

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580201

研究課題名(和文) ニンニク臭気前駆体 多糖/タンパク質複合系による次世代型機能性食品の創製

研究課題名(英文) Creation of next-generation functional food by garlic-flavor precursor and polysaccharide/protein complex

研究代表者

熊谷 日登美 (KUMAGAI, Hitomi)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：20225220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：良好な嗜好性・嚥下特性・生体調節機能特性を兼ね備えた機能性食品の創製を行うため、ニンニク臭気前駆体物質であるS-allyl-L-cysteine sulfoxide (ACSO)を高濃度に含有する抽出物を調製し、これを添加したゲルの物性と嗜好性評価、および、この抽出物の機能性評価を行った。

ニンニク鱗茎を20秒電子レンジ加熱した試料で、最もACSOが残存していた。ニンニク抽出物の添加は、寒天およびゼラチンゲルの物性にほとんど影響を与えなかった。また、呈味成分含有ゲルにニンニク抽出物を添加することにより、呈味が増強した。さらに、ニンニク抽出物の経口投与により、四塩化炭素誘発肝障害が抑制された。

研究成果の概要(英文)：In order to produce functional food with favorable palatability, swallowing property, and physiological property, garlic extract rich in S-allyl-L-cysteine sulfoxide (ACSO), garlic-odor precursor, was prepared, and its gelling, sensory, and functional properties were evaluated. ACSO content was the highest in a sample heated by microwave for 20 seconds. The addition of garlic extract to agar or gelatin gel did not affect the rheological properties so much. Flavor sensations were enhanced with the addition of garlic extract to gels containing taste substances. Oral administration of garlic extract suppressed hepatic injury induced by carbon tetrachloride.

研究分野：食品機能学

キーワード：ニンニク臭気前駆体 呈味増強効果 嚥下困難者用ゲル状食品 肝障害抑制作用

1. 研究開始当初の背景

近年、食品の三次機能(生体調節機能特性)に関する研究が盛んであるが、国内外の研究の多くは、細胞培養系等の*in vitro*の実験系において、試薬レベルの単一の化合物を用いて機能を評価している場合が多かった。また、二次機能(嗜好性)にも配慮した生体調節機能に関する研究も少なかった。食品は複合系であり、また、経口により摂取するため、好ましい嗜好性(味・香り・テクスチャー等)を有し、他成分と相互作用をしても活性を保持し、消化・吸収後にターゲット部位で機能性を発揮する必要がある。

ニンニクの臭気成分であるスルフィド類は、*in vitro*で血小板凝集を抑制する、また、第二相解毒酵素の活性誘導、細胞のアポトーシス誘導等により抗癌作用を有するとされているが、強い臭気と難溶性であるという性質が、その食品への利用を妨げている。研究代表者は、市場で『無臭ニンニク』として流通している野菜が、ニンニクとは異なる植物で、ニンニクと同様の生理活性物質を持たないことを見いだした。この研究から、ニンニクと同様の機能を有する真の『無臭ニンニク』を作るには、臭気を生成させる酵素アリイナーゼを加熱等により失活させること、および、臭気前駆体(無味・無臭・水溶性)であるアリルシステインスルフォキシド(ACSO)が生体内で分解・代謝され、生理活性物質に変換されることが必要であると考へた。そこで、ACSOをラットに経口胃内投与後、経時的に採血し、その血小板凝集抑制活性を調べたところ、ACSOを投与した場合には血小板凝集抑制活性が見られたのに対し、スルフィドを投与した場合にはその活性がほとんど見られないことを明らかにした。さらに、ACSOを経口投与した場合に、スルフィド類と同様に、肝障害抑制作用を示すことを明らかにした。しかし、ACSOは無味・無臭で、呈味増強効果を有する成分とされていたが、多糖やタンパク質を含む多成分複合ゲル中でも、その効果を示すかは定かではなかった。

また、研究代表者は、ニンニクと類似の酵素反応により生成するシイタケの含硫フレーバー成分(レンチオニン)が、ニンニク臭気成分のスルフィドとは異なる作用機序で血小板凝集を抑制することを見だし、レンチオニンは*in vivo*においても血小板凝集抑制作用および肝障害抑制作用を示すことを明らかにした。さらに、レンチオニンをシクロデキストリンに包接することにより、吸収されやすくなり、生理活性がやや高まることも見いだした。

