



kikkoman

醸造技術の革新による血圧降下ペプチド高含有醤油の開発

キッコーマン株式会社

はじめに

多くの疫学研究の結果から、高血圧は脳血管障害、虚血性心疾患、腎疾患など多くの疾患の危険因子となることが示されている。日本において高血圧症有病者と正常高値血圧者の合計は5490万人にもものほり、国民の健康維持・増進の観点から、高血圧の発症予防あるいは症状改善を図ることが重要な課題となっている。

醤油はアジアの伝統的な調味料であり、塩味や旨味、香りを付与するために現在では世界中で広く用いられている。しかしながら、醤油に含まれる塩分が血圧を上昇させるイメージを持たれる場合があり、高血圧の抑制が求められる現代社会においては醤油の持つ課題のひとつとなっている。我々は、これを解決するために、おいしさを付与するという調味料としての機能はそのまま、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害ペプチドを豊富に含有する醤油(しょうゆ加工品)を開発し、ヒト試験においてその血圧降下作用を確認した。本研究成果を応用することにより、醤油類で初の「血圧が気になる方に適する」特定保健用食品(トクホ)として実用化したので、以下に概要を紹介する。

1. 醤油中のペプチドを増加させる試み

上述のように抗高血圧作用を有する醤油の実用化は、これまで強く望まれていたが、醤油を人が通常の使用法で無理なく摂取して明確に効果を発揮させるためには、多くの技術的困難があった。例えば、(1)醤油は機能性飲料などと異なり一日あたりの摂取量が少ないため、有効成分を高濃度に含有するか、低濃度でも作用の強い成分が必要となる。(2)機能性成分の多くは苦味や異味を有するため、含有量が多いと味のバランスを崩し調味料としての品質が低下する場合がある。(3)長期にわたって常温で保管されることがあるため、成分が減衰しやすく、また、溶解度が低い成分は沈殿してしまう。一などが挙げられる。

そこで我々は、従来の醤油にも発酵によって微量のペプチドが生成していることに着目した。これは醤油諸味中で大豆や小麦由来のタンパク質が麴菌プロテアーゼによる分解を受けて生

じたものであるが、一般的な醤油ではその大部分はペプチダーゼによってさらに遊離アミノ酸まで分解され、一部の分解されにくいペプチドが最終製品の醤油にまで残存することが知られていた¹⁾。一方、1990年代以降、ACE阻害作用を有する食品由来のペプチドが血圧降下作用を発揮することが報告され、イワシ、わかめ、乳等をプロテアーゼ分解して生成したACE阻害ペプチドを配合した、血圧が高めの方に適する特定保健用食品も販売されていた。そこで本研究ではこれらの知見を組み合わせることで醤油の醸造条件を再検討し、醤油に含まれるACE阻害ペプチドを増加させれば、血圧降下作用を有した醤油が開発できると考えた。低分子のACE阻害ペプチドであれば少量で高い効果を発揮でき、醤油中での溶解性・安定性も高いことが多いため、上述のような課題が解決できると期待された。

従来の醤油業界においては、うま味に寄与するグルタミン酸をはじめとした遊離アミノ酸量を増加させることに主眼を置いた製法改良がなされてきたため、醤油中のペプチドに注目して増量を試みた研究例はほとんどなかった。醤油醸造におけるペプチドは、タンパク質が遊離アミノ酸に至る分解反応の中間体と捉えることができ、ペプチドを増加させるためには、中間体の量をいかに増やすかがポイントとなった(図1)。そこで我々は様々な検討の末、以下の2つの方策を採った。(1)原料配合に占める大豆の割合を増やし、ペプチドの原料となるタンパク質量を増やした。(2)諸味中のペプチダーゼ活性を適切にコントロールすることによって、ペプチドの分解を抑制した。

その結果、通常の醤油よりも多量のペプチドを含有する醤油様調味料である、大豆発酵調味液を開発した。なお、醤油諸味中に残存する麴菌酵素の活性を正確に測定することは従来困難であったが、この研究の過程で、前処理法を工夫することで正確に測定できる方法を初めて開発し²⁾、醸造研究における新たな考察を可能にすることができた。

2. 大豆発酵調味液からのACE阻害ペプチドの単離同定

大豆発酵調味液および濃口醤油のACE阻害活性を測定したところ、大豆発酵調味液は濃口醤油より強いACE阻害活性を示した。そこで、逆相分取クロマトグラフィーを用いて大豆発酵調味液を分画し、得られたフラクションのACE阻害活性を指標として、ACE阻害成分の精製を行った。各種機器分析によって精製物の構造決定を行い、複数のペプチドを同定した。続いてこれらのペプチドの定量を行ったところ、大豆発酵調味液中の含有量が顕著に多いことが明らかとなり、その含有量は濃口醤油と比較して7~33倍であった。一方、興味深いことに、これらのペプチドは濃口醤油中にも微量ながらも含まれていることから、醤油の長い歴史の中で人々がこれらの成分を摂取してきたと推測することができ、食経験が豊富な成分であることが示唆された。なお、本研究ではLC/MS/MSを用いMRM法でピークの

