

The Mukogawa Journal of Nutrition Science Research

Mukogawa
Women's University

Research Institute for Nutrition Sciences
Mukogawa Women's University
**The Mukogawa Journal of
Nutrition Science Research**
Vol.11 2022

栄養科学研究

Research Institute for
Nutrition Sciences
Vol.11
2022



武庫川女子大学栄養科学研究所

武庫川女子大学栄養科学研究所



目 次

【短報】

兵庫県産短根ごぼう茎の脱顆粒抑制効果と活性成分の同定	石川 朋華	1
----------------------------------	-------	---

【原著】

培養温度条件における紅麴米麴の色素生産と抗酸化活性の検討	福田 史織	9
------------------------------------	-------	---

【原著】

エノキタケTR-19によるアルコールの生成	鮫島 由香	17
-----------------------------	-------	----

第11回栄養科学研究所公開シンポジウム講演

トピックス

トピックス紹介（1）

栄養支援科学部門

栄養サポートステーション コロナ禍におけるトピック	鞍田 三貴	23
---------------------------------	-------	----

食育・人材育成研究部門

親子栄養支援事業 地域小学生を対象とした活動の報告

（栄養クリニックと食育・人材育成研究部門の連携）	岸本三香子	25
--------------------------------	-------	----

食品栄養部門

マイタケのプロテアーゼを利用した流動食に関する研究	松井 徳光	29
---------------------------------	-------	----

認知症予防研究部門

認知症予防教室における学科横断的研究アプローチ：各領域の成果について

.....	渡邊 完児	33
-------	-------	----

トピックス紹介（2）

西宮北口キャンパスにおける事業紹介（部門間連携の取り組み）	福尾 恵介	39
-------------------------------------	-------	----

投稿規定

短 報

兵庫県産短根ごぼう茎の脱顆粒抑制効果と活性成分の同定 Anti-allergic effects in the stem of burdock in Hyogo and identification of the activity compound

石川 朋華¹⁾, 前田 晃宏²⁾, 高橋 享子^{2)*}

Ishikawa Honoka¹⁾, Maeta Akihiro²⁾, Takahashi Kyoko^{2)*}

ランニングタイトル：ごぼうの脱顆粒抑制効果と活性成分の同定

Keywords：抗アレルギー成分，ラット好塩基球白血病細胞，短根ごぼう，オノポルドピクリン

要 旨

兵庫県の特産地域の地場野菜に着目し，抗アレルギー効果及び活性成分について検討した。デカンショ太ねぎ（緑・白），軟白うど（身・皮），朝倉山椒，ペッチン瓜，網干メロン，短根ごぼう（根・茎・葉）を熱水抽出した。最も強い活性が認められた短根ごぼう茎について，逆相系分離剤カラム（HP-20）を用いたエタノールステップワイズ（10%，20%，40%，99%）法で分画した。活性成分は，質量分析と核磁気共鳴分析で同定した。脱顆粒抑制効果は，ラット好塩基球白血病細胞を用い， β -ヘキソサミニダーゼを指標とした。短根ごぼう茎99%エタノール画分に強い脱顆粒抑制効果が認められた。IC₅₀とHPLCより，溶出時間23分のピークが活性成分と推定された。新たに高純度の活性成分を得て，濃度依存的な脱顆粒抑制効果を確認し，オノポルドピクリンと同定した。したがって，オノポルドピクリンを含む短根ごぼう茎は，抗アレルギー性を有する地場野菜であると示唆された。

Abstract

We searched for local vegetables in Hyogo prefecture that have anti-allergic effects and identified anti-allergic components.

Decansho-green onion (*Allium fistulosum*), soft white udo (*Aralia cordata*), asakura-sansho (*Zanthoxylum piperitum*), petchin-melon (*Cucumis melo* var. *makuwa*), aboshi-melon (*Cucumis melo* var. *makuwa*), short root burdock (*Arctium lappa* L.) were extracted with hot water. The short root burdock with the strongest anti-allergic effects was fractionated by the ethanol stepwise (10%, 20%, 40% and 99%) method using a reversed phase separation column (Diaion HP-20). Anti-allergic components were identified by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The suppression index of degranulation used β -hexosaminidase in a rat basophil leukemia cell line. We found that the 99% ethanol fraction of burdock stems had a strong inhibitory effect on degranulation. From the results of IC₅₀ and HPLC, we estimated that the peak at 23 minutes was the anti-allergic component. The anti-allergic component had a concentration-dependent inhibitory effect on degranulation and identified the component as “onopordopicrin”.

Therefore, we suggested that burdock containing onopordopicrin is a local vegetable with anti-allergic effects.

1) 武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46
2) 武庫川女子大学食物栄養科学部食物栄養学科
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

責任著者*：Tel&Fax +81-798-45-9878
E-mail：taka@mukogawa-u.ac.jp

I. 緒言 (はじめに)

即時型アレルギーには季節性アレルギー性鼻炎 (花粉症) や食物アレルギーなどがあり, 免疫グロブリン (IgE) が関与することが知られている¹⁾. 東京都の2016年度の調査によると, スギ花粉症の有病率は約50%であり, 同地域の2006年度の調査の約1.7倍であった²⁾. また, 厚生労働省健康局がん・疾病対策課の「アレルギー疾患の現状等 (平成28年度2月)」によると日本人の2人に1人が何かしらのアレルギー疾患を罹患していると報告されている³⁾. したがって, アレルギー疾患は我が国における主要な健康問題の1つで, 社会的な課題である.

血中や組織中の肥満細胞, 好塩基球上の膜表面には高親和性IgE受容体 (FcεRI) が発現する. この受容体に結合した高親和性IgE抗体にさらにアレルゲンが結合して架橋されることで, 受容体凝集が起こり細胞活性化のシグナル伝達機構が始動する. その結果, 肥満細胞, 好塩基球からヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質が放出される¹⁾. ヒスタミンは, 血管拡張, 血管透過性の亢進による蕁麻疹や, 気道や消化管の平滑筋収縮を誘導する. アレルギー反応モデル細胞としてFcεRIが発現するラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3細胞) を用いる. IgE抗体とアレルゲンを添加することにより脱顆粒が誘導されることが知られている. 脱顆粒の指標としてβ-ヘキソミニターゼ (β-Hex) が測定されるが, β-Hexは抗原-抗体架橋構造下での初期産生酵素であり, 脱顆粒時のヒスタミン放出量と相関を示す⁴⁾.

野菜⁵⁾や果物⁶⁾, 生薬⁷⁾などは抗アレルギー性を有することが報告されている. 地域色の強い特産品は全国各地に存在し, 岩手県九戸村の落葉低木ユキノシタ科 (*Saxifragaceae*) に属するアマチャヅルの葉から作られた「甘茶」⁸⁾や和歌山県の柑橘果物「じゃばら (*Citrus jabara*)」⁹⁾は, 抗アレルギー成分を含むことが報告されている. 兵庫県は近畿2府4県の中で最大の面積を有している. 日本海や瀬戸内に面し, 山間部から都市部まで豊かな地形に恵まれ, 様々な地場野菜が栽培されている¹⁰⁾. 兵庫県の地場野菜の中には知名度が低く, 特定地域でのみ生産・消費されている作物も存在する. しかし, 地場野菜は食品機能性などの研究対象とされていない. またそれら作物の抗アレルギー効果の報告はない.

そこで本研究では, 兵庫県の特定地域の地場野菜に着目し, 抗アレルギー効果及び活性成分の精製と同定を行った.

II. 方法 (対象と方法)

1. 試料調製

デカンショ太ねぎ (篠山市), 軟白うど (三田市), 朝倉山椒 (養父市), ペッチン瓜 (加古川市), 網干メロン (加古川市), 短根ごぼう (三田市) を兵庫県内の農業協同組合で入手した. 野菜を軽く水洗いし, 一部の野菜は部位ごと (デカンショ太ねぎ: 緑部・白部, 軟白うど: 身・皮, 短根ごぼう: 根部・茎部・葉部) に分け, 凍結乾燥 (FDU-1100: 東京理化器械株式会社, 東京, 日本) させた. 乾燥野菜を乳鉢ですり潰し, 均一化した.

熱水抽出は浅野らの方法に基づいた⁷⁾. 乾燥野菜粉末4gに対して20倍量の超純水を加え, 一晚室温で攪拌した. その後, 沸騰水浴中で適宜攪拌しながら1時間抽出し, 室温まで冷却後, 蒸発分を加水した. 次に, 10分間遠心分離 (4,830 × g: Himac CT6D: エッペンドルフ・ハイマック・テクノロジーズ株式会社, 茨城, 日本) し, その上清をろ過 (ADVANTEC円形定性ろ紙No.2, アドバンテック東洋株式会社, 東京, 日本) した. 濾液を凍結乾燥し, 得られた熱水抽出乾燥粉末を超純水で10mg/mLに調製した.

2. 短根ごぼう茎部熱水抽出物の画分調製

凍結乾燥ごぼう茎部粉末24gをII-1の方法で再度抽出した. 得られた熱水抽出物4.5gを超純水100mLに懸濁後, オープンカラム (150cm³: Diaion® HP-20: 三菱ケミカル株式会社, 東京, 日本) に1時間成分を吸着させた. 超純水でカラムを洗浄後, エタノール (EtOH) 比率を段階的 (超純水: 99%EtOH=90:10, 80:20, 60:40, 0:100) に上げ, 吸着成分を溶出させた (10%EtEx, 20%EtEx, 40%EtEx, 99%EtEx). それぞれの画分のEtOHを減圧留去し, その後凍結乾燥した. 粉末化した各画面部試料を超純水で4mg/mLに調製した.

3. 短根ごぼう茎部活性成分のHPLC分析

HPLCは, JASCO PU-2089 Plus ポンプとLC-

NetII/ADC自動勾配コントローラ, UV-2075 Plus 検出器 (日本分光株式会社, 東京, 日本) を使用した. 移動相は0.1%トリフルオロ酢酸含有25%アセトニトリル水溶液を使用し, Pak C18T-5カラム (250×4.6mm, 5 μ m: 日本分光株式会社) で分離した. 注入量は20 μ L, 流速は1.0mL/分, 紫外吸収 (UV) 波長は210nmとした. 各試料は, 移動相で1mg/mLに希釈した.

Maetaらの報告¹¹⁾で得られた試料をHPLCで再精製し, 活性成分の標品を得た. HPLCの条件は上記と同様に設定し, ピーク分取した後, 溶媒を除去し水で再溶解した.

4. ラット好塩基球白血球細胞 (RBL-2H3) を用いた脱顆粒抑制試験

4.1. 細胞培養

RBL-2H3細胞は, ヒューマンサイエンス復興財団研究資源バンクより分譲株を入手した. Eagle's MEM培地 (日水製薬株式会社, 東京) に, 0.2% NaHCO₃, 1.0%ペニシリンストレプトマイシン (ナカライテスク株式会社, 京都, 日本), 2mM L-グルタミン (ナカライテスク株式会社), 10%牛胎児血清 (Corning Incorporated, ニューヨーク, 米国) を添加した. 細胞は5%CO₂通気下, 加湿状態, 37°Cで継代培養した.

4.2. 脱顆粒放出抑制試験

脱顆粒の指標は, β -ヘキソサミニダーゼ (β -Hex) を使用した. 実験方法は, Maetaらの報告を基に実施した¹¹⁾.

接着細胞培養用96wellマイクロプレート (AGC テクノグラス株式会社, 静岡, 日本) に, RBL-2H3細胞を 1.0×10^5 cell/well播種し, 抗DNP-IgE (ヤマサ醤油株式会社, 千葉, 日本) を最終濃度0.3 μ g/mLになるよう, 細胞を含む培地に加え, 16時間以上培養した. 翌日, 細胞をReleasing mixture (RM: 116.9mM NaCl, 5.4mM KCl, 0.8mM MgSO₄ · 7H₂O, 25mM HEPES, 2mM CaCl₂, 5.6mM グルコース, 1mg/mL牛血清アルブミン) で2回洗浄し, 抽出試料を含むRMを140 μ L/well加えた. その後, 4 μ g/mL 2,4-ジニトロフェニル修飾牛血清アルブミン (Merck/Millipore Sigma, マサチューセッツ, 米国) を10 μ L/well添加し, 50分

間抗原抗体反応をさせた. 抗原抗体反応をさせた培養上清液70 μ Lに, 100mMクエン酸緩衝液 (pH 4.5) に溶解した5mM *p*-nitrophenyl-N-acetyl-D-glucosaminideを70 μ L加えて, 37°Cで30分間酵素反応させた. 反応後, 2.0Mグリシン緩衝液 (pH 10.4) を100 μ L加えて酵素反応を停止し, マイクロプレートリーダー (Sunrise Thermo RC-R: Tecan Group Ltd., メンネドルフ, 瑞国) で405nmの吸光度を測定した. 抽出試料の代わりにリン酸塩緩衝液 (PBS) を加えたものをコントロールとし, コントロールに対する阻害率を算出した. なお空試験は, それぞれの試料について抗体非存在下で同様の操作を行った. 測定結果は空試験の値を差し引いた吸光度を用いた. 阻害率は式1にて算出した.

$$\text{阻害率(\%)} = 100 - \frac{\text{抽出試料の吸光度}(A1 - A2)}{\text{PBSの吸光度}(A1 - A2)} \times 100 \quad (\text{式1})$$

A1は抗DNP-IgEを含む405nmでの吸光度, A2は抗DNP-IgEを含まない405nmでの吸光度を表した. 細胞実験は, 3回以上独立して行った. 50%阻害濃度 (IC₅₀) は, 医学統計解析ソフトGraphPad Prism ver.5.0 (GraphPad Software, カリフォルニア, 米国) を使用して計算された.

4.3. 細胞毒性試験

細胞毒性は, 3-(4,5-ジメチル-チアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロマイド (MTT) を用いて紫色ホルマザン結晶に還元する細胞の代謝活性を測定した. 実験方法は, Maetaらの報告を基に実施した¹¹⁾.

脱顆粒抑制試験後に上清を除去し, 0.5mg/mL MTTを含むEagle's MEM培地を各ウェルに添加した. 次に, プレートを37°C, 5%CO₂で1時間インキュベートした. インキュベーション後, 培地を除去し, 200 μ Lのジメチルスルホキシド (Dimethyl sulfoxide: DMSO) を各ウェルに添加し, 紫色ホルマザン結晶を溶解した. 吸光度570nm (対照波長650nm) にて測定した. 測定結果は, 空試験の吸光度を用いた. 細胞生存率は式2にて算出した.

$$\text{細胞生存率(\%)} = \frac{\text{抽出試料の吸光度}}{\text{PBSの吸光度}} \times 100 \quad (\text{式2})$$

5. 統計解析

有意差検定はスチューデントのT検定を使用し、抽出試料の代わりにPBSを加えたコントロールと試料間で検定した。有意水準は5%未満とした。統計解析には、統計解析ソフトウェアPASW[®] Statistics 17.0 (IBM, ニューヨーク, 米国)を使用した。

III. 結果

1. 兵庫県地場野菜の脱顆粒抑制効果

10種類の試料 (100 μ g/well) の脱顆粒阻害率 (平均 $\pm$ 標準偏差) は, 18.7 $\pm$ 19.3% (デカンショ太ねぎ緑部), 20.3 $\pm$ 17.2% (デカンショ太ねぎ白部), 21.5 $\pm$ 32.0% (軟白うど身), 18.1 $\pm$ 16.0% (軟白うど皮), 26.0 $\pm$ 10.4% (朝倉山椒), 17.8 $\pm$ 23.2% (ペッチン瓜), 18.8 $\pm$ 18.1% (網干メロン), 7.9 $\pm$ 10.8% (短根ごぼう葉部), 82.1 $\pm$ 4.1% (短根ごぼう茎部), 17.6 $\pm$ 13.0% (短根ごぼう根部) であった (表1)。また, 平均細胞生存率は, 95.2%から118.0%で, 細胞毒性は認められなかった (表1)。

表1 兵庫県地場野菜抽出試料の脱顆粒阻害率と細胞毒性

試料名	濃度 (mg/ml)	阻害率 (%) (vs control)	細胞生存率 (%) (vs control)
デカンショねぎ (緑部)	10 (n=3)	18.7 $\pm$ 19.3	112.9 $\pm$ 14.4
デカンショねぎ (白部)	10 (n=3)	20.3 $\pm$ 17.2	96.7 $\pm$ 14.4
三田・軟白うど (身)	10 (n=3)	21.5 $\pm$ 32.0	110.6 $\pm$ 18.6
三田・軟白うど (皮)	10 (n=3)	18.1 $\pm$ 16.0	106.8 $\pm$ 12.2
朝倉山椒	10 (n=4)	26.0 $\pm$ 10.4*	118.0 $\pm$ 10.8*
ペッチン瓜	10 (n=4)	17.8 $\pm$ 23.2	111.6 $\pm$ 14.7
網干メロン	10 (n=4)	18.8 $\pm$ 18.1	101.8 $\pm$ 13.6
三田・短根ごぼう (葉)	10 (n=4)	7.9 $\pm$ 10.8	96.6 $\pm$ 10.2
三田・短根ごぼう (茎)	10 (n=4)	82.9 $\pm$ 5.2*	103.3 $\pm$ 8.6
三田・短根ごぼう (根)	10 (n=4)	17.6 $\pm$ 13.0	95.2 $\pm$ 8.4

データは, 平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。統計解析はスチューデントのT検定を使用し, 有意水準は5%未満とした。有意差が認められたものには, 上付きアスタリスクを付けた。

*p<0.05

三田・短根ごぼう茎部に最も強い脱顆粒抑制効果が認められ, 濃度依存性は図1Aに示した。IC₅₀値は, 4.11 μ L/wellであった (図1A)。

2. 短根ごぼう茎部脱顆粒抑制成分の分画

2.1. 各分画部の脱顆粒抑制効果

HP-20カラムで分画し, 凍結乾燥した結果, 0.042g (10%EtEx), 0.080g (20%EtEx), 0.309g (40%EtEx) および0.055g (99%EtEx) の分画試料が得られた。これらの画分 (40 μ g/well) の脱顆粒阻害率は, 0.3 $\pm$

0.6% (10%EtEx), 4.2 $\pm$ 6.9% (20%EtEx), 65.3 $\pm$ 9.9% (40%EtEx), 86.4 $\pm$ 3.1% (99%EtEx) であった (表2)。平均細胞生存率は, 89.2%から106.5%で, 細胞毒性は認められなかった (表2)。

