

黒酢及びフルーツ黒酢中の D-アミノ酸の定量的解析

郷上佳孝¹⁾、岡田かおり¹⁾、竹下義隆²⁾、老川典夫¹⁾

¹⁾ 関西大学化学生命工学部 生命・生物工学科、²⁾ 福山黒酢株式会社

〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35

E-mail: oikawa@kansai-u.ac.jp

Home Page: <http://biomole.life-bio.kansai-u.ac.jp/>

[要旨] 自然界には人類が誕生したとされる約 500 万年以上前から D-アミノ酸は存在していたと考えられるが、近年分析技術が進展するまでその存在は見過ごされてきた。特に最近、ヒトが摂取する食品中の D-アミノ酸は、生命現象や食品機能との関連性から注目を浴びている。われわれは、食品中の D-アミノ酸について、日本の伝統的発酵食品である黒酢に着目し、その定量的解析法を確立するとともに、フルーツ黒酢および米酢製品に含まれる D-アミノ酸との種類や濃度の違いについて検討した。これらの研究成果に基づき D-アミノ酸を強化した新規機能性黒酢の開発を進めている。

1. はじめに

近年、ヒト等の哺乳動物の体内に種々の遊離型 D-アミノ酸が存在し、さまざまな生理的機能を有することが明らかとなっている。たとえば、D-セリンは哺乳類の脳内に存在し、神経伝達に参与する N-Methyl-D-aspartate(NMDA)受容体のグリシン結合部位のコアゴニストとして機能することが明らかとなっている。また、D-アスパラギン酸は松果体実質細胞中に存在し、メラトニンの合成・分泌抑制や精巢ライディッヒ細胞のテストステロン産生の亢進などに参与することが明らかとなっている。さらに、D-アラニンにはラットの膵臓に存在し、血糖値の制御に参与することが推定されている。しかし、これら D-アミノ酸の示す生理的機能は対応する L-アミノ酸にはない。一方、先にわれわれは、野菜、果物、海藻、ビール、ワイン、日本酒、コーヒー、酢、茶などさまざまな食品中に D-アミノ酸が存在していることを明らかにした[1]。これら食品中の D-アミノ酸の生成機構と機能を解明すれば、D-アミノ酸を強化した新規機能性食品の開発につながる。

このような背景において、われわれは日本の伝統的発酵食品である日本酒や黒酢に着目し、食品中の D-アミノ酸の定量的解析法の確立と生成機構・機能の解明と、これらの研究成果に基づく D-アミノ酸を強化した新規機能性食品の開発を行っている。日本酒には、①原料が米（植物性素材）であり、ゲノム情報の利用やわれわれの植物 D-アミノ酸の研究で得られた知見[2]の適応が可能、②さまざまな微生物が製造に参与、③製造方法にさまざまなバリエーションがある、④製品に

強い着色やにおいがなく、官能評価系が確立などの利点がある。また黒酢には、美肌効果のある D-アスパラギン酸が含まれておりこれを利用した美容飲料が開発され販売されている。

2. 解析データおよび方法

(1) 黒酢、フルーツ黒酢および米酢中の D-及び L-アミノ酸の定量法

分析試料中の D-及び L-アミノ酸は、o-フタルアルデヒド/ N-アセチル-L-システイン（プレラベル及びポストラベル）または(+)-1-(9-フルオレニル)エチルクロロ

