

フード ケミカル

月刊

食品のおいしさと安心を科学する技術情報誌
A Technical Journal on Food Chemistry & Chemicals.

2017

2

382

特集1 困窮する食料事情対策

特集2 水産系エキスの市場と技術



千葉県袖ヶ浦市から発信する食品産業⑤

PICK UP!
編集部イチ押し

(株) 林原 ファイバリクサ™③

BASFジャパン(株) 植物ステロールエステル

ifia
JAPAN
International
Food Ingredients
& Additives
Exhibition
and Conference

発酵調味料(味噌・醤油)添加料理の健康増進効果
— 化学発光(ケミルミネッセンス)法による抗酸化能の評価検証 —



長尾慶子 Keiko Nagao

東京家政大学大学院人間生活学総合研究科 客員教授

ながお・けいこ

●略歴 1966年にお茶の水女子大学食物学科学卒業。現在、東京家政大学大学院 人間生活学総合研究科 客員教授。学術博士。
●専門分野 調理科学、食生活



川上(永塚)規衣 Norie Kawakami(Nagatsuka)

東京家政大学 家政学部栄養学科 非常勤講師

かわかみ(ながつか)・のりえ

●略歴 東京家政大学家政学部卒、同大学院家政学研究科博士課程修了。学術博士。管理栄養士。
●専門分野 調理科学

1. はじめに

近年、活性酸素と生活習慣病との間に深い関わりがあることが明らかとなり、疾病予防の観点から野菜や果物など抗酸化成分を多く含む食品が注目されている。人間は体内で、食物を酸素で燃やして多くのエネルギーを得ているが、エネルギーを作る過程でその酸素のうち約2~3%が活性酸素に変わると言われている¹⁾。活性酸素とは、通常の酸素が変質したもので、少量であれば問題にならず細菌やウイルスなどの病原菌から身を守る武器として積極的に利用される。しかし、このエネルギー産生過程に加え、紫外線、アルコール、喫煙およびストレスなどが原因で活性酸素が体内に過剰生成されると、生体を傷つけ、組織を破壊し、その機能を失わせるほど酸化力が大で毒性の強いものへと変化する。代表的なものとして、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、ペルオキシラジカルなどが挙げられる。

筆者らはこれまでに日本の伝統料理である“煮ごり”を対象にして、電子スピン共鳴(ESR)法および化学発光(ケミルミネッセンス)法を用いて活性酸素の中でも生体への損傷が特に大といわれるヒドロキシラジカル、および油の自動酸化と密接に関与するペルオキシラジカルの捕捉活性を測定してきた。そして、これらの活性酸素に対しての高い捕捉活性を有することを明らかにしてきた。

本来“煮ごり”とは、ホシザメ、ヒラメ、

マコガレイなどゼラチン質の多い魚や鶏肉などの煮汁が冷えてゼリー状に固まったものであり、周囲を海に囲まれた日本では昔から食されてきた煮魚料理の一種である。その由来は、早朝の漁に出る前に熱い飯にぶっかけて食した漁師料理に始まり、来客時のもてなし料理としたり、忙しいときの保存食とするなど、その土地ごとでさまざまな食べ方が伝承されている。

“煮ごり”には、加熱により低分子化した幅広い分子量分布のたんぱく質が存在しているため、吸収特性の優れたたんぱく質補給源や水分補給源となり、高齢者や咀嚼嚥下困難者に適した食べ物として健康機能面からも見直されつつある。

さらに“煮ごり”の特徴である滑らかな口当たりは、肉基質たんぱく質であるコラーゲンの3重螺旋構造がほどけたゼラチンのゲル化によるところが大きく、そのおいしさはゲルのテクスチャーに加えて煮汁に溶出したうま味成分と調味料との複合効果によると推察される。また添加される味噌および醤油は日本の伝統的な発酵調味料であり、大豆が主原料で良質なたんぱく質を多く含むが、発酵という微生物の働きが加わることにより、元の大豆中には含まれないアミノ酸、ビタミン、機能性物質などが多量に生成され、栄養素は消化吸収しやすい組成まで分解されることが報告²⁾されている。

そこで本稿では、まずさまざまな魚を材料として水煮“煮ごり”を調製し、さらに味

噌および醤油で調味した“煮こごり”料理のペルオキシラジカル捕捉活性の相乗的効果を比較した。次いで、発酵調味料である味噌が生活習慣病を始めとしたさまざまな疾病予防に役立つものとして近年注目されている折から、その中の豆味噌を取り上げて、いくつかの豆味噌レシピの提案とその抗酸化能を同様に測定評価したのでその一部を紹介する。

