

The Mukogawa Journal of Research Institute for Health Science

Mukogawa
Women's University

Vol.13
2024

Research Institute for
Health Science

武庫川女子大学
健康科学総合研究所雑誌



目 次

【原著】

認知症予防教室における効果的な栄養教育プログラム計画策定に関する研究：
日常生活における実践効果を高める体験型プログラムの導入
興味を持続し実践を促す体験型栄養教育プログラム

..... 福田也寸子・大滝 直人・金澤 良子・一ノ瀬智子 1
佐方 哲彦・徳重あつ子・渡邊 完児・福尾 恵介

エノキタケの発酵能を利用した肉醬の開発

..... 福田 史織・鮫島 由香・竹本 尚未・鈴木 詩穂 8
沢柳 幸弘・松井 徳光

投稿規定

原 著

認知症予防教室における効果的な栄養教育プログラム計画策定に関する研究：日常生活における実践効果を高める体験型プログラムの導入

興味を持続し実践を促す体験型栄養教育プログラム

福田也寸子¹, 大滝 直人^{1, 2}, 金澤 良子², 一ノ瀬智子^{1, 3}

佐方 哲彦^{1, 4}, 徳重あつ子^{1, 5}, 渡邊 完児^{1, 6}, 福尾 恵介^{1, 2}

要 旨

【目的】認知症予防に効果的な栄養教育プログラムの方法を明らかにすることを目的とし、体験型の認知症予防プログラムの評価を行った。

【方法】体験型として第一年度にレシピ評価, 第二年度に試食会を実施した。レシピ評価は高齢者13名(74.5 ± 5.5歳)に対し1回目は料理写真のみ, 3回目は料理・食材名・栄養量を追記したものを見せ情報量の差異によるレシピ評価状況の変化をみた。試食会は継続参加者を含めた16名に対し食塩量等に特長のある3種類のカレー料理の試食会を行いVAS式による参加に関する評価を行った。

【結果】レシピ評価は情報量が増えるに従い「食べてみたい」(P=0.02)の回答に改善がみられ, 試食会では、試食会体験が健全な食生活への高い動機付けとなる評価(9.4 ± 0.8点)が得られた。

【考察】体験型プログラムは栄養への関心を高めて実行を促すのに有用であり栄養教育計画の骨子と成り得る。

Key Words : 高齢者, レシピ評価, 試食会, VAS式アンケート調査, BDHQ

Abstract

Objective: This study aimed to identify effective methods for a nutrition education program focused on preventing dementia. We evaluated a program that combined lecture-based and experience-based approaches.

Methods: In the first year, we evaluated recipes as an experience-based approach, and in the second year, we organized a tasting event. During the recipe evaluation, 13 elderly participants (average age: 74.5 ± 5.5 years) were shown food photographs in the first round, and food photographs with ingredient names and nutritional values were added in the third round. This was conducted to observe changes in recipe evaluation owing to the varying levels of information provided. The tasting event involved 16 participants, including ongoing participants, and featured three types of curry with distinct characteristics, such as different salt content. A visual analog scale survey was used to assess the participants' evaluations of the tasting event.

Results: The recipe evaluation revealed improvement in the "want to try" response as the amount of information provided increased (P = 0.02). The tasting event received a high evaluation (9.4 ± 0.8 points) for motivating healthy dietary behavior.

Discussion: The combination of lecture-based and experience-based approaches was effective in maintaining interest in nutrition and promoting its implementation. This approach can serve as a useful framework for planning future nutrition education programs.

1) 武庫川女子大学栄養科学研究所
2) 武庫川女子大学食物栄養科学部食物栄養学科・食生活学科
3) 武庫川女子大学音楽学部応用音楽学科
4) 武庫川女子大学心理・社会福祉学部心理学科
5) 武庫川女子大学看護学部看護学科
6) 武庫川女子大学健康・スポーツ科学部健康・スポーツ科学科

連絡責任者
住所：〒663-8558 西宮市池開町6-46
氏名：大滝直人
電話：0798-45-3728
E-mail：otk_nao@mukogawa-u.ac.jp

緒言

認知症は、脳の疾患や傷害など様々な原因により、認知機能が低下し、日常生活全般に支障が出てくる状態をいう。日本では、2012年には認知症高齢者数が462万と、65歳以上の高齢者の約7人に1人（有病率15.0%）であったが、2025年には約5人に1人（有病率20.0%）、2060年には約3人に1人（有病率33.3%）と予測されており、超高齢社会の我が国では認知症に向けた取り組みが今後ますます重要となる。アルツハイマー型認知症に次いで多い血管性認知症は、脳梗塞や脳出血などの脳血管障害によっておきる認知症である。高血圧や糖尿病などの生活習慣病と密接な関係があり、生活習慣病を有すると認知症リスクを高めるとされている。そして、これらの疾患に対して運動、栄養などの介入が発症を抑制し、軽度認知障害の認知機能を改善する可能性があること等が示されている¹⁻³⁾。フィンランドでは、2009年から2011年にかけて「高齢者の生活習慣への介入による、認知機能障害予防の研究（The Finnish Geriatric Intervention Study to Prevent Cognitive Impairment and Disability : FINGER研究）が行われ、その介入効果が報じられている⁴⁾。

ところで、高齢者は生活背景や身体的・精神的特徴などに個人差が大きい。著者らは高齢糖尿病患者の食事指導において体験型の学習方法が動機付けを高めるために有効であった例を報告している⁵⁾。また生活行動を改善する動機付けには、主体性をもって取り組めるような後押しが必要と考えられている⁶⁾。さらには認知症予防に係る専門的な知識や技術を伝達する行為としても、言語による情報伝達とその中身をなす具体的情報の体験が必要ではないかと考えられる。

そこで本研究では、高齢者を対象とした認知症予防プログラムにおいて、栄養学講座に体験型プログラムを加えた栄養教育を行った。栄養教育プログラムでは、講義形式は血管リスク管理に関わる糖尿病や高血圧症および動脈硬化症予防に関わる減塩・減糖分・減脂肪などを主題に情報伝達を行った。また体験型プログラムでは、第一年度は「お膳組パズル」や「レシピ評価にチャレンジ（以下、レシピ評価）」を取り入れ、第二年度は「栄養どっちクイズ」や「健康カレー料理の提案・試食会（以下、試食会）」を

行った。このうち、「レシピ評価」と「試食会」の体験学習を評価し、認知症予防における講義型学習と体験型学習の併用による栄養教育プログラムの効果について検討を行った。

方法

対象者

本学認知症予防プログラムの介入領域は運動、栄養、心理、音楽および看護である。毎週1回、運動約1時間と栄養、心理、音楽および看護のいずれか1領域1時間の組み合わせで実施した。第一年度（2021年10月～2022年8月、以下、第一年度）の参加者は、20名であった。このうち4名が脱落し、第一年度の最終参加者は16名となった。第二年度では、第一年度の参加者16名のうち14名が継続して本プログラムに参加した。さらに6名が新たに本プログラムに参加し、延べ20名となった。

栄養教育プログラム

本研究の教育プログラムの効果は、前後比較試験により検討を行った。図1および2には、本研究で行った栄養教育プログラムを示した。第一年度では、主に血管性認知症の基礎疾患となる高血圧、糖尿病および脂質異常症への理解、また適正な体格および身体活動量などに関する情報提供を行った。第一年度の栄養教育プログラムは延べ7回であった。また第二年度では、第一年度を発展させた栄養教育プログラムを展開し、さらには、試食会およびクイズ形式を取り入れて、動機付けを高めるとともに、基礎疾患予防への理解を深めた。第二年度の栄養教育プログラムは延べ9回であった。なお、全ての栄養教育プログラムは管理栄養士である第一著者が担当した。

回	日時	栄養講座内容	使用教材等
1回目	2021 (R3) 年 11月1日	高血圧予防の観点から認知症を予防する食事：美味しい減塩食のコツ	・食事関連調査 (BDHQ ¹⁾ , DVS ²⁾) ・スライド配布資料
2回目	2021 (R3) 年 12月6日	糖尿病予防の観点から認知症を予防する食事：栄養バランスよく食べるコツ	・お膳組パズル ³⁾ ・スライド配布資料
3回目	2022 (R4) 年 1月17日	体組成 (In Body) 測定の結果 ⁴⁾ について	・測定結果個人表 ・スライド配布資料
4回目	2022 (R4) 年 4月11日	血液検査各項目 ⁵⁾ のみかたについて	・血液検査結果個人表 ・スライド配布資料
5回目	2022 (R4) 年 5月23日	骨粗鬆症にならないようにするために	・骨の健康度チェック ・スライド配布資料
6回目	2022 (R4) 年 6月13日	身体活動量測定の結果 ⁶⁾ について レシビ評価にチャレンジ！ ⁷⁾	・測定結果個人表 ・レシビ評価にチャレンジ！ ・スライド配布資料
7回目	2022 (R4) 年 7月11日	WHOの認知症予防ガイドラインについて 動脈硬化予防の観点から認知症を予防する食事：まじして脂質のお話し	・スライド配布資料

1) 食事関連調査：BDHQ (Brief-type self-administered Diet History questionnaires) 簡易型自記式食事歴法質問票の略。栄養素などの摂取状態を定量的に、かつ詳細に調べるために実施した。

2) 食事関連調査：DVS (Dietary Variety Score)
食品摂取の多様性・食品数を評価するチェックシート。10食品群の1週間の食品摂取頻度を点数化して評価した。高得点ほど多様性があるとされ、たんぱく質および微量栄養素のより多い摂取と有意な関連があると報告されている。月1回程度の頻度で合計約12回調査した。

