●製品 & 技術

消費者ニーズに応じたチキンエキス機能性ジペプチドの精製

柳内延也

東海物産株式会社 〒101-0032 東京都千代田区岩本町1-10-5

Purification of Antioxidative Dipeptides from Chicken Extract for Consumer's Needs

Nobuya Yanai

Tokai Bussan Co. Ltd., 10-5, 1-Chome Iwamoto-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032, Japan

The functional dipeptides, Anserine and Carnosine (AC), which are contained in chicken extract, have a specific antioxidant activity different from other botanical antioxidants such as vitamin C, vitamin E, carotenoids and phenolic compounds. When these antioxidants were assayed as a preventive effect on protein degradation by reactive oxygen species (ROS), AC, Vitamin C and other botanical antioxidants show a preventive activity on the protein degradation by ClO, ONOO and OH radicals, respectively. Furthermore, it is suggested that intake of AC in combination with these different type of antioxidants might be more effective to prevent a harmful damage induced by ROS in vivo. In order to use AC for various kinds of food, we have prepared a variety of AC materials of different grade of purity by using membrane technology and ion-exchange chromatography. In clinical study, a soft drink contained with purified AC, Vitamin C and Ferulic acid reduced serum levels of total cholesterol, triglyceride, and LDL as well as fasted glucose concentration in normal volunteers.

Key words : chicken extract / anserine / carnosine / antioxidants / clinical study

はじめに

チキンエキスの中には動物生体保護作用を持つ機能性ジペプチドのアンセリンとカルノシン (Anserine-Carnosine, ACと略記) が多量に含まれている。特にそれらの体液平衡能や抗酸化作用は植物原料から得られる抗酸化成分にはない動物特有の特徴を持っている¹⁾。しかし一般に動物エキスを食品に応用する場合にはその用途が限定され、例えばチキンエキスならラーメンのだしやスープ、シチューのベースが主な用途となる。そこでこれらの機能性ジペプチドを広い範囲の食品に応用したり、また多くの消費者に利用できる素材とするために任意の純度に精製して機能性成分を濃縮したり、チキンエキスの風味を保持してアレルギー性を低下させることなどが求められる。筆者らはチキンエキス中のACを各種ろ過膜処理とイオン交換樹脂を併用してAC含量を

調節したチキンエキス製品を開発してきた。本稿ではその製品を紹介したい。

1. 各種AC含有チキンエキス製品

動物生体組織に存在する遊離アミノ酸の中で β -アラニンとヒスチジンで構成されるジペプチドであるアンセリンとカルノシンの含有量が最も高い。内臓を摘出しただけの鶏肉を熱水抽出したエキスを丸鶏エキスと呼ぶが、その中にアンセリンとカルノシンは含有比率2~3:1の割合でエキス固形分当たり5~10%含まれる。その他の成分は遊離アミノ酸、蛋白質、脂肪、カリウムやナトリウムなどの塩類である。チキンエキスのAC含量を増加させる精製法として筆者らは限外ろ過膜処理 (UF処理, 分画分子量3000) 又はナノろ過膜処理 (NF処理, 分画分子量500), そしてイオン交換樹脂処理 (強陽イオン交換

Fig. 1 GPC-HPLC profiles of various chicken extract powders.

Fig. 2 Preventive effect of various antioxidants on the protein degradation by three types of reactive oxygen species, $\text{ClO} \cdot$, $\text{OH} \cdot$ and $\text{ONOO} \cdot$.

R: Reference protein (Ovalbumin), C: Control without antioxidant, 1: Purified AC, 2: V.C., 3: V.E., 4: Astaxanthin, 5: β -carotene, 6: Catechin, 7: Quercetin, 8: EGCG, 9: Curcumin, 10: Chlorogenic acid, 11: Ferulic acid.

Fig. 3 Concept of ideal antioxidative foods.

体)を併用した。各処理によりAC含量を調整したチキンエキスのゲルろ過-HPLCでの分子量分布(GPC-HPLC, 検出器波長210nm)はFig. 1に示す通りである²⁾。チキンエキスは吸湿性が高いため粉末にする場合はデキストリンなどの乾燥補助剤を添加するが、それぞれAC含量を規定した粉末チキンエキス製品はAC-5(含量5%), AC-10(含量10%), UF-15(含量10~15%), AC-40(含量40%)として市販されている。各チキンエキス製品の特徴は、AC-5とAC-10はチキンのコラーゲン質を残してチキンエキスのオリジナルな風味を保持している。UF-15はチキンエキスの呈味性を残してコラーゲンを含む蛋白質を完全に除去しAC含量を高めたものである。これはチキンアレルギーの消費者でもチキンエキスの風味を堪能し機能性成分ACを摂取できる食品素材として利用できる。そしてAC-40はチキンエキスの風味を完全に除去したものであり、機能性素材としてお菓子、清涼飲料、

Fig. 4 Clinical effect of an antioxidative soft-drink containing purified AC, V.C. and Ferulic acid on normal volunteers.

A : serum total cholesterol, B : serum triglycerides, C : serum LDL, D : fasted serum glucose, E : serum HbA1c, F : serum oxidized LDL.