2. 実験方法

1) 実験材料

“煮こごり”材料としてマコガレイ(茨城産)、ブリ(愛媛産)、サバ(宮城産)、サクラダイ(千葉産)、サケの頭(北海道産)を用いた。サケの頭は北海道カネセフーズより提供を受け、ほかは都内の専門魚店より購入した。直ちに必要量ずつを小分けにして -50°C の冷凍庫にて急速冷凍保存した。実験日の前日に 5°C の冷蔵庫に移し、低温解凍後試料調製を行った。調味料は一般的な市販品の濃口醤油、および味噌(豆味噌、米味噌、麦味噌)を用いた。なお、味噌レシピの作成に用いた豆味噌は、愛知県豊橋市小田商店より提供を受けたものである。

2) 試料調製

(1) “煮こごり”試料

約1cmの角切りにした各魚材料を、おのおの500mL容量の耐熱ビーカーに入れ、上面が水に浸る水量(材料に対して60%の水)を加えて600Wの電熱器で加熱、沸騰後出力を300Wに調節して、蒸発水分を補いながら 100°C で定時間加熱(マコガレイ20分、ブリ10分、サバ20分、サクラダイ20分、サケの頭20分)した。それぞれの加熱時間は、厚労省高齢者用食品の食品群別許可基準(咀嚼困難者用)に適する硬さを目安に予備実験により設定したものであり、最適な煮こごりゲル強度が得

られる時間とした。加熱終了後試料をろ過し、メスアップしたものを対照の水煮試料とした。

調味料添加の場合は、各種調味料をそれぞれ内割りで煮汁の10wt%添加し、対照の水煮試料と同様の方法で定時間加熱し調味料添加試料とした。

(2) 豆味噌レシピの抗酸化測定用試料

考案した各種豆味噌入り料理を凍結乾燥用ビーカーに入れ、パラフィルムおよびアルミホイルで密閉後、 -80°C の冷凍庫(三洋電機超低温フリーザMDF-U482)で1日予備凍結した。その後、フリーズドライヤー(ヤマト科学製DC400, DC800)で、各豆味噌入り料理に応じて2～5日間かけ、完全に乾燥させた。乾燥終了後直ちに各試料をミルサーで粉碎し粉末試料を得た。100mL三角フラスコに0.2gずつ精秤した各粉末試料と超純水20mLをそれぞれ入れ、口部をパラフィルムでふさぎ 37°C の恒温槽で30分間加熱抽出した。その抽出液を $\phi 0.45\mu\text{m}$ メンブレンフィルター(Whatman 25mmGD/X PRDF製)でろ過し測定に供した。

3) 化学発光(ケミルミネッセンス)法によるペルオキシラジカル捕捉活性の測定^{3,4)}

装置はキッコーマン社製ルミテスターC-100を使用した。氷水中にある2,2'-アゾビス(2-アミジノプロパン)二塩酸塩(通称AAPH)試薬(40mM AAPH/0.1Mリン酸緩衝液, pH7.0)200 μL に0.1Mリン酸緩衝液または各濃度の煮こごりゾル試料液200 μL を、ルミチューブに入れてパラフィルムをして攪拌後、 37°C の恒温槽(EYELA社製, DIGI. THERMOPETNTT-1200)内で2分間加温した。加温後、ルミノール試薬200 μL を加えてパラフィルムをして攪拌後、ルミテスターで化学発光パターンを測定した。なお、ルミノール試薬は、0.11mMルミノール溶液

400 μ Lに、0.1Mホウ酸緩衝液0.9mLを加えて調製した。コントロールとして0.1Mリン酸緩衝液を用いて2回連続して測定を行い、測定値が50,000RLU以上であれば装置が安定していると判断して各試料の測定を行い、化学発光パターンの経時的なピーク値の変化より抗酸化能を評価した。すなわち原液→10%希釈液→1%希釈液→0.1%希釈液…と順次希釈液を測定していき、コントロールとしての0.1Mリン酸緩衝液の発光値を1/2にする“煮こごり”試料の最終濃度をIC₅₀値と定義した。