3) お膳組パズル
自作の教材。A3用紙が24等分されて各域にカラー印刷料理イラストが印刷されている。料理はご飯もの・汁物・主菜・副菜料理が各4種類ずつ描かれている。さらにハサミで切るところと折るところが示されている。折ったり畳んだりして料理をバランス良く組み合わせ何通りものお膳を組んでいく教材である。

4) 体組成測定：In Body測定
体水分・タンパク質・ミネラル・体脂肪を定量的に分析し、栄養状態に問題がないか、体がむくんでいないか、身体はバランスよく発達しているかなど、人体成分の過不足を評価する。月1回程度の頻度で合計約12回測定した。

5) 血液検査
赤血球数など血算検査10項目、総蛋白など生化学検査19項目について初回と最終回で検査した。

6) 身体活動量測定：3軸加速度活動量計測定
3軸加速度活動量計を用いて活動量およびエネルギー消費量を測定した。家事や散歩などの低強度の運動以外の活動の測定について信頼性・妥当性が評価されている。条件を設定し、1日歩数(歩/日)、基礎代謝量(kcal)、身体活動レベルなどを抽出した。

7) レシビ評価にチャレンジ！
自作の教材。食物栄養学科の学生が認知症予防を目的に考案したレシビを用い、①料理写真のみ、②料理写真+食材、③料理写真+食材+栄養量の3通りの見せ方を行い、レシビに対する評価についてVAS式調査票で調べた。

図1 第一年度 栄養教育プログラム

回	日時	開始前	栄養講座内容		開始後	使用教材等
1回目	2022 (R4) 12月12日		・高血圧予防の観点から認知症を予防する食事：美味しい減塩食のコツ	・塩分(食塩相当量)編	・食事関連調査 (BDHQ、DVS)	・スライド配布資料
2回目	2023 (R5) 3月13日	意識等に関するアンケート調査を実施。質問は、食品や栄養関連についての関心度や知識。	・認知症の予防は可能か？認知症の予防に役立つかもしれないレシビの提案(カレー料理のアラカルト)		・意識等に関するアンケート調査を実施。質問は食品や栄養関連についての関心度や知識。	・スライド配布資料
3回目	2023 (R5) 3月27日		・認知機能に関連する栄養素を含む食品を使った健康カレー料理3種の試食会		・試食評価のアンケート調査(VAS式)	
4回目	2023 (R5) 4月10日		・血液検査各項目のみかた、身体活動量測定の結果について	・エネルギー消費量編	・血液検査及び身体活動量測定結果の個人表	・スライド配布資料
5回目	2023 (R5) 5月8日		・体成分組成 (In Body) 測定の結果(4)について		・測定結果個人表	・スライド配布資料
6回目	2023 (R5) 5月22日	Visual Analogue Scale(10cm長さの直線使用。VAS式)を用いて回答してもらう。	・糖尿病予防の観点から認知症を予防する食事：栄養バランスよく食べるコツ	・エネルギー含有量編		・スライド配布資料
7回目	2023 (R5) 5月19日		・WHOの認知症予防ガイドライン 動脈硬化予防の観点から：減塩のコツ	・油編	・10cm長さの直線使用	・スライド配布資料
8回目	2023 (R5) 7月17日		・フレイル・サルコペニア予防のための食事について	・フレイル・サルコペニア予防に必要な栄養素編	・用いながら行う。	・スライド配布資料
9回目	2023 (R5) 7月24日		・骨粗鬆症にならないようにするために	・骨に必要な栄養素編		・スライド配布資料

1) 栄養どっちクイズ
各講義のテーマに即した栄養・食品に関わる問題を2択式で制作し、ペープサートを使って回答してもらい、正答発表後に解説を行った。

2) 3種類の健康カレー料理レシピ
自作のレシピ。食物栄養学科の学生が認知機能に關連する栄養素・食品を使用したカレー料理を案出し、実際に調理し、その中から3種類を選定し、試食会で披露し、試食後の感想等についてVAS式調査票を用いて調べた。

図2 第二年度 栄養教育プログラム

1. レシビ評価の体験学習

(1) 調査対象

レシビ評価は第一年度の6回目に行った(図1)。対象は13名(74.5±5.5歳、男性1名、女性12名)である。表1には対象者の基本属性を示した。対象者全員において、体格指数、四肢骨格筋指数および一般血液検査の各項目において、異常はみられなかった。

表1 レシビ評価参加者の基本属性

n	(男性/女性)	13(1/12)
年齢	(歳)	74.5 ± 5.5
同居家族	(有/無)	13(8/5)
体格指数(BMI)	(kg/m ²)	23.9 ± 4.2
四肢骨格筋量指数(SMI)	(kg/m ²)	6.3 ± 0.9
血清アルブミン	(g/dL)	4.4 ± 0.2
血清クレアチニン	(mg/dL)	0.8 ± 0.3
尿素窒素	(mg/dL)	16.8 ± 5.5
推算糸球体濾過値	(mL/min/1.73m ²)	58.4 ± 17
HDLコレステロール	(mg/dL)	70.5 ± 18
LDLコレステロール	(mg/dL)	130.1 ± 32

平均±SD SMI・血液データはn=11 2021年6月時点

(2) レシビ評価調査

調査項目は、「質問1：食べてみたいかどうか」「質問2：栄養バランスは悪いと思うかどうか」「質問3：改善する点があると思うかどうか」である。質問2および3は逆配点とした。レシビ評価の各項目得点はVisual Analog Scale (以下、VAS) 式を用いた。VAS式は10cmの直線を使用し1cmを1点として点数化を行った。レシビ評価は同一日に同一対象者に対して連続して3回行った。

1回目は料理写真のみを提示し、2回目は料理写真・料理名・食材名を付記したものを提示し、3回目は料理写真・料理名・食材名・栄養量を追記したものを提示した。先述のとおり各回において料理名のほかに、使用した食材名等の栄養関連情報を段階的に増やして提示した。対象者は写真内容を確認後、3つの質問項目への評価を行った。なお、料理写真は「2021学内レシビコンテスト」のうち、本研究の栄養教育プログラムの内容を踏まえた1例を使用した(図3)。同コンテストは2021年に本学食物栄養学科3年生全員を対象に、「健康寿命を延ばす」をテーマに、1食分のレシピについて自由応募性で実施したものである。

提示情報		
1回目		料理写真のみ
2回目		料理写真 + 料理名 + 使用食材名
3回目		料理写真 + 料理名 + 使用食材名 + 栄養量

図3 レシピ評価

レシピ評価の体験学習に用いた教材。料理写真は「2021 学内レシピコンテスト」(本学食物栄養学科3年生対象)のうち本研究の栄養教育プログラムの内容に適した1例を用いた。

2. 試食会の体験学習

(1) 調査対象

試食会は第二年度の3回目に行った。対象は16名(71.8±5.1歳, 男性1名, 女性15名)である。

(2) 健康カレー料理の案出

著書らは、認知機能に関連する栄養素・食品について論文検索した情報⁸⁻¹²⁾を基に、キーマカレー、カレー風味のタコライス(以下、タコライス)、スパイスカレーの3種類を作成した。使用する材料は認知機能に関連する栄養素や機能性成分を含有するとされている食品を使用した。キーマカレーは、コリアンダー、クミンおよびターメリックなどの香辛料のほかに、鯖、大豆、トマトおよび玉ねぎなどの食材を用いた。このキーマカレーを基本とし、食塩相当量等を少なめにしたカレー風味のタコライス、ヨーグルトを加えて辛みを軽減したスパイスカレーの合計3つのカレー料理献立を選定した。試食会に供した料理の写真、主な使用食材、エネルギーおよび栄養量は図4に示した。

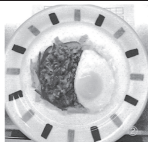
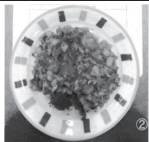
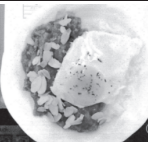
料理名	カレー風味のタコライス	キーマカレー	スパイスカレー
			
主な使用食材	鯖水煮缶詰、タマネギ、トマト缶、 赤パプリカ、卵、ハチミツ、ターメ リック、クミン、コリアンダー、 チャツネ等	鯖水煮缶詰、大豆水煮、トマト、 タマネギ、ピーマン、ニンニク、ブ ロッコリー、コリアンダー、クミ ン、ターメリック、レッドチリパ ウダー、牛乳、中濃ソース、ケ チャップ、チャツネ、オリーブ油 等	鯖水煮缶詰、トマト缶、タマネギ、 オリーブ油、ヨーグルト、土生麦、 ニンニク、クミン、ターメリック、 砂糖、コリアンダー、アーモンド スライス、卵等
栄養量概算(1人分)			
エネルギー量(kcal)	500	630	790
たんぱく質量(g)	20	26	27
脂質(g)	15	18	42
炭水化物(g)	70	89	76
食塩相当量(g)	1.1	3.0	1.8

図4 健康カレー料理

試食会の体験学習に用いた健康カレー料理3種。食材には認知機能に関連する栄養素を含む食品を用いた。

(3) 健康カレー料理および体験学習への評価

対象者は、3種類の健康カレー料理を試食し、試食後に「おいしいと感じるかどうか」「自宅で作るかどうか」「試食会に参加して良かったかどうか」の3つの質問への回答を行った。対象者が行った、「おいしいと感じるかどうか」および試食会に参加して良かったかどうかの2つの質問は、VAS式の10段階で評価を行い、「自宅で作るかどうか」の質問は、「作る」、「作らない」および「どれも作らない」の3件法による評価とした。