健康食品、さらにサプリメントまであらゆるジャンルの食品に応用が可能である。

2. チキンエキスのアンセリンとカルノシンの抗酸化活性と健康機能

健康維持に対する消費者の関心は現在、極めて高く、抗酸化成分を含む食品類の消費が顕著に増加している。ただそれら抗酸化成分は緑黄野菜やお茶、

大豆、果物などいずれも植物に由来する成分である。そこで一般には馴染みの薄い、動物由来の抗酸化成分であるチキンエキスACの機能性、特にその抗酸化作用の意義について挙げてみたい。

老化や生活習慣病の発生を遅延・予防する効果が期待される抗酸化剤の作用は遺伝子や蛋白質、脂肪などの生体構成成分を傷害する活性酸素を消去する作用にある。これら老化や組織傷害を起こす活性酸素は生体内のエネルギー生産の過程で必然的に生産

されるものであり、様々な活性酸素種が存在する。動物と植物に共通する活性酸素の発生経路は細胞内のミトコンドリアで行なわれるエネルギー代謝であるが、そこでは体内に取り込まれた酸素ガス (O_2) がイオン化して生じるスーパーオキシドアニオン (O_2^-) とその派生物の過酸化水素 (H_2O_2) である。 H_2O_2 は通常、酵素により速やかに分解されて水と酸素ガスになるが、鉄イオン (Fe^{++}) などの触媒作用を受けると水酸化ラジカル ($OH\cdot$) を発生させる。一方、動物に特徴的な活性酸素の発生経路もある。動物には免疫機能を担当する白血球が存在し、感染防御や異物除去のためにジ亜塩素酸ラジカル ($ClO\cdot$) や過酸化亜硝酸ラジカル ($ONOO\cdot$) を発生させる。

構成分子が異なる活性酸素種を $OH\cdot$ 、 $ClO\cdot$ 及び $ONOO\cdot$ の3種に分類して、これらが起こす蛋白質分解作用に対する各種抗酸化剤の抗酸化活性を AC と比較してみると³⁾、AC は $ClO\cdot$ による蛋白質分解を顕著に抑制する作用を有していたのに対して、植物由来の脂溶性抗酸化剤はいずれも $OH\cdot$ による分解に対して強い抗酸化作用を示した。しかし $ClO\cdot$ や $ONOO\cdot$ に対する抗酸化作用はこれらが生体に存在できる濃度の10倍量でも発揮できなかった。一方、水溶性のビタミンC (V.C) は $OH\cdot$ に対して殆ど抗酸化作用を示さなかったが $ONOO\cdot$ に対して最も強い抗酸化活性を示した (Fig. 2)。この実験結果は動物に由来する AC が動物だけが生産する白血球起源の塩素系活性酸素に対する抗酸化作用を持つことを強く示唆するものである。

3. チキンエキスを主要成分とする抗酸化飲料の臨床成績

加齢に伴って起こる動脈硬化、高脂血症、高血糖、更に細胞変性による癌の発生はいずれも活性酸素の傷害が体内に蓄積されて発症すると考えられるが、それは酸化脂質や酸化ストレスで生産が促進される最終糖化産物の血管内蓄積であったり、肝臓での脂肪代謝機能の低下であったり、膵臓でのインシュリン生産の低下であったり、そして遺伝子DNAの傷害であったりするためである。これらの酸化障害が例えば $OH\cdot$ 単独の活性酸素で起こっているのではないとすれば、動物である私達には白血球に由来する活性酸素に対する抗酸化剤の摂取が必要であり、少なくとも上記の3種の活性酸素を抑制する抗酸化剤を配合した食品が活性酸素によって起こる老化、生活

習慣病の予防には有効であると考えられる。

そこでチキンエキスより精製した AC (400mg, $ClO\cdot$ 消去剤) と米糠から精製されたフェノール化合物のフェルラ酸 (20mg, $OH\cdot$ 消去剤) そして V.C. (300mg, $ONOO\cdot$ 消去剤) を含有する抗酸化性成分飲料を調製し、中高年の健康人を対象に健康機能に及ぼす効果を試験してみた。1日1本、8週間飲用したとき、血中総コレステロール、LDL、中性脂肪、空腹時血糖がいずれも低下する効果が観察された。これは抗酸化成分が脂質代謝やインシュリン分泌を直接促進した作用ではなく、脂質代謝やインシュリン分泌を行なう細胞組織の酸化障害による機能低下を防止したために、結果として若年者のようにコレステロールや血糖値を低下させたと考えられた。

おわりに

多種多様な抗酸化性成分を含む食品が市販されているが、活性酸素の傷害作用を効果的に抑制するためには同系統、同効の抗酸化成分を摂取するのではなくバランスのよい抗酸化成分を摂取することが重要である。そしてチキンエキスなど動物エキスに含まれる抗酸化ペプチドは数少ない塩素系活性酸素に対する抗酸化成分であり、この成分を動物性食品本来の食材ではなく広い範囲の食品に利用されることが必要である。その意味で各種膜技術やイオン交換体処理などによるアミノ酸、ペプチドなどの濃縮・精製技術が新しい食品加工法として広く普及するのではないと思われる。

文 献

- 1) Boldyrev AA and Severin SE: The Histidine-containing dipeptides, Carnosine and Anserine. Distribution, properties, and biological significance, *Adv. Enzyme. Regul.*, **30** 175-194 (1990)
- 2) 柳内延也, 塩谷茂信, 水野雅之, 鍋谷浩志, 中嶋光敏: 動物エキス中のヒスチジン含有ジペプチド (アンセリン, カルノシン) の HPLC による迅速定量法. 日本食品科学工学会誌, **51** 33-37 (2004)
- 3) 柳内延也, 塩谷茂信, 水野雅之, 鍋谷浩志, 中嶋光敏: チキンエキス由来アンセリン-カルノシン混合体の抗酸化活性: 植物由来抗酸化物質との比較. 日本食品科学工学会誌, **51** 238-246 (2004)

(Received 1 June 2005 ;

Accepted 3 June 2005)