このように、研究開始までに、合成した ACSO やレンチオニン等の含硫フレーバー関連成分が、生体内で生理活性を示すことを明らかにしてい

たが、多成分を含む食品からの抽出物中でも生理活性を示すか、また、嚥下困難者が誤嚥しにくいゲル状食品中での呈味増強作用については、明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究では、まず、ACSO を高含有するニンニク抽出物の調製条件を検討する。次に、ACSO 高含有抽出物が、高齢者が誤嚥しにくいゲル状食品中でも、呈味増強効果を示すかを、抽出物の添加がゲル物性に与える影響を調べた後、官能検査により、評価する。さらに、ACSO 高含有抽出物が、合成 ACSO と同様の生理作用を示すかを、動物実験により明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ACSO 高含有ニンニク抽出物の調製

ニンニクの細胞が破壊されると、ACSO は、アリイナーゼにより分解され、臭気成分のスルフィド類が生成する。このため、ACSO を高濃度で抽出するには、ニンニクの細胞を破壊せずにアリイナーゼを失活させる必要がある。そこで、ニンニク鱗茎を、種々の加熱法(電子レンジ、茹で、蒸し、揚げ加熱)で一定時間処理し、残存アリイナーゼ活性と ACSO 量を測定した。

次に、最適条件下でアリイナーゼを失活させたニンニク鱗茎を粉碎し、水抽出物を調製した。得られた抽出物を凍結乾燥し、使用時まで、冷凍庫で保存した。

(2) ACSO 高含有ニンニク抽出物添加ゲルの物性および嗜好性評価

嚥下困難者が誤嚥しにくい食品として、寒天およびゼラチンを用い、種々の濃度の ACSO 高含有ニンニク抽出物を添加し、ゲルを作製した。このゲルの物性を、クリーブメーターを用いたテクスチャープロファイル分析(TPA 試験)により評価した。

次に、ACSO のゲル状食品中での呈味増強作用を調べるため、寒天あるいはゼラチンに、ACSO 高含有ニンニク抽出物と共に、甘味、うま味、塩味成分として、ショ糖、塩化ナトリウム、グルタミン酸ナトリウムを添加してゲルを作製し、ニンニク抽出物の呈味増強作用を、官能検査により評価した。

(3) ACSO 高含有ニンニク抽出物の肝障害抑制作用

ニンニクには、ACSO ばかりでなく、アルギニンも多く含まれる。アルギニンをアルギナ

ーゼでオルニチンにすれば、さらに肝障害抑制作用が高まる可能性がある。そこで、ニンニク抽出物ばかりでなく、アルギナーゼを含むブナシメジ抽出物を混合することにより、オルニチン含量を高めた試料も調製した。

ニンニクを粉碎後インキュベートし、アリイナーゼにより ACSO をスルフィド類に分解した試料 1 (スルフィド類・アルギニン高含有), 試料 1 とブナシメジを混合し、アルギナーゼによりアルギニンをオルニチンに変換した試料 2 (スルフィド類・オルニチン高含有), ニンニクを加熱処理することによりアリイナーゼを失活させた試料 3 (ACSO・アルギニン高含有), 試料 3 とブナシメジを混合し、アルギニンをオルニチンに変換した試料 4 (ACSO・オルニチン高含有) を調製した。

各試料を水に溶解し、ラットに 5 日間経口胃内投与した。最終投与後、四塩化炭素を腹腔内に投与し、肝障害を惹起させた。24 時間後に肝臓および血液を採取し、肝障害マーカーである aspartate aminotransferase (AST) と alanine aminotransferase (ALT), 酸化ストレスマーカーである過酸化脂質量 (TBARS 値), 第一相解毒酵素である cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) と第二相解毒酵素である glutathione-S-transferase (GST) の活性測定を行った。

4. 研究成果

(1) ACSO 高含有ニンニク抽出物の調製

ニンニク鱗茎を、電子レンジ加熱で 20 秒、茹で加熱で 45 秒、蒸し加熱で 60 秒、揚げ加熱で 30 秒処理した場合において、アリイナーゼ活性が最も低くなり、ACSO 残存量が高くなった (Fig. 1)。特に、電子レンジ加熱を 20 秒行った試料で、最も ACSO が残存していた。

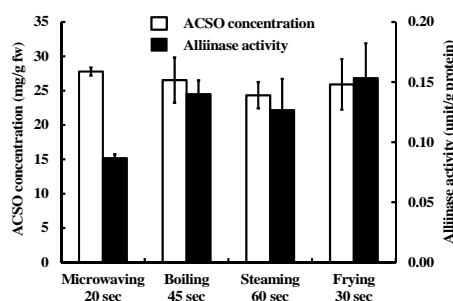


Fig. 1 Amount of residual ACSO and alliinase activity in garlic heated by different methods. Values are the mean \pm S.D. of 3 independent experiments.