表2 三田・短根ごぼう (茎) のHP-20カラム溶出画分の脱顆粒阻害率と細胞毒性

試料名	濃度	添加量 μ L/well	阻害率 (%) (vs control)	細胞生存率 (%) (vs control)
10%EtEx	4mg/mL	5 (n=4)	14.4 $\pm$ 11.3	104.4 $\pm$ 6.7
		10 (n=4)	0.3 $\pm$ 0.6	101.3 $\pm$ 13.1
20%EtEx	4mg/mL	5 (n=4)	20.6 $\pm$ 8.9*	99.2 $\pm$ 9.0
		10 (n=4)	4.2 $\pm$ 6.9	97.2 $\pm$ 4.1
40%EtEx	4mg/mL	3 (n=4)	14.9 $\pm$ 13.6	101.6 $\pm$ 3.6
		5 (n=6)	47.2 $\pm$ 11.9*	92.9 $\pm$ 12.6
		10 (n=6)	65.3 $\pm$ 9.9*	89.2 $\pm$ 10.3
		0.5 (n=4)	11.1 $\pm$ 8.5	102.2 10.6
99%EtEx	4mg/mL	1 (n=4)	21.0 $\pm$ 9.0*	99.2 4.3
		3 (n=4)	47.4 $\pm$ 11.0*	99.3 8.8
		5 (n=8)	67.7 $\pm$ 9.5*	99.8 11.0
		10 (n=4)	86.4 $\pm$ 3.1*	106.5 14.0

データは, 平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。統計解析はスチューデントのT検定を使用し, 有意水準は5%未満とした。有意差が認められたものには, 上付きアスタリスクを付けた。

*p<0.05

40%EtExと99%EtExに強い脱顆粒抑制効果が認められ, それぞれのIC₅₀値は5.29 μ L/well (図1B)と3.37 μ L/well (図1C) であった。

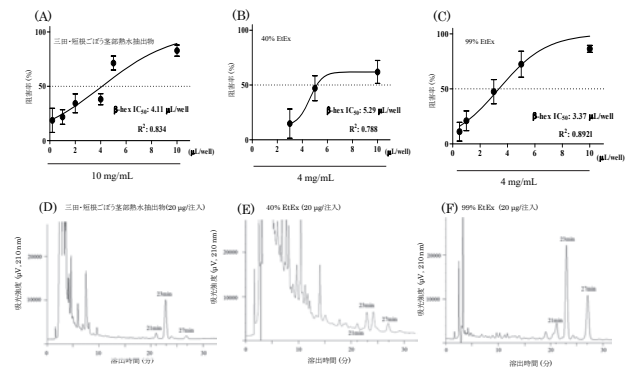


図1 短根ごぼう茎部熱水抽出液, 40%EtExの脱顆粒抑制試験 (A-C) と HPLC-UVクロマトグラム (D-F) β -hexの阻害率は, 平均 $\pm$ 標準偏差を使用した (n=3-4)。決定係数は GraphPad Prism ver.5.0で算出した。

2.2. 短根ごぼう茎部熱水抽出物と99%EtExのHPLC分析

熱水抽出試料, 40%EtEx, 99%EtExのクロマトグラムは図1D-1Fに示した。活性ピークを確認するために熱水抽出物 (図1D) と99%EtEx (図1F) のHPLCピークを比較した。210nmでHPLC分析を行った結果, 熱水抽出物には溶出時間23分に主要

なピークが認められた(図1D)。このピークは、99%EtExにも同溶出時間に認められた(図1F)。IC₅₀値と溶出時間23分のピーク面積を比較した結果、三田・短根ごぼう熱水抽出物のIC₅₀値は99%EtExの約3倍(41.11/13.49)であった(表3)。三田・短根ごぼう茎部熱水抽出物20 μ gのピーク面積は、99%EtExの約1/2.7(180,865/492,354)であった(表3)。

表3 熱水抽出試料及び99%EtExのピーク面積とIC₅₀値の関連

	熱水抽出試料 (10mg/mL)	99%EtEx (4mg/mL)	熱水抽出試料 /99%EtEx
IC ₅₀ (μ g/well)	41.11 (4.11 $\times$ 10mg/mL)	13.49 (3.37 $\times$ 4mg/mL)	3.05
試料20 μ g中のピーク面積 (溶出時間21分)	28,127	137,335	1/4.88
試料20 μ g中のピーク面積 (溶出時間23分)	180,865	492,354	1/2.72
試料20 μ g中のピーク面積 (溶出時間27分)	18,968	325,712	1/17.17

2.3. 短根ごぼう茎部の抗アレルギー成分の推定

Maetaらは、ごぼうの二次代謝産物であるオノポルドピクリン(OP: 図2A)を分離している¹¹⁾。本研究では、Maetaらの分離試料をHPLCでさらに高純度に再精製した。質量分析(MS)で得られたm/z 393.1560は、OP分子量にLC-MSの移動相に添加されているギ酸の分子量を加え水素1原子を差し引いた値と概ね一致した(図2C)。核磁気共鳴分析(NMR)の結果は既報¹²⁾の結果と一致した(図2E, 2D)。これらの結果より、HPLCで再精製したMaetaらの分離試料をOPの標品として使用した。このOP標品を用いて、三田・短根ごぼう茎部の抗アレルギー成分の推定を試みた。その結果、OP標品の主ピーク溶出時間は23分で、本実験で三田・短根ごぼう茎部から抽出した99%EtExの主ピークと一致した(図3A)。OP標品は、濃度依存的な脱顆粒抑制効果を示し、IC₅₀値は0.055 μ L/wellであった(図3B)。

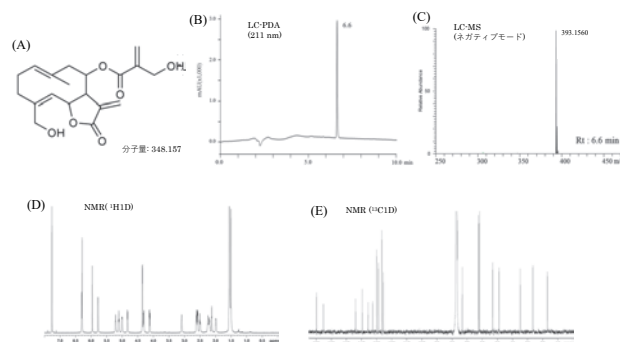


図2 オノポルドピクリン(OP)の構造(A)とOP標品のLC-PDAクロマトグラム(B)、ネガティブモード質量分析(LC-MS; C)、核磁気共鳴分析(NMR; DとE)

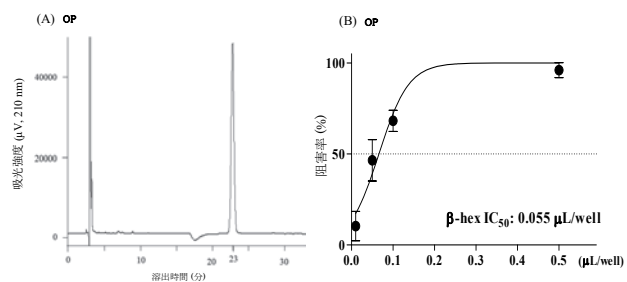


図3 オノポルドピクリン(OP)標品のHPLC-UVクロマトグラム(A)と脱顆粒抑制試験(B) β -hexの阻害率は、平均 $\pm$ 標準偏差を使用した(n=4)。

OP標品のIC₅₀値より、熱水抽出試料、40%EtExと99%EtExのOP寄与率を算出した(表4)。OP標品のIC₅₀値とHPLC分析の結果、IC₅₀におけるOPピーク面積(IC₅₀ $\times$ ピーク面積)は478,514であった(表4)。熱水抽出試料、40%EtExと99%EtExのIC₅₀ $\times$ ピーク面積は、371,667、202,776と331,851となり、OP寄与率はそれぞれ78%、42%と69%となった(表4)。

表4 各試料のOP寄与率

試料名	IC ₅₀ (μ L/well)	試料1 μ L中の OPピーク面積	IC ₅₀ $\times$ ピーク 面積	OP寄与率 (%)
OP標品 ¹⁾	0.055	8,700,249	478,514	100
熱水抽出試料 (10mg/mL)	4.11	90,430	371,667	78
40%EtEx (4mg/mL)	5.29	38,332	202,776	42
99%EtEx (4mg/mL)	3.37	98,472	331,851	69

¹⁾Maetaらの試料をHPLCで再精製したものをオノポルドピクリン(OP)標品とした。

IV. 考察

本研究では、抗アレルギー効果を有する兵庫県地場野菜をスクリーニングし、その活性成分の同定を試みた。本研究の地場野菜との類似野菜は、様々な機能性成分を有することが既に報告されている。

例えば、山椒含有の糖タンパク質¹³⁾やごぼう根部含有オレアミド¹⁴⁾に、抗アレルギー性が報告されている。本研究において、朝倉山椒に弱い脱顆粒抑制効果が認められた。しかし、短根ゴボウ根部には脱顆粒抑制効果は認められなかった。Yangらは、ごぼう根部をエタノールで抽出し、さらに液-液分配やカラムによる分画を行っていた¹⁴⁾。本研究では熱水抽出を行ったため抽出方法や精製方法の違いにより、既報と異なる結果が確認されたと考えられる。

地場野菜の抗アレルギー性について、熱水抽出物試料でスクリーニングした結果、三田・短根ごぼう茎部に強い脱顆粒抑制効果が認められた。三田・短根ごぼう茎部の阻害率に対する標準偏差が小さかったが、これはRBL-2H3細胞における脱顆粒に対し、安定した抑制効果を示すため、データのばらつきがみられなかったことが考えられる。

OPはセスキテルペノイドのゲルマクラノリドに分類される植物中の二次代謝産物である¹⁵⁾。1968年にゴロツキアザミ (*Onopordon acanthium* L) から単離されたOP¹⁶⁾は、キク科のゴボウ属の植物 (*Arctium lappa*や*Arctium nemorosum* Leij) の地上部 (葉や茎) にも含まれ¹⁷⁾¹⁸⁾、抗潰瘍性¹⁸⁾、抗炎症性¹⁹⁾、抗増殖性²⁰⁾²¹⁾、脂肪蓄積抑制効果²²⁾など様々な機能が報告されている。本研究は高純度のOP標品を使用し、OPの抗アレルギー性を証明した。

OP標品との比較により算出したOP寄与率は熱水抽出試料で78%、99%EtExで69%となり、これら試料の主な抗アレルギー成分はOPであると示唆された。一方、40%EtExのOP寄与率は42%であった。そのため、40%EtExは、OP以外の抗アレルギー成分を99%EtExより含んでいることが示唆された。菊崎らは、ゴボウの葉にクロロゲン酸などのカフェ酸関連化合物やルチンなどのフラボノイド配糖体が含まれていることを報告している²³⁾。また、ゴボウの根や葉にジカフェオイルキナ酸やルチンが含まれることも報告されている²⁴⁾²⁵⁾。カフェ酸やジカフェオイルキナ酸などのカフェ酸誘導体がヒスタミン遊離抑制作用を示すことが報告されている²⁶⁾²⁷⁾。40%EtExをHPLC (UV 360nm) 分析した結果、複数のピークが確認された (データ非公開)。本研究では、ゴボウの茎にはOP以外の抗アレルギー成分も含まれていると推定したが、その成分を明らかにすることはできなかった。

以上の結果から、三田・短根ごぼうは、OPなどの脱顆粒抑制効果を持つ成分を含み、抗アレルギー効果のある地場野菜として期待できる。

利益相反 (COI)

本論文に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはなし。

本研究の一部は、JSPS科研費 (課題番号: 19K02344) の助成を受けた。

謝辞

この研究を支えてくださった佐々木祐里、八馬和美、劉媛、谷口由希子、久保瑠海花、中村尚代に感謝いたします。HPLC-PDA, LC-MSおよびNMR分析は、公益財団法人サントリー生命科学財団の渡辺健宏氏と森祥子氏によって測定されました。原稿の校正はEditage (www.editage.com) によって行われました。

文献

- (1) 赤水尚史ほか: イラストレイテッドシリーズ病態と治療戦略がみえる免疫・アレルギー疾患 (田中良哉, 編集) 羊土社, 東京, 2013, p21
- (2) 東京都福祉保健局: 花粉症患者実態調査報告書 (平成28年度). www.metro.tokyo.lg.jp (2021.12.15閲覧)
- (3) 厚生労働省健康局がん・疾病対策課: アレルギー疾患の現状等 (平成28年度 2月). https://www.mhlw.go.jp/ (2022.9.10)
- (4) Passante E, Frankish N: The RBL-2H3 cell line: its provenance and suitability as a model for the mast cell. *Inflamm Res* 58: 737-745, 2009
- (5) 星野香織, 穂山浩, 合田幸広ほか: 3種*in vitro*試験法による10種野菜抽出液の抗アレルギー活性評価について. *食品衛生学雑誌*39: 72-77, 1998
- (6) 堀籠悟, 吉田泉, 玉木千恵ほか: RBL-2H3細胞を用いた食品成分の脱顆粒抑制作用簡易スクリーニング法. *日本食品科学工学会誌*55: 535-40, 2008
- (7) 浅野真理子, 土肥愛, 矢澤一良ほか: ラット好塩基球白血病細胞における生薬抽出液の脱顆粒抑制作用. *日本食品科学工学会誌* 58: 330-334, 2011
- (8) Matsuda H, Shimoda H, Uemura T, et al: Chemical constituents from the leaves of *Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* (III): Absolute stereostructures of hydramacrosides A and B, seco-iridoid glucoside complexes with inhibitory activi-

- ty on histamine release. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 47: 1753-1758, 1999
- (9) 湊口信也, 大野康, 舟口祝彦ほか: スギ花粉症の症状とQOLに対する「じゃばら」果汁の効果. 臨床免疫・アレルギー科50: 360-364, 2008
- (10) 兵庫県庁: 兵庫県の概要について. <https://web.pref.hyogo.lg.jp> (2021.12.15閲覧)
- (11) Maeta A, Ishikawa H, Takahashi K: Antiallergic activities of Japanese leaf burdock extract in a rat basophilic leukemia cell line. J. Food Biochem. 45: e13996, 2021
- (12) Annélie Bordignon, Michel Fré d érich: In vitro antiplasmodial and cytotoxic activities of sesquiterpene lactones from *Vernonia fimbrillifera* Less. (Asteraceae). Nat Prod Res. 32: 1463-1466, 2018
- (13) Lee J, Lim KT: Inhibitory effect of phytylglycoprotein (24kDa) on allergy-related factors in compound 48/80-induced mast cells in vivo and in vitro. Int. Immunopharmacol. 10: 591-599, 2010
- (14) Yang WS, Lee SR, Jeong YJ, et al: Antiallergic Activity of Ethanol Extracts of *Arctium lappa* L. Undried Roots and Its Active Compound, Oleamide, in Regulating FcεRI-Mediated and MAPK Signaling in RBL-2H3 Cells. J. Agric. Food Chem. 64: 3564-3573, 2016
- (15) Barbosa-Filho JM, Costa M, Gomes C, et al: Isolation of onopordopicrin, the toxic constituent of *Arctium lappa* L. J Braz Chem Soc 4: 186-187, 1993
- (16) Drożdż B, Holub M, Samek V, et al: On terpenes. CXCI. The constitution and absolute configuration of onopordopicrine - A sesquiterpenic lactone from *Onopordon acanthium* L. Collect. Czechoslov. Chem. Commun. 33: 1730-1737, 1968
- (17) Zimmermann S, Thomi S, Kaiser M, et al: Screening and HPLC-Based Activity Profiling for New Antiprotozoal Leads from European Plants. Pharm. Sci. 80: 205-213, 2012
- (18) de Almeida AB, Luiz-Ferreira A, Cola M, et al: Anti-ulcerogenic mechanisms of the sesquiterpene lactone onopordopicrin-enriched fraction from *Arctium lappa* L. (Asteraceae): role of somatostatin, gastrin, and endogenous sulfhydryls and nitric oxide. J Med Food 15: 378-383, 2012
- (19) de Almeida AB, Sánchez-Hidalgo M, Martín AR, et al: Anti-inflammatory intestinal activity of *Arctium lappa* L. (Asteraceae) in TNBS colitis model. J. Ethnopharmacol. 146: 300-310, 2013
- (20) Bach SM, Fortuna MA, Attarian R, et al: Antibacterial and cytotoxic activities of the sesquiterpene lactones cnicin and onopordopicrin. Nat Prod Commun 6: 163-166, 2011.
- (21) Machado FB, Yamamoto RE, Zanolli K, et al: Evaluation of the antiproliferative activity of the leaves from *Arctium lappa* by a bioassay-guided fractionation. Molecules 17: 1852-1859, 2012
- (22) 日清ファルマ株式会社: 脂肪蓄積抑制剤. 特開2008-137976, 2008
- (23) 菊崎泰枝: 大阪に産する野菜の機能成分の構造と調理特性の解明. 科研費19300247, 2009
- (24) Carlotto J, da Silva LM, Dartora N, et al: Identification of a dicaffeoylquinic acid isomer from *Arctium lappa* with a potent anti-ulcer activity. Talanta 135: 50-57, 2015
- (25) Ferracane R, Graziani G, Gallo M, et al: Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves. J. Pharm. Biomed. Anal. 51: 399-404, 2010
- (26) 山本沙織, 中地伸恵, 浅野真理子ら: ラット好塩基球白血球細胞におけるヨモギ酵素処理物の脱顆粒抑制作用. 日本食品科学工学会誌58: 460-463, 2011
- (27) キッコーマン株式会社: カフェー酸誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤. 特許4169245, 2008

原 著

培養温度条件における紅麹米麹の色素生産と抗酸化活性の検討

A study on pigment production and antioxidant activity of *Benikoji rice-koji* under culture temperature conditions

福田 史織¹⁾, 鮫島 由香^{2), 4)}, 竹本 尚未³⁾, 松井 徳光^{1), 4)*}

Fukuda shiori¹⁾, Sameshima yuka^{2), 4)}, Takemoto Naomi³⁾, Matsui Tokumitsu^{1), 4)*}

ランニングタイトル：培養温度条件による紅麹米麹色素についての検討

Keywords：紅麹，紅麹色素，抗酸化活性

要 旨

紅麹は米に紅麹カビを繁殖させた麹であり，鮮やかな紅色の色素を生産することから着色料として活用されている．しかし，鮮やかな紅麹色素の生産は難しく，培地成分の条件検討が行われているが，培養期間中の温度の変化については検討が行われていない．そこで本論文では，紅麹カビを用いて紅麹米麹を調製し，培養温度による色調変化の影響や，紅麹米麹の抗酸化活性の違いについて検討を行った．紅色の色調を強く呈した紅麹米麹は，25℃あるいは30℃で24時間培養，30℃で16時間培養後，25℃で8時間培養，あるいは35℃で16時間培養後，20℃あるいは25℃で8時間培養した条件であった．一方，高い抗酸化活性を示した紅麹米麹は20℃あるいは35℃で24時間培養，20℃で16時間後，35℃で8時間培養条件の紅色色調が薄い紅麹米麹であった．このことから紅麹米麹は培養温度の変化により，生産される色素，抗酸化活性に影響を及ぼすことが示唆された．

英語要旨

Benikoji is a rice malt produced by breeding *Monascus sp.*, and it is used as a coloring agent because it produces a bright red pigment. However, it is difficult to produce vivid benikoji pigments, and although the conditions of the medium components have been investigated, the temperature changes during the culture period have not been investigated. Therefore, in this paper, benikoji rice-koji was prepared using *Monasce sp.*, and the effect of color change due to incubation temperature and the difference in antioxidant activity of benikoji rice-koji were investigated. The benikoji rice-koji, which showed a strong red color tone, was cultured at 25°C or 30°C for 24 hours, at 30°C for 16 hours, at 25°C for 8 hours, at 35°C for 16 hours, and at 20°C or 25°C for 8 hours. On the other hand, the benikoji rice-koji that showed high antioxidant activity was the pale red benikoji rice-koji that was cultured at 20°C or 35°C for 24 hours, 20°C for 16 hours, and 35°C for 8 hours. It was suggested that changes in culture temperature affected pigment production and antioxidant activity.