IC₅₀値は下記の①式より計算した。

$$\text{Log}(I_0/I) \times 100 = 30.103 \dots \dots \dots \text{①}$$

この場合のI₀およびIは次のように定義される。

I₀：リン酸緩衝液の発光値

I：煮こごり試料の発光値

これを満たす時の上記Iの“煮こごり”試料濃度がIC₅₀値(%)であり、この数値が小さほど抗酸化能が強いことを示す。なお、①式のLog(I₀/I)×100を抗酸化値と称している。図1は、参考としてサケの頭の酒添加試料を例に算出法を示したもので、この図から算出される試料のIC₅₀値は0.80(%)である。

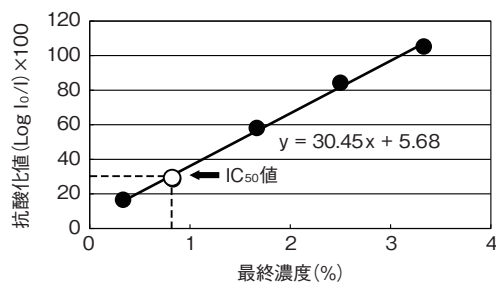


図1 抗酸化値と最終濃度との関係

4) 嗜好意欲尺度法による官能評価

筆者らが提案した各種豆味噌入り料理の嗜好意欲度をみるために、本学調理科学研究室

豆味噌料理の官能検査

年齢 () 才 性別 ()

● 9種の豆味噌料理 A, B, C, D, E, F, G, H, I について、以下から最も適当と思うものを選んで下さい。

9. もっとも好きな食品に入る
8. いつも食べたい
7. 機会があればいつも食べたい
6. 好きだから時々食べたい
5. 時には好きだと思うこともある
4. たまたま手に入れば食べてみる
3. 他に何も無いときに食べる
2. もし強制されれば食べる
1. おそらく食べる気にはならない

A	B	C	D	E	F	G	H	I

●自由記述 (思ったことをお書きください)

図2 豆味噌入り料理の官能検査用紙

員(女性)10名をパネルとして、図2の官能検査用紙を用いて官能評価を行った。

3. 結果および考察

1) 醤油で調味した“煮こごり”のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)の比較

“煮こごり”の魚種別水煮試料(対照)とこれらに醤油(濃口)を添加して調製した醤油添加試料のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)の結果を図3に示した。

図中、各魚種の左側には“煮こごり”水煮(対照)を、右側には濃口醤油で調味した試料の結果を示している。魚種の異なる水煮の煮こごり試料のいずれもIC₅₀値が低く、“煮こごり”自体に高い抗酸化能を有し、脂質過酸化を抑制することが認められた。すなわち煮こごり由来のコラーゲン分解物がペルオキシラジカル捕捉活性に大きく寄与していることが推測された。これら魚種別試料間のペルオキシラジカル捕捉活性の違いは、煮こごり中に含まれるコラーゲンのペプチド画分の相違、あるいは抗酸化成分の含有量の相違によ

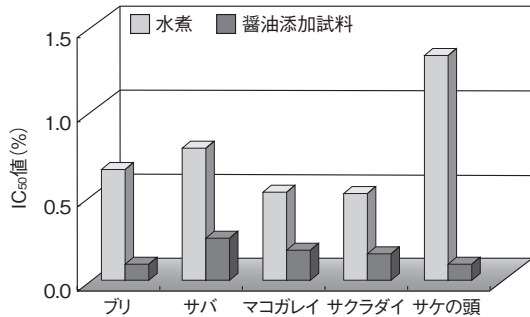


図3 魚種の異なる“煮ごり”のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)¹⁰⁾

るとも考えられるため、今後さらなる検討が必要である。また醤油を加えた煮ごり試料のIC₅₀値(%)は、ラジカル捕捉活性の高い順に、ブリ0.098>サケの頭0.133>サクラダイ0.167>マコガレイ0.182>サバ0.252となり、いずれも水煮試料(ブリ0.659, サケの頭1.337, サクラダイ0.525, マコガレイ0.534, サバ0.789)と比較して、ペルオキシラジカル捕捉活性が増強されていた。このことは調味料に醤油を加えることにより、大きな脂質酸化抑制効果が得られることを示唆するものである。

日本の伝統的な発酵調味料である醤油の主原料である大豆と小麦は、アミノ酸、ペプチド、メラノイジンやイソフラボン類などの抗酸化成分を多数含有している⁵⁾。

さらに醤油の製麹工程中に高い抗酸化性を示す8-ヒドロキシダイゼイン(8-OHD)および、8-ヒドロキシゲニスチン(8-OHG)を生成することが報告⁵⁾されている。これら成分は特に大豆を主原料として製麹を行ったたまり醤油などに高濃度に存在するが、筆者らの実験でも、大豆と小麦を1:1の割合で原料とする濃口醤油で調味した煮ごり中の脂質酸化抑制効果が大きい結果を得ている(図3)。

