

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560045

研究課題名(和文)紫外線加工によるMK-7フリー納豆風味食品の開発とワーファリン内服患者への適用

研究課題名(英文)Development of MK-7 free fermented soy-bean-like food using ultraviolet

研究代表者

平松 祐司(Hiramatsu, Yuji)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：30302417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：「ビタミンK低含有納豆様大豆食品」の開発を実施した。従来の研究のような納豆の発酵プロセスの改質にこだわらず、納豆粘性物質水溶液を利用して納豆風味を保持し、この水溶液に紫外線を加えてビタミンKおよび納豆菌を低減した大豆食品の加工を目指した。並行してビタミンK低産生納豆菌株の同定を実施した。粘性物質を粉末化したものを蒸煮大豆に還元し、納豆風味の大豆加工食品を作成した。1)粘性物質水溶液中のビタミンKの分解特性の解明、2)粘性物質水溶液中の納豆菌の熱特性の解明、3)粘性物質の乾燥特性の解明のための評価、さらにボランティアによる摂食試験を実施した。

研究成果の概要(英文)：Our object was the development of MK-7 reduced fermented soy-bean or fermented soy-bean-like food for the patients who take life-time oral warfarin for chronic anticoagulation therapy. UV was used to reduce MK-7 (vitamin K2) levels and decreased Natto-fungus in the viscous liquid obtained from fermented soy-bean. We also screened to find a low MK-7-production fungus for the development of Natto with low MK-7 content. Then we evaluated the function of the MK-7 reduced fermented soy-bean and fermented soy-bean-like food focusing on 1) efficiency of UV on MK-7 reduction, 2) temperature dependent Natto-fungus action pattern, and 3) function of the freeze-dried viscous liquid. MK-7 of the developed food was significantly lower than standard Natto and a volunteer test revealed that oral Natto-fungus intake does not increase serum MK-7 levels.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：納豆 ビタミンK 紫外線 粘性 大豆

1. 研究開始当初の背景

循環器系臨床において、人工弁置換術後・冠動脈疾患・不整脈等の患者は、致命的血栓予防のために抗凝固薬であるワーファリンを半永久的に内服することを余儀なくされる。ワーファリンは、ビタミン K に拮抗して肝臓でのビタミン K 依存凝固因子 II, VII, IX, X の合成を阻害する作用を持つ。人工弁患者は全国に数十万人存在し、生活習慣病である冠動脈疾患は増加の一途にあり、近い将来ワーファリン内服患者数は百万人規模に到達し得る。ワーファリン内服時はビタミン K 含有量の多い食品を避ける必要があるが、納豆は納豆菌が産出するビタミン K₂ (menaquinone-7; MK-7) の含有量が際立ち、また菌は腸内でも MK-7 を産生するとされているため、ワーファリン内服時の納豆摂取は原則的に禁じられている。しかしながら、納豆禁食を惜しむ患者や家族の声は強く、庶民的で優れた伝統栄養食品という観点からも、ワーファリン内服患者、特に生活習慣病患者や成長期の小児に納豆を禁ずることをわれわれ医療者は永年憂いてきた。

そこで研究代表者らは、本学食品バイオマス工学研究室と共同で、“MK-7 を含有しない納豆の開発”という初期構想を掲げた。しかしながら、納豆菌による MK-7 産出を発酵温度や時間等により制御することや、発酵後の固形納豆から MK-7 を除去することは技術的に困難であるとわかり、本研究のゴールを、「MK-7 を含まないか含有量の極めて低い納豆風味食品」の開発と臨床効果検定と定めた。

