## 飲用海洋深層水で調製した昆布とかつお削り節だしの うま味強化と in vitroにおける タイトジャンクション関連タンパク質の発現亢進作用

Enhancing effects of the soup stock prepared with drinking deep seawater by using seaweed and dried bonito on the taste and the expression of tight junction-related protein *in vitro* 

山田勝久<sup>1</sup>・山本 樹<sup>1</sup>・柴田雄次<sup>1</sup>・野村道康<sup>1</sup>・今田千秋<sup>2</sup> Katsuhisa Yamada<sup>1</sup>, Tatsuki Yamamoto<sup>1</sup>, Yuji Shibata<sup>1</sup>, Michiyasu Nomura<sup>1</sup> and Chiaki Imada<sup>2</sup>

#### Abstract

The characteristics of the soup stock made from seaweed and dried bonito prepared with drinkable deep seawater (DSW water) were compared with those prepared with tap water (Tap water) and natural mineral water (NM water). As a result, there was remarkable difference of the taste among the three kinds of soup stocks although there were little differences of the pH value and turbidity. As a reason why the taste of the soup stock prepared with DSW was the best one in this study, it was suggested that the characteristics of the tastes of the soup stocks were determined by the concentrations of sodium (Na) and potassium (K) included in the water. Furthermore, the soup stock made from seaweed and dried bonito prepared with DSW water accelerated the expression of tight junction (TJ) -related protein "Occludin (OCLN)" using an intestinal epithelial model by Caco-2 cells. However, the soup stock prepared with Tap water showed much weaker effect on the expression of OCLN. Because the soup stock made from dried bonito only showed the most remarkable accelerating effect on the expression of OCLN, it was suggested that the accelerating effect of the soup stock made from seaweed and dried bonito prepared with DSW water on the expression of OCLN was caused by substances in the soup stock made from dried bonito only prepared with DSW water.

From these results, it was elucidated that the soup stock made from seaweed and dried bonito prepared with DSW showed not only good taste but also accelerating effect on the expression of TJ-related protein.

Key Words: Caco-2, deep seawater, occludin, soup stock, taste

### 要旨

飲用海洋深層水(以後,DSW water)を用いて昆布とかつお削り節から調製しただしの特徴を水道水(以後,Tap water)および市販のナチュラルミネラルウォーター(以後,NM water)で調製しただしと比較した。その結果,pH値,濁度にはほとんど違いはなかったが,それら3種の供試水で調製されただしの味には,顕著な差異が見られた。本研究において,DSW waterを用いて調製しただしの味が最も高く評価されたのは,だし中に含まれるナトリウム(以後,Na)およびカリウム(以後,K)の含有量の違いに起因すると推察された。また,DSW waterで調製しただしをCaco-2細胞による腸管上皮モデルに添加したところ,タイトジャンクション(以後,TJ)関連タンパク質であるオクルディン(以後,OCLN)の発現が明らかに亢進した。しかし,Tap waterを用いただしによるOCLN発現亢進はそれに比べて弱かった。ところがDSW waterを用いてかつお削り節のみか

 $<sup>^1</sup>$  株式会社ディーエイチシー(〒106-0047 東京都港区南麻布2-8-21 南麻布 $\mathrm{MIC}$ ビル7F)

<sup>2</sup> 国立大学法人 東京海洋大学 大学院(〒108-8477 東京都港区港南4-5-7)

ら調製しただしの添加は、顕著にOCLNの発現を亢進させたので、DSW waterを用いて昆布とかつお削り節から調製しただしのOCLN発現促進効果は、DSW waterを用いてかつお削り節から調製しただし中に含まれる成分に起因することが示唆された。

これらの結果から、DSW waterを用いて昆布とかつお削り節から調製しただしは、うま味が強い上に腸管上皮のTJ関連タンパク質の発現を亢進する作用を有していることが示唆された.

