粉末系における食品製造副産物の抗酸化能とその利用

杉山 薫¹・筒井延男²・富岡和子³

(¹奈良教育大学・教育学部, ²京都市工業試験場微生物応用研究室, ³神戸女子大学・家政学部)

平成 13 年 1 月 15 日受理

The antioxidative ability of food industry by-products in a powder model system and their utilization

Kaoru SUGIYAMA¹, Nobuo TSUTSUI², Kazuko TOMIOKA³

(¹Faculty of Education, Nara University of Education, ²Laboratory of Fermentation, Kyoto Municipal Institute for Industrial Research, ³Faculty of Home Economics, Kobe Women's University)

The antioxidative ability of a cookie made with each of food industry by-products (sake lees, soy protein isolate, rice bran, wheat germ and soybean hypocotyl) as well as these samples were examined in a powder model system at water activity (*A_w*) 0.2-1.0 and 50°C. The practical utilization of the cookie was further investigated by sensory evaluation.

Though rice bran and soybean hypocotyl had strong antioxidative abilities at the wide range of *A_w* 0.2-1.0, sake lees, soy protein isolate, and wheat germ did not show these at the low range of *A_w*. The *A_w* range shown in the antioxidative ability in sake lees correlated with the rising range of the sorption isotherm.

The cookie was prepared by baking the dough, which was composed of an oil-supporter (soft flour 47 %, sodium hydrogencarbonate 3 %, food industry by-product and cellulose 50 %), lipid (linoleic acid or lard) and water in the ratio of 4 : 1 : 1.4 by weight. The cookie underwent sensory evaluation as well as examination for its antioxidative ability. The ability of sake lees was superior to that of the additive-free control when the sake lees content was increased from 25 % to 50 % of the oil-supporter. Results of the sensory evaluation showed that the sake lees cookie was slightly inferior to the additive-free control one. Though the model system did not use sugar and egg for making the cookie, their inclusion will likely improve the sensory evaluation.

Key words : 抗酸化能 (antioxidative ability), 酒粕 (sake lees), 官能評価 (sensory evaluation) ———

緒 言

20 年ほど前より eicosapentaenoic acid (EPA) や docosahexaenoic acid (DHA) などの多価不飽和脂肪酸の生理作用が注目されてきたが、近年は n-3 系脂肪酸と n-6 系脂肪酸の理想的摂取比率が関心を集めている。これらの不飽和脂肪酸の酸化防止には、butyl-hydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT) をはじめとする合成抗酸化剤が用

いられてきたが、発ガン性との関連から使用は控えられる傾向にある^{1,2)}。一方、我々が日常口にする食品またはその成分の中には油脂の酸化を抑えることができる抗酸化物質の存在が知られている。したがって、食品に存在する油脂の酸化を食品あるいはその成分により抑えることができれば理想的である。油脂の酸化は溶液系、エマルジョン系で検討されることが多いが、食品の形態として一般的な乾燥系での検討は少ない³⁻⁸⁾。そこで著者らはこれまで油脂の酸化を乾燥系

で検討し、抗酸化能が水分活性（以下 Aw と略す）に大きく影響されることを明らかにするとともに、各試料の等温収着曲線との関連性について報告してきた^{9,10)}。

現在、食品産業から大量に排出される副産物にはヒトにとって有用な栄養素や生理活性物質を含んでいるものが存在する。酒粕は栄養的価値が高く¹¹⁾、さらに抗ガン作用、血栓溶解活性化作用、血清コレステロール低下作用、アレルギー防止作用、骨粗鬆症防止作用などをもつことが報告されている^{12,13)}。今後、酒粕をはじめとする食品製造副産物を有効利用することは食糧資源確保という点からも重要である。本研究では、酒粕をはじめとする食品製造副産物の乾燥系における抗酸化能を調べ、さらに、クッキーに添加した場合の活性を調べるとともに官能評価を実施して嗜好性を評価し、機能を活かした利用の可能性を検討した。

