

鮭節に含まれる機能性因子の検討 (平成11年度)

研究開発課 三野宮利江、大庭 潔、永草 淳
鎌田醤油株式会社 鹿島信康、田中雅章

1. 研究の目的と概要

川を遡上し、採卵した後の鮭は脂肪分が低く、旨味成分にも乏しいことから商品価値がほとんどない。そのためこれらを有効利用するための加工技術として「鮭節」を開発した。本年度はさらに、この鮭節の付加価値向上をはかるため、機能性因子の検討を行った。

近年、食品由来の機能性因子に関する研究は多方面にわたって行われている。なかでも、アンジオテンシン 変換酵素 (ACE) 阻害因子による血圧上昇抑制効果については、様々な食品のたん白質加水分解物から見つけれられてきている。

本試験では、鮭節に含まれているたん白質加水分解物中にACE阻害因子が含まれている可能性について追求した。

2. 試験研究の方法

(1) 鮭節の製造

本試験の試料となる鮭節の製造方法については別紙報告書を参照。¹⁾

(2) 鮭節だし汁および鮭節酵素処理物の調整

) 鮭節だし汁の調整

鮭節を節削機により、厚さ0.5~1.0mmに粉砕し、粉砕片20gに水1000mlを加え、95℃達温まで加熱、20min抽出した。抽出終了後、セライトをろ過助材に使用して吸引ろ過し、ろ液の容量を1000mlに調整して節重量2%(w/v)の熱水抽出物(以降、鮭節だし汁)とし、以後の実験に供した。

) 鮭節酵素処理物の調整

鮭節を節削機により、厚さ0.5~1.0mmに粉砕し、粉砕片2gに水100mlを加え、さらにアルカラーゼ(ホルデックス)を1.0ml加え、60℃で5時間反応させた後、95℃達温まで加熱し、20min抽出した。抽出終了後、セライトをろ過助材に使用して吸引ろ過し、ろ液を以後の実験に供した。

(3) たん白質の定量および遊離アミノ酸の定量

トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)法²⁾を用いて測定。検量線の作成にはノルロイシンを用いた。

) たん白質の定量

適宜希釈した試料に6N-HClを加え、145℃、1時間加水分解を行った後、TNBS法によりたん白質濃度を求めた。

) 遊離アミノ酸の定量

試料にスルホサリチル酸を3%(w/v)になるように加え、あらかじめたん白質を沈殿させ、上清についてTNBS法でアミノ酸濃度を測定した。

(4) ACE阻害活性の測定

ACE阻害活性の測定は、CUSHUMAN-CHEUNGの測定法に準じた³⁾。試料、ACEおよび基質溶液を37℃、30分間反応させた後、1N-HClを加えて反応を停止させ、生成した馬尿酸を酢酸エチルで抽出し、228nmでの吸光度を測定した。

また、阻害率が50%となるときの反応液中の試料たん白質濃度(mg/ml)をIC₅₀と定義した。

(5) A C E 阻害因子の精製

) 鮭節酵素処理抽出物 (凍結乾燥品) 5gを400mlの水に溶解し、ODS樹脂30g加え、1時間攪拌後、吸引ろ過した。ODS樹脂を水で洗浄した後、10、30および50%エタノールで順次溶出し、それぞれを減圧濃縮し、凍結乾燥試料とした。

) 得られた活性画分を常法により硫安分画した。

) 活性画分をTOYO Pearl HW-40Fを用いてのゲルろ過を行った。

) 高速液体クロマトグラフ

東ソー製TSKgel ODS-80Tsのカラムを用いた逆相系HPLCで分析した。

3 . 試験研究の結果および考察

(1) 鮭節だし汁のA C E 阻害活性

鮭節製造に際して、通常の酵素処理により製造したものと、対照区として非酵素処理のものについての比較を表1に示した。

表1 試料重量2% (w/v)の抽出物におけるACE阻害活性の比較

	酵素処理	非酵素処理
たん白質 (mg/ml)	6.10 ± 0.62	7.50 ± 2.34
遊離アミノ酸 (mg/ml)	2.53 ± 0.30	0.48 ± 0.01
ACE阻害活性 (%)	58.4	26.9