2. 研究の目的

従来ワーファリン内服時には納豆を単純に禁じてきたが、本研究は初めて、「ビタミン K オフの納豆風味食品開発を目指す」という前向きな発想に転換し、ワーファリンと納豆(医療と食文化)の共存を企図する。ビタミン K を含有しない納豆を加工するには、納豆菌のビタミン K 産出を抑制するか、あるいは生成されたビタミン K を分解・除去する方式が考えられる。しかしながら、従来の納豆菌によるビタミン K の産出を発酵温度や時間などの制御により抑制することは困難であることがわかった。ビタミン K は紫外線照射により分解されることが知られるが、紫外線は透過力が小さく、固形食品である納豆への効用は十分には期待できない。また、納豆から納豆菌の加熱殺滅を図るとしても、納豆菌は芽胞を形成するため殺菌には 120 以上の高温を要し、食味低下が懸念される。

このように発酵納豆のビタミン K フリー(ゼロ)化には課題が多い。本研究では、納豆から抽出した粘性物質を利用して納豆風味を保持し、これに紫外線と熱処理を加えてビタミン K および納豆菌を除去したものを別途蒸煮した大豆に還元し、新しい食品の完成を図る。我々が打ち出す新たな食品加工には以下の3特性が期待される。1) 粘性物質を水溶液とすることにより、紫外線照射や加熱操作の適用性が向上する。2) ビタミン K フリーとした粘性物質を粉末化することにより、粘性物質の保存性や加工性が向上する。3) 納豆由来の粘性物質を温存・利用することにより、納豆の風味を再現できる。これらの特性を具現して初めて、医療と食文化の共存に寄与し得る斬新なコンセプトの納豆風味食品が安心して提供できるようになる。嗜好、栄養、ひいては精神衛生と、多様な観点から患者の QOL 向上に有益な食品となろう。

「ビタミン K オフの納豆の開発」は過去にない斬新なものである。従来の納豆菌によるビタミン K の産出を制御するのは著しく困難であるために、本研究のゴールは、「ビタミン K オフの納豆風味食品の開発と臨床効果検定」、すなわち発酵納豆と非発酵大豆の機能を融合した新しいコンセプトの食品開発および評価と定められた。克服すべき課題は多く、上に示した3つの食品加工特性を実現するためには、1) 納豆粘性物質中のビタミン K の分解特性の解明、2) 納豆粘性物質中の納豆菌の熱死滅特性の解明、3) 納豆粘性物質の乾燥特性の解明を果たし、最適な加工を施す基礎技術を確立したい。

無論ワーファリン内服患者全てが納豆にこだわるわけではないだろうし、市場規模のみを勘案すれば本研究の価値は不透明である。しかしながら本研究の成功は、医療現場に定着している固定観念を覆し、患者の食生活に高い自由度をもたらす。日本の伝統食品を患者やその家族の元に返すことは、将来に渡って文化的・経済的な波及効果をもたらすものと期待される。日本の食文化を科学の力で支え、医療と食文化の共存において妥協しないことは、今後こうした多面的栄養科学研究が発展する上でも重要と考える。

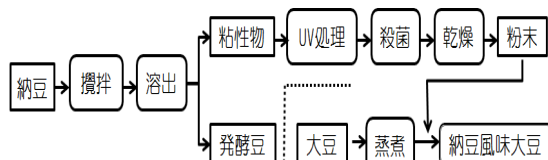
3. 研究の方法

ビタミン K (K₂, menaquinone-7) を含有しない納豆を加工するためには、発酵過程での納豆菌によるビタミン K の産出を抑制するか、あるいは発酵済み納豆中に生成されたビタミン K を分解・除去する二つの方式が考え

られる。しかしながら、従来の納豆菌によるビタミン K の産出を、発酵温度や時間などの制御により抑制することは困難である。またビタミン K は紫外線照射により分解されるが、紫外線は透過力が小さく、固形食品である発酵済み納豆への紫外線照射の効用は十分には期待できない。一方、納豆菌は摂食後の腸管内においてもビタミン K を産出するとされ、これを防ぐには納豆を食する前に納豆菌を殺滅する必要がある。ところが納豆菌の芽胞の殺菌には 120 以上の高温加熱が必要とされ、納豆の食味低下が懸念される。

このように上記二つの方式による納豆のビタミン K フリー化には課題が多い。そこで本研究は発酵プロセスや発酵済み納豆の改質にこだわらず、納豆から取り出した粘性物質水溶液を利用して納豆風味を保持し、これに紫外線と熱を加えてビタミン K および納豆菌を除去した大豆食品の加工を目指した。

