

化学発光（ケミルミネッセンス）法を用いた 魚類の未利用部位調製“煮ごり”のラジカル捕捉活性

永塚規衣* 原田和樹*² 長尾慶子*

Radical scavenging activity of the gelatin gel food ‘Nikogori’ made by unuseful parts of fish measured using the chemiluminescence method

Norie NAGATSUKA, Kazuki HARADA, Keiko NAGAO

キーワード：煮ごり，抗酸化物，ペルオキシラジカル，醤油，魚

Key words : Nikogori, Antioxidant, Peroxyl radical, Soy sauce, Fish

1. 緒言

新鮮な魚を加熱したあとの煮汁が冷えて固まった食べ物である“煮ごり”は、昔からの日本の伝統料理として高齢者になじみ深い食べ物である。我々はこれまでに魚類の他に鶏肉、豚肉、牛肉などから得られる“煮ごり”を高齢者や嚥下困難者に適する咀嚼・嚥下用ゲル状食品としての視点で種々の研究を行ってきた^{1)~3)}。また、病院では高齢者の生活の質向上に役立つ食品の開発が重要な課題となっていることから、“煮ごり”の健康機能面にも注目し、電子スピン共鳴 (ESR) 法及び化学発光 (ケミルミネッセンス) 法を用いて抗酸化能を測定してきた^{4)~6)}。

魚介類にはエイコサペンタエン酸 (EPA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの不飽和脂肪酸やタウリン、カルシウム、ビタミン類等の特徴的な有効栄養成分が多く含まれているが、これら成分は魚肉よりも皮、内臓、頭部、骨などに偏在していることが多い⁷⁾。畜産物の場合はブラットソーセージ、レバーペーストなどの他、ケーシングには小腸、大腸など肉以外の様々な

部位が利用されている。しかし、魚介類では上記未利用部位はあまり利用されずに廃棄され、飼肥料などにしか使われていないのが現状である。

そこで、本研究では、各種魚の未利用部位を材料として、咀嚼機能の低下した高齢者などを対象としたゲル状嚥下食品“煮ごり”の調製条件を確立し、健康機能面ならびに官能評価面から好ましい食べ物であるかどうかを化学発光 (ケミルミネッセンス) 法による抗酸化活性ならびにカテゴリー尺度法を用いた嗜好テストにより検討した。得られた知見を以下に報告する。

2. 実験方法

1) 実験材料

材料として未利用部位のブリのあら (愛媛産)、タイのあら (愛媛産)、タイの鱗 (愛媛産)、サケの頭 (北海道産) を用いた。ブリのあら、タイのあら、タイの鱗は都内の専門魚店より購入し、サケの頭は㈱カネセフーズより提供を受けた。材料は直ちに必要量ずつを小分けにして -50℃ の冷蔵庫にて急速冷凍保存した。試験日の前日に 5℃ の冷蔵庫に移し、低温解凍させてから試料調製を行った。

調味料の醤油は一般的な市販品である本醸造濃口醤油 (キッコーマン(株)) を用いた。

* 東京家政大学生生活科学研究所 (Bulletin Of Research Institute Of Domestic Science Tokyo Kasei University)

* 2 水産大学校 (National Fisheries University)

2) 試料調製

i) “煮こごり”ゾルの調製

“煮こごり”材料としてブリのあら、タイのあら、タイの鱗、サケの頭を用いた。これら各材料を各々約1cmの角切りにし、耐熱ビーカー500mlに入れ、全面が水に浸る水量（すなわち材料に対して60%の水）を加えて600Wの電熱器で加熱、沸騰後火力を300Wに調節して、蒸発水分を補いながら100℃で10～60分の定時間加熱した。加熱終了後試料をろ過し、メスアップしたものを対照の水煮試料とした。

また、上記材料にそれぞれ醤油を内割りで煮汁の10wt%添加した“醤油添加試料”も同様に調製した。

ii) “煮こごり”ゲルの調製

i) で調製した各試料ゾルを内径40mm、高さ15mmの高齢者用シャーレに20gずつ分注し、冷蔵庫(5℃)で24時間保蔵してゲル化させ、各々の“煮こごりゲル試料”を得た。

3) 破断特性

レオメーター(株山電製、RE2-33005)および自動解析装置(株山電製、BAS-33005-16)を用いて、各試料ゲルの破断応力を求めた。測定は高齢者用食品の測定基準⁹⁾に沿って高齢者用シャーレに入れた状態(試料径40mm、試料高15mm)で行い、測定条件はプランジャー径20mm、試料台速度10mm/s、歪率66.67%とした。1試料につき、測定数は10個とし、その平均値を求めた。

