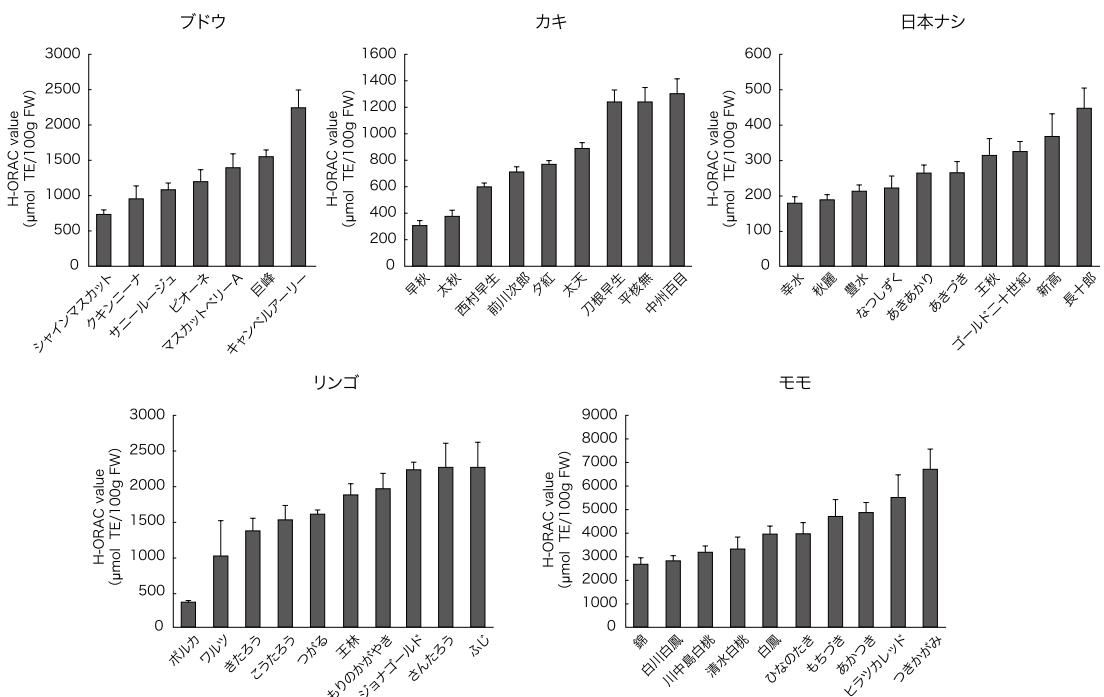


図1 国産主要果樹の H-ORAC 値

2012 年に収穫された果樹の H-ORAC を測定し、データは平均±標準偏差で示した。

ドウ系品種で高い値を示す傾向がみられた。一般に、黒ブドウの方が白ブドウよりも多くのポリフェノール類を含むことが知られており、その影響によるものと思われる。

カキでは、「甲州百目」、「平核無」、「刀根早生」がほぼ同程度の H-ORAC 値を示し、最も高い値であった。カキは脱渋によって、カキのタンニン類が高分子化し渋味を感じなくなると考えられている。今回測定した渋柿系の品種や甘柿系の品種などの系統と H-ORAC 値との関係を見出すことはできなかった。さらに、品種を増やし H-ORAC 値を検討することによって、カキの H-ORAC 値に寄与している成分を特定するが可能になると思われた。

日本ナシでは、 178.4 ± 19.4 から $445.6 \pm 58.8 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g FW}$ 、最小値の「幸水」と最大値の「長十郎」では、約 2 倍程度の差しかなく、今回検討した樹種の中では比較的品種間の差が小さかった。菅原らは、日本ナシの「幸水」、「豊水」の結実直後から完熟まで経時的に採取し、DPPH ラジカル消去能、総ポリフェノール量の変化を報告している¹⁶⁾。日本ナシの DPPH ラジカル消去能がポリフェノール含量と相関が高いことを報告しており、特に、日本ナシのクロ

ロゲン酸が寄与していることを報告している。

4. プロシアニジン類の定量法

次に、我々はリングに含まれるポリフェノール類と H-ORAC 値との関係について検討することにした。リングでは、Follin-Ciocalteu 法による総ポリフェノール含量と H-ORAC 値が高い相関を示すことが報告されているが^{1, 17)}、どのポリフェノール類が H-ORAC 値と強い相関を示すのかについては、報告が少ない。

リングのポリフェノール類は 5 つのタイプに分類される。すなわち、フェノールカルボン酸類、アントシアニン類、フラボノール類、ジヒドロカルコン類、およびカテキン類／プロシアニジン類である。この中では、カテキン類／プロシアニジン類が全ポリフェノール類の約 70% 程度を占めることが報告されている。そこで、我々は、リングのうち主要なポリフェノール類であるカテキン類／プロシアニジン類について分析することにした。カテキン類／プロシアニジン類は、カテキン類が複数個結合した構造 (図 2) で、カテキン類の種類や結合の仕方、組合せによって多数の異性体が存在する。果実など植物種によって、重合度数や種類が異なる

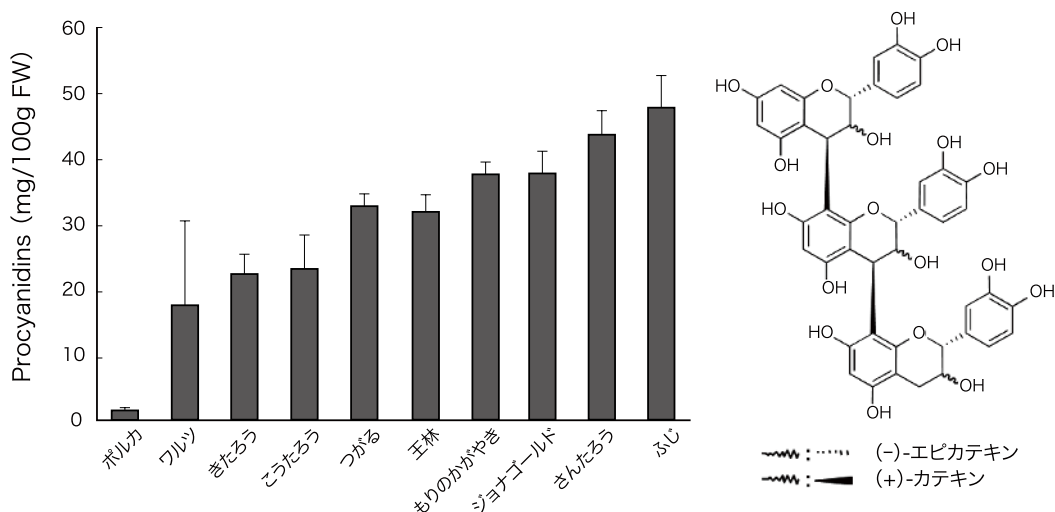


図 2 国産主要リンゴのプロシアニジン量

プロシアニジン量は蛍光検出による順相 HPLC 法によって分析した。データは平均±標準偏差で示した。

が、リンゴでは、エピカテキンが主要な構成単位となっており¹⁸⁾、15 量体までの存在が確認されている¹⁹⁾。

カテキン類／プロシアニジン類分析のため、H-ORAC 値と同様に、果実凍結乾燥粉末約 0.5 g を精秤し、アセトン：水：酢酸 (70：29.5：0.5, AWA 溶媒) を加え、ポリフェノール画分を振盪抽出した。同様の操作を 2 回繰り返して、25 mL に定容し、抽出液をフィルター通過後、HPLC 分析を行った。プロシアニジン類の HPLC 分析は、蛍光検出器 (島津製作所製 RF-20AXS) を装備した HPLC システム (島津製作所 LC-20AT シリーズ) を用いた。カラムはジオール系固定相を相充填 Inertsil WP300 Diol (内径 4.6 mm × 長さ 250 mm, 粒子径 5 μm) (GL Science 社) を用いた。抽出液 5 μL を HPLC に注入し、溶離液 A (アセトニトリル：酢酸 = 98：2) と B (メタノール：水：酢酸 = 95：3：2) を用いて表 1 のグラジェント条件で溶出し、流速 1 mL/min で分離した。検出は励起波長 230 nm, 蛍光波長 321 nm で検出した。

また、標準品は、市販されていないため既報を参考にリンゴから分取クロマトグラフィーによって単量体から 7 量体まで調製して用いた²⁰⁾。7 量体まで重合度別に純度の高い標準品を調製し、検量線の直線性良く定量することが可能であった。

5. リンゴのプロシアニジン量

カテキン類／プロシアニジン類の分析法は、比色定量法と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法に大別される。比色定量法では、

Follin-Ciocalteu 法や Poter 法が知られているが、果汁や抽出液中の共存物質による影響が大きいことから HPLC 法による定量が多用される。HPLC 法では、逆相系 C18 固定相カラムにより分離し、検出は紫外線検出 (280 nm) により行われている。しかしながら、上記のようにカテキン類／プロシアニジン類には多くの異性体が多く、入手可能な市販の標準物質は少ないこと、また、他のポリフェノール類との区別することが非常に難しいことから、逆相系 HPLC 分析によるカテキン類／プロシアニジン類分析には限界がある。そこで、我々は、カテキン類／プロシアニジン類の分析に順相系 HPLC 法を用いて、重合度別の分離、定量を行うことにした。また、従来の順相系 HPLC 法では、シリカゲルカラムを用いていたため、果汁などの水を含む試料を分析するとカラムが劣化するという問題点があった。しかし、ジオール系固定相は含水系の溶媒も使うことが可能な順相クロマトグラフィー用の固定相のため、水を含む試料でもカラムが劣化することなく分析することができるようになった。また、カテキン類／プロシアニジン類は立体構造に由来する特異的な蛍光波長を検出することによって他のポリフェノール類による妨害を受けずに検出することが可能である。今回採取したリンゴの単量体から 7 量体のプロシアニジン量を定量し、積算した結果を示した (図 2)。H-ORAC 値の結果と同様に、プロシアニジン含有量の順位もほぼ同様であった。「ふじ」が最も高い値で 47.9 ± 4.9 mg/100 g FW であった。また、非常に興味深いことに「ポルカ」のプロシアニジン量は非常に低く、褐変しにくい品種として活用できる可能性がある。さらに、リンゴのプロシアニジン量と H-ORAC 値との相関について検討した (図 3)。リンゴの H-ORAC 値とプロシアニジン量は、高い相関係数 ($r = 0.82214$) を示し、H-ORAC 値にプロシアニジン類の寄与が高いことが明らかとなった。

表 1 プロシアニジン分析のための HPLC グラジェント条件

開始時間 (分)	終了時間 (分)	終了時間における溶媒組成	
		%A	%B
0	3.0	93	7
3.0	60.0	70	30
60.01	70.0	0	100
70.01	80.0	93	7

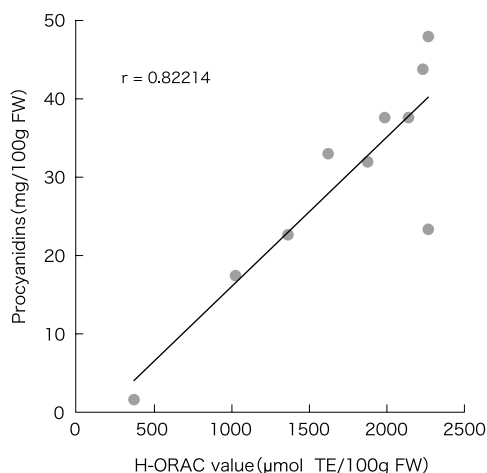


図3 リンゴの H-ORAC 値とプロシアニジン量との関係

おわりに

果実の H-ORAC 値やポリフェノール類含量は、気象などの環境や品種・系統の違い、仕立て方法などの栽培要因が大きく関係していると考えられる。また、果実の成熟期間の変化⁵⁾、リンゴなどのように収穫後、低温で長期貯蔵され市販される果実については、貯蔵期間中のポリフェノール類や抗酸化能がどのように変化するのか今後検討する必要がある⁶⁾。今回報告した H-ORAC 値は 2012 年に収穫、採取した果

実の測定結果であるが、3 年程度の複数年でのデータの差異を検討する必要がある。

リンゴでは、カテキン類／プロシアニジン類が H-ORAC 値に大きく寄与していることが示されたが、食品成分と抗酸化能との関係を明らかにしていくことは重要である。これまで抗酸化能に寄与している成分についての報告は少なく、リンゴ以外の果実についても関与成分を探索する研究が重要である。また、生体調節機能では、機能性成分の体内への吸収動態が重要な要因であり、食品の抗酸化能の研究を入り口として、さらに機能性研究へと発展、検討する必要がある。測定された H-ORAC 値は今後データベースとして活用できるようになる予定であるが、各食品間や産地間での単なる H-ORAC 値の比較だけでなく、ORAC 値を指標とした食習慣ごとの抗酸化物質の摂取量が算出可能となる。日本は、地域毎の食習慣が複雑で、摂取している食品也多岐にわたっている。地域ごとに各大学、研究所を中心とした疫学研究が行われており、ORAC 値データベースを活用することで食生活と健康のあらたな解析が可能になるかもしれない。今後、日本の農産物や食品の H-ORAC をはじめとする抗酸化値がさまざまな様々な研究や、農業や食品産業に活用されることを期待する。

参考文献

1. Prior RL, Wu X, and Schaich K, *J. Agric. Food Chem.*, **53**: 4290-4302, 2005.
2. Wu X, Beecher GR, Holden JM, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **52**: 4026-4037, 2004.
3. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, *et al.*, *J. Nutr.*, **133**: 2812-2819, 2003.
4. Brat P, George S, Bellamy A, *et al.*, *J. Nutr.*, **136**: 2368-2373, 2006.
5. Kalt W, Lawand C, Ryan DAJ, *et al.*, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **128**: 917-923, 2003.
6. Serrano M, Diaz-Mula HM, Zapata PJ, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **57**: 3240-3246, 2009.
7. Rababah TM, Ereifej KI, and Howard L, *J. Agric. Food Chem.*, **53**: 4444-4447, 2005.
8. Huang D, Ou B, and Prior RL, *J. Agric. Food Chem.*, **53**: 1841-1856, 2005.
9. 渡辺純, 沖智之, 竹林純, 山崎光司, 津志田藤二郎, 日本食品科学工学会誌, **57**: 525-531, 2010.
10. He K, Hu FB, Colditz GA, *et al.*, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **28**: 1569-1574, 2004.
11. Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.*, **96**: 1577-1584, 2004.
12. Liu S, Manson JE, Lee IM, *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.*, **72**: 922-928, 2000.
13. Muraki I, Imamura F, Manson JE, *et al.*, *BMJ*, **347**: f5001, 2013.
14. 若木学, 渡辺純, 石川 (高野) 祐子, 食品総合研究所報告, **78**: 65-71, 2014.
15. 佐藤明子, 渡辺純, 後藤真生, 石川 (高野) 祐子, 日本食品科学工学会誌, **57**: 44-48, 2010.

16. 菅原哲也, 五十嵐喜治, 日本食品科学工学会誌, **60**: 516-520, 2013.
17. Cho Y-S, Yeum K-J, Chen C-Y, *et al.*, *J. Sci. Food Agric.*, **87**: 1096-1107, 2007.
18. Shoji T, Mutsuga M, Nakamura T, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **51**: 3806-3813, 2003.
19. Ohnishi-Kameyama M, Yanagida A, Kanda T, *et al.*, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.*, **11**: 31-36, 1997.
20. Shoji T, Masumoto S, Moriichi N, *et al.*, *J. Chromatogr A*, **1102**: 206-213, 200

健康食品の エビデンス

濱舘 直史 / 濱舘学術事務所

第6回

柿 渋

渋くて食べられない渋柿は、干して乾燥させることで甘くて美味しい干し柿になります。なぜ、干しておくだけで渋柿の渋味が消えて甘くなるのか、幼いころに不思議に思ったものです。今ではこのことについて、強い渋みを感じさせる成分は「タンニン」と呼ばれ、この渋味成分は唾液に溶け、口腔粘膜のタンパク質と結合して変性させることによって、痛みに近い渋味を感じさせる。そして、タンニンは干して乾燥させることで、縮合して重合度を増す。これによって、唾液に溶けなくなり、渋味を感じさせなくなるとともに甘味を強く感じるようになると理解しています。

渋柿を甘く美味しく食べるためには、渋味成分のタンニンは取り除きたい悪役となりますが、タンニンと聞くと、赤ワインの渋味を連想されるワイン好きの方もいらっしゃるのではないのでしょうか。タンニンが多いワインは「ボディのある」「充実した」などと表現され、フル・ボディと呼ばれます。ブドウの皮、種、熟成用の樽にもタンニンは含まれます。タンニンはカテキンやロイコアントシアニンなどを構成成分とする高分子化合物です。白ワインは熟成することで、黄金色から淡い褐色に変化しますが、これはロイコアントシアニンが酸化されることによるものと考えられています。赤ワインも熟成すると、カテキンやロイコアントシアニンなどが縮合することによって不溶性コロイドを形成します。これによって、瓶底に茶褐色の沈澱ができ、渋味がとれて滑らかな味わいとなります¹⁾。

柿渋は古くから民間薬として、高血圧、夜尿症、かぶれ、しもやけ、外傷、やけどなどに用いられてきたという記載があります²⁾。また、柿の渋み成分であるタンニンは、ポリフェノールに分類され、その中でも特に強い抗菌作用や消臭作用をもつことが知ら

れています³⁾。最近では、その消臭効果が注目され、コンビニエンスストアや薬局に行くとタブレットやガムなどに柿渋エキスをを用いた口臭ケアの商品を多く見ることができます。口臭とは「呼吸や会話をしたときに口から出てくる息が、他人にとって不快に感じられるもの」と定義されていますが、ニンニク、ニラ、納豆などの臭いの強い食べ物を食べた後や、喫煙、アルコール摂取後に気になる方が多いかと思います。ただ、口臭には飲食物・嗜好品によるものだけではなく、生理的、病的要因のものもあります。生理的要因として、朝起きた直後、空腹のとき、疲れや緊張があるときなどに口臭が強くなります。糖尿病では特有のアセトン臭がすること、慢性鼻炎の膿が臭いの原因となること、降圧薬などの副作用によるドライマウスが原因となること、種々のがんが原因であることなどもあり、重篤な病気が隠れている場合もありますので注意が必要です。その他、歯垢や舌苔などが付着しているなどの口腔ケアが不十分であることが口臭の原因となることが多くあり、歯科医院でも治療が必要な場合もあります⁴⁾。

口臭は他人へ嫌な思いをさせるだけではなく、口臭を気にすることで積極的なコミュニケーションがとりにくくなるなど、大きく生活の質(QOL:Quality of Life)を低下させることが考えられます。このようなことから口臭を改善してさわやかな息を保つことはとても重要です。口臭の原因物質は、硫化水素、メチルメルカプタン、メチルサルファイドなどの揮発性硫黄化合物(VSC:Volatile Sulfur Compounds)とされており、このVSCは、主に口腔内のタンパク質が嫌気性細菌によって分解されることで生じます⁵⁾。また、便の臭いもととして問題となります。自分自身が臭いによる不快感を得ることもあります。それ以上に、家族や職場の同僚に気を使って我慢するこ