キーワード:味, オクルディン, 海洋深層水, Caco-2細胞, だし

#### 1. 緒 言

だしの調製に用いられる水が、得られるだしの特 徴に対して少なからぬ影響を及ぼすことが古くから 知られている. これに関する科学的な研究として は、水の硬度とだしの特徴の関係を調査した坂本ら (2007), 鈴野ら(2008), 奥嶋ら(2009)等の報告が ある. わが国では水の硬度を, 水1L中に含まれる カルシウム(以後, Ca)量とマグネシウム(以後, Mg) 量の総和を炭酸Ca量に換算 (mg/L) して表すこ とになっている(坂本ら,2007). 水の硬度として 単純に換算されるCaとMgであるが、生体内では互 いに拮抗して働くことはよく知られている(糸川、 1994). また陸水と海水ではそれらの存在量や存在 比に大きな相違が見られることも周知のとおりであ る (鷹城, 1990). 陸水とは異なる特徴を有する海 水の利活用として今世紀に入ってわが国の各地で海 洋深層水(以後、DSW)が取水されるようになり、 その後DSWを起源とした各種清涼飲料水が製造さ れて今日広く流通するに至っているが(田村, 2006), 飲料水市場における陸水を起源とする飲料 水との競合状態下では、DSW起源の飲料水として の有用性を客観的に検証してその利活用における幅 広い可能性を探索することが重要な課題と考えられ る. なお本研究のDSWとは、一般に200m以深から 取水される海水であり、食品への利用に好適とされ る特徴としては、その清浄性および多様なミネラル の含有が挙げられる(藤田・高橋, 2006). 世界的 にはハワイや台湾、韓国でも事業展開が行われてい るが、その中でもわが国は先進的な地位を有し、そ の事業実績は既に20有余年の歴史がある(高橋. 2006). またDSWを起源とする飲料水に関する医 療、健康分野の研究に関しては、既に80報を超え

る報告がある(山本ら, 2018)が、これらのほとん どは海洋深層水由来のミネラルを高含有させた嗜好 的に飲用が歓迎され難い飲料水を一定期間継続的に 飲用して得られた知見であり、 ミネラルがより低濃 度で嗜好的にも飲用に何ら支障がない海洋深層水起 源の飲料水を調理に利用した際の健康効果について 調べた報告は未だ見られない、そこで本研究では、 DSW waterを用いて昆布とかつお削り節から調製し て得られる一番だしの特徴と、健康効果に関する基 礎的な研究として、食品の消化吸収を司ると同時に 食品抗原や細菌などに常に曝露されていることか ら、内なる外と呼ばれる腸管のバリア機能(宮本 ら, 2017) に着目し、ヒト結腸がん由来Caco-2細胞 (以後、Caco-2細胞)を用いて腸管上皮モデルを作製 し、これに上述の一番だしを添加して腸管バリア機 能の基盤であるTJ関連タンパク質の遺伝子の発現 変動およびTJ発現に及ぼす影響を調査することを 目的とした. なお比較対照として, 陸水起源であ り、かつ一般家庭においてだし調製に最も汎用され ている飲料水である水道水(以後, Tap water) およ び市販のペットボトル入りナチュラルミネラル ウォーター(以後, NM water)を設定した。その結 果について本報にて報告する.

## 2. 材料と方法

### 2.1 一番だしの調製

だしの調製にあたっては、川上ら (2011) の方法を参考にし、だし調製に供する素材量を用いる水量に対して1% (w/v) 量とした.即ち市販の飲用海洋深層水 (以後,DSW water;DHC海洋深層水、ディーエイチシー) 200 mLを供試水としてビーカー (200 mL容) に移し、これに2gの昆布 (切り出し昆

布、東昆)を投入して室温で30分間浸漬した後に、沸騰水浴上で供試水が80℃に到達した時点で昆布を除去し、これに上述の操作と同様に水に対して2gのかつお削り節(花かつお;カビ付け工程なし、ヤマキ)を添加してさらに加温を続け、88℃になるまで抽出した。88℃に到達後直ちにキッチンペーパー(リードヘルシークッキングペーパー、ライオン)で濾過して得られただしを一番だしとして試験に供した。なお比較対照として、Tap water(東京都港区)およびNM water(南アルプスの天然水、サントリー)を用いて同様に操作して一番だしを調製した。なおいずれの供試水についてもこの操作を3回行い、得られた一番だし(n=3)は必要に応じて等量ずつ合一し、以後の評価に供した。

なお、本研究に供した3種の供試水中に含まれる ミネラル含有量及び硬度をTable 1に示す.

Table 1 Concentrations of contained minerals in three kinds of test water

Mineral element	Tap water	NM water	DSW water
Na (mg/dL)	1.2	0.4-1.0	4.8-6.1
K (mg/dL)	2.0	0.1-0.5	0.2 - 0.4
Ca (mg/dL)	2.1	0.6-1.5	0.2 - 0.3
${\rm Mg} \ ({\rm mg/dL})$	0.5	0.1-0.3	0.5-1.0
Hardness (mg/L)	ab. 68	ab. 30	ab. 32

Indicated data of DSW water and NM water are the results analyzed by the manufacturers.

Minerals of Tap water in Minato-ku, Tokyo, was analyzed by the Tokyo metropolitan water works bureau.

