

平成 21 年度戦略的基盤技術高度化支援事業

「サツマイモ焼酎粕からの機能性糖の抽出による健康食品の創製」

研究開発成果等報告書

平成 22 年 6 月

委託者 九州経済産業局

委託先 株式会社鹿児島 T L O

目 次

第1章 研究開発の概要

1 - 1	研究開発の背景・研究目的及び目標	1
1 - 2	研究体制	4
1 - 3	成果概要	7
1 - 4	当該プロジェクト連絡窓口	9

第2章 本論 - (1) 実施内容 - 1

2 - 1	研究名称	10
2 - 2	研究目的と内容	10
2 - 3	研究成果	10

第3章 本論 - (2) 実施内容 - 2

3 - 1	研究名称	15
3 - 2	研究目的と概要	15
3 - 3	研究成果	15

第4章 本論 - (3) 実施内容 - 3

4 - 1	研究名称	19
4 - 2	研究目的と概要	19
4 - 3	研究成果	19

第5章 本論 - (4) 実施内容 - 1

5 - 1	研究名称	32
5 - 2	研究目的と概要	32
5 - 3	研究成果	32

第6章 本論 - (5) 実施内容 - 2

6 - 1	研究名称	37
6 - 2	研究目的と概要	37
6 - 3	研究成果	37

第7章 全体総括(総括研究代表者 米元俊一) 42

第1章 研究開発の概要

1 - 1 研究開発の背景・研究目的及び目標

(1) 研究開発の背景

鹿児島県は、台風の常襲地でシラス土壌であるという地域特性から、古くから台風に強く、やせた土地に適するサツマイモの栽培が行われ、サツマイモの加工品として芋焼酎の生産が盛んに行われてきた。近年の全国的な焼酎ブームによりその出荷量も飛躍的に増加している。しかしながら一方で、サツマイモ焼酎製造過程で副産物として産出される焼酎粕が大きな問題となっている。

焼酎粕は、食品であるサツマイモと米に麹と酵母を作用させてアルコール発酵させたもろみからアルコールを加熱蒸留して除いた残部のこと、焼酎の2.1倍量(v/v)得られるため、焼酎メーカーでは焼酎の品質向上とともに副生される焼酎粕の処理問題が経営課題となっている。

焼酎粕の廃棄は、これまで海洋投棄に頼るところが多かったが、ロンドン条約(廃棄物その他の物の投棄による海洋汚染の防止に関する条約)の1996年議定書同意(平成8年)を受けて制定された法律によって、焼酎粕の海洋投入については、平成19年4月以降、環境大臣の許可が必要になるなど、海洋投入の削減が要請されているだけでなく、最近の環境保護意識の高まりに伴い、環境負荷の少ない処理法と資源としての有効利用が強く求められている。

焼酎は焼酎もろみから揮発性のアルコールと各種エステルなどの香り成分のみを集めたものであり、もろみに存在する多くの機能性物質は、焼酎粕中に多量に残存しているが、その活用については、農業用肥料や家畜飼料などの付加価値が高いとは言い難い活用が主体であり、もろみ飲料などの食品に利用されている例は僅少である。



そこで、より付加価値の高い活用方法として、薩摩酒造株式会社では健康食品分野への応用を考え、平成18～19年度に実施した鹿児島県機能性コンソーシアム「焼酎粕と乳成分を利用した新しい乳酸菌発酵とその機能性」において、サツマイモ焼酎粕を用いた乳酸菌飲料の研究開発を、平成19～20年度に実施した地域資源活用型研究開発事業「鹿児島県の焼酎粕と乳成分を利用した新規機能性ビフィズス菌飲料の研究開発」において、サツマイモ焼酎粕を用いた従来のビフィズス菌飲料の10倍の菌数を含む高機能ビフィズス菌飲料に関する研究開発を行い、サツマイモ焼酎粕を活用した乳酸菌・ビフィズス菌飲料が製造可能であること、その飲料が乳酸菌と焼酎粕それぞれの機能性を併せ持つことがわかつただけなく、サツマイモ焼酎粕には乳酸菌・ビフィズス菌の増殖促進機能があるという相乗効果を実証することができた。同時に、アレルギー抑制効果、抗腫瘍効果など多くの機能性を明らかにした。

これらの研究を経て、サツマイモ焼酎粕の機能性は、サツマイモ焼酎粕中に多量に含まれる機能性糖成分に由来しているという可能性に辿り着いた。

一方、近年、オリゴ糖をはじめとする様々な機能を持つ糖類（機能性糖）を用いた健康食品、飲料が発売され、この不況の中でも大きな市場を形成している。しかしながら、オリゴ糖などの市場価格は割高で、中小健康食品製造業者がオリゴ糖などを用いた機能性を有する商品を、比較的安価で製造・販売するには困難な状況であった。

そこで、本事業は、利用しやすい価格の健康食材としての実用化を目指し、オリゴ糖をはじめとする機能性糖をサツマイモ焼酎粕から効率的に抽出する技術について研究開発を行うことで、「高度化指針」において定める川下製造業者等（食料品製造業）の抱える課題及びニーズ（高品質化）の解決を目指して始まった。

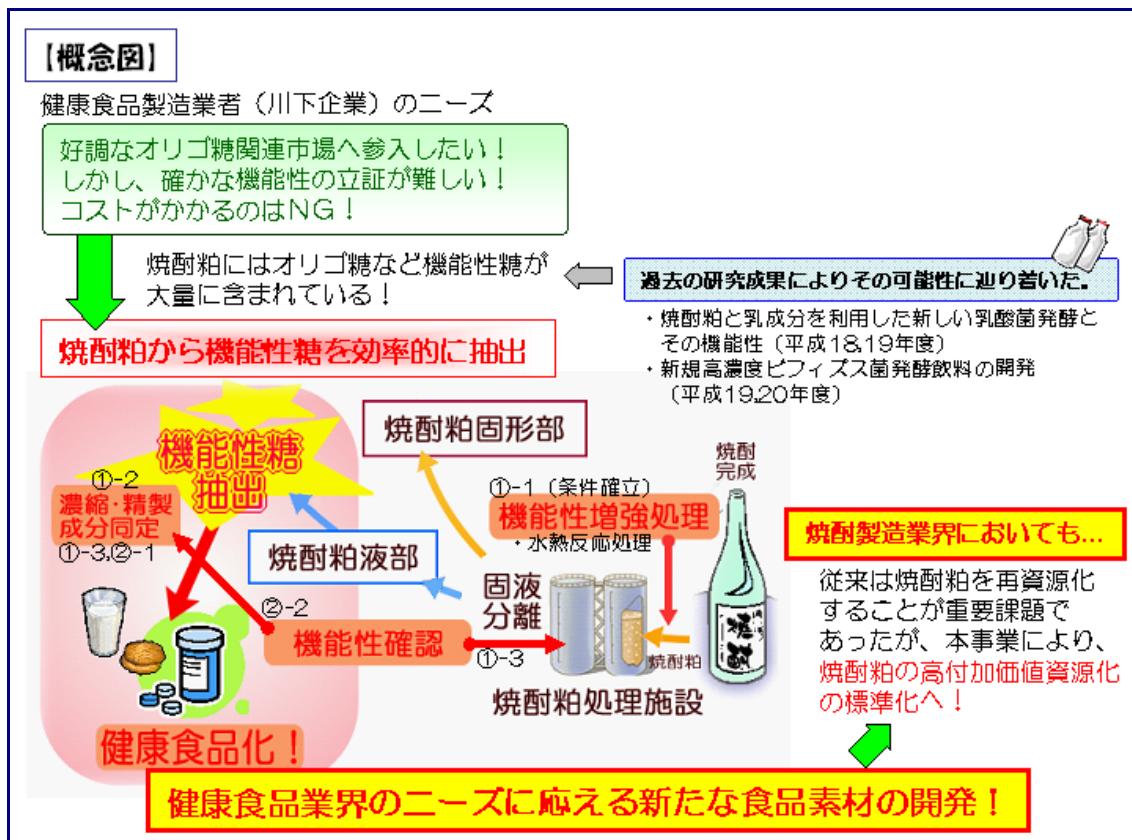
（2）研究目的及び目標

これまでサツマイモ焼酎粕の有効利用に関する研究は、焼酎粕を固体と液体とに分離した液部を対象としていたが、本事業は、分離前の焼酎粕に酵素及び水熱反応処理を行って、固体（不溶）部の纖維成分から機能性を持つオリゴ糖などを加水分解作用により液部に可溶化させ、オリゴ糖など機能性糖の增量をはかり（廃棄される焼酎粕の固体部の割合も抑制できる）これを効率的に抽出し、さらに、機能性を確認することにより、「高度化指針」において定める高度化目標（食料品製造業ならびに環境対応に関する未利用バイオマス等の高度利用に係る技術の高度化）の達成を目的とする。

本事業ではまず、より効率的な水熱反応処理条件の検討を行う。次に、水熱反応処理を行ったサツマイモ焼酎粕（以下「処理焼酎粕」と呼ぶ）の液部からアレルギー抑制効果、抗炎症効果、肥満抑制効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果を有する機能性成分を分離する。分離された機能性成分にはオリゴ糖やビフィズス菌増殖因子が含まれていることがこれまでの研究で解明されつつあるが、ここではより効率的な分離方法の検討と、更に、機能性糖の濃縮・精製について検討する。因みに、このオリゴ糖及びビフィズス菌増殖因

子（オリゴ糖にペプチドが結合したもの）は、サツマイモ焼酎粕独自のものである（特許出願中）。

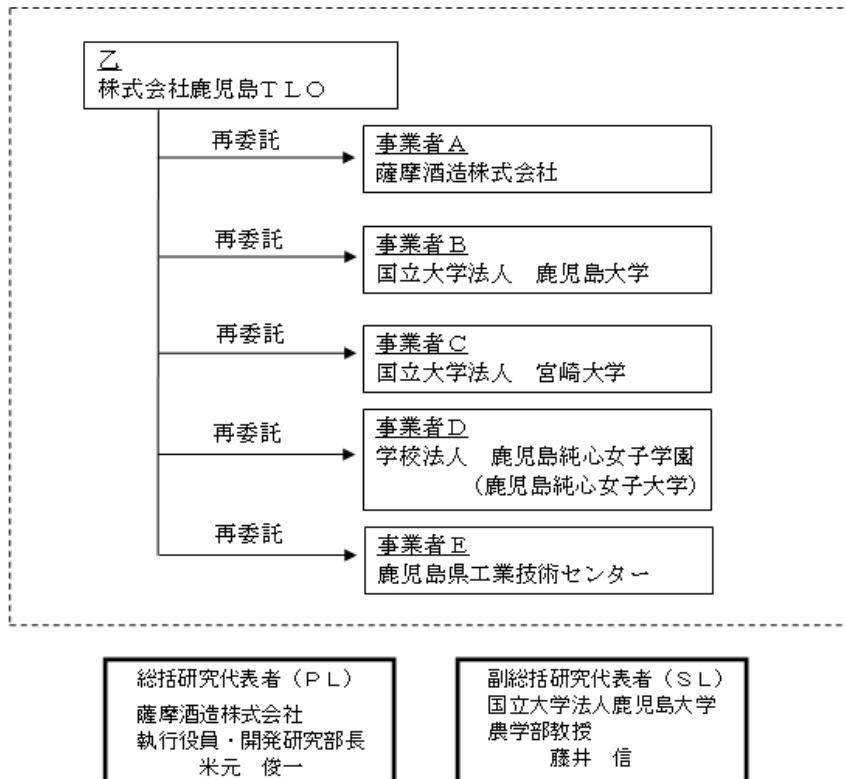
水熱反応処理：飽和蒸気圧以上に加圧された液体状態の熱水、すなわち加圧熱水をサツマイモ焼酎粕に作用させ、酵素や酸を用いず、水のみで加水分解を行う処理法。