埼玉県出身。北海道大学大学院医学研究科博士課程修了。専門分野は天然物化学、循環器薬理学、神経薬理学。健康食品会社にて研究開発部門の創設に携わり、健康食品の安全性・有効性の評価を担当。現在は濱館学術事務所を設立し、健康食品関連企業向けの学術・研究開発をサポートするコンサルタント業務を行っている。



とで体調を崩す、思い悩むなどの要因で QOL が低下することが懸念されます。もちろん、その臭いが重篤な病気のシグナルであることもあります。さらに、要介護者の排泄物の臭いは、周囲の患者、介護者にとって不快や苦痛となることがあります。近年の高齢化によって、要介護者が増加していますので、改善すべき大きな問題といえます。糞便中の臭いも VSC、特にメチルメルカプタンおよびジメチルサルファイドが主要成分と考えられています⁶⁾。柿渋は、これら口臭や便臭の原因物質となる VSC に対する消臭効果が報告されています。

健常被験者 100 名を対象とした柿渋エキスの口臭抑制効果を検証した研究結果が報告されています⁷⁾。この研究では、起床 1 時間後の口臭に対して、柿抽出物にトレハロースを加えた溶液が 2 分後、10 分後のハリメータによる口臭測定値を有意に減少させたことを示しています。この研究から、柿渋の消臭効果には即効性があるのではないかと考えられます。また、11 名の健常被験者を対象に、ニンニク入りスーブを飲んだ後の口臭に対して、柿渋入りタブレットが消臭効果を示すこと。14 名の健常被験者の糞便臭に対する軽減効果を示すことが示唆される臨床研究の結果が報告されています⁸⁾。

柿渋の消臭に対する作用機序は、抗菌作用と臭い物質の捕捉の 2 つが考えられます。柿のタンニン⁹⁾は、カテキンなどがたくさん結びついたポリフェノールですが、カテキンやポリフェノールの抗菌作用については多くの報告があります。その中でも柿タンニンは分子内に多くの水酸基を含むことから、緑茶タンニンの数倍高い抗菌効果をもっていることも知られています⁹⁾。この抗菌作用によって、タンパク質を分解して VSC を発生させる嫌気性細菌を殺菌することで消臭効果が得られると考えられます。また、一般的に茶カテキンなどの植物ポリフェノールは VSC に対する反応性が高いことが知られており、中でも柿抽出物がメルカプトエタノールからの硫化水素の発生を 99.39% 減少させたという報告もあります¹⁰⁾。

安全性については、多くの食経験や臨床試験から担保されていると考えられます。しかしながら、(独)国立健康・栄養研究所の「健康食品」の安全性・有効性情報では、食品としての摂取量以上での安全性については、信頼できる十分なデータが見当たらないと記載があり、柿の過剰摂取との因果関係が疑われる柿結石が 5 件報告されているため、過剰摂取は避けるべきで、目安量などを守って使用することが必要です。また、アレルギー用症状がみられる事例もあることから、アレルギーにも注意が必要です。

参考文献

- 1) 小阪田嘉昭, ワインの熟成と利き酒 (ききしゅ) 表現, 日本味と匂学会誌, 2004; **11** (2): 115-120.
- 2) 清水俊雄編著, 改訂増補版機能性食品素材便覧, (株)薬事日報社, 2006 年 9 月 25 日発行; 288-289.
- 3) Ebersole JL *et al.*, Human immune responses to oral microorganisms: Patterns of systemic antibody levels to *Bacteroides* species, *Infect Immun*, 1986; **51**: 507-513.
- 4) 川口陽子, 口臭と口腔ケア, 臨床と研究, 2014; **91**(10): 71 (1331) -76 (1336).
- 5) Porter SR *et al.*, Oral malodour (halitosis). *BMJ*, 2006; **23** (333): 632-635.
- 6) Tangerman A, Measurement and biological significance of the volatile sulfur compounds hydrogen sulfide, methanethiol and dimethyl sulfide in various biological matrices. *J Chromatogr B*, 2009; **877** (28): 3366-3377.
- 7) 蔵田和史ら, 柿タンニン (パンシル[®]) の口臭抑制効果について, 日本歯科保存学雑誌, 2011; **54** (6): 406-412.
- 8) 濱館直史ら, 健常成人における柿抽出物含有食品の口腔ガス中および糞便中の揮発性硫黄化合物の濃度ならびに自覚的糞便臭に対する効果, 日本補完代替医療学会誌, 2014; **11** (1): 41-47.
- 9) 石川正夫ら, 口臭予防による口腔環境改善に関する研究—口臭原因成分メチルメルカプタンに対する天然物の消臭効果について—, 歯科審美, 2003; **15**, 130-136.
- 10) 蔵田和史ら, 柿タンニン (パンシル[®]) のメルカプトエタノールに対する *in vitro* での消臭効果について, 日本歯科保存学雑誌, 2011; **54** (2): 97-102.

野山の花

— 身近な山野草の食効・薬効 —

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

サネカズラ *Kadsura japonica* (L.) Dunal (マツブサ科 Schisandraceae)

埼玉県坂戸市から毛呂山町へかけての武蔵丘陵の山々を歩くと、植林された杉林の樹下に冬でも青々としたつる性の植物をよく見かけます。これがサネカズラです。ヒメカズラ、ピンツケカズラ、ナメラカズラ、トロロカズラなどの多くの方言がありますが、これらはその用途から名づけられたものです。用途とは鬘付け、すなわち、主に日本髪を結う時、おくれ毛を止め、髪のかたちを固めるのに用いる整髪料としての用途です。つるを水に浸し、その粘液で鬘付けし光沢を出したそうです。従って本植物にはヒナンカズラ（美男葛）というなかなか粋な別名もあります。

サネカズラは、かつてはモクレン科に分類されていましたが、植物分類学の進歩に伴い、今ではマツブサ科に分類されています。7～8月頃、1cm位の小さな淡黄色の花をつける常緑無毛のつる性木本で、雄花と雌花があり、雄花には葯隔が大きく広がった赤い雄しべが多数あり、雌花には離生する心皮が螺旋状に多数配列しています。本植物は雌雄異株とされることがありますが、同じ茎に雄花と雌花の両方をつけることも珍しくなく、基本的には雌雄同種と考えられ、まれに両性花をつけることもあるそうです。葉は楕円形で厚ぼったく、上面には光沢があり、また、先がやや尖り、縁にはまばらに鋸歯があります。秋にはまるで和菓子の「鹿の子餅」のような真っ赤な房状の果実をつけ、鎮咳、滋養



写真1 サネカズラ（雄花）



写真2 サネカズラ（雌花）



写真3 サネカズラ（果実）



写真4 チョウセンゴミシ（花）

強壮薬として用いられます。属名の *Kadsura* は日本語の葛（カズラ）に由来し、和名のサネカズラは「実葛」の意味で果実が美しく目立つことによるそうです。日本では本植物の実を南五味子と言いますが、中国では *Schisandra sphenanthera* を南五味子と言います。また、漢方薬の小青竜湯（ショウセイリョウトウ）、人參栄養湯（ニンジンエイヨウトウ）などに鎮咳、鎮静などの目的で配剤される五味子（ゴミシ）はチョウセンゴミシ *Schisandra chinensis* が基原植物で、こちらは中国北東部～朝鮮半島、本州の近畿地方から北海道にかけて分布し、軽井沢近辺にも自生している落葉つるの性木本で、北五味子と言います。五味子とは酸，苦，甘，辛，鹹（カン）の五つの味を持つ果実の意だそうです。なるほど、噛むと苦いような酸っぱいような複雑な味がします。

また、サネカズラは、お正月のかるたでおなじみの小倉百人一首に「名にし負はば逢坂山のさねかづら人に知られでく
るよしもがな」という三条右大臣の歌で登場いたします。



写真5 チョウセンゴミシ（果実）



写真6 ゴミシ（五味子）

食効・薬効 No.2

夏バテに効く ^{りょくとぅ} 緑豆湯

東北大学歯学研究科 生 宏 (Sheng Hong)
明海大学歯学部 MPL 坂上 宏 (Sakagami Hiroshi)
城西大学薬学部 白瀧 義明 (Shirataki Yoshiaki)

緑豆（リョクトウ）はマメ科の一年草、ササゲの一種で、八重生（ヤエナリ）の種子のことです。インド、ミャンマー原産で、青小豆、八重生などとも呼ばれます。緑豆自身は生薬の一つで、ビタミン・ミネラル、食物繊維や葉酸が豊富に含まれ、薬膳でもよく使われています。

日本では夏バテ防止の食べ物はうなぎや梅干しなどですが、中国では、昔から「緑豆湯」を食べる習慣があります。夏バテは中国語で「中暑」（zhòng shǔ）と書き、日本語では「暑さに当たる」という意味です。緑豆はどの家庭でも常備食材で、特に夏場には不可欠な食材となっています。緑豆で作ったものは「緑豆湯」のみならず、緑豆の豆乳、もやし、あずきバーのような棒付きの緑豆アイスキャンディーや緑豆春雨などもあります。台湾では、緑豆茶と緑豆洗顔料もあります。

私（生宏）が小さい頃、猛暑の日に限らず、夏以外の時期でも体の中に熱がある時やお腹を壊し

た時などに、薬を飲まず病院に行きたがらない頑固な私に、親が「緑豆湯」を作ってくれました。これは、幼い頃食べた一品の漢方薬膳よりも懐かしい思い出となっています。初めて日本に来た時に、中国ではどこのスーパーでも売っている緑豆を一所懸命に探しましたが、残念ながら、日本のスーパーには緑豆を発芽させた「緑豆モヤシ」しかありませんでした。しかし、ようやく中華物産店で「緑豆」を見つけました。皆様もお近くの中国食材店で探せば、きっと見つかると思います。



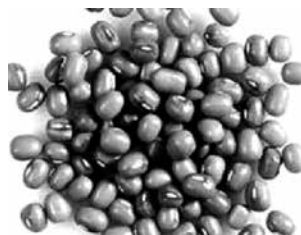
緑豆は主に下記のような3つの作用があります。

1. **解熱作用**：暑気払い、唾液や胃液の分泌を促進して、消化を補助し、夏バテ解消効果があります。
2. **解毒作用**：緑豆はタンパク質やタンニンを含むので、農薬などの中毒の治療効果があるとされ、「本草綱目」には緑豆は甘、寒、無毒、特に皮は解毒効果があると記載されています。
3. **消炎・美肌作用**：口内炎や吹出物、ニキビ予防に効果があり、最近の研究では、アテローム性動脈硬化症などに効果があることも検証されました。

禁忌点：

1. 薬を飲んでいる方：緑豆中のタンニンが、薬の中の金属イオン（鉄、カルシウム、カリウムなど）とキレートを形成し、治療効果を減弱させる可能性があります。
2. 緑豆は性が寒涼で、熱をおさえる作用があるとされていますので、冷え性の方や生理期間中は飲まないほうが良いでしょう。

来年の夏、ぜひ緑豆を用意し、緑豆湯を作り、夏バテ防止にトライされてはいかがでしょうか。



組織の活性化と人材の育成～

Improving the working environment and nurturing human resources :

—信頼される営業をめざして

～当社営業部の人材育成への取り組み～

大泉 浩史 (OIZUMI Hiroshi)

株式会社大和生物研究所 専務取締役営業本部長

Key Words: ササヘルス・緑健会・クマ笹・笹離宮

はじめに

高度情報化時代に突入し、老若男女誰もが気軽にインターネットを利用し、スマートフォンでモノが買えるようになったが、当社は対面販売をメインにした販売網を持ち、その中で国民一人ひとりの健康増進に取り組んでいる。そのためにどのような営業であるべきなのか、当社独自の育成方法によって人材育成を行っているので、今回はそれを紹介する。

1. 大和生物研究所

株式会社大和生物研究所（事業本部：神奈川県川崎市）は、昭和43年の創業以来、クマ笹の葉を原料とした一般用医薬品「ササヘルス」（第3類医薬品 効能効果：疲労回復，食欲不振，口臭，体臭除去，口内炎）の製造・販売を一貫して行っている。一般用医薬品「ササスルー」（指定第2類医薬品 効能効果：便秘，他）の販売も行う。さらに医薬品分野におけるクマ笹の基礎研究を、『農・食・美』分野へ向けた商品

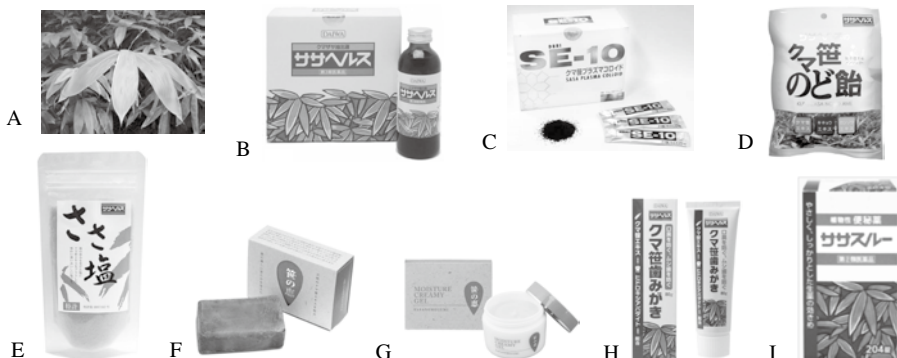


図1 クマザサ (A)，クマ笹を原料とする製品群 (B～I)

ササヘルス (B)，SE-10 (C)，クマ笹のど飴 (D)，ささ塩 (E)，笹の恵 モイスターソープ (F)，笹の恵 モイスタークリーミージェル (G)，クマ笹歯みがき (H)，ササスルー (I)

開発にも活かしており、食品「SE-10（エスイーテン）」「クマ笹のど飴」、化粧品「クマ笹歯みがき」「笹の恵シリーズ」等を開発・上市した（図1）。

2. 直販体制、緑健会設立、グリーンヘルス倶楽部元気パンダの会発足へ

当社は当初、7～8社の卸業者を経由して薬局・薬店へ商品を販売する方法を採ってきた。しかし卸経由の場合、ただ商品を薬局・薬店に置くだけで商品の情報までは提供できない。モノとしての販売であればそれで構わないが、当社が取り扱う商品群は、一般用医薬品「ササヘルス」を筆頭に健康に寄与するものでありこだわったものが多い。そのため商品情報を十分に伝える必要があり、昭和60年に営業部の増員を図りつつ直接薬局・薬店に商品を販売する直販体制に移行した。全国を直販体制で網羅するために営業部の増員を図り4年後には全国の直販体制を確立した。

その後、平成元年に薬局・薬店による会組織「緑健会」を設立、薬局・薬店を組織化しメーカーからの情報提供だけではなく、薬局・薬店の会員同士の横の繋がりによる情報交換も行えるようにした。緑健会は北海道から沖縄まで25支部からなり支部会員と支部長、副支部長、会計の三役とで構成する。また近隣支部で地区を構成し全国で7地区に分かれ地区担当の理事を置く。緑健会本部には理事長、副理事長、相談役の理事三役を置く。年間を通し、理事三役会、理事会、地区役員会、全国支部長会が開催され緑健会会員の意向が反映できるようにした。支部の活動としては勉強会でもある支部交流会を年3回開催し支部における活発な情報共有を行えるようにした（図2）。

最近では平成23年に、メーカーと緑健会、消費者とを繋ぐ「グリーンヘルス倶楽部元気パンダの会」を発足し消費者への情報提供ならびに消費者の声もより一層

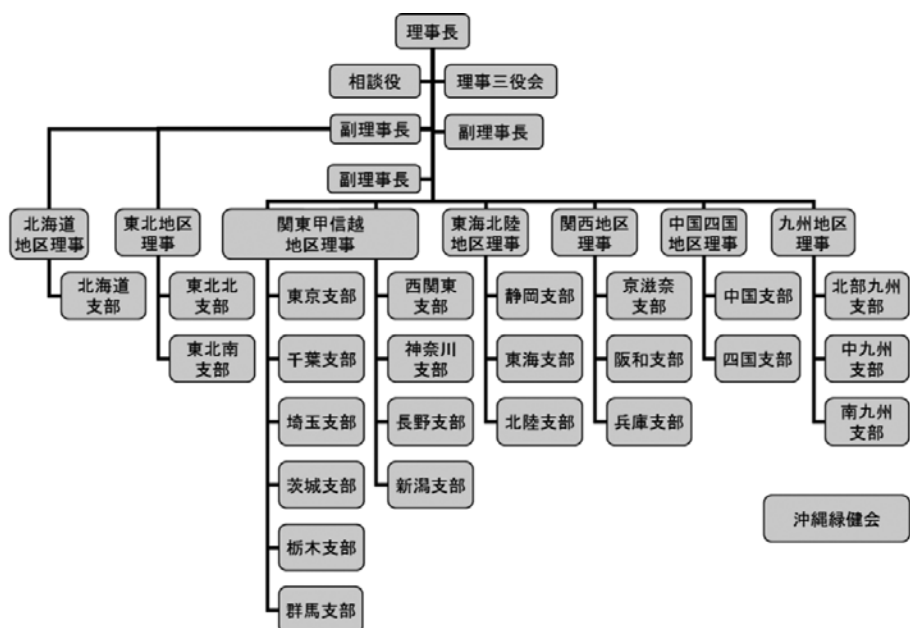


図2 緑健会組織図

受け止めることのできる体制を確立し、「ササヘルス」を製造している蓼科工場への見学会なども開催している。

3. クマ笹文化の情報提供を目指して

当社は一貫してクマ笹にこだわり商品を開発してきた。しかし一般的にはクマ笹は知っていても、詳細については知られていない。例えば神事にはクマ笹は浄めの道具として無くてはならないものであり、数寄屋建築においてはその建築資材として竹・笹が多用されている。食品においては、クマ笹の制菌作用を利用した笹だんごや鱈ずし、にぎり寿司のバランなどにも使われている。このように神事・食・住に浸透しているクマ笹であるが、山に生えるクマ笹や笹だんご程度の認知度であろう。

この有用なクマ笹をもっと知ってもらおうと、現在、長野県茅野市に「笹離宮」を建設、平成26年より一般公開を開始した。この「笹離宮」は3つのエリアに分かれている。第1は植物園エリアで、約120種の竹笹類が植栽されている。学術的な植物園としても設計されており、地下茎が伸びて交雑することを防止する根止めの措置も行っている。竹笹類中のクマ笹だけで100種以上も集めた植物園は他には無い。第2は実験圃場エリアで、「ササヘルス」の製造で排出されるクマ笹残渣の農業用途の研究を行っている。農業用途においては東京農業大学や近隣の八ヶ岳中央実践農業大学校、富士見高校においても共同研究や学習教材としても使われており今後の成果を期待している。第3は数寄屋庭園エリアである。このエリアはお茶席「笹庵（じゃくあん）」を中心に待合「翠陰（すいいん）」、展示棟「清風萬里館（せいふうばんりかん）」、板倉「神坐（かみくら）」などで構成した回遊式数寄屋庭園となっている（図3）。

