

発酵食品中のアレルゲン及び機能性物質の調査

野田 正 司*¹
上野 義 栄*²
藤本 恭 史*³
河村 眞 也*⁴
早川 潔*⁵

【要 旨】

発酵食品である調味料（醤油）のアレルゲン誘発性及び生理機能性に関する調査を行った。調味料（醤油）原材料中には、分子量が数千から十万の特定タンパク質である多種類のアレルゲンが含まれている。しかし、微生物が保有する酵素により低分子化されたペプチドやアミノ酸に分解されることから、アレルゲン誘発性は低減化される。さらに、発酵熟成工程で生成されるペプチド類、メラノイジン（醤油の褐色色素）、HEMF（醤油の香り成分）などにより、新たな生理機能性が付与される。

今後、資源の有効利用のみならず、アレルゲン低減化、あるいは生理機能性を付与した商品開発が望まれる。

1 はじめに

近年、食物アレルギーは増加の一途をたどっており、大きな社会問題となっている。

平成10年度の厚生省アレルギー対策検討委員会の報告書によると、アナフィラキシーショックを伴う重篤な症状をきたす食物アレルギーの原因物質（アレルゲン）の検出頻度は、卵（28%）、牛乳（22.6%）、小麦（10.9%）、魚類（6.6%）、そば（4.2%）、エビ（2.8%）、果物（2.6%）、ピーナツ（2.4%）、大豆（1.4%）、その他（17.9%）である。

このため、食品によるアレルギーの発生を防止

する観点から、厚生労働省は平成13年4月より一定の種類のアレルゲンを含む食品について、食品衛生法に基づく表示を義務化した。

表示が必要となった原材料「特定原材料」の5品目と表示が奨励される「特定原材料に準ずるもの」の19品目を表1に示す。

表1 表示が必要となった原材料

特定原材料 (省令で表示を義務化した5品目)
卵 乳 小麦 そば 落花生
特定原材料に準ずるもの (通知で表示を奨励した19品目)
あわび いか いくら えび
オレンジ かに キウイフルーツ
牛肉 くるみ さけ さば 大豆
鶏肉 豚肉 まったけ もも
やまいも りんご ゼラチン

*1 研究開発課 専門員

*2 研究開発課 主任

*3 研究開発課 技師

*4 研究開発課 主任研究員

*5 研究開発課 課長

(現在 株式会社福寿園CHA研究センター)

一方、従来から卵、牛乳、大豆、小麦、米が5大アレルギー食品と言われてきた。

このようなアレルギー原因食品は、我が国における主要なタンパク質栄養源であることから、事態は深刻である。

さて、当センターでは、高タンパク質未利用素材を調味料（醤油）化する発酵処理法を開発し、試作、商品化してきた^{1)~6)}。

用いた原料の中には、「特定原材料」の小麦、卵黄、さらに、魚介類（イワシ、ダシガラ）、鶏肉、米（酒粕、白糠）などのアレルギーが含まれていることから、経口摂取によるアレルギー症状の誘発が懸念される。

そこで、これら発酵食品である調味料（醤油）のアレルギー誘発性について調査することとした。

他方、近年の健康志向の高まりに伴い、食品の生理機能性に関する研究が活発になされている。

発酵食品には、生体調節機能を有する様々な生理機能物質が含まれていると言われている。

そこで、調味料（醤油）に含まれる生理機能物質に関する調査も併せてすることとした。

2 調味料（醤油）中のアレルギー

2.1 調味料（醤油）原材料に含まれるアレルギー

食品中に含まれるアレルギーのほとんどは、およそ分子量が数千から十萬の特定のタンパク質である。

醤油原材料として使われる大豆には、16種類のアレルギーが確認され、その内Gly m Bd 30K、Gly m Bd 68K、Gly m Bd 28Kの3つのタンパク質成分が主要なアレルギーである⁷⁾。

もう一方の原料である小麦のアレルギーは、主要貯蔵タンパク質のグルテン、 α -アミラーゼインヒビター及び非タンパク質多糖類のマンノグル

カンなど⁸⁾がある。

さらに、当センターで調味料原料として用いた米のアレルギーには、16 k Da、26 k Daなどのグロブリンがある。

このような植物性食品由来のアレルギータンパク質は一次構造において高い相同性を示すことから、食物アレルギーの原因アレルギーと診断された以外のアレルギーでもIgE抗体と結合（交差性）し、アレルギー発症の可能性がある⁹⁾。

