

食品加工および資材の新知識

New Food Industry

New food indust. 60 (10): 2018.

10

- リン脂質を標的分子とする創食基礎研究の動向
- Identification of evodiamine in the microalga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae)
- ホワイトソルガムパンの加工性と嗜好性向上の検討—
- 沿岸（里海）環境からの乳酸菌および酵母の分離と応用
- 解説 機能性食品素材としてのシソエキス
- 新連載 漢方の効能



食を通じて
健康と豊かな
食生活を提供

自然のパワーを食品加工に生かす

理研ビタミンが提供する食品加工用素材は、ビタミン、乳化剤、機能性油脂、甘味料、着色料、調味料など食品加工時に求められるほとんどの分野をカバーしています。これらの製品は、自然の食品素材に含まれる成分を当社独自の技術で抽出・加工したものです（一部の製品を除く）。安全性と合理性が求められる加工食品用製品に対し一貫してこのポリシーを貫き、トレーサビリティやコンプライアンスに取り組んでいます。



理研ビタミン株式会社

<http://www.rikenshin.jp/>

東京/第一部 TEL 03-5275-5136 東京/第二部 TEL 03-5275-5137 大阪/第三部 TEL 06-6282-6576

酸化防止剤

B H A
B H T
サステン乳液A
サステン乳液T

Sustane



日揮エニバーサル株式会社

触媒化成品営業部 / 東京都品川区大崎 1-6-3 日精ビル
電話 (03) 5436-8470 FAX (03) 3493-9125

自然の力で健康を

天然物から抽出・精製した多彩な製品

新製品

オレアノール55 (オレアノール酸55%)

ツバメの巣エキス (N-アセチルノイラミン酸1.7%)

- ブルーベリーエキス
- カシスエキス (Cassinol®)
- イチョウエキス (国産葉使用)
- イソフラボン (20%~80%)
- 茶抽出物
- グリーンイボスエキス (アスパラチン含量20%以上)
- アメリカンジンセンエキス (総ジンセノシド15%以上)
- 鉄クロロフィリンナトリウム
- DHA (22%~70%)
- EPA (18%~70%)
- γ-リノレン酸 (月見草油)

**弊社独自の製品を健康食品、一般食品など
あらゆる商品企画にお役立て下さい。**



タマ生化学株式会社

本社 東京都新宿区西新宿1-23-3 〒160-0023
Tel (03) 5321-6051 Fax (03) 5321-6055

北海道ポテトたん白から生まれた調味料

アレルギーフリー

non-GMO

産地限定

機能性

低塩

ポテミック

低塩タイプの
天然マルチアミノ酸

ポテミック P-70

HVP複合調味料

ポテ味

ポテトたん白を酵素処理した
ポテトペプチド

 **コスモ食品株式会社**

本社：〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町12番2号
TEL 03-3249-0390 FAX 03-3666-2165

URL ▶ <http://www.cosmo-foods.co.jp/>

E-mail ▶ headoffice@cosmo-foods.co.jp

New Food Industry 食品学術誌のご案内

◆この雑誌についてのお問合せ◆
TEL :042-312-0836

エヌエフアイ合同会社 検索

New Food Industry とは

月刊「New Food Industry」誌は、1959（昭和 34）年に創刊以来、食品業界の発展を目指す斯界の研究者ならびに教育機関の先生方などのご助言、ご協力をいただきながら60年の歴史を歩んで参りました。これまで途絶えることなく60年間に亘り発行を続けられたことは、我が国の食品業界における学術誌としては稀有の存在であり、今日の食品業界の発展に少なからず寄与しているものと自負しております。

年間購読料

雑誌コード：89591

前払い：1冊 2,160円（税込）×12ヵ月 10%割引 23,328円

送料【100円】×12ヵ月 1,200円 合計：24,528円

後払い：定価

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

総説

- リン脂質を標的分子とする創食基礎研究の動向
..... 日高 麻由美, 堤 敏彦, 近藤 慎一, 徳村 彰 1

- Identification of evodiamine in the microalga
Dunaliella tertiolecta (Chlorophyceae)
..... 榎 節子, 堤内 要, 山口 裕司, 山下 均, 竹中 裕行 13

- ホワイトソルガムパンの加工性と嗜好性向上の検討
..... 石井 和美, 小林 三智子 19

- 沿岸（里海）環境からの乳酸菌および酵母の分離と応用
..... 久田 孝 26

連載

- デンマーク通信 デンマークのサラダ
..... Naoko Ryde Nishioka 36

- 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —
ジャノヒゲ *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker Gawl. (ユリ科 Liliaceae)
[APG 分類体系: キジカクシ科 (クサスギカズラ科) Asparagaceae]
..... 白瀧 義明 38

解 説

■ 機能性食品素材としてのシソエキス

..... 塩 拓磨 41

□ ニジマス用飼料の炭水化物源-1

..... 酒本 秀一 46

□ グルテンフリー-穀物 食品と飲料, グルテンの検知-1

..... 瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 57

新連載

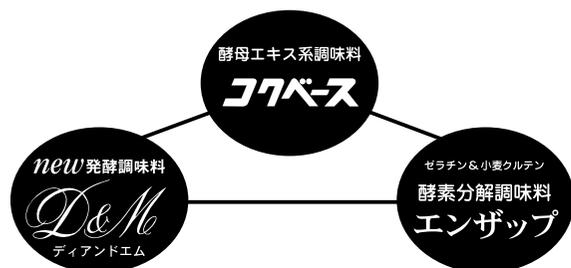
□ 漢方の効能 Efficacy of traditional medicine “KAMPO”

(1) 自然の恩恵 (1): Benefits of nature

..... 坂上 宏, 白瀧 義明, 史 海霞 69

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
特長がある乳酵母エキスです。



大日本明治製糖株式会社

食品事業部

現代チーズ学

編集

齋藤 忠夫
堂迫 俊一
井越 敬司
東北大学大学院農学研究科
雷印乳業株式会社 技術研究所
東海大学農学部

現代チーズ学

The Contemporary Cheese Science

現代チーズ学

編集
齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科
堂迫 俊一 雷印乳業株式会社 技術研究所
井越 敬司 東海大学農学部



食品資材研究会

編集
齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科
堂迫 俊一 雷印乳業株式会社 技術研究所
井越 敬司 東海大学農学部
食品資材研究会

480 ページ超の大迫力！
業界第一人者が集結！
チーズ研究の必携書

チーズ研究の頭脳集結！
熟成した研究成果を、
じっくり書き上げた
問い合わせ殺到の
究極のチーズ技術書！



- B5 版 / 496 ページ
- 定価：(本体 7,500 円 + 税)
- 発行：食品資材研究会

The Contemporary Cheese Science

現代チーズ学 目次

- | | |
|-----------------------------|------------------------|
| 1. チーズの歴史、食文化、分類および生産 | |
| 1.1 チーズの起源と歴史 | 大谷 元 |
| 1.2 チーズの食文化 | 村山 重信 |
| 1.3 チーズの分類と名称 | 村山 重信 |
| 1.4 世界のチーズの生産・輸出入と消費 | 伊藤 晋治 |
| 2. チーズの基礎科学 | |
| 2.1 乳の成分科学 | 石田 光晴 |
| 2.2 チーズ製造の基本フロー | 齋藤 忠夫 |
| 2.3 乳酸菌スターターの科学 | 宮本 拓 |
| 2.4 キモシンによる凝乳機構 | 阿久澤良造 |
| 2.5 チーズの熟成機構 | 井越 敬司 |
| 3. チーズの製造技術と衛生管理 | |
| 3.1 クリームチーズ | 岩附 慧二 |
| 3.2 モッツアレラチーズ | 橋本 英夫 |
| 3.3 カッテージチーズ | 久米 仁司 |
| 3.4 熟成型チーズ | 田中 穂積 |
| 3.5 キモシン酵素利用の現状 | 高見 修平 |
| 3.6 プロセスチーズ | 川崎 功博 |
| 3.7 チーズの包装技術 | 佐々木敬卓 |
| 3.8 チーズ製造の衛生管理 | 柳平 修一
鈴木 明
花形 吾朗 |
| 4. チーズの機能性 | |
| 4.1 チーズの微細構造 | 木村 利昭 |
| 4.2 一次機能 | 根岸 晴夫 |
| 4.3 二次機能 | 井筒 雅 |
| 4.4 三次機能 | 堂迫 俊一 |
| 4.5 チーズとホエイに含まれるタンパク質の免疫科学 | 大谷 元 |
| 5. ホエイ成分の高度利用 | |
| 5.1 チーズホエイとその成分別調製技術 | 元島 英雅
野島 一晃 |
| 5.2 機能性オリゴ糖 | 浦島 匡 |
| 5.3 機能性ホエイ味噌 | 六車三治男 |
| 6. チーズの諸制度と知的財産権 | |
| 6.1 チーズの規格基準と表示規制 | 石田 洋一 |
| 6.2 チーズの知的財産権 | 工藤 力 |
| 7. 近未来のチーズ学 | |
| 7.1 チーズ製造技術の変遷と進歩 | 相澤 茂 |
| 7.2 近未来のチーズ製造技術 | 市橋 信夫 |
| 7.3 新しいタイプの機能性チーズの開発 | 松尾 光郎 |
| 7.4 スターター乳酸菌における遺伝子組替え技術の応用 | 佐藤 英一 |

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

リン脂質を標的分子とする創食基礎研究の動向

日高 麻由美 (HIDAKA Mayumi)¹ 堤 敏彦 (TSUTSUMI Toshihiko)²
近藤 慎一 (KONDO Shinichi)¹ 徳村 彰 (TOKUMURA Akira)^{1*}

¹ 安田女子大学薬学部生命薬学講座衛生薬学研究室, ² 九州保健福祉大学薬学部薬剤学教室

Key Words : リゾ脂質 リン脂質 ω3 脂肪酸 機能性 オキアミ油 魚卵

Recent phospholipid-targeted investigations aiming to create a beneficial functional food

Mayumi Hidaka¹, Toshihiko Tsutsumi², Shinichi Kondo¹ and Akira Tokumura¹

¹Department of Life Sciences, Faculty of Pharmacy, Yasuda Women's University

²Department of Pharmaceutics, Graduate School of Clinical Pharmacy, Kyushu University of Health and Welfare

Key Words: lysolipids, phospholipids, omega3 fatty acid, functionality, krill oil, roe oil

Abstract

The second most predominant glycerolipid class in ordinary diets is phospholipids having two fatty acid groups. They consist of a large number of molecular species, depending on the structures and binding positions to the glycerol backbone of fatty acyl moieties. Their intestinal absorption, transport into lymphatic vessels, and subsequent metabolic conversions in the body are considered to be dependent to their molecular species composition. Also, their beneficial effects after absorption on physiological processes of different tissues are expected to be molecular species-dependent. Here we review recent investigations on molecular-species dependent transport, metabolism and bioactions in mammalian body of sea food-derived phospholipids enriched with ω3 fatty acyl groups. Glycerophospholipid preparations derived from various food sources contain a small amount of components that exert a potent physiological effect even at a low level (especially monoacylglycerols and lysophospholipids). This review highlights recent findings obtained by lysolipid-targeted studies that are aimed to create a beneficial functional food.

概要

食事性のグリセロール骨格を有する脂質で量が多いのは、3個の脂肪酸を持つトリグリセリド、次いで2個の脂肪酸を持つリン脂質であり、構成脂肪酸の種類や結合位置の違いによる多数の分子種で構成されている。これらグリセロ脂質の消化吸収、体内移行・代謝や生体機能調節作用は分子種依存性である場合が多い。本総説では、水産物由来脂質に豊富に含まれるω3脂肪酸含有脂質の分子種依存性の体内動態・機能発現に関する研究成果を解説する。食事性グリセロ脂質には、微量ながら特異的な生理作用を示す成分が存在する。油脂中のモノアシルグリセロールとリン脂質中のリゾリン脂質が該当する。本総説では、これらリゾ脂質の機能性に着目している創食基礎研究成果も解説する。

はじめに

食事中の脂質は、(1)主要なエネルギー源、(2)生体膜の主要構成成分、(3)生理活性脂質の前駆物質としての役割を持つ。最も多量に摂取するのは、油脂の主成分トリアシルグリセロール(トリグリセリド、TG)であり、その栄養学的価値は、1分子中のTGに結合している3個の脂肪酸残基の種類に依存している。多くの植物性油脂には炭素数18の必須脂肪酸「リノール酸($\omega 6$)、 α -リノレン酸($\omega 3$)」に富むが、オリーブ油や菜種油などにはオレイン酸($\omega 9$)が多く含まれている。動物性TGはオレイン酸に加えて飽和脂肪酸(ステアリン酸、パルミチン酸等)の含量が高いが、魚油では、 $\omega 3$ 系列のドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)に富むものが多い。食品素材中のリン脂質(phospholipid, PL)にも1分子当たり2個の多様な脂肪酸(FA)が組み込まれている。食事リン脂質の大部分は消化管の管腔内でホスホリパーゼA₂(PLA₂)やホスホリパーゼA₁(PLA₁)の作用を受け、リゾリン脂質(lysoPL)とFAに分解する。PL由来のFAは、近年提唱されている小腸上皮細胞内の脂肪酸結合タンパクが関与する小腸細胞膜の受動拡散により取り込まれ¹⁾、細胞内でTGの構成脂肪酸となりキロミクロンとしてリンパ管に分泌される(図1-A)。

一方、lysoPLの大部分はFAとグリセロホスホジエステルに分解されずに小腸上皮の細胞膜を通過後、細胞内でジラジルPL(二本鎖)に変換されキロミクロンの成分となりリンパ管に移行する(図1-A)。他方、食事性TGは消化管内で脂肪酸と2-モノアシルグリセロール(MG)に分解し、小腸上皮でTGに再構成され

る(図1-A)。後述するように、食事性PLは、食事性TGとは異なる生体機能調節作用を示すことが報告されており、それらの相違の要因として、対応する消化管内でlysoPLへの転換や腸上皮細胞の膜移行、並びにメディエーターとしての標的細胞表面の受容体への作用が考察されている。また、食品素材由来のPL混合物には、ごく微量で特異的な作用を示すlysoPLがかなりの量で含まれており、摂取後から小腸上皮での吸収前までに上部消化管内で生理現象(食欲調節、脂質の消化・吸収調節、エネルギー代謝調節、消化管粘膜の恒常性維持)の誘導や進展に関与していると推定されている。

この考えに基づき、高度に精製した生理活性性lysoPLを実験動物の食餌に添加し、その有効性や安全性の検証が試みられている。本総説では、構成脂肪酸の機能に注目した研究として $\omega 3$ 系列不飽和脂肪酸に的を絞る、近年の研究成果を解説する。また、機能性脂質クラスの補充の功罪を議論するための基盤となる創食研究としてMGを含むリゾ脂質を中心とした最新の研究成果を解説する。

1. 健康増進に及ぼす食品由来リン脂質の効能

平均的な日本人のPLの摂取量は2-8g/日程度であり、家畜の肉および魚の肉や卵由来が多い²⁾。PLは食品のテクスチャーを上げ乳化作用を有するため添加物として加工食品に加えられている。なかでも大豆油の精製過程の脱ガム操作で得られる大豆レシチンは乳化剤として多用されており、その主成分ホスファチジルコリン(PC)以外にも数種のlysoPLを含む。PLA₂やPLA₁(リパーゼ)処理大豆レシチンのlysoPL「特にリゾホスファチジルコリン(LPC)」

略語

ATX オートタキシン, DHA ドコサヘキサエン酸, EPA エイコサペンタエン酸, FA 脂肪酸, GDE グリセロホスホジエステラーゼ, LC-MS/MS 液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析, LPA リゾホスファチジン酸, LPC リゾホスファチジルコリン, LPE リゾホスファチジルエタノールアミン, lysoPL リゾリン脂質, lysoPLD リゾホスホリパーゼD, MG モノアシルグリセロール, PAF 血小板活性化因子, PC ホスファチジルコリン, PL リン脂質, PLA₁ ホスホリパーゼA₁, PLA₂ ホスホリパーゼA₂, SIP スフィンゴシン1-リン酸, TG トリアシルグリセロール,

含量は高く、安定で優れた乳化力が好まれている。これに次いで多く加工食品に使用されているのが卵黄レシチンと菜種レシチンである。卵黄には、LPC やリゾホスファチジン酸 (LPA) が含まれている³⁾。また、キャノーラ油精製過程で生じる菜種レシチンのLPC含有率は $3.27 \pm 0.11\%$ (重量比)、リゾホスファチジルエタノールアミン (LPE) とLPAを合せた含有率は $3.99 \pm 0.11\%$ であると報告されている⁴⁾。食事PL

の大部分は小腸の管内でPLA₂の作用を受け、それぞれのlysoPLとFAに分解する。図1-Aに示すように、lysoPLとFAは上皮細胞で主にリン脂質に再構成されるが、一部のLPCはPLへ再構成されずに、そのまま基底膜側細胞膜を通過し、粘膜固有層の細胞質で腸管の上皮や血液から供給されるオートタキシン(ATX)の分泌型リゾホスホリパーゼD (lysoPLD) 活性により生理活性の強いLPAに転換されると推定される(図1-B)。あるいは、後述のように小腸上皮細胞内でグリセロホスホジエステラーゼ(GDE) 4やGDE7によりLPAに転換され、何らかの機序で基底膜側細胞膜を抜け粘膜固有層の体液に出てリンパ球などの免疫系の遊離細胞に作用すると想定されている(図1-B)。

このように、食事性二本鎖PLから消化管内で多量に産生されるlysoPL(一本鎖PL)ではあるが、体内において極微量で特異的な生理作用を示すことが幅広く研究されており、有用な効果を期待して食事にlysoPLを添加した食事の効能を調査する研究が実験動物を用いて検討されてきた^{5, 6)}。これらの総説の公表以降の研究例を次に示す。大豆油や菜種油由来のリゾレシチン(LPCを主成分とするPL混合物)を食事に配合しブロイラーを飼育する

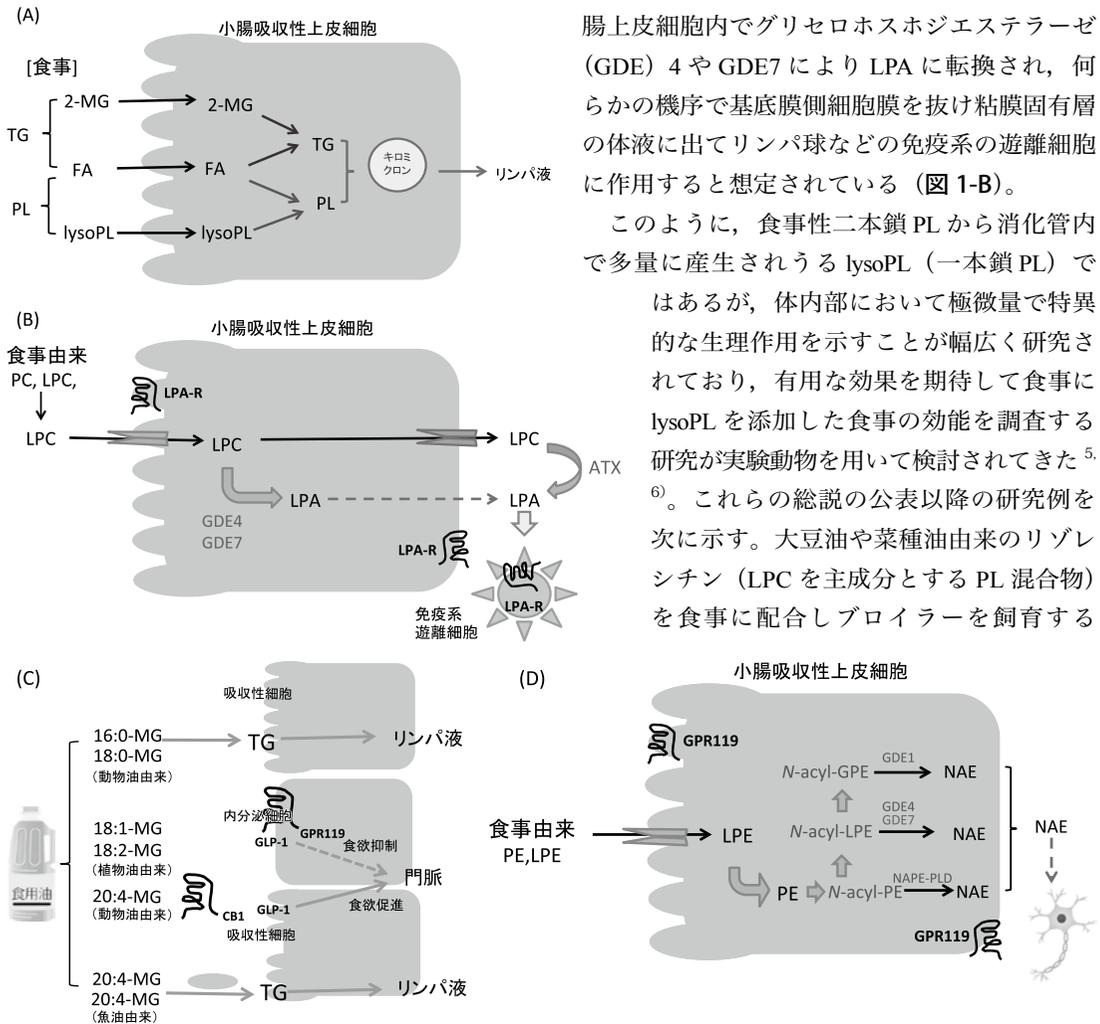


図1 食事性脂質の消化管の管腔内での代謝、小腸上皮細胞への吸収、小腸上皮細胞での代謝および小腸上皮細胞からの粘膜固有層への分泌および活性脂質の作用発現に関する仮説的模式図

(A) 量的に多いTGとPLの主経路、(B) 食事リン脂質由来のリゾリン脂質の代謝、細胞内移行と機能発現の経路、LPA-R LPA 受容体 (C) TG由来のMG産生、細胞内移行と機能発現の経路。(D) 食事性ホスホリパーゼD由来のN-アシルエタノールアミン (NAE) の産生と作用発現経路、GLP-1 グルカゴン様ペプチド-1、GPE グリセロホスホエタノールアミン、NAPE-PLD N-アシル-PE ホスホリパーゼD

表1 大豆レシチンとその関連製剤のリン脂質組成

	脱油脂 レシチン ⁴³⁾	LPA 濃縮 ⁻¹ ¹⁶⁾	LPA 濃縮 ⁻² ¹³⁾	LPC 濃縮 ⁴⁵⁾	脱油脂 LPC濃縮 ⁴⁵⁾
	(%)				
A. 2本鎖リン脂質クラス					
ホスファチジルコリン	20-22	0.5	-	0.4	2-8
ホスファチジルエタノールアミン	16-22	-	0.8	0.9	1-7
ホスファチジルセリン	-	-	-	-	-
ホスファチジルイノシトール	13-16	2.1	1.5	-	10-20
ホスファチジン酸	5-10	5.0	19.2	-	0-5
B. 1本鎖リン脂質クラス					
リゾホスファチジルコリン	<3	0.9	-	18.5	18-30
リゾホスファチジルエタノールアミン	-	2.0	2.6	29.1	-
リゾホスファチジルセリン	-	-	-	} 43.8	-
リゾホスファチジルイノシトール	-	2.9	5.3		-
リゾホスファチジン酸	-	46.2	32.1		-
C. その他					
	27-43	40.4	38.5	8.1	30-69

と、食事摂取量・消化率と窒素体内保留量が低下したと報告されている⁷⁾。また、市販リゾレシチン (Lysoforte[®]) を添加した食事でブローラーを飼育すると、空腸絨毛が長くなりコラーゲン沈着がみられ、精製LPCの添加した食事での飼育の場合は、空腸絨毛の幅が太くなった⁸⁾。子羊の場合、食事に lysoPL 混合物を添加すると (0.038%)、28日後から対照群、メチオニン添加群、リシン添加群よりも lysoPL 群の方の食事摂取量が増え、体重が増加した⁹⁾。これらの結果が必ずしも一致しないのは、添加 lysoPL 混合物のどれが奏効しているのか不鮮明であるためと思われる。

この問題点に対処する一方策は、長期飼育に必要な充分量の特定制 lysoPL を天然食品素材から高度に精製することである。脱脂大豆レシチンとそれより派生の lysoPL 濃縮製品の PL クラス組成の分析結果例を表1に示す。大豆レシチンの場合、多価不飽和脂肪酸「リノール酸 (C18:2 ω 6)、 α -リノレン酸 (C18:3 ω 3) の割合が高く、それらが sn-1 と sn-2 位の両方へ組み込まれていることから (表1)、2個の多価不飽和脂肪酸を持つ PL 分子種が豊富に存在すると考えられていた。事実、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) で

の PC 分子種分析では、リノール酸を2個持つ分子種が40.6%、リノール酸と α -リノレン酸を持つ分子種が3.77%を占めていた¹⁰⁾。つまり、摂取した大豆PCの約半数から消化管で PLA₂ や PLA₁ のどちらが働いても、飽和脂肪酸あるいは単不飽和脂肪酸含有LPCのみならず多価不飽和酸含有LPCが生成することになるので、両タイプの消化管の管腔側からへの上皮細胞への作用を検討することが必要となってくる。同じことは、大豆レシチンをホスホリパーゼD (PLD) で反応させて生じるホスファチジン酸「キャベツ等のPLDと口腔内で反応し生成する¹¹⁾」にも適用でき、マウス胃から分泌する PLA₂ により飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸を有するLPAがどちらも産生され、胃粘膜の保護作用を示しアスピリン誘発潰瘍の度合いを軽減することが明らかとなっている¹²⁾。

著者らのグループは、大豆レシチンから精製したLPAをラット胃内にゾンデで注入しておくと、水漬拘束ストレスで誘導される胃潰瘍を抑制できることも見出している¹³⁾。ところが、デキストラン硫酸ナトリウム〈1週間、給水中〉/アゾキシメタン〈単回皮下注射〉すると大腸がんを生じる Kyoto Apc Delta ラットの高脂肪食餌にLPA濃縮大豆PL (1%) を添加し

て12週間飼育後、解剖すると、対照群に比して2-4 mm長の大腸腫瘍の数が有意に増加していた¹⁴⁾。この結果は、餌に含まれている大量のLPAの一部が消化管腔内での代謝や吸収を免れて大腸に到達したことを示唆していた。そこで、1,2あるいは5%でLPA濃縮の餌で飼育したラット¹⁵⁾やマウス¹⁶⁾の糞中のlysoPLをLC-MS/MSで定量したところ、LPAはLPCに比べると糞中に排泄される割合が高いことがわかった。

LPA濃縮大豆PL補充餌（高脂肪量あるいは通常脂肪量の2種）で1ヶ月間飼育したマウスの実験では、5%補充の群でのみLPA補充なしの餌で飼育した群と比べて糞でのLPA濃度は有意に高値であったが、血漿、肝と副睾丸周囲脂肪組織中のLPA分子種の量や組成は、LPA補充なしの餌で飼育した群の値とほぼ同じであった¹⁶⁾。また、5%LPA濃縮食で飼育すると、1ヶ月間の体重増加の程度、餌の摂取量や1ヶ月後の脂肪組織重量は対照群と比べて有意に低値であった¹⁶⁾。この体エネルギー系への*in vivo*効果は、餌中の大量のLPAの摂取に伴い血液や組織のLPAプール量がかさ上げされ脂肪組織等で特異的な作用が増強するためではなく、小腸での吸収前での食欲抑制や小腸でのTG吸収の抑制作用によるためであろう。すでに、高脂肪の摂取を感知して消化管上皮の分泌細胞からオレオイル-MGや*N*-オレオイル-エタノールアミン（NAE、リン原子を持たないリゾ脂質）が遊離し食欲抑制作用を発揮することが明らかになっており¹⁷⁾（図1-C）、LPAを含むlysoPLとの機能的連関が予想される。

一方、カンナビノイド受容体（CB1, CB2）を活性化する2-アラキドノイル-MGや*N*-アラキドノイル-エタノールアミンのようなエンドカンナビノイドは、食欲増強作用を示す¹⁸⁾（図1-C, 図1-D）。食事での ω 3系列の脂肪酸含有TGやPL摂取は、これらエンドカンナビノイドの前駆体膜リン脂質中へのアラキドン酸組み込みに競合する機序でエンドカンナビノイド濃度の低下とそれに伴う食欲低下効果を発

現する^{18,19)}。

これらの結果から、少なくともマウスでは、2%のLPA濃縮大豆PLを食餌に補充しても体内LPA濃度上昇には至らず体内での恩恵作用と弊害作用のバランスを考慮する必要はなく、むしろ体外からの作用（消化管の管腔側）での恩恵と弊害のバランスを主体にその補充の有効性と安全性を相対評価すれば良いとのであろう。今後の更なる研究の進展が待たれる。

2. 消化管上皮の細胞膜を横切る移行のリゾリン脂質の機序

消化管内で食物PLから生じたlysoPLは、特異的な運搬タンパク質により消化管上皮細胞に取り込まれると考えられているが、その分子実体は明らかではなかった。

近年、血液脳血関門や血液胎盤関門の細胞のLPC特異的トランスポーターがMfsd2aと同定されている²⁰⁾。最近、これと相同性の高いMfsd2bが赤血球や血管内皮細胞に発現しているスフィンゴシン-1-リン酸（S1P）に特異的なトランスポーターと同定されており²¹⁾、血管内皮細胞に発現しているS1Pに特異的なトランスポーター（Spns2）²²⁾と合せて2つのタイプ（Mfsd2bとSpns2）が確認されたことになる（表2）。Mfsd2のmRNAは、胎盤や脳のみならず、小腸や大腸にも多く発現している²³⁾。著者らは、食餌由来lysoPLの小腸上皮細胞の管腔側や基底膜側細胞膜に結合している酵素による代謝系と動脈硬化進展との関連を調べた研究の進展を以前に解説した²⁴⁾。そのトピックスとして、オレオイル-LPCを添加した食餌で低密度リポタンパク受容体欠損マウスを飼育すると空腸刷子縁部において炎症性細胞浸潤が誘導されるとの興味深い研究^{25,26)}を取り上げた。彼らは、食事由来のLPCが未知の機構で小腸上皮の管腔側細胞膜をフリップ/フロップ運動にて通過し、上皮細胞外でATX由来のlysoPLD活性（ステアロイル-LPCより鎖長が短いパルミトイル-LPCやミリストイル-LPCなどの飽和LPCを基質とできるが、概ね

表2 主要なリゾリン脂質メディエーターに特異的なトランスポーターと細胞内外での代謝酵素

リゾリン脂質	トランスポーター	細胞外 産生酵素	細胞内 産生酵素	細胞外 分解酵素	受容体
LPC	Mfsd2a	LCAT, sPLA ₂ ⁴⁶⁾	cPLA ₂ , iPLA ₂ ⁴⁶⁾ PLA ₁ ⁴⁷⁾	lysoPLD ⁴⁸⁾ (ATX)	GPR119 ⁴⁹⁾ GPR55 ⁵⁰⁾
S1P	Mfsd2b	-	SPHK-1, SPHK-2 ⁵¹⁾	LPP3 ⁵²⁾	S1P ₁₋₅ ⁵¹⁾
LPA	-	lysoPLD ⁴⁸⁾	GDE4, GDE7	LPP3 ⁵²⁾	LPA ₁₋₆ ⁵³⁾

GPR G-タンパク共役受容体, LCAT レシチン:コレステロールアシル転移酵素, LPP3 脂質リン酸ホスファターゼ3, PLA₁ ホスホリパーゼ A₁, cPLA₂ 細胞質ホスホリパーゼ A₂, iPLA₂ Ca²⁺非依存性ホスホリパーゼ A₂, sPLA₂ 分泌性ホスホリパーゼ A₂, SPHK-1 スフィンゴシンキナーゼ 1, SPHK-2 スフィンゴシンキナーゼ 2

不飽和 LPC を分解しやすい), あるいは未知の細胞内 lysoPLD (ステアロイル-LPC を含む飽和 LPC や不飽和-LPC を分解できる) の作用を受け LPA に転換し, 基底膜側細胞膜を通過して腸固有層で炎症性細胞を呼び寄せるとの考えを提示していた (図 1-B)。

最近の知見と合わせて考察すると, 小腸上皮に発現が予想される Mfsd2a で上皮細胞内に入り込んだ LPC は, 最近, 同定された lysoPLD (GDE4 と GDE7) (表 2) により LPA に転換される^{27, 28)} という図式が描ける。とすれば, LPA は小腸上皮細胞の基底膜側細胞膜をフリップ/フロップ運動で通過することになるが, これまでに LPA に特異的なトランスポーターの実体は明らかにされていない。一般に, ATX は分泌酵素として機能すると考えられているので, 小腸上皮から管腔側の細胞間質液に ATX が放出され, 小腸上皮管腔側と基底膜側の細胞膜をどちらも通過してきた食餌由来 LPC を腸固有層の間質液中で LPA に転換しているのかもしれない。上記の機構が協働しているのか, どちらが主体なのかは, 更なる実験が必要であろう。

3. 食事性の DHA の生体利用率と効能

ーリン脂質結合体と TG 結合体での摂取での相違点ー

海洋や淡水生物由来の脂質は構成要素として ω3 系列の脂肪酸 (DHA, EPA) を高含量で含むため注目され, その栄養学的価値に関する

研究は格段に進展した。多くの水産生物の油脂においては, 主成分は TG であり, 種類により DHA や EPA などの高度多価不飽和脂肪酸は TG のグリセロール骨格の *sn*-1 や *sn*-2 位の炭素にエステル結合している²⁹⁾。消化管内で TG は膵臓リパーゼの働きを受けて遊離の脂肪酸と 2-MG となり, どちらも上皮細胞に吸収後, 主に TG に再構成されキロミクロンの成分としてリンパや血液を循環していく (図 1-A)。南極オキアミ油の ω3 脂肪酸は TG のみならず PL にも組み込まれているため, TG が主成分である魚油とは異なる栄養学的・生理学的役割を持つと考えられている³⁰⁾。この観点に立ち, 多くの研究が行われてきたが, 魚油とオキアミ油摂取群間での DHA の体内利用率に有意な差があることを示す信頼性の高い研究はさほど多くはない³¹⁾。

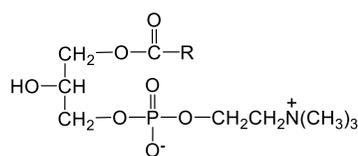
筆者のグループは, 30 年以上前に, オキアミや雲丹卵のような水産物由来 PC はアルキルエーテル亜種を多く含み, 構成脂肪酸として EPA や DHA に富むため (表 3), その食品の過酸化反応を誘導すると, 血小板活性化因子 (PAF, 1-*O*-アルキル-2-アセチル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン) と構造が良く似ており PAF と同等のウサギ血小板凝集活性を持つ酸化変性脂質 (1-*O*-アルキル-2-プロピル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン, 図 2) が 4-ヒドロペルオキシ DHA-PC 生成と続く脂肪酸鎖の開裂反応を経て新生するため, DHA 含有食品素材の保存等に留意が必要であることを示した。DHA 含有ジ