実験方法

1. 試料

酒粕は白鹿酒造(株)製の市販品を用いて 60°C で 1 日乾燥後、乳鉢で粉碎して試料とした。米糠は奈良市内の精米業者より購入した。分離大豆タンパク質（以下 SPI と略す）、大豆胚軸は不二製油(株)製、食品製造用を試料とした。小麦胚芽は日清製粉(株)製を用いた。クッキー調製時に用いたラードは雪印(株)製の食品用市販品を、セルロース、リノール酸および実験試薬はナカライテスク(株)製を用いた。

2. 試料調製および保温

粉末試料とリノール酸を重量比 4:1 で乳鉢で混合し、50 mg ずつ試験管に分取した。これを相対湿度調整のため所定濃度の硫酸を入れた¹⁴⁾ 密閉容器に入れ、酸素を充填後 50°C で保温した。経時的に試験管を取り出し、クロロホルム-メタノール (2:1, v/v) 混合液で脂質を抽出後ロダン鉄法で過酸化物質価（以下 PV と略す）を測定した¹⁵⁾。なお、PV はリノール酸 1 kg 当たりの活性酸素のミリ当量数で示した。実験は 3 回繰り返し、その平均値を示した。なお、試料添加クッキーの場合も同様に操作した。

3. 等温収着曲線

本実験の保温条件では保温開始 3 日以内に試料と容器内酸素間、容器内酸素と硫酸間の水分子の移動が平衡状態に達した⁹⁾。したがって、等温収着曲線を求め

る際には、試料を 5 日間上記保温条件で保温した。水分量測定のため取り出した試料の重量を測定後、105°C で恒量に達するまで乾燥させた。乾燥前後の重量の差をもって水分量とし、相対水分含量は保温後の試料に含まれていた水分量の乾燥重量に対する割合 (%) で示した。

4. クッキーの調製

水と脂質を除く成分、すなわち油脂支持体のうち、47% を小麦粉、3% を重曹とし、試料とセルロースを合わせて 50% になるように調製した。このようにして調製した油脂支持体、脂質および水を重量比 4:1:1.4 の割合で混合し生地とした。なお、脂質として PV 測定にはリノール酸を、官能評価にはラードを用いた。生地を厚さ 4 mm、直径 45 mm の円盤状にして 160°C で 20 分間焼成した。

5. 官能評価

奈良教育大学学生、男子 5 名、女子 14 名の合計 19 名をパネルとして、調製したクッキーの色、香り、味、総合についてそれぞれ 5 段階で官能評価を行った。対照は試料無添加クッキーとした。

実験結果および考察

1. 乾燥粉末系における抗酸化能

セルロース、酒粕、SPI、米糠、小麦胚芽、大豆胚軸を試料としたときの PV の経時変化を Fig. 1 に示した。セルロースは Aw 0.2~1.0 のいずれの Aw においても保温開始 3 日後までに 2000 から 3500 の大きなピークが出現し抗酸化能は認められなかった。酒粕、SPI および小麦胚芽では Aw の上昇とともにピークの高さが低下し、その出現時期も遅くなり抗酸化能が高まる傾向が認められた。これに対し、米糠と大豆胚軸は保温期間中全 Aw 領域において目立ったピークは出現しなかった。

抗酸化能が Aw に左右されなかった米糠の抗酸化物質としてはトコフェロール、オリザノール^{16,17)}、フェルラ酸¹⁸⁾ が、また大豆には抗酸化物質として 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4 H-pyran-4-one サポニン^{19,20)}、ダイゼイン、ゲニステインなどのイソフラボン類、フィチン酸、トコフェロール¹⁹⁾、フェルラ酸¹⁸⁾ が存在している。このようにこれらの食品には共通してフェノール性の抗酸化物質が存在し、抗酸化機構はラジカル捕捉であることが知られている。こ

Fig. 1 Changes in peroxidation of linoleic acid with cellulose, sake lees, SPI, rice bran, wheat germ, soybean hypocotyl in a powder model system.

