

広島県内産の日本酒の酒粕を菓子原材料として広く活用するための酒粕の機能性評価に関する研究

県立広島大学人間文化 ○谷本昌太, 馬淵良太

1

目的および背景

体内で活性酸素が大量に生成されるとDNAの変異などを引き起こし生活習慣病の原因

活性酸素の発生とその働きの抑制や活性酸素の除去をする**抗酸化物質**を体内で合成する他に、それらを含む**食品を積極的に摂取する必要**

高血圧症は生活習慣病の1つで日本の患者数は平成26年に1000万超

アンジオテンシン変換酵素（ACE）は、レニン-アンジオテンシン系において血圧上昇に関わる重要な酵素の1つ

ACE阻害活性を有する食品の摂取により、血圧降下作用が期待

広島は、灘、伏見と並ぶ日本酒（清酒）の3大名醸地

高い酒造技術と広島もみじ酵母など独自の酵母を用いた醸造の実施

2

酒粕は原料白米に対して約30~50%の割合で副生
甘酒や粕汁の材料や粕漬けなど漬物の原料など使用用途が限定、安価で流通 **有効利用の必要**あり

広島県菓子工業組合 酒粕を用いた新たな菓子の開発を平成29年度の**第27回全国菓子大博覧会への出品**を目指す

酒粕は、米由来の成分と麹菌や酵母の菌体成分、またこれらの微生物が生産した葉酸などのさまざまな代謝産物を含有、**栄養学的にたいへん優れている食品**

機能性として、コレステロール上昇抑制効果などが報告

酒粕の**抗酸化性**は、清酒について広範に調べられているのに対して**ほとんど検討されていない**

酒粕の**ACE阻害活性**は、**製造条件や貯蔵による影響は調べられていない**



そこで、本研究では、広島県内産の日本酒の酒粕を菓子原材料として広く活用するために、**抗酸化性およびアンジオテンシン変換酵素阻害活性を測定し、精米歩合、貯蔵の影響を検討した**。また、品質評価の1つとして色の測定を行い、**酒粕の機能性と色の関係について考察した**。

3

試料および貯蔵試験

試料

- ・製造1か月以内の酒粕(精米歩合35%~72%, n=23)
- ・全ての試料は実験まで-30℃で冷凍保存。

貯蔵試験

◆貯蔵試験を行った試料

- ・大吟醸酒, 精米歩合35%
- ・純米酒, 精米歩合60%
- ・本醸造酒, 精米歩合70%

◆貯蔵試験

- ・5℃および20℃で30, 90, 180日貯蔵
- ・全ての試料は実験まで-30℃で冷凍保存。

4

抗酸化性の測定方法

DPPHラジカル消去活性(DPPH)

ET機構に基づく抗酸化性の測定方法

◆試料の抽出 80%エタノール(n = 3)

◆測定方法

- ①試料にDPPH working solution を添加
- ②96穴マイクロプレートに分注, 520nmで吸光度測定
- ③標準試料として既知の濃度のTroloxを測定後, 検量線を作成し, 各試料の定量値をTrolox当量と算出

5

酸素ラジカル吸収能(ORAC)

親油性(L)-ORAC, 親水性(H)-ORACおよびTotal ORAC

HAT機構に基づく抗酸化性の測定方法

◆試料の抽出 凍結乾燥試料(n = 3)

L-ORAC: ヘキサン-ジクロロメタン

H-ORAC: アセトン-超純水-酢酸

◆測定方法

- ①96穴マイクロプレートに試料, Fluoresceinを添加
- ②加温後, AAPHを添加
- ③2分間隔, 蛍光測定(励起波長485nm, 蛍光波長538nm)
- ④蛍光強度を経時的に記録したグラフの曲線下の面積(AUC)を算出し, ブランクのAUCを差し引いた値(netAUC)を計算
- ⑤標準試料として既知の濃度のTroloxを測定後, 検量線を作成し, 各試料の定量値をTrolox当量と算出

6

アンジオテンシン(ACE)阻害活性

◆試料の抽出 凍結乾燥試料(n = 3)

超純水

◆測定方法

- ①試料にACE or 超純水を添加
- ②加温(37°C, 10分)
- ③基質(Hip-His-Leu)を添加
- ④反応(37°C, 40分)
- ⑤反応停止液(NaOH)
- ⑥0-フタルアルデヒドを加えて静置(遮光, 室温, 15分)
- ⑦リン酸を加えて蛍光測定(励起波長360nm, 蛍光波長460nm)
- ⑧試料がACE活性を50%阻害した時の試料重量を算出

