

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 6 日現在

機関番号：24302

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700736

研究課題名（和文）食品に利用可能な大量分画法によるバイオ燃料副産物から酸化を抑制するペプチド分離

研究課題名（英文）Isolation of peptides with antioxidant activity from biodiesel byproducts by autofocusing, which could be applied to the food system

研究代表者

朴 恩榮（PARK EUNYOUNG）

京都府立大学・食保健学科・助手

研究者番号：50405239

研究成果の概要（和文）：小麦グルテンおよび大豆ペプチドを合成アンフォラインを用いない等電点電気泳動である Autofocusing 装置を用いて分画した。Autofocusing 画分の *in vitro* での抗酸化活性を DPPH、OH ラジカル消去能、ORAC 法等を用いて検討した。また、豚挽肉に各分画物を添加後、加熱調理し、4 および 20°C で保存した。保存後の豚挽肉の脂質酸化の程度は TBA 法により測定した。豚挽肉に小麦グルテンペプチドおよび大豆ペプチドの Autofocusing 画分を添加した場合、グルテンペプチドのすべての画分および大豆ペプチドの酸性・弱酸性画分で脂質の酸化を抑制する傾向が見られた。

研究成果の概要（英文）：Gluten and soy protein hydrolysates were fractionated on the basis of the amphoteric nature of sample peptides by autofocusing. Antioxidant activities of the autofocusing fractions were evaluated by DPPH and OH radical scavenging assays, ORAC assay, and so on. Also, the cooked pork patties added with peptides were stored at 4°C, 20°C in the dark. After incubation, lipid oxidation of the cooked pork patties was tested using TBA method. All autofocusing fractions of gluten hydrolysate and acidic, weak acidic fractions of soy protein hydrolysate suppressed oxidation of lipid in the patties.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：食品科学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：食品と貯蔵・抗酸化・ペプチド・大量分画法

## 1. 研究開始当初の背景

食品タンパク質酵素分解物には抗酸化能があることが知られているが、単離された抗酸化ペプチドを食品に添加することはコスト等の面で困難である。そのため食品や生体に投

与可能なペプチド分画物の抗酸化機能については報告例が少ない。また、*in vitro* で高い抗酸化活性を持つペプチドを食品に添加した場合、*in vitro* での結果とは必ずしも一致しない

場合がみられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、自己等電点電気泳動

(Autofocusing)装置により大豆、小麦等のバイオ燃料の材料タンパク質画分および動物、水産物由来ペプチド画分を用い、各分画物の試験管内での抗酸化活性と、食品への添加における抗酸化活性を評価、比較し、食品の酸化を抑制する抗酸化ペプチド画分を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

小麦グルテン・大豆ペプチドを合成アンフォラインを用いない等電点電気泳動である

Autofocusing装置を用いて分画した。この方法は大量分画が可能で、また有機溶媒などを必要とせず、食品での評価に適している。食品タンパク質の酵素分解物をAutofocusing方法により分画し得たペプチド画分と分画前の各ペプチドのin vitroでの抗酸化活性をラジカル消去能 (OH、DPPHラジカル)、金属キレート能、リノール酸自動酸化抑制能、ORAC法を用いて検討した。また、豚挽肉に各分画物を添加後、加熱調理し、4℃および20℃で保存した。保存期間中の脂質の酸化程度を過酸化脂質分解物であるマロンジアルデヒドの濃度を測定することにより食肉中での抗酸化活性を評価した。

## 4. 研究成果

小麦グルテンペプチド Autofocusing 画分混合物は、DPPH ラジカル消去能ではいずれの画分でも高い活性を示し、OH ラジカル消去活性では弱酸性および中性画分で高い活性を示した。ORAC 法およびリノール酸の酸化抑制能の結果では中性画分では活性が高く、酸性画分では低い活性を示した。一方、キレート能では、ORAC 法およびリノール酸の酸化抑制能が低かった酸性および弱酸性画分

で活性が高く、塩基性画分では活性が低かった。大豆ペプチド Autofocusing 画分混合物でも小麦グルテンペプチド Autofocusing 画分混合物の場合と同様に、それぞれの系で強弱がみられるが抗酸化能を示した。以上のように実験により活性に差が見られたものの、豚挽肉に小麦グルテンペプチド (crude、Autofocusing 画分混合物) を添加後、加熱調理し、4℃で保存した場合には、いずれの場合も脂質酸化により生じるマロンジアルデヒド (MDA) の生成を抑制する傾向が見られた。In vitro で高い抗酸化活性を示した画分以外でも酸化が抑制されたことから、豚挽肉中では複数メカニズムの相互作用による抗酸化が生じていることが示唆された。豚挽肉に大豆ペプチド (crude、Autofocusing 画分混合物) を添加した場合には、crude の状態では加熱調理後保存時の MDA 生成を抑制する傾向が見られた。一方、Autofocusing 画分混合物では、酸性、弱酸性画分において対照群と比較して MDA 生成が抑制された。この結果はキレート能と関連しており、酸性、弱酸性画分にキレート能を有するペプチドが含まれる可能性が示唆された。また、1%小麦グルテンペプチドおよび大豆ペプチド添加群と対照群間での嗜好型官能検査の結果、対照群と比べ嗜好性に有意な差は見られなかった。このことから、1%小麦グルテンペプチドおよび大豆ペプチドの添加によっても豚挽肉の嗜好性は低下しないことが確認された。以上の結果から、小麦グルテンペプチドおよび大豆ペプチドをそれぞれ食品に添加した場合、抗酸化活性を示すことが分かった。さらに、Autofocusing 方法により食品中での抗酸化活性の強いペプチド画分を調製することが可能であることが示唆された。このことより、小麦グルテンペプチドおよび大豆ペプチドが有効な抗酸化剤になり得る

ことが示唆された。

本研究で得られる結果は、研究代表者の研究室のみが保有する Autofocusing 装置を用いることで、実用的な食品由来の抗酸化剤が製造でき、さらに油糧作物のタンパク質の有効利用が可能となり、また、コストが高すぎて実用化には遠いと言われていたバイオディーゼルの普及に貢献できる可能性がある。また Autofocusing によるペプチドの大量分画はペプチド有効利用のためのペプチドコンビナートの創造にもつながり、新しい産業の創造に寄与するものと考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Park, E. Y., Imazu, H., Matsumura, Y., Nakamura, Y., Sato, K. Effects of the addition of gluten hydrolysates and their fractions with Different pI on Lipid Oxidation in Pork Meat Patties. *J. Agric. Food Chem.* 査読あり、投稿中

[学会発表] (計 1 件)

- ① 朴恩榮、山田聡子、中村考志、佐藤健司、食品由来ペプチドの in vitro 系および食品モデル系での抗酸化活性、日本農芸化学会、2012 年 3 月 23 日、京都

[図書] (計 1 件)

- ① Kim, S. K., Wijesekara, I., Park, E. Y., Matsumura, Y., Nakamura, Y., Sato, K. Eds.; CRC Press: New York, Proteins and peptides as antioxidants, In: *Bioactive Food Proteins and Peptides: Applications in Human Health*, 2012, pp 97-114.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

朴 恩榮 (PARK EUNYOUNG)

京都府立大学・食保健学科・助手

研究者番号：50405239