

# 調理加工食肉・食肉製品の消化酵素処理による 生理機能発現

六車 三治男\*, 川北 久美子, 竹之山 慎一

南九州大学 健康栄養学部 管理栄養学科  
〒880-0032 宮崎市霧島5丁目1-2

## Expression of the Physiological Function by Digestive Enzyme Treatment of Meat and Meat Products

Michio Muguruma\*, Kumiko Kawakita,  
Shinichi Takenoyama

Department of Nutrition Management, Faculty of Health and Nutrition,  
Minami Kyushu University,  
5-1-2 Kirishima, Miyazaki 880-0032, Japan

This research aimed to study and compare the biological and functional properties as well as physiological effects of hydrolysates of pork meat treated with various kinds of heat treatment and processing; *in vitro* tests. All samples were separately hydrolyzed with pepsin for one hour and then trypsin and pancreatin. Their hydrolysates were subjected to SDS-PAGE and HPLC analysis. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of the hydrolysates was determined by rabbit lung enzyme. The antioxidant activity of the hydrolysates was determined by the DPPH radical scavenging assay.

SDS-PAGE results suggest that each sample was degraded by enzyme treatment. HPLC patterns indicate that the main peak in each sample digested for 2 hours contains bioactive peptides (Molecular weight less than 6,000). However, undigested samples of raw meat and raw ham slightly differ from each other. In comparison, HPLC patterns insignificantly varied in samples of raw meat, heat treated meat and processed meat products, which were digested for 2 hours. The pork loin meat treated with various heating methods showed a very similar ACE inhibition percentage, although processed meat products showed lower ACE inhibition percentage. The pork loin meat treated with various heating methods also showed a very similar DPPH inhibition activity, although loin roll and bacon showed higher DPPH inhibition activity.

Based on their remarkable ACE inhibitory activity and antioxidant activity, we suggest that the hydrolysates from cooked and processed pork meats may have potential applications as functional food.

**Key words:** meat & meat products, enzyme digestion, functional peptide, ACE inhibitory activity, antioxidant activity

## 緒言

近年、ライフスタイルの変化や多様化に伴い生活習慣病が増加し、国民の健康への関心は極めて高くなっている。このような国民の健康志向に合わせて、多くの機能性食品が開発されている。特に、発酵乳を中心に血圧低下ペプチドを含む機能性食品の研究・開発が行われ<sup>1)</sup>、乳製品は消費者の健康に寄与できる食品としてのイメージが定着している<sup>2)</sup>。一方、食肉は栄養豊富な食品として古くから認識されてはいたものの、機能性

食品としてのアプローチが遅れていた。しかし、食肉は良質なタンパク質を多く含んでおり、健康や長寿には不可欠な食品であり、近年、食肉にも健康に寄与する疾病予防作用などの保健的な機能性が存在することが明らかになってきた<sup>3,4)</sup>。

平成30年国民健康・栄養調査報告によると、収縮期(最高)血圧140mmHgを超える高血圧の割合は20歳以上の男性で約36.2%、女性で約26.0%と報告されており、この割合は年齢とともに高まる傾向にある<sup>5)</sup>。現在の日本は、令和元年10月1日現在、総人口の28.4%が65歳以上の高齢化社会であり<sup>6)</sup>、今後ますます高齢化が進む中

\*連絡著者:E-mail: muguruma@miyazaki-u.ac.jp

で、高血圧の進行を抑え健康を維持することが重要である。また最近、生体内で生じる酸化ストレスを予防し健康で長生きすることが個人にとっても社会にとっても重要であるとの考えから、酸化ストレスを予防する適切な食事への関心が高まっている。一方、調理したあとも有用な抗酸化成分は変化することなく残っているかなどの疑問も投げかけられている<sup>7)</sup>。

現在、食肉由来血圧降下作用をもつペプチドに関しては、筆者らの研究も含めいくつか検出されている<sup>8-15)</sup>。食肉タンパク質は、消化酵素によりペプチドに分解され、その機能性を発揮する。われわれは、各種食肉をヒトの消化酵素のペプシン、トリプシンやパンクレアチンで処理すると、鶏肉、豚肉、牛肉の順に血圧上昇抑制活性(ACE阻害活性)が増加することを明らかにした<sup>16)</sup>。さらに、各種食肉加水分解物には老化防止効果のある高い抗酸化活性が存在することを認め、鶏肉や豚肉、牛肉を摂取しても生活習慣病予防につながる効果を食肉に期待できることを明らかにした<sup>17)</sup>。これらの一連の研究は、いずれも生の食肉材料を用いて得られた結果である。

一般的に、畜産食品を含む食品は生体内で消化を受けるため、食品タンパク質は分解され、低分子化し、生体内に吸収される。われわれが食肉を食する際にも、調理加工した食肉や食肉製品を摂取する場合が一般的である。しかし、実際に食肉を調理加工したときのACE阻害活性や抗酸化活性に及ぼす影響や、加工食肉製品を食したときの生理機能発現についてはほとんど報告が見られない。