The sample was augmented with linoleic acid to a quarter of its weight, and mixed in a mortar. The mixture was stored at Aw 0.2-1.0 and 50°C in a tightly closed vessel after divisions into 50 mg portions and being packed with oxygen. PV was analyzed according to the ferric thiocyanate method.

れに対し乾燥粉末系においてグリアジン^{3,4)}、ツェイン⁸⁾などのプロラミンは中間～高 Aw 領域で安定した抗酸化能を示すことが報告されている。タンパク質の抗酸化機構としては、ラジカル捕捉能、金属キレート作用、脂質への親和性などが考えられる。柘植らは卵アルブミンの酵素分解ペプチドの抗酸化能を溶液系で検討し、その機構がラジカル捕捉によるものではないことを報告している²¹⁾。また、岩見らは乾燥粉末系における小麦グリアジンに高 Aw 領域で高い抗酸化能がみられる現象をグリアジンの疎水性領域への油脂の吸着で説明し³⁾、Wang, J. Y. らもツェインの抗酸化能について同様の見解を示している⁸⁾。しかしながら、実際の抗酸化機構は明らかではない。そこで著者らは

SPI, SPI 分解ペプチドおよび SPI 構成アミノ酸混合の SPI 系とツェインおよびツェイン構成アミノ酸混合のツェイン系の 2 系でタンパク質、タンパク質分解ペプチドおよびタンパク質構成アミノ酸混合の抗酸化能を検討した¹⁰⁾。その結果、いずれの系においても抗酸化能が Aw に依存していた。また、2 系の間では等温収着曲線の屈曲点が出現する Aw 値は異なるものの、いずれの系においても抗酸化能が認められる Aw 領域は、タンパク質およびタンパク質分解ペプチド (SPI 系のみ) では高湿度側の屈曲点より高 Aw 領域と対応し、他方、タンパク質構成アミノ酸混合では高湿度側の屈曲点より低 Aw 領域に対応していた。これらのことから、抗酸化能の Aw 依存性は等温収着

曲線が意味する試料周囲の水分子の状態によるものであり、水分子による酸素の遮断作用が主たる抗酸化機構であることが示唆された。乾燥粉末系における酒粕の抗酸化能の A_w 依存性がタンパク質分解ペプチドが示すパターンとよく近似していることから酒粕についても同様に等温収着曲線を求め抗酸化機構を検討した。

2. 酒粕の等温収着曲線

酒粕とセルロースの等温収着曲線を Fig. 2 に示した。酒粕の場合もタンパク質、タンパク質分解ペプチドと同様に抗酸化能が認められなかった低 A_w 領域では相対水分含量の上昇はわずかであったが、抗酸化能の高まりとともに大幅に上昇した。

清酒製造原料である精白米には抗酸化物質としてフェルラ酸が含まれている¹⁸⁾。また、酒粕には多量の酵母菌体が存在することからグルタチオンの存在が予測される²²⁾。フェルラ酸の抗酸化機構はラジカル捕捉であるといわれているが¹⁸⁾、乾燥粉末系においてラジカル捕捉が抗酸化の主体であるオリザノール、イソフラボン類を含む米糠、大豆胚軸の場合には A_w 依存性がみられなかったことからフェルラ酸の寄与は小さいものと考えられる。グルタチオンのような還元性物質の寄与については明らかではないが、得られた抗酸化能と等温収着曲線の関係からはタンパク質、タンパク質分解ペプチドと同様主たる抗酸化機構として水分子による酸素遮断作用の関与が示唆された。