「笹離宮」は蓼科工場に隣接し「グリーンヘルス倶楽部元気パンダの会」の工場見学会などでは工場見学でクマ笹が医薬品として製造される様子を、「笹離宮」では様々な種類のクマ笹や、クマ笹を多用した数寄屋建築を見学することでクマ笹の文化を堪能することが出来る。

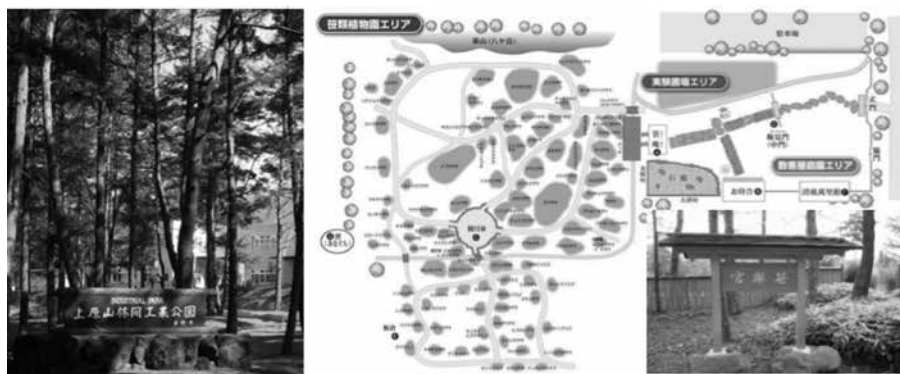


図3 蓼科笹類植物園『笹離宮』の所在地及び園内配置風景

また「笹離宮」は一般公開しているので、開園日であれば誰でも興味のある方は見学することが出来る。

4. クマ笹の効用

一般用医薬品「ササヘルス」の効能効果は疲労回復、食欲不振、口臭、体臭除去、口内炎であるが、クマ笹としての生理活性は様々な研究によって報告されている。代表的な生理活性は、抗炎症作用、膜安定化作用、防腐作用、ラジカル消去作用であるが、リグニン研究をライフワークとしている明海大学歯学部薬理学分野の坂上宏教授と出会ったことにより、クマ笹薬理学研究が加速した。抗インフルエンザウイルス作用、抗 HIV 作用、抗 UV 作用、嫌気性歯周病原細菌への抗菌活性、口臭の原因となる揮発性硫黄化合物の産生抑制など、クマ笹関連商品を販売する薬局・薬店における有用な情報として役立っている。特に当社「ササヘルス」はその特徴的な製造方法により鉄クロロフィリン、多糖体のみならずリグニン配糖体及びその関連物質を多く含む。このことが他社競合品との差別化に繋がっている。

特に平成 25 年 10 月に上市した「クマ笹歯みがき」は明海大学、三宝製薬株式会社、当社との産学共同開発によるもので、開発段階におけるエビデンスがしっかりしていることから、上市後の販売が好調な商品である（図 4）。



図 4 ササヘルスの多様な生理活性

5. 営業部組織

当社の営業部組織は、3つに分かれており、直接薬局・薬店へ訪問し営業活動を行う営業部本体、事業本部において販売管理及び販売促進を行う推進チーム、学術的な支援を行う学術グループで構成する。

営業部本体は、2グループに分かれそれぞれグループマネージャーが統括する。また販売促進企画担当主任、緑健会担当主任が企画立案、緑健会支援をそれぞれ担当、営業次長が2グループを統括、全体を営業本部長が統括する構成としている。営業担当は、それぞれの担当地域の薬局・薬店の売上管理、商品情報提供、企画情報提供及び販売促進活動を行う。またその担当地域の緑健会支部活動の支援を行う。

推進チームは、営業担当もしくは直接受注のあった内容の受注入力から請求書発行までを行う。また営業担当と連携し薬局・薬店に合った販売促進物の作成・提供を行う。また営業担当と連携して緑健会支部活動の支援を行う。また緑健会担当主任、企画担当主任と連携して緑健会本部の支援、企画による販売促進活動も行う。

学術グループは、大学との共同研究や学術情報発信、営業部への学術研修、お客様相談、安全管理業務などを行っている（図5）。

6. 緑健会会員薬局・薬店

一般的に薬局というと、広い店舗面積を持ち食品から雑貨品まで多く扱うドラッグストアか、病院・医院の処方箋を調剤してもらう調剤薬局のどちらかをイメージすることが多いだろう。

しかし緑健会の薬局・薬店の場合は、相談薬局もしくは調剤を行いつつ相談も受ける、または以前からある個人薬局で相談を受ける形態を取ることが多い。消費者の体調を聞き、相談を受けて、その人の体調に最も適した商品を提供する、対面販売を販売の中心に置いている。時にはサロンの役割を果たすこともあり、健康以外のことも含めた悩み事相談室であったり、喫茶コーナーであったり、薬膳教室を行ったりもする。もちろん、インターネットが普及した昨今は、ホームページ、ブログ、SNS（ソーシャルネットワークサービス）を活用する薬局・薬店も増加している。これらの活用により薬局・薬店の情報発信、口コミによる導引も期待できる。しかしDMやチラシなど従来からの宣伝媒体も行っており、オピニオンリーダーによる口コミも重要な販売促進となっている。

平均寿命が伸びてきているものの、健康寿命との差は女性の場合10年以上も開きがあり、健康でありたいと思う方の年齢層は高齢者に偏っている。このため、インターネットが普及した昨今でも従来からの情報提供手段も継続する必要がある。当社においても、インターネットと従来からの販売促進を両面の長所・短所を十分理解し営業活動を行うことが重要となってくる。

7. HR 認定制度

当社は営業担当者を「HR」と呼んでいる。これは当社が独自のHR認定制度を採用しているからである。このHRは「Health Representatives（健康情報提供者）」という造語の略語であり、これは医療用医薬品のメーカー営業をMRつまり「Medical Representatives（医薬情報提供者）」から引用したものである。

当社の営業担当であるなら、健康情報に長けているべきとの考えから認定制度を制定し、一般用医薬品「ササヘルス」を中心に健康情報を十分に理解していなければ営業活動を行えない。入社するとすぐに新人研修が始まるが、このHR認定試験に関わる学術知識、健康知識、クマ笹及び「ササヘルス」及びその他商品知識も研修に組み込まれており、HR3級認定試験が新人研修の最後に実施される。合格すると営業活動に出ることが出来る。

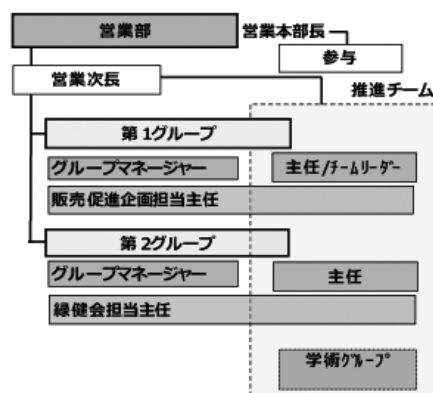


図5 営業部組織図

HR 認定資格は1～3級まであり、以下の4段階に分かれている。

(ア) HR3 級

緑健会営業活動に必須の資格。健康情報提供者として必要な、医学・薬学の基礎知識、製品情報、最新の健康情報を有する者であることを保証する。営業活動の前提として HR3 級が最低必須条件となる。

(イ) HR2 級

3 級よりさらに広範な、医学・薬学の知識と製品情報、他社製品情報、最新の健康情報を有し、これを応用する知識と能力とともに、これらを効率よくプレゼンテーションする能力を持つ者であることを保証する。薬局・薬店または消費者講習会等で基礎的な講演を行う能力を持つ。主任以上は2級が必須条件となる。

(ウ) HR 準1 級

2 級を合格し、登録販売者試験に合格、認定を受けた者を準1 級とする。ただし合格後、自治体で行われる登録販売者資格維持のための講習を受講する代わり、社内で以下の項目を実施することで、その資格維持を認める。

①年4回の講習会で配布されるテキスト読了後簡単なテストを実施し、一定の点数以上を取ること。

②緑健会等の外部会合において年2回以上の関連発表を行うこと。

(エ) HR1 級

2 級よりもさらに広く深い医学・薬学知識、製品情報、他社製品情報、一部の学会報告等を含む最新の健康情報を有し、これを応用する知識と能力と共に、これらを効率よくプレゼンテーションする能力を有する。また、これらを部下または薬局・薬店の育成指導に資する能力とスキルを有することを保証する。比較的大規模な研究会等で講師を務める能力を有し、講演のプログラム、研修プログラムの策定をする能力を持つ。

以上の認定資格を取得し、当社の HR は営業活動を行っている。この認定制度は更新試験を2年毎に実施し一定水準以上の情報提供を維持している。資格手当も設けている。

さらに本年度下半期より、HR 認定制度の改定を行う予定である。従来の修得すべき知識に加えて、薬業界知識、法的知識、他社競合品知識、取扱商品知識詳細、時事情報などを加え、毎月営業会議において小テストも実施する。学術知識のみならず緑健会薬局・薬店の情報を全員に修得させることで、熟練の HR から若手 HR まで全体の水準を向上させる目的である。

8. 情報共有

各自のスキルが向上しても、HR 及び推進チーム、学術グループでの情報共有が不足すると的確な販売促進活動が出来なくなる。そのため当社ではグループウェアとTV会議を活用し、電話やメールではどうしても一方通行や1対1に陥りやすい情報共有を双方向やグループで行えるようにしている。これは他社でも導入してい

る会社は多いと思うが、情報共有から決裁システムまでグループウェアで行うようにしたため、全国に営業に出張している HR にとって、外にいても事業本部にいるのと同じ環境が提供される。

9. 信頼される営業を目指して

私は、平成 26 年 4 月営業本部長就任の際、部下に以下の基本姿勢を伝えた。

- ・共に歩み、共に伸びていく
- ・繋がりを大切にする
- ・一人ひとりの素晴らしさを発揮
- ・全員がプロの集団となる

～売上は全ての基本～

今もこの基本姿勢は変わらない。「共に歩み、共に伸びていく」「繋がりを大切に」このことは情報共有に繋がる。「一人ひとりの素晴らしさを発揮」「全員がプロの集団となる」このことは HR 認定制度に繋がる。

このように情報共有し個々の資質を伸ばす仕組みを当社は盛り込んで営業活動に取り組ませている。これにより薬局・薬店が持つ課題や悩みを共有し、共に解決への道を歩んでいくことが出来ると信じている。私は生産本部から営業本部に異動したが、まずは現場を把握するため全国約 1,200 店の緑健会薬局・薬店を訪問している。1 年で約 600 店、出版される頃には約 800 店の薬局・薬店の訪問が済んでいることであろう。そこで聞くことは、当社 HR の誠実さである。ありがたい、営業冥利に尽きる。今後もこの情報共有と HR 認定制度をより良いものに改定し信頼される営業を目指していこうと思う。

おわりに

当社営業部の取り組みについて紹介したが、最後に最も重要なことを伝えたい。HR のやる気、情熱である。これはどの時代においても変わらず重要なものと位置付けている。しかしこの情熱、熱意というものは上から言っても伝わらない。むしろ冷めてしまう部下までいる。私の座右の銘は以下である。

やってみせ、言って聞かせて、させてみせ、ほめてやらねば、人は動かじ。
話し合い、耳を傾け、承認し、任せてやらねば、人は育たず。
やっている、姿を感謝で見守って、信頼せねば、人は実らず。

山本五十六元帥の言葉であるが、言うは易し行は難しである。しかしこの言葉を心掛けるのは人の情熱は信頼し認めるところから始まると信じているからである。私は今後もこの言葉を信じ、人を信じ認めながら薬局・薬店に信頼される営業部を目指していく。

引用文献

- 1) 坂上 宏, 渡辺悟, 横手よし子, 他: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の多様な生物作用と代替医療における機能性, *New Food Industry* **50** (5), 17-24, 2008
- 2) 坂上 宏, 周 麗, 儲 慶, 他: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の抗炎症作用, *New Food Industry* **51**(1): 27-34, 2009
- 3) Zhou L, Hashimoto K, Satoh K, *et al.*: Effect of *Sasa senanensis* Rehder extract on NO and PGE2 production by activated mouse macrophage-like RAW264.7 cells. *In Vivo* **23**: 773-778, 2009
- 4) 坂上 宏, 周 麗, 河野みち代, 他: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の抗炎症作用に基づく口腔環境改善効果の可能性, *New Food Industry* **52** (2) 1-10, 2010.
- 5) Sakagami H, Kushida T, Oizumi T, *et al.*: Distribution of lignin-carbohydrate complex in plant kingdom and its functionality as alternative medicine. *Pharmacology & Therapeutics* **128**: 91-105, 2010.
- 6) Sakagami H, Zhou Li, Kawano M, *et al.*: Multiple biological complex of alkaline extract of the leaves of *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **24**: 735-744, 2010.
- 7) 坂上 宏, 植木淳一, 島田亜希, 他: 抗酸化剤および植物抽出液の紫外線に対する細胞保護作用, *New Food Industry* **53** (1): 11-19, 2011.
- 8) 坂上 宏, 岩本祥子, 松田友彦, 他: クマザサ抽出液 (ササヘルス) の口内炎治療効果の可能性: 培養ヒト歯肉線維芽細胞による炎症性サイトカイン産生の抑制 *New Food Industry* **53** (7): 11-18, 2011
- 9) 松田友彦, 北嶋まどか, 大泉浩史, 他: クマザサ抽出液 (ササヘルス) 及び luteolin 配糖体の紫外線に対する細胞保護効果, *New Food Industry* **53** (7): 19-25, 2011
- 10) Matsuta T, Sakagami H, Kitajima M, *et al.*: Anti-UV activity of alkaline extracts of the leaves of *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **25** (5): 751-755, 2011.
- 11) Matsuta T, Sakagami H, Satoh K, *et al.*: Biological activity of luteolin glycosides and tricin from *Sasa senanensis* Rehder. *In Vivo* **25** (5): 757-762, 2011.
- 12) Ono M, Kantoh K, Ueki J, *et al.*: Quest for anti-inflammatory substances using IL-1 β -stimulated gingival fibroblasts. *In Vivo* **25**(5): 763-768, 2011
- 13) Sakagami H, Iwamoto S, Matsuta T, *et al.*: Comparative study of biological activity of three commercial products of bamboo leaf extract. *In Vivo* **26**: 259-264, 2012.
- 14) 坂上 宏, 松田友彦, 田中庄二, 他: クマ笹葉エキスを由来製品の開発, 機能性評価及び口腔疾患への適応 *New Food Industry* **54** (6):11-26, 2012.
- 15) Matsuta T, Sakagami H, Tanaka S, *et al.*: Pilot clinical study of *Sasa senanensis* Rehder leaf extract treatment on lichenoid dysplasia. *In Vivo* **26** (6): 957-962, 2012.
- 16) Matsuta T, Sakagami H, Sugiura T, *et al.*: Structural characterization of anti-UV components from *Sasa senanensis* Rehder extract. *In Vivo* **27**: 77-84, 2013.
- 17) Sakagami H, Amano S, Yasui T, *et al.*: Biological interaction between *Sasa senanensis* Rehder leaf extract and toothpaste ingredients. *In Vivo* **27**: 275-284, 2013

連絡先: 大泉 浩史

〒 213-0012

神奈川県川崎市高津区坂戸 3-2-1 かながわサイエンスパーク (K S P) 内 D 棟 8F

株式会社大和生物研究所

Tel: (044)819-2291 Fax: (044)812-7482

e-mail: h_oizumi@daiwaseibutu.com

カキ肉エキス生理活性成分の 機能解析とその有効利用

武田 厚司 (TAKEDA Atsushi) 玉野 春南 (TAMANO Haruna)

静岡県立大学薬学部 統合生理学分野

Key Words: カキ肉エキス 亜鉛 脳機能 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol 認知機能障害
アルツハイマー病

要旨

カキ肉は世界中で食用に用いられている一方で、その貝殻は漢方薬の材料として使用されている。ボレイ末は主成分が炭酸カルシウムであり、処方例として、安中散、桂枝加竜骨牡蠣湯、柴胡加竜骨牡蠣湯などに使われている。また、カキ肉エキスを配合する栄養サプリメントは広く利用されている。すなわち、カキ肉には亜鉛、銅、セレンなどの必須微量元素、スーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼなどの抗酸化酵素など、栄養素のみならず生理活性物質が豊富に含まれている。本稿では、カキ肉エキスなかの生理活性成分として、細胞内シグナルファクターとして注目されている亜鉛の脳機能に対する作用に焦点をあてて概説する。また、最近発見された新規抗酸化物質 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol (DHMBA) の作用についても概説し、それらの有効利用など今後の展望を述べる。

はじめに

世界人口の約 50% が亜鉛摂取不足のリスクにあると報告されている。この報告によると日本では約 20% がそのリスクにある。我が国は超高齢社会を迎えており、老化に伴い血漿亜鉛濃度が減少することから、亜鉛摂取不足のリスクにある人口は今後増加することが考えられる。亜鉛は細胞の増殖・分化・機能に必要であり、亜鉛を必要とするタンパク質、酵素は 1,000 種類以上知られている。また、神経細胞では亜鉛はシナプス小胞内に存在し、神経活動に伴いシナプス間隙に放出され、ダイナミックに学習・記憶などの脳機能を調節する (図 1)。シナプス小胞に亜鉛を高濃度に含む神経はグルタミン酸作動性神経のサブタイプであり、亜鉛作動性

神経とも呼ばれている。グルタミン酸作動性神経シナプスが過剰興奮すると、グルタミン酸興奮毒性により、神経細胞死が惹起される。この神経細胞死は脳虚血、てんかん発作をはじめ、アルツハイマー病、パーキンソン病など様々な脳疾患の病態と関係する。したがって、グルタミン酸とともに神経終末から放出される亜鉛イオン (Zn^{2+}) はこれらの病態と関係する。グルタミン酸興奮毒性による神経細胞死はグルタミン酸受容体の過剰な活性化を介した Ca^{2+} や Zn^{2+} のシナプス後神経への流入ならびにシスチン/グルタミン酸交換輸送体の抑制を介した活性酸素の増加により惹起される。 Zn^{2+} は細胞死に関与する一方で、下記に述べるように細胞死を抑制する作用もある (図 1)。また、新規抗