1 - 2 研究体制

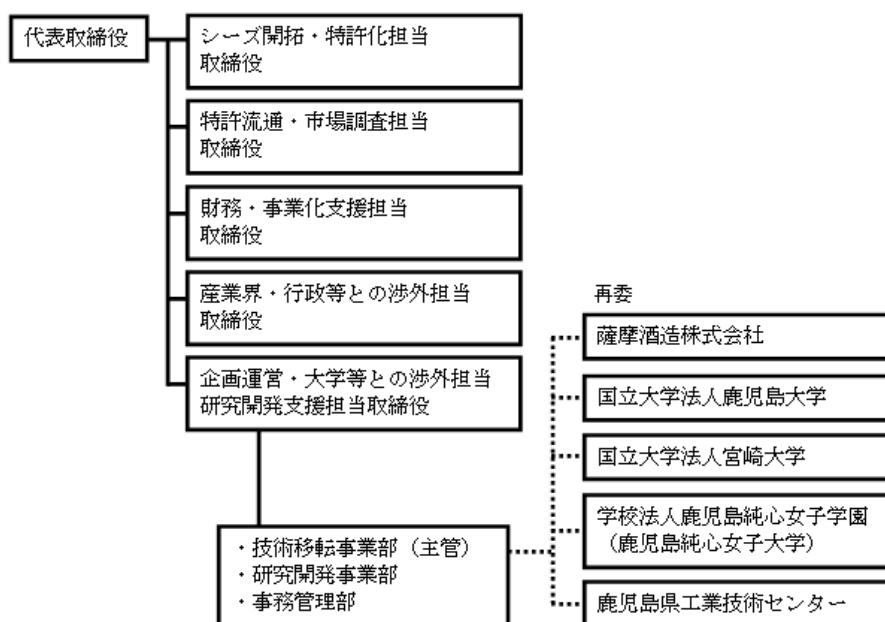
1 - 2 - 1 研究組織及び管理体制

(1) 研究組織(全体)



(2) 管理体制

事業管理者：株式会社鹿児島TLO



1 - 2 - 2 管理員及び研究員

管理員（株式会社鹿児島ＴＬＯ）

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
吹留 博実	代表取締役 兼 技術移転統括マネージャー	
小坂 京子	事務管理部 ライセンスアシスタント	
町田 依里	技術移転事業部技術移転スペシャリスト	
肱岡 泰昭	技術移転事業部技術移転スペシャリスト	
上原 美子	技術移転事業部技術移転スペシャリスト	

研究員（再委託先）

薩摩酒造株式会社

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
米元 俊一	開発研究部長	- 1 , 2 , 3 , - 1 , 2
田之上 隼雄	開発研究部 顧問・研究員	- 1 , 2
竹迫 寿一	開発研究部 主任研究員	- 1 , 2 , 3 , - 1 , 2
森山 正宗	開発研究部 主任研究員	- 1 , 2 , - 1 , 2
川野 秋二	開発研究部 主任研究員	- 2 - 1 , 2
田畠 陵子	開発研究部 研究員	- 2 - 1 , 2

国立大学法人 鹿児島大学

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
藤井 信	農学部 教授	- 2 , 3 , - 1 , 2
侯 徳興	農学部 准教授	- 2 , 3 , - 1 , 2
高峯 和則	農学部 准教授	- 1 , 3
吉崎 由美子	農学部 特任助教	- 1 , 3

国立大学法人 宮崎大学

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
林 幸男	工学部 教授	- 1 、 - 1

鹿児島純心女子大学

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
中野 隆之	看護栄養学部 教授	- 3 , - 2

鹿児島県工業技術センター

氏名	所属・役職	実施内容（番号）
安藤 浩毅	化学・環境部 主任研究員	- 1

1 - 2 - 3 推進委員会

(外部推進委員)

氏名	所属・役職	備考
松本 清	九州大学 大学院農学研究院 生物機能科学部門 教授	AD
松井 利郎	九州大学 大学院農学研究院 生物機能科学部門 准教授	AD
林 信行	佐賀大学 農学部 応用生物科学科 教授	AD
青木 孝良	鹿児島大学 農学部 名誉教授	AD
時村 金愛	鹿児島県農産物加工研究指導センター 加工開発研究室 主任研究員	AD
池口 主弥	株式会社東洋新薬 開発本部 課長代理	AD
菊地 幸治	南日本酪農協同株式会社 商品開発部 部長	AD
中野 智木	南日本酪農協同株式会社 商品開発部 基礎研究課 係長	AD

(内部推進委員)

氏名	所属・役職	備考
米元 俊一	薩摩酒造株式会社 開発研究部長	PL
藤井 信	鹿児島大学 農学部 生物資源化学科教授	SL
田之上 隼雄	薩摩酒造株式会社 開発研究部 顧問・研究員	
竹迫 寿一	同 開発研究部 主任研究員	
森山 正宗	同 開発研究部 主任研究員	
川野 秋二	同 開発研究部 主任研究員	
田畠 陵子	同 開発研究部 研究員	
侯 徳興	鹿児島大学 農学部 生物資源化学科 准教授	
高峯 和則	鹿児島大学 農学部 焼酎学講座 准教授	
吉崎 由美子	鹿児島大学 農学部 焼酎学講座 特任助教	
林 幸男	宮崎大学 工学部 物質環境化学科 教授	
中野 隆之	鹿児島純心女子大学 看護栄養学部 健康栄養学科 教授	
安藤 浩毅	鹿児島県工業技術センター 化学・環境部 主任研究員	
吹留 博実	株式会社鹿児島T L O 代表取締役 兼 技術移転統括マネージャー	
小坂 京子	同 事務管理部 ライセンスアシスタント	委
町田 依里	同 技術移転事業部 技術移転スペシャリスト	委
肱岡 泰昭	同 技術移転事業部 技術移転スペシャリスト	委
上原 美子	同 技術移転事業部 技術移転スペシャリスト	委

(注) AD : アドバイザー

□ : 労務費を委託対象とする委員

1 - 3 成果概要

実施計画書に掲げた各実施項目について、それぞれの研究成果を要約する。

1 - 3 - 1 機能性糖の抽出方法及び高品質化技術の確立

(1) 機能性糖の増強及び抽出率向上に関する検討

固液分離前のサツマイモ焼酎粕に水熱反応処理を行うことで、機能性糖成分を可溶化させ、同時に、分離の際の液化率（固体部に対する液部の割合）を向上させることを目的として、薩摩酒造および鹿児島大学、鹿児島県工業技術センターでは、より効率的な処理条件（温度、圧力、時間など）について検討した。

その結果、液化率の目標値（83～84%；処理なしの場合の約1.2倍）を達成することができた『温度180、処理時間5分』をより効率的な水熱反応処理条件と考え、あの実施項目において使用する焼酎粕の処理を行うこととした。水熱処理は、日本化学機械製造(株)にて、薩摩酒造、鹿児島大学、鹿児島県工業技術センター立会いのもと行った。180、5分の条件を目標としたが、実際は、機械のトラブル等（温度・圧の安定性）もあり175、6～7分の処理を行った。

また、水熱反応処理以外にも、鹿児島大学では酵素による機能性糖成分の可溶化促進効果によって水熱反応処理と酵素処理の併用による機能性糖の増強について検討したが、酵素処理を行うことで機能性糖の増強と、増強により機能性糖の抽出率を向上できることがわかった。

同時に、宮崎大学においては処理焼酎粕の成分分析を行ったが、その結果、グルコース、ラムノース、ラミナリビオース、コウジビオースなどが検出された。

併せて、薩摩酒造および鹿児島県工業技術センターでは実用化に適した水熱反応処理装置と低コスト化の調査を行った結果、現状で実用化されているものをそのまま活用することは難しいが、スラリー流通式の水熱処理が有効であることがわかった。

尚、機能性糖の回収率は0.8%程度（処理なしの場合の約2倍）を目標値としていたが、これについてはあの「(2) 処理焼酎粕からの機能性成分の分離と濃縮方法の検討」において述べる。

(2) 処理焼酎粕からの機能性成分の分離と濃縮方法の検討

処理焼酎粕の液部に含まれる多種多様な成分を、数種類の溶媒を用いて分離し、このうちアレルギー抑制効果、抗炎症効果、肥満抑制効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果を有する機能性成分を多量に含む部分を効率的に濃縮・精製することを目的に、その方法や条件について検討を行った。

その結果、ナノ膜や限外ろ過膜では、焼酎粕を圧搾濾過して得られた液部（以下SDB-Sと記す）の着色成分・臭い成分と、多糖・オリゴ糖との分離は難しいことがわかった。しかししながら、ナノ膜は濃縮には適していることがわかった。一方、合成吸着樹脂（SP-207）

を用いることで、SDB-Sに含まれる着色成分、臭い成分はほぼ除去できることを実証した。

これらを踏まえて、サツマイモ焼酎粕を圧搾濾過して得た SDB-S を 5 倍濃縮したものから、分子量による分画を行って得た画分を F1, F2, F3 とし、さらに、合成吸着樹脂(SP-207)処理を行った後に分子量分画を行って得た画分を SP-F1, SP-F2, SP-F3、樹脂吸着部からエタノール溶出で得た画分を SP-F4 として、との機能性評価に使用する。

尚、水熱処理を行った焼酎粕を使用した場合はこの記号をそのまま用いて F1, F2, F3, SP-F1, SP-F2, SP-F3, SP-F4、水熱処理を行っていない未処理焼酎粕を使用した場合は f1, f2, f3, SP-f1, SP-f2, SP-f3, SP-F4 とする。