1) 武庫川女子大学食物栄養科学部食物栄養科学科
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

2) 羽衣国際大学人間生活学部食物栄養学科
〒592-8344 大阪府堺市西区浜寺南町1-89-1

3) 武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

4) 武庫川女子大学栄養科学研究所
〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

責任著者*：Tel&Fax：+81-798-45-9873
E-mail：tokamura@mukogawa-u.ac.jp

緒言

紅麴は米に紅麴カビ (*Monascus* 属) を繁殖させた麴で紅酒や漢方薬として利用され, 日本では沖縄県の伝統的な発酵食品である豆腐のような製造に用いられている^{1, 2)}.

紅麴の機能性成分として血中コレステロール低下作用を有するモノコリンK³⁾や血圧上昇抑制物質の γ -アミノ酪酸⁴⁾, さらに高い抗酸化活性を有することが報告されており⁵⁾, 古くから蓄積された食経験から今後の機能性食品や医薬品への応用, 発展が期待されている⁶⁾.

また, 紅麴カビは機能性成分のみならず, 天然色素として活用されており, 鮮やかな紅色を呈する. これらの色素を利用し, 古くから近年まで特徴的な色味を有する紅酒や豆腐ようななどの発酵食品やソーセージ, かまぼこなどの着色料として食品へ応用されているが, 鮮やかな紅色の色調は発酵物原料や培地によって色調が黄色や暗赤色に変化し⁷⁾, 鮮やかな紅色を呈するためには工夫が必要である. そのため, 紅麴カビの色素生産に関し, 培地成分などの条件検討が行われている^{8, 9)}.

本研究室においても紅麴カビを蒸米に接種し, 紅麴米麴を調製したところ, 培養期間中に紅色の米麴の形成が確認されず, 白色から薄黄色の米麴の形成が確認された. しかし, 紅色ではない, 白色や薄黄色の紅麴米麴の培養温度を一定の期間のみ変化させることにより, 急速に紅色の米麴が形成された現象が確認され, 紅色の紅麴米麴は培養温度の変化に影響する可能性が考えられた. また, 紅麴カビの色素生産に関して培地の条件検討の報告⁸⁻¹¹⁾は行われているが, 培養温度の変化による影響については報告が行われていない. そこで本研究では培養温度変化に着目し, 紅麴の温度変化による色素産生条件および温度変化における色素変化の影響について検討することを目的として, 紅麴カビを用いて紅麴米麴を調製し, 得られた紅麴米麴を用いて, 色素と強い関連性が報告されている抗酸化活性¹²⁾について検討を行った.

方法

1. 実験材料および供試菌

紅麴種麴, 紅麴米麴の調製には精白米 (2019年に収穫された新潟県産コシヒカリ) を, 供試菌株は

紅麴カビ *Monascus pilosus* (NBRC 4480株, 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター) を用いた.

紅麴カビ前培養の培地はポテトデキストロース寒天培地 (日水製薬) 3.9 g, 乾燥酵母エキス (ナカライテスク) 0.2 gを水道水100 mLに懸濁し, オートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) 後, シャーレに凝固させたものを使用した. これらの平板培地上に紅麴カビを植菌し, 30°Cでシャーレに菌糸が充満した状態まで培養を行った.

2. 紅麴種麴および紅麴米麴の調製

紅麴種麴および紅麴米麴の調製に用いる蒸米は, 精白米を洗浄後, 24時間浸漬し, 2時間蒸したものを使用した.

紅麴種麴の調製は蒸米60 gをオートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) 後, 角型シャーレ全体に広げ, 前培養した紅麴カビの菌糸 (5 mm角×1片) を無菌的に植菌し, 30°Cで培養した. 培養期間は毎日観察し, 菌糸が蒸米に十分に充満した8日目までとした.

紅麴米麴の調製は蒸米30 gをオートクレーブ滅菌 (121°C, 20分) 後, 丸型シャーレ全体に広げ, 培養後の紅麴種麴23粒を無菌的に植菌した. 培養温度は24時間内に温度変化を行わない恒温条件, 24時間を16時間と8時間に分け培養温度を変更した温度変化条件で培養を行った. 植菌した日から毎日観察を行い, いずれの温度条件の紅麴米麴も色の変化がほとんど観察されなくなった18日目まで紅麴米麴の培養を行った. 恒温条件, 温度変化条件は表1に示す.

表1 恒温条件および温度変化条件

恒温条件 (24h)	温度変化条件 (16h-8h)		
20°C	20°C-25°C	20°C-30°C	20°C-35°C
25°C	25°C-20°C	25°C-30°C	25°C-35°C
30°C	30°C-20°C	30°C-25°C	30°C-35°C
35°C	35°C-20°C	35°C-25°C	35°C-30°C

恒温条件は24時間温度変化を行わない条件であり, 温度変化条件は16時間と8時間に分けて温度変化を与えた条件.

3. 紅麴米麴試料の調製

2. で調製した紅麴米麴と蒸留水をそれぞれ55℃で5分間保温し、紅麴米麴と蒸留水を1 : 3の割合で混合したものを紅麴米麴試料とした。混合直後に氷冷中で冷却し、同量のガラスビーズ（直径3 mm）を加え、ボルテックスで20秒間摩砕した。遠心分離（9,000 rpm, 10分, 4℃）後、得られた上清液をさらに遠心分離（15,000 rpm, 10分, 4℃）を行い、上清液を紅麴米麴上清液とした。

4. 紅麴米麴上清液における抗酸化活性

抗酸化活性はマイクロプレートリーダー（TECAN製）を用いて化学発光法にて測定した。紅麴米麴上清液を10 μ L, 0.1M KH_2PO_4 Buffer (0.05M EDTA・2 Naを含有し, pH7.5に調整, 以下 KH_2PO_4 Bufferと記す) 85 μ L, 100 $\mu\text{g/mL}$ Xanthin Oxidase溶液30 μ L, 45mM MPEC溶液5 μ Lをそれぞれ各wellに分注した。Microプレートリーダーにマイクロプレートをセットし、内蔵ポンプに充填した0.72mM Hypoxanthine (0.05nM EDTA含有) を25 μ L分注し30秒間の発光積算値を測定した。なお、抗酸化活性は酸化阻害率 (%) = (ポジティブブランクの発光積算値 - 試料の発光積算値 / ポジティブブランクの発光積算値) $\times$ 100とした。

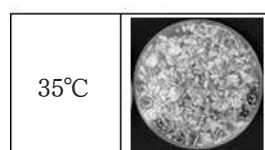
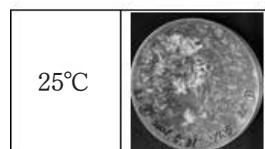
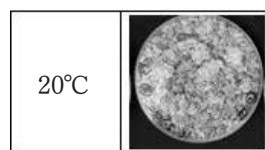
実験結果及び考察

1. 恒温条件, 温度変化条件下における紅麴米麴の色調

各温度条件で18日間培養を行った紅麴米麴の色調を図1に示した。

恒温条件の紅麴米麴では、25℃と30℃で培養した紅麴米麴が、20℃と35℃で培養した紅麴米麴に比べ、紅色が濃い紅麴米麴であった。紅色が濃い25℃と30℃で培養した紅麴米麴ではシャーレ内の蒸米の大半が紅色の米麴であったが、白色から薄黄色の米麴の形成も確認された。一方、20℃と35℃で培養した紅麴米麴は白色から薄黄色の米麴の形成が優勢であり、紅色の米麴も確認されたが、25℃と30℃で培養した紅麴米麴の紅色に比べ、やや淡い色調であった。紅麴カビはmonascorubrin（赤色）、rubropunctatin（赤色）、monascin（黄色）、ankaflavin（黄色）、monascorubramine（紫色）、rubropunctamine（紫色）等の色素¹³⁻¹⁵⁾を有するこ

恒温条件(24時間)



温度変化条件(16時間→8時間)

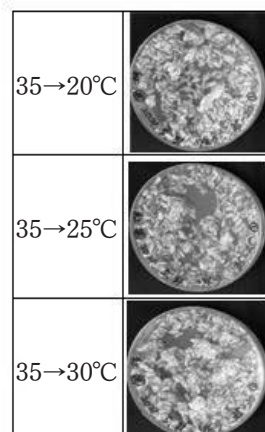
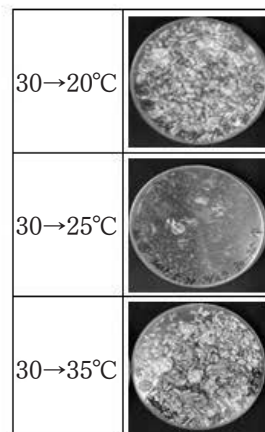
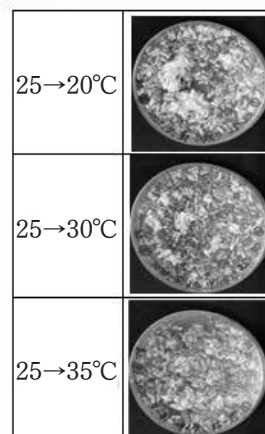
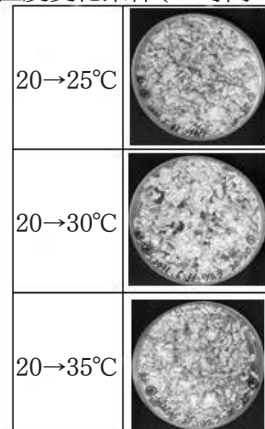


図1 24時間恒温条件, 温度変化条件（16h-8h）条件における紅麴米麴の色調

写真は紅麴を蒸米に植菌し、各温度で18日間培養した紅麴米麴

とが報告されている。25℃と30℃で培養した紅麴米麴ではmonascorubrin (赤色), rubropunctatin (赤色) 等の色素が, 20℃と35℃で培養した紅麴米麴ではmonascin (黄色), ankaflavin (黄色) 等の色素が濃く表れたことが考えられた。

本研究での培養方法において紅麴米麴植菌後, まずは白色から薄黄色の米麴が生育し, その後, 白色や薄黄色の米麴が紅色の米麴へと色素の変化が確認された。また, 紅麴カビ *Monascus pilosus* を滅菌米の固体培養法を用いて30℃で4日間培養し, その後22℃で39日間培養を行った場合, monascin (黄色) は約20日後で生成のピークを迎え, rubropunctamine (赤色) は約30日後で生成のピークを迎えたことが報告されている¹⁶⁾。これらより, 色素の生産は白色や薄黄色などの黄色系統色素, 紅色の赤色系統色素の順で生産されることが考えられ, 25℃と30℃で培養した条件では18日間の中でも赤色系統の色素を生成するほど紅麴米麴の生育が早く, 紅色米麴生育に適した条件であり, 20℃と35℃では25℃, 30℃培養条件に比べ, 紅麴米麴の生育が遅く, 紅色米麴生育には適さない条件である可能性が示唆された。

温度変化を与えた条件において, 20℃で16時間培養し, 8時間は25℃, 30℃, 35℃それぞれ温度変化を与えたところ, いずれの温度においても20℃の恒温条件で培養した紅麴米麴と同程度であった。顕著な色調変化は確認されず, 紅色の米麴も形成しながら, 白色から薄黄色の米麴も形成され, 紅色が淡く見える色調であった。

25℃で16時間培養し, 20℃と30℃, 35℃でそれぞれ8時間培養を行った紅麴米麴は25℃の恒温条件よりも紅色が淡く, 色調が薄いものであった。そのなかでも20℃で8時間培養した紅麴米麴は色調が最も薄く, 白色や薄黄色の紅麴米麴が確認された。

30℃で16時間培養し, 20℃で8時間培養した紅麴米麴は30℃で24時間培養した恒温条件と比べ紅色の色調が薄かったが, 25℃で8時間培養した条件の紅麴米麴は恒温条件に比べ, 紅黒色に米麴が形成されている紅麴米麴が確認された。しかし, 35℃で8時間培養した紅麴米麴では紅色の米麴の割合が減少し, 白色から薄黄色の米麴の割合が増加したことにより淡い色調であった。

35℃で16時間培養し, 20℃と25℃で8時間培養

した紅麴米麴では, 35℃で24時間培養した紅麴米麴に比べ, 紅色の米麴の割合が増加し, さらにその中でも紅色の色が濃い米麴の形成が確認された。一方で, 30℃で8時間培養した紅麴米麴は35℃で24時間培養した恒温条件下と同程度の色調であり, 35℃で長時間培養する場合において5℃の温度変化は色調変化に大きな影響を及ぼさない可能性が示唆された。

培養温度を24時間内で変化させることで色調が変化することが示唆されたが, 紅麴米麴全てが紅色一色に変化することではなく, 同じシャーレ内においても紅色と白色から薄黄色の紅麴米麴がまばらに存在していた。紅麴米麴の色素生産において白色から薄黄色の紅麴米麴, 紅色米麴の順番で色素が生産されたことから, 同じシャーレ内において異なる色素が存在していた事は菌糸の生育がまばらに進行したことが考えられる。本研究では培地に蒸米を使用し, かつ静置培養を行ったため, 培地の混合・均一化が難しく, 紅麴の色素産生がまばらに進行したことが推察される。

しかし, 同じシャーレ内に紅色, 白色から薄黄色の紅麴米麴が確認された一方で, 30℃で16時間培養後, 25℃で8時間培養したものは30℃の恒温条件よりも, または, 35℃で16時間培養後, 20℃あるいは25℃で8時間培養したものは35℃の恒温条件よりも紅麴米麴における紅色色素米麴の割合が増加していたことが確認された。このことから30℃以上の高温で16時間培養し, その後培養温度を下げる事により紅麴米麴における紅色米麴の生育に適した条件となり, monascorubrin (赤色), rubropunctatin (赤色) 等の色素生産が促進される可能性が示唆された。

紅麴は培養によりモノコリンKやγ-アミノ酪酸, 色素などの二次代謝産物を生成する事が報告されているが, その中でも生成される色素は抗酸化作用に強く影響することが報告されている¹²⁾。そこで, 本研究の培養温度変化により生産された紅麴米麴色素が抗酸化作用に及ぼす影響について検討を行うため, 抗酸化活性を測定した。

2. 紅麴米麴上清液における抗酸化活性の測定

恒温条件, 温度変化条件で培養した紅麴米麴の中で紅色の米麴を紅色米麴, 白色から薄黄色の米麴を

白色米麴と定義し、温度条件ごとに紅色、白色の紅麴米麴上清液を調製し、抗酸化活性を測定した。結果を図2および図3に示す。

恒温条件で調製した場合（図2）は、20℃および35℃で調製した紅色米麴上清液、白色米麴上清液がそれぞれ25℃および30℃で調製した紅色米麴上清液、白色米麴上清液と比較し、酸化阻害率が高値を示した。また紅色の色素を呈した紅色米麴上清液では20℃で培養した場合、酸化阻害率が $56.5 \pm 0.13\%$ であり、25℃で培養した場合、酸化阻害率が $40.5 \pm 0.93\%$ と減少していたが、30℃、35℃と培養温度が高温になるにつれ、酸化阻害率がそれぞれ $53.2 \pm 1.25\%$ 、 $67.7 \pm 0.19\%$ と酸化阻害率が増加する傾向が確認された。紅麴米麴において培養温度が25℃の条件では、最も低い抗酸化活性が示され、培養温度が5℃異なる培養温度20℃、30℃では、同程度の抗酸化活性を示し、さらに培養温度が10℃高い培養温度35℃は抗酸化活性が最も高値を示したことから、紅色米麴において培養温度25℃が抗酸化物質の生産に適していない環境であり、培養温度が低下する、また増加することにより抗酸化物質の産生が行われる可能性が示唆された。

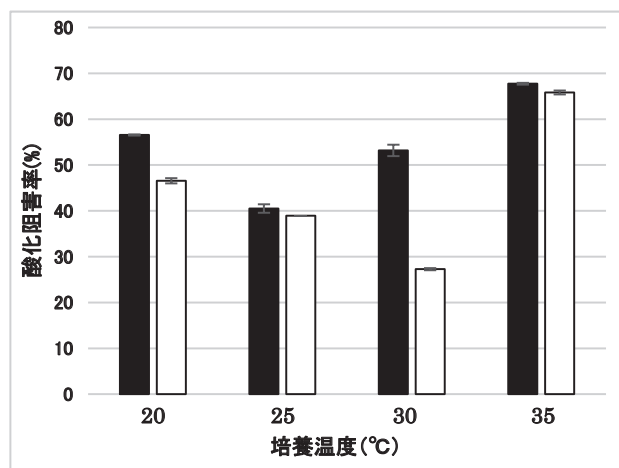


図2 24時間恒温条件における紅色の紅麴米麴上清液、白色の紅麴米麴上清液の酸化阻害率

図の■は紅色の紅麴米麴上清液、□は白色の紅麴米麴上清液の酸化阻害率を示す。測定は $n=3$ で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

一方で白色を呈した白色米麴上清液では培養温度が20℃から30℃にかけて酸化阻害率が低下を示した。培養温度20℃では酸化阻害率 $46.5 \pm 0.56\%$ 、培養温度25℃では $38.9 \pm 0.01\%$ 、培養温度30℃では $27.3 \pm 0.23\%$ であったが、35℃で培養した白色米麴上清液では酸化阻害率が $65.8 \pm 0.43\%$ と急激に高値を示した。恒温条件、温度変化条件下における紅麴米麴の色調結果から培養温度20℃では白色米麴が紅色米麴より生育されていることが確認され、培養温度25℃、30℃では紅色米麴の生育が顕著であった。抗酸化活性と比較すると、紅色米麴の生育が確認された培養温度25℃、30℃では抗酸化活性が低く、白色米麴の生育が確認された培養温度20℃で高い抗酸化活性を示したことから、白色米麴の生育が高い抗酸化活性を示す可能性が示唆された。

また、最も高い酸化阻害率を示した紅麴米麴上清液は紅色、白色米麴上清液どちらも培養温度35℃で培養した条件であった。培養温度35℃が紅色米麴、白色米麴どちらも他の条件よりも高い抗酸化活性を示したことは、紅麴において35℃の培養温度は30℃以下の培養温度環境下より抗酸化物質の産生に優れた環境であることが考えられる。紅麴は培養により様々な二次代謝産物を産生するが、各種成分が常に一定量作られておらず、紅麴が生育のために、生産物質を調整している可能性が報告されているが¹⁶⁾、紅麴における抗酸化物質も同様であることが推察された。

温度変化を与えて調製した場合（図3）、白色米麴上清液では20℃、25℃、30℃で16時間培養したものはいずれも8時間の培養温度が高くなるにつれ、酸化阻害率が高値を示した。35℃で16時間培養後、25℃で8時間培養した白色米麴は20℃で8時間培養したものより、酸化阻害率が低下したが、30℃で8時間培養した場合、急激に酸化阻害率が高値を示した。これらのことから白色米麴上清液では培養時間の一部を高温条件で培養することにより酸化阻害率が増加する可能性が示唆された。

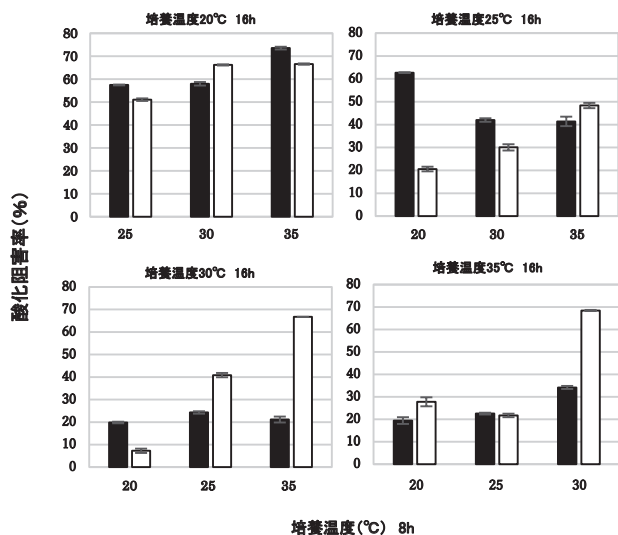


図3 温度変化条件(16h→8h)における紅色の紅麹米麹上清液, 白色の紅麹米麹上清液の酸化阻害率

図の■は紅色の紅麹米麹上清液, □は白色の紅麹米麹上清液の酸化阻害率を示す. 測定はn=3で行った. 図中のエラーバーは標準偏差を表す.

