

醸造微生物を活用する食品素材開発

入江 元子

「酒は百薬の長」と言われるように、清酒はアルコール飲料としてだけでなく、さまざまな薬理・薬効を持つものとして受け継がれてきた。そして近年、機能性研究の発展により清酒の機能性に関与する物質や効果・効能のメカニズムが徐々に明らかとなってきた。その結果、清酒中ではもとより酒粕や米糠のような副産物にも多くの機能性を有する物質が含まれていることが報告されている。今回は、その中から清酒醸造に関連するペプチドについて、それぞれの機能性と食品素材としての適性を紹介したい。

酒粕分解ペプチド

生活習慣病の中で「高血圧」は、狭心症や心筋梗塞などの心臓疾患や、脳卒中など脳血管障害の発生原因となる。生体のおもな血圧調整系は4種類あり、中でもレニン・アンジオテンシン系は重要な役割を果たすといわれている。アンジオテンシン変換酵素（ACE）は、この系のキーエンザイムであり、血圧上昇に直接かかわる酵素である（図1）。よって、ACEの活性を抑制することができれば血圧の過剰な上昇を抑制できると考えられる。

これまでの研究で、ACEを阻害する作用はイワシやカツオなどの魚類タンパクや、乳性タンパク由来のペプチドに認められ、すでに特定保健用食品として利用されているものもある¹⁻³⁾。我々は、酒粕およびその分解物にACEの阻害作用があることを見だし、9種類の関与成分を単離してそのアミノ酸配列を同定した⁴⁾。これ

らのペプチドの配列を検索したところ、いずれもグルテリンやプロラミンなどの米タンパク由来であることが分かった。これは、清酒の原料米のタンパク質が清酒醸造中に麹菌や酵母の活動によって機能性ペプチドとして分解生成されたものと考えられる。酒粕分解ペプチドのうち、ACE阻害活性の高いジペプチド4種類を高血圧易発症ラット（SHR）に投与したところ、4～6時間後に有意な血圧降下が認められ、血圧上昇を抑制する効果が実証された⁵⁾。表1にSHRの血圧の変化を示す。

次に我々はこの酒粕由来のペプチドの応用を検討した。タンパク含有量の高い酒粕を選び、酵素剤によりタンパク質をペプチドに分解した。ペプチドを多く含む水溶性画分を高温殺菌したものにACE阻害活性が認められたことから、食品素材として応用できると考えた。

得られたペプチド粉末を用いてヒトにおける有効性を検証した。対象は、高血圧治療ガイドラインにおける高血圧の分類において、正常高値血圧（収縮期血圧：SBP/拡張期血圧：DBP = 130–139 mmHg/85–89 mmHg）、軽症高血圧（SBP/DBP = 140–159 mmHg/90–99 mmHg）、中等症高血圧（SBP/DBP = 160–179 mmHg/100–109 mmHg）の範囲に当てはまる成人男女とした。事前に血圧を複数日測定し、SBP、DBPの両方またはいずれか一方が条件に当てはまる者を選定した。その中から、医薬品を服用している者、妊娠・授乳中の者、その他重度の疾患を抱えている者を除外した結果、38名が本試験に参加となった。

試験はプラセボを用いた一重盲検比較試験とし、事

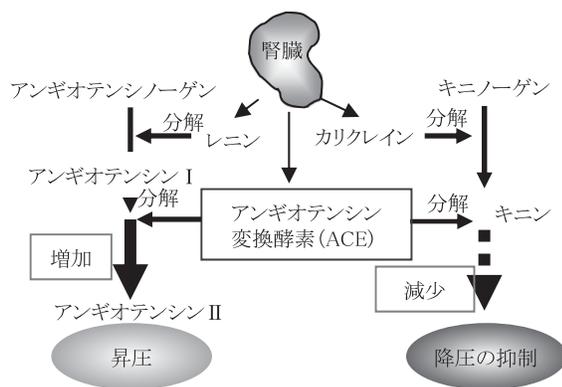


図1. 血圧上昇のしくみ

表1. ペプチド投与後の収縮期血圧変化

ペプチド	投与量 (mg/kg)	投与前	投与後 (h)	
			4	6
Control	-	245 ± 13	245 ± 11	237 ± 18
Arg-Phe	100	246 ± 12	222 ± 15**	229 ± 9*
Val-Trp	100	241 ± 13	215 ± 20**	231 ± 24
Tyr-Trp	100	243 ± 16	228 ± 15	215 ± 8**
Val-Tyr	100	251 ± 12	234 ± 22	220 ± 17**

mean ± SD, (n = 10), *p < 0.05, **p < 0.01 vs '投与前'

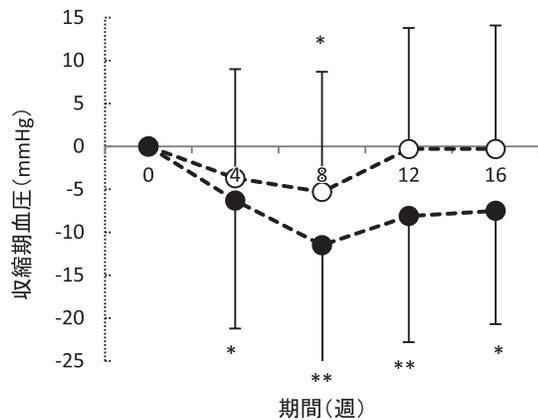


図2. 収縮期血圧の変動. mean ± SD, ○: プラセボ(n = 19), ●: ペプチド(n = 19). mean ± SD, *p < 0.05vs, **p < 0.01 vs 0w.