## 2.2 3種の供試水で調製した一番だしの官能評価

インフォームドコンセントが得られた22歳から62歳の男女18名 (男15名,女3名)のボランティアモニターにDSW water, NM waterおよびTap waterで調製した一番だしを試飲してもらい,色調,香り,うま味,癖,硬さの5項目に対する官能評価を行った.なお採点方法はモニターの主観的評価とし,最高得点を5点として最低得点の1点までを1点刻みで採点するようにした.

# 2.3 DSW waterで調製した一番だしの化学的特性の比較

DSW waterで得られた一番だしの特徴について、

外観(目視)、pH(Docu-pH<sup>+</sup> meter, Sartrius)、濁度 (OD<sub>660</sub>, 可変分光光度計U-2800, 日立製作所)を測定した。また一番だし中の主要ミネラル (Na, K, Ca, Mg) の分析は、ICP発光分光分析装置 (SPS7800, 日立ハイテクサイエンス)を用いて行った。なお供試水自身のpH, 硬度 (平沼自動滴定装置COM-1600, 平沼産業) および主要ミネラルも同様に測定した。なお2.2節の官能評価の結果、Tap waterとNM waterの間には差異が認められなかったので比較対照はTap waterのみとし、試験以後の評価ではDSW waterとTap waterの2種の供試水で行うことにした。

## 2.4 DSW waterで調製した一番だし中のうま味 関連成分比較分析

得られた一番だしのうま味関連成分の含有量を調 査するために、2.1節の操作で3回行って得られた一 番だしを合一してアミノ酸自動分析法による16種 類のアミノ酸分析を一般社団法人日本食品検査に依 頼した. なおイノシン酸については高速液体クロマ トグラフィー (以後、HPLC) による分析において、 検出限界以下となることがあらかじめ推察されたの で, 前川ら(2007)の方法を参考にして, 上述の合 一した試料から300 mLを正確に計り、エバポレー ター (45℃, 減圧) で濃縮した後, 正確に100 mLに なるように精製水で調製したものをイノシン酸分析 用試料とし, 一般社団法人日本食品検査に分析を依 頼した. なお比較対照としてTap waterから得られ た一番だしについても同様に操作して分析用試料を 調製し、一般社団法人日本食品検査に分析を依頼し た.

## 2.5 DSW waterで調製した各種のだしが腸管上 皮モデルのTJ関連タンパク質の遺伝子発現に 及ぼす影響

DSW waterを供試水として、昆布だし(かつお削り節を用いないこと以外は、2.1節の操作に準じて調製した)、かつお削り節だし(昆布を用いないこと以外は、2.1節の操作に準じて調製した)の単独のだしおよび2.1節の操作に準じて調製した一番だしを評価試料とした。これらの評価試料をCaco-2細胞

Gene name	Oligor	nucleotide sequence	Reference
CLDN3	Forward $(5' \rightarrow 3')$ Reverse $(5' \rightarrow 3')$	CACGCGAGAAGAAGTACACG GTAGTCCTTGCGGTCGTAGC	Brandner, J. M., and Schulzke, J. D. (2015)
CLDN4	Forward $(5' \rightarrow 3')$ Reverse $(5' \rightarrow 3')$	GGCTGCTTTGCTGCAACTGTC GAGCCGTGGCACCTTACACG	Tokés et al. (2005)
OCLN	Forward (5′→3′) Reverse (5′→3′)	ATGGCTGCCTTTTGTTTCAT ATGCCCAGGATAGCACTCAC	Brandner, J. M., and Schulzke, J. D. (2015)
ZO-1	Forward $(5' \rightarrow 3')$ Reverse $(5' \rightarrow 3')$	CTCCTGGATTTGGATTTGGA CTGTCCTTCAGCTGGTCCTC	Brandner, J. M., and Schulzke, J. D. (2015)

