

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：23102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16187

研究課題名(和文) 軟化海藻類の分子調理学的変化の解析とメタボリック症候群の発生制御機構

研究課題名(英文) Analysis of Molecular Cookery Change of Softened Konbu and Control Mechanism of Development of Metabolic Syndrome

研究代表者

山岸 あづみ (Yamagishi, Azumi)

新潟県立大学・人間生活学部・講師

研究者番号：00400531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は昆布とひじきを異なる煮沸条件で処理した際の軟化への影響に関する実験および、特徴的な昆布、昆布加工品(とろろ昆布)、ひじきによるメタボリック症候群への影響に関する実験を行った。その結果、同程度の煮沸時間でも佃煮処理と出汁処理では、昆布軟化度が異なることが示された。とろろ昆布は本実験で用いたその他の海藻類に比べて腹腔内脂肪の蓄積を抑制した。本結果から機能性発現には食品の形状も重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted the experiments of the effect of different boiling conditions on the softness of konbu and hijiki, and the effect of characteristic konbu, processed konbu (tororo konbu), and hijiki on metabolic syndrome. As a result, the softness was different from tsukudani-treated konbu and dashi-treated konbu within the same boiling time. Tororo konbu suppressed intraperitoneal fat accumulation compared with the use of other seaweeds in this study. This result suggest that the shape of food is important for expression of functionality.

研究分野：調理科学

キーワード：海藻類 軟化 腹腔内脂肪 メタボリック症候群

1. 研究開始当初の背景

内臓肥満を発端とし、耐糖能異常や脂質異常が重複して発症するメタボリック症候群は、脳血管疾患や心血管疾患の発症頻度を増加させる。それゆえ、これらの疾病を予防・抑制することがメタボリック症候群の発症を抑えるのに重要であると考えられる。肥満症や糖尿病の食事療法として食物繊維が多く含まれる野菜や海藻類の摂取が推奨されているが、日本人の食物繊維摂取量は男女ともに目標量に達していない。

海藻類は乾燥重量あたり食物繊維を約30%含む、有益な食物繊維供給源である。私達が乾燥海藻類を食べるには調理で軟化させるため、「人間栄養学」の観点からヒトに対する海藻類の機能性を検証するには摂取形態を考慮した軟化海藻類を用いることが重要だと考え、シュウ酸 Na 溶液で作成した軟化昆布を食餌性肥満マウスに与えた。その結果、乾燥昆布飼料に比べて軟化昆布飼料は昆布由来の食物繊維量が少ないにもかかわらず、内臓脂肪蓄積抑制が強く、脂肪細胞の粒径が小さいことを確認した。本結果から、軟化した海藻類は乾燥状態に比べてメタボリック症候群の制御作用が強いことが推察された。すなわち、その他の乾燥海藻類についても同様の機能性を有する可能性が考えられた。

2. 研究の目的

ヒトが乾燥した海藻類を食す際、調理過程を経て昆布を軟化させることから、ヒトへの機能性を検証するためには、軟化させた状態の海藻類を用いることが重要である。そこで本研究では実験1として、昆布の調理法である出汁や佃煮で利用することを想定し、これらの調理条件で乾燥昆布を煮沸した際の軟化度と組織・形態の変化について検証を行うこととした。また、摂取頻度が高く昆布と同様の褐藻類であるひじきについては、乾燥昆布で実施した野菜中に含まれる有機酸に対する軟化度および軟化機構について検証することを目的とした。

実験2では、私達の食生活における海藻類の摂取頻度および摂取形態を踏まえて、煮沸により軟化させた昆布およびひじき、昆布を加工処理したとろろ昆布、昆布の中でもフコイダンを多く含み、抗腫瘍作用などの機能性が報告されているガゴメ昆布を用いて、メタボリック症候群に対する機能性発現の有無と作用機作について検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)実験1-1: 乾燥昆布の異なる加熱処理法に関する実験

乾燥昆布の煮沸条件

昆布で出汁を取る条件を参考にし、乾燥昆布に対して50倍量の脱イオン水を使用した。煮沸時間は20分、1時間、2時間とした。蒸

発による煮汁の減少は脱イオン水を補給して、一定量を保った。また、昆布の調理法である佃煮を参考にして、煮切り昆布の作成を行った。煮切り昆布は昆布に対して10倍量の脱イオン水で水分が無くなるまで昆布を煮沸した(約20分)。

