

学生実験を通して得た食品栄養学的知見

村 上 俊 男

長年に渡り栄養士養成課程における実験を担当してきて、教育的な配慮から、古典的なテーマの内容に私なりのアレンジを加えたケースが多々ある。結果として新発見とまでは言えないが、興味深かつ納得のいく知見が得られた数例について紹介した。そのタイトルは、(1)緑茶のタンニン濃度、(2)リンゴジュースの酸度、(3) ビタミンCの損失、そして(4) 唾液アミラーゼの活性である。

キーワード：実験テーマのアレンジ、緑茶のタンニン濃度、リンゴジュースの酸度、ビタミンCの損失、唾液アミラーゼの活性

I. はじめに

長年に渡り、栄養士養成課程における生化学実験と食品学実験を担当していて、それぞれの分野で著名な先達が著した数冊の教科書^{1)~4)}を参考に、十数回のテーマを組み立ててきた。しかし、同じテーマを何年かこなしていくうちに、教育的な配慮から、もう少しこう変えた方がいいのではないかと、これを追加した方がよくわかるのではないかと、修正すべき箇所が生じてきた。そして、私なりのオリジナリティーを加えてアレンジした形で授業に取り組んだケースが幾つかある。

本稿ではそれらの中から、特に、ささやかではあるが新知見としてもいいと思える結果や新たに示されるとなるほど納得できると言える結果について、数例を紹介したい。

II. 実験方法

1. 緑茶タンニンの測定

1) 煎茶の入れ方

急須に市販の100 g 千円程度の煎茶 3 g と90℃にセットしたポットの湯を100mlを入れてよく混合し、1分後に全部出し切る（一煎目）。同じ急須に同温の湯を同量加えてよく混ぜ、30秒後に二煎目を出す。同様にして、三煎目、四煎目も出す。

2) タンニンの定量

酒石酸鉄試薬（0.5%酒石酸カリウムナトリウム－0.1%硫酸鉄(II)）による比色定量を行った。すなわち、緑茶抽出液（＋水）1 mlに、0.2Mリン酸緩衝液(pH7.5) 3 mlと上記の発色剤1 mlを加えて黒紫色を呈させて、波長540nmにセットした光電比色計（スペクトロニック20＋：島津-ボッシュロム社製）で読み取った吸光度を、同条件での没食子酸エチル標準溶液（0, 10, 20mg/dl）による検量線に当てはめた。緑茶中のタンニン濃度（X）は次式により求めた。

$$X(\text{mg/dl}) = \text{没食子酸エチル}(\text{mg/dl}) \times 1.5 \times \frac{1.0(\text{ml})}{\text{緑茶液量}(\text{ml})}$$

(*濃度aの没食子酸エチルと1.5aの濃度の緑茶タンニン液の発色度が同程度であるため)

2. 酸度測定

中和滴定を用いた。すなわち、0.1MNaOHを標準溶液、フェノールフタレインを指示薬に、リンゴジュース10 mlに対して微赤色の認められるところを終点とした。得られた滴定値 v' (ml)を元に、公式($a M v = b M' v'$)に当てはめて酸のモル濃度を計算し、最終的にはリンゴ酸相当の重量%濃度で求めた。指示薬が無色から微赤色に変化するところを終点とするため、オレンジやグレープなどの色の濃いジュースは適用できず、リンゴジュースにした。

3. ビタミンCの測定

1) 試料液の調製

おろし金でおろした大根おろし5 gをビタミンC定量の試料とした。定量用の試料液は、この5 gに様々な処理を施した後、5%メタリン酸20mlと水25mlを加えて50 g(ml)にしたものを濾過して得た(元の大根の10倍希釈液)。加熱実験の場合には、大根おろしに水を予め加えた状態で沸騰浴5分間(水煮)、あるいは大根おろしのみで電子レンジ(500W強)3分間処理した。両者の加熱時間はほぼ90℃に到達する時間として設定した。酵素実験では大根おろし30 gにニンジンおろしあるいはキュウリオろしを6 g加えてよく混ぜて反応をスタートし、経時的に混合試料の6 g(大根おろしは5 g)を秤取りし、直ちにメタリン酸20mlと水24mlを加えて反応をストップした。酵素反応のゼロタイムには、酵素源であるニンジンおろしあるいはキュウリオろし1 gに先ずメタリン酸を混ぜた後に大根おろし5 gと水を加えたものを用いた。

