

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：85502

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500949

研究課題名(和文)次世代食品機能性評価法を用いた水産加工及び水産発酵食品の機能性に関する研究

研究課題名(英文) Study on the health progress functions of processed seafoods and fermented fish sauces using the next generation food estimation method

研究代表者

原田 和樹 (HARADA, Kazuki)

独立行政法人水産大学校・その他部局等・教授

研究者番号：60181012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：次世代食品機能性評価法は、好中球の類似細胞を利用して、化学発光と蛍光を組み合わせてスーパーオキシドアニオン・ラジカル産生と細胞内カルシウムイオン濃度の変化の同時測定を行い、細胞内情報伝達機構の観点から、水産加工品の海藻や水産発酵食品の魚醤が持つ食品の複数の機能性を測定できるところが新しい。本法では、抗酸化能だけでなく、抗炎症作用や自然免疫賦活作用の増強まで調べることができる。海藻のアラメやカジメは高い抗酸化能を示すだけでなく、抗炎症作用も示した。フグの無毒部分で作った魚醤や鯨の赤肉の屑肉で作った醤油は、高い抗酸化能だけでなく、濃度の違いによって自然免疫賦活作用の増強と抗炎症作用の両方を示した。

研究成果の概要(英文)：New estimation method of food for health progress function by simultaneously monitoring superoxide anion radical generation and intracellular calcium ion concentration in neutrophils-like HL60 line cells using chemiluminescence and fluorescein was applied to the processed seaweeds and fermented fish sauces from the view point of signal transduction mechanisms in the cells. This new estimation method can measure the anti-inflammatory action and enhancement of innate immune response in addition to antioxidant activity. The processed seaweeds of *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava* indicated the anti-inflammatory action in addition to high antioxidant activity. Furthermore, it was found that the fish sauce made from the underutilized parts of puffer fish except for poison and sauce made from whale red meat indicated the enhancement of innate immune response or anti-inflammatory action according to the difference of sauce concentration in addition to high antioxidant activity.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：次世代食品機能性評価法 同時測定法 抗酸化性 抗炎症作用 自然免疫賦活増強作用 海藻 魚醤 水産加工食品

1. 研究開始当初の背景

例えば、食品メーカーのA社は「自社の食材商品は高い抗酸化能を有している」と宣伝し、B社も「自社の商品こそが高い抗酸化能を有している」と宣伝していると仮定する。消費者にとって、「一体、どちらの商品の抗酸化能が高いのか？」という疑問に答える事が今まで出来なかった。それは、元々、日本には、抗酸化能を測定する手法として、最近では、吸光光度計を使って DPPH ラジカル消去活性能を、化学発光法を使ってスーパーオキシドアニオン・ラジカルなどの消去活性能を、電子スピン共鳴装置 (ESR) を使ってヒドロキシルラジカル消去活性能を調べるなど様々な手法が群雄割拠して、お互いのデータに互換性がなく、最初に述べた事態が生じていたのである。そこに、アメリカ農務省 (USDA) が主体となって、食材の抗酸化能測定法に関して、世界の統一基準を作ろうという機運が盛り上がった。その方法を ORAC 法と言い、アメリカでは 1993 年に最初の論文が出て、日本では 2003 年あたりから論文が散見し始めた。申請者は、既に、魚醤等の水産物の ORAC 値を、様々な学会で発表して来たが、全て、イン・ビトロ系での実験であり、イン・ビボ系で食材の抗酸化能がどの様に生体に影響を及ぼしているかは不明のまま議論して来た。

1. 研究の目的

イン・ビトロ系の測定で高い抗酸化性を持つ水産物を中心とした食材の高次の食品機能性を知るために、化学発光と蛍光を組み合わせ、スーパーオキシドアニオン・ラジカル産生と細胞内カルシウムイオン濃度の変化の同時測定する事 (この手法での食品機能性測定は初めての試みなので便宜的に「次世代食品機能性評価法」と名付けた) と、免疫細胞である好中球をアナログとした好中球様 HL60 分化細胞を用いて、新たに細胞内情報伝達機構 (シグナルトランスダクション) 機構の観点から、体内での (イン・ビボ系での) 食材による抗酸化機構を含む機能性を解明する試みを行った。