4) 化学発光(ケミルミネッセンス)法によるペルオキシラジカル捕捉活性の測定^{4)~6), 9)~12)}

装置はキッコーマン社製ルミテスターC-100を使用した。水中にある2,2'-アゾビス(2-アミジノプロパン)二塩酸塩(通称AAPH)試薬(40mM AAPH/0.1Mリン酸緩衝液, pH7.0) 200μlに0.1Mリン酸緩衝液または各濃度の煮こごりゾル試料溶液200μlをルミチューブに入れてパラフィルムをし、ミキサー(TAITEC社製、

S-100)で攪拌後、37℃で2分間恒温槽(EYELA社製、DIGI. THERMO-PETNTT-1200)で加温処理した。加温後、ルミノール試薬200μlを加えてパラフィルムをして攪拌後、ルミテスターで化学発光パターンを測定した。なお、ルミノール試薬は、0.11mMルミノール溶液400μlに、0.1Mホウ酸緩衝液0.9mlを加えて調製した。

コントロールとして0.1Mリン酸緩衝液を用いて2回連続して測定を行い、測定値が50000RLU以上であればルミテスター装置が安定していると判断して各試料の測定を行った。化学発光パターンの経時的なピーク値の変化より抗酸化能を評価した。すなわち原液→10%希釈液→1%希釈液→0.1%希釈液…と順次希釈液を測定していき、コントロールの発光値を半分にする値が10～1%にあった場合、さらに希釈の程度を7.5%→5.0%→2.5%として測定した。各希釈段階で2回ずつ測定し平均を用いた。コントロールとしての0.1Mリン酸緩衝液の発光ピーク値を1/2にする“煮こごり”試料のパーセント濃度をIC₅₀値と定義した。

IC₅₀値は下記の(1)式より計算した。

$$\text{Log}(I_0/I) \times 100 = 30.103 \dots \dots \dots (1)$$

ただし、この場合のI₀及びIは次のように定義される。

- I₀: リン酸緩衝液の発光ピーク値
- I: 煮こごり試料の発光ピーク値

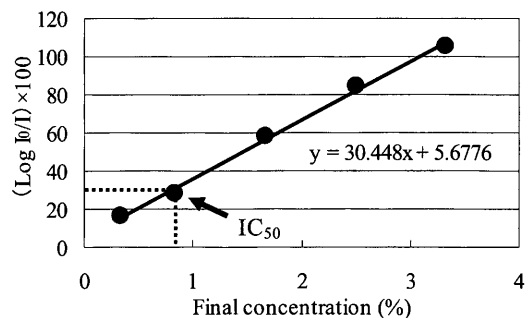


Fig.1 The relationship between the chemiluminescent yield and the final concentration of ‘Nikogori’ gel sample of head of salmon. The antioxidative values were calculated and plotted against the final concentration of the ‘Nikogori’ sample.

これを満たす時の上記Iの“煮ごり”試料濃度がIC₅₀値（%）であり、この数値が小さいほど抗酸化能が強いことを示す。なお、(1)式のLog(I₀/I)×100は抗酸化値と呼ぶ。Fig.1は一例としてサケの頭の酒添加試料の場合を示したものであり、この試料のIC₅₀値は0.81%であることを示している。

5) 官能評価

うろこを材料として調製した“煮ごり”について官能評価を行った。本学調理科学研究室員20名をパネルとし、Fig.2の官能評価用紙を用いて硬さ、べたつき感、飲み込みやすさ、ざらつき、におい（魚臭）の項目についてカテゴリ一尺度法による7段階評価を行い、結果をt検定で解析した。基準Aは、うろこの水煮試料であり、醤油添加試料(B)との違いを比較した。

Questionnaire for sensory evaluation

	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
Parameter							
Firmness (hard:-3~soft:+3)	A						
Smoothness (not:-3~easy:+3)	B						
Ease of swallowing (difficult:-3~easy:+3)							
Remaining in the mouth (much:-3~slight:+3)							
Odor (strong:-3~weak:+3)							

Please compare A (not added to soy sauce as the control) and B using the parameter and write - or + for your answers

Fig.2 Questionnaire for the sensory evaluation of 'Nikogori' made from scales of bream.