2) ビタミンCの定量

食品中のビタミンCは一般に還元型(アスコルビン酸)として存在するが、加工や貯蔵過程

において容易に酸化されて酸化型となる。本来ビタミンCの定量では還元型と酸化型の総和として求める必要があるが、今回はインドフェノール法を用いて簡便に還元型のみを定量した。すなわち、2,6-ジクロルフェノールインドフェノール液をアスコルビン酸標準溶液で濃度検定し、その1mlがアスコルビン酸0.006～0.009mg位に相当するように調製する。このインドフェノール標準溶液の一定量(1～5ml)に対して、上記1)で調製した大根おろし(あるいはニンジンおろしやキュウリオろしとの混合物)の濾液で滴定し、インドフェノール液の色が赤から無色に変わるところを終点とした。得られた滴定値(ml)を次の式に当てはめて、試料中のビタミンC濃度(Y)を求めた。

$$Y(\text{mg/ml}) = \frac{(0.006 \sim 0.009\text{mg/ml}) \times \text{インドフェノール量(ml)}}{\text{滴定値(ml)}}$$

4. 唾液アミラーゼ活性の測定

各自の唾液2ml強を採取して、その2mlをNo.1の試験管に入れる。No.1の試験管から唾液の1mlを取ってNo.2の試験管に移し、生理食塩水を1ml加えてよく混合する。この操作でNo.1の試験管には唾液が1ml残り、No.2の試験管には2倍に薄められた唾液が2ml入っていることになる。同じ操作をNo.2とNo.3の試験管で行い、順次No.10まで繰り返す。最後にNo.10の試験管中の液を1ml捨てる。結果的にNo.1からNo.10までの各試験管には、順次等倍から2倍、4倍、…、最終512倍に希釈された唾液(酵素液)が1mlずつ入っていることになる。酵素反応は、それぞれの試験管に0.2Mリン酸緩衝液(pH6.5)2mlと1%可溶性デンプン液5mlを加えてスタートし、37℃で10分後に2M酢酸を2ml入れてスト

ップする。直ちに各試験管にヨウ素ヨウ化カリウム液を1ml加えてよく混合し、呈色の様子を観察する。ヨウ素デンプン反応が消失している試験管のうち最もNo.の大きい酵素反応の条件から、唾液アミラーゼの活性度（D）を次式より求めた。

$$D_{37^{\circ}\text{C}, 10'} = 5 \times \frac{1}{\text{酵素液量 (ml)}} \times \text{唾液の希釈倍数}$$

Ⅲ．結果と考察

1．緑茶中のカテキン含有量

カテキンはポリフェノール化合物の一種として、その抗酸化性から発がん抑制、血中コレステロール低下、血圧上昇抑制、抗菌などの作用や虫歯・口臭予防等々の効能が知られている⁵⁾。またカテキンは緑茶の「渋味」の正体でもあるので、渋いお茶ほどカテキンが多く含まれており、健康効果も高いことが伺える。

実験では、昔から家庭で飲まれている入れ方の煎茶（一煎目から四煎目迄）と市販されている数種のペットボトル茶のカテキン量を、タンニン（カテキンが主成分）濃度を指標に比較してみることにした。

結果は表1に示す通りであった。すなわち、

煎茶の一・二煎目のタンニン濃度が約100mg/dl前後であるのに対して、一般に普及しているペットボトル茶（伊右衛門）のそれは約半分であることがわかり、煎茶で言えば三・四煎目のレベルであった。このことから、後者は大量生産・利益優先のため、本来の煎茶を倍に薄めて販売していると短絡しがちであるが、「なぜ、伊右衛門は売れたのか。」の書物⁶⁾を読むと、止渴性重視のために苦渋味は抑えているが、その分コクや旨味をどう付与するかの試行錯誤の経緯が記されており、他社同種商品との差別化のための開発競争が垣間見られた。また、カテキンの健康効果を売りにした濃いめの緑茶も市販されており、高カテキンが売りの「ヘルシア」はタンニン濃度が200mg/dlを超えており、「カテキン緑茶」や「伊右衛門濃いめ」のそれは煎茶の一・二煎目に近い100mg/dl前後であった。