表3 海洋生物卵（鮭、雲丹）、オキアミ油と鶏卵の PC サブクラスと脂肪酸組成

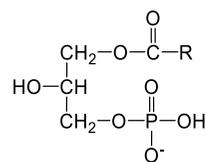
	鮭卵	雲丹卵	オキアミ油	鶏卵黄
A. サブクラス (%)				
ジアシル	98.8	57.5	77.0	99.2
アルキルアシル	1.2	41.5	23.0	0.8
アルケールアシル	<0.1	1.0	<0.1	<0.1
B. 脂肪酸組成 (%)				
14:0	1.3	1.9	1.3	-
16:0	20.7	7.7	22.8	36.0
16:1	1.6	2.1	1.1	1.4
18:0	10.9	2.2	1.0	11.1
18:1(ω9)	16.3	0.6	5.2	28.5
18:1(ω7)	1.9	4.8	4.7	0.3
18:2(ω6)	-	1.2	1.9	16.2
18:3(ω3)	-	-	0.9	-
18:3(ω6)	-	-	0.8	-
20:1(ω6)	-	8.0	-	-
20:1(ω3)	-	3.5	-	-
20:2(ω6)	-	19.1	-	-
20:2(ω3)	-	7.4	-	-
20:3(ω6)	-	1.0	0.5	-
20:3(ω3)	-	-	4.5	-
20:4(ω6)	-	15.1	0.4	2.3
20:5(ω3)	15.3	17.0	32.9	-
22:5(ω3)	4.4	-	0.8	-
22:6(ω6)	22.2	1.0	19.4	3.7
その他	5.5	7.3	1.6	0.5

アシル PC の過酸化で生じる 1-アシル-2-プロピル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリンの *in vitro* での血小板凝集活性は 1-*O*-アルキル-2-プロピル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリンの活性と比べるとおよそ二桁、低い^{32,33)}。この研究では、アルキルアシル亜種の割合が低い水産物としてサケ卵を、DHA 含量が低い食品として卵黄を比較のために用いている³³⁾。

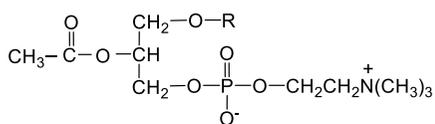
近年、オキアミ油（クリル油）よりも魚卵の方が DHA 含有 TG よりも DHA 含有 PL の割合が高いため、ある種の魚卵やそれ由来の PL を実験動物やヒトに摂取させ、消化吸収率や体内移行率や脳内移行率などが調べられている。一例を挙げると、かずのこ（ニシン卵）由来の PL を豊富に含むカプセルを単回で摂取した健常者の摂取 12 時間後での血漿 DHA と EPA 濃度は、魚油カプセルを摂取した健常者の値より高かったが、2 週間の頻回摂取（12 カプセル/日）での検討では、両群の血漿 ω3 脂肪酸



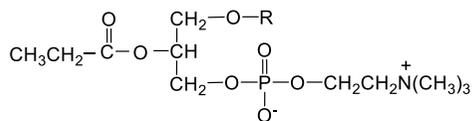
A. アシル-LPC



B. アシル-LPA



C. PAF

(1-*O*-アルキル-2-アセチル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン)

D. PAF 様脂質

(1-*O*-アルキル-2-プロピル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン)

図2 主要なリゾリン脂質と関連リン脂質の構造

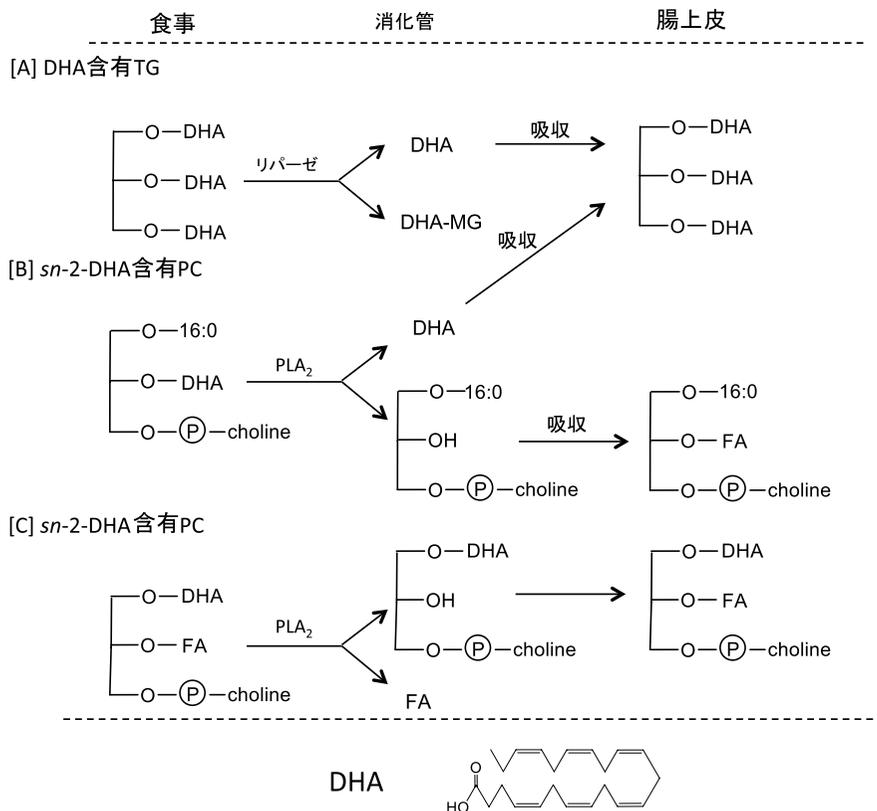


図3 食事由来の *sn*-2-DHA 含有 PC と *sn*-1-DHA 含有 PC の消化管内での分解、小腸上皮への取り込み・細胞内代謝・粘膜固有層への分泌機構に関する仮説：食事由来 DHA 含有 TG の場合との比較（文献 37 の Hypothesis 1 と 2 を一部改変）

含有 PC 量には有意な差は検出されず、急性での血漿 DHA/EPA 濃度上昇の差は、2 週間代償機構等の発現等で遮蔽されてしまったものと思われる³⁴⁾。すでに、¹³C]DHA 含有 PL を含む食事をヒトが経口摂取すると、6 時間程度で血液中に標識 DHA-LPC が出現することが報告されていた³⁵⁾。ラットでは、食餌中の LPC に組みこまれている DHA の方が、遊離体の DHA よりもリンパに多く移動すること、並びに DHA を含む多価不飽和脂肪酸は LPC の形態の方が遊離の形態よりも脳内に取り込まれやすいことが知られていた³⁶⁾。

上述のように、Mfsd2a の LPC 特異的トランスポートとしての同定が契機となり食事性 DHA の血液脳関門や血液胎盤関門通過には LPC の形態が有利であることの分子論的機序の解析が進んでいるが、それと歩調を合わせよ

うにして、小腸上皮での DHA-TG と DHA-PL の吸収・代謝およびリンパへの輸送の機序比較も検討されている。腸間膜リンパにカニューレを挿入したラットを用いて、Subbaiah ら³⁷⁾ は、PL (*sn*-1 位) に組み込まれた DHA の方が、TG に組み込まれた DHA (*sn*-2 位) よりも体内吸収が 5 倍高く、腸由来の高密度リポタンパクに運搬される DHA 含有 PL が 2 倍高いことを明らかにした (図 3)。オキアミオイルと並んで有用な ω3 脂肪酸含有 PL 源は魚卵である。最近の報告によると、ニレ科の鳴き魚 (クローカー) の卵には、12.30 ± 0.55% の LPC と 9.12 ± 0.02% の LPE が含まれている³⁸⁾。腸間膜リンパにカニューレを挿入したラットを用い、室田らは、魚卵由来の DHA-PL の方が魚油由来の DHA-TG よりも多くの DHA-PL の血漿濃度を高めることを報告した³⁹⁾。

表4 魚卵（鮭卵）、魚油（タラ）と大豆由来 PC の構成脂肪酸組成（%）

構成脂肪酸	魚油 (TG) ³⁹⁾		鮭卵 (PL) ³⁹⁾		鶏卵黄 (PC) ⁴⁰⁾		大豆 (PC) ⁴⁰⁾	
	<i>sn</i> -1/3	<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1	<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1	<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1	<i>sn</i> -2
14:0	2.6	1.3	2.7	1.5	-	-	-	-
16:0	21.0	20.7	24.9	11.7	62.5	1.1	27.7	3.1
16:1	4.9	4.5	3.4	2.0	2.9	0.2	-	-
18:0	7.5	1.5	13.8	4.9	31.1	0.5	13.7	0.7
18:1	26.8	11.5	18.6	13.1	2.0	42.9	8.6	12.4
18:2	1.3	1.1	1.7	1.6	1.0	44.0	42.3	77.0
18:3	0.6	0.4	0.5	0.6	-	-	6.4	6.8
20:4	1.7	1.8	1.6	1.6	-	8.1	-	-
20:5	1.3	1.9	3.2	5.9	-	-	-	-
22:6	13.1	37.9	9.8	38.9	-	3.2	-	-

Murota らは、魚卵と魚油の脂質中の DHA のグリセロール部への結合位置を測定している³⁹⁾ (表4)。この表には、別のグループによる少量だが DHA が *sn*-2 位に選択的に組み込まれている鶏卵黄のデータ⁴⁰⁾ と *sn*-1 と *sn*-2 位の両方に必須脂肪酸が組み込まれている大豆 PC の PL の分析結果⁴⁰⁾ を合せて収録した。オキアミ油や魚卵中の PL には DHA や EPA などの高度多価不飽和脂肪酸が 2 個組み込まれた分子種が他の水産食品素材に比べて多く含まれているとの考えから、LC-MS/MS によるリポミクス研究が進行している。オキアミ油での分析例を挙げると、同定された 47 の PC 分子種のうち、EPA や DHA を 2 個含有する分子種は 2 種 (20:5/20:5, 20:5/22:6) ながら、最も濃度が高い分子種 (16:0/18:1) の量の 30.3% と 24.8% とかなりの割合であり⁴¹⁾。また、オキアミ油の TG の構成脂肪酸のうち、DHA などの ω 3 多価不飽和脂肪酸の約 21% は TG の *sn*-2 位に結合していると報告されている⁴²⁾。

おわりに

多価不飽和脂肪酸は、特異的な栄養価値や生体機能調節作用を有する食事性脂肪酸 TG の構成成分としてのみならず PL の構成成分として日常の食事に含まれている。DHA を例にとると、魚油よりもオキアミ油、更に魚卵の順で

PL に含まれる割合が高くなり、DHA 含有 PL 摂取の場合は魚油摂取の場合とは異なる効能が期待されている。このように DHA 含有 LPC を産生する酵素や細胞内に移行するトランスポーターに関する基礎研究が進み、PL 形態に組み込まれることでより選択的な DHA の効能が現れるという仮説を分子機序の観点から議論できるようになった。今後、グリセロール骨格の *sn*-1 と *sn*-2 位の炭素に 1 個だけ DHA が組み込まれている分子種や *sn*-1 位と *sn*-2 位の炭素に 2 個の DHA が結合した分子種の割合を各 PL クラス別に解析したデータや LC-MS/MS による PL 分子種分析データの更なる蓄積が望まれる。

哺乳類が体内で特異的な生理活性を発揮するリゾリン脂質 (LPA など) を食事に補充するため、まずは安価な素材である大豆からの濃縮製品が調製されている。しかしながら、その功罪を議論するためには、効能と安全性の両面で、どの程度の精製度が必要か、並びに食事に補充する適切な量はどの程度か等、明らかにすべき点、まだ多く残っている。ヒトに摂取可能な補充食品成分候補としてリゾリン脂質を開発していくためには、まずは、できるだけ多くの動物種で、かつできるだけ多種類の飼育条件下で基礎データをより一層積み上げておく努力が必要であろう。

引用文献

1. Glatz JFC and Luiken JJFP: Dynamic role of the transmembrane glycoprotein CD36 (SR-B2) in cellular fatty acid uptake and utilization. *J. Lipid Res.* **57**,1084-1093, 2018.
2. Cohn JS, Kamili A, Wat E, Chung RWS and Tandy S: Dietary phospholipids and intestinal cholesterol absorption. *Nutrients* **2**, 116-127, 2010.
3. Nakane S, Tokumura A, Waku K and Sugiura T: Hen egg yolk and white contain high amounts of lysophosphatidic acids, growth factor-like lipids: distinct molecular species compositions. *Lipids* **36**, 413-419, 2011.
4. Xie M and Dunford NT: Lipid composition and emulsifying properties of canola lecithin from enzymatic degumming. *Food Chem.* **218**, 159-164, 2017.
5. Tokumura A: Physiological significance of lysophospholipids that act on the lumen side of mammalian lower digestive tracts. *J. Health Sci.* **57**, 115-128, 2011,
6. 徳村彰, 井上愛美, 足立美佳: リゾホスファチジン酸濃縮食品の開発に関する基礎研究 *New Food Industry* **54** (11), 1-6, 2012.
7. Jansen M, Nuyens F, Buyse J, Leleu S and Van Campenhout L: Interaction between fat type and lysolecithin supplementation in broiler feeds. *Poult. Sci.* **94**, 2506-2515, 2015.
8. Brautigam DL, Li R, Kubicka E, Turner SD, Garcia JS, Weintraut ML and Wong EA: Lysolecithin as feed additive enhances collagen expression and villus length in the jejunum of broiler chickens. *Poult. Sci.* **96**, 2889-2898, 2017.
9. Prado TF, Franca AFS, Meirinhos MLG, Peron HJMC, Ferreira RN, Oliveira LG and Correa DS: Animal performance and carcass characteristics from confined lambs fed on concentrate feed and additives. *An. Acad. Bras. Ciene.* 1678-2690, 2015.
10. Lee WJ, Weng SH, Su NW: Individual phosphatidylcholine species analysis by RP-HPLC-ELSD for determination of polyenoylphosphatidylcholine in lecithins. *J. Agric. Food Chem.* **63**, 3851-3858, 2015.
11. Urikura M, Morishige J, Tanaka T and Satouchi K: Phosphatidic acid production in the processing of cabbage leaves. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 11359-11365, 2012.
12. Tanaka T, Morito K, Kinoshita M, Ohmoto M, Urikura M, Satouchi K and Tokumura A: Orally administered phosphatidic acid and lysophosphatidic acid ameliorate aspirin-induced stomach mucosal injury in mice. *Dig. Dis. Sci.* **58**, 950-958, 2013.
13. Adachi M, Horiuchi G, Ikematsu N, Tanaka T, Terao J, Satouchi K and Tokumura A: Intragastrically administered lysophosphatidic acids protect against gastric ulcer in rats under water-immersion restraint stress. *Dig. Dis. Sci.* **56**, 2252-2261, 2011.
14. Tsutsumi T, Inoue M, Okamoto Y, Ishihara A and Tokumura A: Daily intake of high-fat diet with lysophosphatidic acid-rich soybean phospholipids augments colon tumorigenesis in Kyoto Apc Delta rats. *Dig. Dis. Sci.* **62**, 669-677. 2017.
15. Inoue M, Adachi M, Shimizu Y, Tsutsumi T and Tokumura A: Comparison of lysophospholipid levels in rat feces with those in a standard chow. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 7062-7067, 2011.
16. Inoue M, Okamoto Y, Atsumi Y, Shiojiri M, Hidaka H, Tanaka T, Tsutsumi T, Shirasaka N and Tokumura A: Addition of high load of lysophosphatidic acid to standard and high-fat chows causes no significant changes of circulating and peripheral tissue levels, but affects body weight and visceral fat mass of mice. *Biofactors*, in press, 2018.
17. Romano A, Tempesta B, Provensi G, Passani MB and Gaetan S: Central mechanisms mediating the hypophagic effects of oleoylethanolamide and *N*-acylphosphatidylethanolamines: different lipid signals? *Front. Pharmacol.* **6**:137, 2015.
18. Kleberg K, Hassing HA and Hansen HS: Classical endocannabinoid-like compounds and their regulation by nutrients. *Biofactors* **40**, 363-372, 2014.
19. Bisogno T and Maccarrone M: Endocannabinoid signaling and its regulation by nutrients. *Biofactors* **40**, 373-380, 2014.
20. Nguyen LN, Ma D, Shui G, Wong P, Cazenave-Gassiot A, Zhang X, Wenk MR, Goh ELK and Silver DL: Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature* **509**, 503-506, 2014.

21. Vu TM, Ishizu AN, Foo JC, Toh XR, Zhang F, Whee DM, Torta F, Cazenave-Gassiot A, Matsumura T, Kim S, Toh SES, Suda T, Silver DL, Wenk MR and Nguyen LN: Mfsd2b is essential for the sphingosine-1-phosphate export in erythrocytes and platelets. *Nature* **550**, 524-528, 2017.
22. Kawahara A, Nishi T, Hisano Y, Fukui H, Yamaguchi A and Mochizuki N: The sphingolipid transporter spns2 functions in migration of zebrafish myocardial precursors. *Science* **323**, 524-527, 2009.
23. Esnault C, Priet S, Ribet D, Vernochet C, Bruls T, Lavielle C, Weissenbach J and Heidmann T: A placenta-specific receptor for the fusogenic, endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 17532-17537, 2008.
24. 日高麻由美, 堤敏彦, 徳村彰: 消化管上皮を介する食事性リゾリン脂質の病態生理学的作用 —その制御法に関する基礎研究— *New Food Industry* **58** (12), 49-53, 2016.
25. Chattopadhyay A, Navab M, Hough G, Gao F, Meriwether D, Grijalva V, Springstead JR, Palgnachari MN, Namiri-Kalantari R, Su F, Van Lenten BJ, Wagner AC, Anantharamaiah GM, Farias-Eisener, Reddy ST and Fogelman AM: A novel approach to oral apoA-I mimetic therapy. *J. Lipid Res.* **54**, 995-1010, 2013.
26. Navab M, Chattopadhyay A, Hough G, Meriwether D, Fogelman SI, Wagner AC, Grijalva V, Su F, Anantharamaiah GM, Hwang LH, Faull KF, Reddy ST and Fogelman AM: Source and role of intestinal derived lysophosphatidic acid in dyslipidemia and atherosclerosis. *J. Lipid Res.* **56**, 871-887, 2015.
27. Ohshima N, Kudo T, Yamashita Y, Mariggio S, Araki M, Honda A, Nagano T, Isaji C, Kato N, Corda D, Izumi T, Yanaka N: New members of the mammalian glycerophosphodiester phosphodiesterase family: GDE4 and GDE7 produce lysophosphatidic acid by lysophospholipase D activity. *J. Biol. Chem.* **290**, 4260-4271, 2015.
28. Tsuboi K, Okamoto Y, Rahman IAS, Uyama T, Inoue T, Tokumura A and Ueda N: Glycerophosphodiesterase GDE4 as a novel lysophospholipase D: a possible involvement in bioactive *N*-acylethanolamine biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* **1851**, 537-548, 2015.
29. Beppu F, Yasuda K, Okada A, Hirosaki Y, Okazaki M and Gotoh N: Comparison of the distribution of unsaturated fatty acids at the *sn*-2-position of phospholipids and triacylglycerols in marine fishes and mammals. *J. Oleo Sci.* **66**, 1217-1227, 2017.
30. Castro-Gómez P, Garcia-Serrano A, Visioli F and Fontecha J: Relevance of dietary glycerophospholipids and sphingolipids to human health. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **101**, 41-51, 2015.
31. Salem N, Jr. and Kuratko CN: A reexamination of krill oil bioavailability studies. *Lipids Health Dis.* **13**, 137, 2014.
32. Tanaka T, Iimori M, Tsukatani H and Tokumura A: Platelet-aggregating effects of platelet-activating factor-like phospholipids formed by oxidation of phosphatidylcholines containing *sn*-2-polyunsaturated fatty acyl group. *Biochim. Biophys. Acta* **1210**, 202-208, 1994.
33. Tanaka T, Tokumura A and Tsukatani H: Platelet-activating factor (PAF)-like phospholipids formed during peroxidation of phosphatidylcholines from different foodstuffs. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 1389-1393, 1995.
34. Cook CM, Hallaraker H, Saebo PC, Innis SM, Kelley KM, Sanoshy KD, Berger A and Maki KC: Bioavailability of long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids from phospholipid-rich herring roe oil in men and women with mildly elevated triacylglycerols. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **111**, 17-24, 2016.
35. Lemaitre-Delaunay D, Pachiaudi C, Laville M, Pousin J, Armstrong M and Lagarde M.: Blood compartmental metabolism of docosahexaenoic acid (DHA) in humans after ingestion of a single dose of [¹³C] DHA in phosphatidylcholine. *J. Lipid Res.* **40**, 1867-1874, 1999.
36. Thies F, Delachambre MC, Bentejac M, Lagarde M and Lecerf J: Unsaturated fatty esterified in 2-acyl-1-lysophosphatidylcholine bound to albumin are more efficiently taken up by the young rat brain than unsaturated form. *J. Neurochem.* **59**, 1110-1106, 1992.
37. Subbaiah PV, Dammanshalli KJ, Yang P, Bi J and O' Donnel JM: Enhanced incorporation of dietary DHA into lymph phospholipids by altering its molecular carrier. *Biochim. Biophys. Acta* **1861**, 723-729, 2016.
38. Liang P, Li R, Sun H, Zhang M, Cheng W, Chen L, Cheng X and Akoh CC: Phospholipids composition and molecular species of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocesea*) roe. *Food Chemistry* **245**, 806-811, 2018.
39. Murota K, Takagi M, Watanabe Y, Tokumura A and Ohkubo T: Roe-derived phospholipid administration enhances lymphatic docosahexaenoic acid-containing phospholipid absorption in unanesthetized rats. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* in press, 2017.
40. Kielbowicz G, Gladkowski W, Chojnacka A and Wawrzeczyk C: A simple method for positional analysis of

- phosphatidylcholine. *Food Chem.* **135**, 2542-2548, 2012.
41. Winther B, Hoem N, Berge K and Reubsæet L: Elucidation of phosphatidylcholine composition in krill oil extracted from *Euphausia superba*. *Lipids* **46**, 25-36, 2011.
 42. Araujo P, Zhu H, Breivik JF, Hjelle JI and Zeng Y: Determination and structural elucidation of triacylglycerols in krill oil by chromatographic techniques. *Lipids* **49**, 163-172, 2014.
 43. 園良治：大豆レシチンの製造と利用. *日本油化学会誌* **48**, 201-208, 1999.
 44. Van Hoogevest P and Wendel A: The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **116**, 1088-1107, 2014.
 45. 山下政統, 足立秀哉, 徳力尚美：大豆リゾリン脂質の溶液物性. *日本油化学会誌* **48**, 891-896, 1999.
 46. 村上誠, ホスホリパーゼ A₂ ファミリーの多様性と生命応答における役割. *生化学* **90**, 348-360, 2018.
 47. Richmond GS and Smith TK: Phospholipase A₁. *Int. J. Mol. Sci.* **12**, 588-612, 2011.
 48. 徳村彰, 細胞外でリゾ脂質メデイエーターを産生するホスホジエステラーゼ, *生化学* **78**, 1141-1154, 2006.
 49. Drzazga A, Sowinska A and Koziolkiewicz M: Lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylinositol -novel promising signaling molecules and their possible therapeutic activity. *Acta Pol. Pharm-Drug Res.* **71**, 887-899, 2014.
 50. Bondarenko AI, Montecucco F, Panasiuk O, Sagach V, Sidoryak N, Brandt KJ and Mach F: GPR55 agonist lysophosphatidylinositol and lysophosphatidylcholine inhibit endothelial cell hyperpolarization via GPR-independent suppression of Na⁺-Ca²⁺ exchanger and endoplasmic reticulum Ca²⁺ refilling. *Vasc. Pharmacol.* **89**, 39-48, 2017.
 51. 大日方英, スフィンゴシン 1 リン酸による生体機能の制御, *実験医学* **36**, 1687-1694, 2018.
 52. Busnelli M, Manzini S, Parolini C, Escalante-Alcalde D and Chiesa G: Lipid phosphate phosphatase 3 in vascular pathophysiology. *Atherosclerosis* **271**, 156-165, 2018.
 53. 青木淳賢, リゾリン脂質のリポクオリティ, *実験医学* **36**, 1608-1615, 2018.
-

*Correspondence to: Akira Tokumura

Department of Life Sciences, Faculty of Pharmacy, Yasuda Women's University, Japan
6-13-1 Yasuhigashi, Asaminamiku, Hiroshima 731-0153, Japan

連絡先：徳村 彰

〒731-0153 広島市安佐南区安東 6-13-1

安田女子大学薬学部生命薬学講座衛生薬学研究室

E-mail: tokumura@yasuda-u.ac.jp

Identification of evodiamine in the microalga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae)

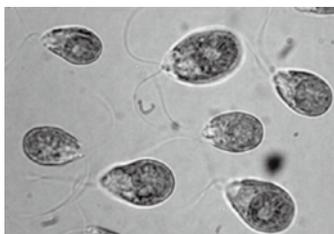
Setsuko Sakaki¹, Kaname Tsutsumiuchi², Yuji Yamaguchi¹, Hitoshi Yamashita³ and Hiroyuki Takenaka^{1*}

¹ MAC Gifu Research Institute, MicroAlgae Corporation, ² College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University
³ College of Life and Health Sciences, Chubu University

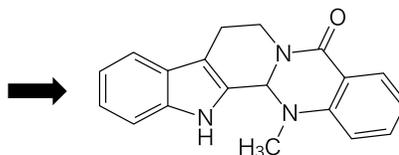
Key Words: evodiamine, *Dunaliella tertiolecta*, LC-MS/MS

Abstract

Evodiamine is a major alkaloid compound extracted from the dried, unripe fruit of *Evodia rutaecarpa*. Evodiamine has been shown to have various bioactivities in humans. We identified and quantified evodiamine in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) by LC-MS/MS and determined that *D. tertiolecta* dried powder contained 0.40 µg/g of evodiamine.



Dunaliella tertiolecta



Evodiamine

anti-obesity
anti-allergy
analgesia
anti-tumor
anti-ulcerate
neuroprotection

Introduction

Evodiamine is a major alkaloid compound extracted from the dried, unripe fruit of *Evodia rutaecarpa*. Evodiamine has a variety of bioactivities, such as anti-obesity^{1, 2)}, anti-allergenic³⁾, analgesic⁴⁾, anti-tumor⁵⁾, anti-ulcerogenic⁶⁾, and neuroprotective activities⁷⁾.

There are no reports that evodiamine is contained in plants other than *E. rutaecarpa*. Therefore, we analyzed whether evodiamine was contained in 17 species of microalgae (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Spirulina platensis*, *Nostoc commune*, *N. sphaericum*, *N. flagelliforme*, *Nostochopsis lobatus*, *Dunaliella salina*, *D. tertiolecta*, *Haematococcus pluvialis*, *Chlorococcum* sp., *Chlorella pyrenoidosa*, *Emiliania huxleyi*,

Pleurochrysis carterae, *Porphyridium purpureum*, *Rhodorus marinus*, *Euglena* sp., and *Sarcinochrysis* sp.) by HPLC and found that *D. tertiolecta* contained evodiamine⁸⁾. *D. tertiolecta* is a strictly photoautotrophic, unicellular chlorophyte with a single cup-shaped chloroplast and a photosynthetic apparatus similar to that of higher plants⁹⁾. *D. tertiolecta* exhibits anti-aggregant activity¹⁰⁾, hypocholesterolemic activity¹¹⁾, and skeletal muscle relaxant activity¹²⁾. *D. tertiolecta* accumulates bioactive compounds, vitamin E¹³⁾, vitamin B₁₂ coenzymes¹⁴⁾, glutathione (γ-glutamyl-cysteinyl-glycine)¹⁵⁻¹⁷⁾, and phyosterols^{18, 19)}. Therefore, *D. tertiolecta* may contain other bioactive compounds, and we analyzed the evodiamine content in *D. tertiolecta*.

Materials and Methods

Reagents

Evodiamine was obtained from LKT Laboratories (USA). All other reagents were of the highest commercially available purity.

Alga

D. tertiolecta (obtained from Prof. Mukohata of Kochi University of Technology) was grown in outdoor open raceway ponds at the MAC Miyako farm in Okinawa. The culture medium contained 1 g of KNO₃, 35 mg of K₂HPO₄, 43 mg of NaHCO₃, 19.6 µg of CuSO₄·5H₂O, 44 µg of ZnSO₄·7 H₂O, 20 µg of CoCl₂·6 H₂O, 360

µg of MnCl₂·4 H₂O, 12.6 µg of Na₂MoO₄·2 H₂O, and 10 mg of Fe-EDTA in 1 L of sea water. The cells were harvested by centrifugation and immediately sterilized by heating (90 °C, 30 min), and then dehydrated by freeze-drying.

Sample preparation

Three grams of *D. tertiolecta* powder was mixed with 50 mL of 70% methanol aqueous solution at 90 °C for 60 min, and then filtered after cooling. Forty-four milliliters of this extract was concentrated and resolved in 5.0 mL of acetonitrile and filtered through a 0.20 µm Millipore filter. Ten microliters of acetonitrile sample

Table 1 LC-MS conditions for qualitative analysis of evodiamine

LC System	Agilent 1100 series HPLC (Agilent)
Column	InertSustain C18 (φ2.1 × 150 mm)
Column temperature	40 °C
Solvent	A: 10 nmol/L ammonia aqueous solution, B: acetonitrile
Flow rate	200 µL/min
Gradient program	B: 60% (0–7 min) → 95% (8–13 min) → 60% (14–20 min)
Injection volume	5.0 µL
MS System	Esquire 3000 plus ion-trap LC/MS ⁿ system (Bruker Daltonics)
Ionization	Electrospray
Polarity	Positive
Nebulizer	35 psi
Dry gas	8.0 L/min
Dry temperature	365 °C
Capillary	-4300 V
Target Mass (m/z)	304

Table 2 LC-MS/MS conditions for quantitative analysis of evodiamine

LC System	LC800 (GL Sciences, Tokyo)
Column	InertSustain C18 (φ2.1 × 150 mm)
Column temperature	40 °C
Solvent	A: 10 nmol/L ammonia aqueous solution, B: acetonitrile
Flow rate	200 µL/min
Gradient program	B: 60% (0–7 min) → 95% (8–13 min) → 60% (14–20 min)
Injection volume	5.0 µL
MS System	API4000 (AB SCIEX, Tokyo)
Ionization	Electrospray
Polarity	Positive
Collision gas	4 eV (+)
Curtain gas	50
Ionspray voltage	4500 V (+)
Dry temperature	300 °C
Monitor ion 1 (m/z)	Precursor ion: 304.2, product ion: 161.1
Monitor ion 2 (m/z)	Precursor ion: 311.3, product ion: 164.2
Scan type	MRM

was diluted with 990 μL of 10 mmol/L ammonium aqueous - acetonitrile solution (4:6, v/v). The mixture was filtered through a 0.20 μm Millipore filter before identification and determination by LC-MS for qualitative and quantitative analyses.

LC-MS systems and conditions

For qualitative analyses of evodiamine, we used an Ion Trap LC-MS. The LC-MS conditions are shown in **Table 1**. For quantitative analyses of evodiamine, we used a Tandem LC-MS/MS, and the LC-MS/MS conditions are shown in **Table 2**.