一方, 紅色米麹上清液では20°Cで16時間培養した紅麹米麹上清液において25°C, 30°Cで8時間培養した条件では酸化阻害率は大きな変化が確認されなかったが, 35°Cで8時間培養した条件で酸化阻害率が高値を示した. 培養温度20°Cで16時間培養した紅麹において, 紅色米麹・白色米麹では8時間の培養温度が30°C以上の場合, 恒温条件における培養温度20°Cの抗酸化活性と比較し高値を示した. これは紅麹において30°C以上の培養温度は菌糸の生育が阻害されやすい環境であり, 菌糸が生育のために培養中に酸化を阻害する抗酸化物質を多く生産したことが推察された. そのため, 生育が阻害されやすい環境は, 抗酸化物質の産生に優れた環境であることが考えられ, 8時間だけであっても培養温度を30°C以上にすることで抗酸化物質の生産に適した環境となり, 抗酸化活性が高値を示したことが推察された. しかし, 25°Cで16時間培養した紅色米麹上清液では培養温度20°Cで8時間培養した条件が最も酸化阻害率が高く, 30°C以上の培養温度で8時間培養した紅色米麹上清液では酸化阻害率が低下した. 25°Cの恒温条件における紅色米麹上清液の抗酸化活性と25°Cで16時間培養し, 30°C, 35°Cで8時間培養した紅色米麹上清液の抗酸化活性と同程度であり, 20°Cで8時間培養した紅色米麹上清液の抗酸化活性が高値を示した. 恒温条件, 温度変化条件下における紅麹米麹の色調結果では, 恒温条件の紅麹米麹に比べ, 温度変化条件の紅麹米

麹は色調が薄くなったが, そのなかでも20°Cで8時間培養した紅麹米麹は色調が薄いことから, 25°Cで16時間培養する場合は, 8時間の培養温度を20°Cに下げることが紅色米麹の菌糸生育を阻害し, 抗酸化物質を産生しやすい環境になり, 高い抗酸化活性を示したことに繋がったと推察した.

30°Cで16時間培養した紅色米麹上清液では8時間の培養温度の違いにより酸化阻害率の大きな変化は確認されなかったが, 白色米麹上清液では8時間の培養温度が高くなるにつれ, 抗酸化活性が高値を示した.

35°Cで16時間培養した紅麹米麹上清液は紅色, 白色共に20°C, 25°Cで8時間培養したものは同程度の抗酸化活性であったが, 30°Cで8時間培養したものは, 抗酸化活性が高値を示した. しかし, 温度変化条件において最も抗酸化活性が高値を示した条件である30°Cで8時間培養した紅色米麹上清液では, 35°Cで24時間培養した恒温条件の紅色米麹液と比べ, 抗酸化活性が低く, 白色紅麹米麹は恒温条件と同程度であったが, 高い抗酸化活性を示した. 恒温条件, 温度変化条件下における紅麹米麹の色調結果より, 低い抗酸化活性を示した35°C16時間培養後, 20°C, 25°Cで8時間培養した紅麹米麹の色調は高い抗酸化活性を示した恒温条件で培養した色調に比べ, 紅色の米麹が多く確認されたことから, 35°C16時間培養後, 20°C, 25°Cで8時間培養した紅麹米麹は紅色色素が生成されやすい, 菌糸の生育に適した環境であり, 抗酸化物質の産生が少なかったため, 抗酸化活性が低い結果であったと考えられる.

恒温条件紅麹米麹, 温度変化条件紅麹米麹ではそれぞれ紅色米麹上清液, 白色米麹上清液の違い, 培養温度の違いによって抗酸化活性の傾向が異なっていたが, 高い抗酸化活性を示した紅麹米麹上清液は共通し, 紅色の米麹よりも白色から薄黄色の米麹の形成が確認され, 薄い色調の紅麹米麹であった.

紅麹色素の抗酸化活性は色素ごとに異なり, その中でも黄色系の色素は高い抗酸化活性を示すことが報告されている¹²⁾. 本研究においても酸化阻害率が高値を示した条件は, 恒温条件, 温度変化条件下における紅麹米麹の色調において他の25, 30°Cの培養温度条件に比べ, 芳しい紅色色素米麹の形成が確認されず, 白色から薄黄色の米麹の形成が確認された

条件であり、紅色色素米麴の形成が難しく白色色素米麴を形成する条件の紅麴米麴が、高い抗酸化活性を有することが示唆された。また、白色米麴は8時間の培養温度が高くなるにつれ、抗酸化活性が増加する傾向が確認された。

紅色色素米麴の形成が抑制され、白色から薄黄色色素の米麴の形成された紅麴米麴の温度条件は20℃および35℃で24時間培養を行った条件、また20℃で16時間培養を行った条件であった。これらは紅麴にとって他の培養条件よりも米麴の形成が難しい環境であり、さらなる形成の妨げとなる酸化を阻害する必要のため、高い抗酸化活性を有する白色から薄黄色の米麴を培養とともに形成し、高い抗酸化阻害率を有していたと考えられる。

本研究において、各温度条件で培養した紅麴米麴から紅色米麴上清液と白色米麴上清液に分けて抗酸化活性を比較した場合、必ずしも白色米麴上清液が高い抗酸化活性を有していたことはなく、各培養条件により、高い抗酸化活性を有していた色素ごとの紅麴米麴上清液は異なっていた。しかし、高い抗酸化活性を有していた紅麴米麴上清液は紅麴米麴の色調が他の紅麴米麴より薄く、紅色色素米麴より白色から薄黄色の米麴の形成が確認された紅麴米麴から調製した上清液であった。

紅麴は鮮やかな紅色を呈することが困難であり、培地成分の検討が行われているが、本研究の結果より、培養温度を変化させることによって、紅色を呈する紅麴米麴の条件は25℃あるいは30℃で24時間培養、30℃で16時間培養後、25℃で8時間培養、あるいは35℃で16時間培養後、20℃あるいは25℃で8時間培養した温度条件が適していることが示唆された。一方で、紅色が薄く、白色から薄黄色の紅麴米麴が形成された条件は、20℃あるいは35℃で24時間培養、20℃で16時間培養後、35℃で8時間培養した温度条件であり、高い抗酸化活性を有していた。紅麴色素の中でも黄色系色素は高い抗酸化作用を有する¹²⁾ことから、培養温度を変更し、生育した紅麴米麴においても、紅色を呈せず、白色から薄黄色の生育が確認された培養温度条件では、高い抗酸化活性を有する可能性が示唆された。このことから紅麴米麴の色素生産および抗酸化活性は培養温度によって変化することが明らかとなり、すでに報告されている培地成分の条件のほか、培養温度が紅麴

の色素生産に影響を及ぼすことが初めて示唆された。

参考文献

- 1) 谷村和八郎：アジアの発酵食品事典，樹村房，p.5, p.116 (2001)
- 2) 安田正昭：沖縄の伝統発酵食品—豆腐よりの歴史，発酵と機能性．マイコトキシン研究会63巻1号：67-72, (2013)
- 3) Endo, A. : Monacolin, K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-methylglutaryl coenzyme a reductase, J. Antiotics., 33, 334-336 (1980).
- 4) Kohama Y, Matsumoto S, Mimura T, et al : Isolation and Identification of Hypotensive Principles in Red-Mold Rice, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Volume 35, Issue 6: 2484-2489 (1987)
- 5) 中西久治, 照屋輝一, 小山智之ら：紅麴の抗酸化作用に関する研究, 南方資源利用技術研究会誌, Vol.12, No.1: 1-4, (1996)
- 6) 西谷真人, 稲垣雅：健康維持・補完代替医療素材としての紅麴. 日本補完代替医療学会誌第6巻第2号：45-51, (2009)
- 7) 小泉武夫：麴カビと麴の話, 光琳, p.54, pp.119-120, (2001)
- 8) 高橋真美, 松本孝, 此木成夫：紅麴菌 (*Monascus anka* sp.) の色素生産性に及ぼす米デンプンの効果. 日本食品科学工学会, 51 (2) : 67-71, (2004)
- 9) 高橋真美, 松本孝, 森高初恵：紅麴菌 (*Monascus anka* AHU9085) の色素生産性に及ぼす窒素源の効果. 日本栄養・食糧学会誌62巻1号：19-23, (2009)
- 10) 中西久治, 照屋隆司, 石川達ら：紅麴菌による黄色色素の生産とその性質の検討. 南方資源利用技術研究会誌, Vol.11, No.1 : 9-14, (1995)
- 11) 前田剛希, 比嘉賢一, 平良淳誠：紅麴米発酵物飲料の発酵条件による色調と色素組織変化. 日本食品科学工学会誌, 54 (9) : 401-405, (2007)
- 12) Wu L, Zhou K, Chen F, et al: Comparative Study on the Antioxidant Activity of *Monascus* Yellow Pigments From Two Different Types of *Hongqu*-Functional Qu and Coloring Qu. Front Microbiol, 12, 715295 (2021)
- 13) Chen W, Chen R, Liu Q, et al: Orange, red, yellow: biosynthesis of azaphilone pigments in *Monascus* fungi. Chem Sci., 8 (7), 4917-4925 (2017)
- 14) 谷村顕雄, 片山修, 遠藤英美ほか：天然着色料ハンドブック, 光琳, pp444-458 (1979)

- 15) Lagashetti AC, Dufossé L, Singh SK, et al: Fungal Pigments and Their Prospects in Different Industries. *Microorganisms.*, 7 (12), 604 (2019)
- 16) Fukami H, Higa Y, Hisano T, et al: A Review of Red Yeast Rice, a Traditional Fermented Food in Japan and East Asia: Its Characteristic Ingredients and Application in the Maintenance and Improvement of Health in Lipid Metabolism and the Circulatory System. *Molecules*, 26 (6) : 1619 (2021)

原 著

エノキタケTR-19によるアルコールの生成 Production of alcohol by *F. velutipes* TR-19

鮫島 由香^{1), 6)}, 竹本 尚未²⁾, 佐々木 裕子³⁾, 小森 有紀⁴⁾

山口 真弥⁵⁾, 松井 徳光^{4), 6)*}

Sameshima yuka^{1), 6)}, Takemoto naomi²⁾, Sasaki hiroko³⁾, Komori yuki⁴⁾

Ymaguchi sinyu⁵⁾, Matsui tokumitsu^{4), 6)*}

ランニングタイトル：きのこによるアルコールの生成

Keywords：エノキタケ，アルコール脱水素酵素，ワイン

要 旨

酵母の有するエチルアルコール脱水素酵素（ADH）は、エチルアルコール酸化およびアセトアルデヒド還元の一反応に関与し、分子量は150 kDaであることが報告されている。これまでに、担子菌はエチルアルコールを生成することが明らかにされているが、アセトアルデヒド還元反応に関与するADHの存在については報告されていない。本研究では、アセトアルデヒド還元活性を有するADHの存在を明らかにし、ワインの生産を試みた。エノキタケの粗酵素液においてNative-PAGE後のADH活性染色の結果、ポリアクリルアミドゲル上にてアセトアルデヒド還元活性を有するADHおよびエチルアルコール脱水素活性を有するADHの染色バンドが確認された。今回検討した糖濃度、発酵期間において最も高いアルコール生成が認められたのは、糖度15%（w/v）、発酵期間5週間であった。菌糸体重量とアルコール濃度の関係からアルコールの生成には、一定量の菌糸が必要であることが示唆された。

英文要旨

The production of ethyl alcohol by mushrooms has been elucidated. However, the existence of alcohol dehydrogenase (ADH) that produces ethyl alcohol remains unclear. The purpose of this study was to clarify the presence of ADH that produces ethyl alcohol or ADH that decomposes ethyl alcohol in mushrooms. Furthermore, we tried to prepare wine using ADH of mushrooms. As a result of ADH activity staining after native-PAGE in the crude enzyme solution of mushroom, the staining bands of ADH that decomposes ethyl alcohol and ADH that produces ethyl alcohol were confirmed on the polyacrylamide gel. In wine of mushroom, the highest alcohol production was observed with a sugar content of 15% and a fermentation period of 5 weeks under conditions in this study. The relationship between mycelial weight and alcohol concentration suggested that a certain amount of mycelia was required for alcohol production.

1) 羽衣国際大学人間生活学部食物栄養学科

〒592-8344 大阪府堺市西区浜寺南町1-89-1

2) 武庫川女子大学生活環境学研究所食物栄養学専攻

〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

3) 甲子園大学栄養学部栄養学科

〒665-0006 兵庫県宝塚市紅葉ガ丘10-1

4) 武庫川女子大学食物栄養科学部食物栄養学科

〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

5) 中野市農業協同組合

〒383-0043 長野県中野市大字三ツ和1031-1

6) 武庫川女子大学栄養科学研究所

〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

* 責任著者. tokamura@mukogawa-u.ac.jp

緒言

酒税法によるアルコール飲料製造の発酵様式には大きく分けて2種類あり複発酵と単発酵が知られている¹⁾。複発酵とは、発酵の過程で糖化を必要とするものであり、麦芽の有するアミラーゼにより麦芽に含まれるデンプンなどの糖化を行った後、酵母によりアルコール発酵をするビール、コウジカビの有するアミラーゼにより、米のデンプンの糖化を行った後、酵母によるアルコール発酵を行う清酒などがある。一方、単発酵とは発酵の過程で糖化を必要とせず、酵母によるアルコール発酵のみで製造される発酵様式であり、代表的なものにワインがあげられる。ワインは主にブドウを原料とし、酵母の一種である *Saccharomyces cerevisiae* のアルコール発酵により製造されている²⁾。アルコール発酵能を有する酵母は、原料中のブドウに含まれている NAD^+ を補酵素としグルコースやフルクトースからピルビン酸およびアセトアルデヒドを経てアルコール脱水素酵素 (ADH) によりアセトアルデヒドが還元されエチルアルコールを生成することが知られている。酵母の有するADHは、前述のようなアセトアルデヒド還元活性を有するADHとエチルアルコールを脱水素反応により酸化し、アセトアルデヒドを生成するADHの存在が知られており、両者はアイソザイムであることが報告されている³⁾。

一方、これまでに松井らは担子菌の発酵能による発酵食品においてタモギダケ、マツタケ、アガリクス茸などの担子菌においてエチルアルコール脱水素活性を示すADHの存在について明らかにしており、アセトアルデヒド還元活性を有するADHについては詳細に検討していないものの、これらの担子菌を用いたアルコール飲料の生産について報告している⁴⁻⁶⁾。一方、担子菌の中でも食用として広く流通しており、含有成分において血圧降下作用⁷⁾や脂肪吸収抑制作用⁸⁾が明らかにされているエノキタケについて、アセトアルデヒド還元活性を示すADHおよびワイン生産は報告されていない。

そこで本研究では、エノキタケの有するADHの解明を試みると共に、応用としてワインを生産し、アルコール生成の継時的変化について推察した。

方法

1. 供試菌株と培養方法

エノキタケの菌株TR-19は中野市農業協同組合から提供を受けた。供試菌株の前培養にはポテトデキストロース寒天培地（日水製薬株式会社製）を使用した。TR-19の菌糸を平板培地に接種し、25℃、10日間培養した。

300 mL容三角フラスコに、マルトエキス（ナカライテスク社製）4.0 gを入れ、水道水200 mLを加え、オートクレーブ（121℃、20分）滅菌した。平板培地で生育したTR-19の菌糸を5 mm角に切断し、5片ずつ接種後、25℃、2週間回転振とう培養を行った。

培養後、菌糸を取り出し水気を切った後、2 mLのチューブに1.5 g採集し水中にて超音波破碎機を用いて10分間破碎（on time 30秒、off time 30秒）後、遠心分離（15000 rpm、4℃、10分）し、上清液を粗酵素液とした。

2. 電気泳動法およびADH活性染色

ポリアクリルアミド電気泳動（Native-PAGE）および活性染色は中村らの方法に従って実施した⁹⁾。分離ゲルと濃縮ゲルのゲル濃度はそれぞれ7.5%と3.1%とした。1 wellに分子量マーカーおよび粗酵素液を各10 μL アプライした組み合わせを1セットとし、9.0 cm $\times$ 6.5 cmの平板ゲル1枚中に3セットアプライし、20 mA、25℃にて1.5時間泳動した。分子量マーカーには、ワイドビューTMプレステインたん白質サイズマーカーⅢ（富士フイルム和光純薬株式会社製）を用いた。泳動終了後、ゲルを1セットごとの組み合わせになるよう3枚に切り分け、エチルアルコール脱水素活性を示すADHおよびアセトアルデヒド還元活性を有するADHの活性染色、ならびに、コマジープリリアントブルーR-250（ナカライテスク株式会社製）により染色（CBB染色）を行った。エチルアルコール脱水素活性を示すADHの検出に使用する活性染色液は、20 mMエチルアルコールおよび0.1 mMフェナジンメトサルフェート、2.5 mM ニトロブルーテトラゾリウムおよび0.5 mM β - NAD^+ を含む50 mM Tris-HCl Buffer (pH 8.5) を用い、アセトアルデヒド還元活性を有するADHの検出に使用する活性染色液は、20 mMアセトアルデヒドおよび0.1 mMフェナジン

メトサルフェート, 2.5 mM ニトロブルーテトラゾリウムおよび0.5 mM NADHを含む50 mM Tris-HCl Buffer (pH 8.5) を用いた。両ADHの活性染色は遮光下にて30°C, 18時間緩く振とうしながら行い, CBB染色は25°C, 18時間緩く振とうしながら行った。