煮沸した昆布の分析

煮沸後の昆布は破断強度の測定、切片のトルイジンブルー染色を行った。煮沸処理による残存率を求めるため、昆布は凍結させた後に、凍結乾燥機を用いて乾燥させた後、重量の測定を行った。重量測定後の乾燥昆布は粉碎し、500 μ mのふるいにかけて。粉末化した昆布を用いて、水中沈定体積、Prosky法による食物繊維の分析を行った。

煮沸した昆布煮汁の分析

煮汁はろ過した後に定量し、カルバゾール硫酸法によりアルギン酸等のウロン酸骨格を有する多糖類の測定を行った。

統計処理

破断強度の結果について統計処理を行った。統計処理にはPrism version 5を用いた。正規性および等分散性が確認できた場合は一元配置分散分析を行い、有意差がある場合はTukey-Kramerの多重比較を行った。有意差がある場合はDunnの多重比較を行った。有意水準は両側5%未満とした。

(2)実験1-2: シュウ酸 Na および EDTA・2Na 溶液によるひじきの軟化と組成変化に関する実験

乾燥ひじきの煮沸条件

乾燥ひじきに対して濃度が異なる(0.1、0.5、1、5、10、50、100 mmol/l) 50倍量のシュウ酸 Na および EDTA・2Na 溶液で乾燥ひじきを40分間煮沸した。蒸発による煮汁の減少は脱イオン水を補給して一定量を保った。

煮沸したひじき煮汁の分析

煮沸したひじきの破断強度、残存率、水中沈定体積の測定は昆布の分析と同様の前処理および方法を用いて行った。

煮沸した煮汁の分析

煮汁はろ過した後に定量し、煮汁中に流出したアルギン酸等のウロン酸骨格を有する多糖類はカルバゾール硫酸法、Ca量は原子吸光度計で測定を行った。

統計処理

破断強度の結果について統計処理を行った。統計の方法は実験1-1と同様の方法を用いた。

(3)実験2: 異なる種類の昆布・昆布加工品(とろろ昆布)およびひじきによる、メタボリック症候群への機能性発現に関する実験

動物実験用の調理加工昆布の作成法

日高昆布、ガゴメ昆布、とろろ昆布、水煮ひじきを用いた。日高昆布およびガゴメ昆布は、出汁をとる際の乾燥昆布と水の割合を参考に、乾燥昆布に対して50倍量の脱イオン

水を添加し、沸騰直前まで各昆布を加熱した後、冷凍保存後に凍結乾燥して作成した。とろろ昆布および水煮ひじきも凍結乾燥を行った。凍結乾燥を行った各種海藻類は粉碎した後、500 μm のメッシュを通過したものを実験飼料として用いた。

栄養素の定量

水分は常温加熱乾燥法、たんぱく質は改良ケルダール法、脂質は酸分解法、炭水化物は差し引き法、総食物繊維は Prosky 法、灰分は直接灰化法に準じて定量した。アルギン酸の測定は、テトラヒドロフラン溶液、10%塩酸、10 g/l の水酸化ナトリウム溶液で抽出した後、カルバゾール硫酸法で測定した。

実験動物および飼料組成

実験動物には 4 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを 40 匹用いた。対照群 (Control; 以下 C0 群) の飼料は AIN 93G 組成を基本とし、脂肪エネルギー比が 50% になるようにラードを 20% 添加した高脂肪食とし、食物繊維として 5% セルロースを加えた。試験群は日高昆布群 (Hidaka Kombu; 以下、HI 群)、ガゴメ昆布群 (Gagome Kombu; 以下、GA 群)、とろろ昆布群 (Tororo Kombu; 以下、TR 群)、ひじき群 (Hijiki; 以下、HJ 群) とした。全ての試験群において、飼料中の食物繊維量が 5% になるように海藻類を添加した。体重分布が均一になるように 1 群 8 匹に群分けを行い、10 週間飼育を行った。