7

色の測定

色差計(CR-400, コニカミノルタ)

L*値, a*値, b*値を測定

n = 5

統計解析

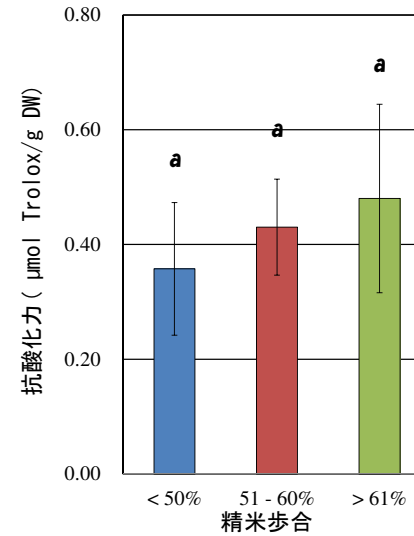
PASW Statistics(IBM)を使用

T検定およびTukeyの多重比較検定(P<0.05)

8

実験結果

◆精米歩合の異なる酒粕のDPPHラジカル消去活性



精米歩合別から見た酒の種類

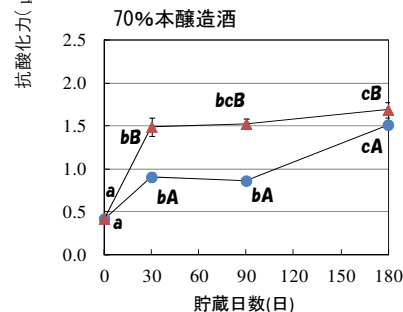
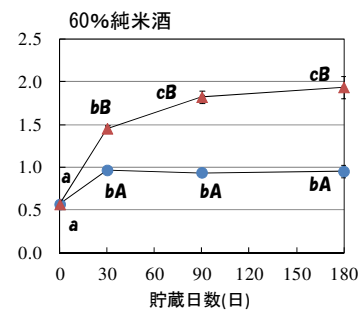
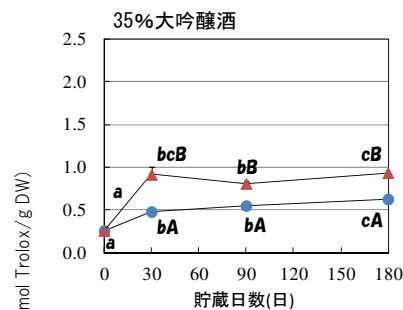
50%以下…大吟醸酒
51~60%…吟醸酒
61%以上…普通酒, 本醸造酒

精米歩合が高いほど平均値が増加するが、有意差なし

DPPHラジカル消去活性に対して精米歩合以外の要因有

※異なる文字間で有意有 (P<0.05)

◆貯蔵中における酒粕のDPPHラジカル消去活性の変化



貯蔵温度: ●; 5°C, ▲; 20°C

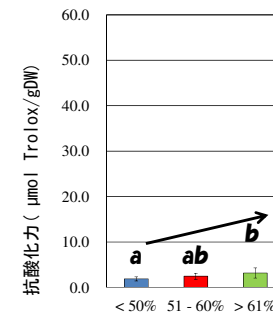
異なる小文字間において、同じ貯蔵温度で異なる貯蔵日数の間に有意差有 (P<0.05), 異なる大文字間において、同じ貯蔵日数で異なる貯蔵温度の間に有意差有 (P<0.05)