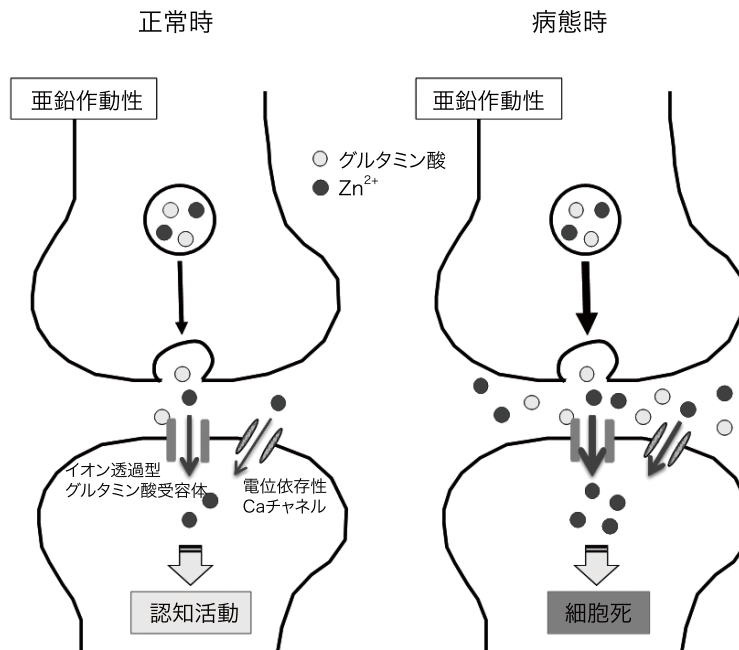


図1 シナプス Zn^{2+} シグナリングの作用

正常時、細胞外からの Zn^{2+} 流入は認知活動に必要である。一方、シナプス過剰興奮に伴う Zn^{2+} 流入は認知を障害する。病態時、シナプス過剰興奮に伴う Zn^{2+} 流入は細胞死に関与する。その一方で細胞外 Zn^{2+} を増加させると、シナプス興奮は抑制される。

酸化物質 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol (DHMBA) (図2)などを介した抗酸化作用はグルタミン酸興奮毒性を軽減させることが考えられる。

健康長寿の視点から脳の健康に対する関心が高まるなか、本稿では、亜鉛不足による脳機能障害、 Zn^{2+} による脳機能調節について概説するとともに、カキ肉生理活性成分としての亜鉛とDHMBAのこれまでに知られている作用、それらの作用を踏まえた有効利用に関する今後の展望を概説する。

1. 亜鉛の吸収と脳内移行¹⁾

亜鉛は消化管（主に小腸上部）から30%程度吸収されると報告されているが、亜鉛の吸収は、その化学形態、消化管内の共存物質、亜鉛の栄養状態によって変化する。小腸上皮細胞では Zn^{2+} は亜鉛輸送タンパク質を介して門脈に輸送され、その後に肝臓などの臓器・組織に取

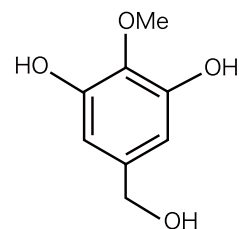


図2 DHMBAの構造

り込まれる。末梢組織と比べると、 Zn^{2+} の脳への取込はゆっくりとしている。脳内亜鉛濃度は出生後発育に伴い上昇し、若齢から高齢期にかけて健康人の脳内亜鉛濃度はほぼ一定である（ラット海馬では約300 μM ）。亜鉛は脳内に移行後、長く保持され機能するが、脳機能を維持するために亜鉛の脳内移行は不可欠である。

2. 亜鉛摂取不足による脳機能障害²⁻⁶⁾

マウスやラットに亜鉛欠乏食を与えると速やかに血漿亜鉛濃度が低下し、食欲が減退する。

その結果、血漿グルココルチコイド濃度が上昇する。これは、ストレス応答を担う視床下部－下垂体－副腎皮質（HPA）系が活性化され、副腎皮質からのグルココルチコイド分泌が増加することによる。一方、亜鉛摂取が不足しても脳内亜鉛濃度は容易には減少しない。実験動物を長期間亜鉛欠乏食で飼育すると、脳細胞外亜鉛濃度は減少するが、脳全体の亜鉛濃度は有意に減少しない。しかし、成長期に亜鉛欠乏食を与えると、脳の重量は増加しない。すなわち、脳の成長が阻害される。

一方、海馬歯状回では神経新生が起こる。神経新生は記憶獲得に関与するとともに、ストレス応答に関係する。神経新生の抑制はうつ症状と密接に関係する。亜鉛欠乏食をラットに与えると、神経新生が抑制され、うつ様行動が増加する。したがって、亜鉛摂取不足はうつ発症のリスクファクターであると考えられる。また、高齢者では血漿亜鉛濃度が低下する一方で、血漿グルココルチコイド濃度が（夜間において）上昇する。高齢者のうつ発症にこれらの変化が関与することが考えられる。興味深いことに、うつ病患者では血漿亜鉛濃度が低下しており、抗うつ薬投与により症状が改善されると、血漿亜鉛濃度が正常値に改善されとの報告がある。亜鉛をサプリメントとして与えることで抗うつ薬の効果が増強されとの報告もあり、亜鉛不足がうつ発症の一因である可能性もある。

グルココルチコイド分泌増加は海馬神経細胞の興奮性を高める。グルココルチコイド（ミネラルコルチコイド）受容体は、神経終末の細胞膜に存在し、グルタミン酸放出を促進する。また、グルココルチコイドは細胞外グルタミン酸の取込を阻害する。亜鉛摂取不足によりてんかん発作感受性が増大し、グルタミン酸興奮毒性が増大する。すなわち、亜鉛摂取不足は脳の病態を悪化させると考えられるが、これにはグルココルチコイドシグナルとの連携があると考えられる。

3. Zn^{2+} による脳機能調節⁷⁻¹¹⁾

海馬において神経細胞内 Zn^{2+} シグナリングは認知活動に必要である。その一方で、過剰な細胞内 Zn^{2+} シグナリングは認知活動を障害する（図1）。細胞外 Zn^{2+} レベルの上昇は細胞外 γ -アミノ酪酸（GABA）レベルを上昇させ、細胞外グルタミン酸レベルを低下させる。細胞外グルタミン酸レベルの上昇の制御は上記のようにグルタミン酸興奮毒性の発現を抑制するうえで重要である。脳虚血時には細胞外 K^+ 濃度が異常に上昇し、グルタミン酸興奮毒性が惹起される。この K^+ 誘発性の細胞外グルタミン酸濃度の上昇は細胞外 Zn^{2+} 濃度を上昇させる（ Zn^{2+} を添加することによって抑制される（図1）。その一方で、 K^+ 誘発性の細胞外グルタミン酸濃度の上昇は亜鉛欠乏食ラットにおいて増大する。また、てんかん発作後の神経細胞死は亜鉛欠乏食ラットで増加する。亜鉛摂取不足のリスクにあるヒトあるいは高齢者では血漿亜鉛濃度の低下が考えられることから、亜鉛栄養に注意を払う必要がある。

ところで、カキは高濃度の亜鉛を含むためか、カキ摂取により血漿亜鉛濃度は上昇することが報告されている。一方、カキ肉エキスの抽出方法は、熱水抽出法、酵素分解法、エタノール抽出法があり、市販のカキ肉エキスの亜鉛濃度は様々であるが、カキ肉エキス、カキ加工食品を定期的に摂取することは亜鉛補給になると考えられる。亜鉛の栄養状態は消化管からの亜鉛吸収に影響を与えるが、動物実験では亜鉛摂取不足時に亜鉛吸収は増加する。

4. DHMBA の作用^{12, 13)}

カキには多くの抗酸化物質が含まれている。最近、新規抗酸化物質として両親媒性のDHMBAが発見され、これはアスコルビン酸より強い抗酸化能（高いORAC（Oxygen Radical Absorbance Capacity）値）を示す。DHMBAは酸化的ストレスにより惹起された肝細胞のアポトーシスやネクロトーシスを抑制する。グルタミン酸興奮毒性による神経細胞死には酸化的スト

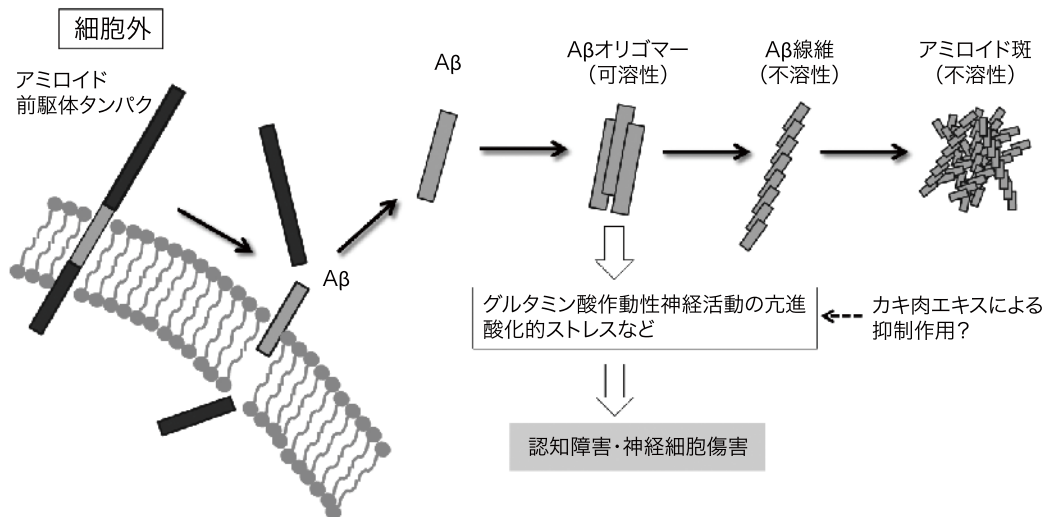


図3 アミロイドβ (Aβ) の神経毒性

レスが関与することから、神経細胞に対する保護効果や神経細胞死に対する抑制効果が期待される。

6. カキ肉エキスの脳機能に与える影響と今後の展望^{14, 15)}

カキ肉エキスの摂取によりラットの出産率と産仔数が増加する。また、仔ラットのストレスに対する抵抗性が高まることが報告されている。一方、アルツハイマー病などの認知症は超高齢社会での大きな問題である。我が国では65歳以上の人口の約15%、約440万人が認知症に罹患している(2010年、厚生労働省)。さらに、2060年には1,000万人以上の高齢者が認知症になる可能性が指摘されている。認知症の約半数を占めるアルツハイマー病の発症メカ

ニズムはいまだ十分には明らかにされていないが、アミロイド先駆体タンパク質から切り出されるアミロイドβタンパク質が原因物質と考えられている。アミロイドβにはグルタミン酸作動性神経活動を亢進させたり、酸化ストレスを与えたりする作用がある。これらの作用がアミロイドβ誘発性の学習・記憶障害ならびに細胞傷害に関与することが考えられる(図3)。したがって、カキ肉エキス摂取によるアミロイドβ神経毒性の予防や改善が期待される。これまでに、実験的アルツハイマー型認知症モデルの学習・記憶障害に対するカキ肉エキスの作用が検討されているが、十分な成果は得られていない。アミロイドβ誘発性障害の予防を含め、今後のさらなるカキ肉エキス有効利用に関する検討が期待される。

参考文献

1. Takeda A.: Movement of zinc and its functional significance in the brain. *Brain Res Rev*, **34**: 137-148, 2000.
2. Takeda A.: Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. *BioMetals*, **14**: 343-352, 2001.
3. Takeda A, Tamano H.: Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. *Brain Res Rev*, **62**: 33-44, 2009.
4. Takeda A, Tamano H.: Zinc signaling through glucocorticoid and glutamate signaling in stressful circumstances. *J Neurosci Res*, **88**: 3002-3010, 2010.
5. Takeda A.: Zinc signaling in the hippocampus and its relation to pathogenesis of depression. *Mol Neurobiol*, **44**: 166-174, 2011.

6. Takeda A, Tamano H.: Proposed glucocorticoid-mediated zinc signaling in the hippocampus. *Metallomics*, **4**: 614-618, 2012.
7. Takeda A, Nakamura M, Fujii H, Tamano H.: Synaptic Zn²⁺ homeostasis and its significance. *Metallomics*, **5**: 417-423, 2013.
8. Takeda A, Fujii H, Minamino T, Tamano H.: Intracellular Zn²⁺ signaling in cognition. *J Neurosci Res*, **92**: 819-824, 2014.
9. Takeda A.: Significance of Zn²⁺ signaling in cognition: insight from synaptic Zn²⁺ dyshomeostasis. *J Trace Elem Med Biol*, **28**: 393-396, 2014.
10. Takeda A.: Insight into glutamate excitotoxicity from synaptic zinc homeostasis. *Int J Alzheimers Dis*, Article ID 491597, 2011.
11. Takeda A, Tamano H.: Cognitive decline due to excess synaptic Zn²⁺ signaling in the hippocampus. *Front Aging Neurosci*, **6**: 26, 2014.
12. Watanabe M, Fuda H, Jin S, Sakurai T, Ohkawa F, Hui SP, Takeda S, Watanabe T, Koike T, Chiba H.: Isolation and Characterization of a Phenolic Antioxidant from the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *J Agric Food Chem*, **60**: 830-835, 2012.
13. Fuda H, Watanabe M, Hui SP, Joko S, Okabe H, Jin S, Takeda S, Miki E, Watanabe T, Chiba H.: Anti-apoptotic effects of novel phenolic antioxidant isolated from the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) on cultured human hepatocytes under oxidative stress. *Food Chem*, **176**: 226-33, 2015.
14. Takeda A, Tamano H.: Regulation of extracellular Zn²⁺ homeostasis in the hippocampus as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Tar*, **19**: 1-8, 2015.
15. Tamano H, Takeda A.: Is interaction of amyloid β -peptides with metals involved in cognitive activity? *Metallomics*, **7**: 1205-1212, 2015.

牡蠣エキスの脂質低下作用

Hypolipidemic activities of oyster extract

田中 一成 (TANAKA Kazunari)

長崎県立大学大学院 人間健康科学研究科

Graduate School of Human Health Science, University of Nagasaki

Key Words : コレステロール低下作用 トリグリセリド低下作用 牡蠣たんぱく質 牡蠣ペプチド
cholesterol, triglyceride, oyster protein, oyster peptide

Abstract

Oyster, *Crassostrea gigas*, decreased cholesterol and triglyceride concentrations in serum and liver of SD rats, and their effects were thought to be in part exerted by taurine and lipid components such as n-3 polyunsaturated fatty acids and plant sterols. Feeding defatted oyster lowered serum triglyceride and liver cholesterol and triglyceride levels. Hypolipidemic activities of oyster may be ascribed to both the lipid and the non-lipid fractions. Oyster high-molecular-weight extract fraction hydrolyzed by proteases reduced serum cholesterol concentration, and oyster low-molecular-weight extract fraction effectively induced hypotriglyceridemic effect. Oyster and its extract improve lipid metabolism, and it shows promise in the development of novel physiologically functional food for preventing cardiovascular disease.

はじめに

牡蠣は昔から世界各地で食されている貝類の一種で、欧米においても生で食されるなど、多くの人に好まれている。日本でも縄文時代頃から食べられていたようで、いくつかの貝塚からその殻が見つっている。成分の特徴としては炭水化物やたんぱく質含量が比較的高く、炭水化物の50%以上をグリコーゲンが占め、たんぱく質に関しては必須アミノ酸を多く含んでいる。また、貝類の中では脂質含量が高く、カルシウムや亜鉛などのミネラル類も比較的多い。牡蠣をはじめとする貝類、イカ、タコ、エビなどのいわゆる魚以外の魚介類は、コレステロー

ル (Chol) を多く含むことから、以前は血中 Chol 濃度を上昇させるとされてきた。しかし、これら魚介類は、量は少ないもののエイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)などの n-3 系多価不飽和脂肪酸を含有し、Chol の吸収を阻害する植物ステロールを含むものもある。牡蠣はこれら脂質成分に加えて、Chol 低下作用を有するタウリンを多く含有している。これまでのいくつかの研究から、牡蠣は Chol や中性脂肪 (TG) 濃度低下作用を有することがヒトや実験動物で報告されている^{1,2)}。しかし、脂質低下のメカニズムや低下に関与する成分については明らかではなかった。そこで

著者は、牡蠣の脂質代謝改善の作用メカニズムと関与成分を解明することで、牡蠣のヒトの健康に対する有用性を明らかにすることを目的として研究を行った。

1. 凍結乾燥した牡蠣粉末が脂質代謝に及ぼす影響（実験1）

長崎市内で購入した新鮮な牡蠣（*Crassostrea gigas*）の殻を取り除いた肉をミンチ状にし、凍結乾燥したものを試料とした。粗たんぱく質および粗脂肪含量はそれぞれ44.1%と8.6%であった。このような試料を用いて、ラットによる摂食実験を行うためにラットの飼料を調製した。AIN-93G 組成の純化食に0.1% Chol（低 Chol 食）あるいは1.0% Chol（高 Chol 食）を添加したものをコントロール食とした。コントロール食は20% カゼインをたんぱく質源とし、牡蠣食はコントロール食のカゼインを牡蠣凍

結乾燥粉末のたんぱく質20%相当量で置き換えた。各飼料に0.1% Chol（低 Chol 食）あるいは1.0% Chol と小腸からの Chol 吸収を促進するコール酸ナトリウム0.25%（高 Chol 食）を添加した。その結果、牡蠣食中の Chol 含量は牡蠣試料に含まれる Chol を加えて、低 Chol 食で0.33%、高 Chol 食で1.23%であった。また、植物ステロールは牡蠣食中に0.21%含まれていた。低 Chol 食の脂肪源は5% コーン油とし、高 Chol 食の脂肪源はコレステロール上昇を誘導するために4% ラードおよび1% コーン油とした。

このように調製した飼料を5週齢のSD系雄ラットに3週間自由摂食させた。飼育期間中の摂食量に低 Chol 食および高 Chol 食ともにコントロール群と牡蠣群の間に差は観察されなかった。低 Chol 食摂取ラットにおいて、牡蠣は血清の Chol および TG 濃度を有意に低下させ