Table 2 Primer list for qPCR of TJ-related protein genes

(RCB0988, 理研バイオリソース研究センター)を培 養シャーレ (底面積, 21 cm²; サーモフィッシャーサ イエンティフィック) に3×10<sup>4</sup>個/シャーレになる ように播種し、0.35%グルコース(特級)和光純 薬). 1%MEM非必須アミノ酸溶液(ナカライテス ク) および1%ペニシリン・ストレプトマイシン混 液(ナカライテスク)を含有するように調製した 10% ウシ胎仔血清(Biollogical Industries) 含有 DMEM (日水製薬) 培地(以後, 高グルコース DMEM) で7日間前培養 (37℃, 5%CO<sub>2</sub> この間に2回 培地を交換)して作製した腸管上皮モデルを作製し た (D'Souza et al., 2006). これにDSW water を供試水 として得られた各種のだしを10% (v/v) になるよ うに調製した評価用培地を供して3時間培養した 後,市販キット (SuperPrep Cell Lysis & RT Kit for qPCR, 東洋紡) を用いてcDNAを作製し、TJ関連タ ンパク質としてクローディン(以後, CLDN)3, CLDN4遺伝子およびオクルディン(以後, OCLN) 遺伝子ならびに裏打ちタンパク質としてzonulaオク ルディン1(以後、ZO-1)遺伝子とこれらに加えて、 内在性対照遺伝子であるGAPDHの発現変動を市販 キット (THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix, 東洋紡) を 用いて定量PCR法を行い、対照遺伝子に対する標的 遺伝子のmRNA相対発現強度を比較Cr法により解 析した.なお定量PCRに用いた各遺伝子のプライ マーの塩基配列をTable 2に示す.

## **2.6 DSW water**で調製した各種のだしがTJに及 ぽす影響

2種の供試水で調製した一番だしのTJへの影響を 調べるために、2.5節で最も大きな遺伝子発現の変

動が見られたTJ関連タンパク質OCLNを指標とし て、先述の腸管上皮モデルに2.5節でも用いた昆布 だし、かつお削り節だしの各々単独および一番だし を評価試料として, これらの評価試料が10% (v/v) 含有されるようにそれぞれ調製した高グルコース DMEM に交換して6時間評価培養 (37℃, 5%CO₂) を 行った. 培養後, 培地を除去して1 mLのPBS (-) (日水製薬)で3回洗浄を行い、1mLの冷メタノー ル(試薬特級,和光純薬)を注いで氷冷下(-20℃) で30分間静置して細胞を固定した. 固定後シャー レからメタノールを除去した後、1 mLの0.5% Triton X-100含有PBS(-)を添加して室温で5分間静置し た. 次に0.5% Triton X-100含有PBS (-) を除去した 後, 1 mLのPBS (-) で3回洗浄後, PBS (-) で10 倍に希釈したヤギ血清(Vector Laboratories)で Caco-2細胞をブロッキング処理(室温, 30分間)し た. 処理後ブロッキング液を除去して1 mLのPBS (-) で洗浄した後, 0.5% Triton X-100 含有PBS (-) で200倍に希釈したウサギ由来の抗OCLNモノクロ ナール抗体 (Abcam) を添加して冷蔵庫 (4℃) 内で 一晩静置した. 一晩静置後シャーレをPBS(-)で 十分洗浄し, 0.5% Triton X-100含有PBS (-) で500 倍に希釈したヤギ由来抗ウサギIgG抗体(蛍光標識 付, Invitrogen) を添加して室温, 暗所で1時間静置 した後、PBS(-)で洗浄して蛍光顕微鏡(Model BX51TF, オリンパス) を用いて観察した (Brandner et al., 2015).

#### 2.7 統計処理

実験データは平均値±標準偏差で表し、Steel-Dwassによる多重解析およびStudent's t-testによる二

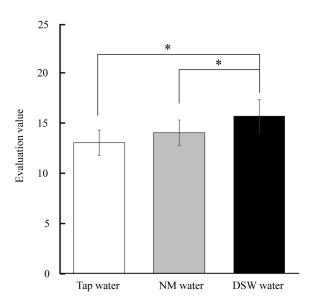


Fig. 1 Comparison of the whole taste of soup stocks prepared with three kinds of test water by sensory evaluation on five properties including umami-taste. Soup stocks were made from both of seaweed and dried bonito. Significant differences were observed on soup stocks prepared with the following test water groups; Tap water vs. DSW water, NM water vs. DSW water. The soup stock prepared with DSW water had the best taste among the three of them. On the other hand, there was little difference between NM water and Tap water (n=18, mean±SD, \*p<0.05, Steel-Dwass test, ANOVA).

群間検定により有意差を判定した.

## 3. 結果

## 3.1 3種の供試水で調製した一番だしの官能評価

2.2節の方法で行った色調,香り,うま味,癖,硬さの5項目に対する官能評価モニターアンケートの結果,総合評価で供試水としてDSW waterの評点が有意 (p<0.05) に高かったが,tap waterとNM waterの間には有意差は認められなかった (Fig. 1). またDSW waterとtap waterの比較では,5項目のうち色調,香り,癖および硬さに有意差は認められなかったが,うま味に関しては有意差 (p<0.05) が認められた (Fig. 2).