(2) ACSO 高含有ニンニク抽出物添加ゲルの物性および嗜好性評価

寒天ゲルとゼラチンゲルを比較し、0.5%寒天ゲルと 1.0%ゼラチンゲル, 1.0%寒天ゲルと 2.0%ゼラチンゲル, 1.5%寒天ゲルと 3.0%ゼラチンゲルがほぼ同等の硬さであった。厚生労働省が提示している嚥下困難者向け食品における許可基準と照らし合わせると、1.0%ゼラチンゲルが許可基準の項目すべてに該当した。

寒天濃度 0.5-1.5%では、ACSO 濃度による影響はみられなかった (Fig. 2)。ゼラチンゲルにおいては、ゼラチン濃度 2.0%および 3.0%の時、ACSO 濃度 0.2%でゲル強度が若干低下した (Fig. 3)。

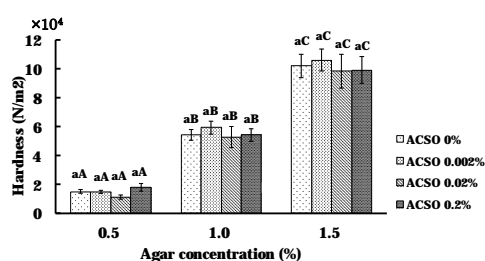


Fig. 2 Hardness of agar gel with garlic extract containing ACSO.

Values are the mean \pm S.D. of 10 independent experiments.

Values with different small letters among the same gel concentration are significantly different at $p < 0.01$ by Tukey method.

Values with different capital letters among the same ACSO concentration are significantly different at $p < 0.01$ by Tukey method.

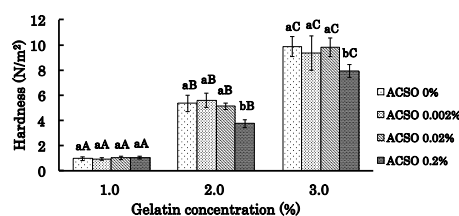


Fig. 3 Hardness of gelatin gel with garlic extract containing ACSO.

Values are the mean \pm S.D. of 10 independent experiments.

Values with different small letters among the same gel concentration are significantly different at $p < 0.01$ by Tukey-Kramer's method.

Values with different capital letters among the same ACSO concentration are significantly different at $p < 0.01$ by Tukey-Kramer's method.

寒天ゲルにおいてもゼラチンゲルにおいても、ニンニク抽出物の添加濃度依存的に、甘味、塩味、旨味が増強された。寒天ゲルでは、ゲル濃度の増加に伴い、甘味と塩味の増強効果がやや低下した。

(3) ACSO 高含有ニンニク抽出物の肝障害抑制作用

試料 1 と 2 の ACSO 含量は約 0.1%、試料 3 と 4 の ACSO 含量は約 1.5% であった。また、試料 1 と 3 のアルギニン含量は約 3%、試料 2 と 4 のオルニチン含量は約 2% であった。

動物実験では、四塩化炭素未投与群において、各試料の投与により GST 活性が誘導された。また、四塩化炭素投与群では、いずれの試料も、肝障害に伴う AST・ALT 活性および TBARS 値の上昇、CYP2E1 活性および GST 活性の低下を抑制した (Fig. 4)。

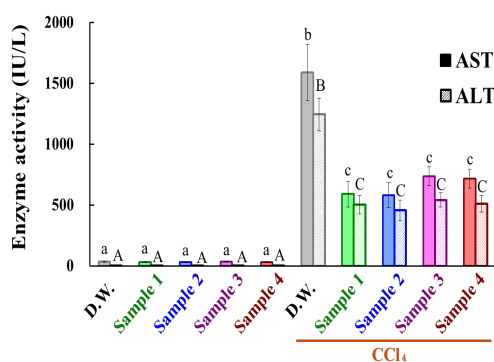


Fig. 4 Effect of each sample on the activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT).

Values are the mean \pm S.D. of 6 rats. Values with different letters among the same enzyme are significantly different at $p < 0.01$ by Tukey-Kramer's test.