3. 結果及び考察

1) 抗酸化測定用各種“煮ごり”試料調製時の加熱時間の設定

ブリのあら、タイのあら及びうろこ、サケの頭をそれぞれ10～60分まで定時間加熱試料より得られたゲルの破断応力結果から、高齢者用

食品の食品群別許可基準（咀嚼困難者用）⁸⁾に最も適合する硬さが得られる加熱時間として、ブリのあら30分、タイのあら30分、タイのうろこ10分、サケの頭20分に設定した（Fig.3）。

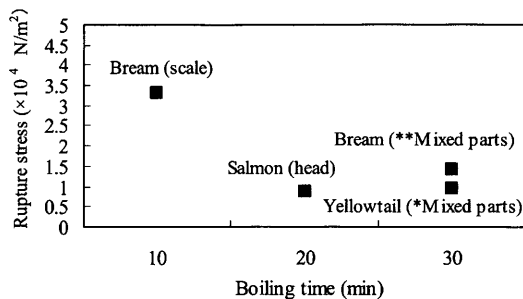


Fig.3 Relationship between the rupture stress and the optimum heating time of 'Nikogori' gel made from various parts of fish. *Mixed parts: head, bone, skin and tail of yellowtail. **Mixed parts: head, bone, skin and tail of bream.

2) 各種魚類の未利用部調製“煮ごり”のペルオキシラジカル捕捉活性の比較

“煮ごり”の材料としてブリのあら、タイのあら及びうろこ、サケの頭を用いて調製した材料別水煮試料のペルオキシラジカル捕捉活性のIC₅₀値をFig.4に示した。

図中IC₅₀値が小さいほどラジカルの発生が抑制されていることを示しているが、魚類の未利用部位の違いによってIC₅₀値に差が見られることが明らかとなった。すなわち、各種魚類の未利用部位調製“煮ごり”のラジカル捕捉活性はタイのうろこ（IC₅₀値：6.232%）＜ブリのあら（同：1.424%）＜サケの頭（同：1.337%）＜タイのあら（同：1.206%）の順で大きくなり、特にタイのあらを材料とした“煮ごり”のラジカル捕捉活性が大であった。

魚類脂質の脂肪酸組成は牛肉、豚肉、鶏肉などと異なり¹³⁾、n-3系多価不飽和脂肪酸が非常に多く、脂質含量の高い時期の魚は美味とされている。エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）などのn-3系高不飽和脂肪酸は、脳血管疾患や心臓病のような動脈硬化が関与する疾患の発症を防ぐ作用があると報

告されているが、一方で高度不飽和脂肪酸は極めて酸化しやすく、このことが魚肉の酸化安定性が悪い原因となっている。しかし、Fig.4よりいずれの“煮こごり”試料も“煮こごり”自体に高い抗酸化能を有し、脂質過酸化を抑制していることから、煮こごり由来のコラーゲン分解物がペルオキシラジカル捕捉能に大きく寄与していることが推測された。共著者の原田らは、サンマ鱗を酢酸抽出して得たコラーゲンをペプシン分解し、得られたペプチド画分から抗酸化活性及びヒドロキシラジカル消去能の強い画分を見出し、報告している¹⁴⁾。

以上のことから、これら“煮こごり”試料間のラジカル捕捉活性の相違は、煮こごり中に含まれるコラーゲンのペプチド画分の相違、あるいは抗酸化活性成分の含有量の相違によるとも考えられるため、今後さらに検討が必要である。

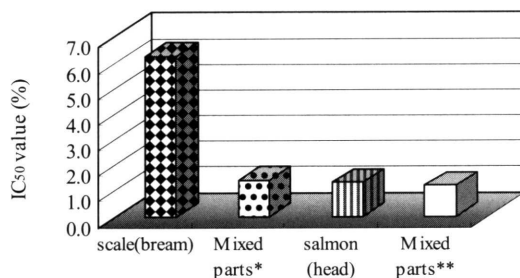


Fig.4 IC₅₀ value (%) of ‘Nikogori’ measured using the chemiluminescence method. *Mixed parts: head, bone, skin and tail of yellowtail. **Mixed parts: head, bone, skin and tail of bream.