Results and discussion

Fig. 1 shows the extracted ion chromatogram of evodiamine and the MS/MS spectrum of the peak (retention time 6 - 6.9 min, m/z 304). The MS/MS spectrum of evodiamine revealed that the major fragment ions included $m/z = 171.1$, 161.1, 144.1, and 134.1, and the minor fragment ions included $m/z = 287$ and 187. Wen *et al.*²⁰⁾ showed that the fragment ions of evodiamine were $m/z = 287$, 187, 171, 161, 144, and 134. **Fig. 2a** shows the extracted ion chromatogram of the *D. tertiolecta* extract. A peak at the retention time 6–6.9 min was found. The MS/MS spectrum of this peak (retention time 6–6.9 min) is shown in **Fig. 2b**. There were many peaks

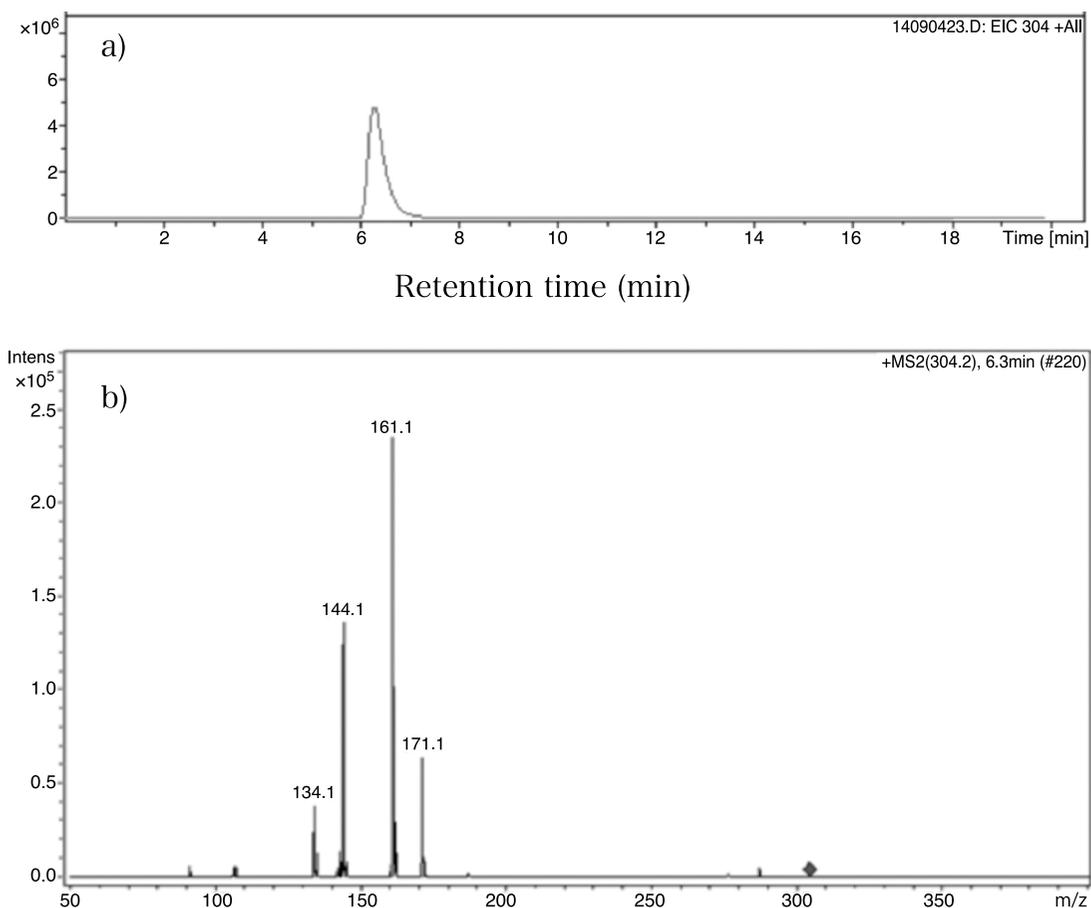


Fig. 1 Extracted ion chromatogram and MS/MS spectrum of the evodiamine standard

a) Extracted ion chromatogram ($m/z = 304$)

b) MS/MS spectrum of the peak (retention time 6–6.9 min, $m/z = 304$)

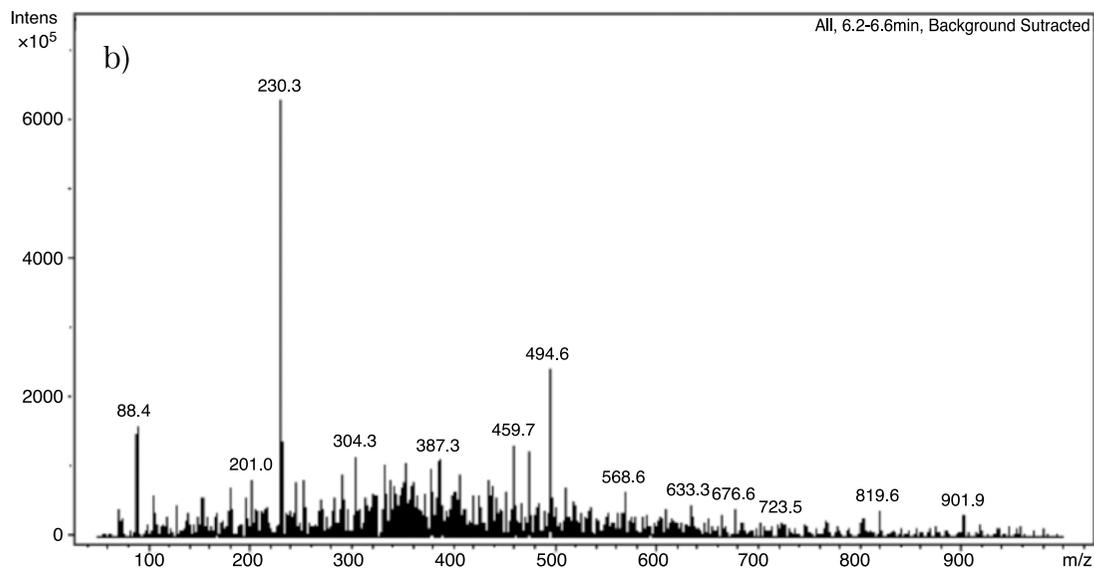
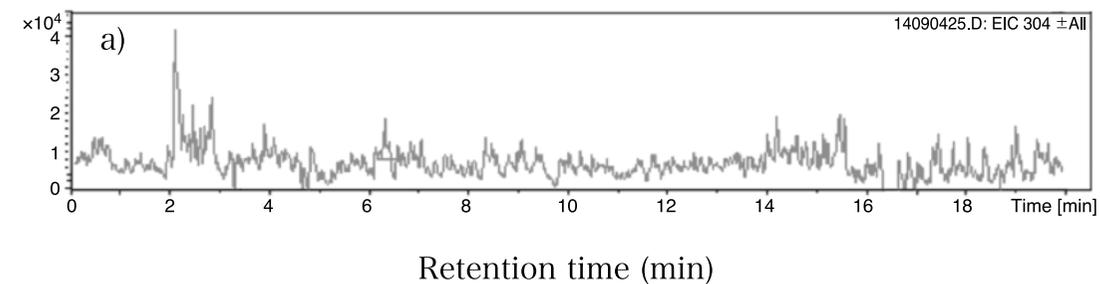


Fig. 2 Extracted ion chromatogram and MS/MS spectrum of the *D. tertiolecta* extract

a) Extracted ion chromatogram ($m/z = 304$)

b) MS/MS spectrum of the peak (retention time 6–6.9 min)

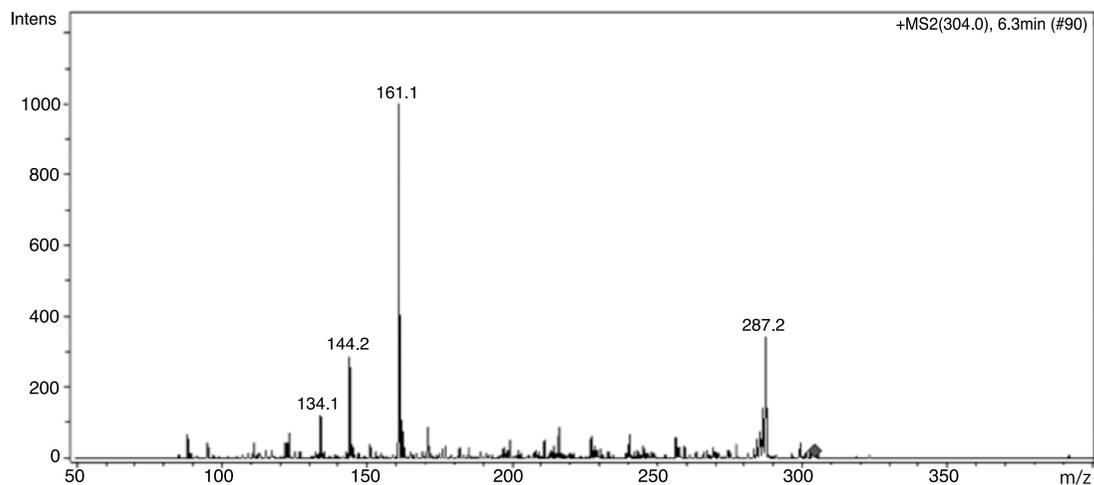


Fig. 3 MS/MS spectrum of the *D. tertiolecta* extract at $m/z = 304$

in this spectrum. Therefore, the MS/MS spectrum was analyzed at $m/z = 304$ (Fig. 3). The MS/MS spectrum of the *D. tertiolecta* extract revealed that the major fragment ions included $m/z = 287.2$, 161.1, 144.2, and 134.1, and the minor fragment ions included $m/z = 187$ and 171. The MS/MS spectrum of the *D. tertiolecta* extract was similar to the MS/MS spectrum of evodiamine.

For quantitative determination of evodiamine in *D. tertiolecta*, an internal standard method was performed by LC-MS/MS (Table 2) with a detection limit of 0.28 ng/mL. The *D. tertiolecta* extract contained 0.21 ± 0.016 $\mu\text{g/mL}$ evodiamine. A recovery test of evodiamine from *D. tertiolecta*

extract spiked at the level of 10 ppb was performed. Good recovery (97–103%) was observed. Therefore, we calculated that *D. tertiolecta* dried powder contained 0.40 ± 0.03 $\mu\text{g/g}$ of evodiamine. This is the first study to show that evodiamine is contained in *D. tertiolecta*. *E. rutaecarpa* contains 0.38–12.4 mg/g of evodiamine²¹). The amount of evodiamine in *D. tertiolecta* was smaller than that in *E. rutaecarpa*. Changing the *D. tertiolecta* culture conditions may increase the evodiamine content of this alga. In addition to evodiamine, *D. tertiolecta* contains other bioactive compounds, which may make *D. tertiolecta* an interesting biotechnology health food venture.

References

- 1) Wang T, Kusudo T, Takeuchi T, Yamashita Y, Kontani Y, Okamatsu Y, Saito M, Mori N, Yamashita H.: Evodiamine inhibits Insulin-stimulated mTOR-S6K Activation and IRS1 Serine Phosphorylation in Adipocytes and Improves Glucose Tolerance in Obese/Diabetic Mice. *PLoS One* **8**: 1-10. 2013.
- 2) Yamashita H, Kusudo T, Takeuchi T, Qiao S, Tsutsumiuchi K, Wang T, Wang Y.: Dietary supplementation with evodiamine prevents obesity and improves insulin resistance in ageing mice. *J. Functional Food*, **19**: 320-329. 2015.
- 3) Shin YW, Bae EA, Cai XF, Lee JJ, Kim DH.: *In vitro* and *in vivo* antiallergic effect of the fructus of *Evodia rutaecarpa* and its constituents. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 197-199. 2007.
- 4) Iwaoka E, Wang S, Matsuyoshi N, Kogure Y, Aoki S, Yamamoto S, Noguchi K, Dai Y.: Evodiamine suppresses capsaicin-induced thermal hyperalgesia through activation and subsequent desensitization of the transient receptor potential V1 channels. *J. Nat. Med.* **70**: 1-7. 2016.
- 5) Yang J, Cai X, Lu W, Hu C, Xu S, Yu Q, Cao P.: Evodiamine inhibits STAT3 signaling by inducing phosphatase SHPTP2 in hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett.* **328**: 243-251. 2013.
- 6) Zhao Z, Gong S, Wang S, Ma C.: Effect and mechanism of evodiamine against ethanol-induced gastric ulcer in mice by suppressing Rho/NF- κ B pathway. *Int. Immunopharmacol.* **28**: 588-595. 2015.
- 7) Zhao T, Zhang X, Zhao Y, Zhang L, Bai X, Zhang J, Zhao X, Chen L, Wang L, Cui L.: Pretreatment by evodiamine is neuroprotective in cerebral ischemia: up-regulated pAkt, pGSK3 β , down-regulated NF κ B expression, and ameliorated BBB permeability. *Neurochem. Res.* **39**: 1612-1620. 2014.
- 8) Sakaki S, Yamaguchi Y, Takenaka H. Identification of evodiamine in microalgae. *Seaweed Resources* **39**: 4-7 (in Japanese). 2017.
- 9) Berner T, Dubinsky Z, Wyman K, Falkowski. PG.: Photo-adaptation and the “package” effect in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* **25**: 70-78. 1989.
- 10) Villar R, Laguna R, Martinez D, Nunez L, Jimenez C.: Anti-Aggregant Effects on Human Platelets of the Crude Aqueous Extract and Polar Fractions of the Microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Phytother. Res.* **11**: 70-72. 1997.
- 11) Fabregas J, Herrero C, Gamallo Y, Otero A, Paz JM, Vecino E.: Decrease of Plasma Cholesterol with the Marine Microalga *Dunaliella tertiolecta* in Hyper Cholesterolemic Rats. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **40**: 533-540. 1994.
- 12) Villar R, Laguna MR, Calleja JM, Cadavid I.: Effects of *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunaliella tertiolecta* extracts on the central nervous system. *Planta Med.* **58**: 405-409. 1992.

- 13) Carballo-Cardenas EC, Tuan PM, Janssen M, Wiffels RH.: Vitamin E (alpha-tocopherol) production by marine microalga *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. *Biomol. Eng.* **20**: 139-147. 2003.
- 14) Watanabe F, Abe K, Katsura H, Takenaka S, Mazumder SAMZH, Tamura Y, Nakano Y. Occurrence of Vitamin B₁₂ Coenzymes in an Halotolerant Green Alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Appl. Biol. Sci.* **4**: 17-16. 1998.
- 15) Hirata K, Tsujimoto Y, Namba T, Ohota T, Hirayanagi N, Miyasaka H, Zenk MH. Strong Induction of Phytochelatin Synthesis by Zinc in Marine Green Alga, *Dunaliella tertiolecta*. *J. Biosci. Bioengin.* **92**: 24-29. 2001.
- 16) Jahnke LS, White AL.: Long-term Hyposaline and Hypersaline Stresses Produce Distinct Antioxidant Responses in the Marine Alga *Dunaliella tertiolecta*. *J. Plant Physiol.* **160**: 1193-1202. 2003.
- 17) Yamaguchi Y, Sakaki S, Miyamae N, Ogiso N, Shimura J, Ukeda H, Tomita Y, Takenaka H. Response of the alga *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to space flight onboard the International Space Station. *Seaweed Resources* **34**: 6-10 (in Japanese). 2015.
- 18) Francavilla M, Trotta P, Luque R.: Phytosterols from *Dunaliella tertiolecta* and *Dunaliella salina*: A potentially novel industrial application. *Biores. Technol.* **101**: 4144-4150. 2010.
- 19) Ciliberti MG, Francavilla M, Intini S, Albenzio M, Maarino R, Santillo A, Caroprese M.: Phytosterols from *Dunaliella tertiolecta* Reduce Cell Proliferation in Sheep Fed Flaxseed during Post Partum. *Mar. Drugs* **15**: 1-14. 2017.
- 20) Wen D, Li C, Liu Y, Liao Y, Liu H.: Determination of evodiamine and rutecarpine in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **385**: 1075-1081. 2006.
- 21) Zhao MY, Yang XW.: Optimization of the Extraction Conditions and Simultaneous Quantification by RP-LC of Six Alkaloids in Evodiae Fructus. *Chromatographia* **67**: 543-550. 2008.

*Corresponding author: Hiroyuki Takenaka
MAC Gifu Research Institute, MicroAlgae Corporation
Telephone: +81-58-248-1822, Fax: +81-58-248-1820
E-mail: takenaka@mac-bio.co.jp

¹ MAC Gifu Research Institute, MicroAlgae Corporation
4-15 Akebono, Gifu 500-8148, Japan

² College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University
1200 Matsumoto, Kasugai, Aichi 487-8501, Japan

³ College of Life and Health Sciences, Chubu University
1200 Matsumoto, Kasugai, Aichi 487-8501, Japan

緑藻デュナリエラ・ターティオレクタにおけるエボジアミンの分析

榎 節子¹, 堤内 要², 山口 裕司¹, 山下 均³, 竹中 裕行¹

¹ マイクロアルジェコーポレーション(株)・MAC 総合研究所 500-8148 岐阜市曙町 4-15

² 中部大学・応用生物学部 487-8501 愛知県春日井市松本町 1200

³ 中部大学・生命健康科学部 487-8501 愛知県春日井市松本町 1200

キーワード：エボジアミン, デュナリエラ・ターティオレクタ, 液体クロマトグラム質量分析

要旨

エボジアミンはゴシュユ (呉茱萸) に含まれるアルカロイド化合物で、ヒトにおいて多くの生理作用が報告されている。緑藻デュナリエラ・ターティオレクタ中のエボジアミン含有量を分析したところ、乾燥藻体 1g 当たり 0.4 μg のエボジアミンが含まれていた。

ホワイトソルガムパンの 加工性と嗜好性向上の検討

石井 和美 (ISHII Kazumi)¹ 小林 三智子 (KOBAYASHI Michiko)¹

¹ 十文字学園女子大学大学院 人間生活学研究科 食物栄養学専攻

Key Words：ホワイトソルガム パン 雑穀 テクスチャー 増粘多糖類

Study on Improvement of Processing Properties and Palatability of White Sorghum Bread

Kazumi Ishii¹, Michiko Kobayashi¹

¹Graduate School of Human Life Sciences, Department of Food and Nutritional Sciences, Jumonji University

Key words: white sorghum, bread, millet, texture, thickening polysaccharide

Summary

In recent years, it has become more common for millet to be eaten in family meals, mixed with rice. However, bread-based meals mainly use wheat bread, and bread made with millet flour as the main ingredient is not generally eaten.

The authors have previously undertaken studies to establish methods of preparing bread using millet flour. Therefore, to advance the development of millet flour bread as a staple food, first we decided to add thickening polysaccharide to increase the rising of the bread and improve its texture, and investigate the effect on its bread making qualities.

In this study, we added thickening polysaccharide step by step to white sorghum flour, made it into bread, and measured the volume and texture. We used Metolose MCE4000, SFE4000 and SE50 (manufactured by Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.) as thickening polysaccharides. Adding MCE4000 produced the greatest improvement effect; when 1.00% was added, the bread rose better. However, adding 1.25% was preferable in terms of structure and texture, and was considered suitable for adding to white sorghum bread. We performed a sensory evaluation of bread with 1.25% MCE4000 added and bread with 1.25% SE50 added, against a control. Both the breads with MCE4000 and SE50 were evaluated as better overall.

はじめに

雑穀は、小麦と比較してビタミンやミネラル、食物繊維を多く含み、栄養価が高い。近年、家庭の食卓でも雑穀粒を米に混ぜ込んで食することは珍しくなくなってきた。しかし、パン食では小麦パンが主流で、雑穀粉を主材料として調製したパンはあまり一般的でない。著者はこれ

まで、雑穀粉を用いたパンの調製法を確立するために検討を行ってきた。その結果、雑穀粉と基本的な副材料を使用してパンが調製できることが明らかになった¹⁾。しかし小麦パンと比較して、雑穀粉で調製したパンは体積が小さくて硬く、食味や風味が独特で、かなり改良を加える必要があった。

検討した雑穀の中で、ホワイトソルガムはイネ科モロコシ属の植物で、小麦アレルギーの対応食材として知られている。広くスーパーマーケット等で市販されているため、キヌアやアマランサスに比べて手に入れやすい。その調理特性については、いくつか研究報告がされている^{2,3)}。製パンについては、ホームベーカリーを使用して加水量を検討した報告等がある^{4,5)}。

ホワイトソルガムはタンニンを除去し、無味無臭で食べやすいといわれている。しかし既報¹⁾で報告したホワイトソルガムパンは、苦味に近いえぐ味があり、かなり改良を加える必要があると考えられた。また、パンのすだちは気泡構造を維持しているものの、膨らみが悪く、硬くてぱさついていた。そこで、主食用の雑穀粉食パンの開発に向けて、まずはパンの膨らみを増して食感を改良するために増粘多糖類を添加し、製パン性に与える影響を検討することにした。

著者はこれまで、ミキサーでパン生地を調製し、一次発酵、パンチ、二次発酵、マフィン型で焼成、という手順でパンを調製してきた。しかし、より簡便にパンを調製するために、本研究ではホームベーカリーを使用した。

1. 実験方法

(1) 材料

原材料として、ホワイトソルガム粉(国産:中野産業(株))、グラニュー糖(フジ日本精糖(株))、無塩バター(よつ葉乳業(株))、食塩(財団法人塩事業センター)、ドライイースト低糖パン用赤ラベル(S.I.Lesaffre(フランス))、イオン交換水を使用した。アレルギー対応食品への展開を考慮すると、油脂は乳製品のバターを使用するのではなく、植物性油脂を使用した方がよいが、予備実験で、バターを使用した方が風味良く焼き上がることが分かったため、本研究では無塩バターを使用した。使用したホームベーカリーの仕様書に、気温が30℃を超える場合の適した水温が5℃という記載があったため、イオン交換水を冷蔵庫で保管し、水温は5℃

に統一した。また、増粘多糖類は、メチルセルロース(以下、MC)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(以下、HPMC)を使用した。MCは、メトローズ(MCE4000,信越化学工業(株))、HPMCは、同(SE50,SFE4000,同社製)の3種を用いた。以下、MCE4000,SE50,SFE4000と表記する。

メトローズは、冷水中に溶解し、その水溶液はある温度以上になるとゲル化、または白濁沈殿し、冷却すると元の状態に戻る可逆的熱ゲル化性質をもつ。また、界面活性効果を示し、乳化剤としての働きも期待できる食品添加物である。ADIは定められていないが、MCは、使用基準が2%である。

(2) パンの調製

パンは、既報の配合割合を基準に調製した。すなわち、ホワイトソルガム粉100に対して、加水量130%、グラニュー糖5%、無塩バター5%、食塩1%、ドライイースト2%で調製し、このパンをコントロールとした。予備実験で、メトローズを0.5%添加して調製したところ、あまり改善効果がなかったため、雑穀粉の重量に対して1.00%~1.75%まで、段階的に添加した。まず、ボウルで雑穀粉250gとメトローズをホイッパーでよく攪拌して均一にした。家庭用ホームベーカリー(B-B67,(株)シー・ピー・シー)のパンケースに、水温5℃のイオン交換水を325g入れ、バター12.5g、グラニュー糖12.5g、食塩2.5g、ホワイトソルガム粉とメトローズを攪拌したもの、ドライイースト5gを入れ、早焼きコース(一連の工程1時間58分)で調製した。焼成後はすぐに取り出し、室温で1時間放冷した後、測定に供した。

(3) パンの比容積

パンの体積を菜種法で測定し、重量で除して比容積の値を求めた。

(4) テクスチャー解析

室温で放冷したパンの中央部分のクラムを、直方体(W20mm×D20mm×H20mm)に切り出して測定試料とした。クリープメーター(レオナーRE2-3305B,(株)山電)を使用し、直

径 16 mm の樹脂製円柱型プランジャーで、ロードセル 20 N、測定速度 1 mm/s、歪率 75%、の条件で 2 回圧縮した。

(5) 官能評価

パンのクラムを、テクスチャー測定と同様に、20 mm 角の直方体に切り出し、試料とした。基本配合で調製したパン（コントロール）を基準として、採点法で評価した。評価項目は、識別評価として、きめの細かさ（-2: 非常に粗い, -1: やや粗い, 0: 基準, 1: やや細かい, 2: 非常に細かい）、しっとり感（-2: 非常にパサつく, -1: ややパサつく, 0: 基準, 1: ややしっとり, 2: 非常にしっとり）、軟らかさ（-2: 非常に硬い, -1: やや硬い, 0: 基準, 1: やや軟らかい, 2: 非常に軟らかい）、嗜好性の評価として、舌触り（-2: 非常に好ましくない, -1: やや好ましくない, 0: 基準, 1: やや好ましい, 2: 非常に好ましい）、味（同様）、風味（同様）の計 6 項目とした。パネルは十文字学園女子大学人間生活学部食物栄養学科の、20～22 歳の女性 20 名で実施した。官能評価の実施にあたり、人を対象とする研究に関する本学研究倫理委員会の承認を得た。

(6) 統計処理

SPSS21J for Windows を用い、一元配置分散分析を行った。さらに、Bonferroni の多重比較を行った。統計学的有意水準は 5% 未満とした。

3. 結果と考察

(1) パンの外観と断面写真

コントロールおよび、MCE4000、SFE4000、SE50 を添加して調製したパンの断面写真を図 1 に示す。ホームベーカリーで調製すると、コントロールはマフィン型で調製したときと同様にあまり膨らまず、パン上面の中央部分がケービングを起こしていた。また、すだちは粗く、気泡は大きくて不均一であり、ぼそぼそしていた。

SE50 と SFE4000 を添加した場合、添加量が増すと、まずパン上面全体の高さが増して角食パンのようになり、表面はひび割れた。1.75% 添加すると中央部分が膨らんで山型になった。

MCE4000 でも同様だったが、1.75% 添加するとパン上面の色が白っぽく変色し、ひび割れしなかった。

MCE4000 を添加した場合、添加割合が増すとすだちは細かくなった。しかし 1.50% 添加するとかなり詰まった感があり、1.75% 添加するとスポンジ状になった。また一部で気泡構造を維持していなかった。SFE4000 を添加すると、1.00% 添加ではケービングを起こし、1.25% 添加までは、すだちが不均一だった。SE50 を添加した場合、1.00% 添加では他の 2 種と比較してすだちが最も粗く、コントロールに近い状態だったが、1.25% 添加すると細かくなった。SFE4000 も SE50 も 1.75% 添加すると目が詰まり粗くなった。

(2) パンの比容積とテクスチャー

パンのかたさと比容積の関係を図 2 に示し、凝集性の結果を図 3 に示す。添加したメトローズ 3 種の中では、MCE4000 を添加したパンが、どの添加割合においても体積が大きく、比容積の値は大きかった。最も比容積の値が大きくなったのは MCE4000 を 1.00% 添加して調製したパンで、1.87 cm³/g だった。コントロールと比較して、MCE4000 を添加するとクラムは軟らかくなり、1.50% 添加したときに最も軟らかくなった。しかし 1.75% 添加するとかたさが増した。コントロールと、MCE4000 を 1.50% および、1.75% 添加したときのかたさには有意差が認められた ($p < 0.05$)。凝集性の値は 1.25% 添加までは増加し、最も軟らかかった 1.50% 添加のときには減少し、1.75% 添加時には増加した。

SFE4000 は、1.25% 添加するとクラムは軟らかくなったが、コントロールと比較して有意差は認められなかった。比容積の値には大きな変化がなく、改善効果が認められなかった。凝集性の値は、SFE4000 の添加割合が増すと増加した。SE50 を添加した場合、かたさと凝集性は MCE4000 と類似した傾向を示したが、比容積には大きな変化がなかった。1.50% 添加したときに最もクラムが軟らかくなり、コントロール

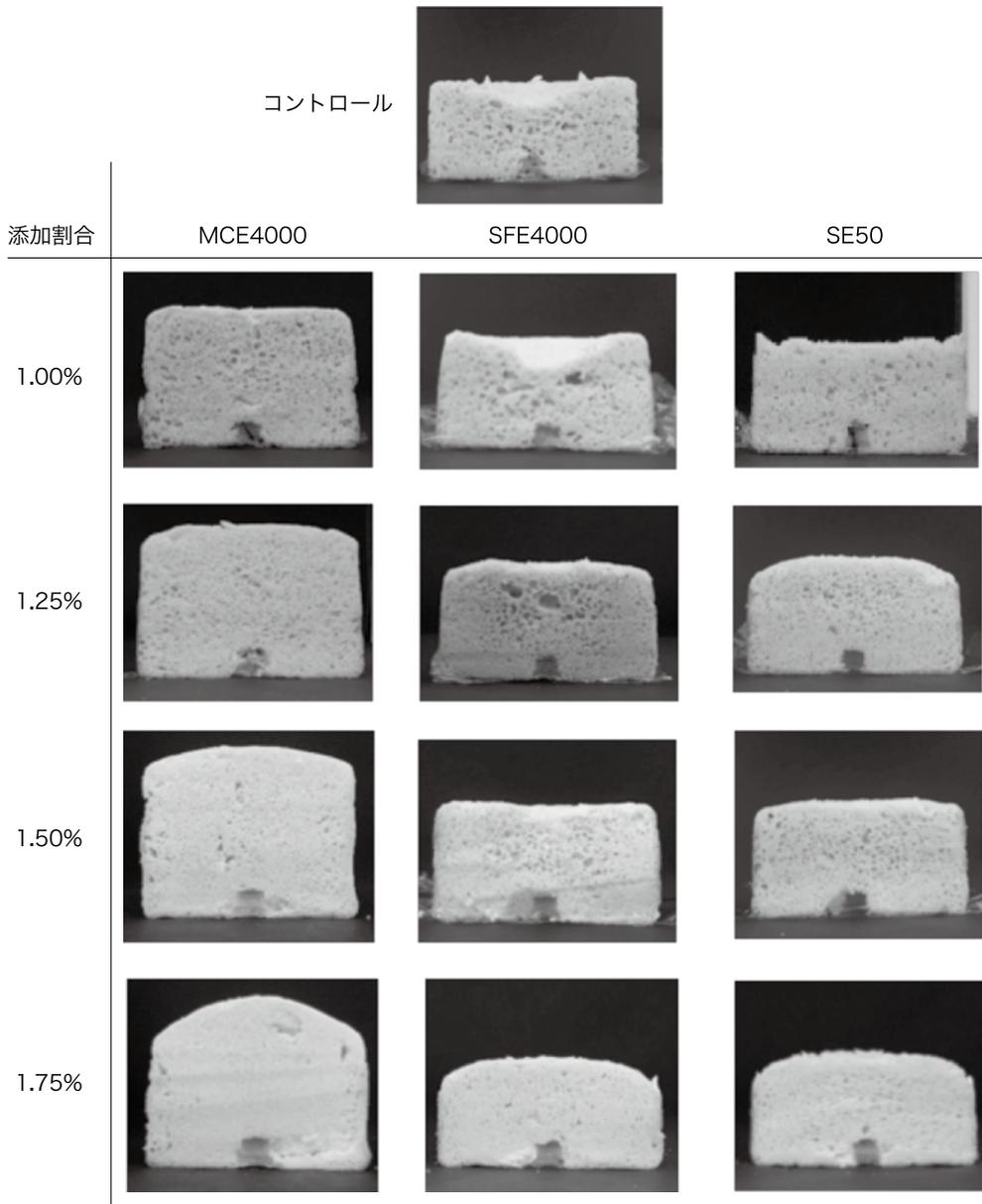


図1 メトローズを添加して調製したパンの断面

と比較して有意差が認められた ($p<0.05$)。

付着性については図に示さなかったが、SFE4000とSE50を添加すると、添加割合が高くなると付着性の値が増加した。全般に最も値が小さかったのはMCE4000を添加した場合で、1.25%添加した時の付着性の値が最も低かった。一方、最も値が高かったのはSFE4000を1.75%添加した場合だった。

以上の結果より、最も比容積の値が大きかったのは、MCE4000を1%添加して調製したパンだった。しかし、すだちの状態は1.25%添加したほうが均一だった。また、かたさは1.50%添加したパンの値が最も低くて軟らかかったが、すだちは目が詰まり、付着性が増加した。総合的に、MCE4000を1.25%添加して調製したパンは、コントロールと比較して比容積の値

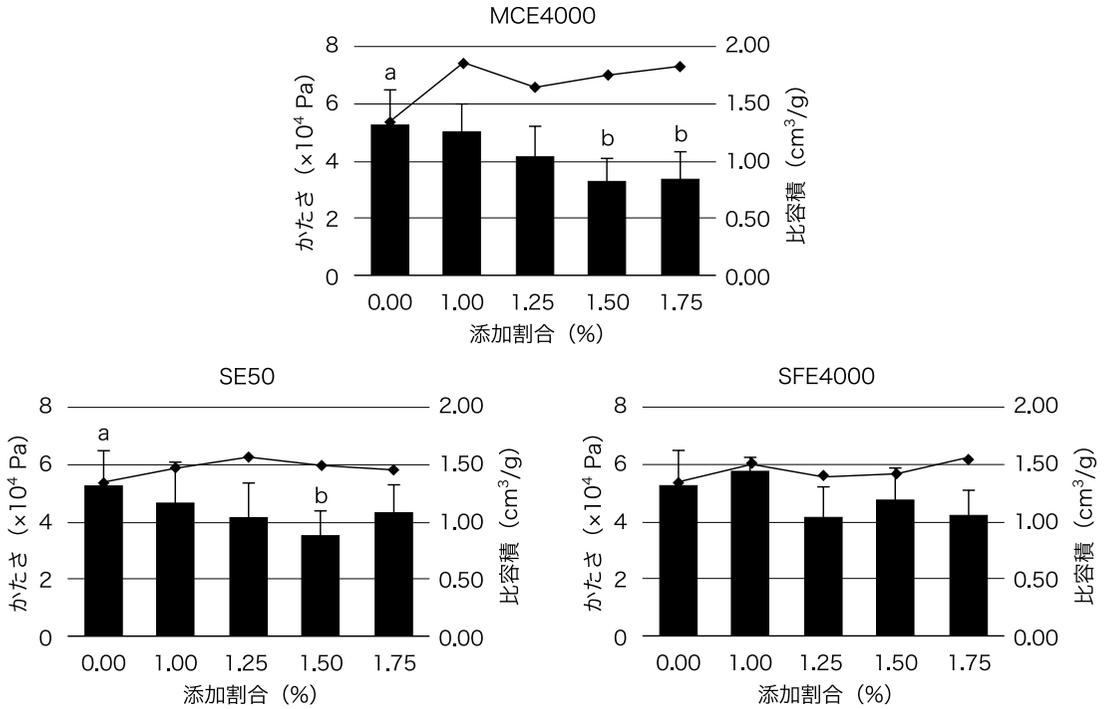


図2 メトロースを添加して調製したパンの比容積とかたさの関係
 ■ かたさ -◆- 比容積 ab間に有意差あり 有意水準 $p < 0.05$

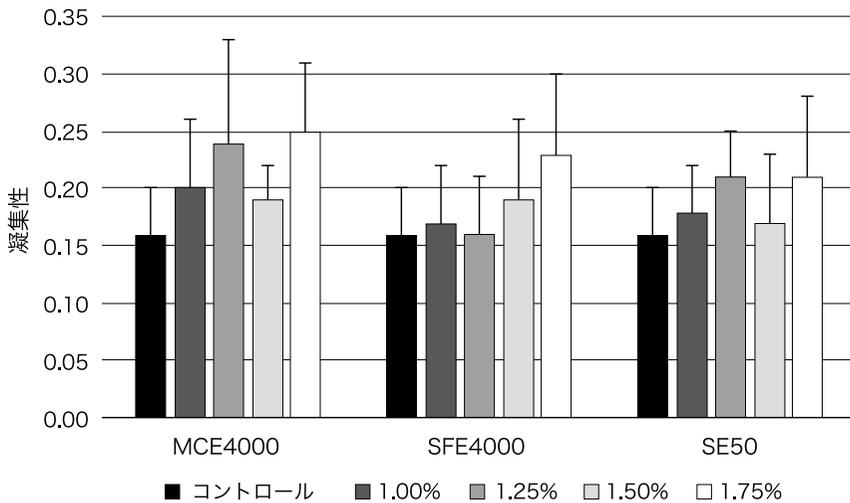


図3 メトロースを添加して調製したパンの凝集性

が大きく、すだちが整ってクラムは軟らかく、最も改善効果があったと考えられた。

(3) 官能評価

調製したパンの中から、比容積が大きくてすだちが整い、コントロールと比較してクラム

が軟らかかった MCE4000 を 1.25% 添加して調製したパン (以下 MCE4000 パン) を評価することにした。比較対象として、SE50 を 1.25% 添加したパン (以下 SE50 パン) を選択した。SE50 パンは、MCE4000 パンより比容積は小さ

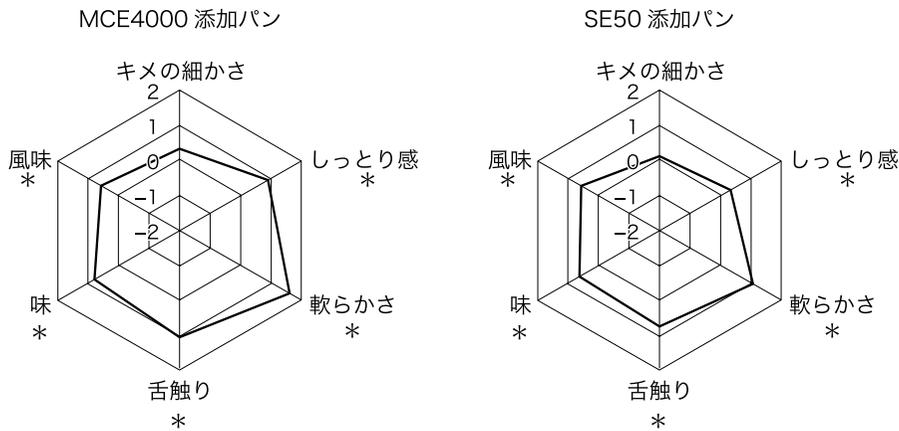


図4 メトロージを添加して調製したパンの官能評価 (n=20)
* : コントロールと比較して有意差あり (p<0.05)

いが、かたさは同程度のパンである。

評価の結果を図4に示す。6つの全ての項目において、メトロージを添加した2種類のパンは、コントロールよりも高い評価を得られた。また、MCE4000パンは、SE50パンより、高い評点を得た。

評点の平均値を解析したところ、まず、キメの細かさはMCE4000が0.35点、SE50は0.20点で、コントロールと比較して有意差は認められなかった。しっとり感は、コントロールと比較してSE50パンには有意差が認められなかったが、MCE4000パンとの間には有意差が認められた。コントロールの内相はかなりぼそぼそしていたが、MCE4000を添加することでしっとり感が増した。

全ての項目の中で、最も評点が高くなったのは軟らかさだった。コントロールと比較してMCE4000パンもSE50パンも、ともに有意差が認められた。

嗜好性の評価項目である舌触りの好ましさも、MCE4000とSE50を添加すると評点が増し、有意差が認められた。味と風味も同様だった。これらの結果より、MCE4000とSE50を1.25%添加したパンは、コントロールと比較すると全ての項目で高い評点となり、特に軟らかさ、舌触り、味、風味については、両者ともに有意差が認められ、軟らかく、総合的に好まれるパン

だと評価された。有意差は認められなかったものの、きめの細かさはコントロールと比較して共にプラスの点数となり、メトロージの添加によってすだちにも改善効果が得られていると考えられた。

味の好ましさについては、コントロールと比較して評点が高く、有意差も認められた。しかし、メトロージを添加する以外に材料は変更しておらず、増粘多糖類を添加することによって味が改善されたとは考えにくい。クラムが軟らかくなり、しっとり感が増して食感が変化した結果、味や風味が改善されたと感じられたのではないかと考えられた。

ホワイトソルガムパンにMCおよびHPMCを添加してパンを調製したところ、今回使用したメトロージ3種の中で、最も効果が認められたのは、MCE4000(MC)だった。最もパンの膨らみの改善効果がみられたのはMCE4000を1.00%添加した場合であったが、すだちの状態や食感から、1.25%添加の方が好ましく、ホワイトソルガムに添加するのに適していると考えられた。官能評価の結果、コントロールと比較すると、MCE4000パンもSE50パンも総合的に好まれるパンだと評価されたが、あくまでもコントロールと比較しての評価であり、おいしいパンを調製するには、まだまだ改良が必要

である。今回の官能評価の際、同時に行ったアンケートでは、「どのようなパンをおいしいと思うか」という質問に対して、しっとり・ふわふわ・軟らかいといった回答が多く得られた。

これらは小麦パンの特徴である。今後は、さらに食感の改良を図り、雑穀粉の特徴を生かした、主食用として美味しく食べやすいパンの開発を目指して検討を重ねていきたい。

謝辞

本研究は、公益財団法人ひと・健康・未来研究財団の2016年度研究助成によりまとめたもので、ここに謝意を表します。また、本研究の遂行につき、メトローズをご提供下さいました信越化学工業株式会社様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

1. 石井和美, 早川あつ美, 藤井恵子: 雑穀で調製したグルテンフリーパンの製パン性. *日本調理科学会誌*, **51**(2): 89-96, 2018.
2. 河野由香里, 土屋京子, 長尾慶子: ホワイトソルガム粉の調理特性と調理食品への応用適性について. *日本調理科学会誌*, **45**(5): 332-338, 2012.
3. 木下枝穂, 久保倉寛子, 津田淑江: ホワイトソルガム粉の食品への影響と活用. *共立女子短期大学生活科学科紀要*, **49**: 67-71, 2006.
4. 土屋京子: ホワイトソルガム粉のパン品質に対する添加水分の影響の違い. *New Food Industry*, **59**(11): 29-37, 2017.
5. 藤井恵子, 佐藤菜穂子, 肥田由紀子: 小麦粉代替食材としての雑穀ホワイトソルガムを用いたパンの特性. *栄養学雑誌*, **65**(5):308, 2007.