従って、代替食品の選定に留意する必要がある。

2.2 発酵によるアレルギー誘発性の低減化

一般に、食品中のアレルギー誘発性を低減化させるには、アレルギー上のエピトープ部位（抗体がアレルギーと認識して結合する部分）を選択的に除去するか、不活性化すれば良い。

このための手法として、加熱、高圧、薬品などによる物理化学的処理、微生物、酵素などによる生化学的分解、アレルギー欠失品種の創出あるいは遺伝子組み換え技術の応用¹⁰⁾などがある。

現在、市販されている低アレルギー化商品の多くは、酵素を用いて低分子化されたペプチドなどに分解することにより、アレルギーの分解、除去を試みている¹¹⁾。

この酵素分解法はミルク商品のほとんどに適用されている。

米の主要なアレルギーであるグロブリン分画16 k Daなどをプロテアーゼで分解した「ファインライス（資生堂）」は、厚生労働省から「アレルギー除去食品」として許可を受けている。

また、小麦アレルギーであるグルテンなどを食品加工用酵素で分解、除去した「低アレルギー化小麦バター（オーム乳業）」などがある。

さらに、大豆でも同様のプロテアーゼ分解の研

究¹²⁾がなされている。

このような酵素分解は、食品素材の加工特性や美味しさ、風味などが低下するとされている。

発酵法は、菌類などの微生物が保有する多種類の酵素を利用して酵素分解する方法である。

伝統的な発酵食品の一つである調味料（醤油）中のアレルゲン誘発性について調べた。

<実験1：小麦アレルゲンの検出>

デンプン原料である小麦由来のアレルゲンを検出するために、ELISA法に基づく日本ハム製特定原材料（小麦）測定キットを利用した。

なお、本キットは小麦由来のグリアジン（グルテンの主要タンパク質）、 γ -アミラーゼインヒビター等の複合抗原を認識することにより、食品中に含まれる小麦含有量を測定するために開発されたものである。

従って、すべての小麦アレルゲンを検出することは無理である。

測定対象として、熟成途中（もろみ）段階の試料を選び、商品化された調味料（醤油）と同じ状態にするために100、5分間加熱後、0.45 μ m フィルターでろ過した。

ELISA法による測定結果を表2に示す。

各調味料（醤油）中の小麦タンパク質由来のアレルゲンは、全て不検出（1 μ g/ml検体 未満）であった。

しかも、仕込み時のもろみ溶出液に、既に、アレルゲンは検出されなかった。

通常、数 μ g/ml未満であればアレルギー発症の可能性はほとんどなく、特定原材料表示の必要はない¹³⁾とされている。

厚生労働省通知「アレルギー物質を含む食品の検出方法」の中に、本キットを用いて小麦成分を

測定する時、醤油は「偽陰性を示す（明らかに含まれていることが分かっているのに、分解、変性等により検出されない）食品リスト」の中に掲載されている。

もう一方の醤油成分である大豆のタンパク質も、主要なGly m Bd 30K、Gly m Bd 28Kなどのアレルゲンが仕込み前の製麹段階で分解されているとの報告¹⁴⁾がある。

同様に、伝統的な大豆発酵食品である味噌中の主要な大豆アレルゲンGly m Bd 30Kは、米味噌、麦味噌で、ほぼ一ヶ月、豆味噌で三ヶ月で分解されるとの報告⁷⁾がある。

その他の当センターが調味料（醤油）のタンパク質原料として用いた米、鶏肉、卵などもほとんどアミノ酸に分解され、未分解原料はしぼり工程で除去されることから、これらの原料を用いた調味料（醤油）のアレルゲン誘発性は低減化されていると推察される。

以上のことから、調味料（醤油）、味噌などの発酵食品は、かび、細菌、酵母などの微生物をうまく組み合わせて利用することにより、独特の美味しさ、風味を創出すると共に、アレルゲン誘発性も低減化させた食品であると言える。