動物解剖とサンプル採取

解剖の 5 日前から採糞を開始し、分析まで -20 で保存した。マウスは実験前日に飼料摂取量、体重を測定した後、一晚絶食させた。麻酔下で開腹し、心臓より血液を採取した後、遠心分離を行い、血清を -80 で保存した。肝臓、盲腸、後腹壁脂肪、副睾丸周辺脂肪、腸間膜脂肪を摘出し重量を測定した。

血清の分析

血清は総コレステロール、トリグリセリド、遊離脂肪酸濃度を酵素法により測定した。また、血清インスリン濃度およびレプチン濃度は酵素免疫検定法にて分析した。

耐糖能試験

耐糖能試験は、飼育最終週に 6 時間の絶食後、20% グルコース溶液を 1 g/kg 体重となるように経口ゾンデを用いてマウスの胃内に投与した。投与前に尾部より採血し (0 分)、投与後 15 分、30 分、60 分、120 分後に同様に採血を行い、血糖測定器を用いて血糖の測定を行った。時間と血糖値の曲線から曲線下面積 (AUC) を算出した。

肝臓脂質量

肝臓は凍結乾燥後に重量を測定して粉碎し、クロロホルム:メタノール (2:1) 溶液を用いた Folch 法により抽出、水洗後、窒素気流下で溶媒を除去 (60) し、10% Triton X-100 を含むイソプロパノール溶液で溶解し、血清と同様の方法によりコレステロール量とトリグリセリド量を分析した。

糞中脂質量

糞中の脂質量は糞を凍結乾燥後に粉碎し、4% 酢酸酸性のクロロホルム:メタノール (2:1) 溶液により抽出し、水洗後、乾燥重量を求めて総脂質排泄量とした。総脂質摂取量、総脂質排泄量から脂質の見かけの消化吸収率を求めた。

統計解析

統計処理には Prism version 5 を用いた。正規性および等分散性が確認できた場合は一元配置分散分析を行い、有意差がある場合は Tukey-Kramer の多重比較を行った。等分散性が疑われた場合は Kruskal-Wallis 検定を行い、有意差がある場合は Dunn の多重比較を行った。有意水準は両側 5% 未満とした。

4. 研究成果

(1) 実験 1-1: 乾燥昆布の異なる加熱処理法に関する実験の結果とまとめ

結果

加熱処理後の残存率は煮切り昆布が 90% でもっとも多く、20 分では 48.8%、1 時間では 44.7%、2 時間では 43.1% まで減少した。

昆布の破断強度と煮汁中のウロン酸骨格を有する多糖類の流出量の結果を図 1 に示した。煮切り昆布は煮汁が存在しないため、煮汁中のウロン酸骨格を有する多糖類の測定は行わなかった。図中のアルギン酸は昆布 1g から流出した量を示している。

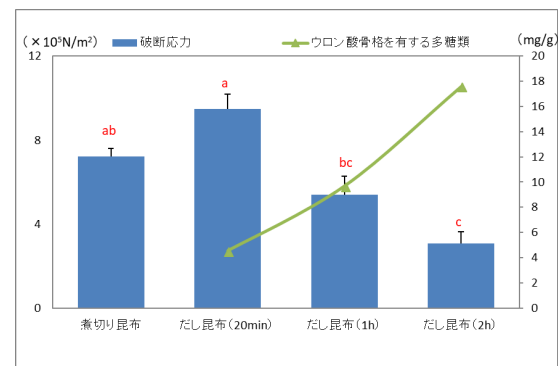


図 1

昆布は煮沸時間が長くなるにつれて軟化が亢進した。煮汁中のウロン酸骨格を有する多糖類は煮沸時間が長くなるにつれて増加した。

食物繊維量は煮切り昆布 (29.7g/100g) がもっとも多く、次に 20 分加熱 (27.9g/100g) であった。1 時間と 2 時間加熱では、食物繊維量に大きな差はなかった。水中沈定体積の結果、煮切り昆布は他の煮沸昆布に比べて低い値であった。トルイジンブルー染色の結果、2 時間加熱では青く染色されている箇所がかなり減少していることが確認できた。