3. 食品製造副産物添加クッキーの抗酸化能

酒粕、SPI、米糠、小麦胚芽、大豆胚軸を油脂支持体中 25 % になるように添加したときの PV 変化を Fig. 3 に示した。PV ピークは、抗酸化能が認められない試料無添加クッキーにおいても、クッキー粉末状態ではクッキー焼成時の脂肪酸の変質による減少、メラノイジンの生成などによりセルロース粉末と比較して約 1000 まで低下していることがわかった。なお、クッキー粉末の PV 変化は試料無添加クッキーのピークを 100 としたときの相対過酸化価 (以後 RPV と略す) で表示した。試料無添加クッキーはいずれの A_w においても保温開始日に既に高い値を示し、その後保温開始 3 日後まで RPV は急激に低下し、以後 20 % 以下の低値のまま推移した。これに対し、酒粕添加クッキーでは、Fig. 1 に示した粉末試料の場合と同様、中間～高 A_w 領域において安定した抗酸化能が

Fig. 2 The sorption isotherms of sake lees and cellulose.

The samples were stored at various A_w for 5 days. After weighing, they were dried at 105°C until achieving a constant weight. Water content was described as the percentage of the water content to the dry weight.

認められた。SPI、米糠、小麦胚芽または大豆胚軸添加クッキーでも酒粕添加クッキー同様、高 A_w 領域において PV ピークの高さが低下し、出現時期が遅れる傾向がみられた。しかし、これらの試料添加クッキーのうち、米糠添加クッキー A_w 1.0 を除く試料添加クッキーの全 A_w 領域で PV ピークが出現したが、Fig. 1 に示したそれぞれの粉末試料と比較してみると、いずれもクッキー調製により抗酸化能は弱まったものと考えられる。図には示さなかったが、試料の添加量を 50 % に増量すると、試料添加量 25 % の場合と比べ高 A_w 領域における抗酸化能は高まった。

4. 試料添加クッキーの官能評価

油脂支持体に試料を 25 % 添加したクッキーの官能評価の結果を Fig. 4 に示した。酒粕添加クッキーは香りでは対照無添加クッキーに近い評価が得られたが、全般的に対照無添加クッキーの評価よりやや劣った。SPI、米糠、小麦胚芽、大豆胚軸添加クッキーは、すべての項目で 85 % 以上の評価を得たが、酒粕添加クッキーの評価との差は 20 % を超えるものではなかった。本実験では使用しなかった砂糖、鶏卵などを実用面では使用することが多いので、おそらく酒粕添加ク

Fig. 3 Changes in peroxidation of cookies produced with each of the food industry by-products in a powder model system.

The dough was made from an oil-supporter (i. e. soft flour 47%, sodium hydrogencarbonate 3%, sample and cellulose 50%), linoleic acid, and water at a ratio of 4 : 1 : 1.4 by weight. It was baked at 160°C for 20 minutes after being shaped in a disk (diameter 45 mm, thickness 4 mm). PV were described as the relative value to the highest one in the control samples at the corresponding Aw.

ッキーの評価を本実験条件下より向上させることは可能であると考えられる。油脂支持体へ25%試料を添加したッキーの保温期間中のPV変化 (Fig. 3) では、酒粕添加ッキーが他試料添加ッキーより広範囲なAw領域で上昇を抑えた。このことから、摂取が推奨されているEPA, DHA, α -リノレン酸などの多価不飽和脂肪酸に富む油脂を使用することにより、脂質栄養学的に良好でかつ安全性の高いッキーの調製が可能であり、酒粕の機能特性を活かした利用法として有望であることが示唆された。

要 約

酒粕, SPI, 米糠, 小麦胚芽, 大豆胚軸の乾燥粉末

系における抗酸化能を検討するとともに、それらの試料を添加したッキーを調製し、官能評価を行った。

- (1) 乾燥粉末系において、対照セルロースはAwにかかわらず大きなPVピークが出現した。これに対し、米糠, 大豆胚軸は全Aw領域において顕著なPVの上昇は認められなかった。酒粕, SPI, 小麦胚芽は低Aw領域では抗酸化能が弱く、Awの上昇とともに強くなる傾向が認められた。
- (2) Awにかかわらず抗酸化能がみられなかったセルロースの等温収着曲線において、Awの上昇にともなう相対水分含量の上昇はわずかであったが、中間～高Aw領域で抗酸化能がみられた酒粕の場合は、抗酸化能がみられた領域で等温収着曲線は

Fig. 4 The sensory evaluation of cookies produced with each of the food industry by-products.