2. 研究の方法

本法は、食品が持つ健康増進機能性の一つである抗酸化能だけでなく、抗炎症作用や自然免疫賦活作

用の増強まで調べることができる特徴を持つ。最初は、指標として使う好中球様HL60細胞が、順調に培養でき、分化誘導が行える手法を確立した。分化誘導の確立後、一般的に抗酸化剤と呼ばれるビタミンCなどの化学物質の、好中球様HL60分化細胞のスーパーオキシド産生機構への影響を検証した。その後、試料を水産加工品や水産発酵食品に転換した。調べた水産加工品は、海藻類では、マコンブを対照にして、コンブ科アラメ、コンブ科カジメ、ホンダワラ科アカモクを用いた。また、ウニ加工品では、生ウニを対照として、アルコール漬け瓶詰め粒ウニ塩辛を試料として用いた。水産発酵食品としての魚醤試料は、市販の大豆醤油を対照として、フグの未利用部位から発酵して商品化された「ふく魚醤」、鯨の赤肉の屑肉を発酵して商品化された「くじら醤油」、ウニの生殖巣を発酵して商品化された「うに魚醤」を用いた。更に、既に、抗酸化能測定的手法を確立しているケミルミネッセンス (化学発光) 法やORAC法でのペルオキシラジカル消去活性能、電子スピン共鳴 (ESR) 法でのヒドロキシルラジカル消去活性能などのイン・ビトロ系での抗酸化能の知見と、どの様に関連するのか調べた。

3. 研究成果

海藻の結果は、ORAC法では、マコンブが181 $\mu\text{mol Trolox Equivalent (TE)}/100\text{ g}$ (以下単位略)、アカモクは1,288と低い値であったが、アラメは21,432、カジメは27,002と高い値を示した (図1)。ESR法ではマコンブのIC₅₀値が16.7%、アカモクが4.1%、アラメが4.3%、カジメが5.3%といずれも低い抗酸化能であった。

次世代食品機能性評価法においては、アラメが0.01%以上の濃度からスーパーオキシドアニオン・ラジカル及び細胞内カルシウムイオン濃度の両方の面積比を抑え始めたころから、抗炎症作用を持っていることが示唆された。同様にカジメにおいても、0.1%以上の濃度から抗炎症作用を発揮し始めた (図2)。

一方、マコンブやアカモクにおいては、次世代食

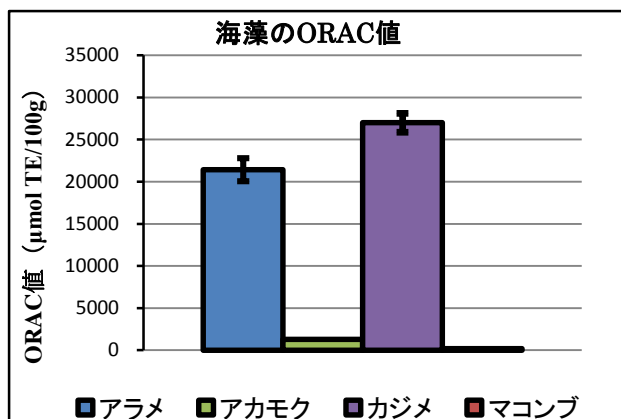


図1 調べた海藻の抗酸化能ORAC値

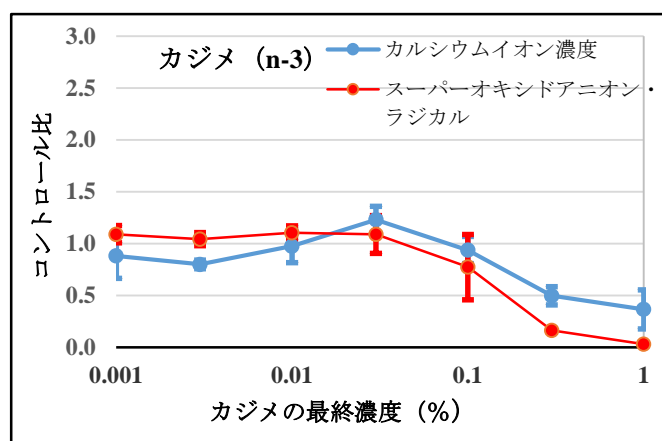


図2 海藻カジメの同時測定結果

品機能性評価法を用いると、抗酸化能、抗炎症性作用、免疫賦活作用の増強のいずれも認められなかった。次に、コントロールの生ウニは、0.01%以上の濃度で抗炎症作用を示したが、アルコール瓶詰めウニ塩辛では、0.1%以上の濃度で抗炎症作用を示し、加工品にすることで、生ウニに比べて抗炎症作用が弱くなった。一方、魚醤においては、0.03%~0.1%濃度では、「ふく魚醤」も「くじら醤油」も、自然免疫賦活作用の増強が起こったが、0.3%以上の濃度では、両者とも抗炎症作用を示した。これは、対照の大豆醤油でも見られる現象であった。しかしながら、「うに魚醤」においては、次世代食品機能性評価法では、抗酸化能も抗炎症作用も自然免疫賦活の増強のいずれも認められなかった。