連絡先: 石井 和美
十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科
食物栄養学専攻
E-mail da18001@jumonji-u.ac.jp

沿岸（里海）環境からの乳酸菌 および酵母の分離と応用

久田 孝 (KUDA Takashi)*

* 東京海洋大学 学術研究院 食品生産科学部門

Key Words：沿岸環境 里海 乳酸菌 酵母 発酵 機能性

はじめに

わが国の長い海岸線には多種多様な景観が存在している。里海とは柳氏により「人手が加わることで生物多様性と生産性が高くなった沿岸海域」と定義され¹⁾、環境省においても同様に提唱している。そこは、人と自然の領域の間にあるエリアで、里山と同じく人と自然が共生する場所であり、伝統的な漁業、社会組織、食文化が生まれ、伝承されてきた場所である。環境中に生息している微生物は、基本物資の循環に大きく貢献しており^{2,3)}、その一部は水産物、発酵食品、残渣・廃液処理等を介して、人々の暮らしと係わっている^{4,6)}。スクリーニング時代とも呼ばれる20世紀前半から、抗生物質など医薬候補物質産生菌、レンネットなど有用酵素産生菌、調味料に用いられるアミノ酸や核酸関連化合物などを生成する菌など、様々な環境由来の有用微生物の探索が行われてきた⁷⁾。現在でも国内外の多様な伝統的発酵食品や極限環境中からの微生物探索は精力的に行われており⁸⁻¹⁰⁾、それぞれの厳しい環境へ対応して進化したと考えられる遺伝子は、現在の様々な分野の工業製品、環境浄化、医療、研究に応用されている¹¹⁻¹³⁾。筆者らの研究室では身近な沿岸域＝里海環境を

微生物の分離源とし、分離される乳酸菌および酵母のうち、人間にとって有用な機能を持つものを「里海乳酸菌・里海酵母」と位置づけ、まだ小規模であるが菌株の選抜・保存と、性状、発酵および機能性試験を行ってきた。本稿ではその内容のいくつかを紹介したい。

1. 水産発酵食品由来乳酸菌

1-1. ナレズシ系とイズシ系

石毛およびラドルは「魚醤とナレズシの研究¹⁴⁾」において、モンスーン・アジア地域に



図1 ナレズシ系とイズシ系の分布「日本の食品事典」農文協より筆者らが作図¹⁵⁾

は魚と塩と米を用いた発酵食品、いわゆるナレズシ系の文化が水稻栽培とともに広がっていることを示しており、その文化は、日本でも古くは本州全域に広がっていたと考えられる。現在でもこのプロトタイプ（ナレズシ系）が近畿地方、特に琵琶湖周辺で伝承されているが(図1)、関東以北では麴によって発酵を早める、いわゆるイズシ系の傾向がある¹⁵⁾。北陸地域はその中間に位置し、ナレズシ系およびイズシ系の両方の食文化が残っている。

地域を石川県に絞った場合、加賀地区ではイズシ系の「かぶらずし」や「だいこんずし」が製造されており、奥能登地域ではより古いナレズシ系が伝承されている(図2)。奥能登は伝統的な魚醤の生産地でもあり、石毛らの指摘した魚醤とナレズシのかかわりと一致している。

1-2. ナレズシ乳酸菌

能登において、古くは山間地区でウグイ、アユ、サケなど川魚のナレズシが作られてきたが、近年では川魚が獲れなくなったこともあり、マアジを材料にすることが多く、港周辺の町で多く作られている¹⁵⁾。製造法は各家庭、加工所で異なるが、おおむね、①鮮魚の鰓・内臓・眼球の除去、②塩蔵(塩分18-33%)、③酢漬け(数秒-5時間)、④本漬け(魚の半分-同量の米飯、図2)、⑤発酵・熟成(1.5か月から1年以上)という流れである。本漬け後すぐに乳酸菌が増加し8 log CFU/gになり、乳酸量も3%以上に達する典型的な乳酸発酵食品であるが、熟成1年を越したものでは生菌数は6 log CFU/gに減少する¹⁶⁾。

分離乳酸菌を酸性培地や胆汁含有培地でスクリーニングした結果、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus rennini* 類縁株、*Leuconostoc mesenteroides* などが選抜された。このうち、*Lb.*

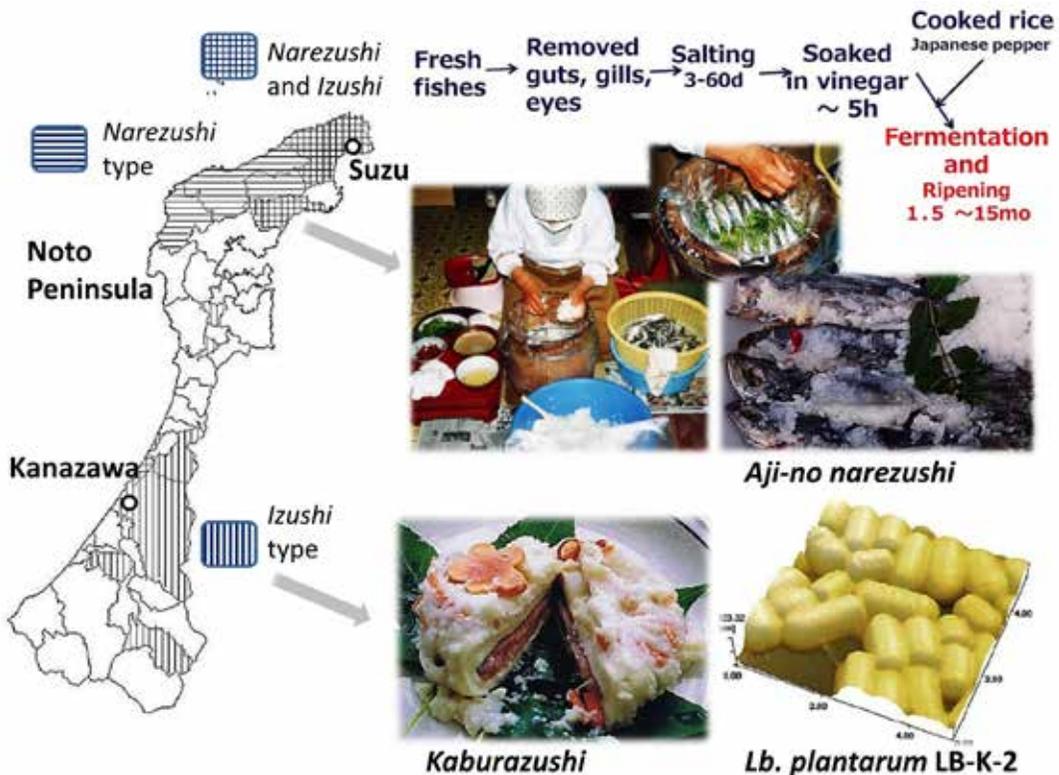


図2 加賀・能登のナレズシ系とイズシ系(かぶらずし、だいこんずし)の分布。各(旧)市町村史誌等より筆者らが作図¹⁵⁾

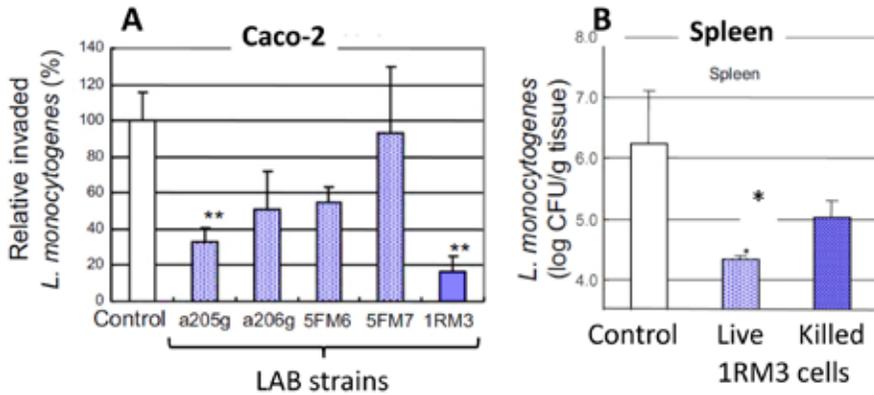


図3 あじのなれずし由来 *Leuconostoc mesenteroides* 1RM3 によるリステリア菌のヒト腸管上皮様 Caco-2 細胞 (A) および A/J マウス脾臓 (B) への侵入の抑制¹⁹⁾ * , ** Control と比較して有意差あり: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

plantarum AN6 株に胆汁酸低減能が認められ、自己凝集性や菌体外多糖類がかかわることが推測された¹⁷⁾。*Lb. rennini* 類縁 K1 株にはグルタミン酸脱炭酸活性 (γ -アミノ酪酸生成能) が認められ、酸性環境での生残性とのかかわりが推測された¹⁶⁾。サバのナレズシからの分離菌のうち抗酸化活性を指標に選抜した *Ln. mesenteroides* 1RM3 は¹⁸⁾、ヒト腸管上皮様 Caco-2 細胞および A/J マウスへのリステリア菌の侵入を抑制し (図 3¹⁹⁾)、マウスマクロファージ RAW264.7 細胞およびデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) で誘導した炎症性腸疾患 (Inflammatory bowel

disease: IBD) モデルマウスにおける炎症抑制作用も示した²⁰⁾。

アジナレズシ由来の *Lb. plantarum* AN1 も IBD モデルマウスで炎症抑制作用を示し、その際に盲腸内在の *Lb. reuteri* の増加が認められ (図 4²¹⁾)。投与乳酸菌による常在乳酸菌の活性化が宿主に有効に働いたと考えられる。

1-3. かぶらずし乳酸菌

かぶらずしは塩漬けたブリの切り身を塩漬けたカブに挟み込み麴とともに発酵させる加賀地区の伝統的な乳酸発酵食品で (図 2), 冬 (正

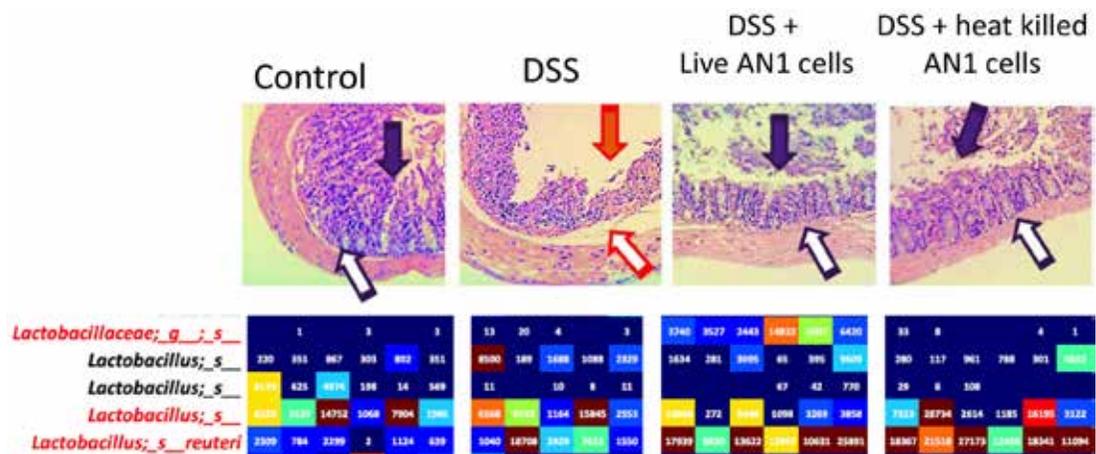


図4 DSS による炎症性腸疾患 (IBD) モデルマウスにおけるあじのなれずし由来 *Lactobacillus plantarum* AN1 の炎症抑制効果²⁰⁾

飲料水中の DSS により大腸の粘膜層と基底層の損傷が認められるが、あらかじめ AN1 を摂取し続けているマウスでは明らかに炎症が抑制され、腸内の *Lb. reuteri* の増加が認められる。

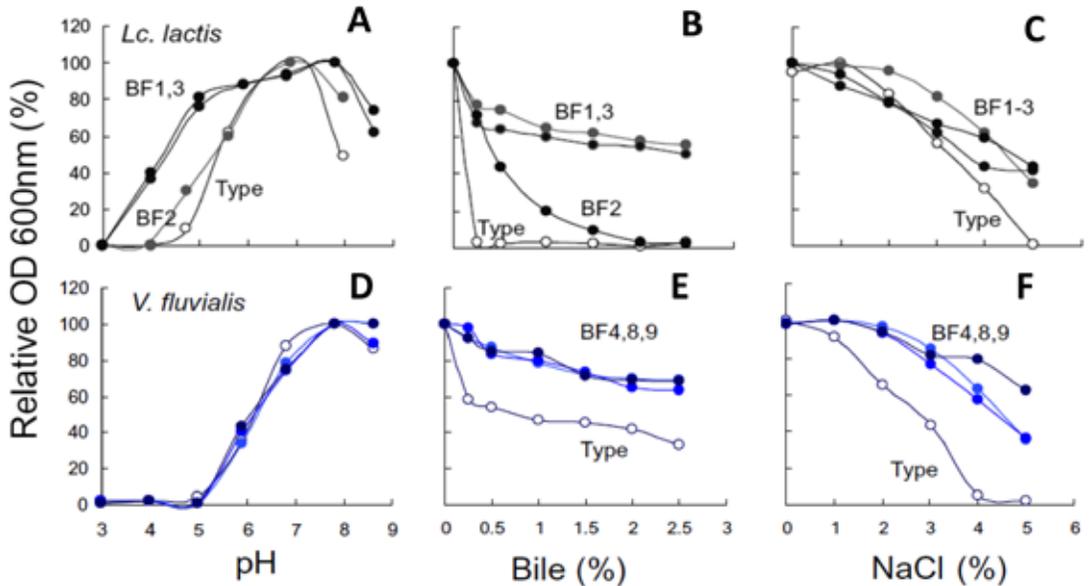


図5 シロサケ腸管分離 *Lactococcus lactis* (BF1, 2, 3), *Vagococcus fluvialis* (BF4, 8, 9) とその基準株 (Type) の増殖におよぼす pH (A, D), 胆汁濃度 (B, E), および塩分 (C, F) の影響²⁴⁾

月)のハレの食品でもある。また、だいこんずしは、より庶民的な食材のダイコンと身欠きにしんを用いて同様に漬け込んだものである。かぶらずし、だいこんずしとも、原料中には4 log CFU/g 程度の雑菌が存在しているが、伝統的な方法で漬け込まれた場合、開始3日後には乳酸菌数が8 log CFU/g 以上になり、漬け込み7日後には乳酸量は1%以上、pHは4.5以下に低下し、雑菌は検出されなくなる²²⁾。しかし、お土産用に市販されている製品の乳酸含量はいずれも低く(0.5%未満)、その中には、乳酸菌数が5 log CFU/g 以下、乳酸がほとんど含まれず、酢酸含量が高い乳酸発酵食品とはいえない製品もあった。

かぶらずし分離乳酸菌から、酸性培地を用いて選抜した *Lb. plantarum* LB-K-2 でダイコンや牛乳を発酵した際、スーパーオキシドアニオンラジカル (O_2^-) 捕捉能が付加された²³⁾。

2. 魚類腸管由来乳酸菌

2-1. 魚類腸管から分離される乳酸菌

筆者らの経験では、魚類腸管内容物の乳酸菌数はそれほど高くはなかったが、通常の

de Man, Rogosa, Sharp (MRS) ブロスや Gifu Anaerobic Medium (GAM) ブロスなどで増菌すると、*Lactococcus* 属、*Leuconostoc* 属などの乳酸球菌が分離され、酸性培地や胆汁添加培地を用いると *Lb. plantarum* などの乳酸桿菌が分離された。例えば、北海道羅臼港で水揚げされたシロサケの腸内容物から *Lactococcus lactis*, *Ln. mesenteroides* が分離され、さらに性成熟が認められない鮭児(非常な高値がつく)からは *Vagococcus fluvialis* が分離された²⁴⁾。その分離菌の多くは、その基準株より高塩分、酸性、胆汁存在下での増殖能が高かった(図5)。また、通常の成魚と未成熟の個体で分離菌が異なることも興味深く、*Vc. fluvialis* は養殖魚へのプロバイオティク効果の報告例もある²⁵⁾。

一方、三陸沿岸で水揚げされた魚介類の腸内容物を酸性培地、胆汁含有培地に加え増菌した場合には、ウミタナゴ、クロソイから *Lb. plantarum* が、ゴマサバから *Pediococcus pentosaceus* が分離された²⁶⁾。

2-2. 魚類腸管由来乳酸菌の機能性

これらの魚類腸管由来株のうち、シロサケ由

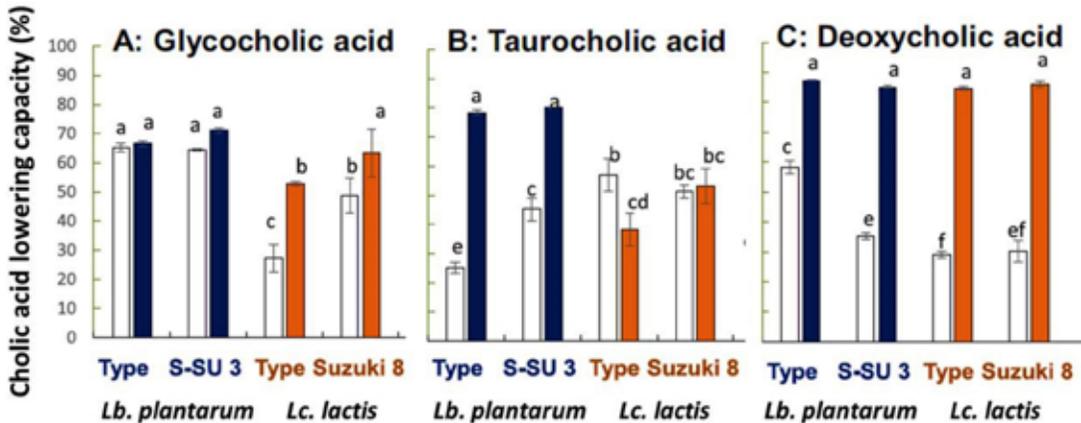


図6 魚類腸管由来乳酸菌 (S-SU 3, Suzuki 8) およびその基準株 (Type) の *in vitro* での胆汁酸低減能²⁸⁾
 □: 生菌, ■: 加熱死菌。a-f 異なる文字間で有意差あり ($p < 0.05$)。

来 *Lc. lactis* BF3, ゴマサバ由来 *Pc. pentosaceus* Sanriku-SU6 などいくつかの乳酸球菌株が RAW264.7 細胞および DSS 誘導 IBD モデルマウスにおいて抗炎症性を示した^{24, 26, 27)}。一方, ウミタナゴ由来の *Lb. plantarum* Sanriku-SU3 は *in vitro* で胆汁酸(グリココール酸, タウロコール酸, デオキシコール酸)低減能を示し(図6), 高脂肪食マウスにおける肝臓中コレステロールの低下が示された²⁸⁾。Sanriku-SU3 の加熱死菌体は *in vitro* で生菌体よりも効果が高かったが, マウスにおいては生菌の効果が高い傾向であった。

2-3. *p*-ニトロフェノール低減能

p-ニトロフェノール (PNP) は芳香族炭化水素で, かつては医薬品・農薬の重要な原料として使用されてきたが, 環境汚染物質のひとつとされ, 魚介類に対する毒性も報告されている。これまでに環境浄化に用いるため, 工場廃液で汚染された土壌や河川などから芳香族炭化水素分解菌の探索がなされており, グラム陰性好気性細菌の *Pseudomonas syringae* や放線菌の仲間の *Arthrobacter aurescens*, *Rhodococcus opacus* などが報告されている²⁹⁻³¹⁾。著者らは海洋中に放出された PNP は海洋動物の腸内細菌によっても分解されることを予想し, 魚類の腸管内容物を PNP 含有 Brain Heart Infusion

(BHI) ブロスに接種し, その低減能を確認した。その結果, 漁獲域にかかわらず PNP 低減が認められ, その培養液には予想外なことに乳酸球菌 *Lc. lactis* subsp. *lactis* が増殖していた。その分離乳酸菌の PNP 低減能は分離源や株によって大きく異なり, スズキ腸内容物由来 *Lc. lactis* JS-1 に明確な PNP 低減能が認められた³²⁾。

3. 漂着海藻由来乳酸菌および酵母

3-1. 海藻の発酵

沿岸に漂着した海藻のうち利用可能なものは食用, 肥料, 飼料の他, 建材(漆喰原料など)としても伝統的に使用されてきた³³⁾。しかし, 大潮やしけの後に大量の海藻が浜に漂着し(図7), それを利用されないまま堆積した場合には, 景観の悪化や臭気の発生が問題となるため, 地元住民や行政によって焼却や埋設される。筆者らは, その漂着海藻を機能性食品素材として有効利用するため, ミネラルや多糖類の含量, 抗酸化性などを検討してきた³⁴⁾。近年ではさらに, 機能性と食味の改善を目的に, 海藻発酵が可能な乳酸菌および酵母の探索を行っている。

これまでに, 三陸, 三浦半島, 能登地域の漂着海藻から分離した *Lb. plantarum* を用いて各種海藻の熱水抽出液の発酵能を検討した結果, 褐藻類ではワカメ(メカブ), アカモクが, 紅



図7 石川県珠洲市(左), 千葉県銚子市(右) 沿岸に打ちあげられ堆積した海藻。

藻類ではフノリ類が、緑藻類ではヒトエグサがよく発酵された³⁵⁻³⁸⁾。メカブの発酵抽出液ではO₂⁻捕捉能が上昇しており、*in vitro*での抗炎症性とDSS誘導IBDモデルマウスでの改善作用、また*in vitro*でのアルブミン-フラクトース系における抗糖化性の上昇が示された。

カジメ類(カジメ, アラメ, クロメ, ツルアラメ)は大型の褐藻類でとくに漂着量が多く、一部は食用とされるものの、堆積量が多い。カジメ類には海藻ポリフェノールと呼ばれるフロログルシノール化合物が多く含まれており、抗酸化性、抗糖化性だけではなく抗菌性も示す^{34, 39)}。そのため乳酸菌による発酵はワカメやフノリよりも難しいが、現在、発酵能の高い乳酸菌株の分離

と、スターターの組み合わせによる発酵について検討している⁴⁰⁾。

3-2. 漂着海藻由来酵母の酒類醸造特性

清酒は醸造協会が頒布しているきょうかい酵母を用いることにより、品質は安定している。一方、近年では清酒においても地域性や味の多様性が望まれ、各地の研究機関において、はなやかな風味をつくりだす酵母の育種や、地元ゆかりの花や果物からの天然酵母の探索が行われている。筆者らもこれまでに、石川県内の市町村の花から*Saccharomyces cerevisiae*を分離し、そのうちのひとつは地元の酒米を地元の酒蔵で仕込んで醸造され、町おこしにも役立っている^{41, 42)}。

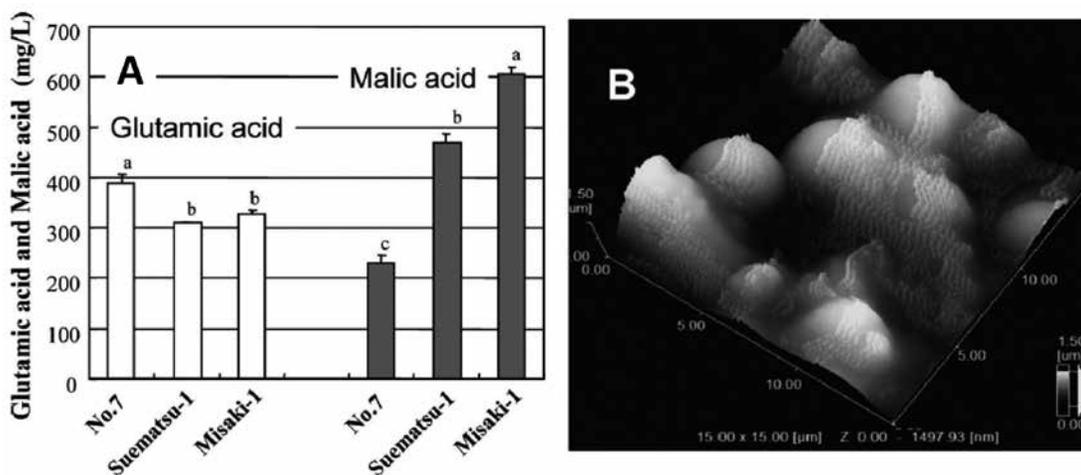


図8 清酒小仕込試験もろみ中のグルタミン酸Naおよびリンゴ酸濃度におよぼす*S. cerevisiae*菌株の影響(A), *S. cerevisiae* Misaki-1株を用いたもろみの原子間力顕微鏡(AFM)観察像(B)

漂着海藻からの *S. cerevisiae* の分離も続けており、これまで、能登半島先端の珠洲市沿岸、宮城県気仙沼沿岸、千葉県銚子沿岸の漂着海藻から分離されている。このうち、珠洲市沿岸へ漂着した海藻由来の *S. cerevisiae* Misaki-1 を用

いて小仕込試験を行ったもろみは、きょうかい酵母を用いた場合よりリンゴ酸（さわやかな酸味を有する）の濃度が高く（図8）、地元の酒蔵で試験醸造した清酒は、はなやかな風味となった。他の地域沿岸からの「里海酵母」につ

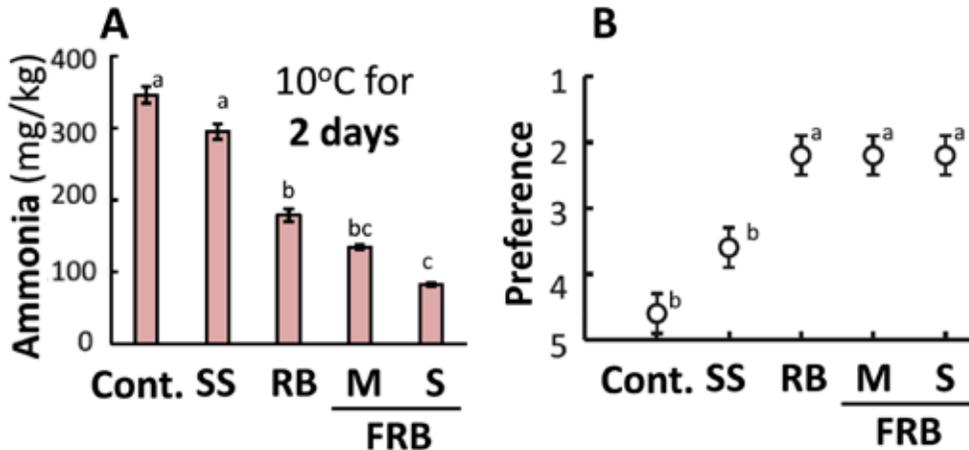


図9 三陸沿岸海藻由来乳酸菌 *Lb. plantarum* Sanriku-SU8 および *S.cerevisiae* Misaki-1 で発酵した糠汁 (FRB) を用いた浸漬によるネズミザメ肉中のアンモニアの低減 (A) と嗜好性 (おいしさ) 順位⁴⁴⁾

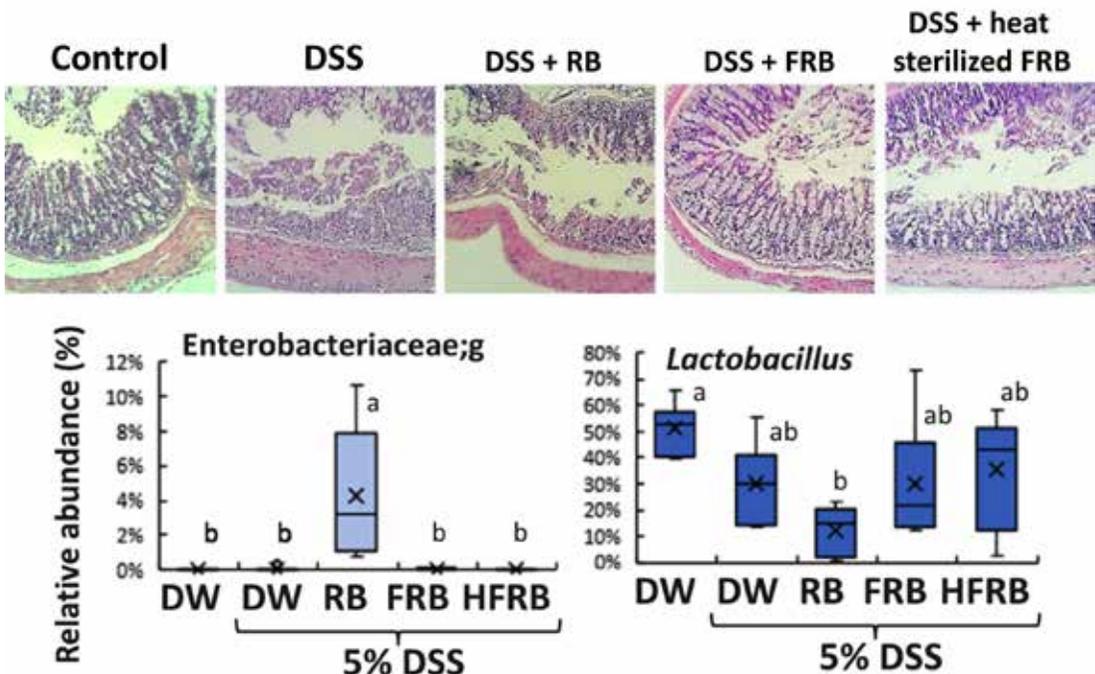


図10 DSS 誘導 IBD モデルマウスにおける糠汁 (RB) と発酵糠汁 (FRB) の影響^{45, 46)}。大腸の炎症は FRB によって明確に抑制され、RB では腸内細菌科 *Enterobacteriaceae* の増加と乳酸桿菌 *Lactobacillus* の減少が認められた。

いても地元企業に利用していただけることを期待している。

3-3. 漂着海藻由来乳酸菌・酵母で発酵した糠汁による魚臭抑制

気仙沼港は日本一のサメ水揚げ量を誇り、フカヒレ、すり身の材料だけではなく、鮮度のよいものは刺身、また切り身の状態で販売されてきた。伝統的に食用とされてきたネズミザメおよびヨシキリザメの肉は、新鮮であれば臭気はなく上質な肉質であるが、アンモニアのイメージが強く、ヒレと比較して極端に低価格となっている。

そこで筆者らは、米糠熱水懸濁液 (RB) を *S. cerevisiae* Misaki-1 と *Lb. plantarum* Sanriku-SU8 (気仙沼漂着海藻由来) で発酵したもの (Fermented rice bran; FRB) を種菌とし、10% ショ糖、5% 食塩溶液に FRB を加えた浸漬液による魚臭物質 (実際にはアンモニアよりもトリメチルアミンなど揮発性塩基窒素のおいの方が強い) の低減 (図 9) と、食味の改善 (鮮度の落ちたサメ肉のえぐみ除去、物性の改善) の方法を開発した^{43, 44)}。酵母によるおいのもととなる化学物質の資化、マスキング、タンパク質分解、乳酸菌による pH 低下に伴う浸漬中の腐

敗物質の溶出の促進、浸漬後の腐敗物質の揮発の抑制が風味、食味の改善に大きく寄与していると考えられる。

種菌として用いた FRB は糠臭が消え、さわやかな甘い香りがあり、機能性素材としても使用可能であると考えられる。RB と FRB を IBD モデルマウスに投与した場合、RB では効果が認められなかったものの、FRB では明らかな炎症抑制作用が認められた (図 10⁴⁵⁾)。腸内菌叢を調べた結果、RB 群では腸内細菌科を含む Proteobacteria が増加し、乳酸菌が減少しており⁴⁶⁾、FRB の IBD 抑制効果にも腸内常在菌が深くかかわると考えられる。

おわりに

上記のように、これまでは系統的な研究とはいえませんが、水産物の品質、機能性を付加するために微生物を探索してきた。分離・保存された菌株は耐塩性だけではなく、各種ストレス耐性が高いものがあり、現在は、保存菌株の中から免疫賦活、抗炎症性、胆汁酸低減などを指標に再スクリーニングを行っている。今後、各菌株のゲノム情報による比較・整理が必須と考えている。

参考文献

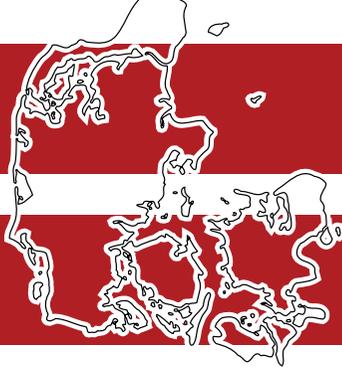
1. 柳哲雄：里海の提唱・これまで・これから。日本水産学会誌 **76**: 1025-1026, 2013.
2. Masse J, Prescott CE, Renaut S, *et al.*: Plant community and nitrogen deposition as drivers of alpha and beta diversities of prokaryotes in reconstructed oil sand soils and natural boreal forest soils. *Appl. Environ. Microbiol.* **83**: e03319-16, 2017.
3. Dang H, Lovell CR.: Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **80**: 91-138, 2017.
4. Kuda T.: Quality improvement and fermentation control in fish products, p.377-390, *Advances in Fermented Foods and Beverages*, Holzappel Ed.: Woodhead Publishing, Sawston, UK, 2015.
5. Kuda T.: Fermentation of fish-based products: A special focus on traditional Japanese products, p.355-369, *Starter Culture in Food Production*, Speranza *et al.*, Ed.: Wiley Blackwell, Chichester, UK, 2017.
6. 久田孝：水産微生物, p.265-273, 微生物の簡易迅速検査法, 五十君ら監修, テクノシステム, 東京, 2013.
7. 村尾澤夫：発酵の歴史, 「発酵ハンドブック」, p.438-440. 枥倉ら監修, 共立出版, 東京, 2001.
8. Ruas-Madiedo P, Rodríguez A.: Non-starter bacteria 'functional' cultures, p.64-78, *Starter Culture in Food Production*, Speranza *et al.*, Ed.: Wiley Blackwell, Chichester, UK, 2017.