ちなみに、「ヘルシア」のカテキン含有量は表示値(350ml中に540mg)から約150mg/dlとなるが、今回はタンニン濃度として求めているため、約1.3倍の数値となっていた。また、これらの商品の表示から、「ヘルシア」「カテキン緑茶」にはカテキンを増やすために茶抽出物が添加されていたが、「伊右衛門濃いめ」は相当する添加物の記載はなく、茶葉のみから抽出していることもわかった。

このような結果から、緑茶ブームに乗って低

表1．緑茶中のタンニン濃度

緑茶の種類 (手入れ)	タンニン濃度 (mg/dl)	緑茶の種類 (市販品)	タンニン濃度 (mg/dl)
煎茶一煎目	101 ± 14	ヘルシア	204 ± 13
煎茶二煎目	96 ± 8	カテキン緑茶	110 ± 7
煎茶三煎目	64 ± 8	伊右衛門濃いめ	99 ± 10
煎茶四煎目	44 ± 4	伊右衛門	52 ± 3

カテキンから高カテキンのものまで、個人の目的と嗜好にかなう商品がラインアップされていることが裏付けられた。

2. リンゴジュース*の酸度

実験では、果汁のパーセント（％）の異なる商品が種々市販されているので、それぞれの商品の酸度を比較してみることにした。この際、果汁100％の商品を水で2倍に薄めた「手作り品」を試料に加えておいた。この実験の仮説は、酸度がリンゴ果汁だけに依存しているのであれば、果汁の％と酸度は比例している、つまり、果汁の％が減ると酸度もそれに比例して下がるというものである。

結果は表2に表す通りであった。すなわち、果汁50％の水で薄めた手作り品以外の市販品

表2. リンゴジュースの酸度

果汁の％	酸度（％）
100％（濃縮還元の商品）	0.31 ± 0.01
50％（市販品）	0.34 ± 0.01
20％（市販品）	0.31 ± 0.01
50％（手作り品*）	0.16 ± 0.01

*果汁100％の市販品を水で2倍希釈

は、果汁の％に多少に関わらずほぼ同じ0.30％強の酸度を示した。これから、仮説が成り立たないことになり、酸度は果汁以外の成分も関わっていることが示唆された。その成分が何であるのかは表示の原材料名をみればわかるはずである。表3に掲げるように、濃縮還元物の果汁100％の商品には香料と酸化防止剤としてのビタミンCが添加されていたが「酸味料」は入っておらず、これ以外の商品にはいずれも「酸味料」が添加されていることが明らかである。果汁50％の手作り品には、当然のことながら酸味料は添加されていないので、酸度は果汁由来だけの約半分であったことも納得がいく。

ちなみに、それぞれの試料を試飲してみたところ、手作り品だけは「薄くて不味い」ということであったが、市販品は果汁の％に関わらず「それなりにおいしい」という評価になった。この場合にも上述の緑茶と同じで、果汁の％が低いからと言って水で薄めて販売しているのではなく、酸味料や甘味料、香料なども添加して果汁100％の天然物に近づける、あるいは天然物の欠点を補う工夫をしていることが伺えた。

3. ビタミンCの損失

ビタミンCは、食事摂取基準の推奨量が12歳以上で1日に100mgとなっており⁷⁾、ビタミン

表3. リンゴジュースの原材料表示

果汁の％	原材料名（表示順通り）
100％	りんご，香料，酸化防止剤（ビタミンC）
50％	りんご，糖類（果糖ぶどう糖液糖，砂糖），香料，酸味料，安定剤（ペクチン），ビタミンC
20％	りんご，果糖ぶどう糖液糖，香料，酸味料，ビタミンC

*ジュースと呼称して販売できるのは100％果汁のみであるが、ここでは便宜上、果汁の％に関わらずジュースと呼ぶことにした。

の中ではダントツで多い。それにもかかわらず、水に流出したり、自然に酸化されたり、熱に弱かったりする他、特定の食品に存在するビタミンC酸化酵素により速やかに酸化されることも知られているので、口に入れるまでに損失の要因が多いビタミンとして注意が必要である。