これらの結果は、抗酸化能に関して言えば、別途

測定したイン・ビトロ系の抗酸化能の結果と一致するものではなかったが、次世代食品機能性評価法で評価する抗酸化能がスーパーオキシドアニオン・ラジカル消去活性であり、他の評価方法は、ペルオキシラジカルやヒドロキシルラジカル捕捉活性という違ったラジカルの消去活性を測定しているため、当然の結果かもしれない。要は、食品の健康増進機能性を考察する時に、一つの測定法に固執するのではなく、バランスよくマルチの手法で解析する必要性が示唆された。そういう意味では、得られた結論から、同時測定法を利用した本法は、次世代食品機能性評価法になり得ることが支持された。

4. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計12件)

- ①和田 律子、福田翼、酒井 真友子、谷口成紀、福島 英登、前田 俊道、原田 和樹、石谷(石谷)久美、小林(栗津原) 理恵、長尾慶子、水産物由来の出汁と味噌汁の抗酸化能に関する研究、食生活研究誌、査読有、34巻、2014、235-242
- ②T. Takechi、R. Wada、T. Fukuda、K. Harada、H. Takamura、Antioxidant activities of two sericin proteins extracted from cocoon of silkworm (*Bombyx mori*) measured by DPPH, chemiluminescence, ORAC and ESR methods、Biomedical Reports、査読有、2巻、2014、364-369
DOI: 10.3892/br.2014.244
- ③宮下 朋子、松田 唯菜、原田 和樹、長尾 慶子、魚肉混合ムース製品の創成とQOLを高める嚥下困難者用食品への応用適性、日本調理科学会誌、査読有、47巻、2014、84-89
- ④原田 和樹、数村 公子、調理科学における抗酸化能研究 後編、日本調理科学会誌、査読無、46巻、2013、395-398
- ⑤S. Yaguchi、M. Matsumoto、R. Date、K. Harada、T. Maeda、N. Yamauchi、M. Shigyo、Biochemical analysis of the antioxidative activity and chemical ingredients in eight different *Allium* alien monosomic

- addition lines、Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry、査読有、77巻、2013、2486-2488
- ⑥原田 和樹、調理科学における抗酸化能研究 前編、日本調理科学会誌、査読無、46巻、2013、343-346
- ⑦長尾 慶子、久松 裕子、栗津原 理恵、遠藤 伸之、原田 和樹、抗酸化能を高める中国料理献立の食事設計法の提案、日本調理科学会誌、査読有、46巻、2013、324-334
- ⑧宮下 朋子、原田 和樹、長尾 慶子、自然薯蒸しパンの品質におよぼす気泡の影響と蒸しパン粥への利用適性、日本調理科学会誌、査読有、46巻、2013、153-160
- ⑨和田 律子、福島 英登、前田 俊道、福田 翼、中島 啓、崎村 祥太郎、原田 和樹、スーパーで売られている魚の可食部と低利用部位の抗酸化能に関する研究、食生活研究誌、査読有、33巻、2014、257-262
- ⑩K. Harada, R. Wada, S. Yaguchi, T. Maeda, R. Date, T. Tokunaga, K. Kazumura, K. Shimada, M. Matsumoto, T. Wako, N. Yamauchi, M. Shigyo, Supplementation with Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) expressing a single alien chromosome from shallot increases the antioxidant activity of Kamaboko fish jelly paste *in vitro*、Biomedical Reports、査読有、1巻、2013、355-358
- ⑪K. Harada, T. Maeda, Y. Hasegawa, T. Tokunaga, S. Ogawa, K. Fukuda, N. Nagatsuka, K. Nagao, S. Ueno, Antioxidant activity of the giant jellyfish *Nemopilema nomurai* measured by the oxygen radical absorbance capacity and hydroxyl radical averting capacity methods、Molecular Medicine Reports、査読有、4巻、2011、919-922
- ⑫原田 和樹他、水産発酵食品の健康増進機能研究と水産物の鮮度保持技術開発の展望、日本食生活学会誌、査読無、22巻、2011、203-206
- [学会発表] (計20件)
- ①原田 和樹他、嚙下困難者のための新たな水産加工品「はんぺん」の開発、日本家政学会第66回大会、2014年5月25日、北九州市
- ②原田 和樹他、かまぼこ加工残渣を発酵させて開発を試みた新たな魚醤のイン・ビトロ系における抗酸化性、日本農芸化学会2014年度大会、2014年3月28日、川崎市
- ③S. Sakimura 他、Study on the changes in antioxidant capacity and free amino acids of fish sauces fermented using underutilized fishes、2013 Joint International Symposium between Pukyong National University and National Fisheries University、2013年12月10日、釜山市・韓国
- ④原田 和樹他、ゴボウ粉末を添加した蒲鉾の抗酸化能の上昇、日本食品科学工学会第60回記念大会、2013年8月30日、日野市
- ⑤竹本 尚未他、化学発光と電子スピン共鳴に基づくヒドロキシルラジカル捕捉活性性能の相関性、日本調理科学会平成25年度大会、2013年8月23日、奈良市
- ⑥藤澤 優香他、中国料理大菜“木樨肉”での調味料と食材の組み合わせによる抗酸化能を高める調理法の提案、日本調理科学会平成25年度大会、2013年8月23日、奈良市
- ⑦英 晴香他、中国料理大菜“紅焼白菜”での食材の置換による抗酸化能を高める調理法の提案、日本調理科学会平成25年度大会、2013年8月23日、奈良市
- ⑧和田 律子他、だしの素材を変えた味噌汁のヒドロキシルラジカル捕捉活性性能の特徴、日本調理科学会平成25年度大会、2013年8月23日、奈良市
- ⑨村上 崇幸他、電子レンジ使用による加熱調理後のゴボウの抗酸化能の増大、日本調理科学会平成25年度大会、2013年8月23日、奈良市
- ⑩原田 和樹他、電子スピン共鳴(ESR)法を用いた市販飲料の抗酸化能に関する研究、日本農芸化学会中四国支部第36回講演会、2013年6月8日、松江市
- ⑪崎村 祥太郎他、電子スピン共鳴(ESR)法を用いた海藻の抗酸化能に関する研究、日本農芸化学会