9. Olsson-Francis K, de la Torre R, Cockell CS.: Isolation of novel extreme-tolerant Cyanobacteria from a rock-dwelling microbial community by using exposure to low earth orbital. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**: 2115-2121, 2010.
10. Cockell C, *et al.*: The 500-year microbiology experiment. *Astronomy Geophysics* **56**: 1.28-29, 2015.
11. 伊藤進：バイオ洗剤とスクリーニング, *生物工学* **90**: 586-589, 2012.
12. Koschorreck M.: Microbial sulphate reduction at a low pH, *FEMS Microbiol. Ecol.* **64**: 329-342, 2008.
13. Ishino S, Ishino Y.: DNA polymerases as useful reagents for biotechnology – the history of developmental research in the field, *Front Microbiol.* **5**: 465, 2014.
14. 石毛直道, ケネスラドル (1990) 魚醬とナレズシの研究, 岩波新書, 東京.
15. 久田孝, 矢野俊博：魚介類の乳酸発酵食品 – 能登のナレズシと加賀のカブラズシー, *日本食品微生物学会雑誌* **27**: 185-195, 2010.
16. Kuda T, Tanibe R, Mori M, *et al.*: Microbial and chemical properties of *aji-no-susu*, a traditional fermented fish with rice product in the Noto Peninsula, Japan, *Fisheries Sci.* **75**: 1499-1506, 2009.
17. Kuda T, Yazaki T, Ono H, *et al.*: *In vitro* cholesterol-lowering properties of *Lactobacillus plantarum* AN6 isolated from aji-narezushi. *Lett. Appl. Microbiol.* **57**: 187-192, 2013.
18. Kanno T, Kuda T, An C, *et al.*: Radical scavenging capacities of *saba-narezushi*, Japanese fermented chub mackerel, and its lactic acid bacteria. *LWT - Food Sci. Technol.* **47**: 25-30, 2012.
19. Nakamura S, Kuda T, An C, *et al.*: Inhibitory effects of *Leuconostoc mesenteroides* 1RM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on *Listeria monocytogenes* infection to Caco-2 cells and A/J mice. *Anaerobe* **18**: 19-24, 2011.
20. Yokota Y, Shikano A, Kuda T, *et al.*: *Lactobacillus plantarum* AN1 cells increase caecal *L. reuteri* in an ICR mouse model of dextran sodium sulphate-induced inflammatory bowel disease. *Int. Immunopharmacol.* **56**: 119-127, 2018
21. Kuda T, Kanno T, Kawahara M, *et al.*: Inhibitory effects of *Leuconostoc mesenteroides* 1RM3 isolated from narezushi on lipopolysaccharide induced inflammation in RAW264.7 mouse macrophage cells and dextran sodium sulphate induced inflammatory bowel disease in mice. *J. Funct. Foods* **6**: 631-636, 2014.
22. 久田孝, 庄田麻美, 森村奈々ら：金沢産かぶらずしおよびだいこんずしの微生物フローラ, *日本水産学会誌* **64**: 1053-1059, 1998.
23. Kuda T, Kaneko N, Yano T, *et al.*: Induction of superoxide anion radical scavenging capacity in Japanese white radish juice and milk by *Lactobacillus plantarum* isolated from aji-narezushi and kaburazushi. *Food Chem.* **120**: 517-522, 2010.
24. Kuda T, Noguchi Y, Ono M, *et al.*: *In vitro* evaluation of the fermentative, antioxidant, and anti-inflammation properties of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BF3 and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* BF7 isolated from *Oncorhynchus keta* intestines in Rausu, Japan. *J. Funct. Foods* **11**: 269-277, 2014.
25. Sorraza L, Padilla D, Acosta F, *et al.*: 2012. Characterization of the probiotic strain *Vagococcus fluvialis* in the protection of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis by *Vibrio anguillarum*, *Vet. Microbiol.* **155**: 369-373, 2012.
26. Kuda T, Kawahara M, Nemoto M, *et al.*: *In vitro* antioxidant and anti-inflammation properties of lactic acid bacteria isolated from fish intestines and fermented fish from the Sanriku Satoumi region in Japan. *Food Res. Int.* **64**: 248-255, 2014.
27. Nakata T, Hirano S, Yokota Y, *et al.*: Protective effects of heat-killed *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BF3, isolated from the intestine of chum salmon, in a murine model of DSS-induced inflammatory bowel disease, *Biosci. Microbiota Food Health.* **35**: 137-140, 2016.
28. Kuda T, Masuko Y, Kawahara M, *et al.*: Bile acid-lowering properties of *Lactobacillus plantarum* Sanriku-SU3 isolated from Japanese surfperch fish. *Food Biosci.* **14**: 41-46, 2016.
29. Kowalczyk A, Eyice Ö, Schäfer H, *et al.*: Characterization of para-nitrophenol-degrading bacterial communities in river water by using functional markers and stable isotope probing, *Appl. Environ. Microbiol.* **81**: 6890-6900, 2015.
30. Hanne LF, Kirk LL, Appel SM, *et al.*: Degradation and induction specificity in actinomycetes that degrade p-nitrophenol, *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 3305-3508, 1993.

31. Kitagawa W, Kimura N, Kamagata Y.: A novel p-nitrophenol degradation gene cluster from a Gram-positive bacterium, *Rhodococcus opacus* SAO101, *J. Bacteriol.* **186**: 4894-4902, 2004.
32. Kuda T, Kyoji D, Takahashi H, *et al.*: Detection and isolation of p-nitrophenol-lowering bacteria from intestine of marine fishes caught in Japanese waters. *Mar. Poll. Bull.* **62**: 1622-1627, 2011.
33. 大野正夫 編：有用海藻誌，内田老鶴圃，東京，2004.
34. Kuda T, Ikemori T.: Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. *Food Chem.* **112**: 575-581, 2009.
35. Kuda T, Nemoto M, Kawahara M, *et al.*: Induction of the superoxide anion radical scavenging capacity of dried 'funori' *Gloiopeltis furcata* by *Lactobacillus plantarum* S-SU1 fermentation. *Food Funct.* **6**: 2535-2541, 2015.
36. Kuda T, Eda M, Kataoka M, *et al.*: Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products and effect of lactic acid fermentation on the properties. *Food Chem* **192**: 1109-1105, 2016.
37. Eda M, Kuda T, Kataoka M, *et al.*: Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products harvested and made in the Miura Peninsula, Japan, and effect of lactic acid fermentation on the properties. *J. Appl. Phycol.* **28**: 3617-3624, 2016.
38. Nemoto M, Kuda T, Eda M, *et al.*: Protective effects of mekabu aqueous solution fermented by *Lactobacillus plantarum* Sanriku-SU7 on human enterocyte-like HT-29-luc cells and DSS induced murine IBD model. *Probiotics Antimicro. Prot.* **9**: 48-55, 2017.
39. Kuda T, Kunii T, Goto H, *et al.*: Varieties of antioxidant and antibacterial properties of *Ecklonia stolonifera* and *Ecklonia kurome* products harvested and processed in the Noto peninsula, Japan. *Food Chem.* **103**: 900-905, 2007.
40. Takei M., Kuda T, Eda M, *et al.*: Antioxidant and fermentation properties of aqueous solutions of dried algal products from the Boso Peninsula, Japan. *Food Biosci.* **19**: 85-91, 2017.
41. Kuda T, Matsuda A, Yasunaka H, *et al.*: Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from flower and algal beach casts in Ishikawa, Japan, using the one-step small *moromi* model, *Jpn. J. Food Microbiol.* **28**: 114-122, 2011.
42. 久田孝，矢野俊博，松田章：花および海岸漂着海藻より分離した酵母を用いた清酒小仕込試験，*日本醸造協会誌* **107**: 205-209, 2012.
43. Kuda T, Kondo S, Usami Y, *et al.*: Reduction in the ammonia content of salmon shark meat by a fermented rice bran suspension with the Satoumi-sourced yeast *Saccharomyces cerevisiae* Misaki-1 and lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* Sanriku-SU8. *LWT - Food Sci. Technol.* **68**: 244-250, 2016.
44. Kuda T, Takahashi A, Ishizaki S, *et al.*: Effect of rice bran fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* on preference ranking and ammonia content in shark and other fish meat. *LWT - Food Sci. Technol.* **84**: 58-63, 2017.
45. Kondo S, Kuda T, Nemoto M, *et al.*: Protective effects of rice bran fermented by *Saccharomyces cerevisiae* Misaki-1 and *Lactobacillus plantarum* Sanriku-SU8 in dextran sodium sulphate-induced inflammatory bowel disease model mice. *Food Biosci.* **16**: 44-49, 2016.
46. Shibayama J, Kuda T, Shikano A, *et al.*: Effects of rice bran and fermented rice bran suspensions on caecal microbiota in dextran sodium sulphate-induced inflammatory bowel disease model mice. *Food Biosci.* **25**: 8-14, 2018.

連絡先：久田孝

国立大学法人 東京海洋大学 学術研究院
食品生産科学部門（食品微生物学研究室）
〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7
email : kuda@kaiyodai.ac.jp



デンマークのサラダ

今回はデンマークで食べるサラダにまつわる食文化を紹介したいと思います。サラダは日本でもヘルシーな副菜として、食卓に並ぶことが多いと思いますが、デンマークでもヘルシーな食材として人気です。

昼食を例にとってみると、日本では、サラダは小さなポーションで副菜として食事の一部になっている場合が多いと思いますが、デンマークでは昼食にサラダを食べる場合、メインとして食べることが多いようです。サラダをどっさり大皿にいっぱい食べ、時には、ブレッドロールやパンをサラダと一緒に食べることもあります。メインはやはりサラダになります。お昼はヘルシーにサラダだけ、という人も多いですが、日本のサラダというイメージではなく、ボリュームたっぷり、お腹がいっぱいになるサラダが多くあります。例えば、シーザーサラダであれば、グリルしたチキンを切って、たくさん入れられているものや（野菜よりもチキンが多い場合もある）、パルメザンチーズを厚めにスライスしてたっぷり入っているもの、また、シーザードレッシングがしっかりあえてあるものなどが多く、お皿いっぱい食べればかなりお腹もいっぱいになる一品です。

サラダによく使われる食材を見てみると、まずナッツや種子類があります。アーモンドが刻まれたもの、ほかに松の実、くるみ、ひまわりの種、かぼちゃの種などは、よくサラダに混ぜられています。ナッツや種子類は、カロリーや栄養価も高いものが多く、野菜に混ぜるとバランスがよいのでしょ。また、サラダによく使う食材の一つに、穀物もあります。サラダに穀物？と少し抵抗がある方もいるかもしれませんが、例えば、クスクスと言われる、デュラム小麦から作るお米よりも小さな粒状の食材は、スープや肉料理にも使われますが、サラダにもよく使われます。また、ブルグルという小麦の挽き割りから作られる食材や、キヌアという、粟（アワ）などに似た小さな粒状の食材もよく使われます。ブルグルやキヌアは栄養価も高く、ヘルシー食品として知られており、これらをサラダに使うことで、お腹もちのいいヘビーなサラダになり、栄養価も高くてヘルシーということになるわけです。ヘビーなサラダといえば、日本でもありますが、パスタ（マカロニや、ペンネ、短くネジ状になったショートパスタなど）や茹でたジャガイモもサラダ食材によく使われます。

また、チーズもよくサラダの中に登場します。中でもフェタチーズというギリシャのチーズは白く塩気が強いチーズで、小さな四角の形、または、大雑把に細



お昼のbuffeteに並ぶヘビーなサラダの数々



サラダのトッピングとして並ぶ種子類やレーズン

かく砕いた形状でサラダによく使われます。パルメザンチーズであれば、前述のようにシーザーサラダに使われ、メキシカン風サラダとなれば、チェダーチーズの細切りにしたものが混ざっていることもあります。また、その他のサラダ食材としては、レーズンやクランベリーなどの乾燥フルーツも、サラダにちょっとした甘みを加えるのによく使われます。

さて、ドレッシングですが、日本では、和風ドレッシングや、フレンチドレッシング、マヨネーズなど、定番のドレッシングをかけて食べることが多いですが、デンマークでは、マヨネーズをサラダにかけて食べることはあまりありません。マヨネーズは、例えばダークブレッドと言われる黒いパンの上にエビをトッピングした際にマヨネーズをかけて食べたりと、用途は色々ありますが、日本のように野菜のサラダにつけることは少ないようです。定番のドレッシングとしては、フレンチドレッシングやマスタードドレッシング、バルサミコ酢ベースのドレッシングなど色々ですが、

バジルのペースト（オリーブオイルやパルメザンチーズ、ニンニク、松の実などと混ぜてペーストにしたものが主流）も人気です。バジルのペーストは、スパゲッティに混ぜて食べることが多いですが、サラダのドレッシングとしても普及しています。その他の味付けとしては、サラダに入っているチキンやパスタにカレー味（カレーの粉）をつけるのも人気です。

このようにサラダといっても、メインとしてしっかり食べられるサラダが多く存在するようで、昼食から夕食まで、様々なバリエーションが楽しめます。コンビニや、スーパーのお惣菜売り場に行くと、すぐに食べられる形で、パックになって売っているサラダも多いので、ぜひデンマークに来る機会があったら試してみてください。

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)

ジャノヒゲ *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker Gawl. (ユリ科 Liliaceae)

[APG 分類体系: キジカクシ科 (クサスギカズラ科) Asparagaceae]

暑かった夏が過ぎ、ようやく秋らしくなる頃、山裾の道端を歩いていると、緑色をした細長い葉の陰で穂につけたいくつもの小さな青い玉を見つけることがあります。これがジャノヒゲです。ジャノヒゲは別名をリュウノヒゲともいい、秋から冬にかけて果実のような青い玉をつけています。私の故郷、兵庫県の但馬地方では、この青い玉を「ほろほろ玉」といい、子供の頃、ヤダケ(シノベタケ) *Pseudosasa japonica* で作った「ほろほろ鉄砲」の弾にして遊んでいました。当時は何故、ほろほろ玉というのかは、考えもしませんでした。今になって思えば、「ほろ」とは、母衣^{ほろ}の意で、昔の武将が戦の折、背中に背負っていた袋に似ているからでないかと思っています。本植物は日本



写真1 ジャノヒゲ (花)



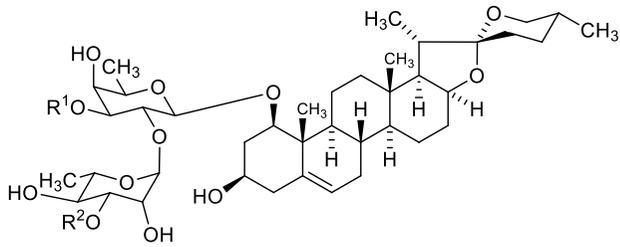
写真2 ジャノヒゲ (種子)



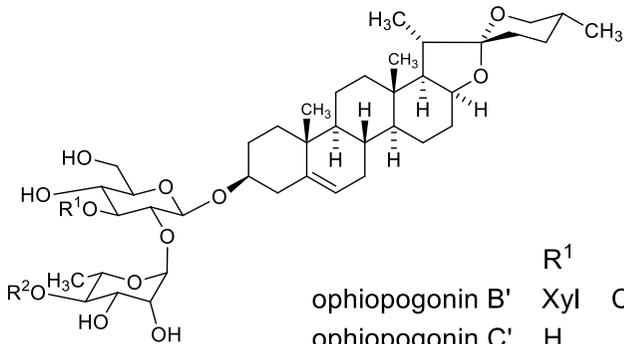
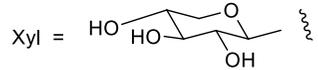
写真3 ジャノヒゲ (根と葉下部)



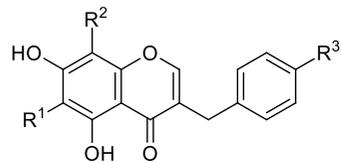
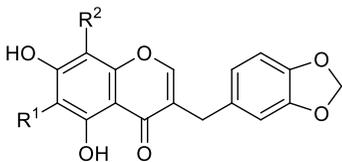
写真4 ヤブラン (花)



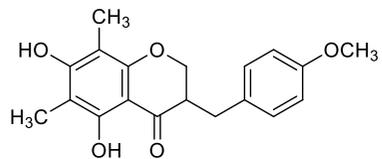
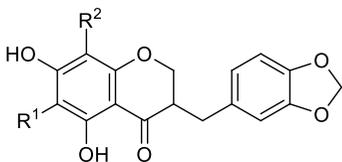
	R ¹	R ²
ophiopogonin A	H	COCH ₃
ophiopogonin B	H	H
ophiopogonin C	monoacetate	
ophiopogonin D	Xyl	H



	R ¹	R ²
ophiopogonin B'	Xyl	COCH ₃
ophiopogonin C'	H	H
ophiopogonin D'	Xyl	H



	R ¹	R ²		R ¹	R ²	R ³
ophiopogonone A	CH ₃	H	ophiopogonone B	CH ₃	H	OCH ₃
methylphiopogonone A	CH ₃	CH ₃	methylphiopogonone B	CH ₃	CH ₃	OCH ₃



	R ¹	R ²		R ¹	R ²
ophiopogonanone A	CH ₃	H	methylphiopogonanone B		
methylphiopogonanone A	CH ₃	CH ₃			

図1 成分の構造式



写真5 生薬：バクモンドウ（麦門冬）

を含む東アジアからフィリピンの森林に広く分布する高さ 10 cm ほどの多年生草本で、夏に総状花序に淡紫色の小さい花をつけ、子房は種子を 1 個含みますが、半下位で成熟前に破れて種子が露出し、青く熟します。葉の形から、ジャノヒゲ（蛇の鬚）またはリュウノヒゲ（竜の鬚）と名付けられたそうですが、ジョウノヒゲ「尉（じょう）の鬚」が転訛して、ジャノヒゲになったとする説もあります。ジョウノヒゲとは、能面で老人の面を「尉（じょう）」といい、本植物の葉をその能面の鬚（ひげ）に見立てたそうです。そういえば、蛇の髭は見たことがありま

せんし、竜は空想上の動物でもあります。

本植物の根の膨大部はバクモンドウ（麦門冬, *Ophiopogon Radix*）といい、止渴、強壯、鎮咳、去痰、鎮静などを目標に、ばくもんどうとう 麦門冬湯、ちくじょうたんとう 竹茹温胆湯、せいしんれんしん 清心蓮子飲、せいはいとう 清肺湯、ちやうとうさん 釣藤散、はんげこうぼくとう 半夏厚朴湯などに使われます。成分としては、ステロイドサポニンの ophiopogonin A, B, B', C, C', D, D' など、ホモイソフラボノイドの ophiopogonone A, B, methyl ophiopogonone A, B, ophiopogonanone A, methyl ophiopogonanone A, B など、他にオリゴサッカライド類が報告されています。また、茎は食用とされ、高知県などでは湯がいてから油揚げなどと一緒に煮て食されるそうです。また、本植物は近年、土砂崩れ防止のため、植え込みにもよく用いられています。似た植物にヤブラン *Lilium muscari* があり、こちらは子房上位で種子は緑黒色、葉も少し幅のある線状被針形です。なお、ジャノヒゲ属やヤブラン属は、新しい APG 植物分類体系^{注1)}ではキジカクシ科（クサスギカズラ科）に移されています。

連絡先：白瀧 義明

城西大学薬学部生薬学教室 shiratak@josai.ac.jp

注1) APG 植物分類体系：1998年、APG (Angiosperm Phylogeny Group; M.W. Chase ら) によって発表された葉緑体 DNA や核 DNA の遺伝子情報に基づいた新しい分類体系。2003年に改訂版“APG II”，2009年に“APG III”，2016年には“APG IV”が出されている

機能性食品素材としてのシソエキス

塩 拓磨 (SHIO Takuma)*

*株式会社アミノアップ

Key Words：シソエキス アレルギー フラボノイド 機能性

1. シソエキスとは

紫蘇 (*Perilla frutescence* var. *crispa*) は中国南部を原産とし、古くから民間療法として用いられてきた。漢方においても紫蘇の葉は“蘇葉”と呼ばれ、健胃、鎮咳、鎮静、発汗、利尿などを目的とし、紫朴湯、半夏厚朴湯、香蘇散などに処方されている¹⁾。日本でも平安時代以前か

ら栽培されており、現在では日本全国で広く栽培され、その防腐・抗菌効果を目的にお刺身のお供に用いられている。特に北海道は冷涼な気候で害虫が少ないため低農薬栽培に適した地域であると考えられる。

紫蘇の葉は脂質、糖質、およびカロチンなどのビタミン、さらに、鉄、カルシウムなどの無

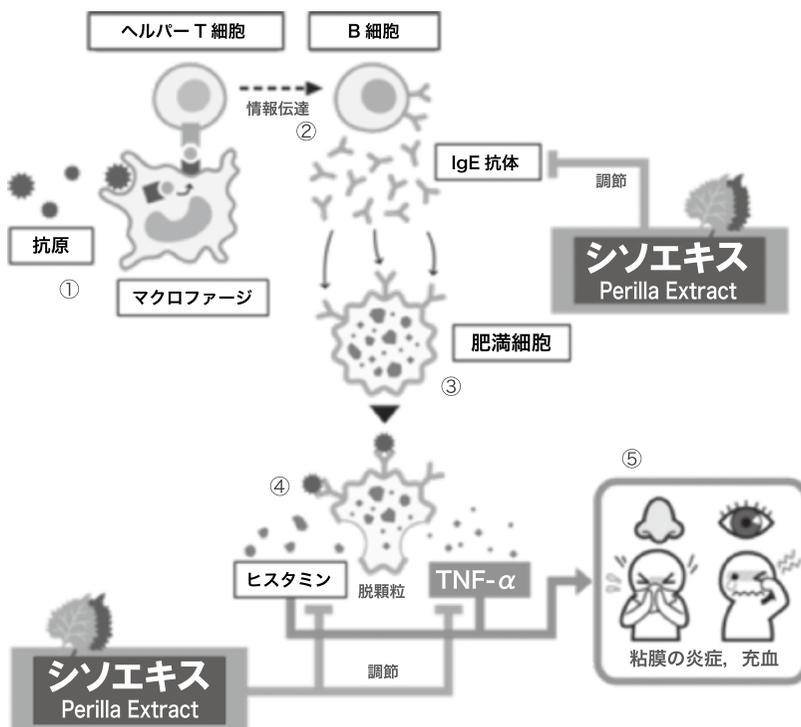


図1 シソエキスによる抗アレルギーメカニズム

機質といった栄養成分を豊富に含む。そして特徴的な香り成分であり、皮膚刺激物質でもあるペリラルデヒドを含む²⁾。本稿のシソエキスの原料は北海道の契約農家で栽培される青紫蘇の葉のみが使用され、収穫直前の農薬散布をしないため収穫時には農薬がほとんど残留しない。さらに熱水抽出により製造されるため精油成分であるペリラルデヒドはほとんど含まれていない。また、生理活性を持つ成分としてフラボノイド配糖体やロスマリン酸などが含まれることが確認されている。

2. シソエキスの抗アレルギー作用

図1に示すように、花粉症に代表されるアレルギー反応において、体内で花粉のような抗原が認識されると抗原抗体反応が作動する。抗原はマクロファージによって認識されるとヘルパーT細胞、B細胞へとシグナルが伝わり免疫グロブリンE (Immunoglobulin E, IgE) が産生される。さらに、肥満細胞と結合したIgEが抗原を認識するとヒスタミンが放出され、さらに腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF- α) の産生も促される。

シソエキスにおける研究では、喘息モデルマウスにシソエキスを摂取させることで血清中のIgE抗体産生量を有意に抑制することが報告されており³⁾、また、マウス腹腔内細胞培養系を用いてヒスタミン遊離物質である compound 48/80 を添加した試験ではシソエキスが濃度依存的にヒスタミンの遊離を抑制することが確認されている⁴⁾。TNF- α に関しては主にマクロファージによって炎症の比較的初期の段階から産生され、アレルギー反応や炎症反応において重要な役割を担う内因性のサイトカインの一種であり⁵⁾、本来、生体にとって欠かすことのできない物質である。しかし、TNF- α は局所に放出後は数分以内で他の炎症細胞を活性化し、持続的かつ過剰に産生されると組織障害を引き起こすことが報告されている⁶⁾。これまでにシソエキスではTNF- α に関する研究が多数報告されており、*in vivo* では、Muramyl dipeptide

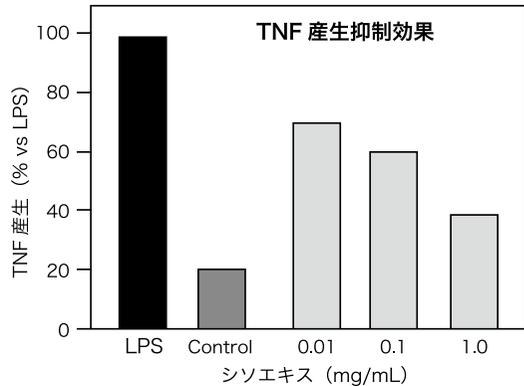


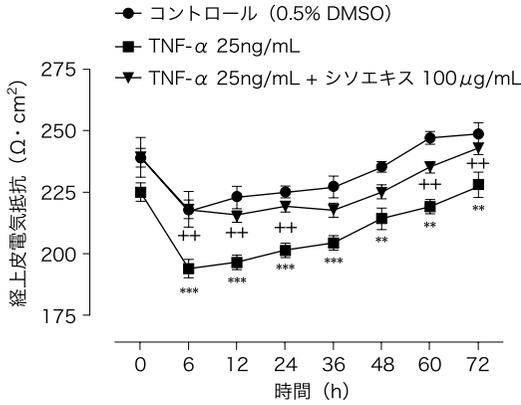
図2 シソエキスの TNF- α 産生抑制効果

(MDP) および溶連菌乾燥菌体の一種である OK-432 をマウスに投与して TNF- α 産生を誘引した試験で、シソエキスを摂取させた群で、血中 TNF- α 産生量がより抑制されることを報告している^{7,8)}。また、図2に示すように *in vitro* では、マクロファージに外部刺激として Lipopolysaccharide (LPS) を添加して TNF- α 産生を誘引した試験では、シソエキスを添加することで濃度依存的に TNF- α 産生を抑制することが確認されている⁸⁾。

これらにより、シソエキスは食品として IgE, ヒスタミン, TNF- α を多角的にコントロールすることでアレルギー様症状を緩和していることが考えられる。

3. シソエキスの腸管保護効果

腸管は食物から栄養を吸収するほかに、異物侵入を防ぐバリアとしての機能も担っている。腸管内表面には細胞同士の結合に関わるタイトジャンクション (TJ) と呼ばれる構造が存在し、これが腸管のバリア機能において重要な役割を果たすことが知られている⁹⁾。TJ は様々な要因で障害を受けるが、その一つに TNF- α が知られている。TNF- α は TJ に炎症を起こすだけに留まらず、腸管壁を破壊し異物侵入のリスクを増加させる。これがいわゆるリーキーガット症候群の原因とされている¹⁰⁻¹²⁾。本稿では腸間膜モデルである Caco-2 細胞を用いた研究について報告する。Caco-2 細胞に TNF- α を添加



(* $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; コントロール vs. TNF- α ;
P++ < 0.01; PE vs. TNF- α)

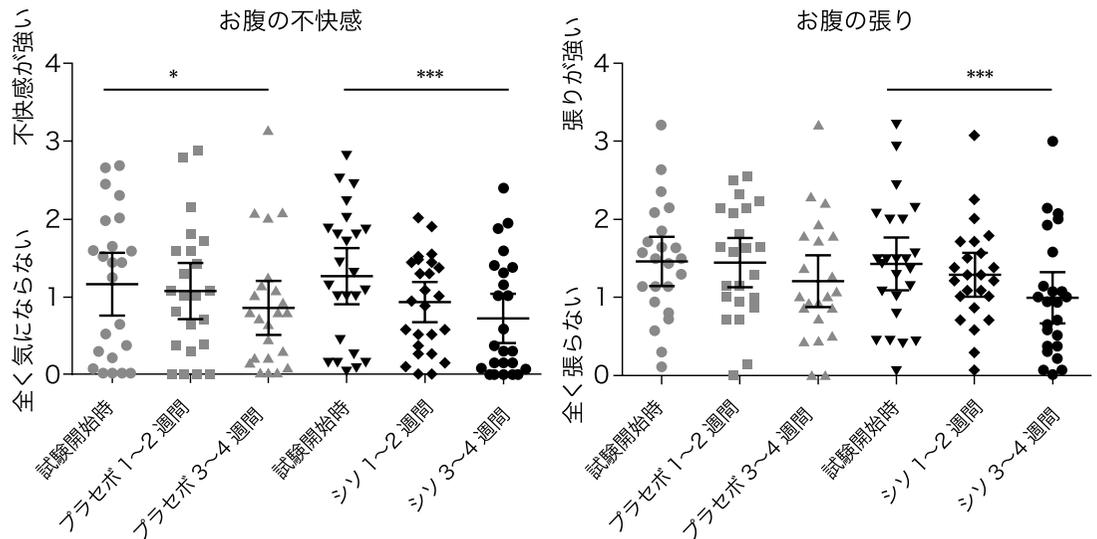
図3 シソエキスのTNF- α によるバリア破壊抑制効果

してTJ破壊を誘引した試験において、経上皮電気抵抗測定による評価を行った。経上皮電気抵抗の測定はイオン透過制限を利用したバリア機能の評価法として広く用いられているが、図3に示すようにTNF- α 単独の系と比較し、TNF- α とシソエキス(シソ葉由来フラボノイド >1.8 mg/g, シソ葉由来ロスマリン酸 >0.5 mg/g)の同時添加の系において、コントロールと比較して経上皮電気抵抗低下が有意に緩和

された¹³⁾。このことからシソエキスはTJの保護に寄与することでリーキーガット症候群予防の可能性が示唆された。

4. シソエキスの整腸効果

現代社会において、ストレス、不規則な生活、喫煙、過度なアルコール等により、胃腸の不調が引き起こされることが問題視されている。シソエキス(シソ葉由来フラボノイド >1.8 mg/g, シソ葉由来ロスマリン酸 >0.5 mg/g)の胃腸に対する効果を検証するため、30~70歳で胃腸の不快感または便秘症状を訴える健常者50名を対象にランダム化プラセボ対照二重盲検比較試験を実施した。各被験者の胃腸症状、便の頻度および硬さを導入2週間、介入(シソエキス群またはプラセボ群)4週間の期間で毎日記録した。また、胃腸症状については5段階で毎日評価し、介入14日間以上の平均点を計算した。その結果を図4に示すが、介入期間中にシソエキス群はお腹の不快感、お腹の張りについて改善傾向を示した。また、図5は女性に限定したサブグループとしての結果であるが、お腹の不快感とお腹の張りを合わせたサブスコアではシソエキス群



(プラセボ $p = 0.0733$, シソ $p = 0.0003$ / プラセボ $p = 0.0345$, シソ $p = 0.0004$, ANOVA)

図4 シソエキスによるお腹の不快感・張りの改善効果

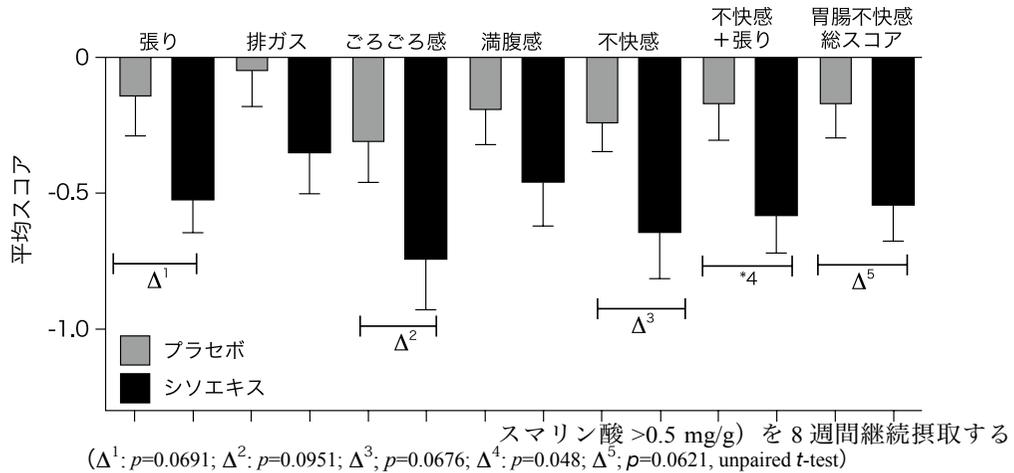


図5 女性のサブグループにおけるお腹の不快感改善効果

がプラセボ群に対し有意に改善した ($p=0.048$)¹⁴⁾。

5. 北海道の花粉症

日本では約50種類の花粉症が報告されている。代表的なスギは花粉症全体の約70%を占めると推察され、これは日本の国土に占めるスギ林の面積(国土の12%)が大きいためと考えられる¹⁵⁾。花粉症シーズンに北海道へ行くと花粉症の症状が軽くなると感じるの

は、スギ花粉の飛散量がきわめて少ないためである。しかしながら、北海道のような寒冷地であっても地域特有の花粉症が存在し、中でも飛散量の多いシラカバ花粉のアレルギー様症状が多く報告されている(図6)¹⁶⁾。

6. シソエキスのシラカバアレルギーに対する効果

これまでにシソエキスの花粉症に対する有用性が明らかになってきたが、本稿では北海道に特有のシラカバ花粉に着目した研究について報告する。シラカバ花粉に由来する目・鼻の不快感を有する20歳以上65歳未満の日本人男女40名を対象に、5月～7月にシソエキス(シソ葉由来フラボノイド>1.8 mg/g, シソ葉由来口