また、F1 ~ F3、SP-F1 ~ SP-F4 (水熱) の収量は、f1 ~ f3、SP-f1 ~ SP-f4 (未処理) と比較して、いずれも合計では約 3 倍の収量があり、回収率 2 倍の目標値を達成している。

(3) 処理焼酎粕の機能性評価

水熱処理を行った焼酎粕のアレルギー抑制効果、ビフィズス菌増殖効果、抗酸化活性、サスペンションアレイ法による機能性評価、マウス動物実験による機能性評価および安全性評価また抗変異原性試験を行った。その結果を下表に示す。

	焼酎粕	水熱処理焼酎粕
アレルギー抑制効果		
抗炎症効果	抑制	抑制
肥満抑制効果		血清中性脂質低下
抗酸化活性		
ビフィズス菌増殖効果		
短期及び長期安全性試験	良	良
変異原	なし	なし
細胞毒性	なし	なし

1 - 3 - 2 機能性糖の成分解析と機能性評価

(1) 機能性糖の成分解析

水熱反応処理した焼酎粕を濃縮・精製して得られる機能性糖や機能性成分を多く含む画分 (F1, F2, F3, SP-F1, SP-F2, SP-F3) に含まれるオリゴ糖など機能性糖の含有量分析と成分同定を、薩摩酒造および宮崎大学において行った。

その結果、薩摩酒造で行った成分分析では、水熱処理は各画分の分子量分布を低分子化する方向に作用すること、キシローズを骨格とする多糖が遊離すること、酸性多糖は低分子化されることなどがわかった。

また、構成糖割合は各画分によって異なり、さらに、水熱処理の有無によって大きく変

化することもわかった。

宮崎大学で行った成分分析では、水熱処理およびゲルろ過処理を施したサンプル(SP-F3)からラムノースとラミナリビオースのピークが検出された。SP-F3 の糖組成を検討した結果、80%(w/v)以上が低分子の糖であった。また、その 70%以上がラミナリビオースであった。従って、今回行った処理方法は、希少糖であるラミナリビオースを焼酎粕から調製する方法として期待できるものと考えられる。

(2) 抽出された糖の機能性評価

濃縮・精製された機能性糖を高濃度に含む液体又は粉体精製品について、機能性評価および安全性評価を行った。

処理焼酎粕から分離された各成分について、アレルギー抑制効果、ビフィズス菌増殖効果、抗酸化活性、サスペンションアレイ法による機能性評価、安全性評価また抗変異原性試験を行った。その結果を下表に示す。

評価項目	水熱処理した焼酎粕から精製された画分			
	SP-F1	SP-F2	SP-F3	SP-F4
アレルギー抑制効果	未処理の効果を維持する程度			
抗炎症効果				抑制
抗酸化活性				
ビフィズス菌増殖効果				
変異原				なし
細胞毒性	なし	なし	なし	なし

1 - 4 当該プロジェクト連絡窓口

株式会社 鹿児島ＴＬＯ

〒890-0065 鹿児島市郡元一丁目 21 番 40 号 鹿児島大学内

電話 099 - 284-1631 / FAX : 099 - 284-1632

(業務管理者) 代表取締役

吹留 博実

技術移転事業部 技術移転スペシャリスト 上原 美子

(経理担当) 事務管理部 ライセンスアシスタント

小坂 京子

第2章 本論 - (1)

2 - 1 研究名称

機能性糖の抽出方法及び高品質化技術の確立（実施内容）

- 機能性糖の増強及び抽出率向上に関する検討 - （実施内容 - 1）

2 - 2 研究目的と概要

サツマイモ焼酎粕を固体と液体に分離する前に水熱反応処理を行うことで、機能性糖成分が可溶化され、分離の際の液化率（固体部に対する液部の割合）が向上するが、薩摩酒造および鹿児島大学、鹿児島県工業技術センターでは、より効率的な水熱反応処理条件（温度、圧力、時間など）について検討する。水熱反応処理は、一部は鹿児島県工業技術センターにおいて行うが、との実施項目において使用する処理焼酎粕（水熱反応処理を行った後のサツマイモ焼酎粕）の量確保のために、関係者立ち会いのもと専門業者においても行う。液化率は83～84%（処理なしの場合は75%程度であるため、その約1.2倍）、機能性糖の回収率は0.8%程度（処理なしの場合の約2倍）を目標とする。但し、回収率については第3章にて示す。

また、水熱反応処理以外にも酵素による機能性糖成分の可溶化促進効果が確認されており、鹿児島大学では、水熱反応処理と酵素処理の併用による機能性糖の増強について検討を行う。

同時に、宮崎大学においては処理焼酎粕の成分分析を行う。

併せて、薩摩酒造および鹿児島県工業技術センターでは、実用化に適した水熱反応処理装置と低コスト化の調査を行う。

2 - 3 研究成果

(1) 効率的な水熱反応処理条件について

薩摩酒造および鹿児島大学、鹿児島県工業技術センターにおいて、より効率的な水熱反応処理条件として、温度はこれまでの研究成果等により180℃が妥当と考え、温度180℃における処理時間（4～20分）と、圧力の影響（初期圧0.5～3.5MPa）を検討した。

その結果、液部は未処理焼酎粕を基準として処理時間4分で目標値の1.2倍を超え、平均すると約1.5倍、最高は処理時間18分で1.76倍にまで増加した。（図1）

また、遠心分離による上澄みの量は遠心分離の条件にも影響されることから、水熱処理による固形部重量の変化を見たところ、未処理焼酎粕では4.2%であった固形分が、水熱処理により1.7%（未処理の約4割）まで減少していることから、6割が水に可溶化していることが示された。（図2）

その他、処理時間が長くなるほどアミノカルボニル反応等による褐変着色が見られること、初期圧の影響については、0.5～3.5MPaの範囲では有意な差が見られるほどの影響が

なかったことなどを踏まえ、『温度 180 ℃、処理時間 5 分』を効率的な水熱反応処理条件と考え、との実施項目において使用する焼酎粕の処理を行うこととした。

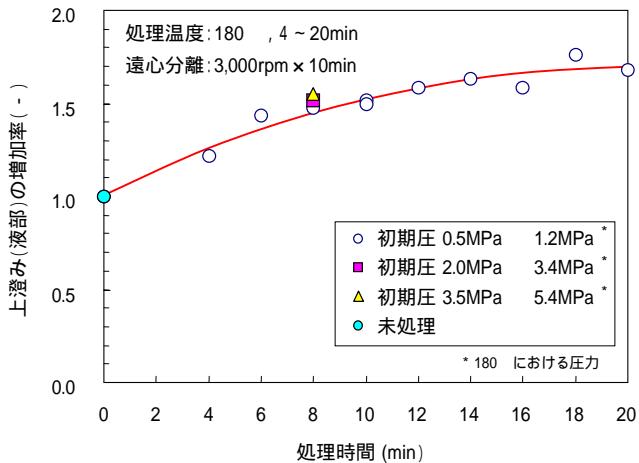


図1 水熱処理による上澄み液の増加率(未処理基準)

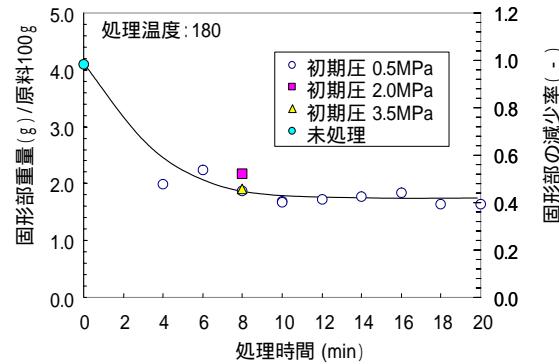


図2 水熱処理による固形分の重量変化

との実施項目において成分分析や機能性評価に使用する焼酎粕の水熱反応試験は、日本化学機械製造(株)にて、薩摩酒造、鹿児島大学、鹿児島県工業技術センター立会いのもとで行った。180 ℃、5 分の条件を目標としたが、実際は、機械のトラブル等(温度・圧の安定性)もあり 175 ℃、6~7 分の処理を行った。



水熱反応処理装置：日本化学機械製造(株)



処理前

反応後

(2) 酵素処理について

鹿児島大学では、水熱反応処理と酵素処理の併用による機能性糖の増強及び抽出率向上に関する検討を行った。具体的には、水熱処理した焼酎粕に食物纖維や麹菌、酵母菌体を分解できる酵素であるセルラーゼ、ヘミセルラーゼ、ペクチナーゼおよびグルカナーゼを作用させ、機能性糖類の増加の可能性を検討した。

その結果を表1に示す。なお、値は水熱処置粕 1L 当たりに含まれる量として表している。対照とした酵素未処理の水熱処理粕は全糖が 88.8mg/L、還元糖が 5.9 mg/L、グルコース濃度が 0.6 mg/L であるのに対して、表1によれば、酵素処理することでその値が高くなり、

食物繊維が分解されていることがわかるが、還元糖の増加が全糖増加と比べて非常に高いことから、重合度の少ないオリゴ糖に分解されていることや、また、グルコース濃度が100倍近い向上を示すことから、難消化性のデンプンや食物繊維の主要成分であるセルロースが分解を受けていることがわかる。平均重合度^{*}の値が高いほど分子量の大きな可溶性オリゴ糖を有する溶液であることがいえるが、オリゴ糖には機能性を有する可能性が高いことから、酵素処理を行うことで機能性糖の増強と、増強することで機能性糖の抽出率を向上できることがわかった。

表1 酵素処理した水熱処理焼酎粕の分析結果

酵素番号	全糖 (mg/L)	還元糖 (mg/L)	グルコース (mg/L)	平均重合度 [*]
1	96.8	18.3	6.6	7.7
2	104.4	67.6	50.5	3.2
3	114.7	67.5	55.2	4.9
4	92.3	23	13.1	8
5	116.9	71.6	45.5	2.7
6	118.3	81.6	62.7	2.9
7	98.9	31.8	21	7.2
8	106.5	24	18.9	17.2
10	121.9	77	55.9	3.1
11	103.5	28.9	17.9	7.8
12	116.1	66.7	48.6	3.7
13	114.9	80.9	64.4	3.1
14	96.8	21.6	10.8	8
15	97.3	20.4	7	6.7
16	109.3	68.3	51.7	3.5
17	114.1	63.7	51.5	5.1
18	116.9	47.1	33.7	6.2
19	116.9	70.5	55.9	4.2
20	113.9	50.9	41.2	7.5
21	88.2	12.3	5.5	12.2
22	91.2	37.6	20.9	4.2
23	106.5	51.9	32.8	3.9
25	117.7	27.9	17.5	9.7
26	121.7	73	50	3.1
27	125.8	64.5	42.2	3.7
28	117.6	75	40.4	2.2
29	91.1	6.1	0.3	15.7
30	109.6	44.4	21.6	3.9
酵素未処理	88.8	6.5	0.6	15.1

$$* : \text{平均重合度} = (\text{全糖} - \text{グルコース}) / (\text{還元糖} - \text{グルコース})$$

(3) 処理焼酎粕の成分分析

宮崎大学では処理焼酎粕の成分分析として、以下のサンプルについて糖分析を実施した。

水熱処理焼酎粕

水熱未処理焼酎粕

具体的には、¹³C-NMR および TOF-MS を用いて分析した（付記参照）。また、サンプルをバイオゲル P-2 によってゲルろ過し、分子量による分画を行った後、HPLC（付記参照）にてオリゴ糖や単糖の定性定量分析を行った。