そこで本研究では、調理加工した食肉・食肉製品を摂取した際にも、生体調節機能を有する機能性成分が産生されるかどうかや、それら機能性成分の発現様式についても比較検討を行った。

## 材料と方法

### 1. 実験材料

食肉材料として、食肉類のなかでも消費量が多く、食肉加工の主要な原料となっている豚肉を実験材料として使用した。市販の宮崎県産の豚ロース肉を購入し、各種加熱処理原料肉として用いた。一方、加工食肉製品は、国産メーカーが製造した生ハム(非加熱食肉製品)、ロースハム(加熱食肉製品)およびベーコン(加熱食肉製品)を購入し、実験試料とした。

### 2. 生ロース肉の各種調理加工

渋谷により、各種加熱調理方法や加熱器具が紹介されている<sup>18)</sup>。本研究では、一般的に食肉を調理する際の加熱方法として、湿式加熱法、乾式加熱法、誘電電動加熱法およびスチームコンベクション加熱法を用いた。

まず、筋線維の配列が把握しやすい生ロース肉(厚さ約3mmにスライス)を対照試料として用いた。一方、湿式加熱法(茹でる、100℃、30秒間)、乾式加熱法(炒める、フライパンで両面を30秒ずつ加熱処理)、誘電電動加熱法(マイクロ波、National NE-NS5電子レンジにより500W、2分間加熱処理)およびスチームコンベクシ

ョン加熱法(Sharp Healsio AX-1000によりウオーターグリの条件で80℃、10分間加熱処理)により、生ロース肉(3mm厚)を加熱処理した試料を各種加熱調理肉とした。なお、図中の説明では、湿式加熱肉を“茹で肉”、乾式加熱肉を“炒め肉”、誘電電動加熱肉を“電子レンジ加熱肉”、スチームコンベクション加熱肉を“スチコン加熱肉”と表記した。

### 3. 各種調理加工食肉および食肉製品の消化酵素処理による食肉由来ペプチドの調製

食肉由来ペプチドの調製は以下のとおりである。

各種加熱調理食肉および食肉製品のミンチ肉に2倍量の蒸留水を添加して、フードプロセッサー(Panasonic MK-K61)を用いて30秒間、2回ホモジナイズした。このホモジェネートを酵素未処理の食肉タンパク質サンプル「生肉(未消化)」とした。その後、このホモジェネートをHClでpH 1.8に調整し、胃粘膜由来ペプシン(1:10,000)(和光純薬工業(株))をタンパク質量(食肉重量当たり20%のタンパク質が含まれることを仮定した)に対して1/1,000倍量添加し、攪拌しながら37℃で1時間インキュベートした。次に、NaOHを用いてpH 6.8に調整し、10分間煮沸した後、溶液温度を40℃まで低下させた。この溶液をペプシン消化サンプル「ペプシン(1時間消化)」とした。さらにトリプシン(和光純薬工業(株))およびパンクレアチン(同会社)をそれぞれペプシンと同量添加し、再び攪拌しながら37℃で1時間インキュベートした。最後に10分間煮沸した試料を食肉由来ペプチドとした。この溶液をペプシン・トリプシン処理サンプル「ペプシン/トリプシン(2時間消化)」とした。なお、食肉タンパク質「生肉(未消化)」および各反応段階で酵素消化により生じたペプチド混合物を0.45  $\mu$ mセルロースアセテートメンブレンフィルター(アドバンティック東洋(株))を用いてろ過した試料を実験に供した。

### 4. ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)

酵素処理により得られた分解物の分子種や分解の程度を調べるため、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)をLaemmliの方法<sup>19)</sup>で行った。アクリルアミド濃度7.5～17.5%のグラジエントゲルを用いてスラブ型の泳動槽で行った。ゲルバンドの染色はクーマシーブリアントブルー R-250(Bio-RAD)により行い、脱色には10%酢酸を用いた。また、分子量マーカーとしてSDS-PAGE Molecular weight (M.W.) standards, Broad Range 161-0363 (BIO-RAD)を使用した。

### 5. ゲルろ過高速液体クロマトグラフィー(HPLC)

カラムの溶離液には0.05Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.0)300mM NaClを用いた。分析中は溶離液を脱気装置(DGU-14A、島津製作所(株))に通し、カラムはTSK-GEL G 2000SWXL(7.8×300mm)(東ソー(株))、送液ポンプはLC-20AD(島津製作所(株))を用い、流速2.0ml/min、注入量20  $\mu$ lで行った。ペプチドの検出には、検出器(SPD-10AVP、島津製作所(株))を用い、検出波長は280nmで行った。さらに分子量マーカーとしてBSA

(M.W.: 67,000), シトクロームC(M.W.: 13,000), アプロチニン(M.W.: 6,500), リボフラビン(M.W.: 376)を用いた。

## 6. タンパク質の定量

酵素未処理の食肉タンパク質の定量はBiuret法<sup>20)</sup>により行った。すなわち、タンパク質溶液に対し、4倍量のBiuret試薬を加えて常温で30分間反応させた。