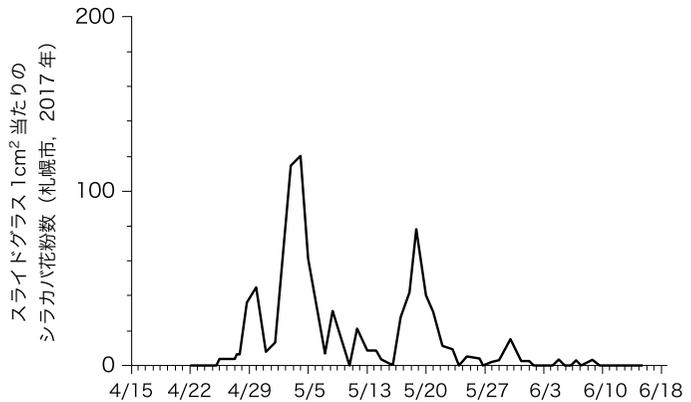


図6 2017年の札幌市におけるシラカバ花粉の飛散状況

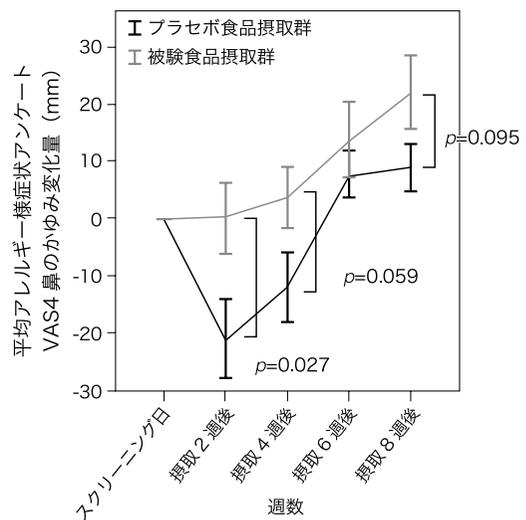


図7 シソエキスのシラカバ花粉由来アレルギー症状に対する効果

プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験を実施した。図7で目・鼻の不快感に関するアンケートの Visual Analog Scale (VAS)の結果を示すが、シラカバ花粉の飛散がピークであったと思われる摂取2週間目の「鼻のかゆみ」がシソエキス群でプラセボ群と比較して有意に改善した(論文投稿中)。これはシラカバ花粉に由来するアレルギー症状に対するシソエキスの効果を示すものであると考えられる。

おわりに

現代社会において、花粉症、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー疾患は社会問題になりつつある。シソエキスのような機能性食品の機能が解明、認知されることは非常に意義のあることであり、我々のQOL底上げの可能性

が期待される。本稿ではこれまでシソエキスにおいて既知であった抗アレルギーや抗炎症とは分野の異なる研究を集めた。近年、免疫の研究が進み、ヒトの免疫細胞の大半が「腸」に集結することが話題となったが、シソエキスにおいても腸に関する有用性が明らかになってきた。今回紹介したリーキーガット症候群に対する効果もまた「腸」をターゲットとしており、異物の侵入を未然に防ぐことから免疫のサポートにも繋がる可能性が期待できる。また、植物の中には整腸作用を有するものが存在するが、シソエキスもその一つであることが明らかになった。シソエキスは食品に限らず、スキンケアにおいても抗炎症、抗ニキビ、血流促進が確認されているため今後の新たな機能性の解明にも期待したい。

参考文献

1. 鳥居塚 和生: 漢方研究, **341**, 179-184. 2000.
2. 小砂 憲一: *FRAGRANCE JOURNAL* 7月号 1995.
3. 田中 宏幸: 第12回和漢医薬学会大会 1995.
4. 若命 浩二: 日本薬学会大 117年会 1997.
5. Carswell E. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 3666-3670. 1975.
6. Beutler B.: *Nature*, **316**(6028): 552-554. 1985.
7. Yamazaki M.: *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**(1): 152. 1992.
8. Ueda H.: *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**(8), 1292-1295. 1997.
9. Chiba H.: *Biochim Biophys Acta.*, **1778**(3), 588-600. 2008.
10. Suenart P., Bulteel V., et al.: *Am J Gastroenterol.*, **97**(8), 2000-2004. 2002.
11. Vogelsang H.: *Dig Dis.*, **16**(6), 333-336. 1998.
12. Bruewer M.: *Ann N Y Acad Sci.*, **1072**, 242-252. 2006.
13. Sybille B.: *Agro FOOD Industry Hi Tech* **27**(5), 13-16. 2016.
14. Sybille B.: *BMC Complementary and Alternative Medicine* **14**:173. 2014.
15. 大久保 公裕: 介花粉症の正しい知識と治療・セルフケア 2007.
16. 北海道立衛生研究所, 札幌の空中花粉観測結果(2017年2月20日~11月2日) http://www.iph.pref.hokkaido.jp/pollen/sapporo/s_files/2017_graph.htm

連絡先: 株式会社アミノアップ

塩 拓磨

〒004-0839 北海道札幌市清田区真栄 363-32

ハイテクヒル真栄

TEL: 011-889-2555, FAX: 011-889-2375

Email: shio@aminoup.co.jp

ニジマス用飼料の炭水化物源－1

酒本 秀一 (SAKAMOTO Shuichi)

Key Words：ニジマス 炭水化物源 小麦粉 中白糠 米 米粉 脱脂米糠 人工消化率 消化吸収率 飼育成績

前報¹⁾でニジマス用飼料の適切な α 澱粉添加量は20-25%であることを明らかにした。しかしながら α 澱粉は価格や飼料製造上の問題(α 澱粉を多量に添加すると加水・混練時に粘りが強くなりすぎて飼料の成形が難しくなる)があり、20-25%も使用することは出来ない。よって、一般的に飼料の炭水化物源として用いられている小麦粉の等級による効果差や、最近色々な分野で利用が図られている米の養魚飼料原料としての可能性を調べることにした。

使用した原料は小麦粉3種類、中白糠7種類(日本酒を造る時には原料として米粒の表面を削って内部の炭水化物含量が高い部分のみを使用すること。削り落とした部分を集めたのが中白糠で、酒糠ともいわれる。)、脱脂米糠1種類(米糠からこめ油を抽出した残渣)、米粉1種類(屑米を粉碎した物で、一部飼料用に用いられている。)、生米2種類(うるち米、もち米)である。

試験はニジマスの稚魚を用いて3回行った。

試験 -1

1. 材料と方法

1-1. 炭水化物源

小麦粉2種類、中白糠2種類、脱脂米糠、

米粉を炭水化物源として用いた。表1に各原料の一般成分を示す。小麦粉-Iはフスマに近い製品で、飼料用である。小麦粉-IIはIよりも等級が高く、食品用に近い飼料用である。小麦粉は等級が高い方が炭水化物が多く、タンパク質と脂質が少ない。中白糠2種類(I, II)の由来は不明であるが、入手経路が違う物である。成分はお互いに似通っているが、IIの方がやや炭水化物が多く、タンパク質、脂質、灰分が少ない。炭水化物は小麦粉-IIと略同等である。脱脂米糠は6原料中最も炭水化物が少なく、タンパク質と灰分が多い。脱脂してあるので脂質は少ない。米粉はタンパク質が最も少なく、炭水化物は小麦粉-IIや中白糠よりやや少ない程度である。

1-2. 人工消化率

表1の炭水化物量は塩酸分解法で求めているので、生物に利用されない炭水化物も含まれて

表1 炭水化物源の分析値

	小麦粉		中白糠		脱脂米糠	米粉
	I	II	I	II		
水分 (%)	12.3	13.3	12.2	13.0	12.1	13.9
タンパク質	18.7	15.2	15.5	14.1	18.5	8.6
脂質	5.5	1.4	6.0	4.1	2.1	3.1
炭水化物	49.5	61.6	60.0	60.9	38.0	56.1
灰分	3.8	0.7	3.3	2.2	12.3	1.8

表2 炭水化物源のジアスターゼによる人工消化率

原料	消化率 (%)
小麦粉: I	74.3
小麦粉: II	61.3
中白糖: I	94.3
中白糖: II	99.2
脱脂米糠	88.5
米粉	75.7

いる。炭水化物源として評価すべきなのは消化吸収可能な炭水化物の量である。ところが色々な炭水化物源毎に実際に魚を用いて消化吸収率を測定しては時間と人手と経費が大変である。よってジアスターゼを用いて炭水化物の人工消化率を求め、塩酸分解法による炭水化物量×人工消化率=可消化炭水化物量とし、この値と魚の飼育試験の結果との相関を調べ、ジアスターゼによる人工消化率が炭水化物源の有効性を判断するための指標として利用出来るか否かを検討する。

ジアスターゼによる人工消化率は以下の手順で測定した。原料約1gを精秤する。水80mLとジアスターゼの5%溶液5mL(ジアスターゼ250mg相当)を加え、37°Cで16-17時間攪拌しながら炭水化物を消化する。生じた還元糖をSomogyi氏変法で測定する。

各原料の人工消化率を表2に示す。総じて小麦粉より米の方が消化率が高く、米では中白糖>脱脂米糠>米粉の順であった。小麦粉ではI>IIであったが、これには原料中の炭水化物量が影響しているのではないかと思われる。

1-3. 試験飼料
試験区は炭水化物源に応じて6区設定した。表3に試験飼料の組成と分析値を示す。普通養魚用飼料には色々な原料を配合するのであるが、各種原料の影響を避けるために魚粉66%、炭水化物源30%、ビタミン・ミネラル混合4%と必要最小限の物しか配合していない単純な組成とした。

表3 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D	E	F
魚粉 (%)	66	66	66	66	66	66
小麦粉: I	30					
小麦粉: II		30				
中白糖: I			30			
中白糖: II				30		
脱脂米糠					30	
米粉						30
ビタミン・ミネラル混合	4	4	4	4	4	4
水分 (%)	4.4	3.5	3.8	3.9	4.6	3.0
タンパク質	51.4	53.4	53.6	52.2	52.4	51.6
脂質	6.0	5.0	6.1	5.5	4.9	5.2
炭水化物	19.3	24.2	20.8	22.1	12.4	23.2
灰分	14.6	14.3	14.1	15.1	18.3	15.6
可消化炭水化物量より						
Cal/100g	288	288	309	302	276	284
CP比	5.61	5.40	5.76	5.79	5.26	5.51

炭水化物源の成分含量の違いを反映して飼料成分にも結構区間差がある。人工消化率から求めた可消化炭水化物量はA-F区の順に14.3, 14.8, 19.6, 21.9, 11.0および17.6%である。カロリー量は可消化炭水化物量を基にしてタンパク質:4、脂質:9、炭水化物:2Cal/gの係数を用いて計算した。CP比はカロリー量をタンパク質含量で割った値である。カロリー量よりCP比の方がより重要であることはアマゴの試験²⁾で既に説明した。

飼料はハードペレットクランブルで、以下の手順で調製した。原料を混合、粉碎し、小型ペレットマシンでハードペレットに成型する。棚式乾燥機で乾燥させた後破碎し、クランブルにする。篩を用いて必要な大きさの部分のみを集めて試験飼料にした。

1-4. 飼育試験

水容量38.4Lの小型水路型水槽を用いて飼育試験を行った。平均体重0.5gのニジマス稚魚を各区200尾収容した。水温は14°C、給餌は日に3回(午前1回、正午1回、午後1回)、給餌量は水槽底に沈んだ飼料が極短時間内に食べ尽くされる量とした。飼育期間は3月23日から5月2日であった。

飼育試験終了時に尾数を調べて生残率、総重量に死魚の補正を加えた値から開始時の総重量

表4 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D	E	F
生残率 (%)	97.0	98.0	99.5	99.5	98.5	99.0
増重量 (g)	239.5	270.5	301.5	301.5	258.4	261.4
給餌量 (g)	268	271	264	264	264	261
飼料効率 (%)	89.4	99.8	114.2	114.2	97.9	101.5
タンパク質効率 (%)	173.9	186.8	212.9	218.8	186.6	194.2

表5 飼料の可消化炭水化物量と飼育成績の関係

原料	飼料	飼育成績	
	可消化炭水化物量 (%)	飼料効率 (%)	タンパク質効率 (%)
小麦粉: I	14.3	89.4	173.9
小麦粉: II	14.8	99.8	186.8
中白糠: I	19.6	114.2	212.9
中白糠: II	21.9	114.2	218.8
脱脂米糠	11.0	97.9	186.6
米粉	17.6	101.5	194.2

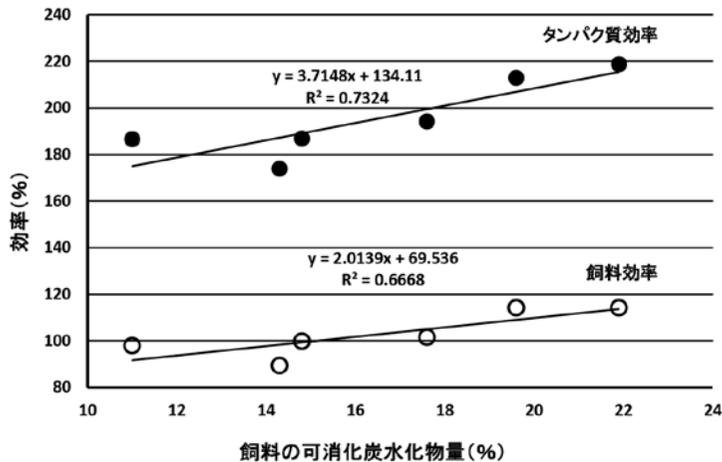


図1 飼料の可消化炭水化物量が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

を差し引いて増重量、増重量と給餌量から飼料効率 (増重量×100/給餌量)、増重量と給与タンパク質量からタンパク質効率 (増重量×100/給与タンパク質量) を求めた。

2. 結果

2-1. 飼育成績

表4に飼育試験の結果を示す。生残率に各区分で違いは認められなかった。摂餌量は小麦粉より米を用いた区の方がやや少ない傾向があるが、違いは極僅かであった。飼料効率とタンパク質効率は摂餌量とは逆に米を用いた区の方

が小麦粉区より良く、特に中白糠の区が優れていた。小麦粉ではIIの等級が高い物の方が結果が良かった。

表5と図1に飼料の可消化炭水化物量と飼料効率、タンパク質効率の関係を示す。また、図2と図3に飼料のカロリー量、CP比と飼料効率、タンパク質効率の関係を示す。

可消化炭水化物量、カロリー量、CP比の何れも飼育成績と正の相関を示すが、特に可消化炭水化物量との相関が強く、ジアスターゼ処理による人工消化率は養魚飼料用炭水化物源のスクリーニング法として良い方法であると思われる。

3. 要約

- ・小麦粉より米関連製品の方が可消化炭水化物量が多く、飼育成績も良かった。特に中白糠が優れていた。

- ・飼料の可消化炭水化物量、カロリー量、CP比の何れも飼料効率、タンパク質効率との間に正の相関が認められたが、特に可消化炭水化物量に強い

相関が認められた。

- ・小麦粉も等級によって消化率が違い、飼育成績に影響を及ぼしていた。炭水化物が多く、タンパク質と脂質が少ない等級の高い小麦粉が養魚飼料の炭水化物源としては適している様である。

- ・ジアスターゼによる人工消化率は飼料原料用炭水化物源としての有効性を判断するための指標として利用可能であると考えられる。

- ・ニジマス稚魚は炭水化物をエネルギー源として利用出来る。これは前報と同じ結果であった。

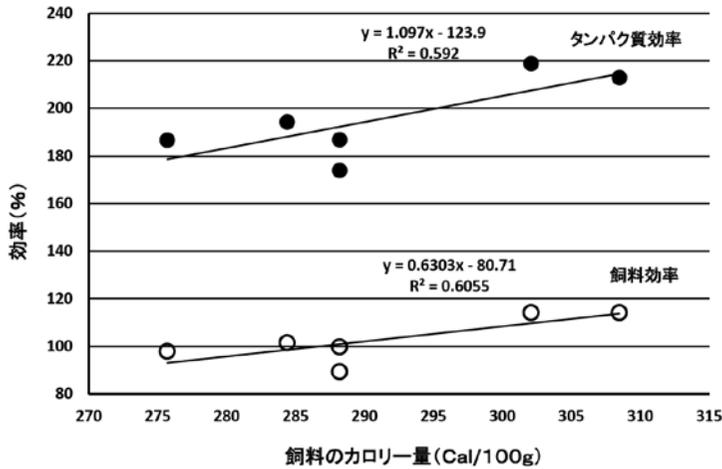


図2 飼料のカロリー量が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

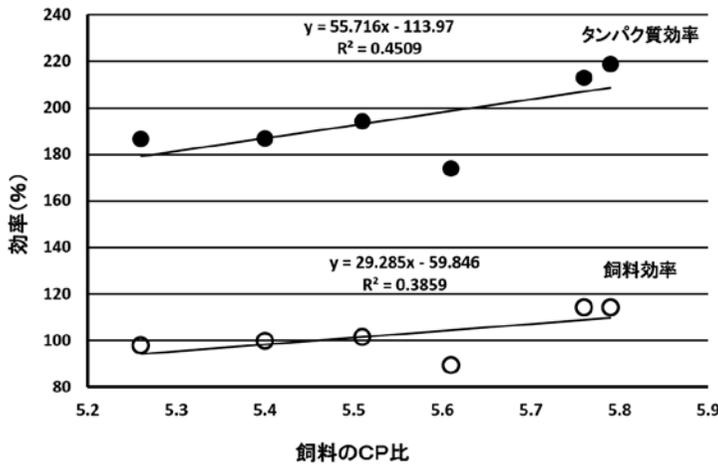


図3 飼料のCP比が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

表6 炭水化物源の分析値

	小麦粉		中白糠					米粉
	I	II	I	II	III	IV	V	
水分 (%)	12.3	13.3	13.1	13.7	14.0	13.6	14.1	13.9
タンパク質	18.7	15.2	15.3	12.9	12.5	12.0	13.5	8.6
脂質	5.5	1.4	6.3	3.0	3.3	5.6	2.6	3.1
炭水化物	49.5	61.6	60.5	65.0	63.4	61.6	60.0	56.1
灰分	3.8	0.7	3.5	1.4	1.7	2.7	1.8	1.8

試験 -2

1. 材料と方法

1-1. 炭水化物源

小麦粉2種類(試験-1と同じ物), 中白糠5種類(産地が異なる5種類で, 試験-1とは別

の物である。), 米粉1種類(試験-1と同じ物)を炭水化物源として用いた。

それぞれの原料の分析値を表6に示す。小麦粉, 中白糠および米粉の成分の特徴は前述した通りであるが, 同じ中白糠でも物によって可也成分が違うことに注意が必要である。米粒から削り取る割合の違いによって成分は変化し, 外側の部分が多いと炭水化物は少なく, タンパク質と脂質が多い。例えば中白糠-Iはタンパク質と脂質が多くて炭水化物が少ないので, 外側の部分が多いのであろう。灰分も高いので, もしかすると糠の部分も含まれているのかも知れない。次いでV, IV, III, IIの順に外側の部分が多いのではないと思われる。

1-2. 人工消化率

前述の方法で求めた各原料の人工消化率を表7に示す。全体的に見ると人工消化率が中白糠 > 米粉 > 小麦粉の順に高いのは試験-1の結果と一致しているが, 同じ中白糠でも物によって可也人工消化率は違っている。

表7 炭水化物源のジアスターゼによる人工消化率

原料	消化率 (%)
小麦粉: I	74.3
小麦粉: II	61.3
中白糠: I	94.3
中白糠: II	77.2
中白糠: III	78.5
中白糠: IV	94.6
中白糠: V	88.2
米粉	75.7

表8 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D
魚粉 (%)	66	66	66	66
小麦粉: I	30			
小麦粉: II		30		
中白糠: I			30	
中白糠: II				30
ビタミン・ミネラル混合	4	4	4	4
水分 (%)	4.4	4.3	4.6	4.0
タンパク質	51.3	51.6	51.2	51.1
脂質	5.9	4.8	5.8	5.3
炭水化物	17.3	23.1	19.4	21.6
灰分	15.6	14.8	15.8	15.1
可消化炭水化物量より				
Cal/100g	258	278	294	286
CP比	5.04	5.39	5.73	5.59
試験区	E	F	G	H
魚粉 (%)	66	66	66	66
中白糠: III	30			
中白糠: IV		30		
中白糠: V			30	
米粉				30
ビタミン・ミネラル混合	4	4	4	4
水分 (%)	4.2	4.3	4.0	4.1
タンパク質	51.4	51.2	51.8	50.8
脂質	5.2	6.0	5.1	5.1
炭水化物	21.4	21.2	22.4	24.1
灰分	14.9	15.2	14.8	15.2
可消化炭水化物量より				
Cal/100g	286	299	293	286
CP比	5.56	5.84	5.65	5.62

表9 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D
生残率 (%)	96.7	90.0	93.3	96.7
増重量 (g)	118.6	126.9	130.7	140.0
給餌量 (g)	148	148	148	148
飼料効率 (%)	80.1	85.7	88.3	94.6
タンパク質効率 (%)	156.2	166.3	172.5	185.1
試験区	E	F	G	H
生残率 (%)	88.3	91.7	96.7	91.7
増重量 (g)	128.1	145.5	146.0	122.4
給餌量 (g)	148	148	148	148
飼料効率 (%)	86.5	98.3	98.6	82.7
タンパク質効率 (%)	168.4	192.0	190.6	162.7

1-3. 試験飼料

供試原料数に従って A-H 区の 8 試験区を設定した。各試験飼料の組成と分析値を表 8 に示す。試験 -1 同様魚粉, 炭水化物源, ビタミン・ミネラル混合のみよりなる単純な配合とし,

炭水化物源の割合も試験 -1 と同じ 30% とした。タンパク質と灰分は各区共殆ど同じ値を示したが, 脂質と炭水化物には多少の違いが認められた。炭水化物量に人工消化率を掛けて求めた可消化炭水化物量は A-H 区でそれぞれ 12.9, 14.2, 18.3, 16.7, 16.8, 20.1, 19.8 および 18.2% であった。最下段のカロリー量と CP 比は可消化炭水化物量を基にして求めた。飼料はハードペレットクランブルで調製法は前述の通りである。

1-4. 飼育試験

60L 容角型透明プラスチック水槽の外表面を黒色ビニールで覆った水槽を用いて飼育試験を行った。平均体重 1.1g のニジマス稚魚を各区 60 尾ずつ収容した。水温調節は行わなかったので水温は外気温に従って変動し, 飼育試験開始時の 11°C から終了時には 20°C まで上昇していた。この水温はニジマス稚魚の飼育試験を行うのに問題のない水温である。給餌は日に 3 回 (午前 1 回, 正午 1 回, 午後 1 回), 給餌率は改変ライトリッツ給餌率, 飼育期間は 3 月 24 日から 5 月 2 日であった。

試験 -1 同様, 生残率, 飼料効率, タンパク質効率を求めた。さらに本試験では飼料の分析値と給餌量, 飼育試験開始時と終了時の総体重, 魚体成分値などから飼料成分の魚体蓄積率も求めた。

2. 結果

2-1. 飼育成績

飼育試験の結果を表 9 に示す。生残率には各区間で多少の違いが認められたが, 特別な傾向は読み取れなかった。総じて小麦粉より米, 特に中白糠の飼育成績が良いのは試験 -1 と同じであったが, 中白糠間でも結果に可也のバラツキが認められた。

飼料の可消化炭水化物量, カロリー量, CP 比と飼料効率, タンパク質効率との関係をそれぞれ図 4, 図 5, 図 6 に示す。試験 -1 同様何れ

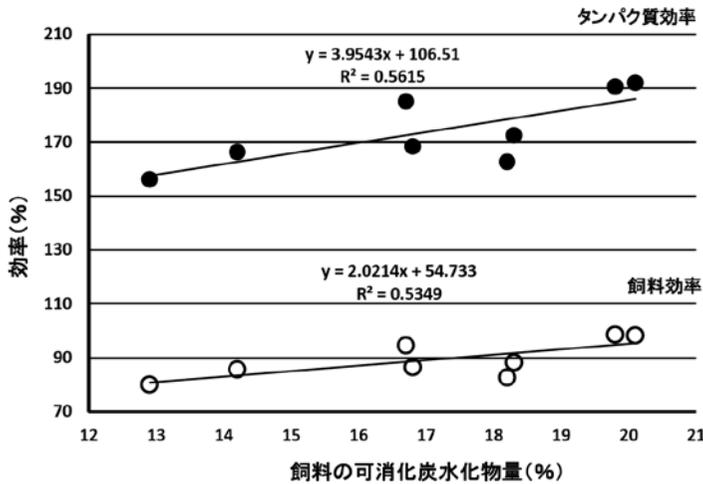


図4 飼料の可消化炭水化物量が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

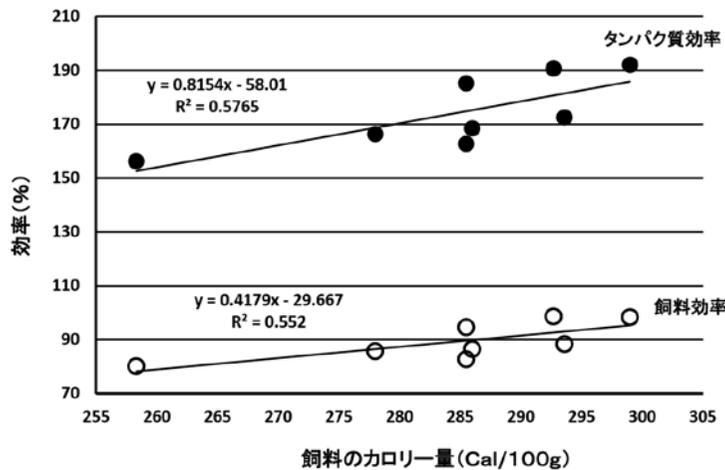


図5 飼料のカロリー量が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

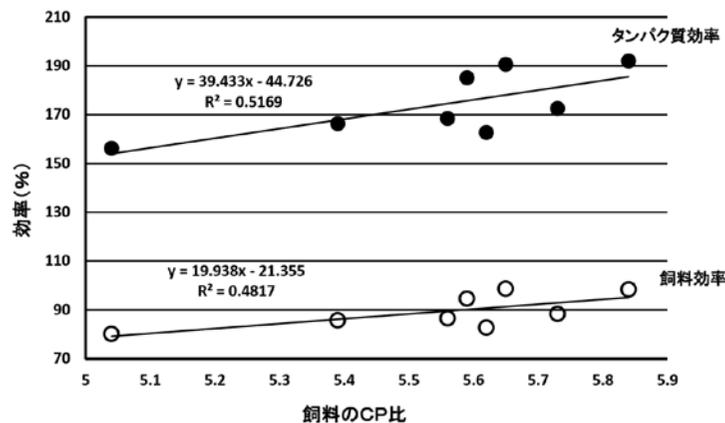


図6 飼料のCP比が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

にも正の相関が認められたが、本試験では可消化炭水化物量、カロリー量、CP比とも略同じ程度の相関の強さであった。

2-2. 飼料成分の魚体蓄積率

飼料成分の魚体蓄積率を表10に示す。タンパク質と脂質の蓄積率が中白糠区で高い傾向が認められた。中白糠は可消化炭水化物量が多いので、炭水化物が吸収されてエネルギー源として利用されたため、炭水化物によるタンパク質の節約効果が起こり、飼料タンパク質の魚体蓄積率が向上したのであろう。また、炭水化物がエネルギー源として利用されたため、脂質の利用率が減少すると共に炭水化物から脂質への転換が起こるので、飼料脂質の魚体蓄積率も向上したのであろう。

可消化炭水化物量、カロリー量、CP比と飼料成分の魚体蓄積率との相関も調べてみたが、原料全体で見るとそれ程強い相関は認められなかった。

3. 要約

- ・小麦粉より米、特に中白糠の可消化炭水化物量が多く、飼育成績も良かった。この結果は試験-1の結果と一致しており、再現性が確認出来た。

- ・中白糠も米粒のどの部分まで削り取るかによって成分組成が違ってくるので注意が必要である。使用する中白糠の種類によって飼育成績に違いが出る可能性が有る。

- ・飼料の可消化炭水化物量、

表 10 飼料成分の魚体蓄積率

試験区	A	B	C	D
タンパク質 (%)	26.9	26.5	27.3	30.0
脂質	54.7	88.6	86.0	93.3
灰分	14.5	14.8	13.8	15.2
試験区	E	F	G	H
タンパク質 (%)	26.3	29.4	30.3	25.9
脂質	88.2	99.4	114.4	84.8
灰分	14.4	16.2	16.0	13.9

カロリー量, CP 比と飼料効率, タンパク質効率の間に正の相関が認められた。この点についても試験-1の再現性が確認出来た。

・炭水化物源, 特に中白糠の可消化炭水化物はニジマス稚魚によってエネルギー源として利用されるため, タンパク質の節約効果が表れ, 飼料タンパク質の魚体蓄積率が向上する。また, 脂質がエネルギー源として利用される割合が減少すると共に炭水化物から脂質へと転換されるので, 飼料脂質の魚体蓄積率も向上する。

試験-3

1. 材料と方法

1-1. 炭水化物源

小麦粉2種類(Ⅱは試験-1, 2と同じ物。Ⅲは食品用でⅠ, Ⅱより等級の高い物。), 米2種類(うるち米ともち米の生米を購入し, 実験室の粉碎機で粉碎した物。)を炭水化物源として用いた。

表 11 にそれぞれの原料の分析値を示す。小麦粉-Ⅲは供試小麦粉のうち最も炭水化物が多く, タンパク質, 脂質, 灰分が少ない。成分的には中白糠より優れているのではないかと思える物である。米は両方ともさらに炭水化物が多く, タンパク質が少なかった。

1-2. 人工消化率

ジアスターゼ処理によって求めた人工消化率を表 12 に示す。生米の人工消化率は小麦粉と略同等であった。

1-3. 試験飼料

試験区は A-E の 5 区設定した。表 13 に試験

表 11 炭水化物源の分析値

	小麦粉		米	
	Ⅱ	Ⅲ	うるち米	もち米
水分 (%)	13.7	13.3	14.8	15.3
タンパク質	15.8	8.8	7.3	7.6
脂質	1.5	0.8		
炭水化物	55.8	67.7	74.8	71.3
灰分	0.7	0.4	0.4	0.4

表 12 炭水化物源のジアスターゼによる人工消化率

原料	消化率 (%)
小麦粉:Ⅱ	68.6
小麦粉:Ⅲ	56.8
うるち米	60.0
もち米	55.2

表 13 試験飼料の組成と分析値

試験区	A	B	C	D
魚粉 (%)	66	66	66	66
小麦粉:Ⅱ	30			
小麦粉:Ⅲ		30		
うるち米			30	
もち米				30
ビタミン・ミネラル混合	4	4	4	4
水分 (%)	7.5	7.2	6.7	8.0
タンパク質	54.2	51.3	52.7	51.5
脂質	5.3	5.3	5.1	5.1
炭水化物	20.4	26.4	26.0	24.3
灰分	7.1	7.0	7.2	7.1
可消化炭水化物より				
Cal/100g	293	283	288	279
CP 比	5.40	5.51	5.46	5.41

飼料の組成と分析値を示す。試験-1, 2 同様, 魚粉, 炭水化物源, ビタミン・ミネラル混合のみの単純な配合にし, 炭水化物源の添加量も試験-1, 2 同様 30% とした。

脂質と灰分含量に区間差は認められなかったが, タンパク質と炭水化物含量には可也の違いが有る。可消化炭水化物量は A-E 区それぞれ 14.0, 15.0, 15.6 および 13.4% と大きな違いは無かった。可消化炭水化物量を基にして求めたカロリー量と CP 比にも各区間で大きな違いは無かった。飼料は試験-1, 2 同様ハードペレットクランブルである。

1-4. 飼育試験

試験-2 と同じ水槽を飼育試験に用いた。平

均体重 4.0g のニジマス稚魚を各区 40 尾収容した。水温は 18℃ にチラーで調整していたが、途中でチラーが故障し、水温が急激に上昇して 28℃ に至って餌食いが悪くなってきたので、飼育試験は 1 ヶ月で中止した。飼育期間は 5 月 18 日から 6 月 19 日であった。給餌は日に 2 回（午前 1 回、午後 1 回）、給餌率は改変ライトリッツ給餌率に従った。

1-5. 消化吸収率の測定

飼育試験実施中に消化吸収率測定用飼料を与えて各試験飼料のタンパク質と炭水化物の消化吸収率を酸化クロムを指標物質とする内部標準法で測定した。

消化吸収率測定用飼料の調製と採糞は以下の手順で行った。

飼育試験用飼料の原料混合物に酸化クロムを 0.1% になるように添加し、十分混合して均一にした。適切量加水してミートチョッパーで成形し、棚式乾燥機で乾燥した。破碎、篩別して消化吸収率測定用飼料とした。

6 月 11 日からこの飼料を投与し始め、6 月 15 日から排泄された糞をサイホンで回収して分析に供した。

給餌後水槽底の残餌や排泄されていた古い糞をサイホンで除去し、消化吸収率測定用の糞と混じらないように注意した。給餌後暫くして排泄される糞を直ちにサイホンで回収し、分析用試料とした。糞は 2 日分を合わせて分析試料と

した。なお、消化吸収率測定試験実施中は未だチラーは故障していなかったため、水温は 18℃ であった。飼料と糞中のクロム量は古川ら³⁾の湿式定量法で測定した。飼料中のクロム量に対するタンパク質と炭水化物の量、糞中のクロム量に対するタンパク質と炭水化物の量からそれぞれの消化吸収率を求めた。

2. 結果

2-1. 飼育成績

飼育試験の結果を表 14 に示す。生残率に区間差は無かった。成長、飼料効率、タンパク質効率は小麦粉より米の方が良く、うるち米ともち米の間で違いは無かった。小麦粉は等級が高い方が僅かながら結果が優れていた。

2-2. 飼料成分の消化吸収率

飼料のタンパク質と炭水化物の消化吸収率を表 15 に示す。タンパク質の消化吸収率に小麦粉と米で違いは無く、93-94% を示した。一方、炭水化物は小麦粉と米で著しく違い、小麦粉は 50% 未満であったが、米は約 80% であった。表 12 のジアスターゼ処理による人工消化率では小麦粉と米は略等しい値を示していたのと大きく違う結果であった。

2-3. 可消化炭水化物量、消化吸収量と飼育成績

ジアスターゼ処理によって求めた飼料の可消化炭水化物量、実際に魚が飼料から消化吸収した炭水化物量と飼料効率、タンパク質効率など

表 14 飼育試験の結果

試験区	A	B	C	D
生残率 (%)	100	97.6	100	100
増重量 (g)	58.8	61.7	71.0	70.6
給餌量 (g)	103.4	103.4	103.4	103.4
飼料効率 (%)	56.9	59.7	68.7	68.3
タンパク質効率 (%)	105.0	116.3	130.4	132.6

表 15 飼料成分の消化吸収率

試験区	消化吸収率 (%)	
	タンパク質	炭水化物
A	93.7	47.5
B	93.5	45.8
C	94.3	77.5
D	93.0	82.8

表 16 可消化炭水化物量、消化吸収炭水化物量と飼育成績の関係

原料	飼料	試験法		炭水化物量 (%)		飼育成績	
	炭水化物 (%)	人工消化率	消化吸収率	人工消化率	消化吸収率	飼料効率 (%)	タンパク質効率 (%)
小麦粉：II	20.4	68.6	47.5	14.0	9.7	56.9	105.0
小麦粉：III	26.4	56.8	45.8	15.0	12.1	59.7	116.3
うるち米	26.0	60.0	77.5	15.6	20.2	68.7	130.4
もち米	24.3	55.2	82.8	13.4	20.1	68.3	132.6