3) 醤油を添加した未利用部位調製“煮こごり”のラジカル捕捉活性

ブリのあら、タイのあら及びうろこ、サケの頭の各水煮試料とこれら各材料に醤油（濃口）を添加して調製した試料のIC₅₀値をFig.5に示した。

図中、各試料の左グラフが“煮こごり”水煮試料、右グラフが濃口醤油を添加した試料の結果を示している。醤油を添加した各試料のラジカル捕捉活性は、タイのあら（IC₅₀値：0.259%）＜サケの頭（同：0.133%）＜タイのうろこ（同：0.123%）＜ブリのあら（同：0.100%）の順でそ

の効果が増し、いずれの試料も水煮試料（タイのあら1.206%、サケの頭1.337%、タイのうろこ6.232%、ブリのあら1.424%）と比較して、醤油が添加されることによりペルオキシラジカル捕捉活性が増強される結果が得られた。これは既報⁶⁾と同様の傾向であり、醤油を添加することでさらに大きな脂質酸化抑制効果が得られることを示している。醤油の添加効果については既報⁶⁾で述べたが、簡単にその理由を以下にまとめた。

醤油（濃口）の主原料は大豆と小麦であり、アミノ酸、ペプチド、メラノイジンやイソフラボン類など抗酸化作用を持つ成分を多数含有している。これら成分に加えて、製麴工程中に強い抗酸化性を示す8-ヒドロキシダイセイン（8-OHD）及び8-ヒドロキシゲニスチン（8-OHG）を生成する¹⁵⁾。特に大豆を主原料として製麴を行った溜り醤油などに高濃度に存在するが、我々の研究結果に於いても（Fig.5）、大豆と小麦を1：1の割合で原料とする濃口醤油を添加して調製した試料にも煮こごり中の脂質酸化抑制結果が大である結果が得られた。

今後、煮こごり以外の料理にも調味料として大豆を主原料とした醤油を添加することは抗酸化能の相乗効果が期待できるものと考えられる。

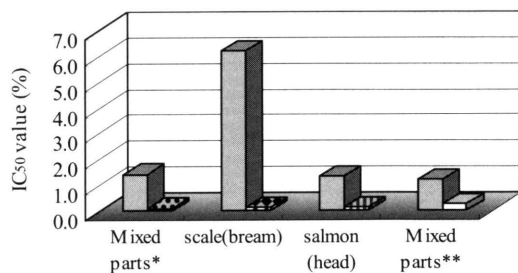


Fig.5 Effect of addition of soy sauce on the IC₅₀ value (%) of ‘Nikogori’ measured using the chemiluminescence method. Left bars, ‘Nikogori’ only as the control; right bars, soy sauce-added ‘Nikogori’. A detailed explanation is described in the legend of Fig.4.

4) うろこ“煮こごり”試料の官能評価

上記未利用部位のうち、うろこを材料として調製した“煮こごり”はうろこ特有の生臭さが

特に際立ち、そのまま食するのは困難と考えられた。そこで、醤油を添加した場合の官能評価を行った結果を Fig.6 に示す。

醤油添加することは無添加の水煮と比べ、飲み込みやすさ、口腔内での残留感、魚臭、外観の4項目において1%水準で有意差が認められ、好ましい結果が得られた。醤油を添加することで魚臭が大きく改善され食べやすくなったものと考えられる。またここには示していないが、嗜好意欲尺度法によっても醤油添加することで嗜好意欲が増し、ゲル状食品として好まれることが確認できた。

以上の力学測定、抗酸化測定および官能評価結果から、各種魚類の未利用部位から調製した“煮ごり”の摂取はゲル状食品としても健康機能食品としても好ましい食べ物であることが示唆された。さらに、これら“煮ごり”は醤油添加により嗜好意欲が高まると同時に抗酸化能も増強されることが明らかとなった。

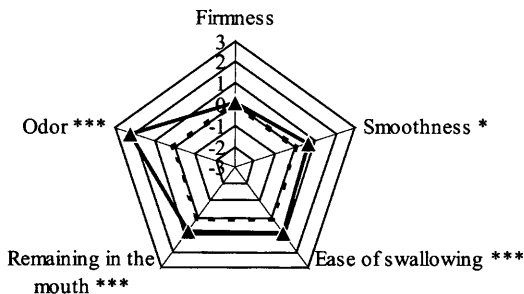


Fig.6 Category barometer of sensory evaluation of 'Nikogori' made from scales of bream. Bold broken line, control sample (not added to soy sauce); bold line, average of soy sauce-added 'Nikogori'. n=20, significantly different at ***p<0.01, and *p<0.05.