中四国支部第 36 回講演会、2013 年 6 月 8 日、松江市

⑫吉山 慧他、ブリ胃廃棄物を利用したチャンジャ様発酵食品、日本農芸化学会中四国支部第 36 回講演会、2013 年 6 月 8 日、松江市

⑬原田 和樹他、次世代食品機能性評価法を用いて判明したウニ加工品の機能性、平成 25 年度日本水産学会春季大会、2013 年 3 月 29 日、東京都

⑭原田 和樹他、ウニ加工品並びにウニ魚醬のイン・ビトロ系における抗酸化性、日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 27 日、仙台市

⑮原田 和樹他、下関水産伝統加工食品アルコール漬け瓶詰ウニ塩辛の抗酸化能 ORAC 値、日本調理科学会平成 24 年度大会、2012 年 8 月 24 日、秋田市

⑯K. Harada 他、Multi-analysis of functions on sea materials by using GC/MS, ORAC, ESR, apoptosis induction and next-generation food functional estimation methods、International Federation for Home Economics XXII World Congress (IFHE2012)、2012 年 7 月 19 日、メルボルン市・オーストラリア

⑰K. Kazumura 他、Health progress functions of *A. fistulosum* added to single alien chromosome from shallot using method measured simultaneously signal transduction systems、6th International Symposium on edible Alliaceae (ISEA2012)、2012 年 5 月 22 日、福岡市

⑱K. Harada 他、Antioxidative activity of Japanese bunching onion added to single alien chromosome from shallot measured by ORAC method、6th International Symposium on edible Alliaceae (ISEA2012)、2012 年 5 月 22 日、福岡市

⑲K. Kazumura 他、New estimation method of food for health progress by simultaneously monitoring superoxide generation and intracellular calcium ion concentration of neutrophils、2011 international Conference on Food Factors (ICoFF2011)、2011 年 11 月 22 日、台北・台湾

⑳K. Harada 他、Functions for human health benefits on

Japanese fish sauce by GC/MS, ORAC, ESR and new simultaneous measurement for signal transduction methods、2011 international Conference on Food Factors (ICoFF2011)、2011 年 11 月 21 日、台北・台湾

6. 研究組織

(1) 代表研究者

原田和樹 (HARADA, Kazuki)
水産大学校・食品科学科・教授
研究者番号：60181012

(2) 研究分担者

和田 律子 (WADA, Ritsuko)
水産大学校・食品科学科・講師
研究者番号：30351935