(4) 食品群別摂取量と健康カレー料理および体験学習への評価との関係性

健康カレー料理および体験学習に対する回答と食品群別摂取量との関連を評価した。食事調査(簡易型自記式食事歴法質問票, brief-type self-administered diet history questionnaires, 以下, BDHQ)⁷⁾を用いて、食品群別摂取量を算出した。さらには、各食品群別摂取量は密度法によるエネルギー調整摂取量を算出した。

3. 統計処理

データの分析には、SPSS Statistics (IBM社)を用いた。レシピ評価の得点変化はWilcoxonの符号順位検定を用いた。また、健康カレー料理の評価点と食品群別摂取量との関連はSpearmanの順位相関検定を用いた。統計学的有意水準はいずれも両側検定で5%未満とした。

結果

1. レシピ評価の体験学習

質問1「食べてみたいかどうか」の平均点は、1回目5.4±3.2点、2回目6.9±3.2点、3回目7.9±2.5点であり、3回目は1回目より評価点数が有意に改善していた (P=0.02)。

質問2「栄養バランスは悪いと思うかどうか」の平均点は、1回目5.4±3.2点、2回目4.4±3.3点、3回目2.9±3.2点であり、3回目は1回目より評価点数が改善傾向にあった (P=0.06)。

質問3「改善する点があると思うかどうか」の平均点は、1回目5.8±3.4点、2回目3.6±3.3点、3回目3.6±3.9点であり、3回目は1回目より評価点数が有意に改善していた (P=0.03) (表2)。

表2 レシピ評価

	1回目	2回目	3回目	P値
質問1：食べてみたい	5.4 ± 3.2 ^a	6.9 ± 3.2	7.9 ± 2.5 ^a	0.02 [*]
質問2：栄養バランスは悪い	5.4 ± 3.2	4.4 ± 3.3	2.9 ± 3.2	0.06
質問3：改善点がある	5.8 ± 3.4 ^b	3.6 ± 3.3	3.6 ± 3.9 ^b	0.03 [*]

^{*}P<0.05 Wilcoxonの符号順位検定 10点満点ただし質問2・3は逆配転 n=13

2. 試食会の体験学習

表3には試食後の評価結果を示した。「おいしいと感じるかどうか」の評価点は、タコライス7.8±2.1点、キーマカレー8.8±1.2点、スパイスカレー7.0±2.8点であった。「自宅で作るかどうか」について「作る」と回答（複数回答）した者は、対象16名のうち、タコライス8名、キーマカレー10名、スパイスカレー9名であり、どれも作らないと回答した者は1名であった。「試作会へ参加して良かったかどうか」についての回答は、9.4±0.8点であった。自由記述において、「家でも色々な具材を使ってみようと思った」、「サバ缶の利用方法が分かった」等の意見があった。

表3 健康カレー料理の評価

料理名	おいしいと感じるかどうか？	自宅で作るかどうか？(人)		試食会に参加して良かったかどうか？10点満点	
	10点満点で評価(点)	作る/作らない	どれも作らない	うか？10点満点で評価(点)	
カレー風味のタコライス	7.8 ± 2.1	8/7			
キーマカレー	8.8 ± 1.2	10/5	1	9.4 ± 0.8	
スパイスカレー	7.0 ± 2.8	9/6			

平均±SD n=16

健康カレー料理別の「おいしいと感じるかどうか」の評価点と食品群別摂取量の関係は表4のとおりであった。タコライスの評価点と調味料・香辛料類摂取量との間に有意な負の相関 ($\rho = -0.55$, $P = 0.03$) がみられ、キーマカレーの評価点と砂糖・甘味料類

摂取量との間に有意な負の相関 ($\rho = -0.73$, $P < 0.01$) がみられ、スパイスカレーの評価点と乳類摂取量との間に有意な正の相関 ($\rho = 0.53$, $P = 0.03$) がみられた。

表4 健康カレー料理別の評価点[†]と食品群別摂取量^{††}の関係

	摂取量 (g/1,000kcal)	カレー風味の タコライス		キーマカレー		スパイスカレー	
		ρ 値	p 値	ρ 値	p 値	ρ 値	p 値
穀類	155.3 ± 39.5	-0.26	0.34	-0.03	0.92	-0.30	0.26
いも類	26.6 ± 16.4	-0.16	0.56	-0.35	0.19	-0.32	0.23
砂糖・甘味料類	1.8 ± 1.1	-0.49	0.05	-0.73	0.001 [*]	-0.24	0.37
豆類	57.3 ± 34.3	0.25	0.36	0.01	0.98	-0.19	0.47
緑黄色野菜	83.0 ± 42.3	0.01	0.97	0.04	0.88	0.49	0.05
その他の野菜	89.9 ± 32.2	-0.39	0.14	-0.49	0.05	-0.21	0.43
果実類	97.7 ± 63.3	-0.43	0.10	-0.11	0.67	0.22	0.42
魚介類	53.2 ± 21.5	-0.37	0.16	-0.21	0.45	-0.17	0.53
肉類	43.8 ± 15.5	-0.20	0.46	-0.29	0.28	-0.49	0.06
卵類	27.2 ± 17.6	-0.01	0.96	-0.10	0.70	0.18	0.50
乳類	128.4 ± 66.6	0.26	0.33	0.44	0.09	0.53	0.03 [*]
油脂類	6.1 ± 1.7	-0.15	0.57	0.22	0.41	0.00	0.99
菓子類	30.3 ± 20.6	0.40	0.13	0.45	0.08	0.16	0.54
嗜好飲料類	307.2 ± 157	-0.17	0.53	-0.01	0.97	0.58	0.15
調味料・香辛料類	93.3 ± 51.4	-0.55	0.03 [*]	-0.45	0.08	-0.46	0.07

[†]評価点 平均±SD ^{*}p<0.05 n=16 Spearmanの順位相関検定

^{††}評価点：おいしいと感じるかどうか(10点満点)

^{†††}食品群別摂取量：BDHQ調査結果より密度法を用いて算出

考察

本研究では、認知症予防教室の栄養学講座において、2年間にわたり、高齢者に対して、栄養への関心を持続させ、かつ日常生活での実践を促すために、講義形式と体験型プログラムを組合せた情報提供を行った。体験型プログラムでは、第一年度に、栄養管理された料理の写真を用いたレシピ評価調査、第二年度に認知機能に関連するとされている栄養素や食材を使用したカレー料理の試食会を行った。レシピ評価調査では、料理写真のみの場合よりも料理写真に料理名・食材名・栄養量と栄養に関する情報量を増やした方が「質問：食べてみたいかどうか」の回答に有意な改善がみられた。また3つのカレー料理試食後の評価点と各食品群別摂取量との関係の検討では、それぞれのレシピによって関連性が異なった。これらのことは対象者の食品群別摂取量を加味することで、食生活改善への動機付けをより高める可能性があると考えられた。また試食会への評価は、「試食会へ参加して良かった」という回答が多く得られた。以上のことから、体験学習は食生活改善への意欲やその動機付けの向上に有効であることが示された。

レシピ評価においては、栄養関連の情報量が増えるにしたがい、食べる意欲、栄養バランスや改良点への評価に対して有意な改善あるいは改善の傾向がみられたことから、正確な栄養情報を適切に提示すれば、食べたいと思わせる動機付けとなり、栄養の

バランスや改善点への指摘の可能性が高まることが示された。また、試食会への参加においては、実際に見て食べてという体験は学習者の意欲向上や維持をもたらした。実食の料理に使用された食材は認知症予防につながるとされている栄養素を含有しており、単に学習効果だけでなく、その後の生活に反映され実際の認知症予防に有利な生活習慣獲得につながる点まで考慮すれば、体験型プログラムが有する意義は大きい。以上のことから高齢者の栄養への関心を持続させ実行を促すには、講義形式と体験型プログラムを組合せた栄養教育プログラムが有用であると考えられる。

実食体験型学習では、身近で家庭で実践しやすいことや認知機能に関連する香辛料¹³⁾の他にも、多くの食材と一緒に摂りやすい料理として3種類のカレー料理を用いた。「自宅で作るかどうか」の調査回答において15名中14名が3種のカレー料理のうちどれかを作ると回答した。「どれも作らない」と回答した1名も市販のルーを用いたカレーは作りたいというコメントであり、試食会で提供した料理が家庭での献立の動機付けになることが窺われた。3つのカレー料理の試食後の評価点と食品群別摂取量には、それぞれ異なる関連性がみられたことから、対象者に教育媒体として提供する献立は食品群別摂取量を加味することで、対象者の食生活改善への動機付けが高まる可能性があると考えられた。タコライスの評価点と調味料・香辛料摂取量との間に有意な負の相関がみられた。これは本被験者集団の中において、調味料・香辛料類摂取量がより少ない者ほど、食塩相当量が少ないタコライスを好き好みしたと考えられた。試食会では作り方や栄養量・食塩相当量等を記載した資料も配布したため、選択意志が働いた可能性が考えられるが、薄味を好む高齢者に受容されたことを確認した。キーマカレーは、3種類の中ではより多くの様々な食材が使われており、特に味の相互作用を期待した料理であった。キーマカレーの評価点と砂糖・甘味料類摂取量との間に有意な負の相関がみられた。BDHQ調査マニュアルでは、砂糖・甘味料類は、砂糖摂取量であるとされているため、キーマカレーの評価点との間に有意な負の相関がみられたことは、減砂糖を励行している者ほどキーマカレーをよりおいしいと感じていると考えられた。キーマカレーは、複数の味物質が共存す