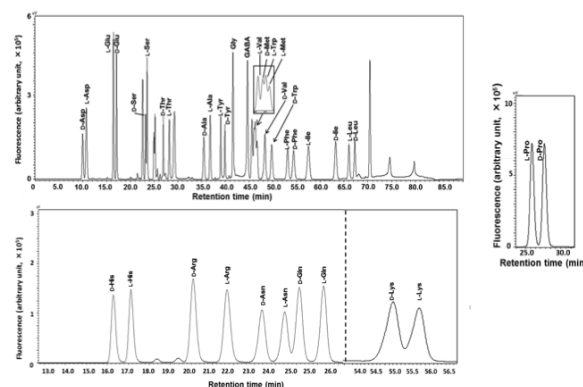


図 1. 高速液体クロマトグラフィーによる標準 D-及び L-アミノ酸の定量結果

ホルメート/1-アミノアダマンタンでキラル誘導体化後、高速液体クロマトグラフィーで測定し定量した[3]。

3. 結果と考察

(1) 黒酢および米酢中の D-及び L-アミノ酸の定量的解析

黒酢及び米酢中の D-及び L-アミノ酸の定量分析の結果、黒酢及び米酢には、いずれも D-アスパラギン酸以外に D-グルタミン酸、D-セリン、D-アラニン、D-バリン、D-フェニルアラニン、D-ロイシン、D-プロリンが含まれていることが明らかとなった。D-アスパラギン、D-スレオニン、D-アルギニン、D-メチオニン、D-トリプトファン、D-イソロイシン、D-リシンは、米酢には含まれていなかったが、黒酢#015、黒酢#016 には D-アスパラギン、黒酢#001、黒酢#002、黒酢#004、黒酢#017 には D-アルギニン、黒酢#001、黒酢#002、黒酢#004、黒酢#011、黒酢#016、黒酢#017 には D-イソロイシン、黒酢#001、黒酢#002、黒酢#003、黒酢#004、黒酢#011、黒酢#016、黒酢#017（分析した全ての黒酢）には D-リシンがそれぞれ含まれていることが明らかとなった。したがって米酢にのみに含まれる D-アミノ酸はなかった。一方黒酢および米酢には、いずれも L-アスパラギン酸、L-グルタミン酸、L-セリン、L-スレオニン、グリシン、L-ヒスチジン、L-アラニン、L-アルギニン、L-チロシン、L-バリン、L-メチオニン、L-フェニルアラニン、L-イソロイシン、L-ロイシン、L-リシン、L-プロリンが含まれていることが明らかとなった。L-トリプトファンは、黒酢にも米酢にも含まれていなかったが、L-グルタミンは、米酢には含まれていなかったが、黒酢#015、黒酢#017 には含まれていた。

(2) 黒酢および米酢中の D-及び L-アミノ酸濃度に及ぼす熟成期間の影響

黒酢#001 と黒酢#002 は玄米を原料とした同一商品 K の熟成期間が異なるものであり、黒酢#001 は 2 年、黒酢#002 は 5 年間、熟成させたものである。これらの製品中の D-アミノ酸濃度を比較してみると、D-チロシンは黒酢#002 にのみ含まれており、商品 K の 2 年から 5 年の熟成期間中に生成したものと考えられる。また D-アスパラギン酸、D-フェニルアラニン、D-イソロイシン、D-ヒスチジン、D-アルギニン、D-リシン、D-プロリン濃度は、いずれも黒酢#002 の方が黒酢#001 より高く、これらの D-アミノ酸濃度は商品 K の 2 年から 5 年の熟成期間中に増加することが明らかとなった。

(3) フルーツ黒酢中の D-及び L-アミノ酸の定量的解析

フルーツ黒酢は黒酢#001 に果実を漬け込み、各フルーツ特有の風味を黒酢に付加することで飲みやすくした製品で、そのまま飲料として用いられている。含有アミノ酸の種類は黒酢製品と類似しており、全ての製品に D-アスパラギン酸、D-グルタミン酸、D-セリン、D-アラニン、D-バリン、D-イソロイシン、D-ロイシン、D-

リシン、D-プロリンと L-トリプトファンを除く L-アミノ酸が含まれていた。D-フェニルアラニンはアセロラ、パインを除く 7 製品に、D-アルギニンは青梅、柿の 2 製品にのみ、D-チロシンはみかん、青梅、柿の 3 製品にそれぞれ含まれていた。福山町産黒酢製品中に特徴的に見られた D-アスパラギン酸、D-グルタミン酸、D-セリン、D-アラニンは、フルーツ黒酢でも同様に高濃度で含まれていた。これらのフルーツ黒酢中の D-アミノ酸濃度を比較すると、D-アスパラギン酸はブルーベリー、D-グルタミン酸はすもも、D-アラニンはアセロラ、D-セリンはすもも、D-バリンはパイン、D-ロイシンはみかん、D-イソロイシンはみかとすもも、D-フェニルアラニンは青梅、D-チロシンは柿、D-アルギニンは柿、D-リシンはいちご、D-プロリンはいちごをそれぞれ原料とするフルーツ黒酢で最大となった。これらの結果から、フルーツ黒酢中の D-アミノ酸の分布や濃度には原料に用いられるフルーツによって特色があり、アセロラを原料とする場合 D-アミノ酸濃度が高いことが明らかとなった。

4. 今後の展望

本研究の結果から黒酢及び米酢中には、各種 D-アミノ酸が含まれており、米酢に比べ黒酢に、さらに、伝統的な方法で醸造された福山町産の黒酢には、より高濃度の D-アミノ酸が含まれていることが明らかとなった。また、フルーツ黒酢でも同様に高濃度の D-アミノ酸が検出され、原料に用いられた黒酢やフルーツ特有の D-アミノ酸が含まれていることが明らかとなった。今後さらに D-アミノ酸の生理機能の解明が進めば、調味料や飲料などの食品中の D-アミノ酸含有量を強化した機能性食品の開発が期待されるが、福山町産の黒酢はその優れた候補の一つとなる食品であると考えられる。われわれが確立した黒酢中の D-及び L-アミノ酸の定量法は、黒酢以外の食品中の D-及び L-アミノ酸の定量分析にも応用可能であり、今後発酵食品を中心としたさまざまな食品中の D-及び L-アミノ酸の分析を行い、新たな D-アミノ酸高含有食品の探索もさらに行っていくと考えている。

なお本研究は、イノベーション創出基礎的研究推進事業により実施したものである。

参考文献

- [1] 老川典夫, *et al.*: 微量栄養素研究, 20, 121-124 (2003).
- [2] Oikawa T, *et al.*: *Phytochemistry*, 70, 380-387 (2009).
- [3] Oikawa T, *et al.*: *J. Chromatogr. B*, 879, 3259-3267 (2011).