

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月17日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07757

研究課題名(和文) 麹醗酵を利用した血圧降下物質の調製 ～効率的な生産法の開発～

研究課題名(英文) Preparation of anti-hypertensive substance by Koji fermentation

研究代表者

米谷 俊 (Kometani, Takashi)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：70503449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本人の健康課題のひとつである高血圧に効果を示す物質の生成を目指し、日本の伝統的な食品加工技術である麹醗酵を用いて、きなこを醗酵させた。その際に醗酵を化学反応と捉えて、酵素が失活しない範囲でできるだけ高温(40～50℃)にすることにより、通常の醗酵(25℃で90日間)に比べて短時間(30日程度)で血圧降下作用を示す物質が生成できた。60℃の醗酵では、活性物質の生成が不安定で、酵素の耐熱性の限界と考えられた。本物質は、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラットに経口投与すると、高い血圧降下作用を示した。調製型等電点電気泳動により部分精製すると、本物質は複数の活性物質から成っていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

麹菌を用いた醗酵は、日本の伝統的な食品加工技術(酒類、みそ、醤油など)であり、多くの食品企業が高度な技術を有している。但し、醗酵に時間がかかり、その間の微生物制御のために高濃度の食塩を必要とするため、機能性物質の生産に利用する研究は進んでいるが、実用化の例は極めて少ない。そこで、醗酵を化学反応のひとつと捉え、麹菌中の酵素が失活しないできるだけ高温で反応を進めることにした。その結果、比較的短時間で、きなこから血圧降下物質を生成できた。

麹醗酵では、地方の比較的規模の小さな食品企業でも高度な技術を有しているので、地域の特産品を用いた活性化に利用できると考えられる。

研究成果の概要(英文)： We aimed to produce substances that are effective for high blood pressure, which is one of the health issues of the Japanese, and fermented Kinako (soybean flour) using Koji fermentation, which is one of the traditional food processing techniques in Japan. At that time, the fermentation is regarded as a chemical reaction, and by setting the temperature as high as possible (40 to 50° C) within the range where the enzymes in Koji are not inactivated, the blood pressure-lowering substance could be produced in a short time (about 30 days) compared to the ordinary fermentation (90 days at 25° C). When orally administered to stroke-prone spontaneously hypertensive rats, the substance showed a high blood pressure-lowering effect. When partially purified by preparative electrophoresis, the substance was considered to be composed of several kinds of active ones.

研究分野：食品製造・加工

キーワード：麹醗酵 きなこ 大豆 血圧降下作用 効率化

## 1. 研究開始当初の背景

これまでに人々は、「醗酵」を利用し、多くの食材を加工し、風味を与え、消化吸収を改善し、さらには、その食材の保存性を改善してきた。その例は、酒類、みそ、しょうゆ、魚醬、なれずし、発酵乳、チーズ、食酢、漬物など枚挙にいとまがないほどである。特に、日本では、「麴醗酵」を地域のあまり規模の大きくない食品企業も含めて多様に利用してきた歴史があり、伝統的な食品加工技術のひとつとしてその技術は高度に発達している。

近年、食品の三次機能（体調調節機能）が注目され、それにより人々の健康を増進するため、麴醗酵を用いてさまざまな機能性物質が生成されているが、十分には実用化されていない。麴醗酵では、醗酵制御の目的で多量の NaCl を利用するため、最終産物の塩濃度が高く、機能性食品、特に、血圧低下作用を謳う食品には、いくら生理活性物質が含まれていても、その効果に疑問が生じ生理活性への説得性も低下する。そのため、みそ、しょうゆ、魚醬などの麴醗酵で旨味を持つ調味料としての利点を生かしながら、減塩を目指した研究および無塩化を目指した醤油の研究が行われているが、これらもまだ実用化されてはいない。さらに、脱塩技術を開発し無塩化を実現する研究も行われているが、十分とは言えない状況である。すなわち、麴醗酵と減塩処理（または脱塩処理）は、食品加工上の大きな課題であり、これを解決すれば、日本の伝統的食品加工法である麴醗酵のさらなる発展、利用拡大に貢献できると考える。

## 2. 研究の目的

麴醗酵は、食品分野では比較的頻繁に利用される手法であること、麴菌は糖質分解酵素やたんぱく分解酵素などを分泌し、醗酵原料中のさまざまな成分に作用し、オリゴ糖やオリゴペプチドなど多種類の化合物が生成し、また、麴菌自身が新規に生理活性物質を生成する可能性も考えられることなどから、その利用が期待されている。しかしながら、実用化に際しては、微生物制御のために添加している NaCl の除去が必要なこと、醗酵に長期間を要するため、醗酵時間短縮による雑菌汚染のリスク低減やコスト削減が必要なことが大きな課題となっている。