#### 3.2 一番だしの化学的特性

官能評価で有意差が認められたDSW waterとtap waterより得られた一番だしの化学的な特徴をTable

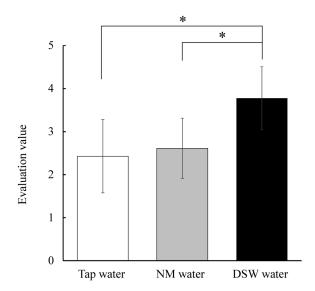


Fig. 2 Comparison of the umami-taste of the three kinds of soup stocks. The soup stock prepared with DSW water showed the best umami-taste among those on the evaluation of its taste. (n=18, mean $\pm$ SD, \*p<0.05, Steel-Dwass test, ANOVA).

Table 3 Characteristics of two kinds of the soup stocks prepared with Tap water and DSW water

Observation	Tap water	DSW water
Appearance	Buff clear liquid	Buff clear liquid
pH (20℃)	$5.70 \pm 0.02$	$5.50 \pm 0.02*$
Turbidity $(OD_{660})$	$0.017 \pm 0.003$	$0.026 \pm 0.005$
Minerals (mg/100 mL)		
Na	$35.36 \pm 0.72$	$62.78 \pm 0.97**$
K	$22.14 \pm 3.54$	63.62 ± 2.01**
Ca	$1.75\pm0.16$	$0.96 \pm 0.02$
Mg	$2.03 \pm 0.05$	$1.95 \pm 0.04$

In all of the observations for soup stocks prepared with two kinds of test water, pH value and contents of Na and K showed significant differences between DSW water and Tap water (n = 3, mean  $\pm$  SD, \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, Student's t-test).

Table 4 Comparison of two kinds of the soup stocks on the concentrations of the umami-related substances

Harrist aday day barance	Concentration (mg/100 g)		
Umami-related substance —	Tap water	DSW water	
Glutamic acid	19	20	
Aspartic acid	6	7	
Histidine	26	26	
Inosinic acid	9	10	

3に示す. 本研究で挙げた観察項目 (外観, pH値, 濁度) において, 供試水間にはpHが有意に (p< 0.05) 相違した. さらにミネラル含有量, 特にNaと

Kの含有量において顕著な違い (p < 0.01) が認められた.

## 3.3 2種の供試水で調製した一番だしのうま味関 連成分比較分析

2.4節の方法で、2種の供試水を用いて調製した一番だし中のうまみ成分について分析した結果、検出下限値以上として分析し得たうまみ成分は、グルタミン酸、アスパラギン酸、ヒスチジンおよびイノシン酸の4成分のみであったが、これらについては供試水間による差異はほとんど見られなかった(Table 4).

## 3.4 DSW waterで調製した各種のだしが腸管上 皮モデルのTJ関連タンパク質の遺伝子発現に 及ぼす影響

2.5節の操作に従ってCaco-2細胞を用いた腸管上皮モデル系を用い、これにDSW waterで調製した各種だしを供して、腸管において外界からの異物や毒

物の体内侵入バリアの機能(小梅ら,1997)を担っているTJ関連タンパク質のうち2.5節で述べた4種のタンパク質の遺伝子発現変動について調査した.その結果、DSW waterで調製した各種だしは、CLDN3、CLDN4およびZO-1の遺伝子変動には全く影響しなかったが、かつお削り節だしと一番だしはOCLNの遺伝子発現を増加させる傾向が見られ、統計的解析の結果、昆布とかつお削り節との間には有意差が認められた(Fig. 3).

# 3.5 DSW waterで調製した各種のだしがOCLN の発現に及ぼす影響

3.4節でCaco-2を用いた腸管上皮モデルにおいて明瞭な遺伝子発現変動を示したTJ関連タンパク質であるOCLNをTJの指標として、DSW waterで調製した一番だしを上述の腸管上皮モデルに供した結果、TJの強い蛍光染色が認められた(Fig. 4A). 一方、Tap waterで調製した一番だしを供しても、TJの蛍光染色は殆ど見られなかった(Fig. 4B). なお