本申請課題において提案する加工フローを下に示す。市販の納豆を攪拌して糸ひき状態としたものに浄水を加えて水洗することにより、粘性物質を溶出する。粘性物質水溶液に紫外線照射と加熱を施すことにより、



含有されるビタミン K の分解および菌の殺滅を図る。ビタミン K および納豆菌を除去した粘性物質水溶液を噴霧乾燥法により粉末化したものを別途蒸煮した非発酵の大豆に還元し、納豆風味の煮大豆を得る。

この新たな加工において期待される技術特性は以下の 3 点である。

- 1) 粘性物質の水溶液により、紫外線照射や加熱操作の適用性が向上する
- 2) 粉末化により、納豆粘性物質の保存性や加工性が向上する
- 3) 納豆由来の粘性物質を利用することにより、納豆の風味を再現できる

本加工プロセスの確立には、上の 1) - 3) の加工特性に関する定性的・定量的評価が不可欠である。そこで以下の三つの小課題を設定し、当該食品開発のための基礎資料を得る。

(1) 粘性物質中のビタミン K 分解特性解明

市販納豆を攪拌・浄水溶出して得られる納豆粘性物質の水溶液を作成し、紫外線照射によるビタミン K の分解特性を明らかにする。粘性物質の濃度（水希釈率）や照射条件（照

度、透過光路長、照射時間、温度）がビタミン K の分解率に与える影響を明らかにする。紫外線照射は、紫外ランプ、照射セルより照射装置を構築して行う。ビタミン K の測定は高速液体クロマトグラフィー（HPLC: High Performance Liquid Chromatography）による水溶性 K2 (MK-7) の定量とする。

(2) 粘性物質中の納豆菌の熱死滅特性の解明

市販納豆を攪拌・浄水溶出して得られる粘性物質の水溶液を作成し、加熱による殺菌特性を明らかにする。粘性物質の濃度（水希釈率）や加熱条件（温度、時間など）が菌の死滅率に与える影響を明らかにする。加熱殺菌はオートクレーブにより行う。また納豆菌の計測は、供試液を用いた平板培養におけるコロニー計数法により行う。また高い昇温速度の得られるオーム加熱法の適用も検討する。

(3) 納豆粘性物の乾燥特性の解明

粘性物質の水溶液を作成し、噴霧乾燥法による粉末化特性を明らかにする。粘性物の濃度（水希釈率、賦形剤添加量）や噴霧乾燥条件（噴霧圧、噴霧流量、乾燥温度など）が粉末の物性（水分、粒度、復元性）に与える影響を明らかにする。乾燥は回転円盤ノズル方式の噴霧乾燥機（既有）により行う。また粉末物性について、水分は乾法により、粒度は篩分け法により、復元性は水還元した粉末の曳糸性を引っ張り試験法により測定する。

これら (1) - (3) の資料をもとに加工プロセスの最適化を図り、蒸煮大豆への味付けや調味用たれの調整を施し、食味・食感を高い次元で再現した食品を完成する予定とした。

続いて筑波大学倫理委員会の承認を得て食品性能試験を実施する計画とした。検証前 1 ヶ月間納豆禁食とした健康成人ボランティアに当該食品を 1 回 50g、1 日 2 回、7 日間連続で摂食してもらい、摂食終了翌日まで毎朝血中 MK-7 濃度を測定する。納豆代用品としての官能試験も実施する計画とした。

4. 研究成果

「MK-7 を含まないか含有量の極めて低い納豆風味食品」の開発を目標に定めて、まず、発酵納豆から曳糸性の粘性物質を浄水に溶出して粘質液を作成し、非加熱殺菌法でありビタミン K 分解作用が証明されている紫外線照射を用いて納豆菌の殺菌と MK-7 分解を同時に試みた。独自に開発した紫外線照射装置；U 字型紫外線殺菌ランプを用い、液深 1mm の粘質液に対して照度・時間を変えながら紫外線を照射；を用いた。得られた試料を 37 で 18 時間培養後、コロニー計数法によ

