

## ショウガ(*Zingiber officinale*)抽出物による 豆乳中大豆アレルゲンの低減化

苔庵泰志\*, 佐合 徹\*, 梅谷かおり\*

### Reduction of the Soy Allergen in Soymilk by Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract

Yasushi KOKEAN, Toru SAGO and Kaori UMETANI

Ginger rhizome (*Zingiber officinale*) contains some proteases that have a milk-clotting activity. In this study, we evaluated the ginger rhizome extract in soy milk as an allergen-reducing agent in comparison with a bromelain. Soy milk gels were prepared by incubating the mixture of 12 mL ginger rhizome extract and 200 mL soymilk at 60 °C for 180 min. For class 1 allergen level in soy protein, both of the ginger rhizome extract and the bromelain reduced the  $\alpha$  and  $\alpha'$  subunit for the  $\beta$ -conglycinin, however the  $\beta$ -subunit for the  $\beta$ -conglycinin did not. An allergen, Gly m Bd30k, was reduced by only ginger rhizome extract, while another allergen, Gly m4, for class 2 allergen level in soy protein was reduced by both of the ginger rhizome extract and the bromelain.

Key words: Allergen, Ginger Rhizome Extract, Soy Milk, Soy Protein

### 1. はじめに

日本の多くの調味料や伝統食品の原材料として用いられている大豆は、食卓でも古くから一般的な食材として馴染みがあるが、食物アレルギーの原因物質としてもよく知られている。海外においても、豆腐、醤油、味噌等大豆由来加工食品の需要は健康ブームを受けて増加しているが、アレルギー患者の増加が懸念されている<sup>1)</sup>。

一方、中国の伝統食品として古くから食されている牛乳ゲル化食品は、広東語では薑抽出液撞奶(キョンジャツゾンナーイ)、薑撞牛奶(キョンゾンアウナーイ)あるいは薑埋奶(キョンマーイナーイ)と呼ばれており、ショウガの搾り抽出液を活用して製造する<sup>2)</sup>。ショウガ抽出物はプロテアーゼ活性を有し、2種類のセリンプロテアーゼ<sup>3)</sup>及びアミノペプチ

ダーゼを含むことが明らかとなっている<sup>4)</sup>。我々のこれまでの研究において、ショウガ抽出物は、生大豆から抽出した大豆タンパク質及び市販豆乳に含まれる大豆タンパク質に対して分解活性及びゲル化能を有することを明らかにした<sup>5)</sup>。

このようにショウガ抽出液に含まれるプロテアーゼの作用を活用して、大豆タンパク質を分解低分子化することで、大豆アレルゲンの低減化に寄与できる可能性がある。そこで本研究では、豆乳をショウガ抽出液で処理し、分解したタンパク質画分中に含まれるいくつかのアレルゲン因子を電気泳動や抗原抗体法で評価することで、大豆アレルゲンを低減化する可能性を検討した結果を報告する。

### 2. 実験方法

#### 2. 1 ショウガ抽出液の調製

ショウガ(生ショウガを剥皮して、低温で2か月

\* 食と医薬品研究課

以上保存したもの、中国産)は適当な大きさに包丁で裁断した後、プラスチック製のおろし金で擦り下ろし、ジューサーにて連続的に固液分離した。得られた液を 4 °C, 1,500 × g で 15 分間遠心分離し No.5c ろ紙で吸引濾過して不溶物を除いた後、酵素活性安定化のためにシステイン塩酸塩とアスコルビン酸をそれぞれ 10 mM, 0.2 % となるように添加して<sup>6)</sup>ゲル化・アレルゲン分解処理用のショウガ抽出液とした<sup>5)</sup>。