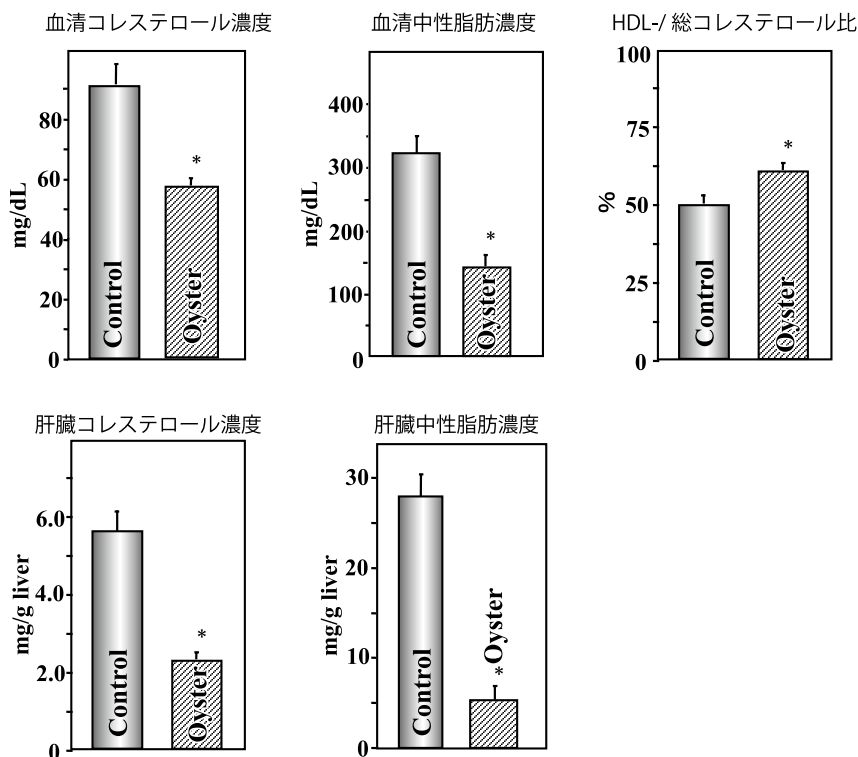


図1 0.1% コレステロールを添加した牡蠣を摂取したSDラットの血清と肝臓コレステロールおよび中性脂肪濃度

平均 ± 標準誤差 (n = 6). * $p < 0.05$ で有意差あり

た(図1)。また、血清の総 Chol 濃度に対する High density lipoprotein (HDL) -Chol 濃度の比は牡蠣群で有意に高値を示した。肝臓 Chol および TG 濃度も、牡蠣摂取ラットでコントロール食摂取ラットより有意に低かった。高 Chol 食においては、血清 Chol 濃度と肝臓の Chol および TG 濃度は牡蠣群で有意に低く、HDL-Chol/ 総 Chol 比は有意に高かった(図2)。牡蠣食ではコントロール食より Chol 含量が高いにもかかわらず、降 Chol 作用が観察され、牡蠣は強い脂質濃度を低下させる作用を有することが明らかになった。牡蠣摂取ラットの糞中への中性および酸性ステロイド排泄量はコントロール食摂取ラットより約3倍高かった。したがって、牡蠣摂取による Chol 低下作用の一部は糞中へのステロイド排泄の亢進により引き起こされる可能性が示唆された。Iritani ら²⁾は、牡蠣がラット肝臓の脂肪酸合成酵素の活性を抑

制することを報告しており、本実験における牡蠣摂取での低い TG 濃度は、肝臓での脂肪合成の抑制により一部誘導されたと考えられる。牡蠣摂取による降 Chol 作用は、糞中へのステロイド排泄促進作用を有する植物ステロールとタウリンにより一部発揮されたと推察される。しかし、これら成分が機能を発現するためには飼料中にそれぞれ 0.5% および 1% 以上含まれる必要があり、比較的多く摂取しなければならない。本実験の牡蠣中に含まれるこれら成分含量はそれぞれ 0.21% および 0.66% であることから、少なくとも低下に関与はしていると考えられるが、その作用は必ずしも強くないかもしれない。また、牡蠣に含まれる EPA や DHA も脂質濃度低下効果を誘導していると考えられるが、牡蠣中の含量は 1% 程度で、作用発現には通常数% 以上必要とされることから、これら脂肪酸も作用発現の主要成分とは考えにくい。

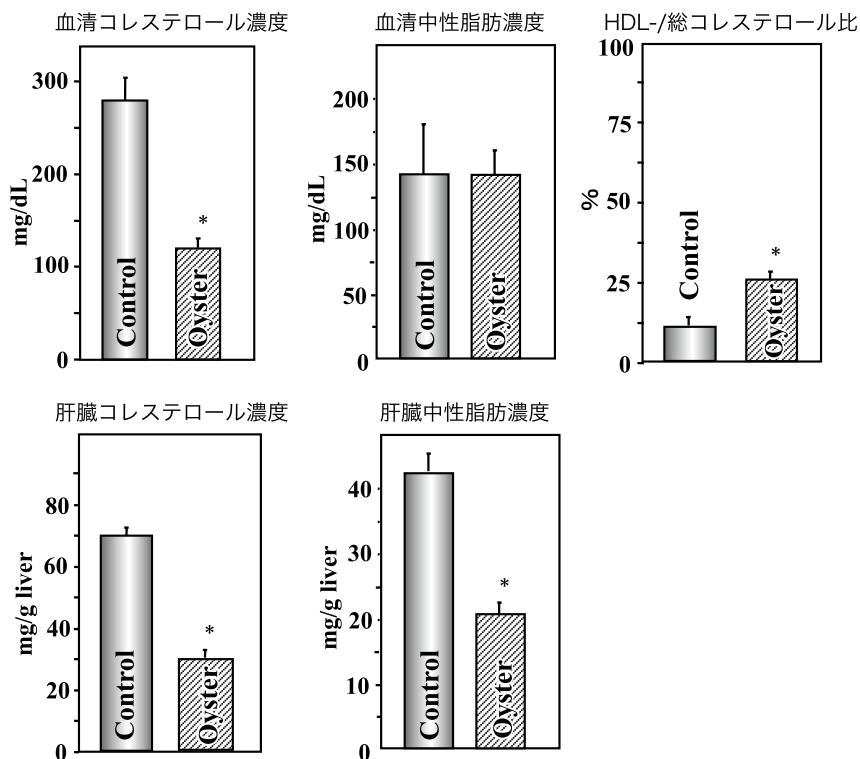


図2 1.0% コレステロールを添加した牡蠣を摂取した SD ラットの血清と肝臓コレステロールおよび中性脂肪濃度

平均 ± 標準誤差 (n = 6). * $p < 0.05$ で有意差あり

牡蠣摂取は糞重量とステロイド排泄量を増加させたが、大豆たんぱく質は糞の排泄量および糞中へのステロイド排泄量を促進することで降 Chol 作用を発現することが知られている³⁾ことから、牡蠣たんぱく質も大豆たんぱく質と同様のメカニズムで Chol 代謝に関与している可能性が推察される。

2. 牡蠣の脂質以外の成分が脂質代謝に及ぼす影響（実験 2）

牡蠣が脂質代謝改善作用を有することが明らかになったが、作用を引き起こす成分については、牡蠣の脂質成分の関与について一部認められたが、たんぱく質をはじめとする脂質以外の成分が脂質代謝に影響していることも考えられる。

そこで次に、牡蠣の凍結乾燥粉末をヘキサン/エタノール（4：1）およびジエチルエーテル/エタノール（1：1）で脱脂して、脂質以外の成分の効果を検討した。脱脂したサンプルを実験 1 と同様にコントロール食のカゼイン

と 20% たんぱく質レベルで置き換えた。本実験では、脂質低下作用を有することが知られている分離大豆たんぱく質をたんぱく質源として 20% 含む群も設定した。また、Chol を各群に 0.3% 添加した。

このように調製した飼料を 5 週齢の SD 系雄ラットに 2 週間自由摂食させた。摂食量には 3 群間で差はなかった。脱脂牡蠣摂取は血清 Chol 濃度を大豆たんぱく質と同様に低下させる傾向を示したが、その差は有意ではなかった（図 3）。しかし、脱脂牡蠣は HDL-Chol 濃度を有意に上昇させたことから、HDL-Chol/ 総 Chol 比は脱脂牡蠣群でコントロール群および大豆たんぱく質群より有意に高い値を示した。血清 TG 濃度は、コントロール群に比べて脱脂牡蠣群および大豆たんぱく質群で有意に低値であった。肝臓 Chol 濃度は、脱脂牡蠣群でコントロール群および大豆たんぱく質群より低下し、肝臓 TG 濃度は脱脂牡蠣摂取で大豆たんぱく質摂取と同様に低かった。糞重量および糞中へのステロイド排泄は脱脂牡蠣群で大豆たんぱく質群と

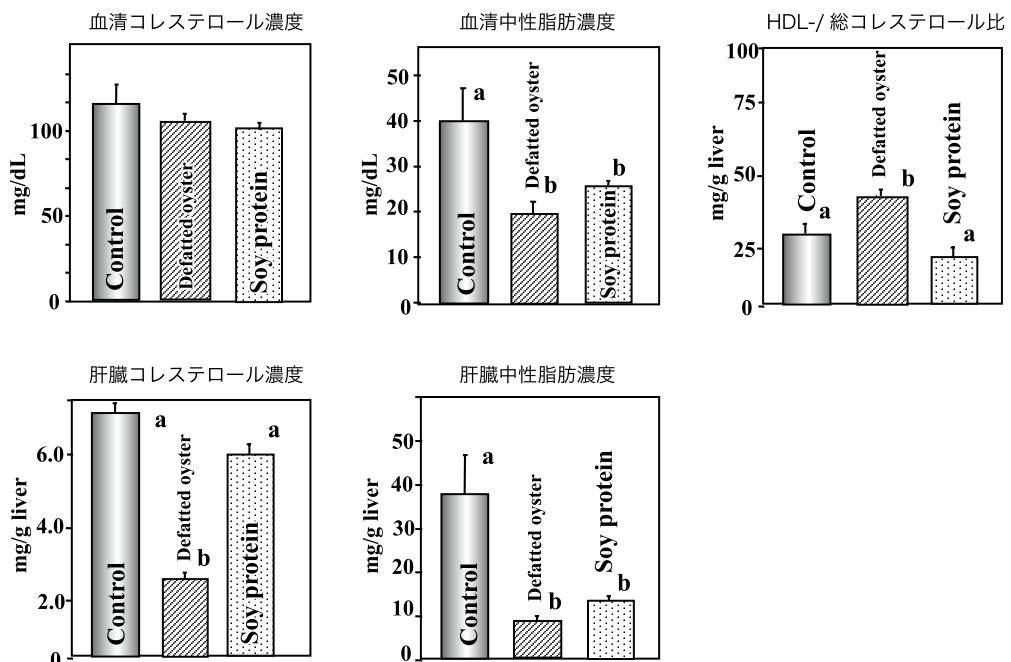


図 3 脱脂した牡蠣を摂取した SD ラットの血清と肝臓コレステロールおよび中性脂肪濃度
平均 ± 標準誤差 (n = 6). a, b ; 異なる文字間に $p < 0.05$ で有意差あり

ともにコントロール群より有意に高かった。これらの結果から、牡蠣の脂質以外の成分が糞中のステロイド排泄を促進することで降 Chol 作用を発揮していると考えられ、その作用は大豆たんぱく質より強い傾向であった。脱脂牡蠣の粗たんぱく質含量は 46.9% であり、脱脂牡蠣サンプルの主要成分であることから、牡蠣たんぱく質が脂質濃度低下に大きく寄与している可能性が示唆された⁶⁾。

3. 高分子量画分を含む牡蠣酵素分解物の製造と機能性（実験 3）

食事たんぱく質は消化の過程で種々のペプチドを生成する。ペプチドとはアミノ酸が 2 個以上ペプチド結合したもので、通常はアミノ酸残基 50 個以下（分子量 5,000 ～ 6,000 程度）のものをいう。たんぱく質を種々のプロテアーゼ（たんぱく質分解酵素）で分解すると特定のアミノ酸の位置で切断されて多様なペプチドが生成する。ペプチドの中には生理活性を発現するものが多数あり、生理活性ペプチドと呼ばれ、血圧降下、抗酸化、ミネラル吸収促進、Chol 吸収阻害、抗菌、免疫調節などの生体調節機能を発揮することでヒトの健康に寄与している⁴⁾。このような特性を生かした機能性食品（特定保健

用食品など）や医薬品が開発されており、さらに保健的機能性以外に嗜好性の向上や物性の改善などの効果を利用した食品もある。また、消化・吸収されやすい、可溶性が高い、腸内での発酵を促進するなど、食品としての汎用性が高いことから産業的に利用価値の高い物質である。

大豆たんぱく質から生成された大豆ペプチドが脂質濃度低下作用を発現することが知られている。分離大豆たんぱく質の酵素消化により得られた高分子量ペプチドは降 Chol 作用を有し³⁾、一方低分子量ペプチドは血清および肝臓 TG 濃度低下作用を発現する⁵⁾ことが報告されている。しかし、これまで牡蠣たんぱく質の消化産物が脂質代謝に及ぼす影響に関する研究はほとんど見られない。

そこで、牡蠣に含まれるたんぱく質を酵素により分解した。粉碎した牡蠣肉に *Bacillus subtilis* 由来プロテアーゼを牡蠣肉 100 g に対して 0.1% 添加して 60℃ で 6 時間反応させ、さらに *Aspergillus oryzae* を 0.1% レベルで添加して 50℃ で 4 時間攪拌した。その後、未消化画分を取り除いて、分子量 7,100 ～ 53,400 の酵素分解物を得た。特に分子量 10,000、13,800 および 15,100 の画分を多く含んでいた（図 4）が、分子量 500 以下の画分はほとんど含まれていな

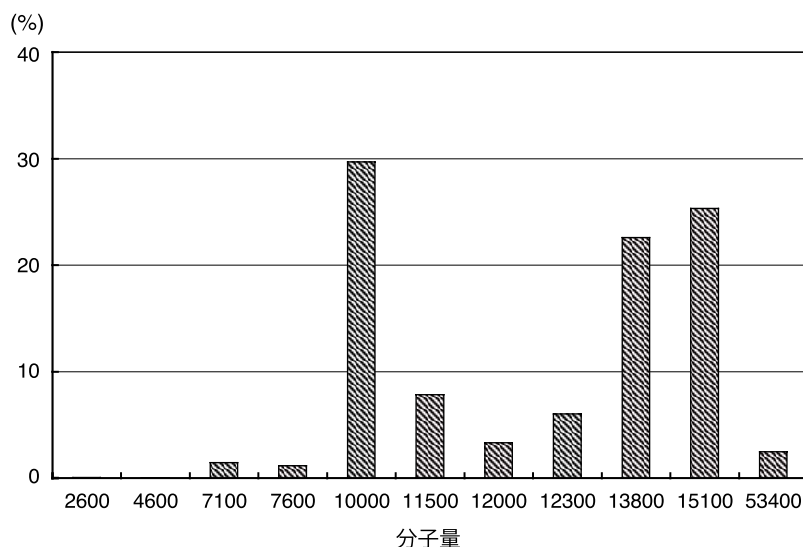


図 4 高分子量牡蠣酵素分解物の分子量分布

かった。

このようにして生成した高分子量画分を多く含む酵素分解物を凍結乾燥して粉末状にしたもの (Hi-OE) を、コントロール食の 20% レベルのカゼインの 5% と置き換え、AIN-93G 組成に準じて調製した Chol を含まない飼料を 5 週齢の SD 系雄ラットに 4 週間自由摂食させた。飼育期間中の Hi-OE を摂取したラットの摂食量は、Hi-OE を含まないコントロール食摂取ラットと同じレベルであった。Hi-OE は血清 Chol 濃度を有意に低下させ、血清 TG 濃度を低下させる傾向を示した (図 5)。また、肝臓 TG 濃度を有意に低下させた。Hi-OE は肝臓脂肪酸合成酵素 Fatty acid synthase (FAS) および Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) 活性を低下させたことから、肝臓 TG 濃度の低下は脂肪酸合成の低下により惹起されたものと考え

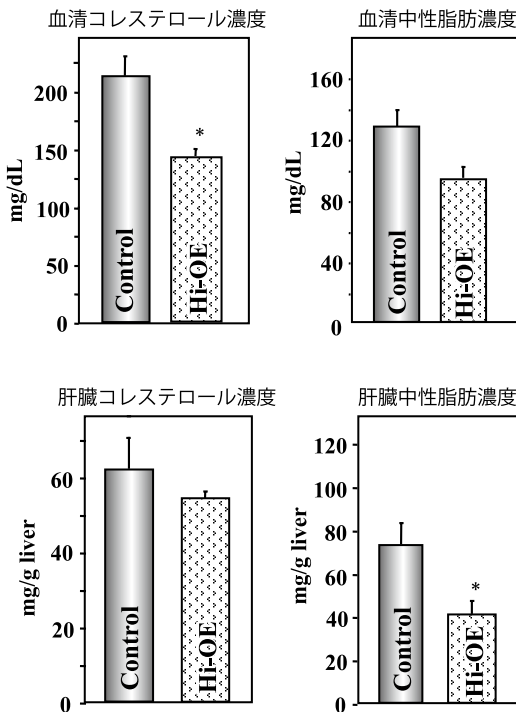


図 5 高分子量牡蠣酵素分解物を摂取した SD ラットの血清と肝臓コレステロールおよび中性脂肪濃度

平均 ± 標準誤差 (n = 6). * $p < 0.05$ で有意差あり。Hi-OE; 高分子量牡蠣酵素分解物

えられた。本実験において、Hi-OE は糞中へのステロイド排泄を亢進せず、肝臓 Chol 濃度も低下させなかった。牡蠣および脱脂牡蠣摂取による降 Chol 作用は、大豆たんぱく質と同様に糞中へのステロイド排泄の増加により引き起こされると推察されたが、Hi-OE ではそのような作用は観察されなかった。現時点で詳細は不明であるが、本実験で製造された牡蠣たんぱく質酵素分解物は、消化管内で生成される牡蠣ペプチドとは異なっていたのかもしれない⁷⁾。

次に、高血圧を自然発症する疾患モデル動物である SHR ラットおよび多飲、多食、肥満などの病態を有し 2 型糖尿病を自然発症する Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットにそれぞれ 4 週間および 5 ヶ月間自由摂食させたところ、Hi-OE は肝臓 TG および Chol 濃度を低下させた⁷⁾。このように、高分子量画分を多く含む酵素分解物は降 Chol および降 TG 効果を有することが明らかとなり、牡蠣摂取による脂質代謝改善に牡蠣たんぱく質酵素分解物が関与していることが示唆された。

4. 低分子量画分を含む牡蠣酵素分解物の製造と機能性(実験 4 および 5)

次に、牡蠣たんぱく質を酵素分解してより低分子量の画分を多く含む分解物を調製した。牡蠣肉を粉碎後に水と混合して 90℃ で熱処理し、pH を 8 ~ 9 に調整したのち、*Bacillus subtilis* 由来、*Bacillus licheniformis* 由来、*Bacillus clausii* 由来あるいは *Bacillus sp.* 由来のプロテアーゼを牡蠣肉 100 g に対して 1 ~ 3% 添加して 4 ~ 6 時間攪拌した。また、2 種類のプロテアーゼを組み合わせた処理も行った。たんぱく質分解後、溶液の pH を 7.0 に調整し、90 ~ 95℃ で 30 ~ 60 分間熱処理することでプロテアーゼを失活させて酵素分解物を得た。添加する酵素、反応時間、反応温度や pH を変えることで多様なたんぱく質分解物を生成することが可能である。その中から酵素分解物 A (LoOE-A) および酵素分解物 N (LoOE-N) を得た。LoOE-A および LoOE-N の分子量分布を表 1 に示す。

表1 低分子量牡蠣酵素分解物の分子量分布 (%)