しかし、発酵法を含む酵素分解は、食品中に含まれる多数のアレルゲンを容易に分解するが、すべてのアレルゲンを完全に分解、除去するまでには至っていない。

さらに、発酵食品において、分解されたアミノ酸の一種のヒスチジンが微生物の脱炭酸酵素により、不揮発性腐敗アミン類の一種であるヒスタミンに変わることがある。

このヒスタミンの作用により、仮性アレルギー（アレルギー様の症状を引き起こすことがあり¹¹⁾）、ヒスチジンを多く含む発酵食品は注意が必要である。

3. 調味料（醤油）の生理機能性

大豆、米などの原料中に認められる生理機能性以外に、発酵熟成工程で生成される（ ）ペプチド類、（ ）アミノ化合物（タンパク質、ペプチド、アミノ酸）とカルボニル化合物（デンプン原料からの還元糖）のメイラード反応により生成されるメラノイジン（褐色色素）（ ）酵母代謝により生成される香気成分HEMF（4-ヒドロキシ-2（or5）エチル-5（or2）メチル-3（2H）フラノン）などが生理機能性を示すと言われている。

3.1 ペプチド類

ACE（アンジオテンシン変換酵素）は血管壁平滑筋収縮作用のあるアンジオテンシンを生成をする一方で、強い血管拡張作用を有するブラジキニンを分解する働きがある。

このACEの働きの障害（ACE阻害活性）により血圧降下作用が現れる。

ACE阻害活性に関しては、in vitro（試験管内）及びin vivo（動物実験）の両面で活発に行われている機能性に関する研究の一つである。

既に、ヘビ毒由来ペプチドをモデルとして強力なACE阻害物質カプトリルが合成され、経口高血圧治療薬として実用化されている。

大豆、米、小麦、イワシ、カツオ節などの食品タンパク質の酵素加水分解物からも、多くのACE阻害ペプチドが見つかった¹⁵⁾。

そこで、表2に示す調味料（醤油）の中から幾つかのものについて、ACE阻害活性を測定した。

<実験2：ACE阻害活性の測定>

測定はCushmanとCheungの方法に準じ、ACEはシグマ社製豚腎臓由来ACEを、基質はペプチド研究所製Hippuryl L-histidyl L-leucineを用いた。

各種調味料（醤油）15 µl中のACE阻害率（%）及び熟成時間によるACE阻害活性の変動を調べた結果を図に示す。

すべての調味料（醤油）のACE阻害活性は高く、原料別にみると、イワシ、大豆、米の順でACE阻害活性は高かった。

なお、ACE阻害活性は、発酵熟成段階で多少

表2 ELISA法による各種調味料（醤油）中の小麦タンパク質含有量の測定結果

No.	種類	原	料	熟成時間（月）			
				0 （仕込み直後）	1	3	6
1	醤油（大豆）	脱脂大豆（50%）	割砕小麦（50%）	<1	<1	<1	<1
2	卵調味料	卵黄タンパク（50%）	割砕小麦（29%） 小麦デンプン（21%）	<1	<1	<1	<1
3	ダシガラ調味料	だしがら（50%） *だしじゃこ、鰹節の混合物	割砕小麦（50%）	—	<1	<1	<1
4	ライス調味料（濃色）	乾燥酒粕（50%）	割砕小麦（50%）	—	<1	<1	<1
5	ライス調味料（淡色）	乾燥酒粕（45%）	白糖（45%） とうもろこし殻（10%）	—	<1	<1	<1
6	魚醤油	いわし魚粉（50%）	割砕小麦（50%）	—	<1	<1	<1
7	市販醤油（濃口）	丸大豆	小麦	—	—	—	<1 **熟成時間不明