粗酵素液中のタンパク質量は, 牛血清アルブミンを標準タンパク質としてプロテインアッセイBCAキット (富士フイルム和光純薬株式会社製) を用いて算出した。

3. TR-19ワイン生産の基礎的検討

ワインの生産に使用したブドウ果汁液は赤ブドウ果汁液 (株式会社木村商店, 大阪府) を用いた。水酸化ナトリウム溶液を用いてpH 5.6に調整後, 蒸留水で希釈し糖濃度を5, 10, 15% (w/v) とした後, 100 mLを200 mL容三角フラスコに入れ, オートクレーブ (121°C, 20分) 滅菌を行った。平板培地に生育したTR-19の菌糸を5 mm角に切断したものを, 各フラスコに5片ずつ接種後, 25°C, 7週間回転振とう培養を行った。

4. エチルアルコール濃度の測定

エチルアルコール濃度の測定はHPLCを用いて行った。HPLCは送液ポンプにDP-8020 (東ソー), 検出器にRI-8020 (東ソー) を使用し屈折率の差により検出した。カラムはTSKgel Oapak-A (7.8 mm D. I. × 30.0 cm, 東ソー), 移動相には超蒸留水を用い, 流速は1 mL /分で行った。

試料中のエチルアルコールの濃度 (v/v) は, エチルアルコールの標品を用いて得られたピーク面積とエチルアルコール濃度 (v/v) の検量線より求めた。

5. 糖濃度の測定

ブドウ果汁液およびワインの糖濃度 (w/v) は, ポケット糖度計PAL-1 (ATAGO社製) を用いて測定した。

6. 菌糸体重量の測定

発酵開始から7週間経過したフラスコ中のワインをろ過し, 十分に水気が出なくなったことを確認した後, 残った菌糸体の重量を電子天秤を用いて測定した。

7. 統計解析

各糖濃度に調整したブドウ果汁液の発酵により得られた菌糸体重量の平均値の差の検定を一元配置分散分析により行った後, TukeyのHSD法による多重比較検定を行った。有意水準は5%未満とした ($n = 3$)。なお, 統計ソフトはSPSS (Version.26.0.0.1) を用いた。

結果

1. エチルアルコール脱水素活性を示すADHおよびアセトアルデヒド還元活性を示すADHの検出

TR-19粗酵素液のエチルアルコール脱水素活性を有するADHおよびアセトアルデヒド還元活性を示すADHの活性染色ならびにCBB染色の結果を図1に示した。エチルアルコール脱水素活性を有するADHの活性染色 (図1A) では180 kDa付近に青色 (白黒写真のためバンドは灰色) のADHの活性染色バンドおよび135 kDa付近に白色のバンド (白黒写真のためゲルは灰色, バンドは白) も観られた。アセトアルデヒド還元活性を有するADHの活性染色液を用いて活性染色 (図1B) を行ったところ, 青色 (灰色) の活性染色バンドは観察されず, 135 kDa付近に白色のバンドのみが観られた。CBB染色 (図1C) においては, 75, 135, 180 kDa付近にバンドが検出された。なお, それぞれのADHの分子量は, 用いた分子量マーカーに基づき推定した。1 wellあたりの粗酵素液中のタンパク質量は35.5 μ gであった。

2. アルコール濃度および糖濃度の測定

ブドウ果汁液の糖濃度を5, 10, 15% (w/v) に調整し, それぞれの糖度の果汁液をエノキタケTR-19の菌糸により発酵させワインを生産した。それぞれのワインのアルコール濃度および糖度の経時変化を測定した結果を図2a, b, cに示した。

ブドウ果汁の糖濃度を5% (w/v) に調整しワイン生産を行った条件についてはエチルアルコールの生成が認められなかった。糖濃度は発酵期間中減少を続け, 7週間経過時点で培養開始時より1.5% (w/v) 減少した (図2a)。

ブドウ果汁液の糖濃度を10, 15% (w/v) に調整しワイン生産を行った条件においてはどちらもエチルアルコールの生成が認められた (図2b, c)。ブド

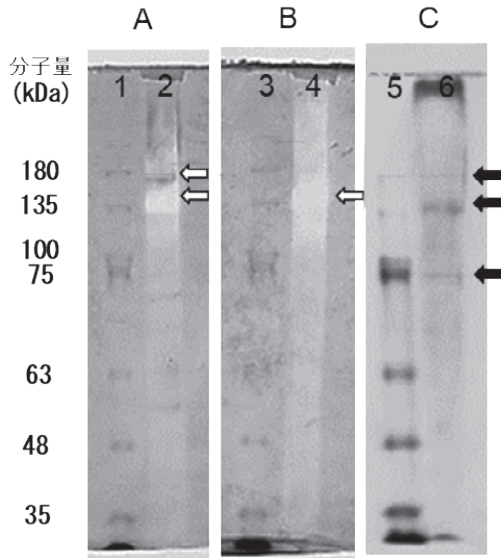


図1 Native-PAGE後のADH活性染色およびCBB染色
Native-PAGE後のゲルを以下の3種類の染色方法により染色を行った。A：エチルアルコール脱水素活性を示すADHの活性染色，B：アセトアルデヒド還元活性を示すADHの活性染色，C：CBB染色。レーン1, 3, 5：分子量マーカー，レーン2, 4, 6：TR-19粗酵素液。白矢印はエチルアルコール脱水素活性を有するADHまたはアセトアルデヒド還元活性を有するADHのバンド，黒矢印はCBB染色によるバンドを示す。なお，粗酵素液中のタンパク質量は35.5 μg / wellであった。

ウ果汁液の糖濃度を10% (w/v) に調整しワイン生産を行った条件についてはブドウ果汁液の糖濃度を5% (w/v) に調整しワイン生産を行った条件と同様に発酵期間中，糖濃度が減少を続け，7週間経過時点で，培養開始時よりも3.8% (w/v) 減少した。発酵開始から7週目において最もエチルアルコールを生成しており，その濃度は $2.3 \pm 0.05\%$ (v/v) であった (図2b)。

ブドウ果汁液の糖濃度を15% (w/v) に調整しワイン生産を行った条件については，糖濃度が発酵開始1週目から2週目にかけて減少，2週目から3週目にかけて増加し，その後，緩やかに減少する傾向がみられた。7週間経過時点で，糖濃度は，培養開始時と比べて2.5% (w/v) 減少した。発酵開始から5週間目において，今回ワイン生産を行った条件の中で最も高いエチルアルコール濃度を示し $5.8 \pm 0.07\%$ (v/v) であった (図2c)。

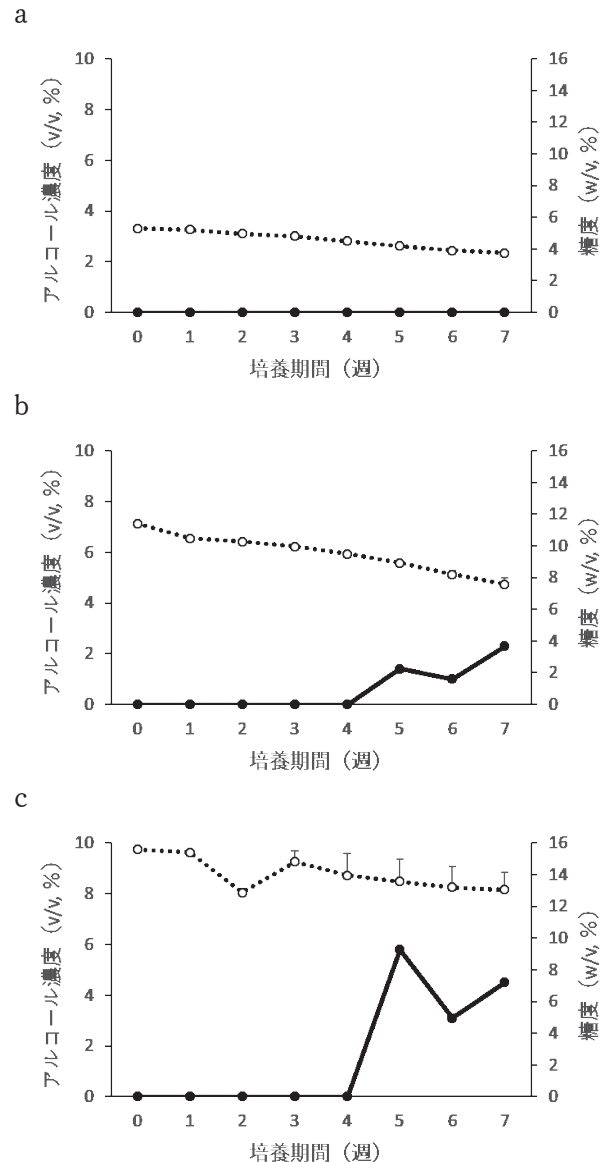


図2 エチルアルコール生産および糖濃度におけるタイムコース

a：糖濃度5% (w/v) ブドウ果汁液，b：糖濃度10% (w/v) ブドウ果汁液，c：糖濃度15% (w/v) ブドウ果汁液。実線はエチルアルコール濃度，点線は糖濃度，エラーバーは平均 $\pm$ 標準偏差 ($n = 3$) を示す。

3. 菌糸体重量

ブドウ果汁液の糖濃度を5, 10, 15% (w/v) に調整しTR-19により7週間発酵させたワイン中の菌糸体の重量を図3に示した。それぞれのワインより得られた菌糸体の重量は 20.7 ± 3.65 g, 37.0 ± 5.70 g, 35.9 ± 4.52 gであり，ブドウ果汁液の糖濃度を5% (w/v) に調整し発酵を行ったワイン中の菌糸体重量と比較して，ブドウ果汁液の糖濃度を10, 15% (w/v) に調整し発酵を行ったワイン中の菌糸体重量が有意に高値を示した。なお，それぞれの p 値は0.013, 0.017であった。

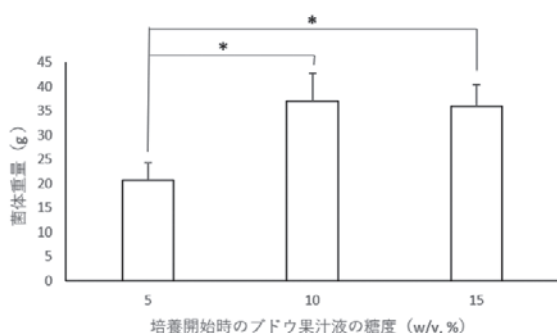


図3 培養後の菌糸体重量

エラーバーは平均±標準偏差 ($n = 3$) を示す。一元配置分散分析の後、TukeyのHSD法により多重比較検定を行った。*は有意水準5%において差があることを表す。

考察

これまでに酵母が有する NAD^+ を補酵素とするADH (EC.1.1.1.1) の反応機構はエチルアルコール + $\beta\text{-NAD}^+ \rightleftharpoons$ アセトアルデヒド + $\text{NADH} + \text{H}^+$ (水素イオン) であるとされており、アセトアルデヒド還元に関与するADHとエチルアルコール酸化に関与するADHはアイソザイムの関係にあり、両者の分子量もほぼ同一であることが報告されている。さらに、エチルアルコール脱水素活性を有するADHについては、PavolらによりNative-PAGE後のADH活性染色が行われ、分子量は150 kDaであることが報告されている¹⁰⁾。

エチルアルコール脱水素活性を有するADHの活性染色¹¹⁾においては、エチルアルコールからアセトアルデヒドを生成する反応に伴い、 $\beta\text{-NAD}^+$ が $\text{NADH} + \text{H}^+$ に変化することで発生する水素イオンをフェナジンメトサルフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムテトラゾリウムが連鎖反応的に受け取り、ニトロフェノールブルーテトラゾリウムが還元されることで青色のホルマザンに変化する。したがって、エチルアルコール脱水素活性を有するADHがゲル上に存在すると、一連の反応によりADHの存在部位に青色の活性染色バンドとなって現れる¹²⁾。また、長時間反応させることにより活性染色液中に含まれる反応に使用されなかったエチルアルコールも、ゲル上に存在するADHにより徐々にアセトアルデヒドへと変化し、 NADH および水素イオンを生成する。この水素イオンについてもフェナジンメトサルフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムが連鎖反応的に受け取り活性染色液も青く変化するためゲルが薄く青く染色 (薄い灰色) される。TR-19において、180 kDa付近に青色 (灰色)

の活性染色バンドが検出された (図1A) ため、エチルアルコール脱水素活性を有するADHが存在することが推察された。さらに、酵母のエチルアルコール脱水素活性を有するADHの分子量が150 kDaであることからTR-19のエチルアルコール脱水素活性を有するADHとは分子量が異なる可能性が示唆された。

一方、アセトアルデヒド還元活性を有するADHの活性染色においては、活性染色液中に存在するアセトアルデヒド、 NADH 、水素イオンのうち水素イオンをフェナジンメトサルフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムが連鎖反応的に受け取ることによりゲル全体が薄い青色に染色される。この際、アセトアルデヒド還元活性を有するADHが存在する場合、アセトアルデヒドからエチルアルコールへの生成反応に伴い NADH および水素イオンが消費される。その結果、フェナジンメトサルフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムへの連鎖的な水素イオンの受け渡しが起こらないためアセトアルデヒド還元活性を有するADHの存在部位は青く染色されず、白色のバンドが形成される¹²⁾。TR-19において、135 kDa付近に白色の活性染色バンドが検出された (図1B) ため、アセトアルデヒド還元活性を有するADHの存在が推察され、酵母のアセトアルデヒド還元活性を有するADHの分子量は150 kDaであることからTR-19のアセトアルデヒド還元活性を有するADHとは分子量が異なる可能性が示唆された。

エチルアルコール脱水素活性を有するADHの検出の際に、青色の活性染色バンドのみならず白色のバンドも確認された (図1A)。この原因として、TR-19には、エチルアルコール脱水素活性を有するADHおよびアセトアルデヒド還元活性を有するADHのそれぞれの活性を示すADHが存在し (図1A, B)、薄く青く染色されたゲル上において、エチルアルコールの脱水素反応が起こる部位では青色の活性染色バンドが現れ、アセトアルデヒドの還元反応が起こる部位では、白色のバンドとして現れたためであると推察された。活性染色を行った1枚のゲル上に両ADHの活性染色バンドが現れたことから (図1A)、TR-19の有するADHは、酵母が持つ両反応に関与するADHとは分子量が異なり、それぞれのADHの分子量も異なることが示唆された。

TR-19を用いてワインの生産を試みた。ブドウ果汁液の糖濃度を5% (w/v) に調整し培養を行ったワインにおいてはエチルアルコールの生成が認められず、培養期間中は糖濃度が減少を続け、開始時と比較して1.5% (w/v) 減少した (図2a)。ブドウ果汁液の糖濃度を10, 15% (w/v) に調整し培養を行ったワインにおいては培養開始から4週間目の時点でエチルアルコールの生成が確認されはじめ、糖濃度は、培養開始時から3週間目にかけて1.0% (w/v) 程度減少し、その後さらに減少がみられた (図2b, c)。

ブドウ果汁液の糖濃度を5% (w/v) に調整し発酵を行ったワインの中の菌糸体重量は 20.7 ± 3.65 gであり、ブドウ果汁液の糖濃度を10, 15% (w/v) に調整し発酵を行った菌糸体重量と比較して有意に低値を示した (図3)。

これらのことから、ブドウ果汁液中の糖濃度を5% (w/v) に調整したワインについてアルコール生成が認められなかった原因として、ブドウ果汁液中の糖はTR-19 菌糸の生育の用途に使用したためではないかと推察された。また、ブドウ果汁液中の糖濃度を10, 15% (w/v) に調整したワインにおいては、発酵開始3週目までは1.0% (w/v) 程度の糖濃度の減少がみられ、発酵開始4週目以降においてアルコールを生成していることから、アルコールの生成のためには、ある程度の菌糸の成長が必要であることが明らかとなった。

アルコールを生成したワインにおいてアルコール濃度の増減が観られた要因として、ADH活性染色の項目でも述べたように、TR-19の菌糸中にはエチルアルコール脱水素活性を有するADHおよびアセトアルデヒド還元活性を有するADH、つまりエチルアルコールを分解するADHおよびエチルアルコールを生成するADHの両方が存在していることによるものであると推察される。2種類のADHの存在により徐々にブドウ果汁液中の糖を消費しながら、エチルアルコールの分解と生成を繰り返したため、見かけ上のエチルアルコール濃度が示されたものであると考えられる。

以上のことから、本論文では、これまでにエノキタケにおいて報告されていなかった2種のADHの存在について示し、ワインの生産が可能であることを明らかにした。今後、ワイン生産における最適条

件やワイン生産時における菌糸体の重量とアルコール生産量の関係についてはさらに検討する必要がある。

参考文献

- 1) 徳岡昌文：成分から見た清酒のオリジナリティーとは。生物工学会誌100：452, 2022
- 2) John Clifton Ayres, Josephine Oriven Mundt and William E. Sandine : Alcoholic yeast fermentations. Microbiology of Foods : 147-179, 1980
- 3) 藤井孝明：アルコールと微生物ならびにその酵素。Jpn. J. Food. Microbiol. 7 : 137-150, 1991
- 4) Tokumitsu Okamura, Tomoko Ogata, Mashiho Toyoda et al. : Production of sake by mushroom fermentation. Mushroom Sci. and Biotech. 8 : 109-114, 2000
- 5) Tokumitsu Okamura, Tomoko Ogata, Norie Minamoto et al. : Characteristics of wine produced by mushroom fermentation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 65: 1596-1600, 2001
- 6) Tokumitsu Okamura-Matsui, Tomomi Tomoda, Shoko Fukuda et al. : Discovery of alcohol dehydrogenase from mushrooms and application to alcohol beverages. J. Mol. Catal. B : Enzymol. 23 : 133-144, 2003
- 7) 西井孝文：ハタケシメジの血圧降下作用をはかる。森林科学47 : 66, 2006
- 8) 宮澤 紀子, 栗原 昭一, 浜屋 忠生 ほか：肥満モデル動物におけるキノコキトサンの抗肥満効果。日本きのこ学会誌21, 30-35, 2013
- 9) 日本生化学会編：日本生化学会編基礎生化学実験法3, 東京化学同人, 84-106, 2001
- 10) Pavol Utekal, Csaba Toth, Aniko Illesova, et al. : Expression of soluble *Saccharomyces cerevisiae* alcohol dehydrogenase in *Escherichia coli* applicable to oxido-reduction bioconversions. Biologia. 69 : 722-726, 2014
- 11) 駒形和男 編：微生物の化学分類実験法。学会出版センター, p194-196, 1985
- 12) 露木あかね, 飯野久和, 松本孝, *Bifidobacterium bifidum*の乳酸脱水素酵素。学苑・生活科学紀要, 806 : 50-55, 2007