ることで、変化が生じた味に対して、比較的砂糖類の摂取が少ない高齢者が好印象をもったと考えられた。スパイスカレーの評価点と乳類摂取量との間に有意な正の相関がみられた。普段から乳類摂取に留意している高齢者ほど、乳類を料理に取り入れる新たな食べ方として高く評価したのではないかと考えられた。以上のことから対象者の食生活改善への動機付けを高めるために、試食会やレシピ提供をする際には、対象者の食品群別摂取状況を配慮することが重要であると考えられた。

高齢者への教育は雛型の押し付け的なものではなく、個々の多様性を尊重しつつ対象者の背景や理解度に合わせて実施されることが望まれる。高齢者に対する行動変容を目指した健康学習において、講師主導型の健康学習では行動変容ステージの有意な上昇はみとめられておらず、参加型の健康学習では有意な上昇をみとめられたと報告されている⁸⁻¹²⁾。著者らの先行研究でも、減塩食や糖尿病食などの食事療法が重要とされる高齢者への患者教育で、治療食実食を盛り込んだ体験型教室の有用性を報告している⁵⁾。今回の試みにおいても対象者や対象疾患が異なっても、先行研究と同様の有用性が示されたと考えられる。正確な栄養情報が適切に提示され、それぞれの食生活に即した具体的な提案が行われることが重要であると言える。

今回の対象者の多くが高齢女性であった。この点に注視して栄養学講座のプログラグを検討し、レシピ評価力調査や実食体験を取り入れた。本研究の被験者世代では、男性は外で働き、女性は自宅で家事炊事に専念というライフスタイルが主流であり、食事の内容やその栄養量に関する知識、調理の技術は女性においてより高いことが明白である。そこで高齢女性をエンパワメントするプログラム作成に注力し実施した。

国立長寿医療研究センターの報告において各自治体が実施する認知症予防のための各プログラグの実施が、高齢者の認知機能向上に有効であることが示されている¹⁴⁾。したがって栄養学講座においても従来の教育方法に加えて、体験型のプログラグの組み入れに意義があるとするは妥当と言える。栄養学講座のプログラグを立案する際に、参加者の特長を考慮することは必要不可欠と考えられる。

本研究の限界は解析対象者が少ないため知見の全

てを一般化することはできない点、元々健康意識が高いことが予想される被験者集団であるため効果性に陽性バイアスが存在し得る点、などが否めない。また体験型を経験しない対照群が無いため、体験型学習導入の効果を定量的に示すことができなかった点は課題として残る。今後はさらに対象人数を増やし、対象集団の多様性も考慮して研究を行い、高齢者全般にとって認知症を予防し健康増進を図るための栄養支援策を明らかにすることが求められる。以上の課題は残るが、講義型学習への体験型プログラムの導入は栄養教育計画策定の一つのソリューションになるものと考ええる。

参考文献

- 1) 二宮利治. : 日本における認知症の高齢者人口の将来推計に関する研究平成26年度総括・分担報告書. 2015, pp.2-6.
- 2) WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee: Risk Reduction of Cognitive Decline and Dementia. Who Guidelines World Health Organization, Geneva, 2019.
- 3) Radd-Vagenas S, Duffy SL, Naismith SL, et al. : Effect of the Mediterranean diet on cognition and brain morphology and function: a systematic review of randomized controlled trials. The American journal of clinical nutrition 107 (3) : 389-404, 2018.
- 4) Milla kivilpelto, Alina Solomon, Hikka Soininen. : The Finnish Geriatric Intervention Study to Prevent Cognitive Impairment and Disability (FINGER) : study design and progress. Alzheimers Dement. 9 (6) : 657-665, 2013.
- 5) 福田也寸子, 竹内充代, 中島 弘. : 高齢患者の体験実食型糖尿病教室参加がもたらす効果について. 日本病態栄養学会誌 7 (2) : 135-142, 2004.
- 6) リチャード・セイラー, キャス・サンスティーン, 遠藤真美 (訳). : 実践 行動経済学. 日経BP社. 2009
- 7) S Sasaki, R Yanagibori, K Amano. : Self-administered diet history questionnaire developed for health education: a relative validation of the test-version by comparison with 3-day diet record in women. J Epidemiol. 8 (4) : 203-15, 1998.
- 8) Nikolaos Scarmeas, Costas A Anoastasiou, Mary Yannakoulia. Nutrition and prevention of cognitive impairment. The Lancet. 2018; 17: 1006-1015.
- 9) Giselle P. Lim, Frederic Calon, Takashi Morihara, et al. A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model, Comparative Study J Neurosci. 2005; 25 (12)
- 10) Mio Ozawa, Toshiharu Ninomiya, Tomoyuki Ohara, et al. Dietary patterns and risk of dementia in an elderly Japanese population: the Hisayama Study, Am J Clin Nutr. 2013; 97 (5) : 1076-82
- 11) Tomota Y, Sugiyama K, Kaiho Y, et al. : Dietary Patterns and Incident Dementia in Elderly Japanese: The Ohsaki Cohort 2006 Study. The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences. 71 (10) : 1322-128, 2016.
- 12) Yang F, Lim GP, Begum AN, et al. Curcumin inhibits formation of amyloid β oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. Protein structure and folding. Journal of Biological Chemistry. 280 (7) : 5892-5901, 2005.
- 13) 四方典裕. : 高齢者に対する行動変容を目指した健康学習. 佛教大学大学院紀要 教育学研究科編. 47: 19-33, 2019
- 14) 島田裕之. : 認知症予防についての調査研究事業結果報告書. 2017, pp.83-166

謝辞

本執筆に関し、中島 弘先生（兵庫医科大学特別招聘教授）にご指導ご助言をいただきました。この場をお借りして深謝申し上げます。

原著

エノキタケの発酵能を利用した肉醬の開発

Development of Meat sauce using fermentation ability of *Flammulina velutipes*

福田 史織¹⁾, 鮫島 由香²⁾, 竹本 尚未³⁾, 鈴木 詩穂¹⁾

沢柳 幸弘⁴⁾, 松井 徳光^{1), 3)*}

Fukuda shiori¹⁾, Sameshima yuka²⁾, Takemoto Naomi³⁾, Suzuki Shiho¹⁾,

Sawayanagi Yukihiro⁴⁾, Matsui Tokumitsu^{1), 3)*}

要 旨

わが国の食品ロス問題は食肉産業でも生じているが廃棄された食肉の有効活用方法は乏しい。一方、肉醬は醬油に類似した調味料であり、廃棄された食肉を肉醬へ用いることで食品ロスの削減が期待される。

担子菌はプロテアーゼ等を有し、醬油などの発酵食品に応用されているが、肉醬へ応用は行われていない。そこで担子菌の発酵能を利用し、食品ロス改善に向け、呈味性と機能性を有する肉醬の開発を試みた。エノキタケ菌糸体は、酸性、中性付近で活性を示すプロテアーゼを有していた。豚ひき肉と蒸留水を滅菌後、エノキタケ菌糸を植菌し、肉醬の製造を試みた結果、プロテアーゼにより豚ひき肉が分解され、肉醬の製造が可能であった。エノキタケを用いた肉醬は抗酸化活性を有し、従来醬油製造で使用される *Aspergillus sojae* で製造した肉醬と比べ、総遊離アミノ酸量が高値を示した。エノキタケを用いることで呈味性と機能性を有する肉醬の開発が可能であることを明らかにした。

Keyword: プロテアーゼ, 肉醬, エノキタケ

英語要旨

The problem of food loss in Japan also occurs in the meat industry, but there are few effective ways to utilize discarded meat. On the other hand, meat sauce is a seasoning similar to soy sauce, and the use of discarded meat in meat sauce is expected to reduce food loss.

Basidiomycetes possess proteases and have been used for fermented foods such as soy sauce, but have not been used for meat sauce. Therefore, we attempted to develop a meat sauce with taste and functionality by utilizing the fermentation ability of basidiomycetes to improve food loss. *Flammulina velutipes* mycelia contained a protease that was active in acidic and neutral environments. After sterilizing ground pork and distilled water, *Flammulina velutipes* mycelia was inoculated to produce meat sauce.

As a result, the minced pork was decomposed by protease, and the production of meat sauce was feasible. The meat sauce made with *Flammulina velutipes* mycelia had antioxidant activity, and the total free amino acid content was higher than that of meat sauce made with *Aspergillus sojae*, which is conventionally used in the production of soy sauce. The results showed that it is possible to develop a meat sauce with both flavor and functionality by using *Flammulina velutipes* mycelia.