4. 要約

各種魚類の未利用部位（あら・うろこ・頭）を用いて調製した“煮ごり”製品の力学測定、抗酸化測定ならびに官能評価を行った結果、以下の知見が得られた。

各種魚類の未利用部位調製“煮ごり”は、いずれも咀嚼困難者用に適する硬さのゲル強度が得られる調製条件を確立できた。また、これらの試料はいずれも高いペルオキシラジカル捕捉活性を有していることが明らかとなった。さらに醤油を添加することにより、これらペルオキシラジカル捕捉活性は増強され、官能評価からも総合的に好まれた。

終わりにあたり、本実験試料であるサケの頭をご提供いただきました、(株)カネセフーズ魚谷益三氏に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究内容は International Journal of Molecular Medicine (Vol.20, 2007) に掲載された内容を和文にまとめたものです。

引用文献

- 1) 永塚規衣、海宝朝実、倉内真友美、松下和弘、仁科正実、長尾慶子 (2005), “煮ごり”のゲル化の研究—材料及び調理条件の影響について—, 日本食生活学会誌, **15**, 247-252
- 2) 永塚規衣、大川祐輔、木元幸一、長尾慶子 (2006), “煮ごり”のゲル化の研究—調味料添加の影響—, 日本食生活学会誌, **16**, 320-326
- 3) Nagatsuka, N., Okawa, Y., Kimoto, K., Nagao, K. (2006), A study on gelation of chicken “Nikogori” (jelly-shaped food): Change of soluble components and rheological properties under several heating conditions, J. Home Econ. Jpn., **57**, 453-460
- 4) Nagatsuka, N., Harada, K., Ando, M., Nagao, K. (2005), Effect of soy sauce on the antioxidative capacity of the gelatin gel food ‘Nikogori’ measured using the chemiluminescence method, Int. J. Mol. Med., **16**, 427-430
- 5) Nagatsuka, N., Harada, K., Ando, M., Nagao, K. (2006), Radical scavenging activity of chicken

- jelly soup as the medicated diet 'Yakuzen' made from gelatin gel food 'Nikogori' measured using chemiluminescence and electron spin resonance (ESR) methods, *Int. J. Mol. Med.*, **18**, 107-111
- 6) 永塚規衣、原田和樹、安藤真美、長尾慶子 (2007), 化学発光 (ケミルミネッセンス) 法による醤油添加“煮ごり”のラジカル捕捉活性効果—“煮ごり”材料及び醤油の種類による影響—, *日調科誌*, **40**, 179-183
- 7) 福田裕 (1987), 秋サケの利用加工⑩秋サケの内臓、骨、精巢などを魚肉煉製品に利用する試み (各部位の魚肉ゲル化に及ぼす影響), *水産の研究*, **6**, 92-100
- 8) 栄養調理関係法令研究会 (2007), 栄養調理六法, 新日本法規, 愛知, pp618-619
- 9) Harada, K., Ando, M., Kitao, S., Sakamoto, Y., Kobayashi, M., Tamura, Y. (2002), Measurement of antioxidative capacity of fish sauce using chemiluminescence method, *Fish Sci. (in Japanese)*, **68** (Suppl. 2), 1437-1440
- 10) arada, K., Okano, C., Kadoguchi, H., Okubo, Y., Ando, M., Kitao, S., Tamura, Y. (2003), Peroxyl radical scavenging capability of fish sauces measured by the chemiluminescence method, *Int. J. Mol. Med.*, **12**, 621-625
- 11) Ando, M., Harada, K., Kitao, S., Kobayashi, M., Tamura, Y. (2003), Relationship between peroxy radical scavenging capability measured by e method and an aminocarbonyl reaction product in soy sauce, *Int. J. Mol. Med.*, **12**, 923-928
- 12) Kitao, S., Fujii, K., Teramoto, M., Harada, K., Ando, M., Tamura, Y. (2005), Rapid and sensitive method for evaluation of radical-scavenging activity using peroxy radicals derived 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride and luminol chemiluminescence, *Food Sci. Technol. Res.*, **11**, 318-324
- 13) Sioen IA, Pynaert I, Matthys C, De Backer G, Van Camp J, De Henauw S (2006), Dietary intakes and food sources of fatty acids for Belgian women, focused on n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids, *Lipids* **41**, 415-422
- 14) 末網邦男、前川敬世、陳俊榮、原田和樹、浜田盛承、申錫雨 (2004), 魚鱗コラーゲンのペプシン消化物からの抗酸化ペプチドの分離と同定, *水産大学校研究報告*, **52**, 57-62
- 15) 江崎秀男、川岸舜朗、大沢俊彦 (2002), 醤油中のオルトジヒドロキシイソフラボン含量とその抗酸化性, *日食科工誌*, **49**, 476-483