◆5°C, 20°C貯蔵, すべての試料で有意に増加
20°C>5°C

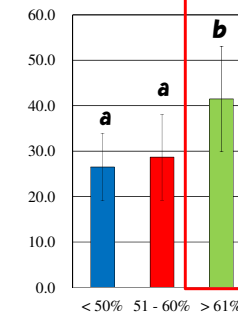
◆貯蔵によってDPPHラジカル消去活性が増加, 特に20°Cで顕著

◆精米歩合の異なる酒粕の酸素ラジカル吸収能

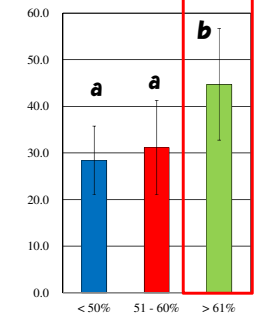
◆L-ORAC



◆H-ORAC



◆Total ORAC



精米歩合

◆L-ORAC

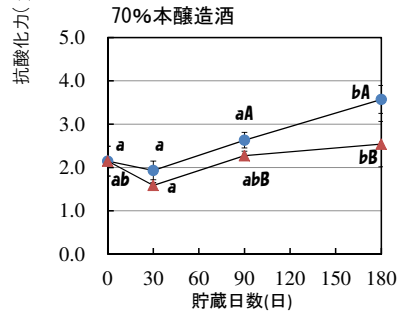
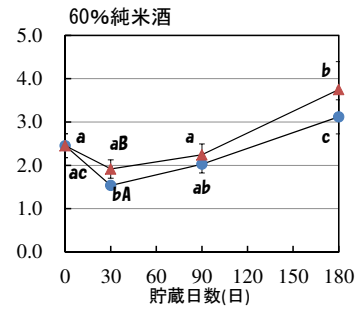
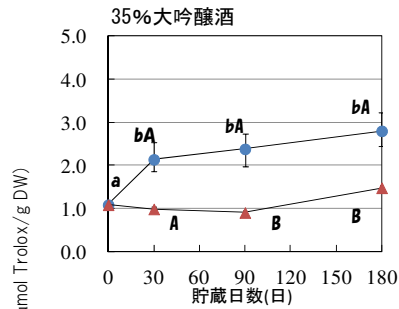
精米歩合が61%以上の酒粕が50%以下のものと比べて有意に高い値

◆H-ORAC及びTotal ORAC

精米歩合が61%以上の酒粕がそれ以下のものと比べて有意に高い値

◆精米歩合が高いほどいずれの酸素ラジカル吸収能も高い

◆貯蔵中における酒粕のL-ORACの変化

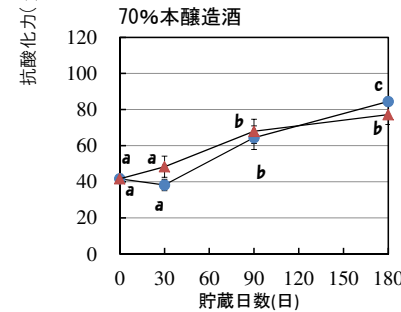
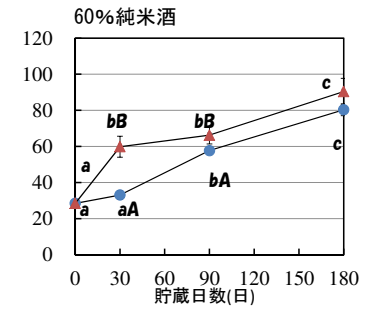
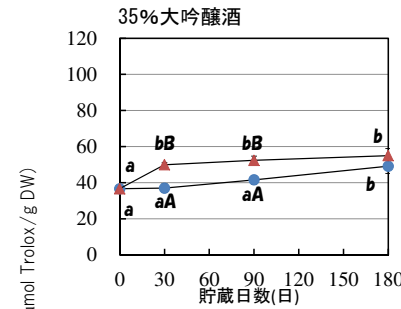


貯蔵温度: ●; 5°C, ▲; 20°C
異なる小文字間において、同じ貯蔵温度で異なる貯蔵日数の間に有意差有 ($P<0.05$), 異なる大文字間において、同じ貯蔵日数で異なる貯蔵温度の間に有意差有 ($P<0.05$)