トピックス

栄養サポートステーションコロナ禍におけるトピックス

鞍田 三貴

武庫川女子大学栄養科学研究所 栄養支援科学部門

武庫川女子大学・栄養科学研究所栄養サポートステーション（Nutrition Support Station：以下、NSS）は2011年より開設し、11年が経過しました。この間に多くの学生が患者さんと積極的に関わり、今ではNSSの経験を活かして社会で活躍しています。NSSでは、管理栄養士、医師、看護師、院生、学生によるチームで、大学近隣の開業医院や病院と連携し栄養支援を行っています。患者さんの体組成、握力、歩行速度などの身体計測、食事摂取量評価を継続的に行い、糖尿病や脂質異常症、癌の術後、脂肪肝など疾病をもつ方の合併症予防、サルコペニア、ロコモ、フレイル予防に貢献してきました。

サルコペニアは、骨格筋量の減少と筋力もしくは身体機能が低下した状態と定義されていますが、加齢が加わると、体脂肪量、除脂肪体重ともに減少し、内臓脂肪は増加します。また、年齢に関係なく、内臓脂肪の蓄積と筋肉量の減少を伴うメタボリックシンドロームに基づく二次性サルコペニアもあります。

ロコモティブシンドローム（ロコモ）は、運動器（骨・関節・筋肉・神経など運動するために必要なからだのしくみ）の障害のために移動機能の低下をきたした状態をいいます。

フレイルとは「加齢に伴い身体の予備能力が低下し、健康障害を起こしやすくなった状態」であり、いわゆる「虚弱状態」です。言い換えると、介護が必要になる前の段階です。図に示すとおり、認知機能の衰えなどの精神・心理的問題、独居や経済的困窮などの社会的問題などが加わるとフレイルの引き金にもなりかねません。

2022-2023糖尿病治療ガイドには、糖尿病患者の寿命とQOLの維持を目指すために、サルコペニアおよびフレイルの予防・管理することの重要性が示されています。2型糖尿病の方は、全身のインスリン利用率は健常者の約半分であり、骨格筋でのインスリン利用効率が低下していますので、健常者と比べてサルコペニアの危険性が高まります。

現在、様々な2型糖尿病経口血糖低下薬が発売されています。その中で、2014年にインスリン分泌に関わらず血糖値を低下させるSGLT2（SGLT: sodium-glucose cotransporter）阻害薬が発売されました。このお薬は、尿中におおよそ60-80gの糖を排泄させることで、血糖値が低下します。また、利尿作用もあることから心・腎保護作用が認められており、心・腎疾患にも用いられるようになりました。SGLT2阻害薬は、糖新生の活性化によって脂肪が分解されることで体脂肪、体重の減少が認められますが、糖新生は脂肪だけでなく、筋肉のたんぱく質の分解で生じるアミノ酸も利用するためサルコペニアを引き起こす危険性もあります。

SGLT2阻害薬服用後およそ1年間の検討は多くありますが、服用前後を含む長期間の栄養評価はまだ不明です。そこで、NSSを長期間継続して利用している2型糖尿病の方の長期栄養評価を行いました。今回はその結果を紹介し食事療法の重要性をお示ししたいと思います。

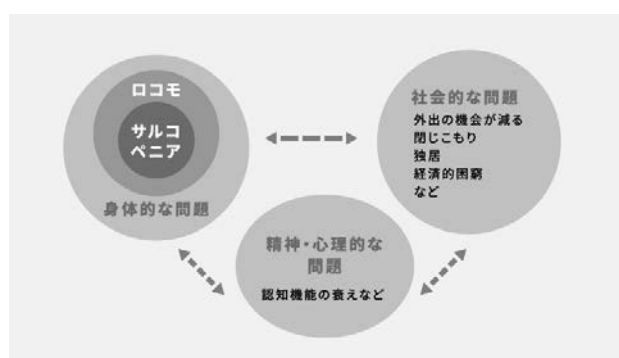


図1 サルコペニア・ロコモ・フレイルの関係

トピックス

親子栄養支援事業 地域小学生を対象とした活動の報告 （栄養クリニックと食育・人材育成研究部門の連携）

岸本 三香子

武庫川女子大学栄養科学研究所 食育・人材育成研究部門

親子栄養支援事業 地域小学生を対象とした活動についてご報告いたします。私は、栄養科学研究所の食育・人材育成研究部門に所属し、子どもの健やかな成長とそれに関わる生活習慣・食習慣・生活リズムをテーマに調査・研究をすすめています。本日は、栄養科学研究所の他部門である栄養クリニックと連携した、地域の小学生を対象とした栄養支援事業を実施しましたのでご報告いたします。

1. 食育を推進する施策
2. 第4次食育推進基本計画
3. 栄養科学研究所での取り組み

「さつまいも料理・親子食育教室」

1. 食育を推進する施策

食育に関心がある人の割合は増加しています（H27：75.0％、R2：83.2％）。食育の実践と連携は確実に進展し、地域と連携した食育活動に取り組む組織・団体は増加している状況にあります。栄養の偏りや不規則な食事などによる肥満や、それらが原因と考えられる生活習慣病の増加がみられます。また、若い女性を中心にみられる過度のダイエット志向に加え、高齢者の低栄養傾向等の健康面での問題も指摘されているところです。こうした問題を解決する重要な役割を果たすのが食育です。食育で育てたい「食べる力」、生涯にわたって「生きる力」を育むことが重要とされています。

平成17年に食育基本法が、同基本法の中で食育推進基本計画を定めることが決まりました。食育基本法は、食育に関し、基本理念を定め、国、地方公共団体等の責務を明らかにするとともに、国民が生涯にわたって健全な身体を培い、豊かな人間性を育

むことができるよう、食育を総合的かつ計画的に推進し、もって現在及び将来にわたる健康で文化的な国民の生活と豊かで活力ある社会の実現に寄与することを目的としました。法律の前文では、「食育は、生きる上での基本であって、知育、徳育、及び体育の基礎となるべきものと位置付けるとともに、様々な経験を通じて「食」に関する知識と「食」を選択する力を習得し、健全な食生活を実践することができる人間を育てる食育を推進することが求められている」こととされています。特に、「子どもたちに対する食育は、心身の成長及び人格の形成に大きな影響を及ぼし、生涯にわたって健全な心と身体を培い豊かな人間性をはぐくんでいく基礎となるものである」と規定しています。食育推進基本計画では、過去5年間の食育に関する取組の成果と課題を踏まえて、おおむね5年ごとに改定し、食育を国民運動として推進するための定量的な目標を掲げています。この食育推進基本計画は、現在は、2021（令和3）年度から5年間の方針を定めた「第4次食育推進基本計画」に至っています。この計画により、都道府県は、「都道府県食育推進計画」を、市町村は、「市町村食育推進計画」を作成することになっています。

2. 第4次食育推進基本計画

（重点事項1）生涯を通じた心身の健康を支える食育の推進、（重点事項2）持続可能な食を支える食育の推進、（重点事項3）「新たな日常」やデジタル化に対応した食育の推進 の3つの重点項目を柱に、SDGs（持続可能な開発目標）の考え方を踏まえ、食育を総合的に推進します。

目標は16項目であり、目標値を設定して取り組みます。

- (1) 食育に関心を持っている国民を増やす
- (2) 朝食又は夕食を家族と一緒に食べる「共食」の回数を増やす
- (3) 地域等で共食したいと思う人が共食する割合を増やす
- (4) 朝食を欠食する国民を減らす
- (5) 学校給食における地場産物を活用した取組等を増やす
- (6) 栄養バランスに配慮した食生活を実践する国民を増やす
- (7) 生活習慣病の予防や改善のために、ふだんから適正体重の維持や減塩等に気をつけた食生活を実践する国民を増やす
- (8) ゆっくりよく噛んで食べる国民を増やす
- (9) 食育の推進に関わるボランティアの数を増やす
- (10) 農林漁業体験を経験した国民を増やす
- (11) 産地や生産者を意識して農林水産物・食品を選ぶ国民を増やす
- (12) 環境に配慮した農林水産物・食品を選ぶ国民を増やす
- (13) 食品ロス削減のために何らかの行動をしている国民を増やす
- (14) 地域や家庭で受け継がれてきた伝統的な料理や作法等を継承し、伝えている国民を増やす
- (15) 食品の安全性について基礎的な知識を持ち、自ら判断する国民を増やす
- (16) 推進計画を作成・実施している市町村を増やす

3. 栄養科学研究所での取り組み

「さつまいも料理・親子食育教室」

本事業は西宮市保健所と栄養支援科学部門の栄養クリニックと食育・人材育成研究部門の連携により進めました。「さつまいも料理・親子食育教室」は、クリニック部門が料理教室を、食育・人材育成研究部門が食育教室を実施し、栄養科学研究所がさつまいもの栽培を、また、すでに構築している社会福祉協議会などとのネットワークを活用して人材を支援いただきました。9月に地域の小学校を通して募集を開始し、10月にさつまいも堀り、11月と12月の2回に分けてさつまいも料理・親子食育教室を実施

しました。いも堀りに参加したのは20人、料理教室・食育教室は30組でした。①さつまいも堀りについては、子どもだけの参加とし、いも堀りに加え、大根畑で大根の間引き、柿取りにも挑戦しました。さつまいもが掘れた時には、その大きさに歓声が上がりました。②収穫したさつまいもを使った料理教室では、さつまいもをフォークでつぶしたり、一口大に丸めたり、熱心に取り組む様子が見受けられました。自分で作ったさつまいもぼーの美味しさは格別のようなものでした。③さつまいも食育教室では、さつまいもができるまで、さつまいもに含まれる栄養素など、写真やワークシートを使ってクイズ形式で学んでもらいました。わからないところはお友達同士で相談する様子も見受けられました。最後に、さつまいも堀りの時に間引いた大根畑で収穫した大根と一緒に記念撮影して終了しました。なお、食育クイズ教室をしている間に、希望された保護者の方には、ご自身の体組成や骨密度を測定していただきました。西宮市保健所と双方の部門、そしてこれまでに構築された栄養科学研究所のネットワーク、社会福祉協議会、自治体、地域小学校との連携により可能となりました。食育推進基本計画では、「特に、農林漁業体験を経験した子供は、食べ物を生産する現場をしっかりと見たことにより、食べ物を大切にする意識や食べ物への関心を持つようになり、食べ残しが少なくなること等が報告されており、子供の頃の農林漁業体験は重要である。」としています。今回の活動により、子どもたちに好影響があることを期待します。今後も、食育・人材育成研究部門は、「子育てスタートアップ栄養・食事支援講座」親子の健全な食生活の確立に向けた取組をはじめ、さらに食育推進を目的に地域の方に貢献すべく事業を進めていきたい。

R5.2.18
第11回 栄養科学研究所シンポジウム

**親子栄養支援事業 地域小学生を対象とした活動の報告
(栄養クリニックと食育・人材育成研究部門の連携)**

1. 食育を推進する施策
2. 第4次食育推進基本計画
3. 栄養科学研究所での取り組み
「さつまいも料理・親子食育教室」



武庫川女子大学食物栄養学科
岸本 三香子

食育、知っていますか？

12歳以上

食育で育てたい「食べる力」

- 心と身体の健康を維持できる
- 食の重要性や楽しさを理解する
- 食べ物の選択や食事づくりができる
- 一緒に食いたい人がいる(社会性)
- 日本の食文化を理解し伝えることができる
- 食べ物が持つ人への感謝の心



生涯にわたって「食べる力」=「生きる力」を育むことが重要です

1. 食育を推進する施策

1) 食育基本法 (平成17年法律63号)

国民が生涯にわたって健全な身体を培い、豊かな人間性を育むことができるよう、食育を総合的かつ計画的に推進すること。

- 生きる上での基本であって、知育、徳育、及び体育の基礎となるべきもの。
- 様々な経験を通じて「食」に関する知識と「食」を選択する力を習得し、健全な食生活を実践することができる人間を育てる食育を推進すること。
- 食育の推進にあたっては国民一人一人が「食」について改めて意識を高め、「食」に関して信頼できる情報に基づく適切な判断を行う能力を身に付けることによって、心身の健康を増進する健全な食生活を実践することが重要である。
- 国民の食生活が、自然の恩恵の上に成り立っており、また、食に関わる人々の様々な活動に支えられていることについて、感謝の念や理解が深まるように配慮することが求められる。

2) 食育推進基本計画 (平成17年法律63号第16条)

食育基本法に基づき、食育の推進に関する施策の総合的かつ計画的な推進を図るため、食育推進会議が作成し、施策についての基本的な方針や食育推進の目標等を定めるもの

- おおむね5年ごとに改定し、食育を国民運動として推進するための定量的な目標を掲げている。
- 2021(令和3)年度から5年間の方針を定めた「第4次食育推進基本計画」に至る。

(都道府県食育推進計画) (第十七条)
都道府県は、「都道府県食育推進計画」を作成(市町村食育推進計画) (第十八条)
市町村は、「市町村食育推進計画」を作成

2. 第4次食育推進基本計画

私たちが育む食と未来

食育の環と3つの重点事項

食育は、生涯にわたって大切にしていきたい食育の全体像である「食育の環」です。

第4次食育推進基本計画では、3つの重点事項を柱に、SDGsの考え方を踏まえ、食育を総合的かつ計画的に推進していきます。

「食育の推進体制」

「食育の推進体制」は、食育推進会議が中心となり、関係機関・団体、NPO・NGO、企業、学校、家庭、地域住民等が連携して推進していきます。

「新たな日常」やデジタル化に対応した食育の推進

「新たな日常」やデジタル化に対応した食育の推進は、食育推進会議が中心となり、関係機関・団体、NPO・NGO、企業、学校、家庭、地域住民等が連携して推進していきます。

3. 栄養科学研究所での取り組み

親子栄養支援事業

**地域小学生を対象とした活動の報告
(栄養クリニックと食育・人材育成研究部門の連携)**

西宮市保健所

「子育てスタートアップ 栄養・食育支援講座」親子の健全な食生活の確立に向けた取組

その他
社会福祉協議会
自治会
地域小学校との連携



「さつまいも料理・親子食育教室」

西宮市保健所：小学校に通う児童をもつ親世代に、健康について啓発していきたい

栄養科学研究所：子どもから大人まで地域の健康・食育に貢献する事業を計画したい

(クリニック部門) 子どもたちの料理教室、保護者の測定(食育・人材育成研究部門) 食育クイズ(栄養科学研究所) さつまいも栽培、人材構築

月	9月	10月22日(土)	11月26日(土)	12月17日(土)
内容	募集開始	さつまいも堀り	料理・親子食育教室1	料理・親子食育教室2

(10) 農林漁業体験を経験した国民を増やす

食に関する関心や理解の増進を図るためには、広く国民に農林水産物の生産に関する体験活動の機会を提供し、農林水産物についての意識や理解を深めてもらうことが重要である。特に、農林漁業体験経験者(子ども)は、食・物産を生産する現場をしっかりと見たことにより、食・物を大切にしようとする意識や食・物への関心を持つようになり、食・物残しが少なくなる等が報告されており、子供の頃の農林漁業体験は重要である。国民の更なる食・物産の理解増進を図る観点から、「新たな日常」に対応しつつ、子供を始めた幅広い世代に対する農林漁業体験の機会の提供を拡大していくことが必要である。

① さつまいも堀り

実施日時：2022年10月22日（土）9：00～15：30

参加者：広田地区小学生20人、地域関係者11人（社協7人、子供関係4人）、学生10人、教職員5人 計46人

9：00 県立芸術文化センター出発

10：30 畑到着

～さつまいも堀り～

12：00 昼食

13：10 ～大根畑で大根間引き、柿取り～

14：10 畑出発

15：30 県立芸術文化センター到着



② さつまいも料理教室・親子食育教室

実施日時：2022年11月26日（土）10：00～11：30

参加者：広田地区親子10組、地域関係者3人、学生12人、西宮市保健所2人、教職員5人

料理教室

～さつまいもぼうろ・おいもチップス～

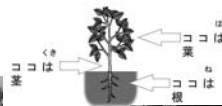
親子食育教室



おはかでぶかう
さつまいもチップスも
おいしいです。



Q. 私たちが食べているさつまいもはこの部分かな？



※作り方

① 洗ったさつまいもの皮をとり、フォークでつぶす

② 片栗粉、砂糖、牛乳を加え、まとまるまで混ぜる

③ ひと口大に丸める

④ 油をひいたフライパンで、色がつくまで焼く



事後アンケート

Q2 「さつまいも料理・親子食育教室」はどうでしたか？



Q6 どんな教室があったら、さんか したいですか？



食育・人材育成研究部門は、
「子育てスタートアップ栄養・食事支援講座」親子の
健全な食生活の確立に向けた取組をはじめ、さらに
食育推進を目的に地域の方に貢献すべく事業を進め
ていきたい。

トピックス

マイタケのプロテアーゼを利用した流動食に関する研究

沖 留理子¹⁾, 竹本 尚未¹⁾, 福田 史織²⁾, 鯨島 由香^{3), 4)}
川村 雅夫²⁾, 松井 徳光^{2), 4)}

武庫川女子大学栄養科学研究所 食品栄養部門

流動食は、病院や高齢者施設の場合、健康保険適用により安価で提供されるが、自宅で生活する誤嚥のリスクがある高齢者には健康保険適用がないため、安価に購入することができず経済的な負担が大きいという問題がある。一方、低栄養予防のためには良質なタンパク質である卵や牛乳が適切とされているが、加熱処理していない生卵の摂取はサルモネラ食中毒の危険性があり、加熱すると生卵の全卵液（卵黄と卵白を攪拌したもの）は凝固し流動性が失われ、流動食として用いることができない。しかし、マイタケを添加した茶碗蒸しは、卵が固まらないことが知られており、その原因としてマイタケ中のプロテアーゼによる全卵液中のタンパク質分解が考えられる。よって、全卵液をあらかじめマイタケのプロテアーゼを含む粗酵素液で処理すれば加熱後も凝固しない可能性がある。そこで本研究では、自宅で手軽に作れる栄養価の高い卵を利用した流動食の開発を目的として、マイタケのプロテアーゼが全卵液に及ぼす影響について検討した。

まず、1個の卵に含まれる卵黄と卵白を攪拌した全卵液（0.5g）に、1mm角に刻んだマイタケを0.1g～0.5g加えて混合後、30℃あるいは60℃で5分間保温（酵素反応）し、85℃で10分間加熱後、全卵液の凝固の有無を確認したところ、30℃ではマイタケの添加量0.5gにおいても全卵液は凝固したが、60℃ではマイタケ添加量0.4g以上から全卵液は凝固しなかった。よって、全卵液に同量のマイタケを添加し、60℃、5分間の保温（酵素反応）条件で、

全卵液は加熱後も固まらず、流動性が保持されることが示唆された。なお、全卵液凝固は、1%のメチレンブルー添加後に攪拌して、均一な青色を呈する状態から流動性の有無を判断した。