その結果、ゲルろ過で得られた 3 つのピーク（A,B,C）のうち、ピーク B からはラムノースとグルコースが、ピーク C からはグルコース、ラミナリビオース、コウジビオースのピークが検出された。特に、ラミナリビオースは水熱処理によって増大していた。これらは焼酎原料の甘藷または麹菌や酵母由来であろうと考えられる。グルコースはラミナリオリゴ糖の構成成分であるので、加水分解の結果として遊離してきたものと考えられる。

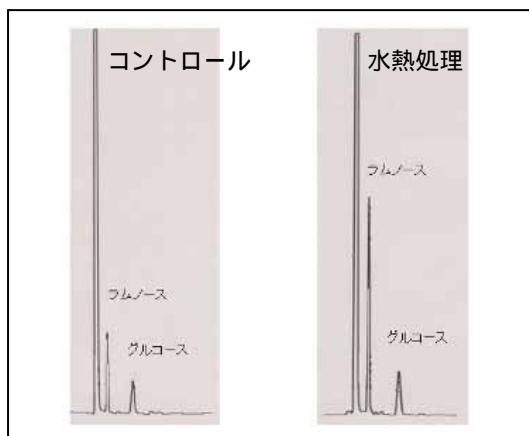


図 3 HPLC (ピーク B)

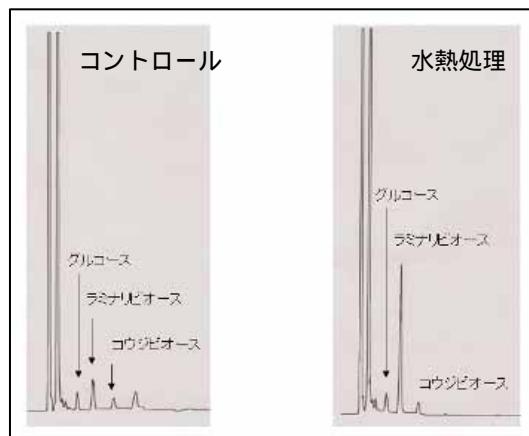
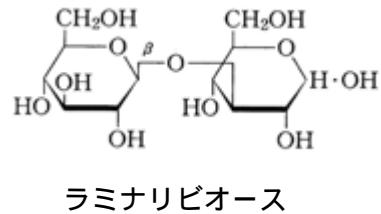
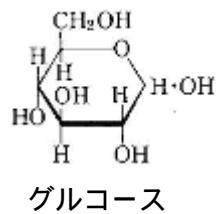
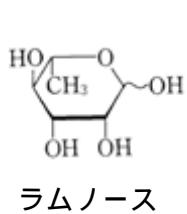


図 4 HPLC (ピーク C)



付記 1：専門用語の解説

- 1) ¹³C-NMR: Carbon 13-nuclear magnetic resonance の頭文字をとったもので、オリゴ糖の結合様式の分析に適している方法。
- 2) TOF-MS : Time-of-flight mass spectrometry の頭文字をとったもので、オリゴ糖の分子量の分析に適している方法。
- 3) HPLC : High performance liquid chromatography の頭文字をとったもので、オリゴ糖の定性定量分析に適している方法。

(4) 実用化に適した水熱処理装置の検討

薩摩酒造および鹿児島県工業技術センターでは、実用化に適した水熱反応処理装置と低コスト化の調査を行った。

水熱処理装置には、主にスラリー流通式、熱水流通式、バッチ式の3種があり、目的に応じてその処理方式が異なる。今回、高温・高圧水の反応場を利用した水熱処理装置を開発もしくは水熱処理技術を研究している大学や企業等の調査を行った。（表2）

表2 調査した大学および企業等

	スラリー流通式	熱水流通式	バッチ式
熊本大学			
九州大学			
日本化学機械製造(株)			
東洋高圧(株)			
サザングリーン協同組合			
ミゾタ(株)環境技術研究所			
(独)産総研九州センター			
(独)産総研バイオマスセンター			

スラリー流通式に関しては有機物の超臨界水酸化（無害化）や有機物の減容化などを目的に利用されていたが、配管内の閉塞などエンジニアリングの問題など課題も残されており、まだ実用化段階に至っていない。調査した中では、日本化学製造株式会社のマイクロ波加熱による高温・高圧処理装置が実用化可能な装置であったが、既存装置は処理能力に限界があり、装置コストも高い。

熱水流通式については、すでに実機として実用化されているものもあり、主に化粧品や医薬品用の有効成分の抽出（成分分離）に用いられていた。成分分離が必要な水熱処理には有効な手法である。

バッチ式はいわゆるオートクレーブであるが、実用規模としてはバイオエタノールを製造するための原料の前処理装置として利用されていた（木質原料の組織を柔らかくするための水熱処理）。本方式は、装置の構造上、装置規模が大きいほど加熱に時間がかかる（冷却も同じ）。そのため、反応時間の短い処理が必要な場合は、加熱方式に工夫が必要である。

いずれの方式も一長一短あるが、1 MPa 以上（180 の飽和蒸気圧以上）の加圧下で4分程度の短時間加熱が可能であり、かつ連続的に処理できる装置としては、スラリー流通式の水熱処理が有効であると考える。ただし、処理条件は加熱方式など装置特性も大きく影響するため、再度、商業ベースの装置で最適条件を検証する必要がある。現状で実用化されているものは、加熱方式がマイクロ波加熱による 10~20L/H の処理能力のもので処理能力として小さい。そのため、今後、現在ある実用機に適した焼酎粕の水熱処理技術（焼酎粕全量ではなく、固形分のみを液状化する技術）も併せて検討する必要がある。

なお、スラリー流通式の水熱処理装置に関しては、現在、量産化を視野に入れた 100L/H 横規格（パイロットスケール）の開発が国内外の大学や企業で研究されている。

第3章 本論 - (2)

3 - 1 研究名称

機能性糖の抽出方法及び高品質化技術の確立（実施内容 ）

- 处理焼酎粕からの機能性成分の分離と濃縮方法の検討 - （実施内容 - 2 ）

3 - 2 研究目的と概要

薩摩酒造、鹿児島大学において、処理焼酎粕の液部に含まれる多種多様な成分を数種類の溶媒を用いて分離し、このうちアレルギー抑制効果、抗炎症効果、肥満抑制効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果を有する機能性成分を多量に含む部分を効率的に分離・濃縮・精製することを目的に、その方法や条件について検討を行う。

まず、各種成分を焼酎粕から分離するために、分離の原理が全く異なる分取用クロマトグラフィ装置『高速向流クロマトグラフィ』『高性能分取クロマトグラフィ』を購入し、薩摩酒造に設置する。

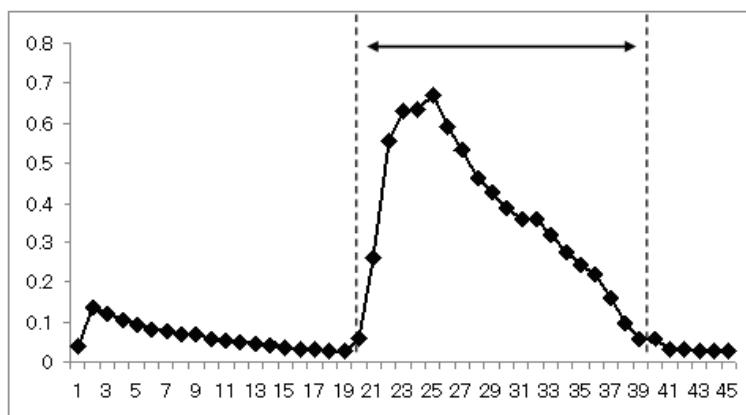
濃縮は、『膜透過試験装置』を購入し、薩摩酒造に設置して行う。得られた濃縮試料は、焼酎粕独特の臭いと着色があり、食品素材として利用するまでのマイナス要因になることが懸念される。そこで、異臭成分、着色成分を除去しながら機能性成分を効率良く濃縮・精製する技術について検討を行う。

3 - 3 研究成果

(1) 分取方法の検討

薩摩酒造及び鹿児島大学において、『高速向流クロマトグラフィ』及び『高性能分取クロマトグラフィ』を用いた各種糖を含む熱処理焼酎粕の成分の大量分取について検討した。

『高速向流クロマトグラフィ』では、糖の分取溶媒を検討し、1-BuOH(ブタノール) - AcOH(酢酸) - 水(4 : 1 : 5)を用いて、熱処理焼酎粕中の各種糖の大量分取を検討した(移動相:水)。その結果、下図に示したように、始めに小さなピークが溶出され、その後にフラクション21~28番までの幅広いピークが得られた。



これをフェノール硫酸法で確認したところこれらのフラクションは全てが糖を高濃度で含むことが明らかになった。このように、高速向流クロマトグラフィを用いることで、水熱処理焼酎粕中の各種糖を一度で大量分取することができ、オリゴ糖分取の実用化にむけて有効な手法であることを示した。

この糖画分の大量回収法を、糖精製法において次の樹脂吸着法によるステップに組み込むこととした。はじめの吸着法でポリフェノール画分を集め、次いでこの向流分配法で糖および糖鎖画分を選択的に集めることができる。さらに、多糖類とオリゴ糖などの分画や、オリゴ糖の再分画のために『高性能分取クロマトグラフィ』を使用し、より高度に精製糖画分を得ることができた。

(2) 濃縮・精製方法の検討

焼酎粕には独特の臭いと着色があり、食品素材として利用する上でのマイナス要因になることが懸念される。そこで薩摩酒造では、異臭成分、着色成分を除去しながら機能性成分を効率良く濃縮する技術について検討した。