- ◆5°C貯蔵, すべての試料で有意な増加
- ◆20°C貯蔵, 一部の試料で増加

◆貯蔵によってL-ORACが増加
◆貯蔵後, 5°C > 20°Cの場合有

◆貯蔵中における酒粕のH-ORACの変化

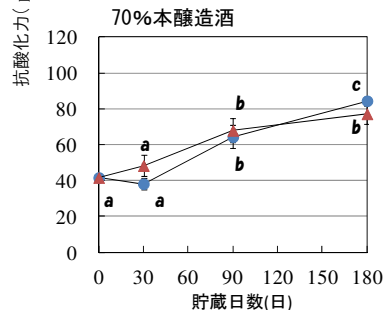
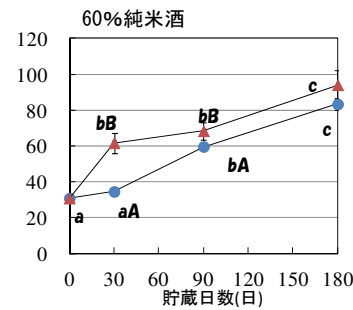
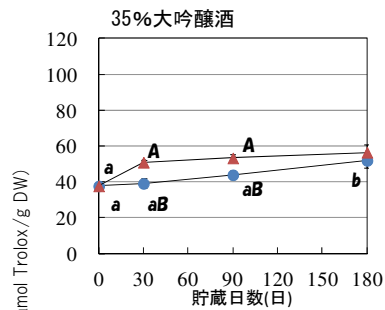


貯蔵温度: ●; 5°C, ▲; 20°C
異なる小文字間において、同じ貯蔵温度で異なる貯蔵日数の間に有意差有 ($P<0.05$), 異なる大文字間において、同じ貯蔵日数で異なる貯蔵温度の間に有意差有 ($P<0.05$)

- ◆すべて試料で有意に増加
- ◆一部を除いて温度間で有意差無

◆貯蔵によってH-ORACが増加
◆5°Cと20°Cで大きな差無

◆貯蔵中における酒粕のTotal ORACの変化

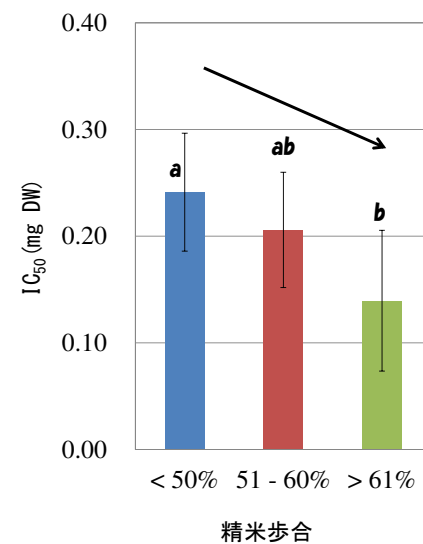


貯蔵温度: ●; 5°C, ▲; 20°C
異なる小文字間において、同じ貯蔵温度で異なる貯蔵日数の間に有意差有 ($P<0.05$), 異なる大文字間において、同じ貯蔵日数で異なる貯蔵温度の間に有意差有 ($P<0.05$)

- ◆5°C, 20°C貯蔵, すべての試料で有意に増加
- 温度の有意差はほとんどなし

◆貯蔵によってTotal ORACが増加
◆5°Cと20°Cで差無

◆精米歩合の異なる酒粕のACE阻害活性



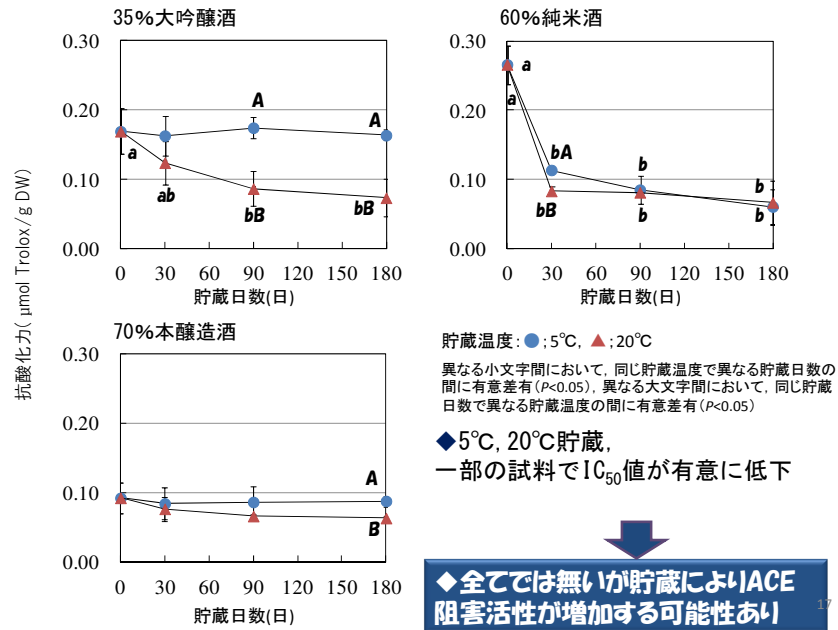
精米歩合別から見た酒の種類
50%以下…大吟醸酒
51~60%…吟醸酒
61%以上…普通酒, 本醸造酒