分子量	牡蠣酵素分解物 (%)	
	LoOE-A	LoOE-N
< 500	65.1	73.7
500-1,000	15.4	17.7
1,000-3,000	15.9	8.7
3,000-10,000	3.3	0.5
10,000 <	0.2	0.1

LoOE-A; 低分子量牡蠣酵素分解物 A, LoOE-N; 低分子量牡蠣酵素分解物 N

LoOE-A は分子量 500 以下の画分を 65% 含み, 3,000 ~ 10,000 の画分を 3% 程度, 分子量 10,000 以上では 0.2% 含有していた。LoOE-N は LoOE-A よりさらに低分子量のものを多く含有し, 分子量 500 以下の画分を 70% 以上含み, 分子量 3,000 ~ 10,000 は 0.5%, 10,000 以上では 0.1% であった。

これら LoOE-A および LoOE-N を凍結乾燥して粉末状にしたものを, たんぱく質レベルで 20% カゼインの 5% と置き換え, 0.5% Chol および 0.125% コール酸ナトリウムを含む AIN-93G 組成に準じて調製した飼料を 5 週齢の SD 系雄ラットに 4 週間自由摂食させた。飼育期間中のラットの摂食量にはすべての群間で差は観察されなかった。LoOE-A および LoOE-N は効果的に血清と肝臓 TG 濃度を低下させた (図 6)。一方, 血清と肝臓 Chol 濃度には影響しなかった。

このように Chol を添加した食餌において, LoOE-A および LoOE-N が TG 低減効果を発揮したが, 次に 20% 食餌たんぱく質の 5% を同様に LoOE-A あるいは LoOE-N で置き換え, これまでの実験における 5% 食餌脂肪量の 3 倍となる 15% 脂肪 (14% ラード + 1% コーン油) を含有する高脂肪食を 5 週齢の SD 系雄ラットに 4 週間自由摂食させた。この実験においてラットの摂食量に群間で差異はなかった。LoOE-A は血清 TG 濃度を変動させなかったが, LoOE-N は TG 濃度を有意に低下させた (図 7)。LoOE-A および LoOE-N は血清 Chol 濃度にはほとんど影響しなかった。LoOE-A および

LoOE-N とともに血清アディポネクチン濃度を変動させなかったが, LoOE-N は血清レプチンおよびインスリン濃度を低下させた。LoOE-A は肝臓 TG 濃度をコントロール群に比べて有意に

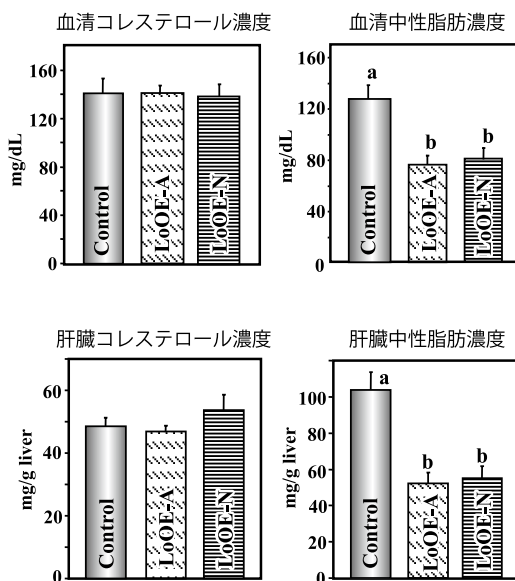


図6 コレステロールを添加した低分子量牡蠣酵素分解物を摂取した SD ラットの血清と肝臓コレステロールおよび中性脂肪濃度

平均 ± 標準誤差 (n = 6). a, b; 異なる文字間に $p < 0.05$ で有意差あり

LoOE-A; 低分子量牡蠣酵素分解物 A, LoOE-N; 低分子量牡蠣酵素分解物 N

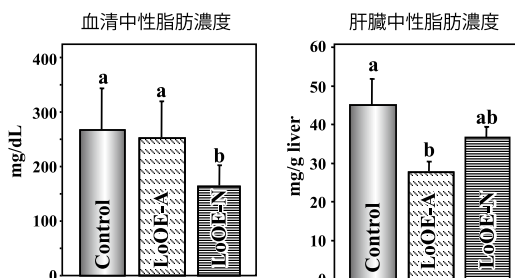


図7 低分子量牡蠣酵素分解物を含む高脂肪食を摂取した SD ラットの血清中性脂肪濃度

平均 ± 標準誤差 (n = 6). a, b; 異なる文字間に $p < 0.05$ で有意差あり. LoOE-A; 低分子量牡蠣酵素分解物 A, LoOE-N; 低分子量牡蠣酵素分解物 N

低下させ、LoOE-N も有意ではないが LoOE-A に近いレベルまで低下させた。肝臓脂肪酸合成酵素活性を測定すると、LoOE-A 摂取で Malic enzyme および G6PDH 活性が低下する傾向を示し、LoOE-N ではこれら酵素活性の低下に加えて FAS 活性も低下する傾向を示した。糞中への脂肪酸の排泄は LoOE-N で増加する傾向を示した。これらの結果から、低分子量酵素分解物は効果的に TG 代謝を改善し、LoOE-A は肝臓での脂肪酸合成の抑制により、LoOE-N は肝臓脂肪酸合成の抑制に加えて糞中への脂肪排泄の亢進により血清と肝臓 TG 濃度低下作用を発現させると推察された。このように、たんぱく質の分解に使用する酵素や反応条件の違いによって生成される分解物は異なり、TG 低下の作用機構も異なることが示唆された。

5. 分子量分布の異なる酵素分解物の機能性の違い

牡蠣の酵素分解において、分子量 10,000 以上の高分子量画分を含む分解物は降 Chol 作用を発揮したが、高分子量画分の含量が少なくなると血清や肝臓 Chol 濃度にはあまり影響しなかった。Sugano ら³⁾ は、分離大豆たんぱく質を微生物プロテアーゼで処理した高分子量画分を多く含むペプチドが、ラットの血清 Chol 濃度低下作用を発揮することを示している。このような効果は、高分子の難消化性ペプチドが胆汁酸と結合することで胆汁酸排泄が促進され、腸管からの Chol 吸収が抑制されることにより発現すると推察している。牡蠣の高分子量画分を含む酵素分解物も高分子量大豆ペプチドと同様に、難消化性ペプチドにより降 Chol 作用を発現している可能性がある。

TG 低下効果については、低分子化した LoOE-A および LoOE-N で認められ、より低分子化した LoOE-N でその効果は強い傾向であった。Tamaru ら⁵⁾ は分離大豆たんぱく質の酵素分解によって生成した低分子量ペプチドが高分

子量ペプチドよりも効果的にラットの血清と肝臓 TG 濃度を低下させることを観察し、分離大豆たんぱく質摂取による TG 濃度低下作用が分離大豆たんぱく質の低分子量ペプチドに起因することを示した。本研究においても、牡蠣の低分子量分解物が TG 濃度低下に関与している可能性が示唆された。今後、牡蠣たんぱく質から TG 低下作用を発現させるペプチドを同定し、分離精製することが可能になれば、これらを用いた機能性食品の開発がさらに進展するものと期待される。

おわりに

著者らはこれまでの一連の研究で、牡蠣が脂質代謝を改善する効果を有することを観察してきたが、その効果の一部が牡蠣たんぱく質の酵素分解物により発揮され、特に TG 低下作用は低分子量分解物により強く引き起こされていることを示した。さらに、牡蠣酵素分解物が、急性および慢性肝障害発症ラットにおいて血清 AST および ALT 値を改善し、その効果は低分子量分解物で強く、肝障害の改善に対しても有用な素材であることが示されている^{8,9)}。

たんぱく質の分解によってペプチドを製造する際に、酵素の選択と反応条件 (pH, 温度, 時間) の設定が重要である。使用する酵素にはそれぞれ至適作用条件があり、効率よく反応する条件を設定することで様々なペプチド標品を製造でき、新規の機能性を発現するペプチド生成も可能であると考えられる。ペプチドは消化・吸収性に優れるばかりでなく、溶解性の向上、乳化性の向上、気泡性の向上、粘度の調整、ミネラルの可溶化、結着性・ゲル化性、熱安定性、抗酸化性など多くの物性を改善する機能を有する⁴⁾ ことから、食品製造において利用価値が高い。牡蠣ペプチドの機能性についてはこれまで必ずしも明らかではなく機能性食品としての利用は限られていたが、本研究の結果から牡蠣および牡蠣酵素分解物がヒトの健康に寄与する機能性食品の新たな素材として利用できる可能性が示唆された。

参考文献

1. Childs MT, Dorsett CS, King IB, *et al.*: Effects of shellfish consumption on lipoproteins in normolipidemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**: 1020-1027, 1990.
2. Iritani N, Fukuda E, Inoguchi K : Influences of oyster or clam feeding on lipid metabolism in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **25**: 205-211, 1979.
3. Sugano M, Goto S, Yamada Y, *et al.*: Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J. Nutr.*, **120**: 977-985, 1990.
4. 有原 圭三:ペプチドの科学,機能性ペプチドの最新応用技術—食品・化粧品・ペットフードへの展開—(有原圭三監修). 東京, シーエムシー出版, 3-11, 2009.
5. Tamaru S, T. Kurayama T, Sakono M, *et al.*: Effects of dietary soybean peptides on hepatic production of ketone bodies and secretion of triglyceride by perfused rat liver. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**: 2451-2457, 2007.
6. Tanaka K, Ikeda I, Kase A, *et al.*: Effects of feeding oyster, *Crassostrea gigas*, on serum and liver lipid levels in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**: 100-106, 2003.
7. Tanaka K, Nishizono S, Kugino K, *et al.*: Effects of dietary oyster extract on lipid metabolism, blood pressure, and blood glucose in SD rats, hypertensive rats, and diabetic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**: 462-470, 2006.
8. 松本 聡, 松本 光代, 高松 史恵 他: 第 63 回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, 128, 2009.
9. 松本 聡, 松本 光代, 中島 智美 他: 第 64 回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, 235, 2010 .

カキ肉エキス摂取の 薬物惹起性疾病に対する予防・改善効果

細見 亮太 (HOSOMI Ryota)¹ 春松 禎 (HARUMATSU Shin)²
福田 卓 (FUKUDA Suguru)² 松田 芳和 (MATSUDA Yoshikazu)²
福永 健治 (FUKUNAGA Kenji)¹ 吉田 宗弘 (YOSHIDA Munehiro)¹

¹ 関西大学 化学生命工学部 食品栄養化学研究室

² 日本クリニック株式会社 中央研究所

Key Words：カキ肉エキス 大腸前癌病変 腎障害 薬剤性障害 タウリン

はじめに

日本全国で貝塚（台所のゴミ捨て場の遺跡）が見つかっており、貝類が縄文・弥生などの先史時代から食料としていたことがうかがえる。理由として貝類の多くの種が浅瀬に生息しており、動きも緩慢なために、魚類と比べると捕獲が容易であることがあげられる¹⁾。また貝塚からカキ殻が出土しないところはほとんどないといつてよく、中にはカキ殻ばかりで構成されている貝塚も少なくない¹⁾。こうした例は、わが国だけではなく世界各地に散在する貝塚でも観察されている。このようにカキは食料として用いてきた歴史は古く、人類の栄養源として重要な役割を果たしてきた。

日本では「桜が散ったら、カキを食べるな」、西洋では「"R" のつかない月はカキを食べるな」という諺がある²⁾。この5月（May）頃から8月（August）頃の間はカキが毒性を示すという

理由ではなく、産卵期にあたり食べてもおいしくないことを意味している。カキの旬はグリコーゲンの蓄積と関係しており、特に1～2月頃が旬となる³⁾。今では、冷凍カキが出回るようになり一年を通して口にすることができるようになった。

カキの薬理作用に関して、東北の三陸地方では「寝汗をかいたら寒の牡蠣を食わせろ」という言葉が伝えられている。寝汗は結核の前兆であり、当時は抗生物質がなかったために治療法がなく、カキが薬として利用されていたことを物語っている⁴⁾。また江戸時代に書かれた「医道日用綱目」にもカキの薬理作用についての記述がある⁵⁾。現代では科学の発達により、カキに含まれる栄養成分やその健康機能について科学的に解明されてきている。しかし、カキは季節により栄養素量が大きく変動することが知られている。そのため、いつでもカキの栄養・健

Corresponding author：細見亮太（Ryota Hosomi）

連絡先：〒564-8680 大阪府吹田市山手町3丁目3-35

関西大学 化学生命工学部 食品化学研究室

E-mail：hryotan@kansai-u.ac.jp

Tel：06-6368-1765 Fax：06-6388-8609

表1 カキと牛乳の栄養素量の比較

	水分 (g)	たんぱく質 (g)	脂質 (g)	炭水化物 (g)	無機質			ビタミン		
					カルシウム (mg)	鉄 (mg)	亜鉛 (mg)	レチノール (μg)	ビタミンB ₁ (mg)	ビタミンB ₂ (mg)
カキ (養殖, 生)	85.0	6.6	1.4	4.7	88	1.9	13.2	22	0.04	0.14
普通牛乳	87.4	3.3	3.8	4.8	110	Tr	0.4	38	0.04	0.15

可食部 100g 中。日本食品標準成分表 2010 参考

健康機能を利用したいという願いから、エキスを抽出した「カキ肉エキス^{*1}」が誕生した。そこで本稿では本研究室で行ってきたカキ肉エキス摂取の生体調節機能に関する研究を中心に紹介する。

1. カキの栄養価

カキには各栄養成分が多く含まれており、またそれらがバランス良く含まれた食品として知られている。これによく似た食品として牛乳があげられるため、「海のミルク」と呼ばれる。表1にカキと牛乳の栄養素量を示した。三大栄養素であるたんぱく質、脂質、炭水化物をバランス良く含み、さらにカルシウム、リン、ヨウ素、鉄、銅などの無機質とビタミンA、B群などを豊富に含んでいる⁶⁾。カキに含まれる炭水化物は主に消化吸収されやすいグリコーゲンであるため、エネルギー源になりやすい特徴がある。また数多くの健康機能が報告されているタウリンを含み、亜鉛を可食部 100 g あたり 13.2 mg と高濃度に含有している⁷⁾。しかし、カキは生物に必須な亜鉛や鉄などの必須微量元素を高濃度に蓄積する一方、カドミウムや鉛などの有害重金属も同時に蓄積してしまう。上述したように栄養素含有量の季節変動があることもあり、安全かつ安定的にカキの栄養・健康機能を利用するためにエキスを抽出し、商品化されている。

カキ肉エキスの抽出方法は、熱水抽出法、酵素分解法、エタノール抽出法など様々ある⁸⁾。

どのカキ肉エキスにおいてもグリコーゲン、タウリンおよびミネラルやビタミンなどの微量栄養素をバランス良く含んでいることが特徴である。とくにカキ肉エキス中に含まれる亜鉛の生体利用性に関する研究は数多くなされており⁹⁾、無機の炭酸亜鉛と比較した場合、ラットの骨に効率よく取り込まれることが明らかにされている¹⁰⁾。また生体への健康機能について、動物やヒト試験において血小板凝集抑制効果が報告されている。そこで本稿では、私たちが行っているカキ肉エキス摂取の生体調節機能、特に薬物により惹起された疾病に対する予防・改善効果に関して報告する。下記に紹介する実験では、マガキ (*Crassostrea gigas*) を熱水抽出法¹¹⁾により調製したカキ肉エキス粉末を使用した。

2. 薬物によって惹起された大腸前癌病変の予防効果¹²⁾

わが国における三大死因は、悪性新生物、心疾患、肺炎の順であり、昭和 56 年以来悪性新生物が第 1 位である¹³⁾。近年の悪性新生物の年齢調整死亡率の推移をみると、男女の胃癌と女性の子宮頸癌の減少がみられ、肺癌、大腸癌、乳癌といった欧米型癌の増加が顕著である。大腸癌は癌死亡順位で肺癌・胃癌に次ぐ第 3 位に位置し、平成 24 年の死亡数は男 2 万 5529 人、女 2 万 1747 人である¹³⁾。大腸癌発生には環境因子の影響が大きく、とくに食生活の欧米化が最大のリスクファクターと考えられている¹⁴⁾。

*1 他にカキエキスという名称も使われている。

そのため大腸癌抑制効果を食品由来成分に求めた研究は多く、食物繊維や野菜、果物といった様々な食品成分について抗癌活性の検討が行われている¹⁵⁾。そこで、ヒトにおいても前癌病変の生物学的指標として臨床応用が進んでいる大腸粘膜に見られる異型腺窩巢 (Aberrant Crypt Foci; ACF) の発生抑制効果を指標に、カキ肉エキスの大腸癌誘導抑制および進展抑制効果を検討した。

試験餌料には対照群用餌料 (AIN93G) に対してカキ肉エキス粉末を 0.2% (OE 0.2% 群)、1.0% (OE 1.0% 群) および 5.0% (OE 5.0% 群) 混合した。A/J マウス (雄性、4 週齢) 40 匹を被験動物とし、1 週間の AIN93G 給餌による予備飼育後、無作為に 4 群 (1 群 10 匹) に分割した。また飼育期間中週 1 回朝 9 時に大腸癌化学誘発

物質である 1,2-ジメチルヒドラジン (DMH, 15 mg/kg 体重)¹⁶⁾ を背部皮下に投与し、6 週間飼育した。飼育開始 1 週から 2 週の間に対照群では 4 匹、OE 0.2% 群では 3 匹、OE 1.0% 群では 2 匹が死亡したため、その後、対照群 6 匹、OE 0.2% 群 7 匹、OE 1.0% 群 8 匹として実験を続けた (実験 1)。また進展抑制効果の検討を行うため、まず週 1 回 DMH (1 週目 5 mg/kg 体重、2 週目 10 mg/kg 体重、3 週目以降 15 mg/kg 体重) を 6 週間、背部に皮下投与した。その後 4 群 (1 群 10 匹) にわけて、6 週間実験餌料を給餌した (実験 2)。飼育期間終了後、エーテル麻酔下で大腸を摘出、切開した。その後冷生理食塩水で十分に洗浄し、濾紙で大腸を貼り付け、中性緩衝 10% ホルマリン溶液で 24 時間固定した。次いで 0.02% メチレンブルーで 3 分