## 2. 2 豆乳に含まれる大豆タンパク質の酵素分解

豆乳へのショウガ抽出液添加による各大豆アレルゲン低減化を検討した。ブロメライン (ジェネンコア協和(株)) は、食品加工では一般的によく用いられている植物性プロテアーゼ (パイナップル由来) であり、ショウガ抽出液同様、大豆タンパク質の低分子化、ゲル化活性を有する<sup>7,9)</sup>ことから、各サブユニットの分解特性を比較するために用いた。ショウガ抽出液は、プロテインアッセイ (BioRad 製) によりタンパク質濃度を測定し、ブロメライン溶液は、ショウガ抽出液のタンパク質濃度に合わせて 0.5 mg/mL とした。豆乳 (キッコーマン「おいしい無調整豆乳」) 200 mL に対してショウガ抽出液またはブロメライン溶液 12 mL を加えた。ゲル化を目的としたこれまでの検討で<sup>5)</sup>、60 分の処理で大豆タンパク質が分解されゲル化したが、各アレルゲンの低減化が十分ではなかった。そこで本研究では、十分にアレルゲンを分解させるとともに、経時的な変化を評価する目的で、60 °C で 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 180 分間分解処理した。処理後の豆乳は 4 °C, 18 k × g で 15 分間遠心分離し、上清を得た。得られた上清及び分離前の酵素処理豆乳それぞれを凍結乾燥し、アレルゲン定量用の試料とした。

## 2. 3 電気泳動

大豆タンパク質の酵素分解は、電気泳動 (SDS-PAGE) により確認した。15~20 % ポリアクリルアミド濃度勾配ゲルにより約 10~200 kDa までの分子量分布を評価した。

## 2. 4 大豆アレルゲンの定量

豆乳分解処理物の凍結乾燥粉末に含まれる大豆アレルゲン量を定量した。測定には、分解処理 60 分、180 分による豆乳を用いた。アレルゲン測定キット (FASTKIT エライザ Ver.III 大豆, 日本ハム(株)) を用い、マイクロプレートリーダーでの