Sensory evaluations (panel n=18) were carried out for color (A), fragrance (B), taste (C), and synthesis (D). The results are shown as a relative value to the additive-free control cookie.

上昇した。

- (3) 試料を油脂支持体の25%添加したクッキーの抗酸化能と粉末試料の場合を比較すると、前者の方がPVピークの高さは低下するが、活性を示すAw領域は狭まった。50%にまで増量すると両者の活性Aw領域の差は小さくなった。
- (4) 25%酒粕添加クッキーの官能評価は無添加クッキーの80%ほどであり、他の試料添加クッキーの評価より劣ったが、その差は20%を超えるものではなく、砂糖、鶏卵などの添加により評価を向上させられる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 中村宜督：化学と生物，36，728-729 (1998)
- 2) 寺尾純二：抗酸化物質（二木鋭雄，島崎弘幸，美濃真編，学会出版センター），117-127 (1994)
- 3) K. IWAMI, M. HATTORI, F. IBUKI: *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 628-631 (1987)
- 4) K. IWAMI, M. HATTORI, T. YASUMI, F. IBUKI: *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 160-164 (1988)
- 5) K. TAGUCHI, K. IWAMI, F. IBUKI, M. KAWABATA: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 560-563 (1992)
- 6) K. TAGUCHI, K. IWAMI, F. IBUKI, M. KAWABATA: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 672-673 (1992)
- 7) 山口直彦，内藤茂三，横尾良夫，藤巻正生：日食科誌，**27**，51-55 (1980)
- 8) J. Y. WANG, K. FUJIMOTO, T. MIYAZAWA, Y. ENDO: *J. Agric. Food Sci.*, **39**, 351-355 (1991)
- 9) 杉山薫，姚薇，富岡和子：日調科誌，**33**，339-347 (2000)
- 10) 杉山薫，姚薇，富岡和子：日調科誌，**33**，348-357 (2000)

- 11) T. TSUTSUI, Y. YAMAMOTO, K. IWAMI: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **44**, 177-186 (1998)
- 12) 川戸章嗣：秘められた清酒のヘルシー効果（今安聰編，地球社），13-74（1998）
- 13) 滝澤行雄：酒粕の凄い特効（宙出版），13-74（1998）
- 14) 秋場稔：水産生物化学・食品学実験書（恒星社厚生閣），345-351（1974）
- 15) H. MITSUDA, K. YASUMOTO, K. IWAMI: *Memoirs College Agric., Kyoto University*, **92**, 1-16 (1967)
- 16) 大田静行：油脂食品の劣化とその防止（幸書房），111-154（1972）
- 17) 藤本健四郎，寺尾純二：抗酸化物質（二木鋭雄，島崎弘幸，美濃真編，学会出版センター），107-127（1994）
- 18) 松田茂樹，工藤康文：醸協，**96**，100-106（2001）
- 19) H. KIKUZAKI, N. NAKATANI: *J. Food Sci.*, **58**, 1407-1410（1993）
- 20) 吉城由美子，大久保一良：ダイズのヘルシーテクノロジー（日本食品科学工学会編集，河村幸雄，大久保一良編，光琳），129-145（1998）
- 21) 井上善晴：日農化誌，**73**，1013-1021（1999）
- 22) 柘植信昭，永川由美，野村幸弘，山本正典，杉澤公：日農化誌，**65**，1635-1641（1991）