精米歩合が高いほどIC₅₀値が有意に低下

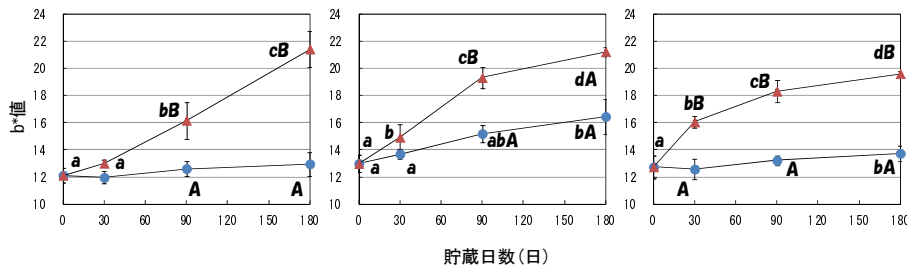
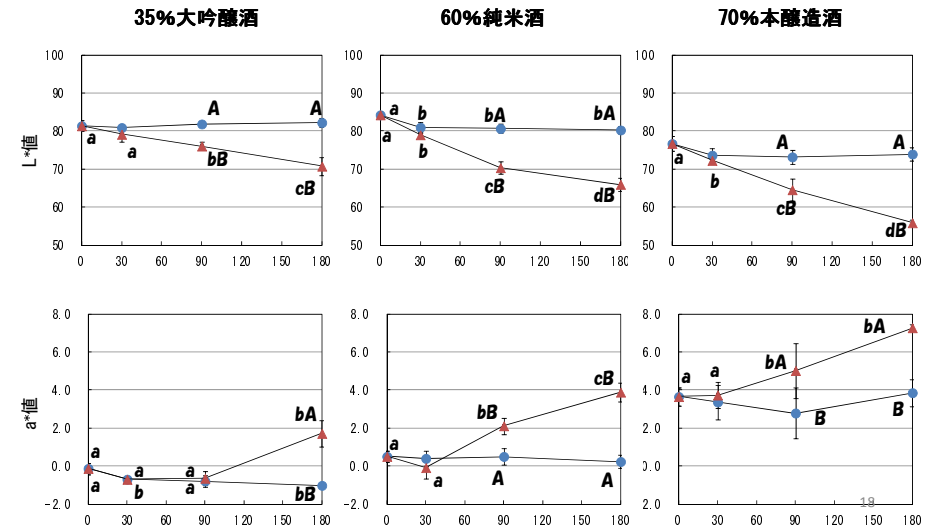
精米歩合が高いほどACE阻害活性が高い

※異なる文字間で有意有 ($P<0.05$)

◆貯蔵中における酒粕のACE阻害活性の変化



◆貯蔵中における酒粕の色(L*値)の変化



- ◆20°C貯蔵, 全ての試料でL*値が有意な低下 ($P<0.05$), a*値およびb*値は有意な増加
- ◆5°C貯蔵, 一部の試料を除いて有意な変化無

- ◆20°C貯蔵により色(赤, 黄色)の変化
- ◆メイラード反応による褐変
- ◆5°C貯蔵による色の变化ほとんど無
- ◆20°C貯蔵のDPPH阻害活性の増加に関与?



◆貯蔵中における酒粕の色の变化例

まとめ

精米歩合

酒粕の抗酸化性 (ORAC) と ACE 阻害活性 精米歩合が高いほど 高

貯蔵の影響

- ・ DPPH
いずれの温度も貯蔵により増加, 5°C 比べ 20°C 貯蔵で抗酸化性の増加が大
- ・ ORAC
一部の試料を除いて貯蔵によって抗酸化性が増加
温度間による差はほとんど無
- ・ ACE 阻害活性
精米歩合の低い試料で増加の傾向 有
- ・ 色の変化
20°C で褐変, この生成物が DPPH に影響?



酒粕の機能性を利用する場合、高い精米歩合のものが良く、貯蔵によってさらにその機能性を強化できることが明らかとなった。一方、品質を重視する場合は、貯蔵温度が低い方が良く、この場合も貯蔵により抗酸化性を向上させることが可能であった。