



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	魚醤油の重金属除去および機能性ペプチドの特定と新規機能性食品素材への応用 [全文の要約]
Author(s)	笹木, 哲也
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	乙第6940号
Issue Date	2014-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57526
Type	doctoral thesis
File Information	Tetsuya_Sasaki_summary.pdf



学 位 論 文 題 名

魚醤油の重金属除去および機能性ペプチドの特定と新規機能性食品素材への応用

博士（理学） 笹木 哲也

魚醤油は魚介類を主な原料とした液体調味料である。魚介類を塩と共に漬け込み、自己消化酵素や好塩性菌による発酵により魚介類の蛋白質が分解して得られたエキスを、火入れ・ろ過して製造される。近年、エスニックブームなどの食の多様化から魚醤油の独特な旨味が見直されている。また、魚醤油は遊離アミノ酸などの栄養成分や抗酸化性を示す機能性成分を豊富に含むことから、機能性食品素材への応用が期待されている。一方、食品の機能性として、高血圧症者の降圧作用を示すアンジオテンシン I 変換酵素（ACE）阻害活性が注目を浴びている。ACE 阻害活性物質は乳製品やカツオなどのさまざまな食品から単離・同定され、サプリメントに応用されている。魚醤油も高い ACE 阻害活性を示すことから、魚醤油から新規な ACE 阻害活性物質を単離・同定し、機能性食品へ応用することが期待されている。

このように魚醤油は機能性食品として大きな期待が持たれるが、その実現には魚醤油に含まれている重金属が問題となっている。特に、イカを原料とする魚醤油はカドミウム（Cd）を 1.0 mg/100 ml 程度含有する。食の安全・安心を確保し、かつ魚醤油に基づく機能性食品素材を開発するためには、重金属の除去技術の開発が必要である。しかしながら、魚醤油中の重金属除去技術としては Cd 吸着細菌を用いた方法しか報告されていないとともに、Cd が残存するなどの問題がある。また、魚介類中の重金属除去技術は複数報告されているものの、劇物の使用や処理時間が長いなどの問題から食品製造には適していない。このような背景のもと、本研究では、食品の製造工程に適用可能な、安全かつ簡便に魚醤油中の重金属を除去する基礎技術の開発を行った。特に、魚醤油中の重金属の存在状態を評価するとともに、除去機構を解明することにより、再現良く、安定的に重金属を除去できる基盤技術を開発することを目的とした。さらに、魚醤油の機能性食品素材への応用を目指し、新規 ACE 阻害活性物質を単離・同定するとともに、魚醤油の脱塩・粉末化による魚醤油の素材化技術の開発を試みた。

第 1 章では、本研究の背景と目的を詳述した。第 2 章では、イカ魚醤油中の Cd はタンパク質と結合していると予想し、Cd 結合タンパク質を清澄剤で沈殿除去する手法の開発を試みた。その結果、食品添加物として認可されている数種の清澄剤の中で、タンニンが最も効率良く Cd を除去することを見出した。本手法は、魚醤油に 0.1%タンニン水溶液を添加し、生成した沈殿物を遠心分離する簡便な方法であり、魚醤油中の Cd 濃度を 0.39 から 0.02 mg/100 ml にまで低減させることができた（図 1）。また、沈殿物の赤外分光分析によりタンパク質とタンニンに由来するピークが確認され、蛋白質とタンニンは疎水会合して凝集・沈殿することを明らかにした。また、ゲルろ過クロマトグラフィーにより魚醤油中の Cd の存在状態を検討したところ、魚醤油中の Cd は 80 kDa 前後を中心とした幅広い分子量のタンパク質とともに凝集・沈殿することを明らかにした。さらに、魚醤油のタンニン処理によらず、魚醤油の栄養成分や機能性は維持されることを明らかにした。