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

- (1) Hideki Masuda, So Hironaka, Yoko Matsui, Saori Hirooka, Mami Hirai, Yushi Hirata, Makoto Akao, Hitomi Kumagai, Comparative Study of the Antioxidative Activity of Culinary Herbs and Spices, and Hepatoprotective Effects of Three Selected Lamiaceae Plants on Carbon Tetrachloride-Induced Oxidative Stress in Rats 査読あり, *Food Science and Technology Research*, Vol. 21, 407-418 (2015)

- (2) Makoto Akao, Ryosuke Abe, Noriko Sato, Atsuko Hasegawa-Tanigome, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Prevention of Osteoporosis by Oral Administration of Phytate-Removed and Deamidated Soybean -Conglycinin, 査読あり, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 16, 2117-2129 (2015)

- (3) Ryosuke Abe, Shiori Shimizu, Karin Yasuda, Masae Sugai, Yohei Okada, Kazuhiro Chiba, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Evaluation of the Reduced Allergenicity of Deamidated Gliadin in a Mouse Model of Wheat-Gliadin Allergy Using an Antibody Prepared by a Peptide Containing Three Epitopes, 査読あり, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 62 Issue 13, 2845-2852 (2014)

- (4) 秋間彩香, 谷米(長谷川)温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, “えん下困難者用食品”の基準中のテクスチャー試験法(TPA)に関する考察, 査読あり, 日本食品工学会誌, 15巻, 15-24 (2014)

- (5) 片山倫陽, 赤尾真, 熊谷日登美, シイタケフレーバー成分レンチオニンによる第二相解毒酵素誘導作用, 査読あり, *Aroma Research*, 13巻, 375-378 (2012)

- (6) 伊地知南, 清水詩織, 中西良博, 佐藤典子, 池田真理子, 中野一輝, 赤尾真, 熊谷仁, 熊谷日登美, 生体物質相互作用解析装置を用いた大豆7Sグロブリンとカルボキシシル基との相互作用の解析 カルボキシレートタイプ陽イオン交換樹脂を用いたタンパク質の脱アミド化の機構解明のために, 査読あり, 日本食品工学会誌, 13巻, 117-125 (2012)

[学会発表](計24件)

- (1) 平田裕史, 斉藤武, 市村昌紀, 赤尾真, 熊谷日登美, ニンニク/ブナシメジ抽出物による四塩化炭素誘発肝障害抑制作用, 第19回日本フードファクター学会学術集会, 2014年11月8日~9日, 鹿児島大学(鹿児島)

- (2) 平井眞実, 荒井隆志, 齋野安那, 赤尾真, 熊谷日登美, シイタケ抽出物による四塩化炭素誘発肝障害抑制効果, 第19回日本フードファクター学会学術集会, 2014年11月8日~9日, 鹿児島大学(鹿児島)
- (3) Yushi Hirata, Takeshi Saito, Masaki Iichimura, Makoto Akao, Hitomi Kumagai, Prevention of hepatic injury by intake of garlic-flavor precursor together with ornithine, International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods 2014, 2014年10月14日~17日, Istanbul, Turkey
- (4) 平田裕史, 齊藤武, 市村昌紀, 赤尾真, 熊谷日登美, ニンニク臭気前駆体とアルギニン/オルニチンによる四塩化炭素誘発肝障害抑制作用, 日本食品科学工学会第59回大会, 2014年8月28日~30日, 中村学園大学(福岡)
- (5) 山形文乃, 秋間彩香, 篠原由紀, 谷米温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, えん下困難者用食品およびユニバーサルデザインフードの物性指標に関する研究, 日本食品科学工学会第59回大会, 2014年8月28日~30日, 中村学園大学(福岡)
- (6) 篠原由紀, 秋間彩香, 谷米温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, 多糖類ゲルのテクスチャーと嚥下特性, 日本食品科学工学会第59回大会, 2014年8月28日~30日, 中村学園大学(福岡)
- (7) 谷米温子, 中西良博, 若林素子, 赤尾真, 熊谷仁, 熊谷日登美, ゲル状食品へのニンニク抽出物添加によるコク味の変化, 日本食品工学会第15回(2014年度)年次大会, 2014年8月7日~9日, つくば国際会議場(つくば)
- (8) 秋間彩香, 田代晃子, 谷米(長谷川)温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, 増粘剤溶液およびゲルの食塊の流動性と咽頭部における流速の関係, 日本食品工学会第15回(2014年度)年次大会, 2014年8月7日~9日, つくば国際会議場(つくば)
- (9) 平井眞美, 金田誠也, 鈴木ひかり, 島田正一郎, 赤尾真, 熊谷日登美, シイタケフレーバー成分レンチオニンによる血小板形態変化阻害機序, 第68回日本栄養・食糧学会大会, 2014年5月30日~6月1日, 酪農学園大学(札幌)
- (10) Hitomi Kumagai, Ryosuke Abe, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Induction of Oral Tolerance by Deamidated Wheat Gliadin, 105th AOCS Annual Meeting & Expo, Protein and Co-Products Session, 2014年5月4日~7日, Henry B. Gonzalez Convention Center, San Antonio, Texas, USA
- (11) Makoto Akao, Yushi Hirata, Tomomi Kobayashi, Hitomi Kumagai, Suppression of Postprandial Hyperglycemia by an Amino Acid in Allium Plant, 105th AOCS Annual Meeting & Expo, Protein and Co-Products Session, 2014年5月4日~7日, Henry B. Gonzalez Convention Center, San Antonio, Texas, USA
- (12) Hitomi Kumagai, Achievements and Discoveries as to Functional Foods in Japan, Experimental Biology, 2014年4月26日~30日, San Diego Convention Center, San Diego, CA, USA
- (13) 平田裕史, 北田杏和, 赤尾真, 熊谷日登美, ニンニクフレーバー前駆体物質の血中脂質上昇抑制作用, 日本農芸化学会関東支部2013年度大会, 2013年11月22日, 慶応義塾大学日吉キャンパス 藤原洋記念ホール(横浜)
- (14) Hitomi Kumagai, Ryosuke Abe, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Reduction in allergenicity of wheat gliadin by deamidation, International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods 2013, 2013年11月5日~9日, Howard Civil Service International House, Taipei, Taiwan