Keywords: protease, meat sauce, *Flammulina velutipes*

1) 武庫川女子大学食物栄養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食物栄養科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) 有限会社沢柳きこの園
〒399-2221 長野県飯田市龍江6952
責任著者* Tel&Fax: +81-798-45-9873
E-mail: tokamura@mukogawa-u.ac.jp

緒言

近年、わが国では喫食可能であるにも関わらず食材が廃棄される「食品ロス」問題を抱えており、農林水産省の報告によると令和4年度の食品関連事業者から発生する事業系食品ロス量は236万tにのぼる。食品ロス量の削減に向け、関係府省庁が食品事業者へ向けて改善活動が推進されており、特に食品製造過程で発生し、廃棄される予定の食品に付加価値を付け、新たな食品へ応用するアップサイクルが進められている。しかし、アップサイクルで用いられている主な食品はおからや麺など加工食品の副産物や加工食品そのものであり、肉や魚などの生鮮食品類を用いたアップサイクル食品は乏しい現状である¹⁾。

食品ロスは肉加工品製造業や部分肉・冷凍肉製造業においても発生しており、食肉を部位ごとに分ける際に発生する「カットロス」や品質検査で規格外と判断され廃棄されるなど、両業種を合わせて30万tの食肉が喫食可能な食品でありながら破棄されている²⁾。食肉の加工により発生する廃棄物は培養肉への利用³⁾が報告されているが、おからなどの加工食品の副産物に比べ、研究報告やアップサイクルによる別商品への加工事例は少ない。

その中で、食肉の加工食品として、肉醬（ししびしお）が存在する。肉醬は肉を塩漬けにして醬（ひしお）として発酵させる食肉発酵食品である。醤油に類似した調味料であるが、わが国では仏教の伝来により肉食が忌避された背景から肉醬は醤油に比べ普及しなかった。しかし、近年のわが国では肉食文化が普及しており、肉醬は食肉の加工食品として消費者に受け入れられる可能性が考えられる。さらに、近年、加工用途の少ない、または利用価値の低い食肉を有効活用することを目的にエゾシカ肉⁴⁾や採卵廃鶏を原料とした肉醬の検討⁵⁾が行われており、食肉加工品製造現場などで発生する喫食可能であるが廃棄される食肉を肉醬の製造に用いることで食品ロス問題の解決と新たな発酵調味料の開発が可能であることが考えられる。

一方、担子菌は抗腫瘍作用や抗血栓作用など、様々な機能性を有し、摂取することによる健康効果が注目されている⁶⁾。また、担子菌はアミラーゼ、プロテアーゼ等の酵素を有することから、発酵食品にも応用されており、担子菌の発酵能により調製した味

噌やワイン、醤油の製造が報告されている⁷⁻⁸⁾。担子菌を用いることで担子菌由来の機能性が付加された発酵食品の開発が可能であることが考えられ、豚ひき肉をエノキタケやスエヒロタケで発酵させた機能性食肉の開発は行われている⁹⁾が、同じ食肉発酵食品でも担子菌を用いた肉醬の開発は報告されていない。

そこで、本研究では食肉の食品ロス削減と新たな食肉発酵食品の開発を目的に、担子菌の発酵能による肉醬の開発を検討した。特に、食用きのこであり、すでに豚ひき肉に対し菌糸体の生育が認められたエノキタケに着目し、エノキタケを用いた呈味性と機能性を有する肉醬の開発を試みた。

方法

1. 実験材料および供試菌

供試菌株はエノキタケ *Flammulina velutipes*（沢柳きこの園より分譲）と従来の醤油製造で用いているショウユコウジカビ *Aspergillus sojae*（NBRC 33082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より購入）を用いた。

エノキタケおよびショウユコウジ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を水道水100 mLに懸濁し、オートクレーブ滅菌（121℃, 20分間）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エノキタケまたはショウユコウジカビを植菌し、25℃でシャーレに菌糸が充満した状態まで培養を行い、エノキタケは10日間、ショウユコウジカビは3日間培養した。

2. エノキタケにおけるプロテアーゼ活性の測定

マルトエキス2%培地100 mLをオートクレーブ滅菌（121℃, 20分間）後、前培養したエノキタケの菌糸を5 mm角5片植菌し、25℃で2週間回転培養（100 rpm）を行った。培養後、金網を用いて球状の菌糸体と培養液を分離し、球状の菌糸体をエノキタケ菌糸体とした。

エノキタケ菌糸体と蒸留水を同量混合し、超音波破碎を行った。遠心分離（15,000 rpm, 4℃, 10分間）を行い、得られた上清液を粗酵素液とした。

プロテアーゼ活性の測定はAnson法¹⁰⁾に基づき測定を行った。すなわち2%カゼイン基質溶液（pH5.0, pH7.0, pH9.0の広域緩衝液¹¹⁾に溶解）0.6 mLに粗

酵素液0.12 mLを加え, 37°Cの恒温槽で20分間酵素反応を行った. 反応液に0.44 Mトリクロロ酢酸を0.6 mL加え, 室温で30分間以上静置後, 遠心分離 (15,000 rpm, 4°C, 10分間) を行った. 遠心分離後の上清液0.3 mLに0.55 M炭酸ナトリウム溶液0.75 mLと3倍希釈フェノール試薬を0.15 mL加え, 37°Cの恒温槽で20分間反応させた後, マイクロプレートリーダー (TECAN infinite M200) により750 nmにおける吸光度を測定した. プロテアーゼ活性の強さはUnitで算出し, 1Uは1分間にチロシン1 μ gを遊離する酵素量と定義した.

3. 肉醬の調製

豚ひき肉60 gと蒸留水40 mLを混合し, pH5.6に調整後, オートクレーブ滅菌(121°C, 20分間)を行った. 放冷後, 前培養したエノキタケまたはショウユコウジカビの菌糸5 mm角5片を植菌し, 25°Cで8週間回転振とう培養 (100 rpm) を行った.

培養1週間ごとにサンプリングを行い, pH, 抗酸化活性, 遊離アミノ酸量の測定を行った. 抗酸化活性, 遊離アミノ酸量の測定では得られた肉醬を遠心分離 (15,000 rpm, 4°C, 10分間) し, 得られた上清液を蒸留水で10倍希釈したものを試料液とした.

4. pHの測定

pHの測定はpHメーター (堀場製作所, コンパクトpHメーター) を用いて測定した.

5. 肉醬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を用いて化学発光法にて測定した. 試料液を10 μ L, 0.1 M KH_2PO_4 緩衝液 (0.05 M EDTA・2Na含有, pH7.5) 85 μ L, 100 μ g/mL Xanthin Oxidase溶液30 μ L, 45 mM MPEC溶液5 μ Lをwellに入れ, 混合した. 0.72 mM Hypoxanthine (0.05 nM EDTA含有) 25 μ Lを各wellに添加後, 30秒間の発光積算値を測定した. なお, 酸化阻害率はポジティブブランクの発光積算値と試料の発光積算値から次式によって算出した.

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

6. 遊離アミノ酸量の測定

1) 高速液体クロマトグラフィーの分析条件

遊離アミノ酸量の測定は高速液体クロマトグラフィー (東ソー株式会社, OP-8020) を用いて測定を行った. [カラム: 大阪ソーダ CAPCELLPAK C18MG II (4.6 mmID $\times$ 250 mm), 流速: 0.95 mL/min, カラムオーブン: 40°C, 注入量: 40 μ L, 検出波長: Ex: 480 nm, Em: 530 nm, 測定時間80分間].

移動相は移動相A (10 mMクエン酸緩衝液 (pH6.2) および75 mM過塩素酸ナトリウム) および移動相B [アセトニトリル: 蒸留水 = 1 : 1 (v/v)] を用いた.

2) 遊離アミノ酸量測定試料の調製

試料液0.4 mLに氷冷エタノール1.6 mLを滴下後, 一晚振とう (4°C) し, 脱タンパクを行った. 遠心分離 (15,000 rpm, 4°C, 10分間) 後, 上清液を遠心エバポレーターで乾固しエタノールを除去後, 蒸留水1.0 mLにて溶解した. AmberliteIR-120にバッチ処理で遊離アミノ酸を吸着させ3 Nアンモニア水1.0 mLを用いて, アミノ酸を溶離させた. 得られた溶離液は遠心エバポレーターで減圧濃縮 (45°C) を行い, アンモニアを完全に除去後, 0.1 Mホウ酸緩衝液 (pH9.2) を0.5 mL加え測定用試料溶液とした.

測定用試料溶液40 μ Lと25 mM蛍光試薬溶液 (4-フルオロ-7-ニトロベンゾフラザン1.5 mgをエタノール0.3 mLにて溶解) 20 μ Lを入れ, 60°Cで5分間反応させた後, 移動相Aを600 μ L加えて急冷し反応を停止させた. フィルターろ過後, 高速液体クロマトグラフィーで遊離アミノ酸量を測定した. なお, アミノ酸の標準試料は標準アミノ酸混合液H型 (富士フィルム和光純薬社製) を0.1 Mホウ酸緩衝液 (pH9.2) にて希釈し, 0.25 μ mol/mLの標準溶液とした.

結果及び考察

1. エノキタケにおけるプロテアーゼ活性

各pH条件におけるプロテアーゼ活性の結果を表1に示した.

表1 エノキタケ菌糸体の各pHにおけるプロテアーゼ活性

pH	pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
プロテアーゼ活性(U/g)	501.5 $\pm$ 12.9	758.7 $\pm$ 98.6	52.9 $\pm$ 1.4

プロテアーゼ活性は中性条件下であるpH7.0が758.7 U/gであり、次いで酸性条件下であるpH5.0が501.5 U/gであった。pH9.0ではわずかな活性を示し、52.9 U/gであった。

担子菌は酸性域に至適pHを持つカルボキシプロテアーゼを生成することが多く¹²⁾、エノキタケにおいても至適pH3.0のカルボキシプロテアーゼを有していることが報告されている¹³⁾。一方、エノキタケはpH7.1でカゼインを最も分解する中性金属プロテアーゼも有していることが報告されており¹⁴⁾、本研究においても酸性、中性でプロテアーゼ活性を示したことから、エノキタケ菌糸体において、カルボキシプロテアーゼと中性金属プロテアーゼの存在が示唆された。

エノキタケ菌糸体においてプロテアーゼ活性が示され、タンパク質分解能を有していることからエノキタケ菌糸体を用いた肉醬製造が可能であることが考えられ、豚ひき肉を原料に用い肉醬の製造を試みた。