反応液を島津製作所(株)製UV-VIS Spectrophotometer 1240型分光光度計(吸光度: 540nm)にて測定した。また分解物であるペプチドについてはUV法<sup>21)</sup>を適用し、測定を行った。すなわち、タンパク質溶液の215nmの吸光度から225nmでの吸光度を差し引き、144倍した時の数値をタンパク質濃度とした。測定には上記と同じ分光光度計を使用した。

## 7. アンギオテンシン I 変換酵素(ACE)阻害活性の測定

Cushmanの方法<sup>22)</sup>に準じて測定した。ACEはウサギ肺由来アンギオテンシン I 変換酵素(ACE, Peptidyl dipeptidase, EC3.4.11.5, シグマ)を用い、0.25Mホウ酸緩衝液で60unit/mlに調整し、測定時には0.25Mホウ酸緩衝液で1unit/mlに希釈し使用した。ACEとの反応基質としては合成基質であるヒプリル-Lヒスチジル-Lロイシン(HHL, ナカライテスク)を使用した。HHLは塩化ナトリウム(和光純薬工業), 0.25Mホウ酸緩衝液をそれぞれ0.608M, 0.1MになるようにMilli-Q水を用いて調整した溶液で溶解した。

試料6  $\mu$ lに1unit/mlのACE溶液20  $\mu$ lおよび7.6mM HHL溶液50  $\mu$ lを添加し37℃で30分間反応させた。反応は0.1N HCl(和光純薬工業)554  $\mu$ lを加えて停止させた。反応後には酢酸エチル(ナカライテスク)1.5mlを加えてACEの作用により遊離した馬尿酸を振とう抽出し、2,500rpm (1,000  $\times$  g), 15分間遠心分離を行った。上清の酢酸エチル層を1ml分取し、100℃, 10分間の加熱により蒸発乾固させた。乾固した馬尿酸を回収するために1MのNaCl溶液を1ml加えボルテックスを行った。溶解した馬尿酸吸光度を228nmで測定した。

ACE阻害率は肝臓水解物の吸光度をS, 肝臓水解物の代わりにMilli-Q水を加えた時の吸光度をC, あらかじめACEを失活させてから反応させた時の吸光度をBとして次式より求めた。

$$\text{阻害率(\%)} = \{(C-S / C-B)\} \times 100$$

## 8. DPPHラジカル消去活性の測定

DPPHラジカル消去活性の測定は、DPPH分光測定法に準じて行った<sup>23)</sup>。すなわち、400  $\mu$ M DPPH, MES (2-morpholino-ethanesulphonic acid) buffer, 20%エタノールを同量ずつ加え、混液を作製した。混液を0.9ml分注し、80%エタノールを240  $\mu$ lとサンプルを60  $\mu$ l加え、20分間反応させた。その後、サンプルを加えた順に前述の分光光度計にて吸光度520nmで測定した。また、サンプルの代わりに0.2mM Trolox(シグマ)を抗酸化活性の標準溶液として用いて測定し、その検量線からサンプルのTrolox相当量を算出した。MES BufferはMESを蒸留水に溶解し、NaOHでpH 6.0に調整したものを使用した。

## 結果と考察

一般的に食肉や食肉製品を食する際には、それらを加熱調理して摂取する場合が多い。実際に調理加工した食肉および食肉製品を摂取した際にも、生体調節機能を有する機能性成分が産生されるかどうかや、それら機能性成分の発現様式について比較検討することが本研究の目的である。

生体調節機能の一つである血圧上昇抑制活性(ACE阻害活性)に関するこれまでの研究は、タンパク質派性ペプチドの検索が中心であった。また、Stamlerらは、タンパク質摂取量の増加が血圧降下に有効であることを報告している<sup>24)</sup>。そこで、本実験でも食肉をヒトの消化酵素で分解する過程のタンパク質分解物の出現状況や、分解により産生されたペプチド混合物の血圧上昇抑制作用(ACE阻害活性)や抗酸化作用(DPPHラジカル消去活性)を測定した。

### 1. SDS-PAGEによる分子量分布の分析

調理加工した食肉および食肉製品から、ヒトの消化酵素処理により、それらから産生される機能性ペプチドを含む分解物の産生過程を検討した。まず、SDS-PAGEによる各種分解物中のタンパク質やペプチド成分の分子量分布を推定し、さらに、ゲルろ過HPLCを用いた分析で、分解物の溶解状態における分子量分布も推定した(図1,2)。