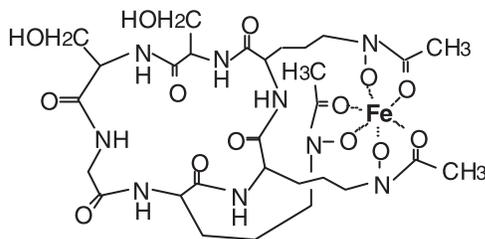


図3. フェリクリシンの構造

前に作成したランダム割付表を用いて、0週目の測定順で無作為に2群に振り分けた。投与量は、総ペプチド量が600 mgとなる粉末を、プラセボはデキストリンと色素を加えたものを用いた。摂取方法は1日1回、夕食後に摂取することとし、被験者には、摂取期間中、被験食品を毎日摂取する以外は、それまでの生活習慣を維持するように指導した。

12週摂取期間後に4週の後観察期間を設け、全期間で血圧を測定した結果、収縮期血圧および拡張期血圧の有意な低下が認められた(図2)⁶⁾。

この結果から、酒粕ペプチドはヒトにおいても血圧降下作用を示すことが証明できた。

清酒製造の副産物から、このような機能性素材を開発できたことは意義があると考えている。さらに、酒粕分解ペプチドは植物性素材で臭いが少なく、アミノ酸などの呈味成分性も多く含むため、ペプチド特有の苦味をマスクングすることができる。よって機能性素材としてだけでなく、調味料としての役割も有しており、幅広い食品に利用できると期待している。

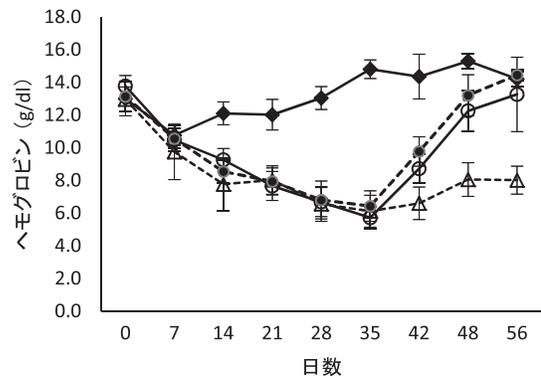


図4. 貧血誘導期および回復期のヘモグロビン値. mean ± SD, (n = 5) ◆: コントロール群, ●: Fcy群, ○: クエン酸第2鉄群, △: ヘム鉄群.

表2. 肝臓鉄濃度の比較

	肝臓鉄 (ppm)
コントロール群	63.3 ± 10.1 ^a
フェリクリシン群	39.3 ± 7.6 ^b
クエン酸第2鉄群	21.6 ± 3.1 ^c
ヘム鉄群	6.2 ± 1.3 ^c

mean ± SD, (n = 3~5), *※ Tukey-Kramerの多重比較法, 異符号間に有意差あり (p < 0.05).

フェリクリシン

フェリクリシン (Fcy) を代表とするフェリクローム類は、清酒中の着色原因物質として1967年蓼沼らによって同定された⁷⁾。Fcyは3分子のアセチル化されたヒドロキシオルニチン、2分子のセリンおよび1分子のグリシンが環状に結合したヘキサペプチドであるデフェリフェリクリシン (Dfcy) が3個の鉄イオンをキレートした化合物である(図3)。

Fcyは清酒の着色原因物質の一つであり、本来清酒醸造にとって好ましくない物質であるが、このユニークな鉄化合物を食品に利用できないかと考えた。

まず、麹菌 *Aspergillus oryzae* の中からFcyを多く生産する株を選抜し、UV照射や変異剤処理を行い、何世代にもわたる育種を重ねFcy高生産株を取得した。

この株を液体培養し、培養液から抽出したFcyを用いて貧血改善効果を検証した。通常飼料および鉄欠乏飼料にてSDラットを35日間飼育した。次に貧血誘導ラットにそれぞれFcy、クエン酸第2鉄およびヘム鉄を鉄源とする飼料を21日間与えたところ、Fcyはヘム鉄に比べてヘモグロビンが有意に回復し、肝臓の貯蔵鉄ではクエン酸第2鉄と比較して有意に回復した(図4, 表2)⁸⁾。