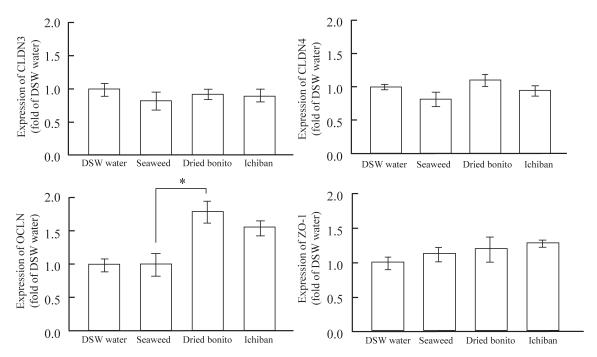


Fig. 3 Supplemental effects of various kinds of soup stocks prepared with DSW water on the expression of TJ-related protein genes evaluated by an intestinal epithelial model using Caco-2 cells (n=5, Mean±SD). The soup stock, Ichiban, was made from both of seaweed and dried bonito. Acceleration effect of the soup stock prepared with DSW water on the expression of TJ-related protein gene was observed in the case of the expression of OCLN gene. As a cause of the acceleration effect, the relationship between DSW water and dried bonito was suggested because there was little relation between DSW water and seaweed. The asterisk indicates a significant difference on the expression of OCLN gene between seaweed and dried bonito (n=4, \*p<0.05, Student's t-test).

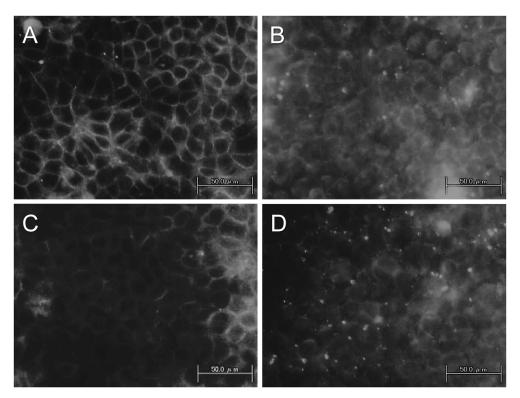


Fig. 4 Comparison of two types of soup stocks on the expression of OCLN as a TJ-related protein. OCLN was visualized by immunostaining with anti-OCLN monoclonal antibody. Pictures show the of supplementation of the following groups of soup stocks; Picture A, the soup stock, Ichiban, prepared with DSW water; Picture B, the soup stock, Ichiban, prepared with Tap water; Picture C, DSW water only (as a control); Picture D, Tap water only (as a control). On the expression of OCLN, the soup stock prepared with DSW water was more remarkable than that prepared with Tap water. Although DSW water itself slightly accelerated the expression of OCLN, Tap water showed little effect on the expression of OCLN.

本実験において、弱いながらDSW water自身にもTJの蛍光染色が認められたが (Fig. 4C)、Tap water自身には、TJの蛍光染色は殆ど見られなかった (Fig. 4D)、また、DSW waterで調製した一番だしの昆布とかつお削り節のどちらの成分がTJ発現の増強に寄与しているかを調べるために、昆布とかつお削り節についてそれぞれ単独でDSW waterを用いてだしを調製して先述の腸管上皮モデルに供した結果、かつお削り節だし (Fig. 5C) には一番だし (Fig. 5A) 同様にTJの強い蛍光染色が認められたが、昆布だしを供試したTJの蛍光染色の程度 (Fig. 5B) は、DSW water自身 (Fig. 5D) と同様に微弱であった。

#### 4. 考 察

ヒトの身体にとって海水のミネラル組成は、ヒト の血清成分中のミネラル組成に近似していることが 知られており(木村ら,2007)、その中でも地球最

後の有望資源として注目されているDSWは、ヒト の健康分野への利用が大いに期待されている(高 橋, 2013). またDSWを起源とした飲料水の開発も DSWの各取水地で盛んに行われており, 一部の飲 料水については既に健康の維持、増進に及ぼす影響 に関する研究報告が見られる(山本ら, 2018). 元 来飲料水は水道水に代表されるように、飲用に留ま らず調理にも利用されている。既に陸水起源のNM waterが炊飯や調理に幅広く利用されていることは 周知のとおりである. こうした背景を鑑み、DSW waterの調理分野への応用を展望し、本研究では 2013年12月にユネスコ無形文化遺産として登録さ れて世界的な注目を浴びるようになった和食への利 用にあたり、その基盤となる「だし」を調製する水 としてのDSW waterの可能性について検討した. 既 にNM waterを供試水として用いて調製しただしの 研究例として、供試水の硬度とだしの嗜好性と溶出 成分に関する坂本ら(2007)や奥嶋ら(2009)の報告