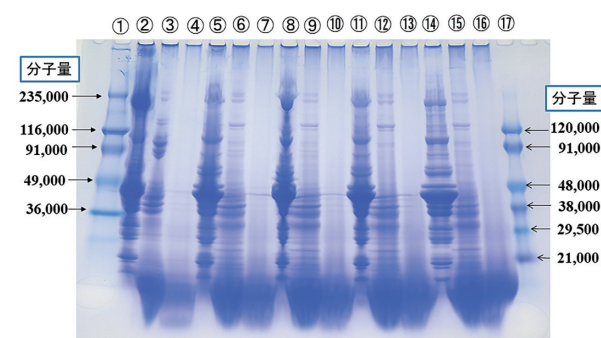


図1. 消化酵素により分解された生肉, 茹で肉, 炒め肉, 電子レンジ加熱肉およびスチコン加熱肉のSDS-PAGEパターン

- ①高分子マーカー, ②生肉, ③1時間消化生肉, ④2時間消化生肉, ⑤茹で肉, ⑥1時間消化茹で肉, ⑦2時間消化茹で肉, ⑧炒め肉, ⑨1時間消化炒め肉, ⑩2時間消化炒め肉, ⑪電子レンジ加熱肉, ⑫1時間消化電子レンジ加熱肉, ⑬2時間消化電子レンジ加熱肉, ⑭スチコン加熱肉, ⑮1時間加熱スチコン加熱肉, ⑯2時間加熱スチコン加熱肉, ⑰低分子量マーカー。

SDS-PAGEによる解析では、対照の生ロース肉(図1, 列②)から、ペプシン処理によりミオシン重鎖(M.W.: 230,000)が分解を受け、分子量が97,000以下の成分に分解された(図1,列③)。さらにトリプシンおよびパンクレアチン処理により、大部分のアクチン分子(M.W.: 42,000)も低分子ペプチド(M.W.: 12,000以下)に消化された(図1,列④)。生ロース肉を湿式加熱法(図1,列⑤～⑦), 乾式加熱法(図1,列⑧～⑩), 誘電電動加熱法(図1, 列⑪～⑬)およびスチームコンベクション加熱法(図1,



列⑭～⑯)により処理した試料は、2時間の酵素処理によりほぼ同様の分解の程度を示した。ただ、生ロース肉のペプシンによる処理後のバンド(図1,列③)と各加熱処理区のバンド(図1,列⑥,⑨,⑫,⑮)を比較すると、アクチンよりも高分子のバンドの量が極めて少ないことから、加熱処理をしたロース肉の方が酵素(ペプシン)処理により分解されやすいことが判明した。これらの結果は、豚ロース肉から調製した筋原線維タンパク質をペプシン、キモトリプシン、トリプシンで処理したところ、どの酵素処理でも未変性タンパク質に比べ、変性タンパク質が容易に分解されることを明らかにしたわれわれの既報<sup>9)</sup>の結果と一致した。本実験における1時間の消化酵素処理による筋肉タンパク質の分解程度の差異は、食肉を構成している筋肉構造タンパク質の加熱変性に伴う高次構造の崩壊の程度に依存した可能性が示唆された<sup>25)</sup>。さらにトリプシンおよびパンクレアチン処理(2時間酵素処理)により、筋肉タンパク質は分子量6,000付近を中心としたブロードなバンドに分解された。

一方、加工食肉製品の生ハム、ロースハムおよびベーコンを用いて検討した結果でも、生ロース肉や各種加熱処理したロース肉から得られた結果(図1)とほぼ同様の筋肉タンパク質の分解パターンが観察された(図2)。すなわち、加熱処理をしていない生ハムに比較して、製造時に加熱工程が加わったロースハムおよびベーコンでは構成タンパク質の加熱変性が起こり、1時間酵素処理によりタンパク質分解が促進する傾向が認められた(図2,列⑰,⑲,⑳)。本実験の1時間の酵素消化による筋肉タンパク質の分解程度の差異は、食肉を構成している筋肉構造タンパク質の加工工程での加熱処理に伴うタンパク質変性に起因していることが示唆された<sup>25)</sup>。

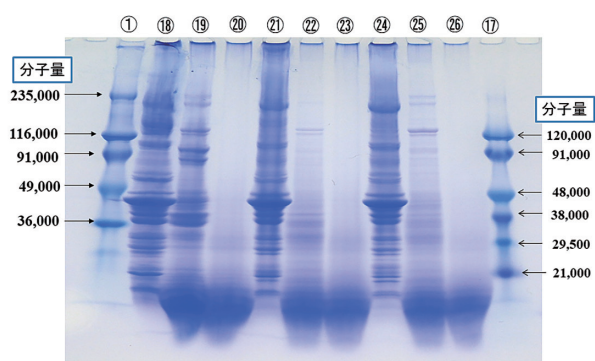


図2. 消化酵素により分解された生ハム、ロースハムおよびベーコンのSDS-PAGEパターン

- ①高分子マーカー、⑱生ハム、⑲1時間消化生ハム、⑳2時間消化生ハム、㉑ロースハム、㉒1時間消化ロースハム、㉓2時間消化ロースハム、㉔ベーコン、㉕1時間消化ベーコン、㉖2時間消化ベーコン、㉗低分子量マーカー。

## 2. ゲルろ過HPLCによる分子量分布の分析

酵素消化物の溶解状態における分子量分布を測定するため、0.45  $\mu$ mのポアサイズのセルロースアセテートメンブレンフィルターを通過した試料を用いてHPLC分析を行った。対照とした生豚ロース肉ホモジネート