具体的には、コガネセンガンを原料とした常圧焼酎粕を圧搾濾過して得られた清澄液(以下 SDB-S と記す)を使用し、食塩阻止率 30% と 10% のナノ膜 (NTR-7430, NTR-7410) を装着した『膜透過試験装置』による試験および限外濾過膜(分画分子量: タンパクで 6000 型)による試験、合成吸着樹脂 (SP-207) を用いた試験を行った。

その結果、ナノ膜および限外濾過膜を用いた試験では、着色成分・臭い成分と、多糖・オリゴ糖との分離は難しいことがわかった。

しかしながら、ナノ膜を用いて SDB-S 17L から濃縮液 3L を作製する試験においては、濃縮前の原液 17L 中に含まれる全糖量 85.2g に対し、濃縮液 3L 中には 60g 含まれることがわかり(濃縮液への回収率は 70%)。一方、透過液中には 3.5g が含まれるのみで、膜濃縮操作による糖の損失は少ないと判断した。

よって、SDB-S の膜

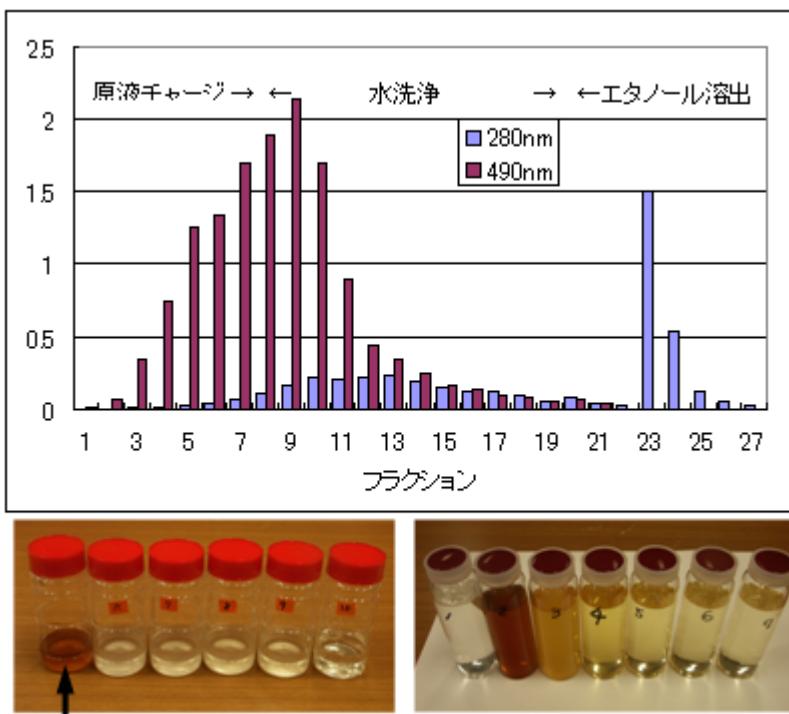


図 1 . 吸着樹脂 SP-207 による着色、臭い成分の除去

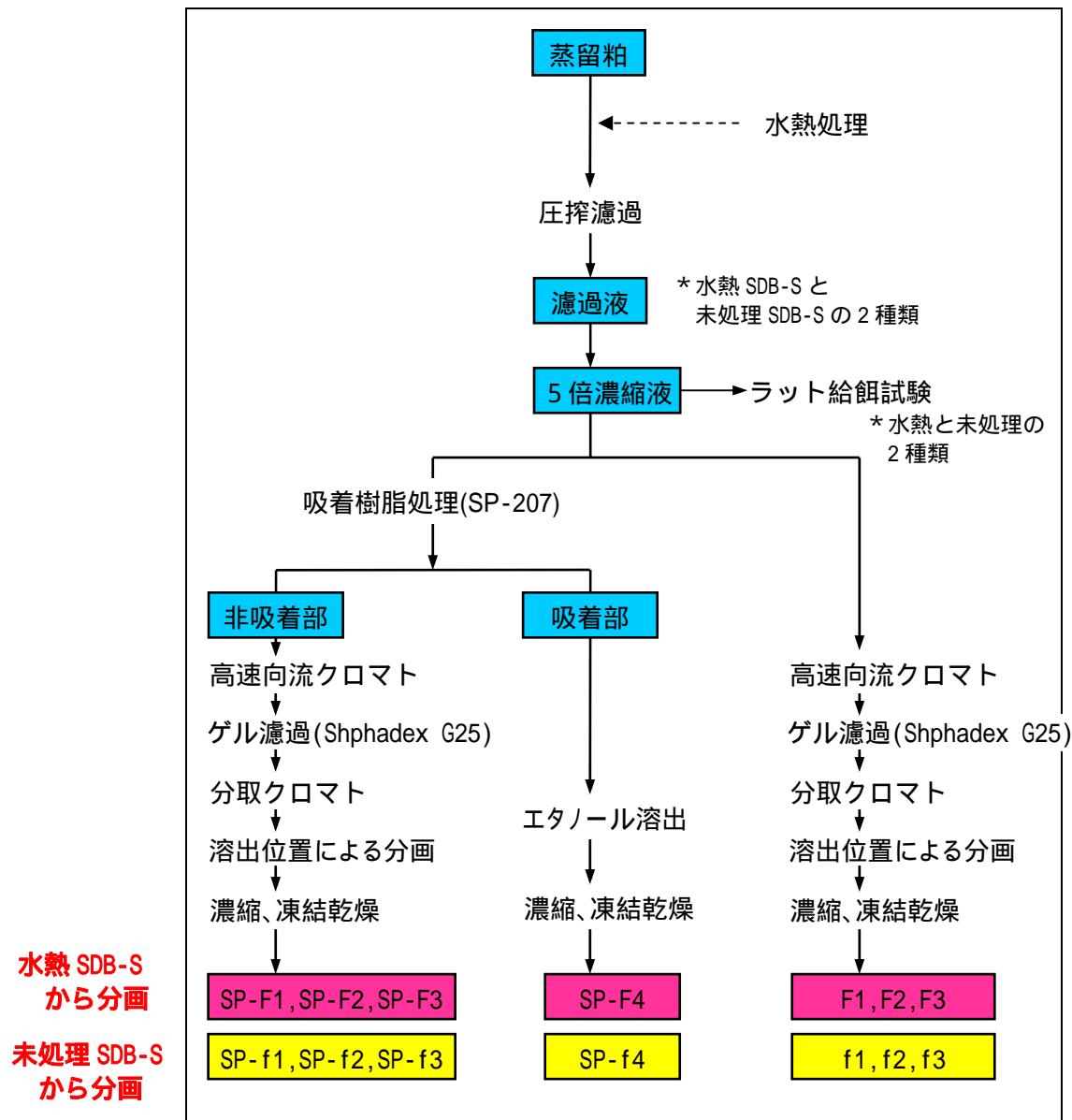
(紫外部吸収成分の吸着)

濃縮適性は高いと評価できる。

一方で、合成吸着樹脂（SP-207）を用いた試験においては、官能的には、樹脂非吸着部は淡黄色で臭いも少ないので対し、樹脂吸着部は黒褐色で臭いが強かった。よって、吸着樹脂によって SDB-S に含まれる着色成分、臭い成分はほぼ除去できることが判った。

(3) 成分分離と構成糖

上記を踏まえ、SDB-S の機能性、安全性を評価するため、以下の手順で試料を調製する。



分取ゲル濾過による分離で糖成分はおおまかに 3 画分に分離された。SP-F1, SP-F2, SP-F3 ならびに F1, F2, F3 は、溶出位置から判断して最初のピークを高分子画分 F1、最後のピークを低分子画分 F3、その間を中間分子画分 F2 とし (未処理焼酎粕を用いた SP-f1 ~ SP-f4,

f1～f3の場合も同様の法則）、それぞれの画分を回収し、濃縮してから凍結乾燥した。

未処理 SDB-S から分画された SP-f1、SP-f2 は白色の粉末で、SP-f3 は凍結乾燥前は淡黄色の溶液であったが、凍結乾燥中に着色が進行し凍結乾燥品は飴状で、粉末状になることはなかった。SP-f4 は褐色粉末であった。水熱 SDB-S は着色も強く、吸着樹脂に吸着されない着色成分があり、水熱 SDB-S から分画した SP-F1、SP-F2 は淡褐色粉末となった。SP-F3 は凍結乾燥中に着色が進行し、飴状であった。樹脂吸着成分の SP-F4 は褐色の強い粉末であった。

外観上からは、未処理の SP-f1, SP-f2 が食品素材として優れていると評価できる。

各画分の凍結乾燥物としての収量を表 1 に示した。水熱処理は収量を約 3 倍に増加させており、回収率 2 倍の目標値を達成している。特に F3, f3, SP-F3, SP-f3 画分の増加が顕著であった。

表 1 . 分画画分の収量

	分取ゲルろ過				吸着樹脂処理				
	F1 (f1)	F2 (f2)	F3 (f3)	計	SP-F1 (SP-f1)	SP-F2 (SP-f2)	SP-F3 (SP-f3)	SP-F4 (SP-f4)	計
	水熱処理	0.50	0.92	4.66	6.08	0.57	0.367	4.32	1.50
未処理	0.40	0.62	1.37	2.39	0.24	0.21	1.60	0.22	2.27

* 収量は SDB-S 100ml 当たりの各画分凍結乾燥物の重さ(g)

第4章 本論 - (3)

4-1 研究名称

機能性糖の抽出方法及び高品質化技術の確立（実施内容）

- 处理焼酎粕の機能性評価 - （実施内容 - 3）

4-2 研究目的と概要

水熱処理を行った焼酎粕のアレルギー抑制効果、抗炎症効果、肥満抑制効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果などの機能性評価および安全性評価を行う。