- (15) Hitomi Kumagai, Makoto Akao, Physiological functions of a flavor component from shiitake mushrooms, 20th International Congress of Nutrition, 2013年9月15日～20日, Granada, Spain
- (16) 篠原由妃, 秋間彩香, 谷米温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, ゲル状食品の咀嚼物粘度と食塊の流速との関係, 日本食品科学工学会第60回大会, 2013年8月29日～31日, 実践女子大学(東京)
- (17) 平田裕史, 小林ともみ, 赤尾真, 袴田航, 熊谷仁, 熊谷日登美, ニンニク臭気前駆体物質による -アミラーゼ阻害活性, 日本食品工学会第14回(2013年度)年次大会, 2013年8月9日・10日, 京都テルサ(京都)
- (18) 秋間彩香, 篠原由妃, 谷米(長谷川)温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, TPA試験から求められるパラメータと多糖類ゲルの嚥下特性, 日本食品工学会第14回(2013年度)年次大会, 2013年8月9日・10日, 京都テルサ(京都)
- (19) 赤尾真, 小林ともみ, 白井佑弥, 宮田翔子, 熊谷日登美, ニンニク臭気前駆体物質の -アミラーゼ活性阻害作用, 第67回日本栄養・食糧学会大会, 2013年5月24日～26日, 名古屋大学(名古屋)
- (20) Hitomi Kumagai, Therapeutic function of deamidated gliadin in wheat allergy, 104th AOCs Annual Meeting & Expo, Protein and Co-Products Session, 2013年4月28日～5月1日, Palais des congrès de Montréal, Montréal, Quebec, Canada
- (21) 北田杏和, 岩田麻美, 竹本晴香, 皆川絵美, 赤尾真, 熊谷日登美, ニンニクフレーバー前駆体の高濃度抽出とその嗜好性評価, 日本農芸化学会関東支部2012年度大会, 2012年10月27日～28日, 新潟薬科大学(新潟)
- (22) 小林ともみ, 白井佑弥, 宮田翔子, 赤尾真, 熊谷日登美, ニンニク臭気前駆体物質による食後血糖値上昇抑制作用, 第27回日本香辛料研究会, 2012年10月26日～27日, 日本大学生物資源科学部(藤沢)
- (23) Tomomi Kobayashi, Yuya Shirai, Shoko Miyata, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Suppression of postprandial hyperglycemia by odor precursor of garlic, The 6th International Niigata Symposium on Diet and Health, 2012年10月15日～17日, Niigata Convention Center, Toki Messe(新潟)
- (24) Hitomi Kumagai, Bioactive amino acid that prevents hepatic injury, 103rd AOCs Annual Meeting & Expo, 2012年4月29日～5月2日, Long Beach Convention Center, Long Beach, California, USA

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: -アミラーゼ阻害剤,
 発明者: 熊谷日登美, 赤尾真, 小林ともみ
 権利者: 同上
 種類: 特許
 番号: 特願2012-194643,
 出願年月日: 2012年9月5日
 国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊谷 日登美 (KUMAGAI Hitomi)
 日本大学・生物資源科学部・教授
 研究者番号: 20225220

(2) 連携研究者

熊谷 仁 (KUMAGAI Hitoshi)
 共立女子大学・家政学部・教授
 研究者番号: 20215015

谷米(長谷川)温子

(HASEGAWA-TANIGOME Atsuko)
 日本大学・生物資源科学部・助教
 研究者番号: 30586326