を表 16 に示した。図には示さないが、人工消化率による可消化炭水化物量と飼料効率、タンパク質効率の間には試験 -1, 2 同様正の相関が認められたものの、それ程強い相関ではなかった。ところが図 7 に示すように実際に消化吸収された炭水化物の量と飼料効率、タンパク質効率の間には相関係数が 1 に近い非常に強い相関が認められた。また、消化吸収された炭水化物量を基にして求めたカロリー量と CP 比では、図 8 に示すように CP 比の方により強い相関が認められた。

4 種類の炭水化物源の人工消化率と実際の消化吸収率との関係を示したのが図 9 である。小麦粉は 2 種類とも人工消化率より実際の消化吸収率の方が低い値を示し、逆に米は両方とも実際の消化吸収率の方が人工消化率より遥かに高い値を示していた。これが小麦粉と米の飼育成績の違いになって表れているのであろう。

ジアスターゼ処理による人工消化率と実際に魚で調べた消化吸収率の間で何が違うのであろうか。消化酵素の種類と活性の違い、人工的な攪拌と摂餌後消化管内で受ける物理的な作用との違い、腸内細菌の作用などが考えられるが、今後詳しく調べる価値の有る問題である。

以上の結果から、ジアスターゼ処理による人工消化率は炭水化物源のスクリーニングには良いが、物によっては実際の消化吸収率とかなり異なっている様なので、スクリーニング後により正確な値を求めるためには、やはり実際に魚

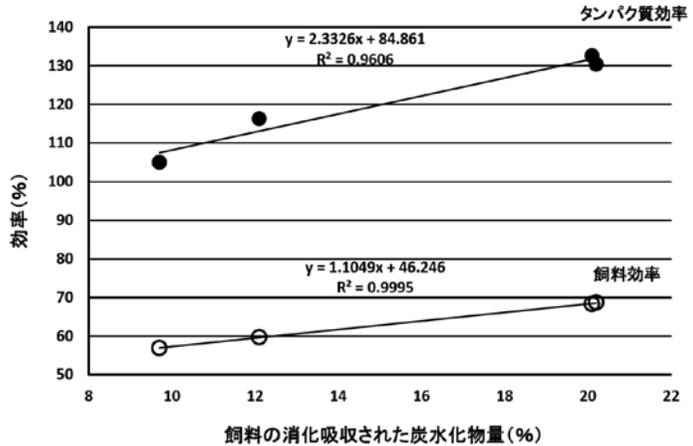


図 7 飼料の消化吸収された炭水化物量が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

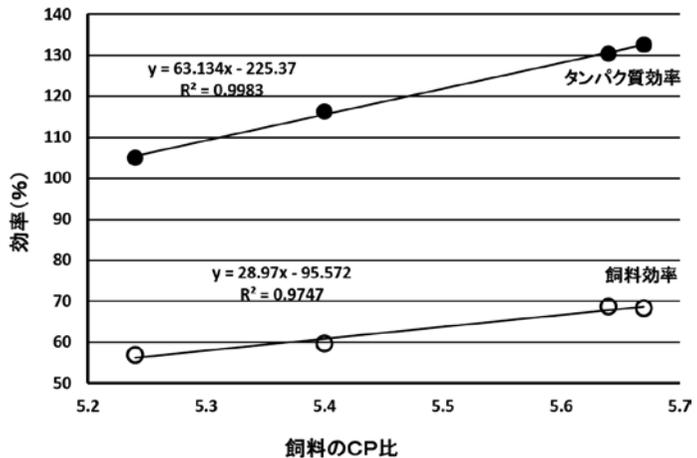


図 8 飼料の CP 比が飼料効率とタンパク質効率に与える影響

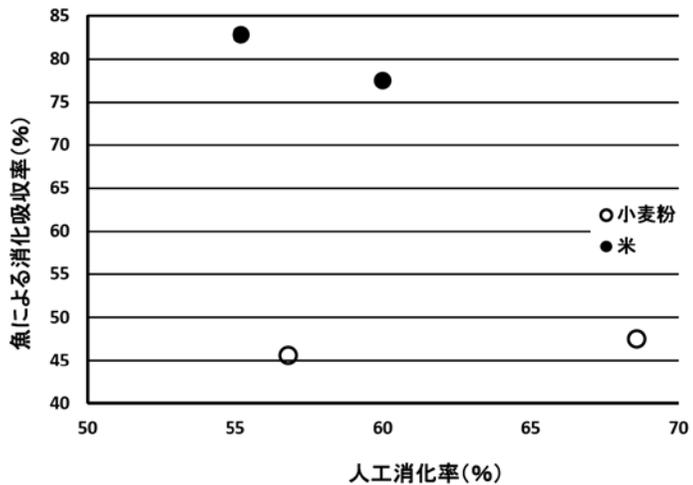


図 9 小麦粉と米の人工消化率と魚による消化吸収率の違い

を用いて消化吸収率を測定するしかないようである。

3. 要約

- ・食品用高品質小麦粉より米の方が養魚飼料用炭水化物源として優れている。これは魚に消化吸収される炭水化物の率が小麦粉より米の方が遥かに高いことによっている。

- ・生米の粉砕物では、ジアスターゼ処理による人工消化率は小麦粉と大差無いが、実際に魚を用いて消化吸収率を測定すると米の方が遥かに高い値を示す。正確な消化吸収率を知るためには、やはり実際に魚を用いて消化吸収率を測定しなければならない。

- ・ジアスターゼ処理による人工消化率は供試物によって実際の消化吸収率と可也大きな違いが有るようなので、手軽な方法として炭水化物源のスクリーニングに留めておくべきである。

- ・消化吸収率測定試験の結果を基にして求めた飼料から消化吸収された炭水化物量と、その数値を基にして求めた CP 比は飼育試験の飼料効率とタンパク質効率に非常に強い正の相関を有していた。

考察

ニジマス用飼料の炭水化物源には炭水化物含量が高く、しかも消化吸収率が高い原料が良い。

実際に魚を用いて消化吸収率を測定するのは大変なので、ジアスターゼ処理による人工消化率を用いてスクリーニングして原料の絞り込みを行い、その後で消化吸収率を測定するのが現実的であろう。但し、ジアスターゼ処理による人工消化率は供試物によっては実際の消化吸収率と可也値が違う可能性が有るので、あくまでも原料のスクリーニングの手段として用いるべきで、正

確な値を求めるためには魚を使って消化吸収率を測定すべきである。

小麦粉より米、特に中白糖は炭水化物量が多くて魚の飼育成績も優れているので、ニジマス用飼料の炭水化物源として小麦粉より適している。但し、米関連製品は小麦粉よりやや価格が高い傾向が有るので、消化吸収可能な炭水化物量、脂質量、タンパク質量などと価格を考え、何をどの程度の量使用するのが良いか、何と何を混合使用するのが良いかなどを計算して決めれば良い。

表 17 と 図 10 に本試験で使用した全ての炭水化物源の炭水化物量とジアスターゼ処理による人工消化率との関係を示すが、結構色々な事

表 17 炭水化物含量と人工消化率の関係

原料	炭水化物 (%)	人工消化率 (%)
小麦粉: I	49.5	74.3
小麦粉: II	61.6	61.3
小麦粉: III	67.7	56.8
中白糖: I	60.0	94.3
中白糖: II	60.9	99.2
中白糖: III	60.5	94.3
中白糖: IV	65.0	77.2
中白糖: V	63.4	78.5
中白糖: VI	61.6	94.6
中白糖: VII	60.0	88.2
米粉	56.1	75.7
うるち米	74.8	60.0
もち米	71.3	55.2
脱脂米糠	38.0	88.5

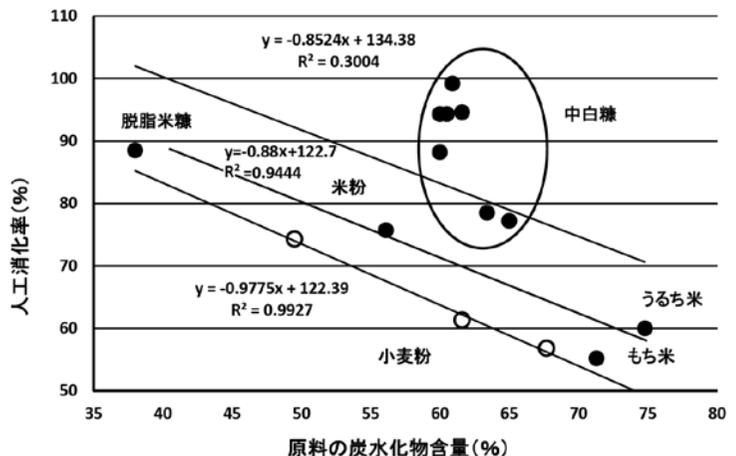


図 10 原料の炭水化物含量と人工消化率の関係

が読み取れる。

小麦粉は等級の違いに関係なく炭水化物量と人工消化率の間には非常に強い負の相関が認められる。つまり、いたずらに価格が高い高品質の小麦粉を用いても飼育成績は期待した程改善されない可能性が高いということである。多少品質は劣っても安い小麦粉を上手に利用する方が得策であろう。

米は中白糠だけが狭い範囲の炭水化物量と高い人工消化率の範囲に一塊になって存在している。それ以外の脱脂米糠、米粉、うるち米、もち米などは小麦粉同様炭水化物量と人工消化率の間に非常に強い負の相関が認められ、回帰直線の傾きも小麦粉と比較的近い値を示してい

る。但し、炭水化物量に対する人工消化率は小麦粉より約 10% 程度高い値を示す。

この様に、米をただ単に粉碎したり脱脂したりした物に比べて中白糠は明らかに違う性質を持っている。同じコメの粉末であることに違いは無いので、もしかしたら中白糠の製造工程で他原料とは違う何らかの処理、例えば加熱処理とかが行われているのかも知れない。

「何故中白糠の利用性が他原料より高いのか？」や、「何故小麦粉より米の方が消化吸収率が高いのか？」などの問題を明らかに出来れば、今後より効率の良い炭水化物源の利用法が開発出来るものと思われる。

文 献

1. 酒本秀一：ニジマス用飼料，アユ用飼料の適切な α 澱粉添加量，*New Food Industry*, **60**(9): 65-80. 2018.
2. 酒本秀一：アマゴ用飼料-1 成長段階別至適カロリー/タンパク質比 (CP 比)，*New Food Industry*, **54**(11): 56-66. 2012.
3. 古川厚，塚原宏子：養魚飼料消化試験の指標物質としての酸化クロムの湿式定量法について，*日本水産学会誌*, **32**(6): 502-506. 1960.

連絡先：酒本 秀一

email : si290347-5313@tbz.t-com.ne.jp

グルテンフリー穀物 食品と飲料, グルテンの検知－ 1

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1,2}

竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)³ 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)³

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会会長, ³ 神戸女子短期大学

Key Words : グルテンフリー セリアック病

本論文「グルテンフリー穀物 食品と飲料, グルテンの検知－ 1」は, “Gluten-Free Cereal Foods and Beverages” (Edited by E. K.Arendt and F.D.Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER), の第3章 Detection of gluten by Herbert Wieser の一部を翻訳し紹介するものである。

紹介

セリアック病は, 最も良く起こる可能性がある永遠の食物不耐性で, 小麦, ライ麦, 大麦, オート麦中の含有タンパク質 (グルテン) の摂取で引き起こされる病気である。最近のセリアック病の不可欠な療法は, グルテンフリー食と強い関係性があり, 毎日の食品からグルテンの排除を意味する。小腸の炎症は粘膜の損傷と栄養素の吸収不良に関してそれを抑えるのが一般的な治療の目的である。グルテンの摂取がセリアック病をもつ患者にとって, 全食事から 20mg 以上であってはいけない。セリアック病患者に加えて, 他の多くの人でグルテンタンパク質に対して IgE- 仲介アレルギー反応のため耐えられない人; グルテン含量食品を避けなければならない。グルテン感受性の人には, 2つの異なったカテゴリーからグルテンフリー食品を食べる。まず, 肉, 魚, ミルク, 果物, 野菜のような一般的食品の範囲のものを消費する。

しかし, 加工食品の場合, グルテンフリーなのかそうでないのか見極める事は困難である。大きな助けになるのが, 過敏症を引き起こす成分として食品のリスト中に含まれるグルテンを

必ず加工食品のラベル (Codex Standard for the Labelling of Prepacked Foods, 2001) にはっきり記入することになっていることである。しかし, それだけではなくグルテン感受性の人には, 非常に多くの食品に注意せねばならず, そこには隠れたグルテン源, たとえば濃いソース, スープ, プディング, さらにソーセージのようなものもある。患者はそこから “Codex Standard for Gluten-free Foods” による規定食, グルテンフリー食品を消費する。この規格は 1981 に作られ 1983 に修正された。しかし, グルテンの測定法はなかった (Codex Stan 118-1981, 修正 1983)。唯一の選択方法のポイントは窒素含量である。窒素含量はグルテンフリー食品の調製に用いる穀物デンプンの分析に制限されており, 窒素含量は乾物含量として 0.05% 以下でねばならない。ケルダール方法または最近では Duma Combustion 法が窒素含量の定量に用いられる。

Codex Stan 118-1981 の改正は今や Codex procedure (Codex document CL2006/5-NFSDU, 2006) の step 6 である。最も顕著な違いは, 提案された新スタンダードと古いもので, 古い

スタンダードではデンプンのような2-3の成分にのみに制限されていたが、新しいスタンダードでは全ての食品にグルテンフリーとしてラベルされた。グルテンフリー食品の3つのはっきりした点が“Draft Revised Codex Standard for Gluten-free Foods (2006)”に述べられた；グルテンフリー食品とは食料品で a) 小麦あるいは全ての *Triticum* 種、たとえば spelt, kamut, あるいは durum 小麦, ライ麦, 大麦, [オート麦] のどんなプロラミンも含まないものからなる、あるいはそれら成分を含まないもので作られるもの [注、角括弧は最終結論に至るまで情報不十分を示す], あるいはグルテンレベルが [20]mg/kg を超えない雑種交配品種からなる。あるいは b) 小麦, ライ麦, 大麦, [オート麦], spelt あるいはそれらの雑種品種で、そのものが“グルテンフリー”とよばれグルテンレベルが [200]mg/kg を超えてないもの；あるいは c) a) と b) 中のもので [200]mg/kg のグルテンレベルが超えないもの 2 種の混合からなる。

このスタンダードの目的のため、グルテンとは小麦, ライ麦, 大麦, [オート麦], あるいはそれらの雑種品種、さらにその誘導体のタンパク質と定義され、さらに、ある人は不耐性であり、水および 0.5mol/L NaCl に不溶性である。

プロラミンは、40-70% エタノールで抽出されるグルテンタンパク質である。プロラミンはグルテン含量が一般に 50% とされる。固形食品のグルテン含量は mg/kg 乾物重量であらわされるが、液状食品ではオリジナル食品 1kg あたりの mg で表される。20mg グルテン /kg 乾燥食品の限界が用いられるならば、この方法はたとえば検査限界の約 5mg/kg の閾値より十分に下の、限界値周辺のグルテン濃度測定でも十分な信頼性を確保する必要がある。グルテンフリー食品の定義は、最近 Codex Committee の 28 session で修正された。それに応じグルテンレベル 200mg/kg のグルテンフリー食品が出されていたが、[100]mg/kg に減らしグルテンレベルはすぐに消費できるように述べられており、これは乾物基本重量当たりではない。

グルテンの検査、定量測定の信頼おける方法は、グルテン感受性の消費者、食品産業、食品取り締まり者にとって必要である。そこで、唯一の分析法の一般的アウトラインは Draft Revised Codex Standard によって与えられ、即ちプロラミンは 60% エタノールで食品から抽出され、免疫学的方法で定量される。現在まで詳細にこの方法を設定することができず、感受性、選択性、再生可能性の精度、再現性、参照グルテン/プロラミンの可能性の点でも最小の要求性に答える事もなく、そしてそれらが重層試験 (ring test) ではない事、市販の試験キットが利用できないことがある。

さらに、パンのような加熱したもので問題が生じ、さらに一部分、加水分解したモルツ加工食品やビールなどで問題が生じる。多くの研究者が過去 25 年間、正確なグルテン検査、定量の解決にあたってきた。このチャプターでは、異なった技術、プロラミンあるいはグルテンの食品中における定量の進歩をまとめ、特にセリアック病をもつ患者の食事のために作られたものについて行なった。タンパク質の沈殿抽出方法、参照タンパク質、免疫、非免疫化学法についても分類分けして述べた。

誘発因子

分析方法は食品品質の査定と管理に重要な役割を担い、いずれも産業界でも言えることだが、国内国際レベルでその権威を高めるために行なう。特に食品成分とその添加物の至上の分析が消費者の健康のために不可欠である。最も重要な要求性の高い分析のためには原理の理解と十分な設備の利用、注意深い実施が必要である。

最も毒性の強い食品成分とは、アクリルアミドのような 1 成分かあるいはマイコトキシンのような一連の物質のグループであり、それらの検索の方法と定量は、特別の構造に合わせて進める。しかしながら、グルテン不耐性の場合、誘発因子はタンパク質の複合混合体であり、それは植物の起源（たとえば穀物種類、品種）にもとづいて異なるし、それらが生産された農業

条件（天候、肥料等）、食品加工（加熱、酵素分解等）で異なるが、これらの毒性の構造に関する知識も不完全である。そこで、グルテン化学とそのグルテン毒性に関係する深い理解が、グルテンを決める方法の進歩と判断には必要である。

グルテンタンパク質の化学

多くの成分からなる穀物の貯蔵タンパク質は、穀粒の胚乳中に殆ど含まれている。その唯一の生化学的な機能は、発芽の際の窒素とアミノ酸を有する実生植物を与えるものである。この機能により、唯一のアミノ酸組成（高含量のグルタミン、プロリン）とさらに配列（何度も繰り返しがあ）をもつ。伝統的に、穀物貯蔵タンパク質は、2つの区分に分けられ、それはアルコール-水溶媒における可溶性にもとづくものである；可溶のプロラミンと不溶のグルテリン（Osborne1907）である。プロラミン区分

は単一および数種のタンパク質を含み、グルテリン区分は多くのタンパク質を含む。セリアック-毒性穀物の貯蔵タンパク質は、いろいろな分析技術によって多く研究されてきた（たとえば SDS-PAGE, DEAE, SE-HPLC, RP-HPLC, キャピラリー電気泳動）、およびアミノ酸組成の決定、分子量、部分あるいは全アミノ酸組成（Wrigley らのレビュー 2004）。結果は、小麦、ライ麦、大麦、オート麦は一部均一な貯蔵タンパク質を有し、それはこれらの穀物の植物的関係を非常にうまく反映している。一般の構造により、それらは3つのグループに分けられる；(1) 高分子量 (HMW) グループ (2) 中間分子量 (MMW) グループ (3) 低分子量 (LMW) グループであり、後者の主要グループは4つすべての穀物に存在する（Shewry と Tatham, 1990; Wieser, 1994）。構造データの表示は各グループ、各タイプ表 3.1 に示した。

HMW グループは、HMW グルテニンサブユ

表 3.1 小麦、ライ麦、大麦、オート麦の貯蔵タンパク質タイプの特徴

Group/Type	Code ^a	Residues	State ^b	Repetitive unit ^c	Q	P	F+Y	G	C
HMW group									
HMW-GS x	Q6R2V1	815	a	QQPGQG(72x)	36	13	5.8	20	0.5
HMW-GSy	Q52JL3	637	a	QQPGQG(50x)	32	11	5.5	18	1.1
HMW-secalin x	Q941KG6	760	a	QQPGQG(66x)	34	15	6.7	20	0.5
HMW-secalin y	Q941L4	716	a	QQPGQG(60x)	34	12	5.0	18	1.1
D-hordein	Q40054	686	a	QQPGQG(26x)	26	11	5.5	16	1.5
MMW group									
ω5-gliadin	Q40215	420	m	(Q)QQQFP(65x)	53	20	10	0.7	0.0
ω1,2-gliadin	Q6DLC7	373	m	(QP)QQPFP(42x)	42	29	9.9	0.8	0.0
ω-secalin	O04365	338	m	(Q)QPQQPFP(32x)	40	29	8.6	0.6	0.0
C-hordein	Q40055	327	m	(Q)QPQQPFP(36x)	37	29	9.4	0.6	0.0
LMW group									
α/β-gliadin	Q9M4M5	273	m	QPQPFPQPYP(5x)	36	15	7.4	2.6	2.2
γ-gliadin	Q94G91	308	m	(Q)QPQQPFP(15x)	36	18	5.2	2.9	2.6
LMW-GS	Q52NZ4	282	a	(Q)QQPPFS(11x)	32	13	5.7	3.2	2.8
γ-40k-secalin ^d	Q41320	-	m	QPQQPFP	-	-	-	-	-
γ-75k-secalin	Q9FR41	436	a	QPQQPFP(32x)	38	22	6.1	1.6	2.1
γ-hordein	P17990	286	m	QPQQPFP(15x)	28	17	7.7	3.1	3.5
B-hordein	P06470	274	a	QPFPQ(13x)	30	19	7.3	2.9	2.9
Avenin	Q09072	203	m	PFVQQQ(3x)	33	11	8.4	2.0	3.9

^aDatabank Unit Prot KB/TREMBL (<http://pir.georgetown.edu>).

^ba=aggregated, m=monomeric.

^cBasic unit frequently modified by substitution, insertion and deletion of single amino acid residues.

^d Fragment.

ニット (HMW-GS) (小麦), HMW セカリン (ライ麦) と D- ホールデン (大麦), HMW-GS と HMW セカリンは x- と y- タイプにさらに分離される。これらのタンパク質の分子量は約 70-90kDa である。アミノ酸組成は高グルタミン, グリシン, プロラミンで特徴づけられて全残基の約 70% である。それらは, 3つの構造ドメインをもち, 1つの非繰り返し, N- 末端のドメインの約 100 残基, 非繰り返しの C 末端ドメインで約 40 残基からなるもの, そして繰り返しの中心ドメイン 400-700 残基長のものである。中心ドメインには YYPTSP のようなヘキサペプチドを差し込んだ主鎖としての繰り返しの 6 ペプチド, たとえば QPQGQ² であり, さらにトリペプチド QQP あるいは QPG のようなトリペプチドを含む。非繰り返し N- 末端および, C- 末端ドメインはずっと少ないグルタミン, グリシン, プロリン含量であり, アミノ酸残基の多いのはチャージした側鎖と特にシステインがあり, それはジスルフィド結合で相互結合している。天然の状態では, HMW グループのタンパク質は会合し, 水アルコールでは抽出されにくい。

MMW グループは相同性のある ω1,2- グリアジン (小麦), ω- セカリン (ライ麦), C- ホールデン (大麦), ユニークな ω5- グリアジン (小麦) からなる。それらの分子量範囲は 40-50kDa である。それらは, アミノ酸組成がアンバランスであり, 高グルタミン, プロリン, フェニルアラニンが高含量でそれらは全残基の約 80% に達する。アミノ酸配列の殆どの域は (Q) QPQQPFP あるいは (Q) QQQFP のような繰り返しユニットからなる。システインが普通欠けているので, MMW グループのタンパク質はモノマーであり完全に水アルコールで抽出される。

LMW グループのメンバーは, 単一のタンパク質に分けられ, そこでは α/β-, γ- グリアジン (小麦), γ-40K- セカリン (ライ麦), γ- ホールデン (大麦), アベニン (オート麦), LMW グルテニンサブユニット (LMW-GS) (小麦),

γ-75K- セカリン (ライ麦), β- ホールデン (大麦) を含む会合タンパク質である。それらの分子量は 30-40kDa の範囲で, γ-75kDa- セカリン (分子量約 50kDa), とアベニン (分子量約 22kDa) が例外である。全てのこれらのタンパク質は N 末端ドメインはグルタミン, プロリン, 芳香族アミノ酸 (フェニルアラニン, チロシン) が富んでおり, C 末端ドメインはよりアミノ酸バランスがとれていて, システイン残基の殆どはここにある。両ドメインの長さは, 種類によって異なっている。γ- グリアジン, γ-40K- セカリン, γ- ホールデンは相同性があり, QPQQPFP のような繰り返しが多く, さらに C- 末端ドメイン内に SS 結合で 4 個結合している。α/β- グリアジンは小麦のみである; その N- 末端ドメインは QPQQPFPQPYP のような繰り返して特徴的であり, C 末端ドメインには 3 個の SS 結合がある。殆どの α/β および γ- タイプタンパク質はモノマーであり, 水アルコールで抽出できる。これらのタンパク質の少数はシステイン残基が奇数で, 遺伝子の突然変異によるためであり, エタノール可溶オリゴ分子プロラミン区分またはエタノール不溶性多分子グルテリン区分である。

アベニンは, LMW グループ内の最も小さなタンパク質であり, それは短い N- 末端ドメインで唯一 3 つの繰り返し単位 (PFVQQQQ) をもつ。C 末端ドメインは, 一部 α/β-, γ- タイプに相同性があり, 一部グルタミンリッチの繰り返し配列, QPQLQQQVF のようなものを有する。LMW-GS, γ-75K- セカリン, β- ホールデンは会合タンパク質であり, 少なくとも他のタンパク質と 1 個の SS 結合を形成している。LMW-GS の N- 末端ドメインは, QPQQPFP のような繰り返しユニットが特徴的であり, C 末端ドメインは 3 個の SS 結合の相互結合を含む。N 末端中の 1 個のシステイン残基と C 末端ドメイン中のシステインは相互鎖間に結合する。

γ-75K セカリンは γ-40K セカリンに相同性があるが, N- 末端ドメインがずっと長く, 分子

内結合するシステイン残基を有している。 β -ホールデンは γ -ホールデンに相同性があり、しかし、両分子間と分子内SS結合を形成する。

毒性試験

生体試験は、一般にセリアック病のタンパク質、ペプチドの毒性検査にとり“Good standard”と考えられている。初期の研究では、食事試験による毒性を決めるのは、油脂あるいはキシロースで下痢あるいは吸収不良のような兆候が現れることにもとづいて行なっていた。しかしながらグルテンの最大量で患者が疑われている人が用いる量は不確かであった。ある場合には、10-100gが各患者に必要であった。さらにこのような多量で、精製されたタンパク質あるいはペプチドで食事テストするとき最も決定的な限界要因であった。直接小腸に入れ、続いて数時間後に生体組織検査をすると、必要量がグルテンの1g当量にまで減らす事ができた。絨毛の高さの組織学的測定と、陰窩の深さに対する絨毛の高さの比率は、免疫的測定による上皮内リンパ球測定同様、毒性検査の信頼おけるパラメーターであると示された (Fraser et al, 2003, Dewarら 2006)。

生体内試験は、比較的大量のモノが必要で、僅かの限られた数の試験患者でやるために一連の *in vitro* が発達した。人間の小腸組織の組織培養は、僅かグルテンのmg当量のみ必要だが、*in vitro* での最も信頼おける接近方法と提案されている。酵素活性、あるいは形態学的測定によって、平らになった絨毛組織は医学的にのみ改良を示すが、しかしセリアック病毒素の存在のみではない。もっと最近になって、セリアック病をもつ患者から T-cell ライン (細胞系) と細胞クローンがセリアック病の刺激効果の試験に用いられた。

たとえば、ある T 細胞変換アッセイは推定の抗原 (約 10-200 μ g/mL) 抗原存在細胞, T 細胞, トリチウム化したチミジンのインキュベーションで行なわれた (Ellis et al 2003)。最大 2 days のあとチミジンの T cell 中への取り込みが

シンチレーション測定で定量的に進んだ。さらにインターフェロン- γ , あるいはインターロイキン 4 の生産が、セリアック病特異的の刺激効果用パラメーターとして決定できた。さらに、試験管テストで、胎児ラットあるいはニワトリ腸を用いた組織培養試験をすすめる、白血球移動阻害因子、マクロファージ凝固促進活性、白血球 K562 細胞の会合が多少の特異的にスクリーニング試験された。

グルテンタンパク質およびペプチドの毒性

Dicke (1950) は、最初に小麦のセリアック毒性を報告した。すぐ後で、ライ麦、大麦は又毒性があり、一方、トウモロコシ、米、ソバはそうではないと述べた (Kasarda のレビュー, 1994)。今日までオート麦の毒性はまさに物議をかもしている。小麦粉の分画と食事テストのトライアルはグルテンが有毒であるという結論であり、一方、デンプン、小麦性アルブミンはそうではない。それ以来、“グルテンフリー”食事がセリアック病の慣習的治療となった。それによるとグルテンはタンパク質で、普通小麦、トリテケール、ライ麦、大麦、オート麦にあり、オート麦については、人によっては不耐性である (Codex stan 118-1981)。続いての研究ではタンパク質の毒性は小麦 (Wieser のレビュー 1995) についてのみ行なわれた。

グルテンは、水エタノールでアルコール可溶プロラミン (gliadins) とアルコール不溶グルテン (glutenin) に分けられた時、毒性試験は、gliadin 区分は最も毒性ファクターが大きかった。*in vivo*, *in vitro* をさらにすすめる、全てのグリアジンタイプ (α - β -, γ -, ω - グリアジン) が毒性効果を示した。小麦グリアジン区分に相当するものとしてプロラミン区分、1個の相同タイプのライ麦タンパク質 (セカリン)、大麦 (ホールデン) は、重大な試験なしでセリアック毒性と結びつけた。オート麦プロラミン (アベニン) の毒性は今日まで議論の多いものと考えられてきた。小麦グルテニンの毒性は非毒性、弱毒性、あるいはグリアジンの毒性というように述べら

表 3.2 小麦グルテンから選択されたセリアック病有毒ペプチドの元, アミノ酸配列

Type	Sequence ^a	Test ^b	Reference
α/β	LGQQQPFPPQQPYQPQPF	IN	Sturgess <i>et al.</i> (1994)
α/β	PQPQPFPSQQPY	IN	Marsh <i>et al.</i> (1995)
α/β	LQLQPFQPLPYQPQLPY	IN	Fraser <i>et al.</i> (2003)
α/β	VPVQLQPQNPSQQQPQEQVPL	OC	Wieser <i>et al.</i> (1986)
γ	LQPQQPFPPQQPYQPQPF	TC/TG	Arentz-Hansen <i>et al.</i> (2002)
γ	FSQPQQQFPQP	TC/TG	Arentz-Hansen <i>et al.</i> (2002)
γ	PQPQPFPPQQQFPQPQPF	TC/TG	Arentz-Hansen <i>et al.</i> (2002)
HMW	GQQGYPTSPQQS	TC	Van de Wal <i>et al.</i> (1999)
HMW	QGYPTSPQQSG	TC	Van de Wal <i>et al.</i> (1999)
LMW	QQQPPFSQQQSPFSQQQ	TC/TG	Vander <i>et al.</i> (2002)
LMW	QQPPFSQQQQLPQ	TC/TG	Vander <i>et al.</i> (2002)

^aOne-letter-code for amino acids.

^bIN, instillation test (点滴試験); OC, organ culture test (有機培養試験);

TC, T cell test (Tcell 試験); TG, treated with tissue transglutaminase (グルタミナーゼ試験).

れてきたが, しかし非常に不十分な試験結果によるためだ。小麦グルテニン, HMW-GS, および LMW-GS は何れも最近までテストされなかった。in vivo, in vitro では, HMW-GS はまさに Gliadins のようにセリアック病を悪化させる事を示した。(Molberg *et al* 2003; Dewar *et al* 2006)。T cell 刺激試験で LMW-GS からのペプチドで試験すると, このタンパク質のタイプもまた, 大きくセリアック特異的免疫反応を示めた (Vader *et al* 2002)。

サマリーとして, すべての貯蔵タンパク質(プロラミン+グルテリン), 小麦, ライ麦, 大麦, 可能ならばオート麦はグルテンタンパク質に Codex Standard 118-1981, および Draft Revised Codex Standard 中で定義されるグルテンのようである。消化されるグルテンタンパク質から得られたペプチドまたは合成・精製されたペプチド, 両方のパネルは毒性試験を行い, セリアッ

ク病のエピトープであるかどうかを見つけるため行なった (レビューは Sterm ら 2001, Anderson と Wieser2006)。殆どの研究は, 小麦グリアジンとグルテンのペプチドに集中した (限られた毒性ペプチドは表 3.2 にその例として示した)。

in vivo, in vitro のサマリーとして, 貯蔵タンパク質とのグルタミン, プロリンリッチのエピトープは, 主なる沈降因子である。プロリン, グルタミン残基の入れ方は, 残基以下に活性ペプチドを短くする事も有り得てセリアック病活性を阻害する (Sollid, 2002)。熱心に集められた結果はグルテン測定のための方向性として小麦, ライ麦, 大麦, 可能ならオート麦中の貯蔵タンパク質を全てを含むべきであり, さらに試験の特異性はグルタミン, プロリンリッチ-エピトープに焦点が合わされるべきだということを示す。

参考情報

1. CODEX document CL 2006-NFSDU Dfaft Revised Standard for Gluten-Free Foods. JointFAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome: WHO. 2006.
2. Denery-Papini,S.,Nicolas. Y.,and Popineau. Y.: Effinicy and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods. *J. Cereal Sci.* **30**. 121-131. 1999.
3. Morris, B. A. and Clifford, M.N.: Immunoassays in Food Analysis. London, New York: Elsevier Applied Science Publishers. 1985.
4. Skeritt, J. H.: Immunochemistry of cereal grain storage proteins. *Adv. Cereal Sci. Trchnol.* **9**. 263-338. 1988.
5. Stern, M. ed. Processings of the 12th-20th Meetings of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. 1998-2006.