2. 肉醬の製造

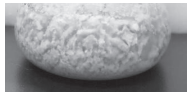
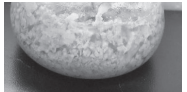
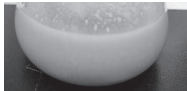
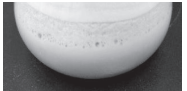
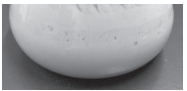
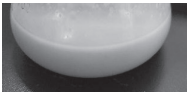
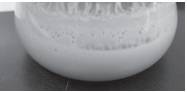
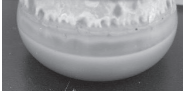
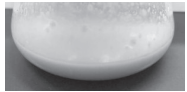
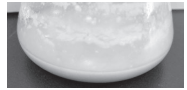
エノキタケで発酵させた肉醬（以下、エノキタケ肉醬）とショウユコウジカビで発酵させた肉醬（以下、ショウユコウジカビ肉醬）の経時的变化を表2に示した。

エノキタケ肉醬は培養1週間目で培養液に豚ひき肉が懸濁し、白く濁り、培養2週間目以降は徐々に薄い黄土色に変化した。また、培養2週間目で豚ひき肉の組織が分解され始め、培養8週間目では、淡い黄土色の液体となり豚ひき肉の塊が分解されていた。

ショウユコウジカビ肉醬は培養1週間目からショウユコウジカビの繁殖力が著しく、液表面にショウユコウジカビの菌糸が伸びている様子が確認され、培養3週間目以降で緑がかった黄土色に変化した。培養2週間目から豚ひき肉の組織が分解され始めたが、培養8週目までに豚ひき肉は半分程度までしか分解されていなかった。

醬油の原材料は大豆であり、ショウユコウジカビが有するアルカリプロテアーゼ、中性プロテアーゼ、アスパルティックプロテアーゼは大豆や小麦などの植物性タンパクに対し、優れた分解能を有している¹⁵⁾。一方、畜産肉の主なたんぱく質はアクチン、ミオシンなどの筋原線維タンパク質であり、アクチンとミオシンは互いに結合し、アクトミオシンと呼

表2 エノキタケ肉醬，ショウユコウジカビ肉醬における培養器の経時的变化

培養期間(週)	エノキタケ肉醬	ショウユコウジカビ肉醬
0		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

培養期間1週間目のショウユコウジカビ肉醬において液体表面に菌糸が旺盛に生育しているところが観察された。

ばれる複合体を形成する¹⁶⁾。アクトミオシンの分解に優れた酵素としてパパイイン¹⁷⁾やアクチニジン¹⁸⁾が挙げられ、これらの酵素はシステインプロテアーゼであると報告されている¹⁵⁾。ショウユコウジカビ肉醬よりエノキタケ肉醬において豚ひき肉の分解が優れていたことから、エノキタケ菌糸体にはパパイインやアクチニジンのように筋原線維タンパク質であるアクトミオシンの分解に優れたシステインプロテアーゼを有している可能性が推察された。

3. 糖度・pHの経時的变化

エノキタケ肉醬，ショウユコウジカビ肉醬におけるpHの経時的变化を図1に示す。

pHの経時的变化において、エノキタケ肉醬は培養2週間目のpH6.4から培養3週間目のpH7.8へとアルカリ性側へ傾き、培養4週間目からは緩やかにpHが酸性側に傾いたことが確認されたが、8週間

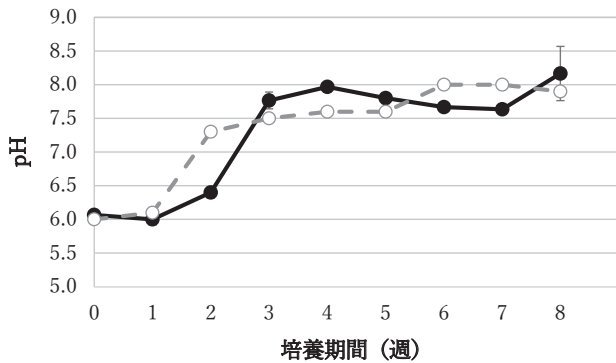


図1 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬におけるpHの経時的変化
図中の●-はエノキタケ肉醬, ○-はショウユコウジカビ肉醬のpHを示す。測定はエノキタケ肉醬はn=3, ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

目の最終pHはpH8.2を示した。

ショウユコウジカビ肉醬は培養1週間目から培養2週間目でpH6.1からpH7.3へ中性付近に変化し, その後は緩やかにpHがアルカリ性側に傾き, 培養8週間目でpH7.9であった。

エノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬のいずれにおいてもpHは培養期間の経過に伴いアルカリ性側に傾き, 最終pHはアルカリ性を示した。一般的な醤油のpHは4.73から5.03であり¹⁹⁾, 豚肉を発酵させて製造した肉醬のpHは4.76と報告されており, いずれも酸性を示す²⁰⁾。これは醤油や豚肉肉醬の製造時に耐塩性乳酸菌を添加することにより, pHが酸性側に傾くためである。しかし, 本研究では耐塩性乳酸菌を添加していないため, 従来の醤油のような低いpHは示さず, エノキタケ, ショウユコウジカビの培養によってpHの変化が起きたことが示唆された。エノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬ともにpHがアルカリ性側に傾いた要因として, 培養期間中に豚ひき肉がプロテアーゼにより分解され, リジン, アルギニン, ヒスチジンなどの塩基性アミノ酸が産生されたことにより, pHがアルカリ性側に傾いたことが考えられた。

一方, エノキタケ肉醬は培養4週間目のpH8.0から培養7週間目にかけて緩やかにpHが中性付近に傾いていた。これは培養期間中にエノキタケの発酵により有機酸が産生されたことが原因であると考えられる。エノキタケはリンゴ酸やコハク酸などの有機酸を産生することが報告されており²¹⁾, 肉醬の培養期間中においてエノキタケにより有機酸が産生され, 有機酸によりpHが酸性側に傾きつつも, プロテアーゼによってタンパク質が分解し, 塩基性アミ

ノ酸が産生され, 塩基性アミノ酸によりpHがアルカリ性側に傾き, 互いに拮抗しながら見かけ上は中性付近のpHを示したことが推察された。

しかし, エノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬いずれにおいても培養期間8週間目でpHがアルカリ性を示したことから, 培養期間中に塩基性アミノ酸の産生のほか, アミノ酸の脱炭素反応によりアンモニアやアミンが生成され, pHがアルカリ性側に傾いた可能性も考えられる²²⁾。アンモニアやアミンなどの揮発性塩基窒素は食品の腐敗指標に用いられており, エノキタケ肉醬やショウユコウジカビ肉醬がアルカリ性を示した背景が揮発性塩基窒素の生成であるかについては今後さらなる検討が必要である。

4. 抗酸化活性

エノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬の抗酸化活性における経時的変化を図2に示した。エノキタケ肉醬では抗酸化活性を有しており, 培養期間に伴い, 酸化阻害率が増加し, 培養8週間目で58.0%を示した。

ショウユコウジカビ肉醬では培養0週間目から1週間目にかけて著しく酸化阻害率が増加し, 培養8週間目で89.1%に達し, エノキタケ肉醬と比べて高い抗酸化活性を示した。

従来の醤油製造においては, 糖とアミノ酸のメイラード反応により生成される褐変色素であるメラノイジンにより抗酸化作用を示す²³⁾。エノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬のいずれにおいても培養期間中に肉醬が黄土色に変化したことから, メラノイジンが生成され, 抗酸化活性を示したことが示唆された。

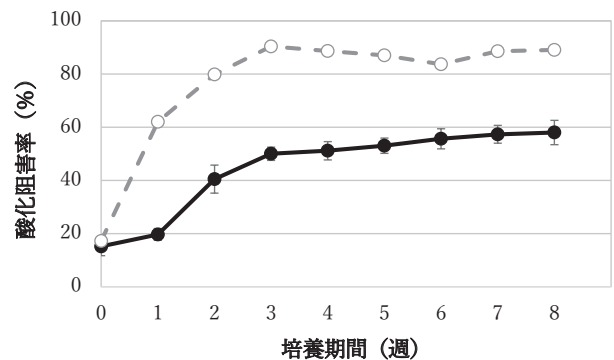


図2 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における抗酸化活性の経時的変化
図中の●-はエノキタケ肉醬, ○-はショウユコウジカビ肉醬の酸化阻害率を示す。測定はエノキタケ肉醬はn=3, ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

一方、ショウユコウジカビ肉醬はエノキタケ肉醬に比べ、高い酸化阻害率を示したことで、さらに培養1週間目で酸化阻害率が著しく増加した要因として、ショウユコウジカビのプロテアーゼによって豚ひき肉から抗酸化活性を有するペプチドが遊離されたことが考えられる。豚の筋肉に豊富に含まれているカルノシンは抗酸化作用を有しているが、カルノシンの他、筋肉タンパク質をプロテアーゼで分解することで得られるペプチド分画にも抗酸化作用が認められている²⁴⁾。培養1週間と短期間で著しく酸化阻害率が増加した要因は抗酸化作用を有するペプチドが遊離され、さらに培養期間が進むにつれ、メイラード反応によりメラノイジンが生成され、エノキタケ肉醬に比べ、高い抗酸化活性を示したことが推察された。

5. 遊離アミノ酸量

エノキタケ肉醬、ショウユコウジカビ肉醬の培養期間中における総遊離アミノ酸量の変化を図3に示した。また、特徴的な変化が確認されたアスパラギン酸、アラニン、アルギニン、グルタミン酸の変化をそれぞれ図4-7に示した。

総遊離アミノ酸量はエノキタケ肉醬、ショウユコウジカビ肉醬共に培養1週間目から培養2週間目で急速に増加し、それぞれの遊離アミノ酸量のピークはエノキタケ肉醬では培養6週間目で65.05 $\mu\text{mol/mL}$ 、コウジカビ肉醬は培養7週間目で49.81 $\mu\text{mol/mL}$ を示した。