り生残曲線を描き、納豆菌の殺菌に必要な紫外線照射量を求めた。照射後の液を 60 で 20 時間乾燥させて粉末とし、この粘質液粉末の還元液の糸引き長をレオメーターにより計測した。また、粘質液粉末を添加した蒸煮大豆食品について、匂い、風味、糸引き、食感等について市販の通常納豆と比較した。

下図は納豆および孢子菌液摂取後の血中 MK-7 増加を検証したものである。従来の定説に反して、孢子菌が体内で継続的に MK-7 を産生することはないようである。

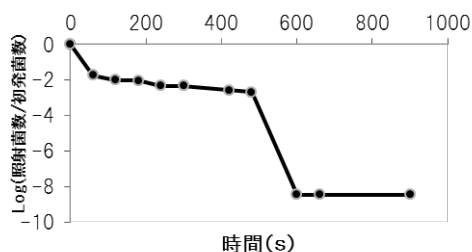
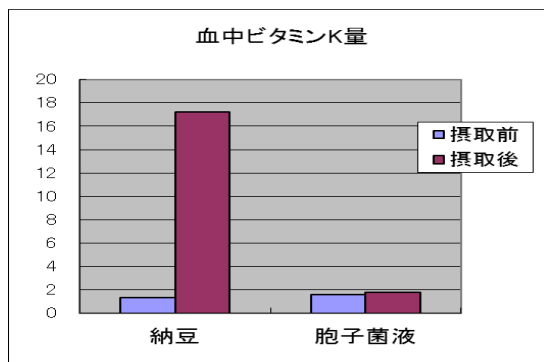


図1 納豆菌の生残曲線

図 1 に紫外線照射時の納豆菌の生残特性を示す。500 秒まで菌数の減少が緩やかなのは芽胞の存在によると考えられる。600 秒以降は 10^{-8} まで納豆菌を低減できた。これは 32.8 mJ/cm^2 の照射量に相当した。官能評価においては市販の納豆よりもすべての評価は劣るものの、加熱殺菌をして得た従来法の粉末に比して評価は高かった。

本研究の課題は多く、期待される食品加工特性を具現化するためには、1) 納豆粘性物質中のビタミン K の分解特性の解明、2) 納豆粘性物質中の納豆菌の熱死滅特性の解明、3) 納豆粘性物質の乾燥特性の解明を果たし、最適な加工のための基礎技術を確立しなければならなかった。幸いこれらの特性を解明しつつ、目的にかなった食品を加工し得た。

ワーファリンを内服している患者の全てが納豆にこだわるわけではないし、製品の市場規模のみを勘案すれば本研究の価値は不透明である。しかしながら本研究の成功は、医療現場に定着している「ワーファリンには納豆禁食」という固定観念を覆し、患者の食

生活により高い自由度をもたらす。日本人の食文化を科学研究の力で支え、医療と食文化の共存をはかる姿勢は、今後こうした多面的栄養科学研究が発展する上でも重要であろう。納豆の名産地・茨城県にある本学が地元の食文化に関わるプロジェクトを打ち出すことにも意義があるものと感じている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- (1) 北村 豊, 平松祐司, 斉藤有希. ビタミン K オフ納豆風味大豆加工食品の開発. *New Food Industry* 2013; 55: 21-28. 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

- (1) 平松祐司. 茨城県の心臓血管外科医療の近未来を展望する. 取手医師会学術講演会、2015 年 10 月 27 日、取手医師会病院、茨城県取手市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平松 祐司 (HIRAMATSU, Yuji)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：30302417

(2) 研究分担者

北村 豊 (KITAMURA, Yutaka)
筑波大学・生命環境系・教授
研究者番号：20246672
長谷川 雄一 (HASEGAWA, Yuichi)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：00251059
堀米 仁志 (HORIGOME, Hitoshi)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：50241823