ELIZA 法により定量した。

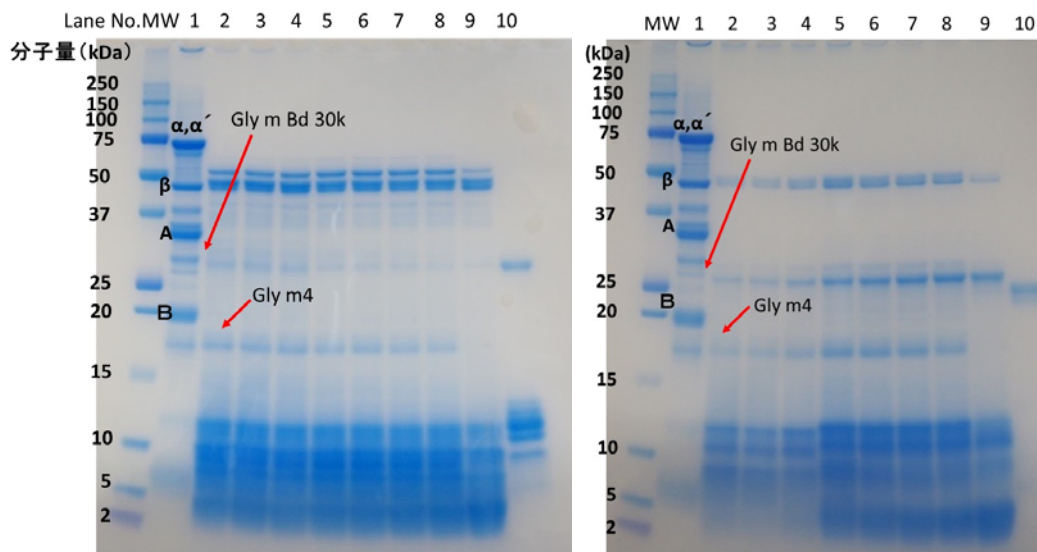
## 3. 結果と考察

### 3. 1 酵素による豆乳中大豆タンパク質の分解

大豆由来のアレルゲンタンパク質としては、主なものだけでも 10 数種類が知られている<sup>10)</sup>。大豆等の植物性素材による食物アレルギーは、その発症機構から 2 つ (クラス 1 型及びクラス 2 型) に区別する考え方が定着してきている。クラス 1 型アレルギーは、従来からよく知られていた食物アレルギーで、感作抗原と発症する抗体が同一で、蕁麻疹、下痢、嘔吐などの全身症状を示すことが多く、成長とともに治癒することが多い。一方、クラス 2 型アレルギーは花粉やラテックス等を抗原として感作し、その後これらの抗原と交差反応を起こす植物性食品中の類似分子がアレルゲンとなって起こるアレルギーで、口腔内粘膜での発症が主な症例となっている<sup>10)</sup>。大豆加工食品中のアレルゲンの低減化において、クラス 1 型の低減化ばかりではなく、2 型に関しても低減化を併せて進めることで、花粉症等の他のアレルギーに関しても低減化につながると考える。

分解処理した豆乳中の大豆タンパク質の電気泳動結果を図 1 に示す。大豆に含まれる主なクラス 1 型アレルゲンは、β-コングリシニン由来の α (分子量 68kDa), α' (分子量 66kDa), β-サブユニット (分子量 50kDa) 及び Gly m Bd 30k (分子量 30kDa), クラス 2 型アレルゲンの主なものとして、Gly m 4 (分子量 16~17 kDa) がある。今回の結果では、ショウガ抽出物、ブロメライン共に β-コングリシニン由来の α, α' サブユニットを速やかに分解するが、β-サブユニットは 180 分処理でも完全には分解されず、プロテアーゼ抵抗性が認められた。Gly m Bd 30k とされるバンドは、ショウガ抽出物処理では 180 分の処理で消失したが、ブロメライン処理では残存していた。Gly m 4 は、両処理区において 60 分処理までは未分解であったが、180 分の処理で、ショウガ抽出液、ブロメライン処理共に消失していた。

以上のことから、ショウガ抽出液で豆乳を分解処理した場合、クラス 1 型アレルゲン低減化に関しては、一般的に食品加工用プロテアーゼとして用いられているブロメラインよりも、優れた結果を示した。クラス 2 型アレルゲンの低減化に関しても有効性を示し、ブロメラインと同様に用いることができると



(I) : ショウガ抽出液処理 (II) : ブロメライン処理

図1 大豆タンパク質の酵素分解

PA:15~20% gradient gel(tris-tricine)

MW : 分子量マーカー No.1 : 酵素無添加 No.2 : 5分後 No.3 : 10分後 No.4 : 20分後  
 No.5 : 30分後 No.6 : 40分後 No.7 : 50分後 No.8 : 60分後 No.9 : 180分後 No.10 : 酵素液  
 α, α' : β-コングリシニン α及びα'サブユニット (分子量 : それぞれ 68 kDa, 66 kDa)  
 β : β-コングリシニン βサブユニット (分子量 : 45 kDa)  
 A : グリシニン 酸性サブユニット (分子量 : 36 kDa)  
 B : グリシニン 塩基性サブユニット (分子量 : 20 kDa)

考えられる。各アレルゲンの分解の詳細については、ウェスタンブロット及び抗原抗体反応での検討が必要であると考えられる。

### 3. 2 大豆アレルゲンの定量

酵素処理後の可溶性成分中に含まれるアレルゲン量及び、豆乳凍結乾燥物全体に含まれるアレルゲン量を図2に示す。豆乳全体では、両処理によりアレルゲンは処理前より減少した。減少割合はショウガ抽出液、ブロメライン共に同等で、どちらの処理によっても、確実にアレルゲンの低減化が可能であることが分かった。一方ゲル化上清中では、ショウガ抽出液、ブロメライン両処理共に、処理前に比べてアレルゲンの量は減少し、前者の減少率が大きかった。酵素処理によるタンパク質のゲル化は、分解後のタンパク質分子表面での疎水結合とS-S結合の生成によって起こる<sup>3,11)</sup>。豆乳にショウガ抽出液及びブロメライン液を添加した場合のゲル化も、同様の反応機構と考えられる。両処理でのアレルゲン減少の違いは、酵素分解後の大豆タンパク質分解物の立体構造の違いと、それに伴う分子同士の結合(疎水