のろ過試料の分析で、分子量54,000以上のブロードな筋肉タンパク質の大きなピークを中心に多数の小さなピークが認められた。生ロース肉のペプシン、トリプシンおよびパンクレアチン処理により、分子量54,000以上の主要な成分は分解され、分子量6,000～240の範囲にブロードなピークを持つペプチドに分解された。一方、豚ロース肉を加熱した茹で肉、炒め肉、電子レンジ加熱肉およびスチコン加熱肉を、上記と同様の消化酵素で分解した結果からも、生肉と同様の分子量約6,000～240の範囲に分散するピークが認められた(図3)。酵素消化により産生したペプチドの構成アミノ酸残基数をこれらのピークの分子量分布から推定すると、約50～2残基のアミノ酸残基で構成されるペプチドであると推定された。

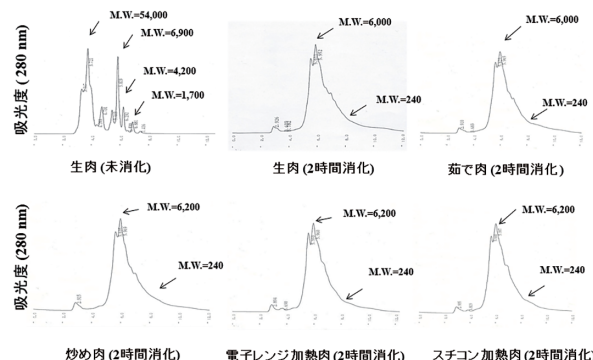


図3. 消化酵素により分解された生肉、茹で肉、炒め肉、電子レンジ加熱肉およびスチコン加熱肉のHPLCパターン

加工食肉製品の消化酵素分解物の分析では、酵素未消化の生ハムと比較して酵素未消化のロースハムおよびベーコンのHPLCパターンに違いが認められた。すなわち、生ロース肉と同様に、生ハムは分子量54,000以上のバンドを含む溶出パターンを示したが、ロースハムおよびベーコンは、分子量約9,000以下の主成分に分解された。これは、生ハムは製造工程で加熱工程が含まれていないのに対し、ロースハムおよびベーコンは、それらの製造過程で塩漬や加熱殺菌により筋肉タンパク質の高次構造の変化が生じ、酵素消化を受けやすくなったものと想定された(図4,生ハム、ロースハムおよびベーコンの未消化)<sup>4)</sup>。トリプシンおよびパンクレアチン処理後(2時間酵素処理)のHPLCパターンは、いずれもほぼ同様のパターンを示した。ペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで合計2時間酵素消化した食肉由来ペプチドのピークを各種調理加工および食肉製品と比較すると、生ハム、ロースハムおよびベーコンともに、分子量約6,000～240の各種ペプチド(各ペプチドの推定構成アミノ酸残基数:約50～2残基)に分解されることが確認された。いずれの分解物も低分子量のピークの増加が認められ、機能性ペプチドの発現が期待された。

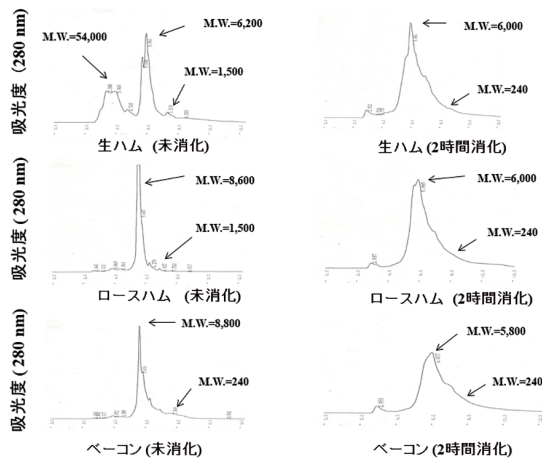


図4. 消化酵素により分解された生ハム、ロースハムおよびベーコンのHPLCパターン

### 3. ACE阻害活性の比較検討

生ロース肉、各種調理加工処理ロース肉および3種類の食肉製品ともに消化酵素による処理で、食肉タンパク質のほとんどが分子量6,000以下に分解されていることが確認された。そこで、各試料の消化酵素分解物のACE阻害活性を比較検討した。

図5に、生ロース肉、各種調理加工処理ロース肉および3種類の食肉製品をペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで処理して生じた酵素分解物を0.45  $\mu$ mセルロースアセテートメンブレンフィルターを用いてろ過した試料のACE活性阻害率を示した。その結果、ペプシンによる1時間の処理、その後のトリプシンおよびパンクレアチンによる1時間の処理の合計2時間の酵素処理で、既知のACE阻害剤であるカルノシンの阻害活性と同等かそれ以上のACE阻害活性が発現することが認められた。なお、有意差は認められないものの、湿式加熱法、乾式加熱法、誘電電動加熱法により処理したロース肉はいずれも93～95%の高いACE阻害率を示した。一方、3種類の加工食品(生ハム、ロースハム、ベーコン)から得られた酵素分解物は、86～88%のACE阻害活性を示した。