参考文献

1. Allmann, M., Candrian, U., Hofelein, C., and Luthy, J.: Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. *Z. Lebensm. - Wiss Untersuch. Forsch.* **196**, 248-251. 1993.
2. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. 1984.
3. Untersuchung von Lebensmitteln. Immunologischer Nachweis von Proteinen in Backwaren (einschließlich Brot und blutenfreie Backwaren) und Süßwaren. Wien, Zurich ; Beuth-Verlag GmbH.
4. Anderson, R. P. and Wieser, H.: Medical applications of gluten-composition knowledge. In: Wrigley. C., Bekes, F., and Bushunk. W.: eds, Gliadin and Glutenin the Unique Balance of wheat Quality. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, pp. 387-409. 2006.
5. Arentz-Hansen, H., McAdam, S. N., Molberg. Ø. *et al.*: Celiac Iesion T cells recognize epitopes that cluster in regions of gliadins rich in pralinc residues. *Gastroenterology* **123**. 803-809. 2002.
6. Aubrecht, E. and Toth, A. Investigation of gliadin content of wheat flour by ELISA method. *Acta Aliment.* **24**. 23-29. 1995.
7. Berger, E. and Freudcnberg, E.: Bemerkungen über dic antigenen Eigenschaften von Abbaustufen des Gliadins. *Ann. Paediatr.* **196**, 238-243. 1961.
8. Bermudo Redondo, M. C., Griffin, P. B., Garzon Rasan, M., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody-based competitive assay for the sensitive detection of coeliac disease toxic prolamins. *Anal. Chim. Acta* **551**. 105-114. 2005.
9. Camafeita, E., Alfonso, P., Acevedo, B., and Mendez, E.: Sample preparation optimization for the analysis of gliadins in food by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mas Spectrom.* **32**, 444-449. 1997a.
10. Camafeita, E., Alfonso, P., Mothes, T., and Mendez, E.: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric micro-analysis: the first on-immunological alternative attempt to quantify gluten gliadins in food samples. *J. Mass Spectrom.* **32**, 940-947. 1997b.
11. Camafeita, E., Solis, J., Alfonso, P., Lopez, A., Sorell, L., and Mendez, E.: Selective identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of different types of gluten in foods made with cereal mixtures. *J. chromatogr. A* **823**. 299-306. 1998.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossatli, C. A.: Optimization of a competitive ELISA with polyclonal antibodies for quantification of prolamins in foods. *Food Agric. Immunol.* **7**. 333-343. 1995.
12. Chirido, F. G., Anon, M. C., and Fossati, C. A.: Development of high-sensitive enzyme immunoassays for gliadines quantification using the strepavidin-biotin amplification system. *Food Agric Immunol.* **10**, 143-155. 1998.
13. Ciclitira, P. J. and Lennox, E. S.: A radioimmunoassay for α - and β -gliadins. *Clin. Sci.* **64**, 655-659.1983.
14. Codex document CX/NFSDU 00/4 Draft revised standard for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2000.
15. Codex document CL 2006/5-NFSDU. Draft revised for gluten-free foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome:WHO. 2006.

16. Codex Stan 118-1981 Codex Standard for Gluten-Free Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. Rome: WHO; p. 118. 1981.
17. Codex Standard for the Labelling of Prepacked Foods. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Standard. ROME; WHO. 2001.
18. Dahinden, L., von Büren, M., and Lüthy, J.: A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *Eur. Food Res. Technol.* **212**, 228-233. 2001.
19. Denery-Papini, S., Nicolas, T., and Popineau, Y.: Efficiency and limitations of immunochemical assays for the testing of gluten-free foods. *J. Cereal Sci.* **30**, 121-131. 1999.
20. Denery-Papini, S., Boucherie, B., Larré, C. *et al.*: Measurement of raw, heated and modified gluten after limited hydrolysis. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 71-73. 2002.
21. Dewar, D. H., Amato, A., Ellis, H. J. *et al.*: The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 483-491. 2006.
22. Dicke, W. K.: Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereals on the patients with coeliac disease. PhD thesis. University of Utrecht. 1950.
23. Dona, V. V., Fossati, C. A., and Chirido, F. G.: Interference of denaturing and reducing agents on gliadin/antibody interaction. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 51-57. 2004.
24. Ellis, H. J., Doyle, A. P., Wieser, H., Sturgess, R. P., Day, P., and Ciclitira, P. J.: Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a sequenced peptide of α gliadin from the coeliac-activating domain I. *J. Biochem. Biophys. Methods* **28**, 77-82. 1994.
25. Ellis, H. J., Rosen-Bronson, S., O'Reilly, N., and Ciclitira, P. J.: Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of gliadin. *Gut* **43**, 190-195. 1998.
26. Ellis, H. J., Pollock, E. L., Engel, W., Fraser, J. S., Rosen-Bronson, S., Wieser, H., and Ciclitira, P. J.: Investigation of putative immunodominant T cell epitopes in coeliac disease. *Gut* **52**, 211-217. 2003.
27. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N., Wieser, H., O'Sullivan, C., and Ciclitira, P. J.: Production of murine monoclonal antibodies to toxic gluten peptides and proteins, for use in ELISA. In: Stern, M., ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 53-57. 2006.
28. Ellis, H. J., Dewar, D. H., Gonzales-Cinca, N. *et al.*: Characterisation of monoclonal antibodies raised against HMW glutenin subunits. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 21th Meeting of the Working Group on Prolamin analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, 2007.
29. Ferre, S., Garcia, E., and Mendez, E.: Measurement of hydrolysed gliadins by a competitive ELISA based on monoclonal antibody R5, analysis of syrups and beers. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 65-69. 2004.
30. Fraser, J. S., Engel, W., Ellis, H. J., *et al.*: Coeliac disease: *in vivo* toxicity of the putative immunodominant epitope. *Gut* **52**, 1698-1702. 2003.
31. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Monoclonal antibody ELISA to quantitate wheat gliadin contamination in gluten-free foods. *J. Immunol. Methods* **98**, 123-127. 1987.
32. Freedman, A. R., Galfre, G., Gal, E., Ellis, H. J., and Ciclitira, P. J.: Western immunoblotting of cereal proteins with monoclonal antibodies to wheat gliadin to investigate coeliac disease. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **85**, 346-350. 1988.
33. Friis, S. U.: Enzyme-linked immunoabsorbent assay for quantitation of cereal proteins toxic in coeliac disease. *Clin. Chim. Acta* **178**, 261-270. 1988.
34. Fritschy, F., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Quantitative determination of wheat gliadins in foods by enzyme-linked immunosorbent assay. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **181**, 379-385. 1985.
35. Galfre, G. and Milstein, C. Preparation of monoclonal antibodies: strategies and procedures. *Methods Enzymol.* **73**, 3-75. 1981.
36. Garcia, E., Hernando, A., Toribio, T., Genzor, C., and Mendez, E.: Test immunochromatographic rapid assay: a rapid, highly sensitive and semi-quantitative test for the detection of gluten in foodstuffs. In: Proceeding of

- the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 55-64. 2002.
37. Garcia, E., Hernando, A., Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Matrix effects in the extraction and detection of gliadins in foods by R5 ELISA and MALDI-TOF mass spectrometry. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 59-64. 2004.
 38. Gallrich, C., Schieberle, P., and Wieser, H.: Biochemical characterization and quantification of the storage protein (secalin) types in rye flour. *Cereal Chem.* **80**,102-109. 2003.
 39. Henterich, N., Osman, A. A., Mendez, E., and Mothes, T.: Assay of gliadin by real-time immunopolymerase chain reaction. *Nahrung* **47**. 345-348. 2003.
 40. Hemando, A., Garcia, F., Llorente, M. *et al.*: Measurements of hydrolysed gliadins in malts, breakfast cereals. heated/hydrolysed foods, whiskies and beers by means of a new competitive R5 ELISA. In: Stern, M. ed. Proceedings of 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 31-37. 2005.
 41. Hill, A. S. and Skerritt, J. H.: Determination of gluten in foods using a monoclonal antibody-based competition enzyme immunoassay. *Food Agric. Immunol.* **2**. 21-35. 1990.
 42. Jametti, S., Cappelletti, C., Oldani, A., Scafuri, L., and Bonomi, F.: Improved protocols for ELISA determination of gliadin in glucose syrups, *Cereal Chem.* **81**. 15-18. 2004.
 43. Jametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., Picariello, G., and Gabrovská, D.: Characterization of gliadin content in beer by using different approaches. In: Stern, M. ed. 2005.
 44. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity . Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 73-78.
 45. Jametti, S., Bonomi, F., Ferranti, P., de Martino, A., and Picariello, G.: Characterization of peptides and proteins in beer by different approaches. 2006.
 46. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 47-52.
 47. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Ridascreen ○ R/Rida ○ R gliadin test systems. 2003.
 48. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 17th Meeting of the Prolamin Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp. 45-52.
 49. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: The question of extraction procedures. 2005a.
 50. In:Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau:Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.45-52.
 51. Immer, U. and Haas-Lauterbach, S.: Sandwich ELISA versus competitive ELISA: which approach is the more appropriate? 2005b.
 52. In:Stern, M.ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.53-62.
 53. Kahlenberg, F., Sanchez, D., Lachmann, I., Tuckova, L., Tlaskalva, H., Mendez, E., and Mothes, T.: Monoclonal antibody R5 for detection of putatively coeliac-toxic gliadin peptides, *Eur. Food Res. Technol.*, **222**, 78-82. 2006.
 54. Kasarda, D. D.: Toxic cereal grains in coeliac disease. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds. Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease. Dublin: Oak Tree Press, pp. 203-220. 1994.
 55. Köppel, E., Stadler, M., Lüthy, J., and Hübner, P.: Detection of wheat contamination in oats by polymerase chain reaction (PCR) and enzymelinked immunosorbent assay (ELISA). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **206**. 399-403. 1998.
 56. Kruger, E. and Bietz, J. A.: HPLC-High-Performance Liquid Chromatography of Cereals and Legume Proteins. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. 1994.
 57. Laffey, C., Madden, N., Fogarty, T., and Burke, P.: Gluten testing: an Irish perspective. 2005.
 58. In:Stern, M.ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.63-68.
 59. Lewis, J. H. and Wells, H. G.: The immunological properties of alcohol-soluble vegetable proteins. *J. Biol. Chem.* **66**, 37-48. 1925.

60. Malmheden Yman, I.: Detection of gluten/cereals in baby food samples collaborative study. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 65-74. 2006.
61. Marsh, M. N., Morgan, S., Ensari, A., *et al.*: *In vivo* activity of peptides 31-43, 44-55, 56-68 of α -gliadin in gluten sensitive enteropathy (GSE). *Gastroenterology* **108**, A871. 1995.
62. McKillop, D. F., Goslin, J. P., Stevens, F. M., and Fottrell, P. F.: Enzyme immunoassay of gliadin in food. *Biochem. Soc. Trans.* **13**, 486-487. 1985.
63. Meier, P., Windemann, H., and Baumgartner, E.: Zur Bestimmung des α -Gliadin-Gehaltes in glutenhaltigen und 'glutenfreien' erhitzten Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **178**, 361-365. 1984.
64. Mendez, E., Camafeita, E., Sebastian, J. S., *et al.*: Direct identification of wheat gliadins and related cereal prolamins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* (Spec. Issue). S123-S128. 1995.
65. Mendez, E., Vela, C., Immer, U., and Janssen, F. W.: Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *Eur. J. Gastroentero Hepatol.* **17**, 1053-1063. 2005.
66. Molberg, Ø., Solheim, Flaete, N., Jensen, T., *et al.*: Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. *Gastroenterology* **125**, 337-344. 2003.
67. Morris, B. A. and Clifford, M. N.: Immunoassays in Food Analysis. London; Elsevier Applied Science. 1985.
68. Mujico, J. R., Lombardia, M., and Mendez, E.: Detection of wheat DNA in foods by a quantitative real-time PCR system: can the measurement of wheat DNA be used as a non-immunological and complementary tool in gluten technology? In: Stern, M. ed. Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, pp.91-98. 2004.
69. Mujico, J. R., Hernando, A., Lombardia, M., *et al.*: Quantification of wheat, barley and rye contamination in oat samples by real-time PCR. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.87-94. 2005.
70. Mujico, J. R. and Mendez, E.: Simultaneous detection/quantification of wheat, barley and rye DNA by a new quantitative real-time PCR system. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-45. 2006.
71. Osborne, T. B.: The proteins of the wheat kernel. Publication 84. Carnegie Inst., Washington, DC. 1907.
72. Ranz, A. I., Venteo, A., Vela, C., and Sanz, A.: Ingezim gluten. Immunoenzymatic assay for gluten detection using monoclonal antibody R5. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 18th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 37-49. 2004.
73. Ranz, A. I., Venteo, A., Cano, M. J., Vela, C., and Sanz, A.: Development of a new and rapid semiquantitative method for gliadin detection using R5 antibody. In: Stern, M. ed.: Proceedings of the 19th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 39-44. 2005.
74. Rumbo, M., Chirido, F. G., Fossati, C. A., and Anon, M. C.: Analysis of the effects of heat treatment on gliadin immunochemical quantification using a panel of anti-prolamin antibodies. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5719-5726. 2001.
75. Sandberg, M., Lundberg, L., Ferm, M., and Malmheden, Yman, I.: Real time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 344-349. 2003.
76. Schofield, J. D., Bottlomey, R. C., Timms, M. F., and Booth, M. R.: The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphhydryl-disulphide interchange reactions. *J. Cereal Sci.* **1**, 241-253. 1983.
77. Seilmeier, W. and Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. IV. Reactivity of gliadin fractions and components from different wheat species in a commercial immunoassay. *Eur. Food Res. Technol.* **217**, 360-364. 2003.
78. Shewry, P. R. and Tatham, A. S.: The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J.* **267**, 1-12. 1990.
79. Sima, A., van Eckert, R., and Pfannhauser, W.: Vergleich unterschiedlicher kommerzieller ELISA-Testsystem zur Bestimmung von Gluten. *Lebensmittelchemie* **53**, 40. 1999.
80. Skeritt, J. H.: A sensitive monoclonal-antibody-based test for gluten detection: quantitative immunoassay, *J. Sci.*

- Food Agric.* **36**, 987-994. 1985.
81. Skerritt, J. H.: Immunochemistry of cereal grain storage proteins, *Adv. Cereal Sci. Technol.* **9**, 263-338. 1998.
 82. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1771-1778. 1990.
 83. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Enzyme immunoassay for determination of gluten in foods: collaborative study. *J. AOAC* **74**, 257-264. 1991a.
 84. Skerritt, J. H. and Hill, A. S.: Self-management of dietary compliance in coeliac disease by means of ELISA "home test" to detect gluten. *Lancet* **337**, 379-382. 1991b.
 85. Skerritt, J. H. and Underwood, P. A.: Specificity characteristics of monoclonal antibodies to wheat grain storage proteins, *Biochem. Biophys. Acta* **874**, 245-254. 1986.
 86. Skerritt, J. H., Devery, J. M., and Hill, A. S.: Chemistry, celiac-toxicity and detection of gluten and related prolamins in foods. *Panminerva Med.* **33**, 65-74. 1991.
 87. Sollid, L. M.: Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat. Rev. Immunol.* **2**, 647-655. 2002.
 88. Sorell, L., Lopez, J. A., Valdes, I., *et al.*: An innovative sandwich ELISA system based on an antibody cocktail for gluten analysis, *FEBS Lett.* **439**, 46-50. 1998.
 89. Spaenij-Dekking, E. H. A., Kooy-Winkelaar, E. M. C., Nieuwenhuizen, W. F., Drijfhout, J. W., and Koning, F.: A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of $\alpha\beta$ - and γ -gliadins. *Gut* **53**, 1267-1273. 2004.
 90. Spaenij-Dekking, L., Kooy-Winkelaar, Y., Stepniak, D., Edens, L., and Koning, F.: Detection and degradation of gluten. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwiskau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp. 59-64. 2006.
 91. Stern, M., Ciclitira, P. J., van Eckert, R., *et al.*: Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **13**, 741-747. 2001.
 92. Sturgess, R., Day, P., Ellis, H. J.: *et al.*: Wheat peptide challenge in coeliac disease. *Lancet* **334**, 758-761. 1994.
 93. Theobald, K., Bohn, A., Thiel, M., Ulmer, W. T., and König, W.: Production of monoclonal antibodies against wheat flour components. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **72**, 84-86. 1983.
 94. Troncone, R., Vitale, M., Donatiello, A., Farris, E., Rossi, G., and Auricchio, S.: A sandwich enzyme immunoassay for wheat gliadin. *J. Immunol. Methods* **92**, 21-23. 1986.
 95. Vader, W., Kooy, Y., van Veelen, P. *et al.*: The gluten response in children with celiac disease is directed towards multiple gliadin and glutenin peptides. *Gastroenterology* **122**, 1729-1737. 2002.
 96. Valdes, I., Garcia, E., Llorente, M., and Mendez, E.: Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **15**, 465-474. 2003.
 97. Van de Wal, Y., Kooy, Y. M. C., van Veelem, P. *et al.*: Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur. J. Immunol.* **29**, 3133-3139. 1999.
 98. Van Eckert, R.: Methodological and practical experience in gluten analysis. *Ernährung/Nutrition* **17**, 163-165. 1993.
 99. Van Eckert, R., Scharf, M., Wald, T., and Pfannhauser, W.: Determination of proteins with ELISA-methods: doubtful quantitative results? In: Amado, R. and Battaglia, R. eds. Authenticity and Adulteration of Food-the Analytical Approach. Proceedings of the 9th European Conference on Food Chemistry, FECS Event No. 220. Vol. 1. Zürich: Swiss Society of Food and Environmental Chemistry, pp. 263-268. 1997.
 100. Van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P. J. *et al.*: Towards a new gliadin reference material-isolation and characterisation. *J. Cereal Sci.* **43**, 331-341. 2006.
 101. Weisgerber, C.: ELISA for the detection of gliadin in food. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 12th Meeting of the Working Group on Protamin Analysis and Toxicity. Zwiskau: Eigenverlag, p.59. 1998.
 102. Wieser, H.: Cereal protein chemistry. In: Feighery, C. and O'Farrelly, C. eds, *Gastrointestinal Immunology and Gluten-Sensitive Disease*. Dublin: Oak Free Press, pp. 191-202. 1994.
 103. Wieser, H.: The precipitating factor in celiac disease. In: Howdle, P. D., ed. *Bailliere's Clinical Gastroenterology*, Vol. 9: Coeliac Disease. London: Bailliere Tindall, pp. 191-207. 1995.
 104. Wieser, H.: Investigating the extractability of gluten proteins from wheat bread in comparison with flour. *Z.*

- Lebensm. Untersuch. Forsch.* **A207**, 128-132. 1998.
105. Wieser, H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *Eur. Food Res. Technol.* **211**, 262-268. 2000.
 106. Wieser, H. and Antes, S.: Development of a non-immunochemical method for the quantitative determination of gluten in wheat starch. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 16th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.19-23. 2002.
 107. Wieser, H. and Kieffer, R.: Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a microscale. *J. Cereal Sci.* **34**, 19-27. 2001.
 108. Wieser, H. and Seilmeier, W.: Determination of gliadin and gluten in wheat starch by means of alcohol extraction and gel permeation chromatography. In: Stern, M. ed. Proceedings of the 17th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten. pp.53-57. 2003.
 109. Wieser, H., Belitz, H.-D., Idar, D., and Ashkenazi, A.: Coeliac activity of the gliadin peptides CT-1 and CT-2. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.* **182**, 115-117. 1986.
 110. Wieser, H., Seilmeier, W., and Belitz, H.-D.: Quantitative determination of gliadin subgroups from different wheat cultivars. *J. Cereal Sci.* **19**, 149-155. 1994.
 111. Wieser, H., Antes, S., and Seilmeier, W.: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* **75**, 644-650. 1998.
 112. Wieser, H., Bushuk, W., and MacRitchie, F.: The polymeric glutenins. In: Wrigley, C., Bekes, F., and Bushuk, W. eds. Gliadin and Glutenin: the Unique Balance of Wheat Quality. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists. pp. 231-240. 2006.
 113. Windemann, H., Fritschy, F., and Baumgarmer, E.: Enzyme-linked immuno sorbent assay for wheat α -gliadin and whole gliadin. *Biochim. Biophys. Acta* **709**, 110-121. 1982.
 114. Wrigley, C., Corke, H., and Walker, C. E.: Encyclopedia of Grain Science. Vol.1-3. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 2004.

連絡先：瀬口 正晴
email : gr228587@wf7.so-net.ne.jp

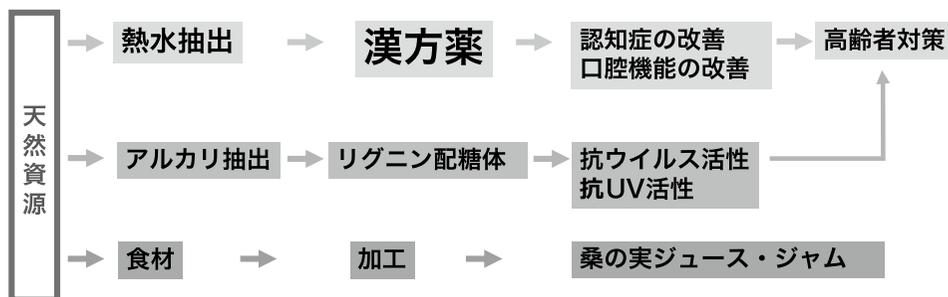
白石カルシウムの炭酸カルシウム	<p>分散性・混合性に優れたものや、飲料用として沈殿を抑制したタイプ等、品揃えております。</p> <p>一般の栄養強化には「ホワイトン」</p> <p>機能を求めるならば「コロカルソ」</p> <p>飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」</p> <p style="text-align: center;">詳細につきましては弊社営業担当にお気軽にお尋ねください。</p>
<div style="text-align: center;">  <p>炭酸カルシウムとは？</p> </div>	<p>古くから食品に使用されている安全性・吸収性に優れたカルシウム源です。</p> <p>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。</p>
◎ 白石カルシウム株式会社	<p>食品部：東京都千代田区岩本町1-1-8 TEL03-3863-8913 本社：大阪市北区中之島2-2-7 TEL06-6231-8265</p>

漢方の効能

Efficacy of traditional medicine “KAMPO”

(1) 自然の恩恵 Benefits of nature

坂上 宏 (SAKAGAMI Hiroshi)¹ 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)² 史 海霞 (SHI Haixia)³



要約

漢方薬は、西洋薬と異なり、複合成分から構成され、それらが相乗的に作用して総合的に、被験者の病態や体質を改善する。漢方薬による口腔機能や認知症の改善および神経細胞保護は、高齢者社会において喫緊の研究テーマである。

漢方薬とは

漢方は、およそ 2000 年以上前の古代中国に発祥し、5~6 世紀頃に日本に伝来して独自の発展を遂げた。現在、日本で行われている「漢方」は主に日本で発達した漢方（古方）で、一部に現代中国で行われている中医学を使う人達がいる。漢方薬には、植物、動物、鉱物等の全部又は一部を乾燥させた「生薬」と、生薬を熱水で抽出して粉末状にした「エキス剤」がある。

西洋薬（新薬）は、化学合成により人工的に作られる単一物質であり、体内の特定の分子を標的としている。西洋薬は、診断により病態が明らかになっている疾患に対しては効果を示すが、体質的な症状には無効である場合が多い。これに対して、漢方薬は、本人の自覚症状や体力や体質などを判定し、2 種類以上の生薬を組み合わせて調製されることが多い。そのため、自然治癒力を高め、バランスを整え、総合的に病態を改善することが可能である。

漢方製剤には、医療用と一般用がある。医療用は 148 処方 678 製品が承認されており、保険適応があり、医師の処方せんに基づいて処方される。一般用は 294 処方 2367 製品が承認されており、薬局・薬店で購入できる¹⁾。

¹ 明海大学歯科医学総合研究所 sakagami@dent.meikai.ac.jp

² 城西大学薬学部生薬学教室 shiratak@josai.ac.jp

³ 上海交通大学第九人民医院 haixia.0101@163.com

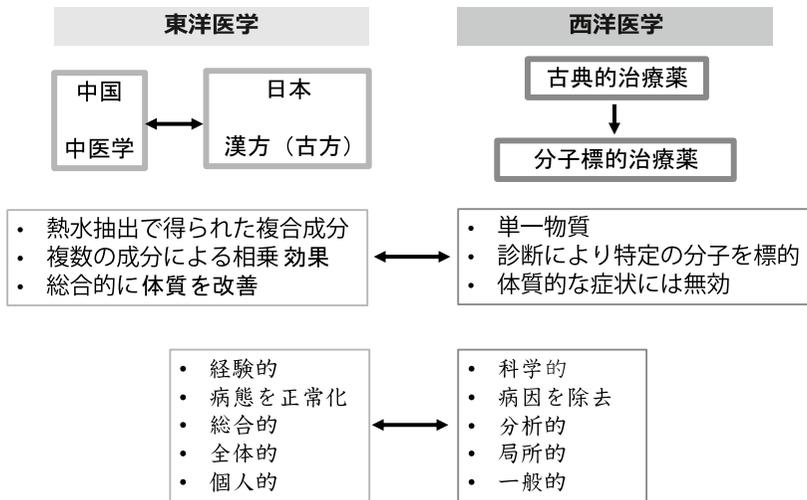


図1 東洋医学と西洋医学の違い

口腔の健康に漢方の活用

口腔の健康は、全身の健康と強い関連性を持つことが次第に明らかになってきた。多くの漢方薬が、口内炎、口腔感染症、味覚異常、口臭、舌痛症、顎関節症、抜歯処置、歯周疾患に有効であると考えられている²⁾。半夏瀉心湯^{3,4)} やカンゾウエキス⁵⁾ は、IL-1 β 誘発性の歯肉線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞、口腔ケラチノサイトによる PGE₂ を抑制し強い抗炎症効果を発揮し、漢方薬の認知症改善効果や脳保護効果が報告されている⁶⁾。漢方エキス剤は熱水抽出により調製されるため、一般的に、抗 HIV 活性は弱い⁷⁾。しかし、カンゾウエキス⁸⁾、緑茶、烏龍茶、オレンジフラワー⁹⁾ のアルカリ抽出液は、熱水抽出液と比べて、高い抗 HIV 活性を示す。アルカリ抽出エキスを補充することにより、漢方薬の作用範囲を拡大することが可能かも知れない。

高麗川ほとりのビオトープ

埼玉県坂戸市を流れる高麗川のほとりは、さまざまな動植物の生物生息空間（ビオトープ）である（図2）。城西大学の薬用植物園と河川敷グランドのある多和目橋から多和目天神橋に至る辺りは、昨年、舗装工事が完了し、ベンチやあずまやも設置された。そのため、地元の方との交流、自然とのふれあいには恰好の場所になった。民家の庭では柿、栗、梅などの果実が、川では鴨、亀、鯉などを見ることができる。高麗川の湧き水は軟水であるため、醤油や味噌作りに最適である。味噌には、最近、アミロイド誘発性神経細胞傷害を抑制する作用が見つかった。そのメカニズムには味噌



図2 高麗川ほとりのビオトープ

の神経細胞増殖促進効果（ホルメシス効果）が関係しているようである¹⁰⁾。今後の研究によっては味噌の認知症予防効果が期待される。

6月中～下旬は、桑の実（マルベリー）の季節である。赤～黒色に熟したクワの実は甘く、ビタミン、ミネラル、アントシアニンなどのポリフェノールやリグニン配糖体などの食物繊維を多く含む。マルベリーは、ブルーベリーよりもリグニン配糖体を多く含むため、抗ウイルス効果が期待される¹¹⁻¹³⁾。ジャムにしたり、中国では伝統医薬（TCM）として利用されている。しかし、現在、桑の実が食べられることを知る日本の学生は少なくなった。生薬としての桑の利用は葉や根皮で、葉は青汁の中にも入っていることから、今後、桑の葉の部分の解析も必要である。

自然の恩恵

自然のパワーは強力である。太陽光・水力・風力発電は、主要なエネルギー源になるが、台風は逆に風水害を与える脅威になる。自然界に豊富に存在する動植物は、フルーツ、食材、医薬品の素材として利用されている。本シリーズでは、日本および中国における伝統医薬の分類、薬効、歴史、分化について解説して行く。次号は、「薬膳」についての記載を予定している。

Efficacy of traditional medicine “KAMPO” (1): Benefits of nature

SAKAGAMI Hiroshi¹ SHIRATAKI Yoshiaki² SHI Haixia³

¹Meikai University Research Institute of Odontology (M-RIO)

²Department of Pharmacognosy & Natural Medicines, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

³Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Ninth People's Hospital

Summary

Unlike western medicine, Kampo medicine consists of complex ingredients, which act synergistically to improve symptom and physical fitness of subject comprehensively. Improvement of oral function and dementia, and neuroprotection by Kampo medicine are urgent research themes in the elderly society.

What is Kampo medicine

Oriental medicine originated in ancient China more than 2000 years ago, and it came to Japan around the 5-6th century and achieved its own development. Currently, the “Kampo” performed in Japan is mainly that developed in Japan (named “Koho”), while some part of which use Traditional Chinese medicine (TCM) performed in modern China. Kampo medicine include “herbal medicine” prepared by drying all or a part of plants, animals, minerals etc, and “extract” prepared by extracting with hot-water and drying as a powder.

Western medicine (new drug) is a single compound synthesized chemically, and targets specific molecule in the body. Western medicines are effective against diseases when the appropriate diagnostic information is available, but they do not improve the physical fitness in most cases. On the other hand, Kampo medicines are prepared by combining two or more kinds of herbal

medicines (shoyaku), judging symptoms, physical fitness and constitution etc of subject. It thus enhances natural healing awareness, improve balance, and comprehensively improve the condition of subjects.

There are two types of Kampo preparations: one for medical use and the other for general use. For medical use, 148 prescription 678 products are approved, partially covered by insurance, prepared based on prescription of doctor. For general use 294 prescription 2367 products have been approved and can be purchased at pharmacies, drugstores¹⁾.

Utilization of Kampo medicine for oral health

It has become increasingly apparent that oral health is co-related well with general health. Many Kampo medicines are considered to be effective against stomatitis, oral infections, dysgeusia, halitosis, glossalgia, temporomandibular disorder, tooth extraction treatment and periodontal disease²⁾. Hangeshashinto^{3, 4)} and licorice extract⁵⁾ inhibits the IL-1 β -induced-PGE₂ production in gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts, exerting a strong anti-inflammatory effect. Dementia improvement and brain protection by Kampo medicine have been reported⁶⁾. Generally, the anti-HIV activity of Kampo medicine, prepared by hot water extraction, is generally weak⁷⁾. However, alkaline extract of licorice extract⁸⁾, green tea, oolong tea, orange flower⁹⁾ shows higher anti-HIV activity than hot water extract. Supplementation of alkaline extract may further expand the therapeutic ranges of Kampo medicine.

Biotope along the banks of Koma River

The bank of the KOMA River that flows through Sakado City, Saitama Prefecture is a biotope for a variety of plants and creatures. Especially, the area from TAWAME Bridge (where Medicinal Plant Garden of Josai University and KOMA riverbed ground are located) to TAWAME TENJIN Bridge were renewed last year by the pavement of running road and the installation of benches and gazebor. This site became the best place for residents and walkers to contact the nature. You can see fruits such as persimmon, chestnut and plum in garden of nearby houses, and ducks, turtles, carp and so on in the river. Because the spring water of KOMA river is soft, it is most suitable for making soy sauce and miso. Miso can inhibit amyloid-induced neuronal cell injury, possibly *via* hormetic growth stimulation⁹⁾, and therefore is expected to prevent the dementia.

From the middle to the end of June is the best season for mulberry fruit (Mulberry). Ripe red and black one is surprisingly sweet. Mulberry fruit contains vitamins, minerals, polyphenols such as anthocyanins, and dietary fibers including lignin-carbohydrate complex (LCC). Mulberry fruit shows higher anti-HIV activity than blueberry, since the former contain higher accounts of LCC than latter¹¹⁻¹³⁾. It is used for manufacturing a mulberry jam and as TCM in China. However, few Japanese students know that mulberry fruit is edible. The leaf and root bark of mulberry are used as a herbal medicine, for example the leaf is in green juice "Aojiru", and therefore, it is necessary to analyze the pharmacological action of its leaf.

Benefits of nature

Nature is powerful. While solar, hydraulic and wind power generation is a major energy source, typhoons pose a threat that produces tremendous damage. Plants and animal abundantly present in the nature kingdom provide materials for fruits, ingredients and medicines. This series of traditional medicines in Japan and China will introduce their classification, medicinal effect, history and culture. The next issue will focus on *What is Medicinal Food "YAKUZEN"*.

参考文献

1. 豊島聰：広がりみせる漢方薬の処方，認定・専門薬剤師シリーズ9，Excellent Pharmacy Jul-Aug, 2015
2. 歯科における薬の使い方 2015-2018，第3章，漢方薬，デンタルダイヤモンド社
3. Kato T, Segami N and Sakagami H: Anti-inflammatory activity of Hangeshashinto in IL-1 β -stimulated gingival and periodontal ligament fibroblasts. *In Vivo*. **30**(3):257-263, 2016.
4. 宮野加奈子, 河野透, 上園保仁, 抗がん剤治療による口内炎に対する半夏瀉心湯の効果～明日の口内炎患者のために～日薬理誌 **146**: 76-80, 2015.
5. Sakagami H, Kato T, Fukuchi K, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Ohno H and Yamamoto M: Chapter 6. Applicability of licorice extracts for treatment of oral diseases, evaluated by simplified *in vitro* assay systems. “Biological activities and action mechanisms of licorice ingredients” pp 91-106, 2017 (Ed. Sakagami, Intech, ISBN 978-953-51-5195-1.
6. 水上勝義，認知症の治療とケアの最前線～アルツハイマー病と漢方薬，脳神経外科と漢方 **1**: 1-6, 2015
7. Kato T, Horie N, Matsuta T, Umemura N, Shimoyama T, Kaneko T, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Kusama K and Sakagami H: Anti-UV/HIV activity of Kampo medicines and constituent plant extracts. *In Vivo*. **26**(6): 1007-1013, 2012.
8. Ohno H, Miyoshi S, Araho D, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Tsuda T, Sunaga K, Amano S, Ohkoshi E, Sakagami H, Satoh K and Yamamoto M: Efficient utilization of licorice root by alkaline extraction. *In Vivo* **28**(5): 785-794, 2014.
9. Sakagami H, Sheng H, Yasui T, Fukuchi K, Oizumi T, Ohno H, Yamamoto M, Fukuda T, Kotohda K, Yoshida H, Kanamoto Terakubo S and Nakashima H: Chapter 18. Therapeutic potential of solubilized nanolignin against oral diseases. In nanostructures for oral medicine, ed., Grumezescu, Elsevier, ISBN: 978-0-323-47720-8; PII: 978-0-323-47720-8.00019-5, pp545-576, 2017April 11.
10. 小島百代, 佐野愛子, 鈴木龍一郎, 白瀧義明, 坂上宏：味噌の神経保護作用，*New Food Industry* **60**(5): 79-83, 2018.
11. 坂上宏, 小林正樹, 古賀紀子, 高橋仁美, 立川理恵子, 田代忠正, 長谷川彰彦, 佐藤和恵, 栗原華絵子, 五十嵐武, 金本大成, 寺久保繁美, 中島秀喜, 中村渡：代替医療としての桑の実ジュースの機能性 *New Food Industry* **48**(11): 31-39, 2006.
12. Sakagami H, Asano K, Satoh K, Takahashi K, Kobayashi M, Koga N, Takahashi H, Tachikawa R, Tashiro T, Hasegawa A, Kurihara K, Ikarashi T, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Watanabe S and Nakamura W: Anti-stress, anti-HIV and vitamin C-synergized radical scavenging activity of mulberry juice fractions. *In Vivo*. **21**: 499-506, 2007.
13. Sakagami H and Watanabe S: Beneficial effects of mulberry on human health (in “Phytochemicals and human health: Pharmacological and molecular aspects - A tribute to late professor Bimal Kumar Bachhawat”), pp257-273, Nova Publishers. 2011.

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

ニューフードインダストリー 第60巻 第10号

印刷 平成30年 9月25日

発行 平成30年 10月1日

発行人 渡邊 力

編集人 今西 和政

発行所 エヌエフアイ合同会社

〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302

TEL:042-312-0836(代表)

FAX:042-312-0845

振込先:三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814

多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817

ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク

定価 本体2,000円 +税 (送料100円)

e-mail:newfood@newfoodindustry.com