結合, S-S結合)の挙動に由来すると考えられる。今後、低アレルゲン大豆飲料としての利活用を考えると、ブロメラインよりもショウガ抽出液のほうが適していると思われる。

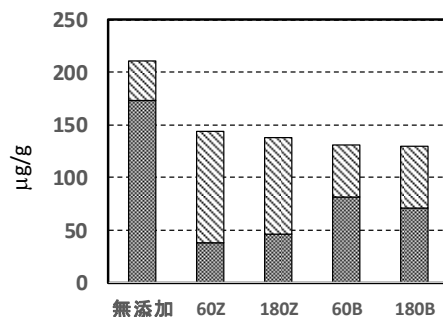


図2 酵素処理した豆乳に含まれる大豆アレルゲン量

■ : 上清 ■ + ■ : 豆乳全体

無添加: 処理無し 60: 60分間処理  
 180: 180分間処理 Z: ショウガ抽出物処理  
 B: ブロメライン処理

#### 4. まとめ

市販豆乳に対して、ショウガ抽出液及び対照としてブロメラインを添加し、大豆アレルゲンの低減化を試みた。電気泳動で確認したところ、クラス1型アレルゲンである $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットは180分の分解処理で、ショウガ抽出液、ブロメラインによりいずれも分解できたが、 $\beta$ -サブユニットは分解できなかった。Gly m Bd30kはショウガ抽出液では分解できたが、ブロメラインでは分解できなかった。クラス2型アレルゲンであるGly m4は両処理区共に分解できた。無処理の豆乳に比べて、ショウガ抽出液処理、ブロメライン処理共に大豆アレルゲンの低減化作用は同等であった。ショウガ抽出液処理では、豆乳中水溶性画分のアレルゲン量は、ブロメライン処理より少なくなった。

#### 参考文献

- 1) 渡邊裕子：“調理による大豆加工食品の低アレルゲン化に関する基礎研究”。平成26年度大同生命厚生事業団「地域保健福祉研究助成」報告, p42-46(2015)
- 2) 山田徳広ほか：“ショウガ抽出液を用いた牛乳ゲルの形成について”。日本食品保蔵科学会誌, 41(3), p111-115 (2015)
- 3) H.-P. Su et al.: “Characterization of ginger proteases and their potential as a rennin replacement”. J. Sci. Food Agric., 89, p1178-1185 (2009)
- 4) 大槻耕三ほか：“ショウガアミノペプチダーゼのペプチド性食品に対する利用”。浦上財団研究報告書, 8, p1-9 (2000)
- 5) 苔庵泰志ほか：“ショウガ(*Zingiber officinale*)抽出物を用いた豆乳ゲルの特性評価”。平成28年度三重県工業研究所研究報告, 41, p78-83(2017)
- 6) A. Nafi et al: “Partial characterization of an enzymatic extraction from Bentong Ginger(*Zingiber officinale* var. Bentong)”. Molecules, 19, p12336-12348 (2014)
- 7) Y.Fuke et al.: “Nature of stem bromelain treatment on the aggregation and gelation of soybean protein”. J. Food Sci., 50, p1283-1288 (1985)
- 8) M. Mohri et al.: “Improvement of water absorption of soybean protein by treatment with bromelain”. J. Agr. Food Chem., 32, p486-490 (1984)
- 9) 松岡博厚ほか：“ブロメライン処理大豆タンパク質の加熱凝固”。日本食品工業学会誌, 39(4), p316-321(1992)
- 10) 森山達哉：“大豆アレルギーの多様性と味噌の低アレルゲン性の検証”。醸造協会誌, 106(10), p645-655(2011)
- 11) 安田正昭ほか：“細菌プロテアーゼによる大豆乳凝集の解析とその食品加工への利用”。大豆タンパク質研究, 5, p36-40(2002)

(本研究は、法人県民税の超過課税を財源としています。)