2) 各種味噌添加“煮ごり”のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)の比較

サケの頭で調理した水煮“煮ごり”を対照として、原料および製法の異なる味噌3種類(豆味噌、麦味噌、米味噌)をおのおの添加し調製した“煮ごり”試料のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)を図4に示した。

味噌は醤油と並んで日本古来の発酵調味料であり、原料となる大豆が高い脂質含量(約20%)を有し、かつ高度不飽和脂肪酸(約60%)を多量含有しているにも関わらず、酸化的劣化が少なく保存性の高い食品として知られている。この図より、調味料として各味噌を加えて調製した“煮ごり”試料は、水煮のみの“煮ごり”試料に比べてIC₅₀値が低く、味噌を加えることでペルオキシラジカル捕捉活性が増強される結果が得られた。味噌も醤油と同様に発酵というプロセスの中でラジカル種を捕捉・消去して不飽和脂肪酸の過酸化を抑制する物質を産生すると考えられている⁶⁾。江崎ら^{7, 8)}は味噌醸造において、醤油と同様に8-ヒドロキシダイゼイン(8-OHD)および8-ヒドロキシゲニスチン(8-OHG)に加え、6-ヒドロキシダイゼイン(6-OHD)などの強い抗酸化性を示すオルトジヒドロキシイソフラボン(ODI)を産生するとの報告をしている。このオルトジヒドロキシ

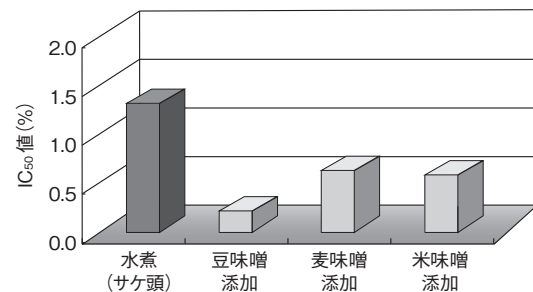


図4 味噌の種類を変えた“煮ごり”のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)¹¹⁾

イソフラボン(ODI)は豆味噌仕込みに利用される味噌玉麴中に十分存在する上、豆味噌の蒸煮大豆に直接麴菌を接種して発酵させる製法中に産生されるといわれている。

筆者らの実験結果(図4)においても特に豆味噌を添加した場合のIC₅₀値が最も低く(すなわちペルオキシラジカル捕捉活性が最も大であり)、豆味噌の添加は、“煮こごり”中の脂質過酸化や各種成分の酸化的劣化を抑制する効果が非常に高いことが示唆された。

3) 豆味噌を用いたレシピの検討⁹⁾

そこで上記の結果を受けて、味噌の中でも抗酸化的作用が最も大である豆味噌に注目し、“煮こごり”以外の料理においても調理工程中の脂質過酸化を抑制できないかと考え、豆味噌レシピの提案を試みた。

近年の食生活の多様化に伴い、日本人1人1日あたりの味噌の消費量は減少している。色が濃く、独特の風味を持つ豆味噌は愛知、三重、岐阜の3県で主に生産される以外は全国的な使用量が低いのが現状である。豆味噌を用いた料理では、「味噌カツ」、「味噌煮込みうどん」、「煮味噌」などの郷土料理が有名であるが、馴染みの少ない関東圏やほかの











地域で上記料理以外にも豆味噌の利用頻度を高めることを目的として、まずは塩の代替として使用することを考えた。豆味噌は子供の時から馴染んできた人以外には嗜好的になかなか受け入れられないが、豆味噌の持つ独特の香り、濃厚なうま味、わずかな渋みは料理の味を引き締め、纏まりや深みを加えるものと考えられる。そこで、表1に示したように一般的な料理である「おにぎり」、「ドリア」、「ポテトサラダ」、「豚肉大葉巻」、「パウンドケーキ」の5種の豆味噌入り料理を提案した。実際には9種の豆味噌入り料理を考えたが、誌面の都合ですべてを掲載できないため、今回は上記5種のみとした。なお、常法のレシピで調理したものを“豆味噌なし料理”と称し、豆味噌入りおよび豆味噌なし各料理の栄養価ならびに塩分は同量に設定した。