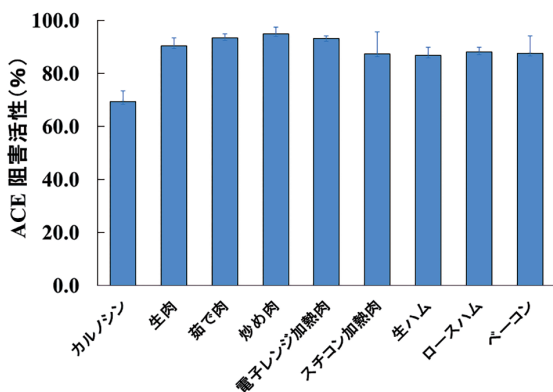


図5. 各酵素分解物のACE阻害活性に及ぼす各種加熱処理と食肉加工の影響

以上の結果から、市販の豚ロース肉を用いて、それらを各種加熱調理後、消化酵素のペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで処理すると、高いACE阻害

活性が発現することが認められた。また、本実験条件下では、加工食肉製品も豚ロース肉を各種加熱調理した試料と比較すると若干低い値であるが、既知のACE阻害ペプチドであるカルノシンよりも高いACE阻害活性を有することが明らかになった。

卵白および大豆タンパク質の変性に伴うACE阻害活性の発現について検討した研究で、卵白アルブミンと大豆タンパク質のグリシニンが熱変性に伴い強いACE阻害活性を発現することが報告されている<sup>26)</sup>。食肉を構成する主要タンパク質成分のミオシンやアクチンも、程度の差はあれ、加熱により食肉内全領域で比較的容易に変性を起こすことが報告されている<sup>7)</sup>。本研究の結果からも、調理加工食肉・食肉製品からヒトの消化酵素処理により強いACE阻害活性が発現することが認められた。

### 4. DPPHラジカル消去活性の比較検討

図6に、生ロース肉、各種調理加工処理ロース肉および3種類の食肉製品をペプシン、トリプシンおよびパンクレアチン処理後得られた酵素分解物のDPPHラジカル消去活性を測定した結果を示した。

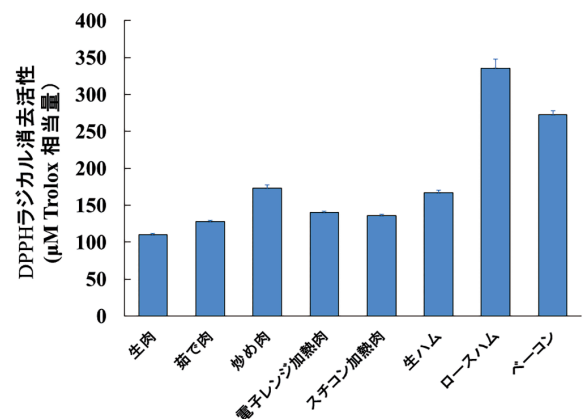


図6. 各酵素分解物のDPPHラジカル消去活性に及ぼす各種加熱処理と食肉加工の影響

各種加熱調理肉は、ペプシン処理1時間、その後のトリプシンおよびパンクレアチン処理1時間の合計2時間の酵素処理で、高いDPPHラジカル消去活性を発現した。これらの結果は食肉由来機能性成分の畜種別差異の比較検討をした際のDPPHラジカル消去活性よりわずかに高い値であった<sup>27)</sup>。また、各種加熱調理豚ロース肉および非加熱食肉製品の生ハムを用いて、ペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで処理するとDPPHラジカル消去活性がさらに増加する傾向が認められた。一方、加熱食肉製品のロースハムおよびベーコンを酵素処理すると有意に高いDPPHラジカル消去活性が測定された。この結果は、これらの食肉製品を製造する際に添加される香辛料等に含まれる抗酸化物質由来の抗酸化活性が付加されたものと考えられた<sup>28)</sup>。

われわれは、各種食肉の消化酵素分解物の抗酸化作用の比較検討を行い、牛肉、豚肉、鶏肉の消化酵素分解物に、既知の抗酸化物質であるカルノシンと同等以上の抗酸化活性が産生されることを報告している<sup>29)</sup>。魚肉タンパク質のプロテアーゼ消化物からも抗酸化ペプ



チドが分離同定されている<sup>30)</sup>。本研究の結果から、調理加工食肉・食肉製品の消化酵素処理により、強い抗酸化ペプチドが産生された可能性が示唆された。

生体内で生じる酸化ストレスを予防する適切な食事への関心が高まり、調理過程での食材の抗酸化成分の変化に関する研究が精力的に行われている<sup>7)</sup>。食べ物の調理過程では、さまざまな立体構造、さまざまな官能基をもつ有機化合物の反応だけでなく、無機化合物も含む複合系に、さらに加熱という熱エネルギーが加わった中での反応が生じる。今後、抗酸化能を評価する際は複雑な調理・加工のプロセスや消化吸収時の変化なども視野に入れた研究が必要と考えられる。抗酸化能を高める和食献立として、主菜を食肉の鶏つくねを利用した食事設計法の提案もなされている<sup>31)</sup>。