機能性評価は、動物実験、細胞実験、試験管反応などにより薩摩酒造および鹿児島大学が行う。抗酸化活性の評価については、処理焼酎粕を酵素処理したものについても行う。

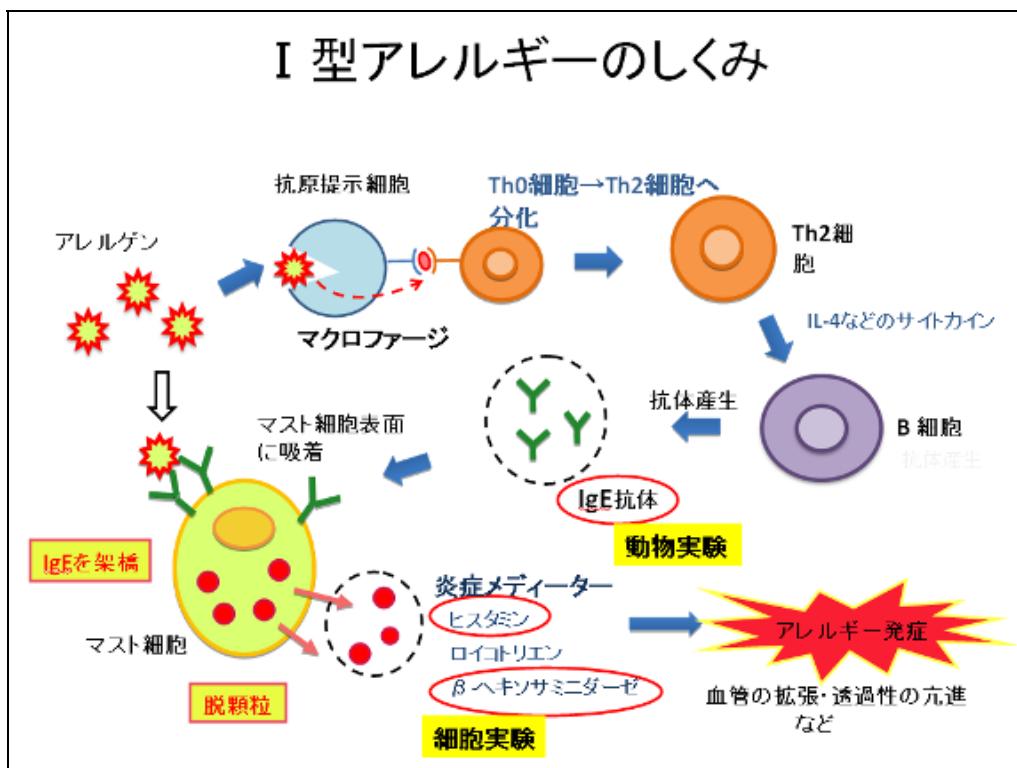
機能性評価には『サスペンションアレイシステム（Bio-Plex 200）』を薩摩酒造に設置し、使用する。

安全性評価は、鹿児島純心女子大学および鹿児島大学において行う。鹿児島純心女子大学では、水熱処理焼酎粕を含む餌を調製してマウスに与える毒性試験を実施し、鹿児島大学では変異原性試験および細胞毒性試験を行う。

4-3 研究成果

(1) アレルギー抑制効果

・マウスを用いたアレルギー抑制効果



食品アレルギーは、アレルゲンが体内に入り、IgE が作成された後、その IgE がマスト細胞の表面に結合した状態で待ち構えている。そこに同じアレルゲンが再度侵入して来ると、そのアレルゲンがマスト細胞上の IgE と結合する。その結果、マスト細胞内部の顆粒に蓄えられているヒスタミン、ロイコトリエン、ヘキソサミニダーゼ等のケミカルメディエーターが放出され、腫れなどのアレルギー症状を発現させる。

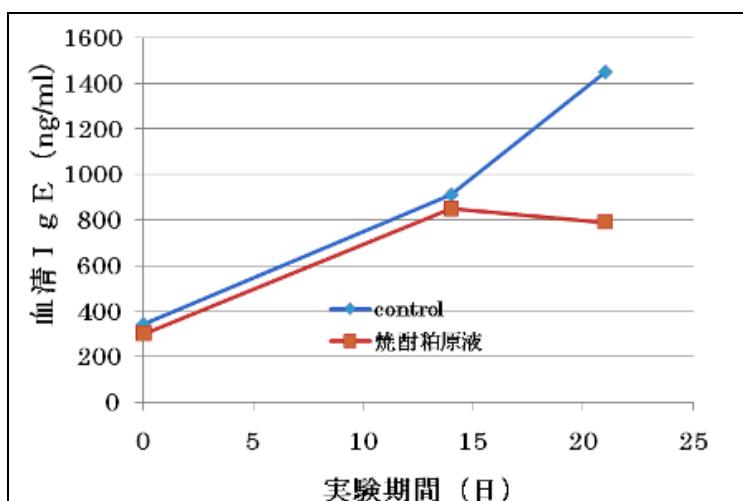
動物実験におけるアレルギー抑制効果の測定は、マウスをオボアルブミン(20ug)と水酸化アルミニウム(2 mg/0.1 ml)で2回ほど感作し、その後1週間毎に採血し、IgE の產生抑制効果を検討する。

与えた飼料は、下記標準飼料に焼酎粕上清凍結乾燥物 20%を添加し、その分のコーンスターク重量を削減して調整したものである。



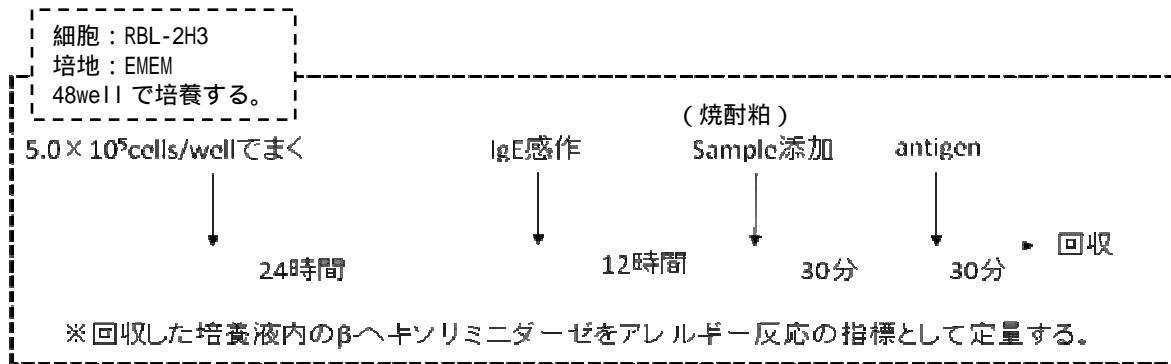
飼料配合	control (g)	
コーンスターク	470	940
カゼイン	250	500
セルロース	70	140
スクロース	100	200
コーン油	60	120
ビタミン	10	20
ミネラル	35	70
塩化コリン	2	4
メチオニン	3	6
計	1000	2000

その結果、次のグラフに示すように、マウス経口投与により、IgE の產生が抑制され、アレルギー抑制効果を示した。

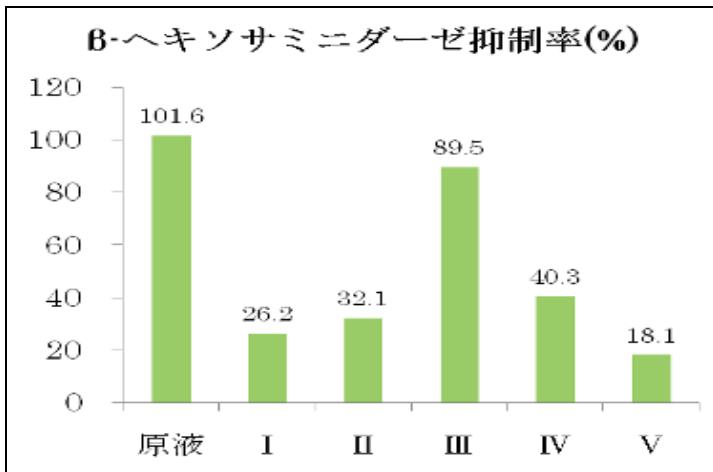


・マスト細胞を用いたアレルギー抑制実験

細胞実験は、RBL-2H3 細胞を用い、その培地に水熱処理焼酎粕から分離された成分を添加してアレルギー誘導物質である β -ヘキソサミニダーゼの放出抑制効果を検討する。



その結果、下図のように、 β -ヘキソサミニダーゼの分泌はほぼ 100% と抑制できることができた。また、抑制画分は、Sephadex G25 を用いたゲルろ過により分画された第 3 画分であることが明らかになった。これは、動物実験の結果とも同じ結果である。



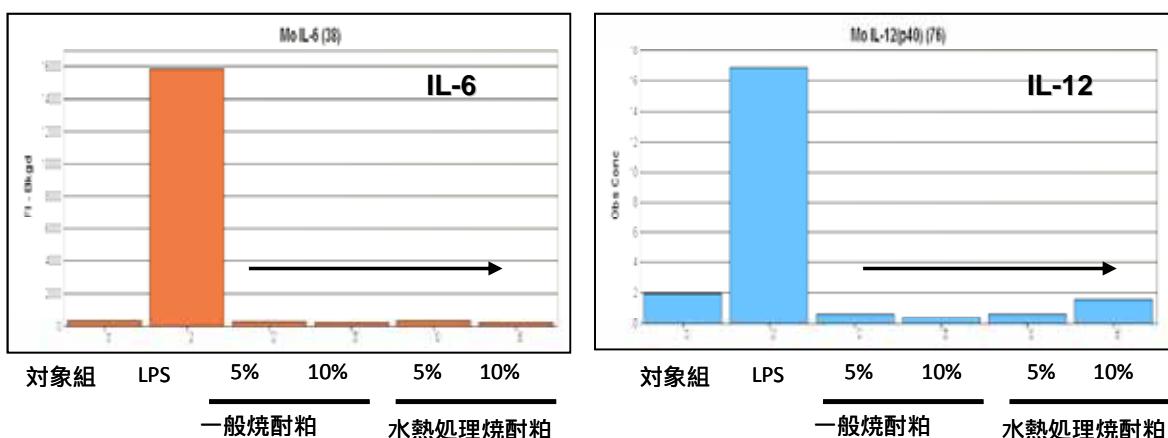
(2) 抗炎症効果

・細胞内在性サイトカインに対する処理焼酎粕の影響

焼酎粕液（水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕）はそれぞれ 0, 5%, 10% の最終濃度で RAW264.7 細胞に添加した。16 時間の共培養後、培地を回収し、サイトカインの測定に供試した。あるいは、-80° のフリーザーに保管し、後日に測定した。

細胞内在性サイトカインは、23 種類のサイトカインを網羅的に測定できる『サスペンションアレイシステム（Bio-Plex 200）』を用いて同時測定した。その結果、水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕とも、23 種類のサイトカインの細胞内在性分泌に対する影響がなかった（図 1）。これらの結果から焼酎粕自身が、細胞炎症性因子を誘発しないことが明らかになった。

図 1. 水熱処理焼酎粕の細胞内在性サイトカインに対する影響



・誘発性サイトカインに対する処理焼酎粕の作用

細胞は、外来炎症誘発性因子により、サイトカインが過剰に産生され、アレルギーや炎症などを引き起こすことが明らかとなっている。そこで、焼酎粕液（水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕）が外来炎症誘発性因子によるサイトカインの過剰産生を抑制するかどうかを明らかにするため、細菌リポ多糖（Lipopolysaccharide: LPS）による誘発性サイトカイン分泌に対する作用を調べた。