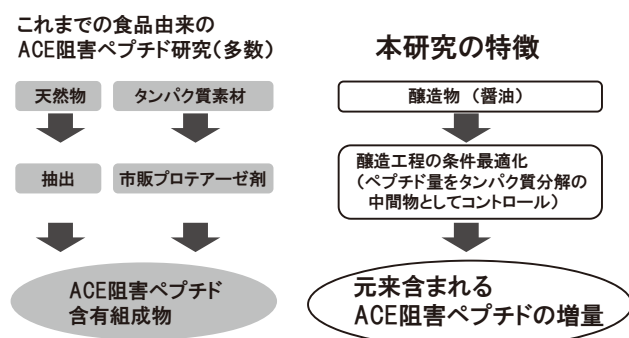


図1 ACE阻害ペプチド高含有醤油の開発

選択性を高めることによって、ACE阻害ペプチドの正確な定量を可能とし、醤油や醤油様調味料からACE阻害ペプチドの同定だけでなく定量までを行った初めての報告となった³⁾。

3. 血圧が高めのヒトを対象とした連続摂取試験

醤油は調味料であるため、健康に関する機能だけでなくおいしさを付与するという機能も重要である。そこで大豆発酵調味液を減塩醤油に配合し、だし等で味を調えた大豆ペプチド高含有減塩醤油を開発した。これを用いて血圧が高めのヒトを被験者として、無作為化二重盲検並行群間比較法による連続摂取試験を実施したところ、大豆ペプチド高含有減塩醤油摂取群の血圧は、対照(通常の減塩醤油)群と比較して有意に低下した(図2)⁴⁾。被験食品に起因する有害事象は認められなかった。これらの結果から、大豆ペプチド高含有減塩醤油は、安全で降圧作用を有する有用な食品であることが示された。通常の醤油と置き換えて同じ摂取量、同じ使い方でも血圧が高めの方の血圧が低下したのは驚くべきことであった。

一連の研究成果に関連する特許は国内外で多数出願しており、一部は国内だけでなく海外主要国でも登録されている。

4. 特定保健用食品(トクホ)としての実用化

基礎研究から実生産規模へスケールアップする際にも、多くの技術的課題があったが、数十kL規模の大型タンクでも研究段階と同様の品質を安定して得られるよう、装置改良や温度・攪拌制御の試行錯誤を繰り返し、高い技術で実生産を成功させた。

これらの成果を基に、2008年にトクホ表示許可申請を行った。審査の末、有効性と安全性が認められ、2013年に醤油類で初の「血圧が気になる方」向けのトクホ表示許可を取得し、商品を発売した(図3)。本商品は、おいしさの面でも通常の減塩醤油に匹敵する品質を実現したことにより、普段の食生活の中で通常の醤油と置き換えて無理なく用いることができる。現在のところ、血圧に有効なトクホの醤油として販売されているのは本商品が唯一であり、従来の醤油のイメージを覆すことができた。テレビ番組や新聞記事等で取り上げられることも多く、社会に与えたインパクトは非常に大きかった。

おわりに

本研究では、醤油に含まれるペプチドを増加させるという着想から、新たな醸造方法を開発した。従来の醤油業界では、アミノ化率を高めるために初期仕込温度を低く保つのが常識であったが、常識にとらわれることなく複数の方策を組み合わせることで、血圧降下作用を有するACE阻害ペプチドを顕著に増加させることに初めて成功した。

ACE阻害ペプチドを含有する既存の食品素材は、粗精製タンパク質に市販のプロテアーゼ製剤を作用させ精製したものがほとんどであり、価格が高く、苦味を有するという課題があった。それゆえ、これらの素材を醤油等の調味料に添加するのは現実的ではなかった。それに対し、本研究では元々醤油に微量に含ま

れていた機能性ペプチドを醸造工程の工夫によって機能が発揮される量まで増やしたところに独創性があり、食経験が豊富で安全性が高いこともメリットである(図1)。

わが国においては、収縮期血圧水準が2 mmHg低下すれば、脳卒中死亡率が6.4%減少すると推計されている。高血圧はわが国だけでなく海外においても問題となっており、今後、本技術を展開することによって、世界の人々の食生活と健康増進に大きく貢献できると期待される。

引用文献

- 1) S. Oka, K. Nagata : *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1185-1194 (1974).
- 2) T. Nakahara, H. Yamaguchi, R. Uchida : *J. Biosci. Bioeng.*, **113**, 355-359 (2012)
- 3) T. Nakahara, A. Sano, H. Yamaguchi, K. Sugimoto, H. Chikata, E. Kinoshita, R. Uchida : *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 821-827 (2010). Erratum in : *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 5858 (2010)
- 4) 内田理一郎, 仲原文晴, 花田洋一, 福原育夫, 竹原功, 矢野夕幾 : *薬理と治療*, **36**, 837-850 (2008). 訂正, *薬理と治療*, **39**, 1063 (2011)

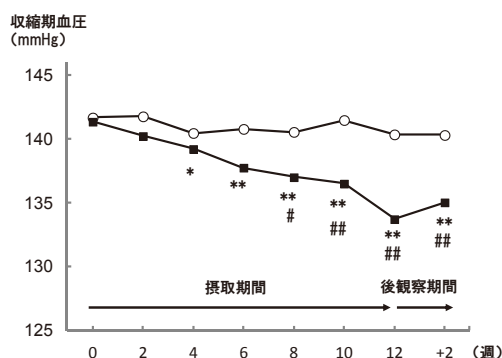


図2 大豆ペプチド高含有減塩醤油の血圧が高めの人に対する血圧降下作用

- : 対照食品(減塩醤油)摂取群,
- : 大豆ペプチド高含有減塩醤油(大豆発酵調味液配合)摂取群
- * p<0.05, ** p<0.01 (摂取開始時との比較)
- # p<0.05, ## p<0.01 (対照群との比較)



図3 本研究成果を活用した商品「まめちから大豆ペプチドしょうゆ」