そこで、これらの問題点を解決し、麴醗酵を生理活性成分の製造に有効に使用できれば、食品業界、特に、地域の食品業界の発展に繋がると考え、本研究を開始した。

本研究では、生活習慣病の中で、高血圧に着目した。高血圧は、厚生労働省が推進する「健康日本21（第2次）」の目標のひとつと設定されているが、男性の約4割、女性の約3割が収縮期血圧140 mmHgを超えており、これが動脈硬化につながり、脳血管疾患や心血管疾患などの大きなリスクファクターとなっている。そこで、高血圧の予防が健康寿命の延伸に繋がると考えられるからである。

## 3. 研究の方法

きなこ醗酵エキスは、きなこを醤油麴 (*Aspergillus sojae*) で醗酵させた。NaCl は、醗酵中の微生物制御のために用いた。きなこは、粒状の大豆に比べ、粉末状で醗酵しやすいこと、焙煎度の違うものがあり、熱変性の違いが醗酵（特に、麴菌の持つたんぱく分解酵素による

きなこ中のタンパク質の加水分解で生じるペプチドの種類など) に及ぼす影響を確認できることなどの利点があるので、用いることにした。

本研究では、醗酵を麹菌の酵素が行う酵素反応と捉え、菌の生育・増殖最適条件よりも高温にし、酵素が変性しない条件であれば、温度が高い方が反応が進むと考え、麹菌の生育および増殖に最適な 25°C (通常の醗酵が行われる) と比較し、より高温である 40°C、50°C、60°C の各温度で醗酵し、血圧降下作用の指標としたアンジオテンシン I 変換酵素 (angiotensin I converting enzyme ; ACE) 阻害活性を比較した。得られたきなこ醗酵液に 9 倍量のエタノールを加え、塩析により NaCl を析出させ除去した上清をきなこ醗酵エキスとした。

ACE 阻害活性物質の部分精製には、調製型等電点電気泳動を用いた。これは、きなこ醗酵エキス中のペプチドなど等電点を持つ物質が ampholine の代わりとなり、H<sub>2</sub>O のみで他の物質を使わずに電気泳動が可能であること、比較的簡単な装置で多量の試料を処理できること、精製過程での脱塩も可能であることが利点であるからである。

最終的な血圧降下作用は、得られたきなこ醗酵エキスを、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat ; SHRSP) に経口投与し、継時的 (投与前、投与後 0.5~24 時間) に tail cuff 法 (尾静脈) で血圧を測定し、確認した。

#### 4. 研究の成果

超高齢社会に突入している日本では、生活習慣病を予防し、健康寿命を延伸することが重要な課題となっている。高血圧は、糖尿病と共に、多くの日本人が罹患者またはその予備軍となっている。そこで、本研究では、血圧降下作用を有する生理活性物質を得るために、日本の伝統的な食品加工技術のひとつである麹醗酵を利用した。

その際に、醗酵を化学反応と捉えて、酵素が失活しない範囲でできるだけ高温 (40~50°C) にすることにより、通常の醗酵 (25°C で 90 日間) に比べて短時間 (30 日程度) で血圧降下作用を示す物質が生成できた。本物質は、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) に経口投与すると、高い血圧降下作用を示した (Fig. 1)。調製型等電点電気泳動により部分精製すると、本

物質は等電点の異なる複数の活性物質から成っていると考えられた。

麹菌を用いた醗酵は、日本の伝統的な食品加工技術 (酒類、みそ、醤油など) であり、多くの食品企業が高度な技術を有している。但し、醗酵に時間がかかり、その間の微生物制御のために高濃度の食塩を必要とするため、機能性物質の生産に利用する研究は進んでいるが、実用化の例は極めて少ない。そこで、醗酵を化学反応のひとつと捉え、麹菌中の酵素が失活しない

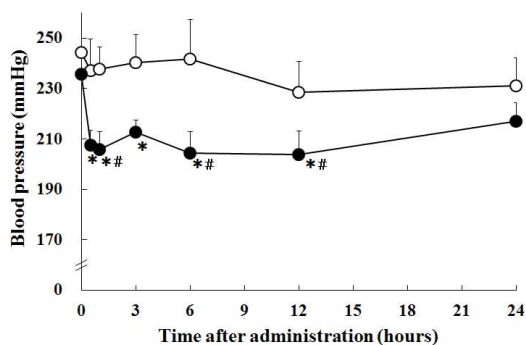


Fig.1 きなこ醗酵エキスのSHRSPに対する血圧低下作用  
Fermented soybean flour extract; ●—, control; ○—  
\* : p<0.05 vs Control  
# : p<0.05 vs Fermented soybean flour extract (0 hour)

できるだけ高温で反応を進めることにした。その結果、比較的短時間で、きなこから血圧降下物質を生成できた。

麴醗酵では、地方の比較的規模の小さな食品企業でも高度な技術を有しているので、地域の特産品を用いた活性化に利用できると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計1件）

米谷俊、竹森久美子、麴醗酵によるきなこの用途拡大の可能性、食品加工技術、39巻（2019）

（印刷中）

〔学会発表〕（計0件）