実験では大根をすりおろして表面積を大きくしたものを試料にし、損失要因の影響が出やすくした。大根は酸性の食品で自然酸化には強いことがわかっていたので、加熱による損失に水への流出を加えたものと、酸化酵素による損失を2種の食品で比較したものを組み合わせて行うことにした。

1) 加熱のよる損失

空气中に放置した（自然酸化した）大根おろし中のビタミンC量を100として、水煮して煮汁を含めた試料（水煮(+)）、水煮して煮汁を捨てた試料（水煮(-)）、電子レンジで加熱した試料のそれぞれに含まれていたビタミンCを残存率として算出した。

結果は図1に示した。まず加熱方法の違いの影響として、水煮(+)と電子レンジを比較すると、前者が残存率84%であるのに対して、後者は96%とほとんど損失がない高い値を示した。これは電子レンジは食品が持っている水分のみ

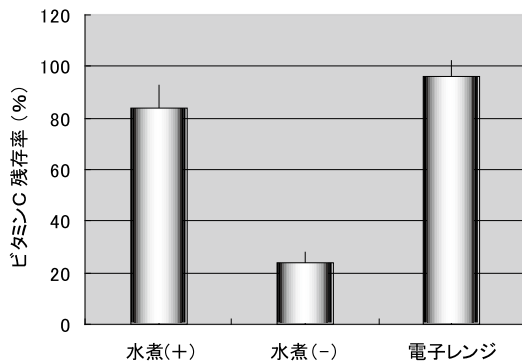


図1. ビタミンCの加熱による損失

であるが、水煮は多くの水が加えられていることによる水分量の違いとされている⁸⁾。また、同じ水煮でも、煮汁を捨ててしまう（水煮(-)）と、残存率は24%まで下がったので、ビタミンCは大半が大根から煮汁の方へ流出していたことが明らかとなった。このことは、ビタミンCが水溶性であることから納得できる結果で、CのみならずB群のビタミンやビタミン以外の水溶性成分も水への流出が避けられないので、調理の際には頭に留めておくべきである。

2) 酸化酵素による損失

実験ではビタミンC酸化酵素⁹⁾をもつ食品のうちニンジンとキュウリを用い、それぞれのおろしたものを大根おろしに加えて反応させることにした。結果は酵素反応のゼロタイム（詳細は実験方法に記述）のビタミンC量を100とする残存率で算出し、図2に経時変化として示した。ニンジン由来の酵素は2分で20%、5分で40%と時間とともに徐々にビタミンCを酸化したのに対し、キュウリ由来の酵素は2分で一挙に80%ものビタミンCを酸化しその後は微減のみであり、明らかに両酵素の挙動に相違が認められた。今回の実験は、両酵素の最適条件を設定して行ったわけではなく、むしろ日常生活で起こりうる条件（室温で大根とニンジンかキュ