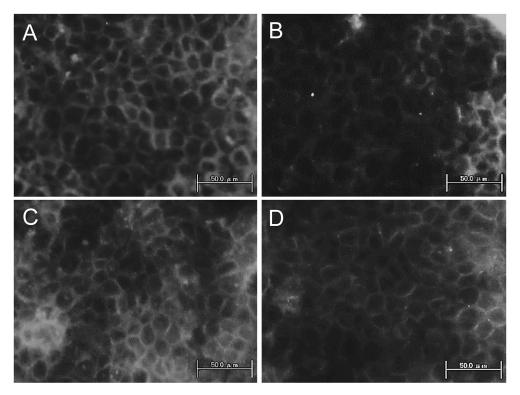


Fig. 5 Comparison of various kinds of soup stocks on the expression of OCLN as a TJ-related protein. OCLN was visualized by immunostaining with anti-OCLN monoclonal antibody. Pictures show the effects of soup stocks prepared with DSW water using following materials; Picture A, both of seaweed and dried bonito; Picture B, seaweed only; Picture C, dried bonito only; Picture D, DSW water as a control. In this study, accelerating effect on the expression of TJ-related protein was induced by soup stocks prepared with DSW water using both of seaweed and dried bonito (A) and dried bonito only (C). Therefore, it was suggested that there was an interactive effect between DSW water and dried bonito.

がある. しかしながらそれらの研究の主眼となって いる水の硬度という値は、CaとMgの総和で算出さ れ、そこに含まれるCaとMgの組成比は考慮されて いない. そこで著者らは、同硬度の供試水でもCa とMgの含有比が異なればだしの味や機能も相違す るのではないかと考えて本研究に取組んだ. その結 果, 比較対照として設定したNM waterとtap water の間には得られただしの味に差異は見られなかった が、DSW waterで調製した一番だしは先の二者の供 試水で得られただしの味よりも好評価が得られた. うま味の官能評価において供試水としてのNM waterとtap waterの二者間に差異が認められなかっ たので、以後はDSW waterの対照供試水としてTap waterを設定して検討を進めることにした. 次に DSW waterとTap waterで各々調製しただしの味の 違いについて検討するために、両者のだし中に含ま れるうま味関連成分の含有量を調べた. その結果, 得られたうま味関連成分の含有量は両者の間に差異

は見られなかったが、DSW waterで調製した一番だ し中には素材由来のNaやKが多量に溶出している ことがわかった. Naを含有する塩には味強化効果 (河合, 2017) が知られており、本研究で得られた DSW waterで調製した一番だしの味に対する好評価 は、これらの塩分による味の強化効果に起因するも のと推察された. なお、DSW waterで調製した一番 だし中に素材由来と思われるNaやKがTap waterで 調製した一番だしに比べて多く検出された理由につ いては、今後の検討課題である. 次に一番だしが有 する機能探索を目的として実施したCaco-2細胞を用 いた腸管上皮モデルにおける分子生物学的な検討の 結果, DSW waterで調製した一番だしがTJ関連タン パク質の一種であるOCLN遺伝子の発現を特異的に 亢進させることが確認され、これを基に検討した免 疫化学的手法によるタンパク質レベルの検討の結 果, DSW waterで調製した一番だしにOCLNの発現 亢進が確認された. DSW water で調製した一番だし

のOCLN発現亢進の起因成分について、DSW water 自身およびこの供試水でだし素材を個別に調製して上述の腸管上皮モデルに供したところ、供試水自身にもわずかながらOCLNの発現増強が見られたが、かつお削り節だしにはより明瞭なOCLNの発現亢進が認められた。このことからDSW waterで調製した一番だしのTJ発現の亢進は、かつお削り節中の成分とDSW water中の成分の相互作用によるものと推察されるが、その具体的な成分を特定するには更に詳細な検討が必要と思われる。

本研究の結果. DSW waterで調製した一番だしに は、その味においてNM waterおよびTap waterで調 製した一番だしに比べて有意に高い評価が得られ た. なお本研究の供試水中である Tap water は硬度 が68と最も高かったが、硬度が30のNM waterおよ び硬度が32のDSW water はそれに比べて共に硬度が 低い供試水であった。このことから、一番だしの味 については単純に供試水の硬度の高低だけではな く、CaとMgの組成比も影響する可能性が示唆され た. 特に和食に供されるだし素材には、本研究で供 したように海産加工品が多いことから、だしの調製 時における作用機序は不明であるが、その組み合わ せとして海水起源の供試水がより好適なのかもしれ ない. この点についての詳細な検討は今後の研究課 題である. またDSW waterで調製した一番だしに は、免疫化学染色レベルではあるがTJ関連タンパ ク質の一種であるOCLNの発現亢進が認められ、こ れはかつお削り節中の成分とDSW water 中との成分 による相互作用であると推察された. これまでは専 ら味自身が興味の対象であっただし用の素材と供試 水との関係において、本研究の結果からDSW water を用いて昆布とかつお削り節から調製した一番だし が腸管上皮の機能にも影響を及ぼす可能性が示唆さ れたことから、和食の基盤であるだしが腸管上皮以 外にも健康の維持・増進に貢献し得る可能性が推察 される. 近年だしの機能性について山田ら(2010) や天ヶ瀬ら(2011)の報告が見られるようになって きたが、特にCaに比べてMgを多含するDSW water を供試水としただしの研究は見られない. 今後は和 食のだしに留まらず、世界中のだしをDSW waterで

調製して得られるだしの旨みをはじめ、健康に与える影響を調べて、DSW waterの調理分野への利用の意義と可能性について研究を進める予定である.