以上の結果から、市販の豚ロース肉を用いて、それらを各種加熱調理後、消化酵素のペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで処理すると強いACE阻害活性と抗酸化活性が発現することが認められた。また、加工食肉製品のそれらの消化酵素処理によっても、強いACE阻害活性と抗酸化活性が発現することが認められた。近年、食品タンパク質由来ペプチドの生活習慣病予防改善効果に関する研究が活発に展開されている<sup>32)</sup>。さらに、食肉に含まれる抗酸化作用を持つペプチドであるイミダゾールジペプチド(カルノシン)に、記憶機能の低下を回避する作用があることも報告されている<sup>33)</sup>。食肉は、ヒトの体を構成する筋肉組織と基本的に同じ構成成分から構築されていることから、即、体組織を構成できる栄養成分として利用できることは明らかである。本研究で、調理加工した食肉・食肉製品からも消化酵素処理より生活習慣病予防効果のある機能性ペプチドが発現することが明らかになり、多様な食品の摂取が推奨されている現在、食肉および食肉製品の摂取は、一般成人のみならず、高齢者の高次生活機能の低下防止に貢献することが期待された。

今後、熟成により特有の風味や機能性が付与された熟成ハム・ソーセージ類を解析することにより、より高い生理機能の発現も期待される。さらに、発酵食品には機能性を有するものが多く、ヒトの健康増進に貢献できる機能性を強化したおいしい新規発酵食肉製品の開発が望まれる。

## 要約

本研究は、各種調理加工した食肉・食肉製品を摂取した際に、生体調節機能を有する機能性成分が産生されるかどうかや、それら機能性成分の発現様式についても検討することを目的に実施した。

SDS-PAGE分析により、対照の生豚ロース肉に比較して各種加熱処理をした豚ロース肉の方が、ペプシン処理により分解されやすいことが判明した。これは、未変性タンパク質に比べ、変性タンパク質は容易に酵素分解されたためと考えられた。さらにトリプシンおよびパンクレアチン処理をすると、各種加熱ロース肉および食肉製品ともに、筋肉タンパク質は低分子量化し、

分子量6,000付近を中心としたブロードなバンドに分解された。またHPLC分析からも、各種加熱食肉および食肉製品共にそれらの酵素分解物は、分子量6,000～240の間にピークを有していることが確認された。いずれの消化酵素分解物も低分子量のピークの増加が認められ、機能性ペプチドの発現が期待された。

各種加熱調理後、消化酵素のペプシン、トリプシンおよびパンクレアチンで処理すると高いACE阻害活性が発現することが認められた。また、加工食肉製品も豚ロース肉を各種加熱調理した試料と比較すると若干低い値であるが、既知のACE阻害ペプチドであるカルノシンよりも高いACE阻害活性を有することが明らかになった。さらに、各種加熱処理肉および食肉製品共に、対照肉に比較して強い抗酸化活性の発現も認められた。

以上の結果から、調理加工した食肉・食肉製品を摂取した際にもACE阻害活性や抗酸化活性を有する機能性成分が産生されることが認められ、さらに生の対照肉に比較して加熱調理や加工食肉製品からの機能性ペプチドの産生の程度が増加することが明らかになった。

## 謝辞

本研究の一部は、公益財団法人伊藤記念財団の研究助成を受けて実施したものである。記して深甚なる謝意を表します。

## 参考文献

- 1) 山内邦男(1993) 乳タンパク質に由来する生体調節ペプチド。牛乳成分の特性と健康。日本栄養・食糧学会監修, pp.14-18, 光生館, 東京
- 2) 山田明(2016) 乳タンパク質分解物の機能と応用への新たな可能性。ミルクサイエンス 65: 199-202
- 3) 六車三治男(2015) 食肉の保健的機能性。健康あれこれ栄養ふむふむ。南九州大学健康栄養学部開設10周年記念コラム集(南九州大学健康栄養学部編著), pp. 62-65, 鈺脈社, 宮崎
- 4) 六車三治男(2017) 畜産物加工 畜肉類。新しい食品加工学(改定第2版)―食品の保存・加工・流通と栄養―(小川 正・的場輝佳 編集), pp. 76-82, 南江堂, 東京
- 5) 厚生労働省(2020) 平成30年国民健康・栄養調査報告。  
<[https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou\\_eiyou\\_chousa.html](https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyou_chousa.html)>2020年9月7日参照
- 6) 総務省統計(2019) 人口推計(令和元年10月1日現在)  
<<https://www.stat.go.jp/data/jinsui/2019np/index.html>>2020年9月7日参照
- 7) 福田靖子(2001) 調理と食品の抗酸化機能性。日本調理科学会誌 34: 71-78
- 8) Arihara, K., Nakashima, Y., Mukai, T., Ishikawa, T. and Itou, M. (2001) Peptide inhibitors for angiotensin