次に、マイタケ：蒸留水＝1：1（重量比）で調製した混合物を超音波破碎し、遠心分離後に得られた上清液を粗酵素液として用い、粗酵素液と水の割合を変えた希釈粗酵素液（粗酵素液含量を1割～10割にしたもの）を調製後、希釈粗酵素液：全卵液＝1：1（重量比）で混合したものを50℃～80℃で5分間保温（酵素反応）し、85℃で10分間加熱したところ、50℃と60℃の保温（反応温度）では希釈粗酵素液の割合が9割と10割で凝固せず、70℃と80℃では希釈粗酵素液の割合が7割以上で凝固しないことが観察され、保温（酵素反応）温度にかかわらず、0.5gの全卵液を加熱後に凝固させないプロテアーゼの比活性は約6500Unitであることが推測された。なお、プロテアーゼの1Unitは1分間にタンパク質1mgがチロシン1μMを遊離する量と定義した。

さらに、マイタケのプロテアーゼが全卵液のタンパク質をどのように分解しているかについて調べるため、酵素反応後に加熱した全卵液を用いてSDS-PAGEを行ったところ、全卵液中の主要たんぱく質である加熱凝固たんぱく質のオボアルブミンが著しく分解されていた。粗酵素液の割合が高くなるにしたがい、オボアルブミンのタンパク質染色バンドが薄くなり、低分子量領域のタンパク質染色バンドが

1) 武庫女大院・食栄
2) 武庫川女子大・食栄

3) 羽衣国際大・食栄
4) 武庫川女子大・栄養科学研究所

濃くなる状態が観察された。よって、マイタケのプロテアーゼが全卵液中の加熱凝固タンパク質オボアルブミンを分解することにより、加熱後、凝固しなくなったと推察した。

一方、自宅でマイタケを用いた流動食を調製するためには、購入したマイタケのプロテアーゼ活性が保存中に失活しないことが重要である。そこで、より適したマイタケの冷蔵および冷凍における保存方法を検討したところ、冷蔵および冷凍1週間保存後、1mm角に刻んだマイタケのプロテアーゼ活性は著しく低下（冷蔵87%減、冷凍95%減）したが、小房で保存したマイタケのプロテアーゼ活性の低下（冷蔵31%減、冷凍30%減）は緩やかであり、冷蔵あるいは冷凍で保存（1週間）する場合は、刻まずに小房の状態での保存が極度にプロテアーゼ活性を失うことなく適切であると考えられた。

以上、マイタケのプロテアーゼによる全卵液中のタンパク質分解処理によって、自宅で生卵と牛乳を用いた良質なタンパク質からなる流動食を調製し、摂取することが可能である。



マイタケのプロテアーゼを利用した流動食に関する研究

○沖 留理子¹⁾、竹本 尚未²⁾、福田 史織³⁾、
鮫島 由香⁴⁾⁵⁾、川村 雅夫³⁾、松井 徳光³⁾⁵⁾

1) 武庫女大院・食栄、 2) 武庫女大院・食栄、
3) 武庫川女子大・食栄、 4) 羽衣国際大・食栄、
5) 武庫川女子大・栄養科学研究所

背景

現在、流動食は、
病院や高齢者施設の場合、
健康保険適用により
安価で提供されている。

しかし、自宅で生活する誤嚥などの
リスクがある高齢者には
健康保険適用がないため、
安価に供給することができず、
経済的な負担が大きいという問題がある。

卵・牛乳



一方、低栄養予防のためには
良質なたんぱく質が適切であり、
流動食として、
卵や牛乳の利用が
望まれている。

しかし、生卵は加熱処理しなければ、
サルモネラ菌による
食中毒の危険性がある。



加熱処理後における
卵と牛乳の混合液

しかし、加熱すると
固まり(凝固)、
流動性が失われる。

そのため、
卵を流動食として
用いることができない。

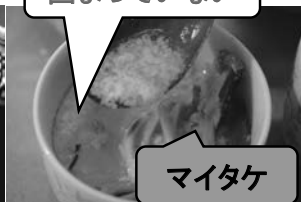
しかし、マイタケを添加した茶碗蒸しは、
卵が固まらないことが知られている。

固まっている



マイタケが入っていない
茶碗蒸し

固まっていない

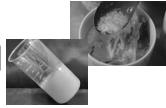


マイタケが入っている
茶碗蒸し

マイタケのプロテアーゼで
生卵を処理すれば、
卵のタンパク質が分解され
ペプチドやアミノ酸が生成し、
加熱しても固まらなくなる。

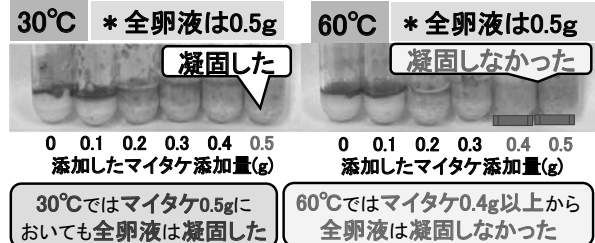
マイタケ中のプロテアーゼを利用し、
卵のタンパク質を分解することで、
加熱後、固まることなく、
流動食として利用できる
可能性が考えられる。

しかし、加熱後に凝固しないために、一定量の卵に対して、どれくらいのマイタケのプロテアーゼが必要なのか、また、適切な反応温度、反応時間などが不明である。



そこで本研究では、自宅で手軽に作れる栄養価の高い卵を利用した流動食の開発を目的として、マイタケのプロテアーゼ活性を測定すると共に、加熱後の卵が凝固しない反応条件について検討した。

全卵液凝固に及ぼすマイタケ添加量と反応温度

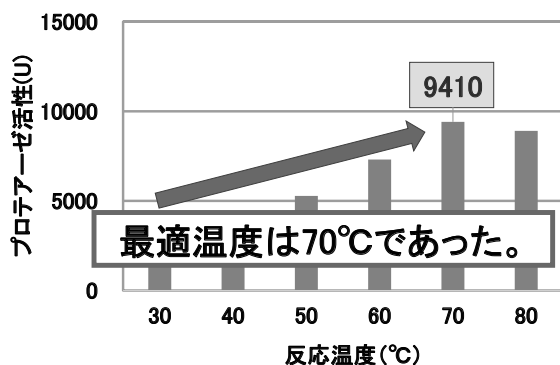


30℃ではマイタケ0.5gに
おいても全卵液は凝固した

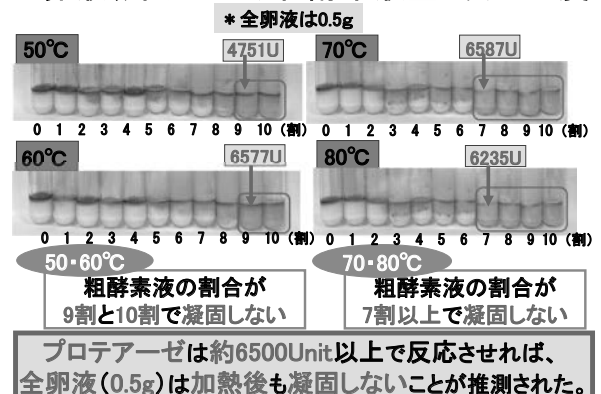
60℃ではマイタケ0.4g以上から
全卵液は凝固しなかった

全卵液に同量のマイタケを添加し、
60℃、5分間の保温(酵素反応)条件で、加熱後、
全卵液は凝固せず、流動性が保持された。

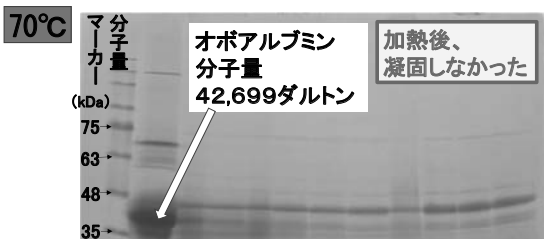
マイタケ粗酵素液のプロテアーゼ活性



全卵液凝固に及ぼす粗酵素液量と反応温度



酵素処理に伴う全卵液タンパク質の変化



マイタケ粗酵素液中のプロテアーゼが
加熱凝固タンパク質オボアルブミンを
分解することにより、加熱後、凝固しなかった。

まとめ

- マイタケのプロテアーゼにより全卵液のタンパク質が分解され、加熱後も流動性が保持された。
- マイタケのプロテアーゼの最適温度は70℃であった。
- 全卵液(0.5ml)を加熱凝固させない条件は約6500Unitであった。
- マイタケのプロテアーゼは加熱凝固タンパク質のオボアルブミンを分解した。
- 自宅で冷蔵あるいは冷凍で保存(1週間)する場合は、刻まずに小房の状態が適切であった。

トピックス

認知症予防教室における学科横断的研究アプローチ：各領域の成果について

渡邊 完児, 福田也寸子, 大滝 直人, 一ノ瀬智子, 徳重あつ子, 佐方 哲彦

武庫川女子大学栄養科学研究所 認知症予防研究部門

1. はじめに

認知症予防研究部門では、多面的介入によって認知機能の改善効果があることで知られる「FINGER研究」を参考に、認知症予防法の新たな開発を行うことを目的として2021年10月より「認知症予防教室」を開催している。

介入を行っている領域と担当者は、運動（健康・スポーツ学科：渡邊完児教授）、栄養（食生活学科：福田也寸子教授、食物栄養学科：大滝直人教授）、心理（心理・社会福祉学科：佐方哲彦教授）、音楽（応用音楽学科：一ノ瀬智子教授）、看護（看護学科：徳重あつ子教授）である。教室の運営全体や医学的な側面については、福尾恵介教授によるサポートを受けている。

毎週1回（月曜日）に、運動約1時間と各1領域1時間の組み合わせで、介入を行っている。また各領域からは、大学院生や学部生への参加をマネジメントし、教員のサポートを通して学ぶ機会となるようにしている。対象者が高齢者であるため、安全性の観点から、兵庫県まん延防止等重点措置期間（2022年1月27日～3月21日）は教室を休止したが、それ以外は実施することができている状況である。

1期生（2021年10月～2022年8月）は、初回測定会参加者は20名であったが、最終日参加者は16名（平均年齢：72.9歳）であった。1期生のうち2年目の継続者は14名である。2期生（2022年10月～）は、現在のところ6名（平均年齢：75.7歳）の参加となっている。

各領域における取り組みの概要は以下の通りである。

〔運動領域：健康・スポーツ科学科 渡邊完児教授〕
運動領域では約60分間で、①筋力を向上させる

ためのトレーニング、②敏捷性を高めるトレーニング、③ボール運動、さらに④二重課題運動を実施した。①筋力を向上させるためのトレーニングでは、ハンドグリップ（15回×3セット）、ゴムチューブを利用した上肢の筋力トレーニング（3種類の運動を各10回×3セット）、仰向け姿勢での脚上げ腹筋（10回×3セット）を実施した。②敏捷性を高めるトレーニングでは、ジグザグ走、低ハードルを利用した膝上げ歩行、ステップ台を利用したステップ運動などを実施した。③ボール運動では大きなゴムボールを利用したキャッチボールを行った。④二重課題運動では、2人1組で対面でのその場足踏み運動中に「しりとり」、「10を上限とした足し算」、「10を上限とした引き算」を繰り返し実施した。

教室前後に新体力テスト（65歳～79歳対象）として、「握力」、「上体起こし」、「長座体前屈」、「開眼片足立ち」、「10 m障害物歩行」、「6分間歩行」を実施し、各測定項目を10段階で評価した。その結果、体幹の筋力（上体起こし）、平衡性（開眼片足立ち）、歩行能力（10 m障害物歩行）及び全身持久力（6分間歩行）が有意に向上した。

〔栄養領域：食生活学科 福田也寸子教授、食物栄養学科 大滝直人教授〕

初回時と終了時に、血液検査、食事調査（簡易型自記式食事歴質問票）などを行った。InBodyによる体成分測定は計10回実施した。また栄養講座では、血管リスク改善を目的に生活習慣病を予防する食事等について説明した。血管リスク管理となる高血圧症や糖尿病、肥満症、動脈硬化症等を予防するための減塩や減糖分等の基礎栄養教育を主眼において食事指導を行った。

様々な領域の介入によってBMIやSMI、さらにはTNF- α などの改善がみられた。特に栄養介入によっ

て、野菜類の摂取量の有意な増加、穀類や砂糖類の有意な減少がみられた。しかし解析対象者数が少ないことから、他の食品群においては有意な増加あるいは減少は観察されなかった。

今後はさらに研究参加者をつのり、介入研究を続けることが必要である。また、対象者の栄養や食事に関する知識やスキルの基礎力向上を促す、より積極的な介入が必要であると考えられる。

〔音楽領域：応用音楽学科 一ノ瀬智子教授〕

認知症予防教室の第1期生を対象として、歌唱、鑑賞、楽器演奏などによる1時間弱のプログラムを計5回実施した。中心になる活動としては、ボンゴ、コンガ、マラカス、タンバリンなど、大小様々な種類の打楽器を取り入れたリズム活動と、歌唱に合わせた手話を継続して行っている。第2～4回目には音楽活動前後に二次元気分尺度(TDMS: Two-dimensional Mood Scale)にて測定を行った結果、毎回、覚醒度、安定度ともに得点が有意に上昇しており、心理状態への良好な影響が確認できた。またアンケートの自由記述では初めて触れる楽器への興味や楽しさ等が示された。

音楽活動では歌詞を見ながら歌う、周囲の音を聴きながら自身の楽器を鳴らすというように、複数のタスクを並行して処理しており、二重課題としての要素を備えている。今後はさらに認知機能に着目して評価を行っていく予定である。

〔看護領域：看護学科 徳重あつ子教授〕

看護のワークでは「回想法」の手法を用いて、グループコミュニケーションを行った。「回想法」は、アメリカの精神科医ロバート・バトラーによって提唱された心理療法のひとつである。回想は長期記憶を思い出す行為であるため、記憶や学習に関与する脳の海馬に働きかけることが期待できる。2021年10月～2022年8月実施の1期生には、6回のワークを行った。回想内容は、好きな映画とスター、遠足とおやつ、夏休みの思い出、家電(テレビ、洗濯機、冷蔵庫)、学校給食、駄菓子であった。

回想法のワークの前後、教室の初回と最終回に、Japanese UWIST mood adjective checklist (JU-MACL) による気分のチェックを行った。覚醒状態と関連のある緊張覚醒(Tense Arousal: TA)、

知的活動と関係があるとされるエネルギー覚醒(Energetic Arousal: EA)の測定ができるものである。

教室初回と最終回に参加したのは16名、平均年齢(SD)は72.9(5.5)であった。ワーク後には2回ともTA得点は下がり、EA得点は上がっていた。このことから、回想法によるワークでは、リラックスしながら気分を活性化する効果が期待できると考える。

〔心理領域：武庫川女子大学 佐方哲彦名誉教授〕

認知症予防教室において、心理はまず参加者の認知機能の測定を行うという役割をもっている。各期の前後に認知機能検査を実施し、その結果で教室実施の効果を評価することになる。1期生1年目の結果は「認知機能は維持されていた」という結論であった。

もう一つのグループ・コミュニケーションでは、高齢者が対人関係能力を改善し向上できるように、1期生にはSEL: Social Emotional Learning(社会性と情動の学習)プログラムに基づいたアサーション・トレーニングを実施した。アサーションとは「自分も相手も大切にしたいコミュニケーション」のことである。そのために、自分自身や周りの人たちのほめるワーク、ストローク(対人接触から得られる刺激)をうまく授受するワーク、リフレーミング(受け止め方の枠組みの修正)のワーク等を行い、参加者には新たな学びを得ることができたと好評であった。

1期生2年目には、自己理解を深めるための心理テストや心理的健康の改善に役立つ絵画療法なども新たに導入する予定であり、すでにマンダラ塗り絵のワークを実施した。なお、諸般の事情で2期生からはグループ・コミュニケーションのワークの担当から外れることになる。

2. 現在の進捗状況と今後の予定

当初の認知症予防教室では、2回目の測定の後に参加者を交えて検査・測定(調査)の報告会を行った。その後参加者から認知症予防教室継続の要望があり、令和4年10月から同教室の再開が始まった。教室の再開に際しては新たに6名が加わり、現在20名の参加者でこれまで同様毎週1回(月曜日:

約2時間)運動と各1領域のプログラムを継続している。なお、現在の認知症予防教室は令和5年7月までであり、その後第2期生を迎え入れるべく募集の準備に取りかかっている(教室の実施は9月を予定)。

第11回大学武庫川女子大学栄養科学研究所 公開シンポジウム

認知症予防研究部門

認知症予防教室における
学科横断的研究アプローチ:
各領域の成果について

健康・スポーツ科学科
食生活学科
食物栄養学科
応用音楽学科
心理・社会福祉学科
看護学科

渡邊 完児
福田 也寸子
大滝 直人
一ノ瀬 智子
佐方 哲彦
徳重 あつ子

「武庫川女子大学認知症予防教室」の社会的背景と概要

1. 社会的背景

- 認知症対策としては、進行予防が最も重要！（G8認知症サミット）
- 腸内細菌叢の異常が認知症の発症に関連（J Alzheimers Dis. 2017;58(1):1-15）
- FINGER研究：白人の軽度認知症患者1,300人を対象に約2年間食事指導、運動指導、認知トレーニング及び血管リスク管理の4方面からの介入
認知症評価点数で25%の改善、また処理速度では150%の改善

2019年度 日本版FINGER研究が国立長寿医療研究センターでスタート

2. 「武庫川女子大学認知症予防教室」の概要

運動指導（軽運動）と認知トレーニング＋4専門領域からの認知症リスク改善講座（栄養学・食事指導による血管リスク管理、応用音楽学による認知機能改善、看護学による抑うつ・認知機能改善、臨床心理学による認知機能改善）＋腸内細菌叢の検査

スライド作成：稲尾恵介

「武庫川女子大学認知症予防教室」のプログラム内容

1. 軽運動＋認知トレーニング

軽運動は、ストレッチングやウォーキングなど
認知トレーニングでは、計算しながらの歩行などの二重課題

2. 認知症リスク改善講座

（1）栄養学・食事支援による認知症リスク改善講座：認知症リスク改善や食事支援（糖尿病、高血圧、動脈硬化などの血管リスク改善を含む）

（2）応用音楽学による認知症リスク改善講座：楽器演奏を中心とした活動とグループワークによる認知機能改善

（3）看護学による認知症リスク改善講座：回想法を用いたコミュニケーションによる抑うつや認知機能改善

（4）臨床心理学による認知症リスク改善講座：対人コミュニケーションのグループワークによる認知機能改善

スライド作成：稲尾恵介

看護領域での回想法を用いた取り組み

（担当者：看護学科 徳重あつ子）

「回想法」は、アメリカの精神科医ロバート・ナトラーによって提唱された心理療法のひとつ

＜ワークの方法＞

- テーマに沿って昔の思い出を語り合う
- 1グループ4～5名、1回につき1時間程度

実施日	参加人数	回想内容	検査 (測定会にてSF-36)
2021年	11月8日	18 アイスブレイク：映画やスターの話	CES-D、気分チェック
	12月13日	18 遠足、おやつ、修学旅行	
	4月18日	11 夏休みの思い出	CES-D、ソーシャルネットワーク
2022年	5月30日	12 家電(テレビ、洗濯機、冷蔵庫)	
	6月27日	14 学校給食	
	7月25日	16 駄菓子	CES-D、気分チェック、SF-36