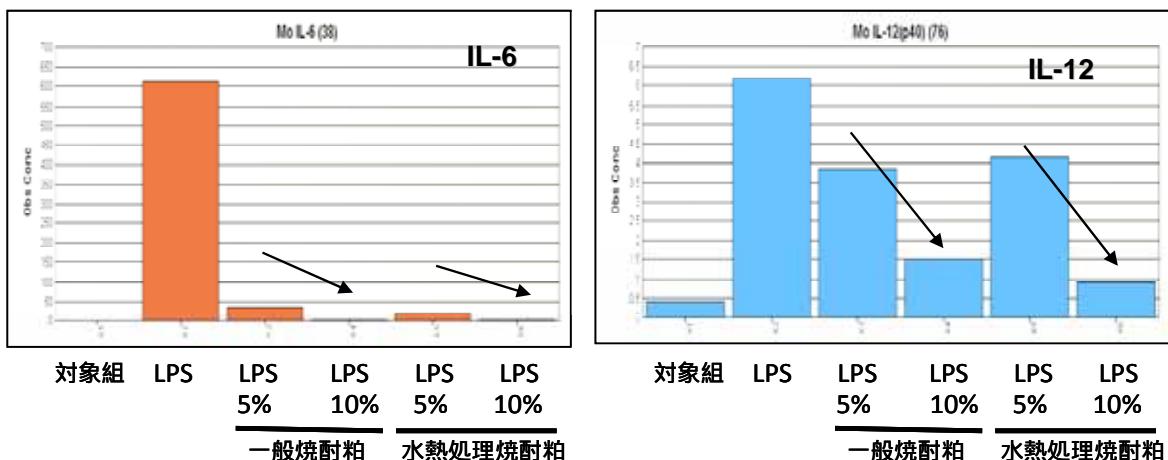
その結果、焼酎粕液（水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕とも）23 種類中の 19 種類の細菌リポ多糖誘発性サイトカインの分泌に対して、濃度依存的な抑制効果が認められた（表 1、図 2）。さらに、水熱焼酎粕抽出液が一般焼酎粕抽出液により高い抑制活性が見られた（図 2）。特に水熱焼酎粕抽出液が炎症性サイトカインである IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IFN- γ , MIP-1 α 及び TNF- α の分泌を著しく抑制した（表 1）。

また、これらの細菌リポ多糖誘発性サイトカイン分泌への抑制活性は細胞毒性によるものではないことも明らかとなった。

表1. 水熱焼酎粕抽出液によるリポ多糖誘発性サイトカイン産生の抑制効果

サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用	サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用
IL-1 α		炎症性サイトカイン	IL-17		好中球の遊走、サイトカイン産生
IL-1 β		炎症性サイトカイン	Eotaxin		ケモカイン。好酸球遊走関与等
IL-2	-	B,T細胞分化、増殖促進NK細胞活性化等	G-CSF		好中球増殖。好中球減少症治療薬
IL-3		造血幹、B細胞分化促進、 肥満細胞増殖	GM-CSF		造血系細胞の増殖・分化を促進
IL-4		抗炎症性サイトカイン	IFN- γ		炎症性サイトカイン
IL-5		IgM分泌亢進、好酸球増殖分化誘導等	KC	-	ケラチノサイト。皮膚の免疫反応に関与
IL-6		炎症性サイトカイン	MCP-1		走化性の亢進、IL-1、IL-6の産生誘導など
IL-9		ヘルパーT・胸腺・ 肥満細胞増殖	MIP-1 α	-	炎症性サイトカイン
IL-10		抗炎症性サイトカイン	MIP-1 β	-	血管新生、 炎症に関連
IL-12(p40)		IL-12 サブユニット 不活性型	RANTES		好酸球を活性化。急性腎不全の誘因
IL-12(p70)		炎症性サイトカイン 活性型	TNF- α		炎症性サイトカイン
IL-13		抗炎症性サイトカイン			マウスマクロファージRAW264.7細胞による結果

図2. 水熱処理焼酎粕のリポ多糖誘発性IL-6 及びIL-12分泌に対する抑制作用



・動物（マウス）の血清サイトカインに対する処理焼酎粕の効果

以上マウスのマクロファージ培養細胞を用いて誘発性サイトカインに対する処理焼酎粕の作用を明らかにした。本研究は、動物レベルでサイトカインの産生に対する処理焼酎粕の影響をさらに検証した。マウスの焼酎粕飼育実験は鹿児島純心女子大学の中野研究員が

行った。マウス血清は、コントロール群、一般焼酎粕飼育群（未 10%）、水熱処理焼酎粕飼育群（10%）のマウスから試験開始前後とも採血し、遠心後得た。血清中のサイトカインを『サスペンションアレイシステム（Bio-Plex 200）』により、23 種類の分泌量を同時に測定した。

その結果、焼酎粕液（水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕とも）飼育マウス群は、サイトカイン IL-6、IL-12 及び RANTES の分泌量がコントロール群より顕著な低下効果が認められた。その反対に、G-CSF の分泌量が増加された。他の 19 種類のサイトカインの産生には影響が認められなかった（図 3 と表 2）。

IL-6 や IL-12 は、炎症性サイトカインであり、処理焼酎粕の長期飼育がこれらの上昇を抑制したことが処理焼酎粕の抗炎症効果を有することが示唆された。また、RANTES が好酸球を活性化する機能が報告され、急性腎不全の誘因物質でもある。処理焼酎粕の長期飼育が RANTES の上昇を抑制する効果が認められた。一方、G-CSF は好中球を増殖する機能を持ち、好中球減少症の治療薬も使われている。処理焼酎粕の長期飼育が G-CSF の分泌量を上昇させた。これらの結果より、処理焼酎粕がマウスの免疫増強能を持つことが示唆された。

最近にサイトカイン IL-6 の分泌量が 2 型糖尿病などの生活習慣病とも関わるという疫学的な研究成果が報告されている。処理焼酎粕によるサイトカインの網羅的な解析成果がこれから処理焼酎粕の更なる新しい機能性の解明に大いに期待されよう。

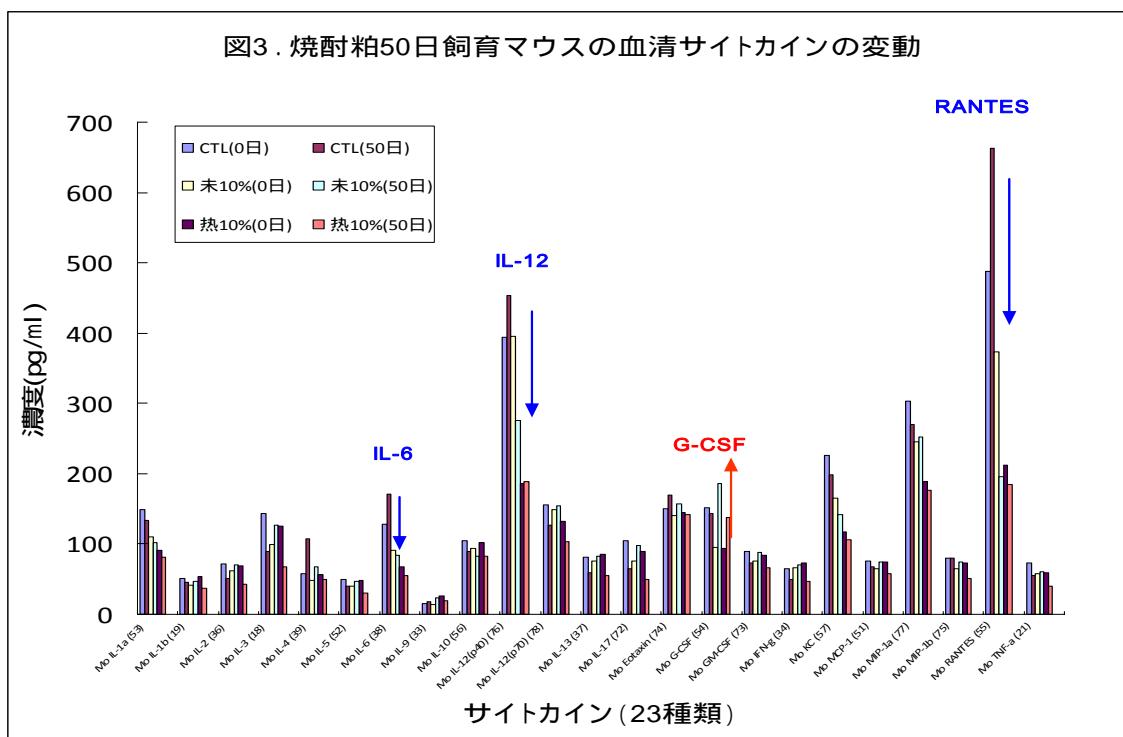


表2. 焼酎粕50日飼育マウスの血清サイトカインの変動

サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用	サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用
IL-1 α	-	炎症性サイトカイン	IL-17	-	好中球の遊走、サイトカイン産生
IL-1 β	-	炎症性サイトカイン	Eotaxin	-	ケモカイン。好酸球遊走関与 等
IL-2	-	B,T細胞分化、増殖促進NK細胞活性化等	G-CSF		好中球増殖。好中球減少症治療薬
IL-3	-	造血幹、B細胞分化促進、肥満細胞増殖	GM-CSF	-	造血系細胞の増殖・分化を促進
IL-4	-	抗炎症性サイトカイン	IFN- γ	-	炎症性サイトカイン
IL-5	-	IgM分泌亢進、好酸球増殖分化誘導 等	KC		ケラチノサイト。皮膚の免疫反応に関与
IL-6		炎症性サイトカイン	MCP-1	-	走化性の亢進、IL-1、IL-6の産生誘導など
IL-9	-	ヘルパーT・胸腺・肥満細胞増殖	MIP-1 α	-	炎症性サイトカイン
IL-10	-	抗炎症性サイトカイン	MIP-1 β	-	血管新生、炎症に関連
IL-12(p40)		IL-12 サブユニット 不活性型	RANTES		好酸球を活性化。急性腎不全の誘因
IL-12(p70)	-	炎症性サイトカイン 活性型	TNF- α	-	炎症性サイトカイン
IL-13	-	抗炎症性サイトカイン			マウス血清による結果