まとめ

本結果から煮切り昆布と 20 分加熱では煮沸時間がほとんど変わらないにも関わらず、煮切り昆布の残存率が多かった要因として、一度流出した成分が再度昆布表面に付着した可能性、あるいは煮切り昆布では水分量が少ないため 20 分加熱昆布に比べて対流が起

こり難く、昆布からの水溶性成分の流出が抑えられた可能性が考えられた。破断強度と煮汁中のウロン酸骨格を有する多糖類およびトルイジンブルー染色の結果から、昆布は煮沸時間が長くなるにつれて軟化し、それに伴い昆布からのアルギン酸の流出が多くなることが推察された。水中沈定体積の結果から、軟化が促進した昆布は昆布からアルギン酸等の水溶性成分が流出したことにより、間隙が生じる等の組織形態が変化したことによって、水分保水力が増大したことが考えられた。

(2) 実験 1-2: シュウ酸 Na および EDTA・2Na 溶液によるひじきの軟化と組成変化に関する実験の結果とまとめ

結果

加熱後の残存率は濃度が濃くなるにつれて残存率は減少する傾向が見られ、もっとも軟化した 5mmol/l 溶液で煮沸したひじきに比べ、それよりも濃い溶液で煮沸したひじきの方が残存率は少なかった。

シュウ酸 Na 溶液で煮沸したひじきは、5mmol/l 溶液で煮沸したひじきまでは軟化が亢進し、それ以上の濃度になると再度硬くなる傾向が見られた。煮汁中へのウロン酸骨格を有する多糖類の流出量は濃度依存的に増加した。一方、煮汁中の Ca 量は 1mmol/l 溶液で煮沸したひじきまでは増加したが、もっとも軟化が亢進した 5mmol/l 溶液以降の濃度で煮沸したひじきでは Ca 流出量は減少した。

水中沈定体積はもっとも軟化した 5mmol/l 溶液で煮沸したひじきが、他のひじきに比べて高く、それ以降の濃い濃度のシュウ酸 Na 溶液で煮沸したひじきでは低下傾向が見られた。

EDTA・2Na 溶液で煮沸したひじきの残存率は濃度が濃くなるにつれて、残存率は減少した。破断強度の結果では、0-10mmol/l 溶液では濃度依存的に軟化が亢進したが、それ以降の濃度で煮沸したひじきは、軟化は亢進せず、10mmol/l 溶液で煮沸したひじきと同等であった。

煮汁中のアルギン酸量および Ca 量は、濃度依存的に増加する傾向が見られた。水中沈定体積は、0-5mmol/l は高い値をしめしたが、10mmol/l 以降の濃い溶液で煮沸したひじきでは低下した。

まとめ

本結果からシュウ酸 Na 溶液で煮沸したひじきの軟化は、アルギン酸等のウロン酸骨格を有する多糖類の流出によって生じていることが示唆された。もっとも軟化した 5mmol/l 溶液で煮沸したひじきの煮汁中への Ca 流出量は増加することなく、またシュウ酸 Na 溶液の濃度が濃くなるほど煮汁への Ca 流出量が減少した要因として、シュウ酸が Ca と不溶性の塩を形成したことが考えられた。

一方、キレート作用を有する EDTA・2Na で煮沸したひじきでは、先行研究で行った昆布

と同様に、濃度依存的にひじきの軟化が亢進し、それにともないアルギン酸および Ca の煮汁中への流出量も増加した。すなわち、ひじきの軟化においても昆布と同様に基本的には、アルギン酸等のウロン酸骨格を有する多糖類と Ca の流出が関与していることが示唆され、Ca が流出せずにひじきが軟化する現象はシュウ酸に特有であることが推察された。

(3) 実験 2: 異なる海藻類・異なる種類の昆布・異なる摂取形態(とろろ昆布)による、メタボリック症候群への機能性に関する実験結果とまとめ

結果

飼料摂取量は TR 群や HJ 群に比べて、GA 群が有意に少なかった。体重増加量は CO 群に比べて、その他の群は有意に少なく、とくに TR 群は他の海藻摂取群と比べても有意に少なかった。臓器重量の結果、肝臓重量は群間で有意差はなかったが、盲腸重量は TR 群が他の群に比べて有意に高かった。腹腔内脂肪組織の総重量は、CO 群に比べて HI 群、TR 群、HJ 群が有意に低下し、とくに、TR 群は他の海藻摂取群に比べても有意に低かった。