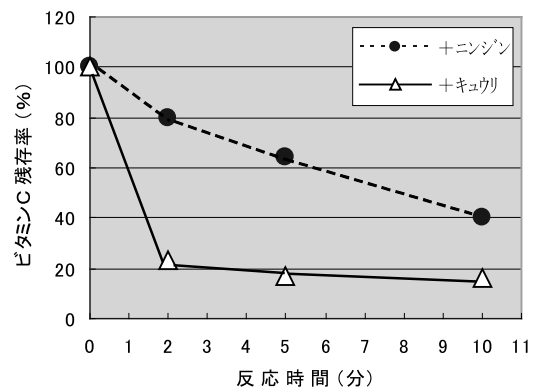


図2. ビタミンCの酸化酵素による損失

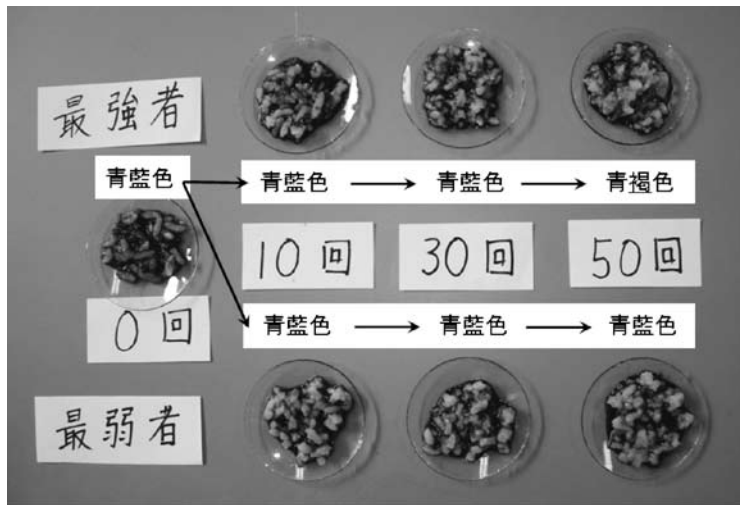


図3. 唾液アミラーゼによる飯の消化

ウリを混ぜるだけの単純な系)にしたが、キュウリはビタミンC酸化酵素の見かけの活性が強いことは確かであろう。従ってビタミンCの損失を防ぐという観点からすれば、キュウリを生で他の食品と混ぜるあるいはその生汁や調味液が他の食品と混ざる際には気をつけるべきである。また、大根とニンジンをおろして混ぜたものは“紅葉おろし”としてよく知られており、こちらの方も考慮を要する。

これらの損失を防ぐ対策としては酵素反応のゼロタイムがヒントであり、酵素活性を予め抑えてしまい、その後にビタミンCを含む食品を加えるとよいことがわかる。具体的には、予めニンジンやキュウリに熱をかける（熱湯処理、炒める等）か酢の調味料を混ぜておき、その後に他の食品を加えることで、ビタミンCの損失は最小限に防ぐことができるであろう。

4. 唾液アミラーゼの活性

アミラーゼはデンプンを加水分解する、いわゆる消化酵素であり、主として動物由来の α 型と植物由来の β 型が知られている¹⁰⁾。ヒトの唾

液に存在するのは α -アミラーゼであり、その活性は個人差があるという。しかし現実問題として、この唾液アミラーゼがデンプンの消化にどの程度関与しているかといえ、主食中のデンプンはほとんど消化されていない、と推察できる。つまり、飯や麺の中にあるデンプンは、余程しっかり咀嚼しないと唾液中の酵素とは十分に混ざり合わないし、その咀嚼もよく嚥んで数十回、時間にして1分前後のはずであり、嚥下されて胃に到達すれば酵素は失活して働かなくなるからである。

そこで実験では、先ず実験方法のところで記した常法に従って、試験管内 (*in vitro*) のアミラーゼ活性を個人毎に求めた。結果は活性度で20～320まで（但し、320はごくまれ）個人差があったが、活性度40、80という中間値の占める割合がほぼ70%を占めていた。さらに追加の生体内 (*in vivo*) 実験として、一つの実験クラス（約30～50名）の中から最強活性度と最弱活性度の持ち主を2名ずつ選んで、飯を食べてもらってデンプン消化の程度を比較してみた。飯を口に入れ、0回（咀嚼前）、10回、

30回、さらに限界の50回咀嚼した試料に、ヨウ素ヨウ化カリウム液をかけてヨウ素デンプン反応の呈色度の変化を見た。結果は図3に示すように、飯粒は咀嚼回数が増すにつれてつぶれていくのがわかる。しかしヨウ素デンプン反応は、最強・最弱の両者とも一見青藍色のままでデンプンの消化はほとんど認められず（変色はごくわずか）、最強活性者の50回咀嚼でわずかに褐色がかった程度であった。

これらのことから、*in vitro*での実験結果は*in vivo*でのそれを、必ずしも反映するものではないことが明らかである。なぜこのような異なる結果になるのかであるが、それぞれの実験条件を比べると、その違いが見えてくる。すなわち、*in vitro*での実験の場合は、基質に可溶性の液状デンプンを用いて最適条件下で10分反応させているのに対して、*in vivo*では、基質は飯粒中のデンプンで唾液と混ざり合う時間も1分前後と短い。従って後者の場合には、唾液アミラーゼ活性の強弱に関わらず、元からデンプンが消化される条件ではないのである。飯のデンプンを少しでも消化させるためには、飯を“おかゆ”さらには“おもゆ”とより液状にすればよいことも容易に推察でき、「昔からの知恵」に改めて納得である。