エノキタケ肉醬において総遊離アミノ酸量が著しく増加した培養1週間目から培養3週間目はpHが

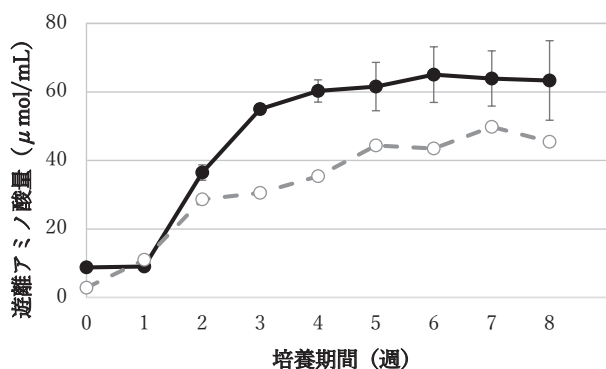


図3 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における遊離アミノ酸量の経時的変化
図中の-●-はエノキタケ肉醬、-○-はショウユコウジカビ肉醬の遊離アミノ酸量を示す。培養期間中におけるエノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬の総遊離アミノ酸量の経時的変化測定はエノキタケ肉醬はn=3、ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

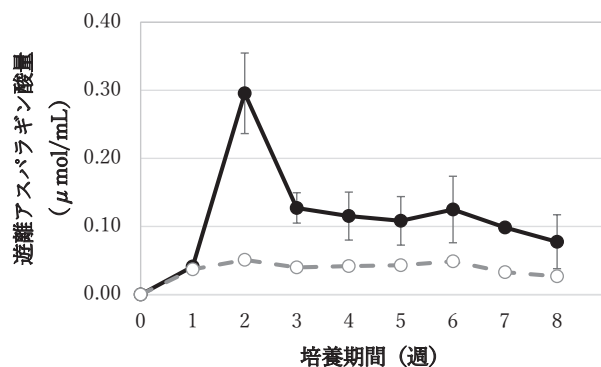


図4 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における遊離アスパラギン酸量の経時的変化
図中の-●-はエノキタケ肉醬、-○-はショウユコウジカビ肉醬の遊離アスパラギン酸量を示す。測定はエノキタケ肉醬はn=3、ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

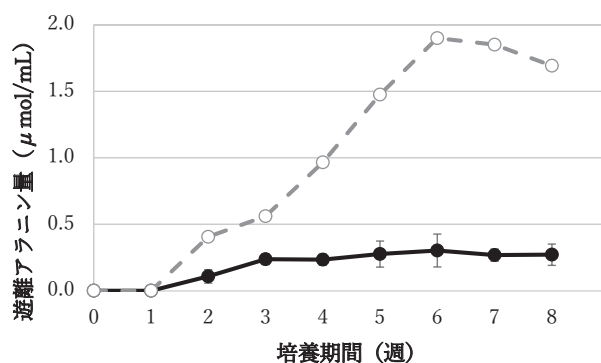


図5 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における遊離アラニン量の経時的変化
図中の-●-はエノキタケ肉醬、-○-はショウユコウジカビ肉醬の遊離アラニン量を示す。測定はエノキタケ肉醬はn=3、ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

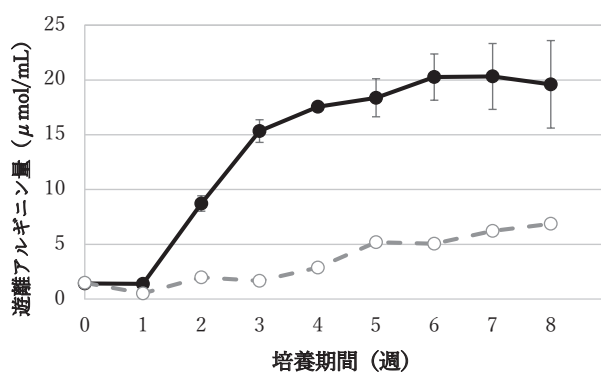


図6 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における遊離アルギニン量の経時的変化
図中の-●-はエノキタケ肉醬、-○-はショウユコウジカビ肉醬の遊離アルギニン量を示す。測定はエノキタケ肉醬はn=3、ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った。図中のエラーバーは標準偏差を表す。

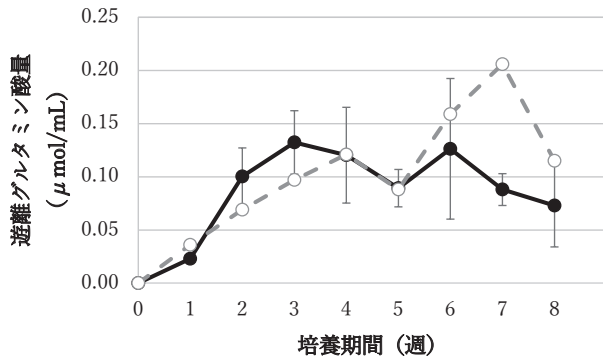


図7 エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬における遊離グルタミン酸量の経時的変化
 図中の●-はエノキタケ肉醬, -○-はショウユコウジカビ肉醬の遊離グルタミン酸量を示す. 測定はエノキタケ肉醬はn=3, ショウユコウジカビ肉醬はn=1で行った. 図中のエラーバーは標準偏差を表す.

6.0から7.8へ変化した期間である. エノキタケは酸性条件下で活性を示すカルボキシプロテアーゼ, 中性条件下で活性を示す金属プロテアーゼを有しており, 特に中性条件下で高いプロテアーゼ活性を示した. 培養期間中のpHが弱酸性から中性付近に移っていたことから, 培養期間中にエノキタケが有する金属プロテアーゼ等により総遊離アミノ酸量の増加に繋がったことが推察された.

遊離アスパラギン酸量においてエノキタケ肉醬では培養1週間目で $0.04 \mu\text{mol/mL}$ であったが, 培養2週間目で著しく増加し $0.296 \mu\text{mol/mL}$ を示した. しかし, 培養3週間目で急激に減少, その後は緩やかに減少した. 一方, 遊離アラニン量はエノキタケ肉醬では遊離アスパラギン酸量がピークを示した培養2週間目が $0.11 \mu\text{mol/mL}$ であったが, 遊離アスパラギン酸量が急激に減少した培養3週間目では $0.24 \mu\text{mol/mL}$ であり増加傾向が確認された. アスパラギン酸は旨味, 酸味を示し, アラニンは甘味を示すアミノ酸²⁵⁾であり, 醤油製造において乳酸菌が有するアスパラギン酸分解酵素であるアスパルテート4-デカルボキシラーゼにより, アスパラギン酸はアラニンと炭酸ガスに分解され, pHがアルカリ性側に傾くことが報告されている²²⁾. エノキタケ肉醬において培養2週間目から3週間目にかけて遊離アスパラギン酸量が減少し, pHがアルカリ性側に傾き, 遊離アラニン量が増加したことから, エノキタケ菌系体はアスパラギン酸分解酵素を有し, 培養期間中にプロテアーゼによりアスパラギン酸を遊離しながらアラニンへ変換した可能性が示唆された. しかし, エノキタケ肉醬における遊離アラニン

量は培養期間に伴い増加傾向は示していたが, ショウユコウジカビ肉醬と比べ, 低値を示しており, 培養期間中に分解され, 低値を示したことが推察された.

ショウユコウジカビ肉醬における遊離アラニン量は培養1週間目では検出されなかったが, 培養期間中に著しく増加し, 培養6週間目で $1.90 \mu\text{mol/mL}$ を示した. しかし, 遊離アスパラギン酸量は培養期間中に大きな変化が見られず, 一定の濃度を示していた. 従来の醤油製造においてアスパラギン酸からアラニンの分解はショウユコウジカビに由来せず, アスパルテート4-デカルボキシラーゼを有する乳酸菌に由来しており, アラニンが豊富で甘味のある醤油を製造する場合はアスパラギン酸代謝能の高い乳酸菌が選択される²²⁾. これらの背景から, ショウユコウジカビにはエノキタケ肉醬のようにアスパラギン酸からアラニンを生成するアスパルテート4-デカルボキシラーゼ等の酵素を有していないことが推察される. 一方, 豊富なアラニン量を示した要因はプロテアーゼが豚ひき肉タンパク質を分解し, 他のアミノ酸とともにアラニンを遊離し, 培養期間中にアラニンが分解されず蓄積された結果として, 高値を示したことが考えられる.

遊離アルギニン量の経時的変化はエノキタケ肉醬, ショウユコウジカビ肉醬のいずれにおいても培養期間に伴い増加を示した. エノキタケ肉醬においては培養期間1週間目から3週間目で顕著に増加し, 培養7週間目で $20.3 \mu\text{mol/mL}$ と高値を示した. 醤油製造時に添加される醤油乳酸菌 (*pediococcus halophilus*) はアルギニン分解酵素を有し, アルギニンからシトルリンを産生することが報告されている²²⁾. エノキタケ肉醬においてアルギニン量が高値を示した原因としてエノキタケ菌系体にはアルギニン分解酵素を有しておらず, プロテアーゼにより遊離したアルギニンが蓄積されたことが推察された. アルギニンは苦味を示すアミノ酸²⁵⁾であるが, アルギニンは貝類や甲殻類に豊富に含まれ, その苦味は水産物特有の苦味を呈する. アルギニンが豊富に含まれていたことから, エノキタケ肉醬は従来の醤油とは異なる水産物様の苦味を呈する新たな肉醬であることが示された.