血清総コレステロール濃度は CO 群や HI 群に比べて TR 群のみ有意に低下した。LDL コレステロール濃度は CO 群に比べて TR 群および HJ 群は有意に低下した。一方、血清トリグリセリドおよび遊離脂肪酸濃度は群間で有意差はなかった。血清インスリン濃度は群間で有意差はなかったが、血清レプチン濃度は CO 群に比べて TR 群のみ有意に低下した。

肝臓コレステロール濃度は GA 群に比べて海藻摂取群は有意に低下し、肝臓トリグリセリド濃度は CO 群に比べて TR 群のみ有意に低下した。

糞中脂質排泄量は CO 群に比べて TR 群のみ有意に増加した。一方、糞中胆汁酸濃度は CO 群に比べて試験群は有意に低かった。

耐糖能試験の結果は 15 分値において、CO 群に比べて TR 群のみ有意に血糖上昇を抑制した。

まとめ

機能性成分であるフコイタンを多く含むガゴメ昆布の腹腔内脂肪蓄積抑制効果は日高昆布と同等であることが明らかであった。日高昆布に比べて薄切処理してあるとろろ昆布は、腹腔内脂肪蓄積抑制効果が強いことが示唆された。また、昆布と同じ褐藻類であるひじきにも腹腔内脂肪蓄積抑制効果があることが示唆された。とろろ昆布は他の海藻摂取群に比べて有意に腹腔内脂肪の蓄積が抑制されていた。さらに、TR 群のみ CO 群に比べて有意に血清コレステロール濃度や肝臓トリグリセリド量が低下していたことから、とろろ昆布のように薄切処理した昆布は形状が変化することによって消化管内でのアルギン酸の流出効率が向上し、機能性が発現しやすくなっていることが示唆された。本

研究結果から、乾燥海藻類の機能性を効果的に発現させるには、機能性成分の量だけでなく、食品の形状も考慮する重要性が示唆された。

(4) 本実験の今後

海藻類に含まれる食物繊維にはアルギン酸、フコイダン等があり、アルギン酸の機能性に関する研究は国内外において数多く行われている。しかし、乾燥海藻類を食品中の成分で軟化させた軟化昆布による機能性に関する実験は、申請者が知る限り実施されていない。本研究は「人間栄養学」の点から、ヒトが乾燥昆布を摂取する際の形状を考慮し、それによる機能性を検証した点においては意義がある内容といえる。今後は、昆布に含まれるその他の成分(ヨウ素、マンニトール、フコキサンチン)等の機能性の有無や、機能性発現になるキーポイントについて探索したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

山岸あづみ、工藤陽香、青江誠一郎、軟化処理昆布が食餌性肥満モデルマウスのメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会、2015年5月、Vol163、119-128、査読有

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jns/68/3/68_119/article

〔学会発表〕(計4件)

山岸あづみ、山中千恵美、青江誠一、異なる種類の昆布、昆布加工品、ならびにひじきの摂取が食餌性肥満モデルマウスの腹腔内脂肪蓄積および脂質代謝に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会、沖縄コンベンションセンター(沖縄) 2017年5月19-21日

山岸あづみ、小笠原百合、青江誠一郎、シュウ酸 Na による茎ひじきの軟化機構、日本調理科学会、名古屋学芸大学(名古屋) 2016年8月28-29日

山岸あづみ、山中千恵美、青江誠一郎、異なる加工処理昆布および煮汁浸出物が食餌誘発性肥満モデルマウスのメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会、武庫川女子大学(大阪) 2016年5月13-15日

山岸あづみ、青江誠一郎、軟化処理昆布がk 遺伝性2型糖尿病(KK/Ta)マウスの脂質代謝に及ぼす影響、日本食物繊維学会、伊那食品工業株式会社(長野) 2015年11月28日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山岸 あづみ (Yamagishi Azumi)
新潟県立大学・人間生活学部子ども学科・講師

研究者番号：00400531