IV. おわりに

本稿では、教科書の実験テーマを私なりにアレンジして得られた知見について、その数例を紹介した。最後に改めて、テーマのアレンジポイントとそれから得られた知見についてまとめた。

緑茶のカテキン含有量というテーマでは、タンニン濃度を指標に、手入れ煎茶の一煎目から四煎目までと市販のペットボトル茶数種とを同

時分析した。このことから市販茶の渋味が手入れ煎茶の何煎目と同程度なのかの比較が可能となり、かつそれらを試飲することで、渋味以外の味も味わい分けることができた。また、市販茶が出始めた頃は止渴性を重視した低カテキン茶が主流であったが、カテキンの健康効果が注目されると、手入れ煎茶と同程度のもから高カテキンを売りにした商品までもラインアップされてきていることが実証された。

リンゴジュースの酸度というテーマでは、果汁の%の違いに注目した。その結果、市販品は果汁の%に関係なくほぼ一定の酸度を有しており、果汁が少ないことによる酸度の低下を「酸味料」という食品添加物で補っていることがわかった。また、表示を見ることにより、酸味だけでなく糖類を添加して糖酸比を調整していること、果汁100%を含めた全ての商品で香料と褐変防止のためのビタミンCが添加されていることも明らかになった。

ビタミンCの損失というテーマでは、大根おろしを試料に2つの要素を取り上げた。まず加熱による影響では水分量に着目して、水煮と電子レンジまた同じ水煮でも煮汁の取捨でそれぞれ比較した。その結果、損失の大きい順に、水煮（煮汁捨て）＞水煮（煮汁取り）＞電子レンジとなり、ビタミンCの水溶性という性質の影響が改めてクローズアップされた。さらに酸化酵素の影響でもニンジンとキュウリの2食品で比較したところ、その経時的変化で大きな相違が認められた。書物や文献的には記載の少ないキュウリの方が強力な酵素活性を有しており、生での接触やその生汁との混合が相手食品中のビタミンCを速やかに損失させることを考慮して、対策をとるべきであると気づかされた。

唾液アミラーゼの活性というテーマでは、*in vitro*実験で個人の活性度を比較するものがほと

んどである。しかし、それだけで終わったのでは、活性度の低かった者はデンプンが消化されないのではないか、という不安が残ることになる。そこで、実際に飯を食べる*in vivo*実験も行い、最強活性の持ち主でも口腔内だけでは飯のデンプンはほとんど消化できないことを見せることで、納得してもらうことができた。なお、飯のデンプンは、誰でも、膵アミラーゼで消化後吸収されて栄養になることも言及しておかなくてはならない。

最後に、これらのアレンジしたテーマは、歴代の実習職員に助けられた予備実験を通して日の目を見たものであり、そのデータは数年に渡る学生の得たものを使わせていただいた。ここに感謝を表すると同時に、ここでのテーマの一部を組み入れた実験書を、編著者として上梓¹¹⁾できたことを有り難く思い、稿を閉じる。

文献

- 1) 谷口巳佐子、奥田義博著：生化学実験、講談社サイエンティフィク（1989）
- 2) 浅野 勉、一寸木宗一ら編著：生化学実験書、第一出版（1990）
- 3) 浅田祥司、金谷昭子ら編著：総合食品学実験書、建帛社（1989）
- 4) 水谷令子、藤田修三編：食品学実験書、医歯薬出版（1994）
- 5) 小國伊太郎編著：緑茶革命、女子栄養大学出版部（2001）
- 6) 峰如之介：なぜ、伊右衛門は売れたのか。、すばる舎（2006）
- 7) 第一出版編集部編：日本人の食事摂取基準（2005年版）、第一出版、p.106～108（2005）
- 8) 肥後温子：電子レンジ「こつ」の科学、柴田書店、p.56,57（1989）
- 9) 桜井芳人編：総合食品事典（第六版、ハンディ版）、同文書院、p.13（1995）
- 10) 同上、p.30
- 11) 村上俊男編著：基礎からの食品・栄養学実験、建帛社（1998）