**検体番号1～6の各調味料には、仕込み時に1%醤油もろみ（大豆50%、小麦50%）を添加している。

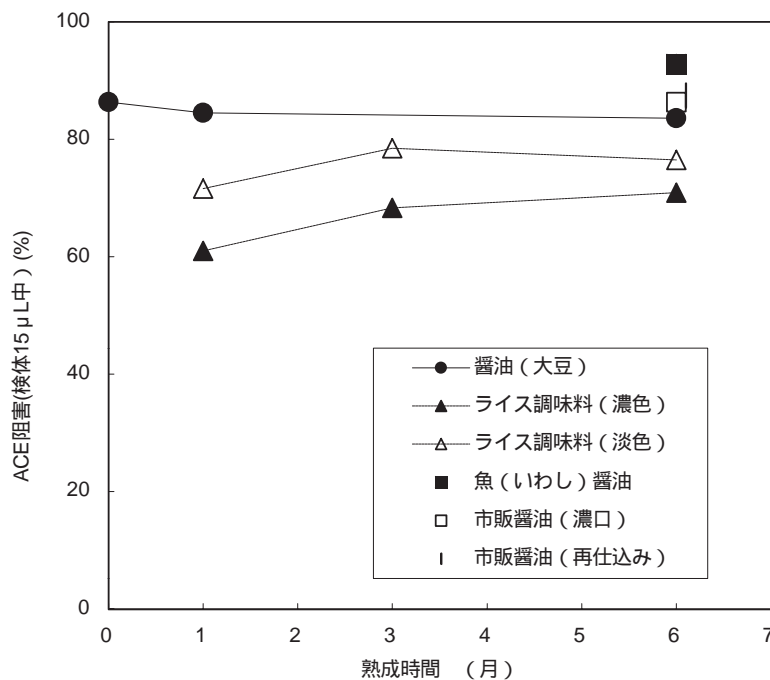


図 各種調味料（醤油）中のACE阻害活性

の変動が認められた。

ACE阻害活性は、in vitroで活性を示すものであっても、in vivoでの血圧降下を必ずしも示すものではないと言われており、in vitroとin vivoの両面からのアプローチが必要である。

3.2 メラノイジン（醤油の褐色色素）

発酵熟成期間中に生成されるメラノイジンは、褐色の不規則な高分子重合体で、醤油の色を形成する。

濃口には、15%ぐらい含有されると推定されている。

このメラノイジンのACE阻害作用や糖尿病治療効果を示すトリプシン阻害作用などが研究¹⁶⁾されている。

3.3 HEMF（醤油の香気成分）

醤油特有の香りの主成分であるHEMFは、麹菌により製麹時に生成された前駆体から酵母発酵

時に造られると言われている。

通常、本醸造醤油中に100 μg/ml程度含まれている。

このHEMFの抗酸化性や抗腫瘍性に関する研究¹⁷⁾がなされている。

4. 今後の課題

当センターでは、発酵法を用いて高タンパク質素材を含む食品廃棄物等から各種調味料（醤油）を試作、商品化してきた。

未利用資源を循環させ、ゴミを減量化することは、循環型社会を目指す上で必要である。

高タンパク質未利用素材として、処分が困難な豆乳、ブルーギルなど数多くの資源が残されており、この方式は今後も必要であると考えられる。

さらに、資源の有効利用のみならず、消費者ニーズに合った売れる商品を開発しなければならない。

このためには、従来大豆醤油とは異なる美味しさ、低コスト、新たな付加価値のある商品など

が求められている。

その中でも、近年のアレルギー患者の増加や健康志向の高まりに応じた低アレルゲン化、あるいは生理機能性を付与した商品の開発が望まれる。

中の生体機能調節物質研究法」p.118（学会出版センター）

16) 五明紀春 : 食品と開発, 34, 12 (1999)

17) 片岡茂博 他 : 日本醸造協会誌, 95, 336 (2000)

(文 献)

1) 早川潔 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 22, 21 (1994)

2) 早川潔 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 27, 14 (1999)

3) 早川潔 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 28, 11 (2000)

4) 早川潔 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 28, 21 (2000)

5) 宮島直人 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 29, 50 (2001)

6) 宮島直人 他 : 京都府中小企業総合センター技報, 30, 63 (2002)

7) 辻 英明 : 日本栄養・食糧学会誌, 55, 191 (2002)

8) 田辺創一 他 : 化学と生物, 39, 440 (2001)

9) 小川 正 : 化学と生物, 40, 643 (2002)

10) 小川 正 : 食品工業, 73, 24 (2002)

11) 公害健康被害補償予防協会発行「小児ぜん息アレルギー疾患食事療法HANDBOOK」(平成13年3月) 内容の一部はインターネット上で公開されている。

<http://www.kouken.or.jp/asthma/pref/jouhou/index.html>

12) 小幡明 他 : 食品工業, 41, 39 (1998)

13) 「厚生化学研究食品表示研究班アレルギー表示検討会(中間報告)」(平成13年10月)

14) 辻 英明 : 飯島記念食品科学振興財団年報, 1995, 64 (1997)

15) 川岸舜朗 編著 : 生物化学実験講座38「食品