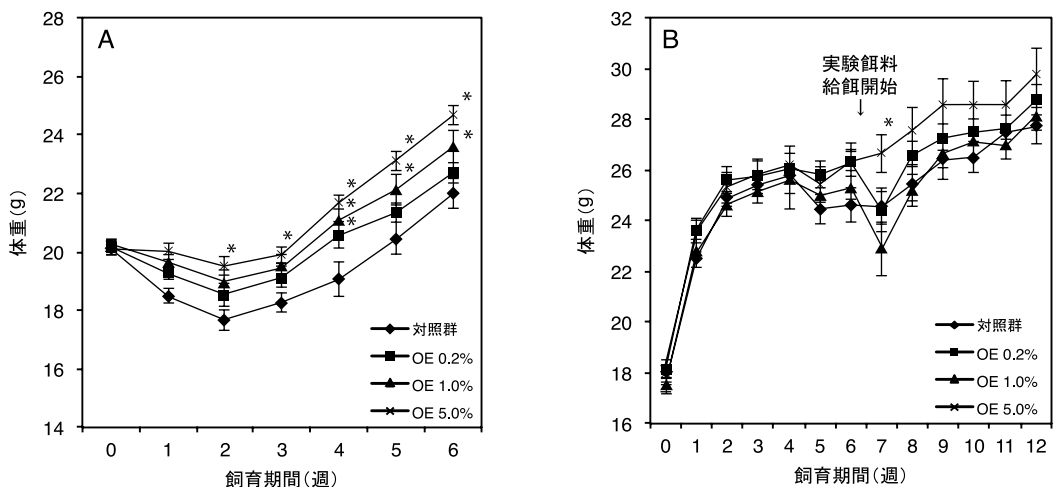


図 1 飼育期間中の体重変化 (A: 実験 1, B: 実験 2)
平均 ± 標準誤差。* 対照群と比較し有意差あり ($p < 0.05$)

表 2 マウスの異型腺窩巢 (ACF) 発生個数に及ぼすカキ肉エキス給餌の影響

	実験 1				実験 2			
	対照群	OE 0.2%	OE 1.0%	OE 5.0%	対照群	OE 0.2%	OE 1.0%	OE 5.0%
ACF-1 Crypts	3.0 ± 0.4	1.8 ± 0.6	2.4 ± 1.1	1.3 ± 0.4*	1.0 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.6 ± 0.3
ACF-2 Crypts	1.3 ± 0.6	0.6 ± 0.3	1.4 ± 0.3	0.5 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.5	1.9 ± 0.5
ACF-3 Crypts	1.5 ± 0.6	0.5 ± 0.3	1.3 ± 0.4	0.4 ± 0.2*	0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.4	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.3
ACF-4 以上 Crypts	10.5 ± 0.3	6.9 ± 0.6*	6.9 ± 0.6*	3.0 ± 0.6*	4.6 ± 0.5	5.7 ± 0.5	4.9 ± 0.5	4.3 ± 0.5
総 ACF	16.3 ± 1.4	9.8 ± 2.2*	12.0 ± 1.0	5.2 ± 0.8*	7.1 ± 0.6	9.7 ± 0.7	7.6 ± 0.6	8.5 ± 0.4

平均 ± 標準誤差。* 対照群と比較し有意差あり ($p < 0.05$)

間染色し、実体顕微鏡（×40）で ACF 数を計測し、ACF あたりの異型腺窩（Crypt）数 1 個、2 個、3 個、4 個以上に分類した。

図 1 に本飼育期間中の各群の体重変化、表 2 にマウス 1 匹あたりの総 ACF および ACF を Crypt 数毎に分類して示した。実験 1 において DMH 投与開始 1 週目から 2 週目の間に 10%～15%の体重の減少が観察され、その後体重は増加した。餌料中のカキ肉エキスの置換割合が高い群ほど体重の減少は軽微であった。また、飼育開始 1 週目から 2 週目の間に対照群では 4 匹、OE 0.2%群では 3 匹、OE 1.0%群では 2 匹の死亡が確認されたが、OE 5.0%群では死亡例はみられなかった。ACF についてみると、カキ肉エキス給餌群において ACF4 個以上の数の有意な減少がみられ、とくに OE 5.0%群では、顕著な ACF4 個以上および総 ACF 数の減少が確認された。DMH による ACF 誘発と同時にカキ肉エキス給餌を行った実験 1 において、カキ肉エキスの給餌は飼育期間中の体重、死亡数および ACF 数の減少が確認された。このことから DMH による急性毒性発現の抑制作用、すなわち肝臓における DMH 解毒の促進が考えられる。

実験 2 においては実験餌料投与開始時（7 週目）に体重の差が確認されたが、その週以外では各群とも体重変化は確認されなかった。また各群とも Crypt 数 1, 2, 3, 4 以上および総 ACF 数について有意な差はなかった。DMH による ACF 誘発後、カキ肉エキス給餌を開始した実験 2 においては、カキ肉エキス給餌によっていずれの項目にも変化がみられなかったことから、ACF の進展抑制作用はないと考えられる。

以上の結果から、カキ肉エキスの給餌は大腸前癌病変である ACF 発症後の進展抑制効果は期待できないが、DMH 投与の急性毒性発現抑制作用による発癌物質のイニシエーション作用を抑制する効果が示唆された。カキ肉エキスを日常的に摂取することで、発癌物質の解毒による抗癌作用が期待できると考えられる。

3. 薬物惹起性腎障害からの回復促進効果¹⁷⁾

日本腎臓学会の発表では、わが国の慢性腎臓病（CKD）患者数は、約 1330 万人に達していると報告されている¹⁸⁾。CKD 発症にはエネルギー・食塩の過剰摂取、運動不足、飲酒、喫煙、ストレスなどの生活習慣が発症・進展に関与している。末期透析療法に至る前の早い段階において心血管イベントを起こす可能性が高いことが示されており、早期からの糖尿病・メタボリックシンドロームに伴う CKD に対する医療介入が必要とされている。そのために CKD を予防する機能をもつ食品成分の発掘・開発が期待されている。そこで、*p*-アミノフェノール（PAP）投与によって惹起された腎障害に対するカキ肉エキス給餌の影響を検討した。

試験餌料には対照（C 群）用の AIN93G をもとに、カキ肉エキスが 1.0%（w/w）含有するように調製した（OE 群）。F344/NS1c ラット（雄性、3 週齢）を C 群と OE 群の 2 群、12 匹ずつ分け、体重が 200 g に達するまで飼育した。解剖 4 日前から代謝ゲージに入れ、24 時間ごとに尿を全量採取した。解剖 2 日前に各群の半数に PAP（0.5 mmol/kg 体重）を腹腔内に投与し、それぞれ C+PAP 群および OE+PAP 群とした。飼育期間終了後、採血および腎臓の摘出を行った。尿については、腎組織障害指標である *N*-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ（NAG）活性と腎機能指標であるクレアチニン（Cre）濃度を測定した。病理検査は、摘出した腎臓を中性緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、ヘマトキシリン・エオジン染色し病理切片を作成した。その後、光学顕微鏡（40 倍）にて観察し、腎障害の度合いを数値化した。

飼育期間中の体重変化、餌料および水分摂取量に差はみられなかった。図 2 に PAP 投与前後 2 日間の尿量、尿 Cre 値および NAG 活性値を示した。PAP 投与によって尿量および NAG 値はともに急激に上昇し、一方 Cre 値は減少した。このことから PAP 投与により急性腎障害が発症したと考えられる。C+PAP 群と比較し、

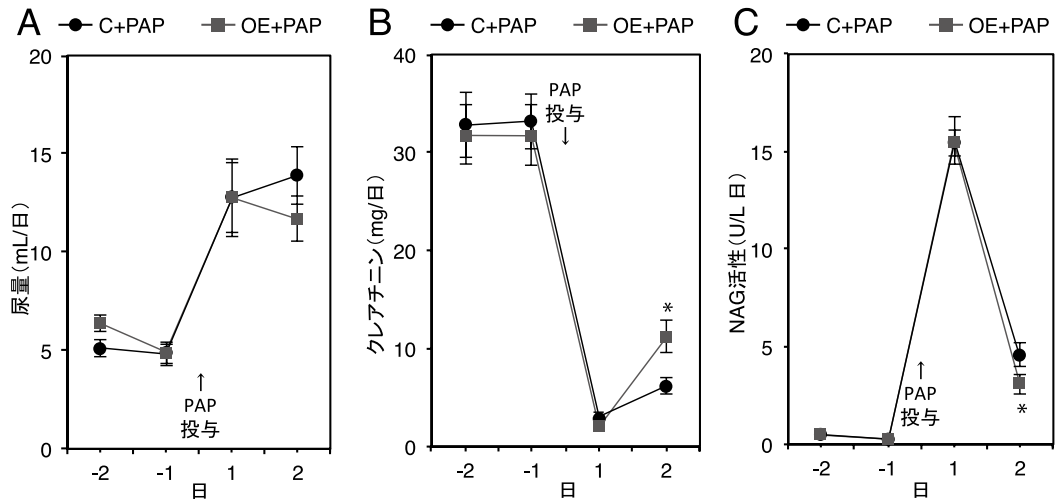


図2 PAP投与マウスの尿量 (A)、尿クレアチニン濃度 (B) および尿 NAG 活性 (C) に及ぼすカキ肉エキス給餌の影響

平均±標準誤差。*対照群と比較し有意差あり ($p < 0.05$)

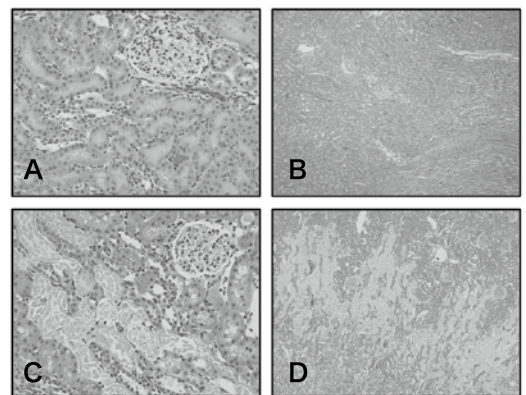
表3 腎臓組織切片の病理検査結果

	中間帯領域 尿細管壊死	中間帯領域尿細管 好塩基性変化	尿細管上皮の 核分裂像	尿細管上皮 空胞変性	腎動脈・弓状動脈 空胞変性
C 群	0 ^a	0 ^a	0.7 ± 0.3 ^a	0 ^a	0.3 ± 0.2 ^a
OE 群	0 ^a	0 ^a	0.7 ± 0.4 ^a	0 ^a	0.3 ± 0.2 ^a
C+PAP 群	3.2 ± 0.5 ^b	2.3 ± 0.3 ^b	2.7 ± 0.3 ^b	2.3 ± 0.5 ^c	0.8 ± 0.3 ^b
OE+PAP 群	2.5 ± 0.8 ^b	2.8 ± 0.7 ^b	1.0 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.2 ^b	0.8 ± 0.4 ^b

平均 ± 標準誤差。Grade 0：なし 1：軽微 2：軽度 3：中等度 4：高度
異なるアルファベット間で有意差あり ($p < 0.05$)

OE+PAP 群において尿量，Cre および NAG 値の正常値への回復促進効果がみられた。

図3のAとBは正常ラット（PAP非投与），CとDはPAP投与したラットの腎臓病理切片画像を示した。PAP投与によって尿細管壊死と塩基性変化（図3C），尿細管上皮空胞変性と核分裂がみられた（図3D）。表3に病理組織学的所見の結果を示した。PAPの投与により，尿細管壊死，尿細管上皮空胞変性，尿細管上皮好塩基性変化，尿細管上皮核分裂像，動脈空胞変性の度合いは高くなった。カキ肉エキス給餌群で，尿細管上皮核分裂像および尿細管上皮空胞変性度合いの有意な低下がみられた。PAPは腎臓のたんぱく質などに結合することで細胞を



組織染色：ヘマトキシリン・エオジン染色

図3 正常およびPAP投与ラットの腎臓組織切片画像

破壊し強い腎毒性を示し、その解毒にはグルタチオン (GSH) が関係している¹⁹⁾。これまでにカキ肉エキス給餌によって腎臓中の総 GSH 濃度増加²⁰⁾、アセトアミノフェン投与による肝障害モデルでの肝臓中総 GSH 濃度が増加するという報告²¹⁾がなされている。本実験でみられた効果はカキ肉エキス摂取による腎臓中 GSH 濃度増加が関係していると考えている。

以上の結果から PAP 投与により惹起された腎障害ラットにおいて、カキ肉エキス給餌は急性腎障害からの回復促進効果がみられ、また尿細管上皮細胞の障害を軽度にする効果がみられた。

おわりに

参考文献

1. 土屋 靖彦：水産化学。東京，恒星社厚生閣，1955.
2. 畑江 敬子：さしみの科学－おいしさのひみつ－。東京，成山堂書店，2005.
3. 荒川 好満，山崎 妙子：牡蠣－その知識と調理の実際－。東京，柴田書店，1977.
4. 畠山 重篤：牡蠣礼賛。東京，文藝春秋，2006.
5. 養老 孟司：日本のリアル 農業，漁業，林業，そして食卓を語り合う。京都，PHP 研究所，2012.
6. 山本 保彦：現代おさかな事典－漁場から食卓まで。東京，NTS，1997.
7. 文部科学省科学技術学術審議会資源調査分科会：日本食品標準成分表 2010。東京，全国官報販売協同組合，2010.
8. 安部 麻美子，松田 芳和，小邨 奈未，他：カキ肉エキスを投与したラットの血清亜鉛濃度の変化。微量栄養素研究 **27**: 56-59, 2010.
9. 松田 芳和：牡蠣亜鉛の性質とその栄養有効性。ミネラルの科学と最新応用技術（糸川嘉則）。東京，シーエムシー出版，124-135, 2008.
10. 吉田 宗弘，平田 登，木谷 祥子，他：牡蠣から調製した亜鉛濃縮物の性質。微量栄養素研究 **19**: 43-46, 2002.
11. 特許第 1770901 号。かき肉エキス製法特許 I
12. 細見 亮太，松田 芳和，石丸 綾子，他：マウス大腸前癌病変の発現におよぼすカキ肉エキス給餌の影響。微量栄養素研究 **24**: 71-75, 2007.
13. 厚生労働統計協会：国民衛生の動向 2014/2015。東京，厚生労働統計協会，2014.
14. 日本がん疫学研究会がん予防指針検討委員会：生活習慣と主要部位のがん－世界がん研究基金 / 米国人がん研究協会：「食事・栄養とがん予防」の日本人への適用性－。福岡，九州大学出版会，1998.
15. Coleman LJ, Landstrom EK, Royle PJ, *et al*: A diet containing alpha-cellulose and fish oil reduces aberrant crypt foci formation and modulates other possible markers for colon cancer risk in azoxymethane-treated rats. *J Nutr.* **132**: 2312-2318, 2002.
16. McLellan E, Bird RP: Effect of disulfiram on 1,2-dimethylhydrazine- and azoxymethane-induced aberrant crypt foci. *Carcinogenesis*. **12**: 969-972, 1991.
17. Hosomi R, Matsuda Y, Watanabe Y, *et al*: Effect of Dietary Oyster Extract on the *p*-aminophenol-induced Nephrotoxicity in Rats. *Trace Nutrients Research*. **25**: 91-95, 2008.
18. 日本腎臓学会：CKD 診療ガイド 2012。東京，東京医学社，2012.
19. Crowe CA, Yong AC, Calder IC, *et al*: The nephrotoxicity of *p*-aminophenol. I. The effect on microsomal cytochromes, glutathione and covalent binding in kidney and liver. *Chem Biol Interact*. **27**: 235-243, 1979.
20. 福田 卓，春松 模，松井 博之，他：かき肉エキスによるラット海馬中総グルタチオン増強効果。微量栄養素研究 **29**: 106-109, 2012.
21. 春松 模，福田 卓，松井 博之，他：かき肉エキスのアセトアミノフェンによる肝障害抑制作用の検討。微量栄養素研究 **30**: 41-43, 2013.

カキ肉エキス給餌による健康機能について内外の研究者から多く報告されているが、機能成分の特定に関する報告はほとんどされていない。一番有力として考えられているのがカキ肉エキス中に含まれるタウリンであるが、トリメチルグリシンや含硫アミノ酸，ミネラル・ビタミンなどの微量栄養素が関与している可能性は否定できない。今後さらなる研究を進め、特定の成分のみの効果であるのか，また多成分が相加的もしくは相乗的に効果を発揮しているかを明らかにしたい。さらに，これまで行われている研究のほとんどが動物実験レベルでの検証であるため，実際にヒトでの効果検証を行い，食料として歴史の深い「カキ」の健康機能に迫りたい。

まるごと濃縮かきエキス™による皮膚機能低下の改善 およびアルコール吸収抑制作用

佐藤 敬 (SATO Kei) 友澤 寛 (TOMOZAWA Hiroshi) 北村 整一 (KITAMURA Seiichi)
鏑田 仁人 (TSUBATA Masahito) 山口 和也 (YAMAGUCHI Kazuya)

株式会社東洋新薬

Key Words：低タンパク質食 皮膚老化 アルコール吸収

要旨

女性にとって永遠のテーマである美容に対して、タンパク質摂取低下と老化、アルコール摂取に及ぼす影響に着目し、『まるごと濃縮かきエキス™ (WOE)』の美容に対する有用性について評価した。低タンパク質食を摂取させ、皮膚機能が低下したマウスに WOE を摂取させたところ角層水分量、皮膚菲薄化（ひはくか）の抑制が認められた。さらに、アルコール負荷を行ったラットに対し、WOE を摂取させたところ、消化管におけるアルコール吸収を抑制した。本研究により、まるごと濃縮かきエキス™ は皮膚機能を改善し、美容促進に有効であることが示唆された。

はじめに

女性にとって、肌のハリ・潤い・弾力を改善および維持することは永遠のテーマといえる。我々は、それらに影響する因子として食生活との関係性に着目している。例えば、タンパク質は体を構成する最も重要な物質だが、近年、日本人のタンパク質摂取量は低下し、高齢者に至っては健康維持に必要な量を摂取できていないことが報告されている¹⁾。タンパク質摂取量の低下は、骨格筋や肝臓機能など多くの組織で機能低下を及ぼすだけでなく、皮膚に対する悪影響も知られている。実験動物に低タンパク質食を数週間摂取させると、皮膚のコラーゲン合成能が低下し、角層水分量、弾力の低下が生じることが報告されており、タンパク質摂取量の低下は皮膚の機能低下の要因になると考えられる²⁾。上記のようなタンパク質摂取量の低下による皮膚機能の低下は、加齢による皮膚老化と

類似しているため、タンパク質摂取低下が、皮膚の老化現象に直結することが示唆されている³⁾。また、飲酒（アルコール摂取）も皮膚に悪影響を及ぼす。飲酒は、一般的には肝機能低下やメタボリックシンドロームの危険因子とされているが、アルコールの過剰摂取はアルコールの皮膚への蓄積を誘導し、皮膚抗酸化機能の低下、日焼けリスクが増大することが報告されている^{4,5)}。さらに、皮膚免疫系、皮膚バリア機能の破綻なども報告され、美容に対する飲酒の影響が明らかとなっている。

このタンパク質摂取低下や飲酒による皮膚への影響についての研究を進めるにあたり、我々は牡蠣を題材として取り上げた。牡蠣はイタボガキ科に属する二枚貝の総称で、海の岩から「かきおとす」ことから「牡蠣（カキ）」という名がついたといわれる。また「海のミルク」と呼ばれており、タンパク質をはじめ、グリコー