## 参考文献

- 天ヶ瀬紀久子・中村英志・加藤伸一・竹内孝治 (2011) グルタミン酸による消化管粘膜保護作 用. YAKUGAKU ZASSHI, 131, 1711-1719.
- Brandner, J. M., and J. D. Schulzke (2015) Hereditary barrier-related disease involving the tight junction: lessons from skin and intestine. Cell Tissue Res., 360, 723–748.
- D'Souza, V. M., H. G. Shertzer, A. G. Menon and G. M. Pauletti (2003) High glucose concentration in isotonic media alters Caco-2 cell permeability. AAPS Pharm. Sci. Technol., 5, 17–25.
- 藤田大介・高橋正征編 (2006) 海洋深層水利用学. 成山堂書店,東京.
- 糸川嘉則 (1994) カルシウム, マグネシウムの生体 中での挙動. 無機マテリアル, 1,420-426.
- 河合崇行 (2017) 食品における塩味の増強効果とその評価. 醸協, 112, 22-28.
- 川上育代・我如古菜月・池上由美・湯之上祐子・松 添直隆・北野直子(2011)女子大生における味 覚感度の現状と「だし」の嗜好性. 栄養学雑誌, 69,10-19.
- 木村美恵子 (2007) 海のミネラルと健康. Biomedical Research on Trace Elements, 28, 336–345.
- 小梅康夫・鐘 雲・榎本克彦・沢田典均・森 道夫 (1997) 生体バリアの本体:タイト結合の分子 構造と機能生物学.蛋白質核酸酵素,42,643-651.
- 前川隆嗣・甘庶志帆乃・石盛嘉浩・榎原周平・渡邊 敏明 (2007) かつお節および昆布の抽出液にお けるアミノ酸組成の産地による比較検. 微量栄 養素研究, 24,191-197.
- 宮本潤基・鈴木拓弥・木村郁夫・田辺創一(2017) 腸内細菌脂質代謝物に見いだされた腸管バリア 保護機能腸管環境から健康増進. 化学と生物, 55,278-284.
- 奥嶋佐知子・高橋敦子 (2009) 硬度の異なるミネラ ルウォーターで調製しただしのミネラル含有量 と食味について、日本家政学会誌, 60,957-967.
- 坂本真里子・河野一世・熊谷まゆみ・赤野裕文・畑 江敬子(2007)水の硬度が煮出し汁の嗜好性と 溶出成分に及ぼす影響. 日本調理科学会誌, 40,427-434.
- 鈴野弘子・豊田美穂・石田 裕(2008) ミネラル ウォーター類の使用が昆布だし汁に及ぼす影

- 響. 日本食生活学会誌, 18,376-381.
- 鷹城一夫 (1990) マグネシウム資源とマグネシウム の製造方法.素材物性学雑誌,3,97-117.
- 高橋正征 (2006) 海洋深層水利活用へのDOWASの貢献. 海洋深層水研究, 18,69-70.
- 高橋正征 (2013) 海洋深層水の利活用の現状と今後 の展開について. 海と港, 31,2-23.
- 田村光政(2006)海洋深層水の食品・飲料水への利用.海洋深層水利用学,初版,藤田大介,高橋 征正編,成山堂書店,東京,111-118.
- Tokés, A. M., J. Kulka, S. Paku, A. Szik, C. Páska, P. K. Novák, L. Szilák, A. Kiss, K. Bögi and Z. Schaff (2005)

- Claudin-1, -3 and -4 proteins and mRNA expression in benign and malignant breast Lesions: a research study. Breast Cancer Res., **7**, R296–305.
- 山田 潤・赤堀雄介・松田秀喜・長谷川喜朗・前田 俊道・原田和樹 (2010) 鰹だしおよび各種だし におけるDPPHラジカル消去活性とORAC値の 相関性の検討. 日本調理学会誌, 43,201-205.
- 山本 樹・山田勝久・許 鳳浩・鈴木信孝・高橋正 征 (2018) 海洋深層水の未病・予防医学分野に おける展望. 日本補完代替医療学会誌, 15, 67-77.