その結果、抽出物中のたん白質濃度はほぼ同等であったが、ACE阻害活性については酵素処理した場合のだし汁において高い値 (58.4%) を示した。尚、この時のIC₅₀は1.148mg/mlであった。

このことから、プロテアーゼ処理により鮭のたん白質が遊離アミノ酸やペプチドに分解され、阻害因子も酵素処理により生じた結果ではないかと考えられる。⁴⁾

(2) 鮭節酵素処理物のA C E 阻害因子の精製

鮭節酵素処理抽出物をODS樹脂で処理することにより、求める活性画分は非吸着の水画分に溶出されてきた。さらに、硫安分画を行った結果、80%飽和濃度で、沈殿画分にACE阻害活性の高い画分が存在していた。この沈殿物をゲルろ過カラムに供して活性画分を得た。それぞれの段階でのACE阻害活性の推移を表2に示した。

表2 精製過程におけるACE阻害活性

	IC ₅₀ (μg/ml)
水画分 (ODS非吸着画分)	580
上清	5,200
硫安分画	
沈殿物	504
ゲルろ過後活性画分	380

さらに、逆相系HPLCにより分析した結果を図1に示した。7, 8および9分に求める活性画分が溶出されてきた。

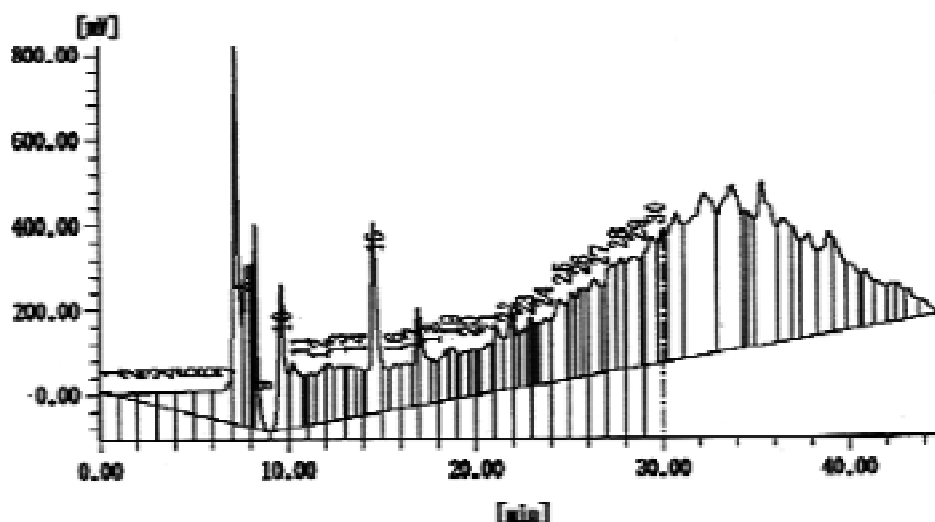


図1 . TSKgel ODS-80Tsカラムを用いてのクロマトグラフィー

得られた活性画分(7, 8および9分の位置)には少なくとも4つの画分が存在していた。これまで、ACE阻害因子の主成分は逆相カラムに吸着される疎水性のペプチド類との報告が多かった。本試験では、それとは全く逆で、逆相系のカラムには吸着されず、水系の溶媒で溶出する親水性の物質であることが示唆された。また、今回データには示していないが、ゲルろ過より分子量は1000~2000と推定された。さらに、含まれるたん白質量に阻害活性が平行に反応することから、ACEへの阻害作用はたん白質結合作用も考えられるが、それ以外の何らかの阻害作用も複合的に行われているものと推察された。

4 . 参考文献

- 1) 阿部 茂、大庭 潔：日本食品科学工学会誌、45(7)、391-397(1998)
- 2) 菅原 潔、副島正美：蛋白質の定量法 [第3版]、182-183、学会出版センター、東京(1996)
- 3) 川岸舜朗：食品中の生体機能調節物質研究法、116-121、学会出版センター、東京(1996)
- 4) 田中雅章、鹿島信康、大庭 潔、永草 淳：J. Brew. Soc. Japan、95、No.2、140-143(2000)