看護で実施した測定

①SF-36(MOS Short-Form 36-Item Health Survey) *教室の前後

- 世界で最も広く使われている自記式の健康状態の調査票である。
- ある疾患に限定した内容ではなく、健康についての万人に共通した概念のもとに構成されている。
- 様々な疾患の患者さんや、病気にかかっていない健康な人のQOLを測定できる。
- 健康関連のQuality of Lifeを測定する尺度。

②CES-D(抑うつ状態自己評価尺度) *教室の前・中・後

- 世界中で普及しているうつ病の自己評価尺度である。

③気分変化(JUMACL 日本語版UWIST気分チェックリスト) *ワークの前後
(初回、最終日)

- 覚醒状態と関連のある緊張覚醒(Tense Arousal: TA)、知的活動と関係があるとされるエネルギー覚醒(Energetic Arousal: EA)測定ができるものである。

音楽領域 第5回目

実施前－実施後

TDMS(二次元気分尺度)

活性化

■ 実施前 ■ 実施後

** p<.001

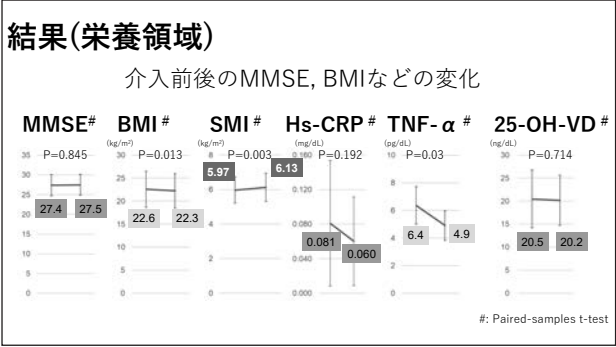
安定度

■ 実施前 ■ 実施後

** p<.001

音楽に関するアンケート

- すごく良い時間を過ごすことが出来ました。いろんな楽器も生でうれしく思いました。
- 初めて知る楽器の体験が出来てよかった。
- 前回より楽器演奏は少し向上して面白く感じました。
- 手話に関心を持つようになったことが出来、歌いながら出来、とても楽しい時間です。
- 手話は家に帰ってからでも練習します
- 自分が楽器にふれ声を出して唄うことがとても新鮮です。聞くことも好きだけどやはりやってみることに興味がわきます。
- 中高生だった頃思い出して心がほのける感じがしました。
- 心にゆとりが取り戻せたように感じました。とても楽しい時を過ごさせていただきました。日常生活の不安などを忘れさせてくれました
- 声を出すことが活につながる事がわかりました。楽器を使うことのむずかしさと楽しさを体験できたこと嬉しく思います



結果(栄養領域)

栄養介入による食品群摂取量の変化

g/1000kcal	Pre			Post			p value *
	Mean	SD	Median	Mean	SD	Median	
穀類	170.1	48.5	160.7	142.0	35.0	132.6	0.036
いも類	22.6	13.5	21.6	26.3	17.4	24.4	n.s
砂糖・甘味料類	2.9	1.8	2.3	1.8	1.3	1.6	0.005
豆類	52.2	20.4	56.3	61.6	35.3	57.1	n.s
緑黄色野菜	69.7	23.9	67.0	86.0	42.2	80.3	0.098
その他の野菜	96.7	38.1	94.8	84.6	33.5	83.4	n.s
果実類	111.8	68.0	95.7	93.6	64.1	92.8	n.s
魚介類	64.8	30.4	54.3	58.2	21.4	55.8	n.s
肉類	36.5	11.8	36.8	38.4	12.4	38.2	n.s
卵類	18.0	13.4	15.3	25.7	18.2	18.5	n.s
乳類	113.1	29.7	107.7	131.7	65.6	121.9	n.s
油脂類	5.4	2.6	5.3	5.9	1.8	5.6	n.s
菓子類	30.2	23.5	21.3	39.9	20.8	37.4	n.s
嗜好飲料類	389.0	195.9	377.5	296.8	155.7	234.5	0.081
調味料・香辛料類	105.9	46.9	121.5	82.6	45.9	78.0	n.s

●心理領域の分担と実施内容

①認知機能検査 教室開始時・終了時に2回実施
1期生は、2021年10月と2022年8月に実施

②グループコミュニケーション
＝アサーションの理解のためのワーク

1期生の2年目には、心理検査や描画法による自己理解のワークも追加する計画
(すでにマンドラ塗り絵を2回実施)

グループコミュニケーション

<1期生に実施したワークの内容>

1年目 アサーションの理解のためのワーク

第1回 具体的にほめる
第2回 ストローク上手になる
第3回 欲しくないストロークを拒否する／DESC法
第4回 リフレーミング
第5回 アサーションのまとめ
ねらい:「自分も相手も大切にしたい自己表現」であるアサーションを身につける

2年目 自己理解のためのワーク

第1・2回目 マンドラ塗り絵
ねらい:自分の心を整理し自分を俯瞰して見つめる

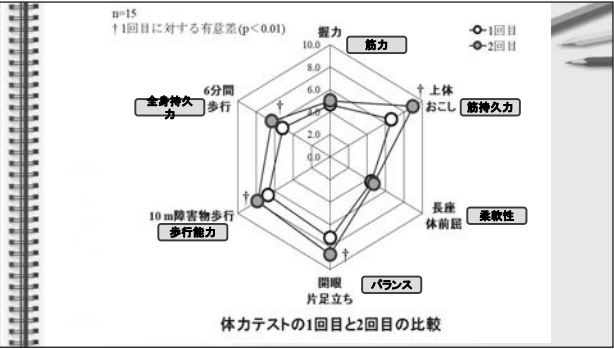
運動領域

結論

約7ヶ月（延べ28回）の教室で、体力の総合得点は向上した。

課題

握力と長座体前屈の成績は向上しなかった。



トピックス

西宮北口キャンパス（KiTa-E）における事業紹介（部門間連携の取り組み）

福尾 恵介 武庫川女子大学栄養科学研究所 所長

田中 弥生 武庫川女子大学栄養科学研究所 栄養支援科学部門 栄養クリニック

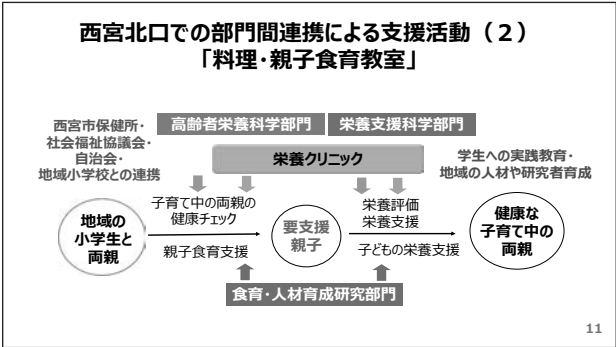
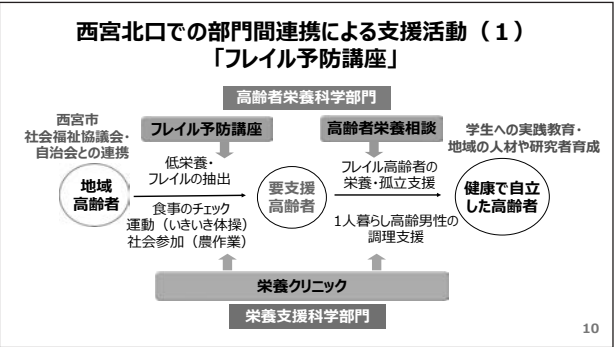
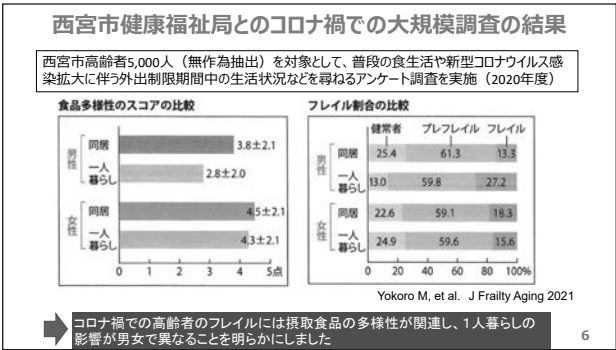
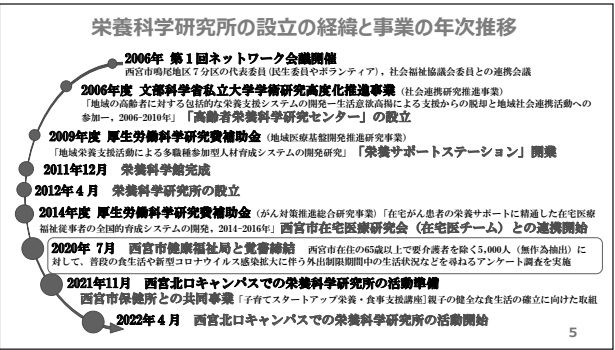
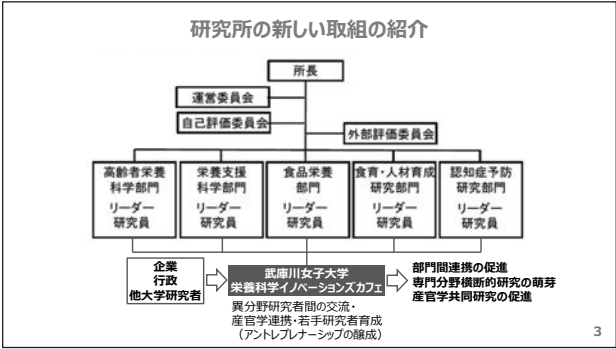
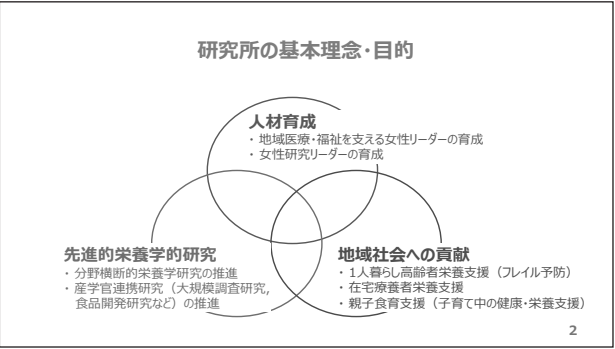
栄養科学研究所は、「高齢者栄養科学部門」、「栄養支援科学部門」、「食品栄養部門」、「食育・人材育成研究部門」、「認知症予防研究部門」の5つの部門で構成されていますが、それぞれの部門での研究を発展させるため、新たに、「武庫川女子大学栄養科学イノベーションズカフェ」を設置しました。これによって、行政、企業や他大学の研究者との連携や異分野の研究者の交流による分野横断的な共同研究を推進したいと考えています。

今回は、研究所が令和4年度より開始しました西宮北口キャンパス（KiTa-E）で複数の部門が共同で、西宮市や地域の自治体や小学校と連携して進めています活動をご紹介します。

最初にご紹介する事業は、「フレイル予防講座」ですが、この講座を開始するに至った経緯をご紹介します。本研究所は、2020年度に西宮市健康福祉局と「新型コロナウイルスとの共存下での西宮市の在宅高齢者に対する新しい包括的栄養支援モデル開発プロジェクトに関する覚書」を締結し、西宮市在住の65歳以上で要介護者を除く5,000人（無作為抽出）に対して、普段の食生活や新型コロナウイルス感染拡大に伴う外出制限期間中の生活状況などを尋ねるアンケート調査を実施しました。その結果、健康な状態と要介護状態の中間にあたります「フレイル」の高齢者の方が多いこと、特に、1人暮らしの男性高齢者ではその割合が同居の人に比べて2倍以上多いことがわかりました。そこで、西宮市社会福祉協議会の方や自治会の方との連携で、この講座を開始しました。

次にご紹介する事業は、「料理・親子食育教室」です。西宮市では、近年子育て中の若い世代が増えています。西宮市保健所との協議の中で、子育て中の両親、特に、母親の健康や栄養に対する支援の必要性が浮かび上がってきました。そこで、この教

室を始めましたが、これには、地域の自治会の方や西宮市地区社会福祉協議会の方のご協力のもとに、地域の小学校と連携して実施しています。今後、子育て中の両親、特に、母親の健康や食事などに関する実態を明らかにして、今後の支援活動に生かしたいと考えています。



「栄養科学研究」投稿規定

1. 「栄養科学研究」について

「栄養科学研究 (The Mukogawa Journal of Nutrition Science Research; MJNSR)」(以下, 本誌)は, 栄養科学研究所が発刊する「研究所紀要」に該当する科学雑誌で, 他誌に未発表の栄養科学に関する総説, 原著, 症例報告, 短報・その他の投稿を受け付ける。

2. 投稿資格

依頼原稿を除き, 原稿の筆頭著者は, 原則として本学の教員や大学院生に限るが, 編集委員会が認めた場合は学外からの投稿も受け入れる。

3. 論文の査読

審査の結果, 編集方針に従って論文の採否や原稿の加筆, 修正, 削除などを決定し, 著者に通知する。

4. 原稿の形式

1) 原稿記載の順序

- (1) 第1ページ目は表紙とし, 総説, 原著, 症例報告, 短報, その他の別を明記し, 表題25文字以内のランニングタイトル, Key Words (5個以内), 著者全員の氏名とその所属, 連絡責任者の住所, 氏名, 電話, FAX, E-mailアドレスを記載する。
- (2) 第2ページ目以降は, 下記の順に配列する。
本文 (400字以内の要旨, 緒言, 方法, 結果, 考察, 謝辞等, 文献)
表紙を第1ページとして, 最終ページまで通し番号を記入する。
表 (説明図をふくむ), 図, 図の説明は別々に添付すること
- (3) 投稿にあたり, 共著者全員が自筆署名した投稿承諾書を同封すること

2) 原稿作成上の注意

- (1) 原稿は原則として3部作成し, 次ページ以降の投稿要領に従いCD-Rも付けて投稿すること
- (2) 図・写真はそのまま製版できる鮮明なものとし, 片側コラムの幅 (77mm), または左右コラム幅 (165mm) に合わせた大きさにする。組み合わせの図は, 印刷領域 (222mm×165mm) を超えない範囲 (図説も考慮する) でまとめて, A4判の用紙で提出する。図中文字のサイズについては中ゴシック7.5ポイント (11級) とする。
- (3) 表については, 体裁を統一するため, ワード (エクセルも可) にて作成し, 電子媒体に原稿とは別ファイルにて添付すること。
- (4) 文献の記載は引用順とし, 末尾に一括して通り番号を付けること。
- (5) 文献番号1), 1) 2), 1) - 3) …を肩付とし, 本文中に番号で記載すること。著者が4名以上のときは, 3名を記載し, 残りを「～ほか」「～et al.」とすること。
- (6) 誌名を略記する場合には, 本邦のものは日本医学図書館協会編: 日本医学雑誌略名表, 外国のものはIndex Medicus 所載のものに従う。
- (7) 英文要旨が必要。
- (8) 度量衡の単位は本文, 図表ともにmm, cm, ml, dl, l, pg, ng, μ g, mg, g, kgなどを用いる。

3) 文献記載例

- (1) 萩里早紀, 谷野永和, 山本遥菜ほか: 地域在宅高齢者のMini Nutritional Assessment (MNA) と血清アルブミン値の関係におけるBMIの影響. 日本病態栄養学会雑誌14: 317-324, 2011
- (2) Tanaka M, Yoshida T, Bin W, et al.: FTO, abdominal adiposity, fasting hyperglycemia associated with elevated HbA1c in Japanese middle-aged women. J Atheroscler Thromb. 19: 633-642, 2012.
- (3) 福尾恵介ほか: 予防とつきあい方シリーズ, 高血圧・糖尿病—生活習慣病—(荻原俊男, 監修, 池上博司, 楽木宏美, 編集) メディカルビュー社, 東京, 2009, pp. 36-39
- (4) Liberman, U. A., Marx, S. J.: Vitamin D-dependent rickets. In: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 4th ed (ed. by Favus, M. J.). Lippincott, Philadelphia, 1999, pp. 323-328

5. 掲載料

掲載料は原則無料とするが、刷り上り10頁以上の超過分については徴収する場合がある。カラー印刷等、特殊なものは、実費が必要である。

6. 著作権

本誌に掲載された論文の著作権は、武庫川女子大学に帰属する。ただし、著作者本人は論文を許諾なしに利用することができる。また、論文は武庫川女子大学リポジトリに搭載し、インターネットを通じて公開されるものとする。

7. 投稿要領（原稿3部とデータを入れたCD-R等の記録媒体を添付すること）

1) 使用ソフトについて

(1) Macを使う方へ

ソフトはマックライト, MSワードを使用すること。

その他にソフトを使用する場合はテキスト形式で保存すること。

文字は細明朝11ポイントで統一すること。

(2) Windowsを使う方へ

保存は必ず, テキスト形式で保存すること。

文字はMSP明朝またはCentury11ポイントで統一すること。

記録媒体は, Mac, WindowsともCD-Rを使用すること。

2) 文字は節や段落などの改行部分のみにリターンを使用し, その他は, 続けて入力すること。

3) 和文の句読点は「,」「.」にする。

4) 英文, 数字は, スペースも含め全て半角入力（英文入力）すること。

カンマ（, ），ピリオド（. ），コロン（: ）も含みます。ただし, （, ），（. ），（: ）の前にスペースは入れない。

5) 日本文に英文が混ざる場合には, 日本文と英文との間に半角スペースを入れないこと。

6) 表と図の説明は, ファイルの最後にまとめて入力すること。

7) 入力内容の出力について

(1) 原稿は必ず完全な形に整え, A4判の用紙にワードプロセッサで印字する。

(2) 原稿1頁の体裁は, 1行40文字×40行で文字の大きさは11ポイントを使用, 上下左右のマージン（余白）

は30mm程度開ける。表紙を1頁とし、頁番号を印字する。

8. 原稿の送付先

〒663-8558 西宮市池開町6-46

武庫川女子大学栄養科学研究所 栄養科学研究雑誌編集委員会（代表 福尾恵介）

TEL/FAX：0798-45-9922

平成29年3月末日

投 稿 承 諾 書

栄養科学研究雑誌編集委員長殿

下記論文を「栄養科学研究」に投稿いたします。本論文は、他誌にすでに掲載あるいは投稿中ではないこと、執筆者全員は論文の内容について責任を有していること、および掲載された原稿の著作権は武庫川女子大学に帰属すること、さらに論文は武庫川女子大学リポジトリに搭載し、インターネットを通して公開することに同意いたします。

発表論文題目：

総説 / 原著 / 症例報告 / トピックス / 短報・その他

全著者の自筆署名を列記してください。捺印は不要です。なお、共著者の分が書ききれない場合は、別紙に欄を適宜追加し、全員の署名を受けてください。

筆頭著者署名 (年 月 日)

※ 責任著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

共著者署名 (年 月 日)

※筆頭著者が大学院生の場合、論文責任者の教員の署名を受けて下さい。

栄養科学研究
(令和4年度)

編集 武庫川女子大学栄養科学研究所

発行者 学校法人 武庫川学院

〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6番46号

電話 0798-47-1212 (代表)

発行日 令和5年3月

印刷 大和出版印刷株式会社