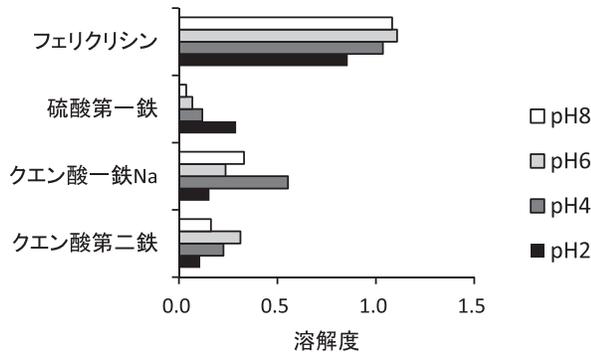


図5. フィチン酸添加後の鉄濃度. 各鉄化合物(鉄濃度1000 ppm)に0.6%フィチン酸水溶液を添加し, 37°Cで90分インキュベートした後の遠心上清中の鉄濃度を測定. フィチン酸添加前の鉄濃度との相対値で示した.

このように, Fcyは鉄錯体として高い貧血改善効果を示すことが明らかとなった. その他, 各種血液生化学検査においてすべて良好であり, 安全性に問題ないことも確認された.

現在利用されている鉄剤の多くは, 食品成分と反応して不溶性化することにより, 吸収性が低下するという問題がある. そこで, Fcyの鉄材としての有効性を検証した. Fcyはきわめて溶解性が高く, pH 2および7の10%水溶液中にまったく沈殿が生じなかった. また, フィチン酸, タンニン酸あるいはカテキンといった鉄吸収を阻害する成分との反応性が低く, 吸収阻害されにくい鉄素材であることが確認された. フィチン酸と4種類の鉄化合物の反応性を図5に示した.

以上の結果より, Fcyは食品に利用しやすい鉄化合物であることが分かった. 今後, Fcyについてさらに検討を重ね, 実用化したいと考えている.

デフェリフェリクリリン

デフェリフェリクリリン (Dfcy) は, Fcyが鉄をキレートしていない, 環状のペプチド部分のみの化合物である. その水溶液は無色透明であり, 3価鉄イオンを特異的かつ強力にキレートする性質を有している.

鉄や銅といった遷移金属イオンは, さまざまな酸化反応に関与しているといわれている. そこで, フリーラジカルによって発生しやすいといわれている消化器疾患に着目し, Dfcyの作用を検討した. 7週齢BALB/c マウスに8%のデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を7日間自由に飲水させ, 大腸炎を誘発した(コントロール群). テスト群にはDfcy (100 mg/kg/day) をDSS投与と同時に7日間経口投与した(テスト群). DSSもDfcyも投

表3. DSS大腸炎における抑制効果

	大腸の長さ	DAI	体重変化
	(cm)	(day7)	(day7-day0; g)
ブランク群	11.79 ± 0.159	0 ± 0	1.02 ± 0.08
コントロール群	8.85 ± 0.179*	7.3 ± 0.58*	0.78 ± 0.02*
テスト群	9.56 ± 0.112#	5.5 ± 0.17#	0.81 ± 0.01#

mean ± SD (n = 10), *p < 0.05 vs ブランク群 (day7), #p < 0.05 vs コントロール群 (day7).

与しない群をブランク群とした. ブランク群と比較してコントロール群では腸管長短縮, Disease activity index (DAI) の上昇および体重の減少が認められたが, テスト群ではコントロール群と比較してすべての項目で有意な改善がみられた(表3).

以上の結果より, Dfcyは*in vivo*の系において炎症抑制作用を示すことが示された. フリーラジカルの過剰発生は, 生活習慣病の発症に関連していると言われており, Dfcyはこれらの疾病予防に有効である可能性が示唆された. DfcyもFcyと同様, 長い食経験をもつ安全性の高いペプチドであり, 今後機能性食品や医薬品の分野で応用できると期待している.

おわりに

このように, 清酒やその副産物には多様なペプチド性機能性物質が含まれており, 「酒は百薬の長」を実証する効果が認められている. この現象は, 食品が微生物の発酵過程を経ることで, 栄養価や味などの1次機能・2次機能が上昇するだけでなく, 3次機能までも付与できることを示すものであり, 改めて醸造微生物の偉大な力に驚かされる. 今後も醸造微生物の特長を活かした機能性食品の開発を進めていきたいと考えている.

文 献

- 1) 梶本修身ら: 栄養食品研究, **6**, 65 (2003).
- 2) 矢澤一良: 食品と容器, **45**, 438 (2004).
- 3) 梶本修身ら: 栄養食糧誌, **54**, 347 (2001).
- 4) Saito, Y. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 812 (1994).
- 5) Saito, Y. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 1767 (1994).
- 6) 石井有里ら: *Jpn. Pharmacol. Ther.*, **36**, 517 (2008).
- 7) Tadenuma, M. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 1482 (1967).
- 8) Suzuki, K. S. et al.: *Int. J. Vitamin Nutr. Res.*, **77**, 13 (2007).