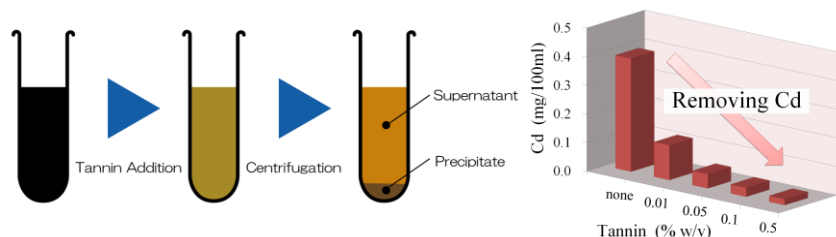


図 1 タンニン処理の操作イラストと Cd 除去効果

魚醤油中のタンパク質結合 Cd の一部が空気などにより酸化・遊離した場合、タンニン処理によっても魚醤油中に Cd が部分的に残存する。そこで、第3章においては、魚醤油中の遊離 Cd のキレート樹脂による除去を試みた。その結果、食品添加物として認可されている数種のキレート樹脂の中で、イミノ二酢酸型キレート樹脂が最も効率よく Cd を除去することを見出した。本手法は、タンニン処理後も残存する Cd をほとんど除去することが可能である (Cd 濃度 : 0.39→0.03 mg/100 ml)。また、タンニン処理とキレート樹脂処理した魚醤油の Cd の存在形態をゲルろ過クロマトグラフィー分析により評価し、Cd 除去機構解明を試みた。その結果、タンニン処理はタンパク質結合 Cd を、キレート樹脂処理は遊離 Cd および低分子ペプチド結合 Cd を除去することを明らかにすることができた。さらに、カラム充填したキレート樹脂を用いて効率的かつ簡便に魚醤油中の Cd を除去することが可能であり、魚醤油の栄養成分と機能性は処理後も維持されることを明らかにした。

第4章では、イカ魚醤油からの新規 ACE 阻害活性物質の単離・同定を行った。イカ魚醤油のアセトニトリル抽出物の限外ろ過、透析処理により分子量 100~1,000 Da の成分を回収し、これをゲルろ過クロマトグラフィーおよび高速液体クロマトグラフィーで分離し、ACE 阻害活性の高いフラクションを回収した。得られた精製物の構造をペプチドシーケンサーで解析した結果、新規の ACE 阻害活性ペプチド Leu-Ala-Arg (LAR) を同定した。LAR の ACE 阻害活性 IC_{50} は 2.5 μ M であり、これまで知られている魚醤油由来 ACE 阻害活性ペプチドの中でも高い活性を示した (図2)。高血圧自然発症ラットに LAR を経口投与したところ、LAR 投与群はコントロール群よりも収縮期血圧が低下し、効果の確認されているイワシ由来 ACE 阻害活性ペプチド Valine-Tyrosine (VY) よりも高い降圧作用を示した。

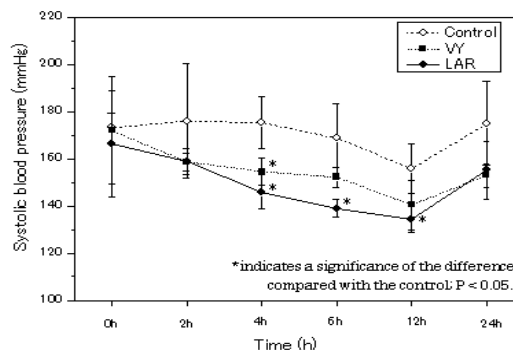


図2 LAR 投与のラットへの降圧効果

魚醤油の機能性食品素材への応用を目的とし、第5章では、魚醤油の電気透析処理による塩分除去と熱風乾燥による粉末化技術の確立を試みた。イカ魚醤油の電気透析処理により塩分濃度が 22%から 1%に減少し、処理後も栄養成分、機能性は維持されることを明らかにした。また、完全脱塩魚醤油に乾燥耐性の高いトレハロースを添加し、60℃で熱風乾燥することにより魚醤油の粉末化技術を開発・確立した。一般的に産業利用されている噴霧乾燥法 (乾燥温度 150℃) よりも、熱風乾燥で得られた粉末の機能性 (抗酸化性、ACE 阻害活性) は 1.2~2 倍高い活性を示した。機能性成分の残存性が高く、簡便な熱風乾燥の有用性を明らかにした。

本研究では、タンニンおよびキレート樹脂を用いた魚醤油中の Cd 除去技術を開発するとともに、Cd の存在形態分析に基づいて Cd の除去機構を解明した。本手法は簡便かつ安全であるとともに、安定的に魚醤油中の Cd を除去できることから、食品の製造工程に適用可能である。また、イカ魚醤油から新規 ACE 阻害活性ペプチドを単離・同定し、新規ペプチドが高血圧自然発症ラットに高い降圧作用を示すことを明らかにした。さらに、栄養成分や機能性成分を維持しつつ、魚醤油の電気透析法による塩分除去と熱風乾燥法による粉末化を達成した。以上のように、各種の分離・分析法を駆使した研究に基づき、魚醤油を用いた新規機能性素材開発のための基盤概念と技術を確立した。このような研究手法や基盤技術は、さまざまな機能性食品の開発にも繋がるものであり、科学的・社会的に価値あるものである。