遊離グルタミン酸量の経時的変化はエノキタケ肉醬においては, 培養3週間目で $0.132 \mu\text{mol/mL}$ と

高値を示したが、5週間目で減少し、その後、6週間目で $0.126 \mu\text{mol/mL}$ まで増加し、培養期間の経過に伴い減少傾向を示した。一方、ショウユコウジカビ肉醬は培養3週間目まではエノキタケ肉醬より低値を示したが、培養7週間目でエノキタケ肉醬を超える遊離グルタミン酸量を示し $0.206 \mu\text{mol/mL}$ であった。しかし、エノキタケ肉醬とショウユコウジカビ肉醬のいずれにおいても培養期間中に増減が確認された。培養期間中に増減が確認された要因として、グルタミンからグルタミン酸への変換、グルタミン酸からピログルタミン酸への変換が推察された。グルタミン酸の増加は原料タンパク質からプロテアーゼによって遊離したこと、グルタミナーゼによってグルタミンからグルタミン酸へ変換されたことが考えられる。一方で、グルタミン酸が減少する要因としてグルタミン酸からピログルタミン酸への非酵素的反応が報告されている²²⁾。これらのことから、肉醬培養時にグルタミンからグルタミン酸の変換、グルタミン酸からピログルタミン酸への変換が起こり、見かけ上増減を繰り返したことが考えられた。

遊離グルタミン酸量はショウユコウジカビ肉醬に豊富に含まれていることが示唆されたが、培養3週間目まではエノキタケ肉醬において遊離グルタミン酸量が高値を示した。このことから、エノキタケ肉醬はショウユコウジカビ肉醬よりも培養初期にグルタミン酸を遊離することが示され、短期間の培養ではエノキタケ菌糸体を用いる方が高いグルタミン酸量を示すことが推察された。

遊離アミノ酸量の結果において、エノキタケ肉醬では培養6週間目で総遊離アミノ酸量、アルギニン量、グルタミン酸量が高値を示し、培養期間の経過に伴い減少した点を考慮するとエノキタケ肉醬において培養期間は6週間が適していることが示唆された。

従来の醤油製造や、すでに報告されている肉醬の製造では、原材料に麴、乳酸菌、酵母、食塩を添加した醪を調製後、半年から2年ほど発酵させて醤油が製造される。

しかし、本論文ではエノキタケを用いることで、6週間と短い発酵期間で抗酸化活性を示し、旨味を示すグルタミン酸、水産物様の苦味を呈するアルギニンを豊富に含む肉醬の開発が可能であった。

以上の結果から、本論文はエノキタケ菌糸体が有

するプロテアーゼを利用することで肉醬の製造が可能であることを示し、さらにエノキタケ菌糸体で製造した肉醬は呈味性、機能性に優れた肉醬であることを明らかにした。

引用文献

- 1) 一般財団法人食品産業センター：「食品製造業の食品ロス削減対策に対する支援事業」報告書, https://kankyo.shokusan.or.jp/wp-content/uploads/2023/05/r3-syokuloss-rpt_all.pdf (2023年3月)
- 2) 株式会社ハローG 農林水産省委託業務：令和5年度食品産業リサイクル状況等調査委託事業（食品関連事業者における食品廃棄物等の可食部・不可食部の量の把握等調査）報告書（概要版）, https://www.maff.go.jp/j/shokusan/recycle/syoku_loss/attach/pdf/161227_8-93.pdf (2024年2月)
- 3) 田中龍一郎, 坂口勝久：廃棄食品からのアップサイクルで作られる培養肉の可能性. 生物工学会誌：第102巻第9号：456-459, 2024
- 4) 船津 康弘：異なる発酵法で調製したエゾシカ *Cervus nippon yesoensis* 醬の品質特性について. 日本醸造学会誌, 第111巻第3号：150-159, 2016
- 5) 楊正護, 川上誠, 石下真人, 船津保浩：採卵廃鶏から調製した肉醬の品質－特に麴の種類による最終製品の化学成分の違いについて－. 食品加工および資材の新知識, 54(1)：43-49, 2011-12
- 6) 河岸洋和監修：きのこの生理活性と機能性の研究. 株式会社シーエムシー出版, 東京, 2011, pp.16-22
- 7) 松井徳光：きのこの発酵能による機能性食品の開発. 日本きのこ学会, 24(4)：169-175, 2016
- 8) Hiroto HOMMA, Hiroharu TOKUDA, Ryouta NAGASHIMA, et al. : Soy sauce production using mushroom strains that produce salt tolerant protease. *Mushroom Science and Biotechnology*. Volume 23 Issue 1 : 26-30, 2015
- 9) 松井徳光：きのこの発酵能を利用した健康・機能性食肉の開発, 食肉に関する助成研究調査成果報告書, 23, 238-242, 2004
- 10) M L, Anson: The Estima of pepsin, trypsin, papa-in, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of General Physiology*. 22 : 79-89, 1938
- 11) Perrin,D D and Dempsey,B : 付録,「緩衝液の選択と応用－水素イオン・金属イオン」(辻啓一訳), 講談社, 東京, 2000, pp155
- 12) 古川久彦編著：きのこ学. 共立出版株式会社, 東京, 1992, pp. 351-352
- 13) 寺下隆夫：きのこのプロテアーゼ. きなの科学,

1 巻 2 号 : 9-25, 1994

- 14) 水野卓, 川合正允ら編著: キノコの化学・生化学.
株式会社学会出版センター, 東京, 1992, pp.175-208
- 15) 一島英治編著: プロテアーゼ. 新日本印刷株式会社,
東京, 1983, pp.296-297, 300-301
- 16) 沖谷明紘編著: シリーズ〈食品の科学〉肉の科学.
株式会社朝倉書店, 東京, 1998年pp. 48-51, p.56
- 17) 藤巻正生: 肉の軟化について (2). 農産加工技術研究会誌, 第 6 巻第 6 号 : p.22-28, 1959
- 18) 西山一朗, 篠政行, Ichiro NISHIYAMAほか: 食肉
に対する精製アクチニジン処理の影響. 駒沢女子短期大学 研究紀要, 第34号 : 15-20, 2001
- 19) 東和男編著: 発酵と醸造 I. 株式会社光琳, 東京,
平成14年, p.157, 169
- 20) 三上正幸, Nguyen Hien Trang, 島田謙一郎ほか:
豚肉発酵調味料“肉醬”の性質. 日本食品科学工学会誌, 第54巻 4 号 : 152-159, 2007
- 21) 吉田博, 菅原龍幸, 林淳三: 食用きのこ類の遊離糖,
遊離糖アルコールおよび有機酸. 日本食品工業学会誌, 第29巻 8 号 : 451-459, 1982
- 22) 枡倉辰六郎編著: 醤油の科学と技術. 財団法人日本醸造協会, 東京, 昭和63年, p.137, p.140, pp.191-192
- 23) 大下 克典: 醤油の機能性について. 日本醸造学会誌, 第85巻 第11号 : 762-770, 1990
- 24) 松石昌典, 西邑隆徳, 山本克博ら編著: 食物と健康の科学シリーズ 肉の機能と科学. 株式会社朝倉書店, 東京, 2015年, pp.101-104
- 25) Misako KAWAI, Yuki SEKINE-HAYAKAWA, Atsushi OKIYAMA, et al. : Gustatory sensation of (L) - and (D) -amino acids in humans. Amino Acids.43 (6) : 2349-58, 2012

「武庫川女子大学健康科学総合研究所雑誌」投稿規定

1. 「武庫川女子大学健康科学総合研究所雑誌」について

「武庫川女子大学健康科学総合研究所雑誌（The Mukogawa Journal of Research Institute for Health Science）」（以下、本誌）は、健康科学総合研究所が発刊する「研究所紀要」に該当する科学雑誌で、他誌に未発表の健康科学に関する総説、原著、症例報告、短報、その他の投稿を受け付ける。

また、雑誌は冊子体ではなくオンラインジャーナルのみとする。

2. 投稿者

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の投稿者であってもかまわない。

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. 研究倫理

投稿原稿の研究内容は、文部科学省・厚生労働省の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（2017）等を遵守したものでなければならない。

また、人および動物が対象の研究は、投稿者所属の施設もしくは研究参加者が所属する施設の研究倫理審査委員会で承認されたものでなければならない。

二重投稿や断片的投稿は厳に慎まなければならない、これまで得られた過去の論文の結果をもとにする場合は、投稿内容との関係を明確に示さなければならない。

5. 利益相反

著者全員が研究内容に関係する企業・組織または団体との間に利益相反状態がある場合は、利益相反（Conflict of Interest：COI）の開示が必要である。

6. 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、原著論文、症例報告、短報、資料・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、キーワード（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1部作成し、次ページ以降の投稿要領に従い投稿すること
- (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)ー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」「～etal.」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

7. 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。

8. 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、本研究所のホームページを通じてオンラインで公開されるものとする。

9. 投稿要領(原稿1部を添付すること)

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。

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。

10. 原稿の送付先

〒662-0833西宮市北昭和町9-32

武庫川女子大学健康科学総合研究所 事務局

E-mail:eiyoukg@mukogawa-u.ac.jp

（令和 6 年 4 月末日改定）

投 稿 承 諾 書

健康科学総合研究所雑誌編集委員長殿

下記論文を「健康科学総合研究所雑誌」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。

健康科学総合研究所雑誌
(令和 6 年度)

編 集 武庫川女子大学健康科学総合研究所

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 7 年 3 月

印 刷 大和出版印刷株式会社

Research Institute for Health Science
Mukogawa Women's University
**The Mukogawa Journal of
Research Institute for Health Science
Vol.13 2024**



武庫川女子大学健康科学総合研究所