ゲン、ビタミン、タウリンや亜鉛などが豊富なことから、栄養豊富な食材として親しまれている。また、牡蠣の貝殻であるボレイは、生薬として収斂薬、鎮静剤、カルシウム分補給の目的で用いられ、漢方でも牡蠣沢瀉湯などとして利用されている。牡蠣のむき身についても、抗疲労作用をはじめとして抗酸化作用、免疫賦活化作用、脂質代謝改善作用など様々な作用が報告され、その有用性が明らかとなっている。牡蠣はその機能性や栄養素が豊富に含まれていることから、食品としてだけでなく、滋養強壮効果のイメージが強い素材としても知られている。しかし、美容に対する作用はほとんど知られていない。

そこで我々は、広島産牡蠣（マガキ；*Crassostrea gigas*）のむき身を高圧下で酵素分解した『まると濃縮かきエキスTM』（以下 WOE）を作製し、美容に対する有効性を評価した。

1. まると濃縮かきエキスTMの概要

牡蠣（マガキ；*Crassostrea gigas*）のむき身を酵素分解した WOE は、タンパク質 35.5 g/100 g、脂質 7.3 g/100 g、炭水化物 50.6 g/100 g、ミネラル 1.7 g/100 g である。また、亜鉛に関しては酵素処理を行わない製法と比較して、15.2 mg/100 g から 23.17 mg/100 g と増加しており、牡蠣の成分をさらに多く含有させることに成功した。

このような牡蠣エキスを用いて、皮膚への有効性を確認するため、低タンパク質食を摂取させ、皮膚機能を低下させたマウスへの影響を、さらにアルコール負荷を行ったラットに対する影響を確認した。

2. 材料および方法

2-1. 低タンパク質誘導皮膚老化モデル作製

雄性 HR-1 マウス（7 週齢）に通常食（ノーマル群）、タンパク質を 10 分の 1 に調製した低タンパク質食（コントロール群）あるいは、低タンパク質食に 5% もしくは 10% の WOE（WOE

5% 群、WOE 10% 群）を加え、28 日間摂取させた。試験開始 0、28 日目に背部皮膚の角層水分量を測定した。試験開始 28 日目の角層水分量測定終了後に背部皮膚を採取して、ヘマトキシリン・エオジン染色した標本から皮膚厚を測定した。また、採取した皮膚を用いて、皮膚中のヒドロキシプロリン量を測定した。

2-2. アルコール負荷モデル作製

<試験 1：被験物質単回投与>

雄性 Wistar ラット（6 週齢）に WOE、また比較対照として消酒や肝機能改善作用があると言われるウコンエキス（クルクミノイド 95% 以上含有）、シジミエキス（シジミの煮汁濃縮エキス）の各被験物質懸濁液を 1000 mg/kg にて強制経口投与し、30 分後に 50%（v/v）エタノール（EtOH）水溶液を 5.06 mL/kg（EtOH として 2 g/kg）にて強制経口投与した。EtOH 投与前（0）、投与 0.5、1、2、4、6 時間後に尾静脈より採血し、血漿を採取後、血中 EtOH 濃度を測定した。

<試験 2：被験物質反復投与>

雄性 Wistar ラット（8 週齢）に各被験物質懸濁液を 1000 mg/kg にて 1 日 1 回、7 日間連続で強制経口投与した。7 日目に、各被験物質および 2 g/kg の EtOH 水溶液を強制経口投与し、EtOH 投与前（0）、投与 0.5、1、2、4、6 時間後の血中 EtOH 濃度を測定した。投与 6 時間後の採血終了後に肝臓を採取し、ホモジナイズ後、アルコール分解酵素（ADH）およびアセトアルデヒド分解酵素（ALDH）活性を測定した。

<試験 3：エタノール腹腔内投与>

雄性 Wistar ラット（6 週齢）に 2 g/kg の EtOH 水溶液を腹腔内投与した。各被験物質は EtOH 投与 30 分前に 1000 mg/kg にて強制経口投与した。EtOH 投与前（0）、投与 0.25、0.5、1、2、4 時間後の血中 EtOH 濃度を測定した。

3. 結果

3-1. 低タンパク質誘導皮膚老化モデル

①角層水分量

28 日目の角層水分量変化値を図 1 に示す。

コントロール群と比較して、ノーマル群および WOE 5%, 10% 群において、28 日目で角層水分量変化値が有意に増加した。

②皮膚厚

解剖時（28 日目）の皮膚厚を図 2 に示す。表皮厚について、コントロール群と比較して、WOE10% 群で皮膚厚が有意に増加した。

③皮膚中ハイドロキシプロリン量

解剖時（28 日目）の皮膚中ハイドロキシプロ

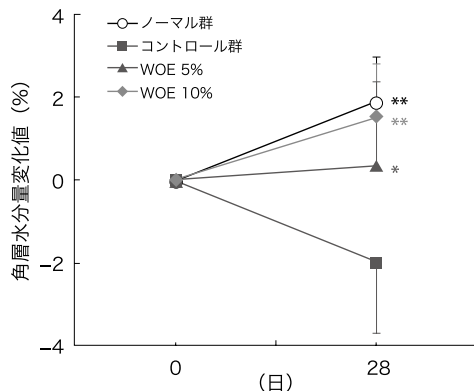


図 1 角層水分量の変化値

通常食または低タンパク質食摂取 0, 28 日目の角層水分量の変化値を示す。平均値±SD. n=8. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs コントロール群. WOE: まると濃縮かきエキス™.

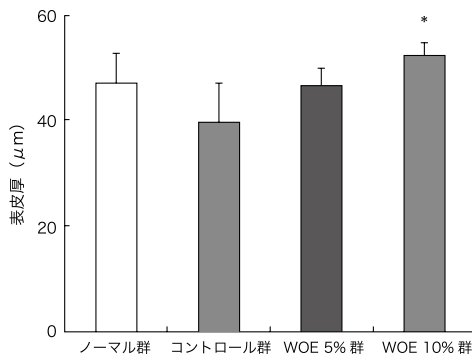
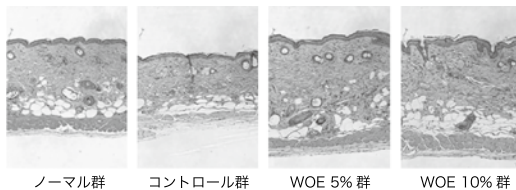


図 2 表皮厚の変化

通常食または低タンパク質食摂取 28 日目の皮膚厚を示す。平均値±SD. n=3-4. * $p<0.05$ vs コントロール群.

ロリン量を図 3 に示す。コントロール群と比較して、WOE5%, 10% 群で皮膚中ハイドロキシプロリン量が有意に増加した。

3-2. アルコール負荷モデル

<試験 1: 被験物質単回投与>

血中 EtOH 濃度推移を図 4 に示す。WOE 群で、投与 2, 4 時間後にコントロール群と比較して有意な低下がみられた。ウコンエキス群で、投与 1 時間後にコントロール群と比較して有意な低下がみられた。シジミエキス群で、投与 4, 6 時間後にコントロール群と比較して有意な低下がみられた。

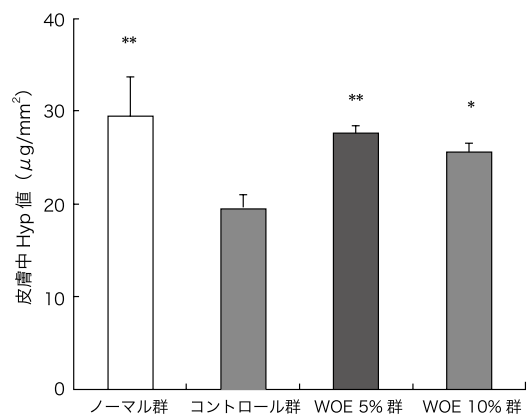


図 3 皮膚中ハイドロキシプロリン量の変化

通常食または低タンパク質食摂取 28 日目の皮膚中ハイドロキシプロリン量の変化を示す。平均値±SD. n=3-4. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs コントロール群.

Hyp: ハイドロキシプロリン

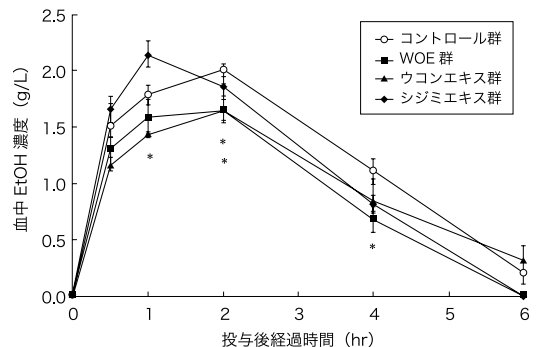


図 4 被験物質単回投与後の血中エタノール濃度の推移

平均値±SD. n=4. * $p<0.05$ vs コントロール群.

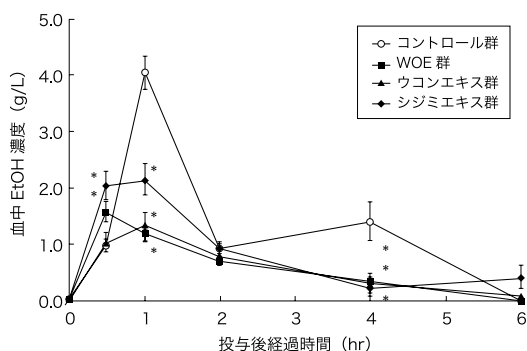


図5 被験物質反復投与後の血中エタノール濃度の推移

平均値±SD. n=6. * $p < 0.05$ vs コントロール群.

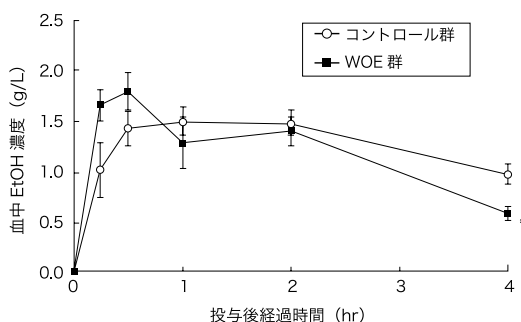


図7 エタノール腹腔内投与後の血中エタノール濃度推移

平均値±SD. n=6. * $p < 0.05$ vs コントロール群.

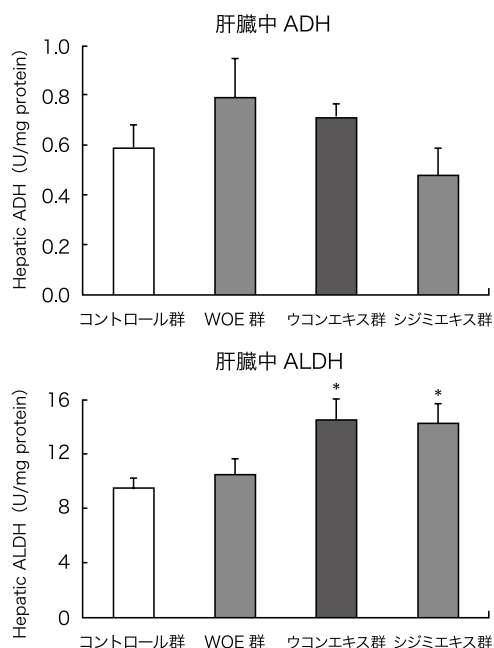


図6 肝臓中 ADH, ALDH 活性の変化

平均値±SD. n=6. * $p < 0.05$ vs コントロール群.

<試験2：被験物質反復投与>

①血中 EtOH 濃度

血中 EtOH 濃度推移を図5に示す。WOE 群で、投与 0.5 時間後にコントロール群と比較して有意な増加、投与 1, 4 時間後に有意な低下がみられた。ウコンエキス群で、投与 1, 4 時間後にコントロール群と比較して有意な低下がみられた。シジミエキス群で、投与 1, 6 時間後にコントロール群と比較して有意な増加、投与 1,

4 時間後に有意な低下がみられた。

②肝臓中 ADH 活性, 肝臓中 ALDH 活性

肝臓中 ADH 活性および ALDH 活性を図6に示す。すべての群でコントロール群と比較して有意な差はみられなかった。ALDH 活性はウコンエキス群およびシジミエキス群でコントロール群と比較して有意な活性の上昇がみられた。

<試験3：エタノール腹腔内投与>

血中 EtOH 濃度推移を図7に示す。WOE 群で、投与 4 時間後にコントロール群と比較して有意な低下がみられたが、図4でみられた WOE 投与による血中 EtOH 濃度上昇抑制作用は認められなかった。

4. まとめ

本試験では低タンパク質摂取状態やアルコール摂取に対する『まると濃縮かきエキスTM』の有用性を示した。

低タンパク質食は表皮細胞の増殖、代謝を抑制し、コラーゲンを中心とした細胞外マトリックスの合成能低下を生じさせ、最終的に皮膚機能の低下を誘導する。このコラーゲン合成能の低下は、老化による減少と同様であることが知られ、低タンパク質食負荷モデルは、よく皮膚の老化モデルとして使用されている^{2,3)}。本試験においても、低タンパク質食により皮膚のコラーゲン合成の低下が誘導され、皮膚の保水力の低下、菲薄化^{ひはくか}を誘導し、それに伴い皮膚の老

化現象を生じさせた。また、WOEを摂取することで、低タンパク質食負荷による角層水分量および皮膚中コラーゲン量の減少と表皮の菲薄化を抑制し、皮膚の老化現象を抑制する作用を確認することができた。本試験で用いたWOEは高圧下で酵素分解をしているため、牡蠣に含まれるタンパク質がより小さいペプチドもしくはアミノ酸にまで分解され、消化管から吸収されやすくなっていると考えられ、WOEを摂取することで皮膚へアミノ酸を供給しやすくなったことが予想された。

さらに、WOEはアルコールの消化管での吸収を抑制した。アルコールは摂取すると皮膚に蓄積し、ベータカロテンなど抗酸化物質を減少させ、UVに対する抵抗力を低下させることがすでに報告されている^{4,5)}。さらに、アルコールの摂取により表皮の制御系T細胞の減少が生じ、表皮バリア機能の低下など、皮膚に対する悪影響が起こることが数多く報告されている⁶⁾。アルコール代謝は主に肝臓および消化管が担っており、アルコール摂取後の皮膚のダメージを防ぐために、肝臓、消化管でのアルコール代謝を賦活化する素材の開発が必要である。そこで、我々が開発した『まるごと濃縮かきエキス™』を用いてアルコール代謝に対する有効性を検討した。WOEの単回投与および反復投与の試験ではエタノール濃度上昇の抑制が確認された。単回投与の場合、WOEは、シジミエキスよりも強く、ウコンエキスと同等の抑制作用を示した。反復投与の場合も同様にWOEはシジミエキスよりもやや強くウコンエキスと同等の抑制作用を示した。一方で、ウコンエキス、シジミエキスで見られた肝臓中ALDH活性上昇は、WOE投与群では見られなかった。また、WOEは、エタノール経口投与後に見られた血中エタノール濃度上昇抑制は、腹腔内投与後の場合にはその抑制効果を示さなかった。これらの結果

から、WOEは肝臓でのエタノール代謝を亢進させるのではなく、消化管におけるエタノール吸収を抑制していることが示唆された。田中らの報告によると、システイン亜鉛錯体が小腸におけるエタノール代謝を亢進する⁷⁾。牡蠣は亜鉛を多く含む食品で、含まれている亜鉛は通常タンパク質と結合して存在していると考えられている⁸⁾。本試験で用いられたWOEは酵素分解を施しているため、アミノ酸のような小さい分子に亜鉛が結合し、小腸でのアルコール代謝を亢進させたことが考えられる。

以上のことから、『まるごと濃縮かきエキス™』は皮膚の水分量およびコラーゲン量を増加させ、皮膚菲薄化抑制、皮膚機能の老化現象を抑制し、美容促進に有効であることが示唆された。さらに、皮膚に悪影響を与える飲酒に関しても、『まるごと濃縮かきエキス™』は腸管でのアルコール吸収を抑制し、血中アルコール濃度上昇を抑制することが明らかとなった。アルコールに対する肝機能改善を訴求する食品素材としては、本試験にて用いたウコンエキスやシジミエキスなどがあげられる。『まるごと濃縮かきエキス™』はそのウコンエキスやシジミエキスと違うメカニズムを示したことは、今後これらの食品素材との差別化や併用による相乗作用などが考えられる。また、肝機能の市場は比較的男性に受け入れられやすい市場だが、女性の需要も期待される。特に40代、50代女性は週3回以上飲酒している割合が約2割と、その頻度が高いことが報告されている⁹⁾。アルコールを日常的に摂取している女性がいる中で、美容の効果を有しながらアルコールに対する効果も期待できる『まるごと濃縮かきエキス™』は、女性の美容を訴求する商品開発の一助になり得ると考えているため、我々は美容を中心とした『まるごと濃縮かきエキス™』の機能性を今後も追求していく。

参考文献

1. 厚生労働省「国民栄養・健康調査」
2. Akihiko SUGIYAMA, Yuka FUJITA, Toshihiro KOBAYASHI, *et al.*: Effect of protein malnutrition on the skin epidermis of hairless mice. *J Vet Med Sci.* **73**(6): 831–835. 2011.
3. Yaninei Li, Takahiro Sato, Koichi METORI, *et al.*: The promoting effects of geniposidic acid and aucubin in *Eucommia ulmoides* Oliver leaves on collagen synthesis. *Biol Pharm Bull.* **21**(12):1306–10. 1998.
4. Nancy P. Barnett, E.B. Meade, Tiffany R. Glynn, *et al.*: Predictors of detection of alcohol use episodes using a transdermal alcohol sensor. *Exp Clin Psychopharmacol.* **22**(1): 86–96.2014.
5. Darvin M.E, Sterry W, Lademann J, *et al.*: Alcohol consumption decreases the protection efficiency of the antioxidant network and increases the risk of sunburn in human skin. *Skin Pharmacol Physiol.* **26**:45–51. 2012.
6. Corey P. Parlet, Thomas J. Waldschmidt, and Annette J. Schlueter.: Chronic Ethanol Feeding Induces Subset Loss and Hyporesponsiveness in Skin T Cells. *Alcohol Clin Exp Res.* **38**(5): 1356–1364. 2014.
7. 田中 政充, 夏木 令子: 亜鉛錯体のマウス消化管からのエタノール吸収に対する阻害効果とその機構. *Folia Pharmacol. Jpn.* **111**: 327–336. 1998.
8. 吉田 宗弘, 平田 登, 木谷 祥子 他: 牡蠣から調製した亜鉛濃縮物の性質, 微量栄養素研究 第10集. 2002.
9. 平成22年国民健康・栄養調査報告.

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

ニューフードインダストリー 第57巻 第10号

印刷 平成27年 9月25日
発行 平成27年 10月 1日
発行人 平井 朋美
編集人 結城 ななみ
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 モリモト印刷株式会社
定価 本体2,000円 + 税 (送料100円)

email:newfood@newfoodindustry.com