- I-converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. *Meat Science* 57: 319-324
- 9) Katayama, K., Fuchu, H., Sakata, A., Kawahara, S., Yamauchi, K., Kawamura, Y. and Muguruma, M. (2003) Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of porcine skeletal muscle proteins following enzyme digestion. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 16: 417-424
  - 10) Katayama, K., Tomatsu, M., Fuchu, H., Sugiyama, M., Kawahara, S., Yamauchi, K., ... Muguruma, M. (2003) Purification and characterization of an angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine troponin C. *Animal Science Journal* 74: 53-58
  - 11) Katayama, K., Tomatsu, M., Kawahara, S., Yamauchi, K., Fuchu, H., Sugiyama, M., ... Muguruma, M. (2004) Inhibitory profile of nonapeptide derived from porcine troponin C against angiotensin I-converting enzyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 771-775
  - 12) Katayama, K., Jamhari, M., Mori, T., Kawahara, S., Miake, K., Kodama, Y., ... Muguruma, M. (2007) Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine skeletal muscle myosin and its antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Food Science* 72: S702-706
  - 13) Katayama, K., Anggraeni, H. E., Mori, T., Ahhmed, A. M., Kawahara, S., Sugiyama, M., Nakashima, T., ... Muguruma, M. (2008) Porcine skeletal muscle troponin is a good source of peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 355-360
  - 14) Muguruma, M., Ahhmed, A. M., Katayama, K., Kawahara, S., Maruyama, M. and Nakamura, T. (2009) Identification of pro-drug type ACE inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects in vivo. *Food Chemistry* 114: 516-522
  - 15) Ahhmed, A. M. and Muguruma, M. (2010) A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat Science* 86: 110-118
  - 16) 六車三治男 (2012) 食肉の消化酵素分解による血圧低下ペプチドの発現について. *日本暖地畜産学会報* 55: 85-91
  - 17) 竹田志郎・久保田大樹・竹之山慎一・河原聡・六車三治男 (2014) 各種食肉の消化酵素分解物における抗酸化作用の検討—その畜種別差異の比較検討—. *日本暖地畜産学会報* 57: 141-145
  - 18) 渋川祥子 (2006) 調理における加熱の基本. *日本食生活学会誌* 17: 89-93
  - 19) Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685
  - 20) Gornall, A. G., Baradawill, C. J. and David, M. M. (1949) Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* 177: 751-766
  - 21) Murphy, J. B. and Kies, M. W. (1960) Note on spectrophotometric determination of proteins in dilute solutions. *Biochimica et Biophysica Acta* 45: 382-384
  - 22) Cushman, D. W. and Cheung, H.S. (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology* 20: 1637-1648
  - 23) Balyasnikova, I. V., Dnilov, S. M., Muzykantov, V. R. and Fisher S. H. (2001) Modulation of angiotensin-converting enzyme in cultured human vascular endothelial cells. *In Vitro Cellular Developmental Biology Animal* 34: 545-554
  - 24) Stamler, J., Elliott, P., Kesteloot, H., Nichols, R., Claeys, G., Dyer, A. R. and Stamler, R. (1996) Inverse relation of dietary protein markers with blood pressure. *Circulation* 94: 1629-1634
  - 25) 石渡奈緒美・福岡美香・為後彰宏・酒井昇 (2013) 真空調理法に基づく畜肉加熱処理時のタンパク質変性分布および微生物挙動の予測. *日本食品工学会誌* 14: 19-28
  - 26) 河村幸雄 (2006) 生理機能性ペプチド／タンパク質. *化学と生物* 44: 619-628
  - 27) 六車三治男・久保田大樹・河原聡 (2012) 食肉由来機能性成分の畜種別差異の比較検討についての研究 (III). 平成23年度食肉に関する助成調査成果報告書 (公財)伊藤記念財団 30: 7-18
  - 28) 末野紀子・新田ゆき (1978) 香辛料の豚ひき肉に対する抗酸化性. *調理科学* 11: 134-138
  - 29) 竹田志郎・久保田大樹・竹之山慎一・河原聡・六車三治男 (2014) 各種食肉の消化酵素分解物における抗酸化作用の検討—その畜種別差異の比較検討—. *日本暖地畜産学会報* 57: 141-145
  - 30) 末綱邦男 (1999) かつお節タンパク質のプロテアーゼ消化物からの抗酸化ペプチドの分離と同定. *日本水産学会誌* 65: 92-96
  - 31) 佐藤久美・栗津原理恵・原田和樹・長尾恵子 (2011) 抗酸化能を高める和食献立の食事設計法の提案. *日本調理科学会誌* 44: 323-330
  - 32) 長岡利 (2016) 食品タンパク質由来ペプチドの生活習慣病予防改善作用に関する研究の新展開. *化学と生物* 54: 804-811
  - 33) 久恒辰博 (2016) 食品成分による脳老化改善・認知症予防の可能性. *化学と生物* 54: 892-900