4) 豆味噌入り料理のペルオキシラジカル捕捉活性(IC₅₀値)の比較⁹⁾

各料理における豆味噌なしおよび豆味噌入り各料理のペルオキシラジカル捕捉活性の比較としてそれぞれのIC₅₀値を表2に示した。

いずれの料理も豆味噌を添加することでIC₅₀値が小となり、ペルオキシラジカル捕捉

表1 豆味噌を用いた料理5種

	おにぎり	ドリア	ポテトサラダ	豚肉大葉巻	パウンドケーキ
豆味噌入り					
豆味噌なし					
エネルギー(kcal)	584	686	80	100	330
炭水化物(g)	116.6	78.6	68.7	5.7	5.0
脂質(g)	3.2	32.5	4.7	6.4	18.8
たんぱく質(g)	15.5	19.1	1.1	4.5	34.6
食塩(g)	0.8	2.5	0.5	0.6	0.4

※豆味噌入りおよび豆味噌なし料理の栄養価と塩分量は同量とし、栄養価は一人分として算出した

表2 豆味噌入りおよび豆味噌なし各料理のペルオキシラジカル捕捉活性 (IC₅₀値)

	料理名	おにぎり	ドリア	ポテトサラダ	豚肉大葉巻	パウンドケーキ
IC ₅₀ 値 (%)	豆味噌なし	7.44	5.12	1.65	1.68	4.18
	豆味噌入り	4.35	3.53	1.38	1.08	3.00

活性が増強される結果が得られた。前述したように、豆味噌は3種(8-OHD, 8-OHG, 6-OHD)のオルトジヒドロキシイソフラボン(ODI)を含有しており、このオルトジヒドロキシイソフラボンは含有量と抗酸化活性との間に正の高い相関があることが認められている。さらに、豆味噌を30℃で約9カ月間貯蔵しても30分間加熱してもオルトジヒドロキシイソフラボンはほとんど分解・減少せず、安定な物質であるとの報告もある⁸⁾。味噌は通常、加熱調理に利用される場合が多いが、本報のように直接加熱しないおにぎりやポテトサラダのように塩の代替として用いることによって、調理工程中の脂質過酸化を抑制できると考えられた。また、豆味噌中に含まれるオルトジヒドロキシイソフラボンは安定した物質であることから、調理品の保存過程においても十分にその抗酸化的役割を果たすと考えられた。

次に、豆味噌入り各料理の嗜好性を官能検査から検討した。表3は9段階の嗜好意欲尺度をみた結果を平均値で示したものである。数値9が嗜好意欲の最も高いことを示す

表3 豆味噌入り各料理の官能検査結果

豆味噌入り料理	嗜好意欲尺度
おにぎり	7.0
ドリア	7.3
ポテトサラダ	7.0
豚肉大葉巻	7.2
パウンドケーキ	7.4

が、いずれの豆味噌入り料理も嗜好意欲尺度7“機会があればいつも食べたい”という高評価が得られた。このことは、豆味噌を塩の代替として使用することは実用可能であり、嗜好的に好まれることを示唆するものである。

本稿は、永塚規衣ら：日本調理科学会誌, **40**, 179-183 (2007) および *New Food Industry*, **52**, 17-27 (2010) 掲載内容を中心に構成している。参考文献に関しては、誌面の都合上、すべて掲載できていないため、上記論文にて確認されたい。

参 考 文 献

- 1) 嵯峨井勝：『酸化ストレスから身体をまもる：活性酸素から読み解く病気予防』, 12-53 (岩波書店, 2010)
- 2) 野本信夫：『味噌』, 100 (柴田ブックス, 1999)
- 3) Ando, M. *et al* : *Int.J.Mol.Med.*, **12**, 923-928 (2003)
- 4) 原田和樹：日本調理科学会誌, **5**, 343-346 (2013)
- 5) 江崎秀男ら：日本食品科学工学会誌, **49**, 476-483 (2002)
- 6) 山口直彦：日本醸造協会誌, **87**, 721-725 (1992)
- 7) 江崎秀男ら：日本食品科学工学会誌, **48**, 51-57 (2001)
- 8) 江崎秀男ら：日本醸造協会誌, **97**, 39-45 (2002)
- 9) 長尾慶子ら：日本調理科学会大会要旨集, 70 (2014)
- 10) 永塚規衣ら：日本調理科学会誌, **40**, 179-183 (2007)
- 11) 永塚規衣ら：*New Food Industry*, **52**, 17-27 (2010)