(3) 肥満抑制効果

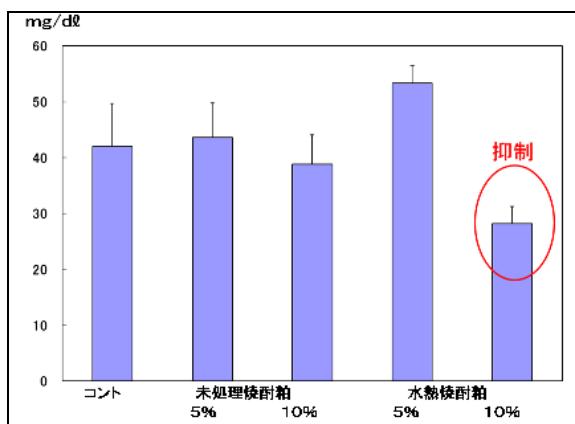
肥満抑制効果は、マウスを用いた下記動物実験により検討した。

動物…BALBマウス（雄5週齢）
・コントロール群（標準飼料）
・未処理 5, 10%群(標準飼料に乾物として5, 10%添加)
・水熱処理 5, 10%群
飼育期間…平成22年3月26日～5月14日(7週)
餌…コントロール群:標準の餌
テスト群:焼酎粕のろ液(未処理・水熱処理)のものを標準餌に 固形含量として5%・10%添加し、水で練って凍結乾燥。
上記各餌を自由摂食
水…自由飲水
測定…体重測定 週2回
摂食量測定 週2回
飼育終了後、採血、血清分析
解剖(各臓器、脂肪重量測定)

その結果、摂食量は焼酎粕添加区で水熱処理の有無を問わず、コントロール区に比較し、摂食量が増加した。これは嗜好性が上がったことを示すが、摂食量が増えた割には以降の中性脂質量、HDLコレステロール量は減少し、LDLコレステロール量の増加は見られ

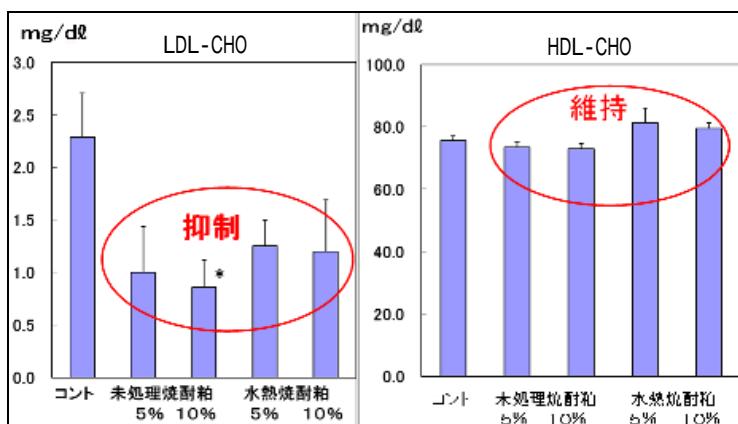
ないなどの肥満抑制効果が見られた。焼酎粕にクエン酸などの有機酸が含まれている効果ではないかと推定できる。

血清中性脂質含量の変化



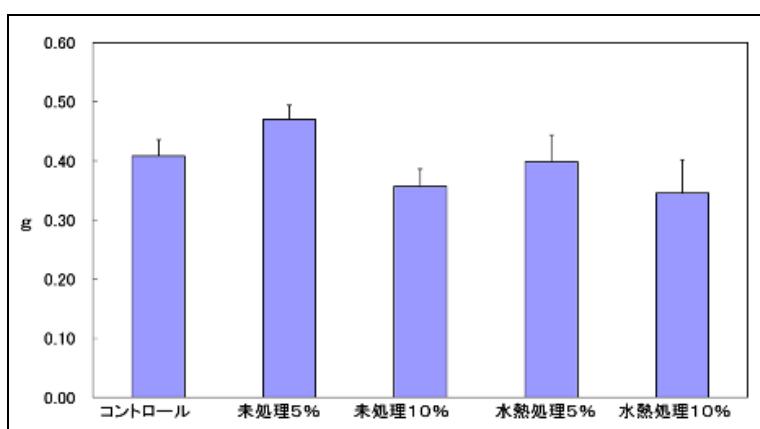
焼酎粕 10 %添加で減少傾向見られ、特に水熱処理粕で著しい低下傾向示す。

血清 L D L-, H D L-コレステロールの変化



- H D L -コレステロール
焼酎粕投与によって変化せず、焼酎粕は健康にプラス効果を示す
- L D L -コレステロール
焼酎粕の投与で減少傾向。特に 10 %添加で有意に減少。焼酎粕は健康にプラス効果を示す。

腸管膜脂肪重量の変化

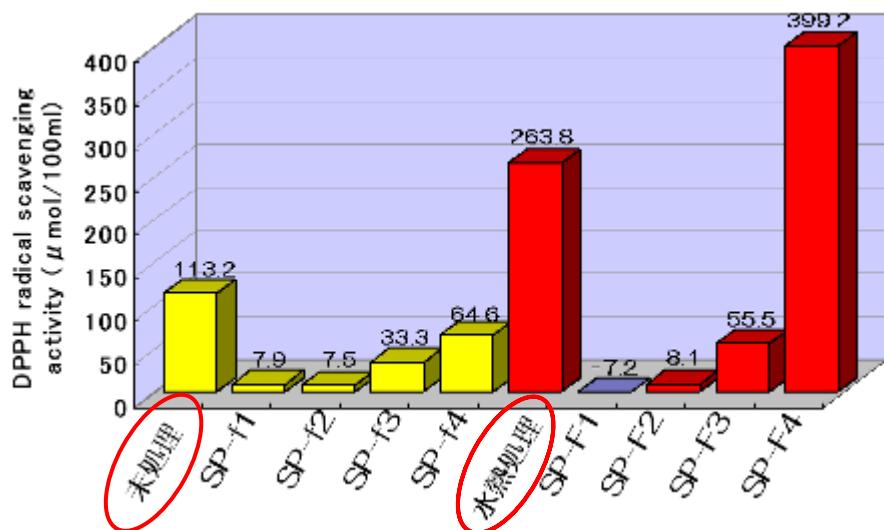


特に 10% 添加区で減少傾向が明らかである。

(4) 抗酸化活性

・DPPH ラジカル消去能の測定

DPPH 分光測定法で行い、DPPH ラジカル消去能を標準物質 Trolox 相当量として求め、抗酸化活性の測定を行った。その結果、水熱処理することで抗酸化活性は約 2 倍に増加している。(下図)



・酵素処理による抗酸化活性增加の可能性検討

- 1 で酵素処理した水熱処理粕を用いて抗酸化活性を測定した。

その結果、図 4 は縦軸の阻害率が高いほど抗酸化活性に優れていることを示すが、酵素未処理の水熱処理粕の阻害率は 67.8% であり、酵素処理した試料では 60 ~ 80% の範囲にあり阻害率に大差はなく、酵素処理による抗酸化活性の向上は認められないといえる。

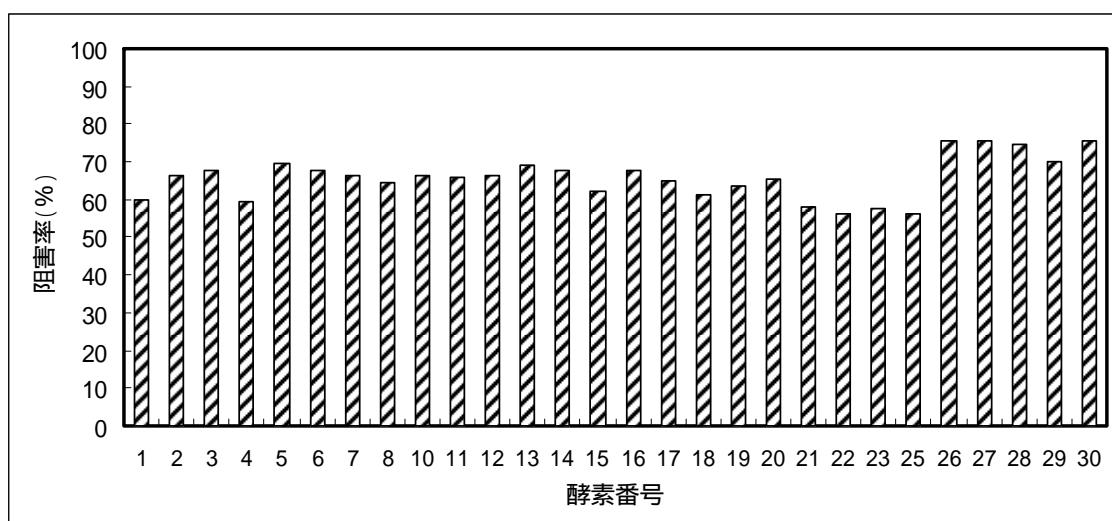


図 4 抗酸化活性に及ぼす水熱処理粕の酵素処理の影響

(5) ピフィズス菌増殖効果

脱脂粉乳を用いてピフィズス菌培養試験を行った結果、水プランク（コントロール）に対し、未処理および水熱処理を行った焼酎粕のいずれもピフィズス菌増殖効果が認められた。詳細は、との第6章（抽出された糖の機能性評価）において述べる。

(6) 安全性評価

・マウスを用いた安全性試験

処理焼酎粕の安全性の評価を行うため、動物を用いた単回投与試験および連続投与試験を行った。動物は雄性マウスを用い、これをコントロール群、5%焼酎粕群、10%焼酎粕群、5%処理焼酎粕群および10%処理焼酎粕群の5群にわけ、それぞれのサンプルを含む餌を調製し、凍結乾燥させたものを動物に与えた。なお、餌はAIN-93Gの配合に準じて作製し、サンプルの添加量に応じてカゼインにて差し引きを行った。実施期間は単回投与試験では2日間、連続投与試験では50日間とし、飼養試験期間中、餌は自由摂食とし、飲水には水道水を使用し、自由飲水とした。試験期間中、各動物の毛並みやツヤ、行動などの外観検査や摂食量および体重測定を行った。飼育実験終了時に各動物を麻酔後、採血を行った後、解剖し、内臓とくに消化器系について目視もしくは微視的観察を行った。さらに胃、肝臓、腎臓および脾臓については摘出を行った。胃については大弯部より割をいれ、胃内部粘膜層の状態を詳細に観察、肝臓、腎臓および脾臓については細部の観察と重量の計測を行った。また、採血後の血液は遠心分離により血清を分離、各種の生化学検査を実施し、コントロール群の動物との比較を行った。

単回投与試験結果

下表に示したようなスケジュールに沿って、単回投与試験を行った。

・動物	・ d Yマウス (雄 5 週齢)
	コントロール群 (n=5)
	テスト群 (n=20)
	未処理サンプル5%群 (n=5)
	未処理サンプル10%群 (n=5)
	水熱処理サンプル5%群 (n=5)
	水熱処理サンプル10%群 (n=5)
・餌	・ コントロール群→AIN-93Gに準じた凍結乾燥の餌
	テス

ト群→各サンプルの凍結乾燥物をコントロールの

餌に加え、カゼインで調整

・水

・ 飼育期間 2日間

・測定

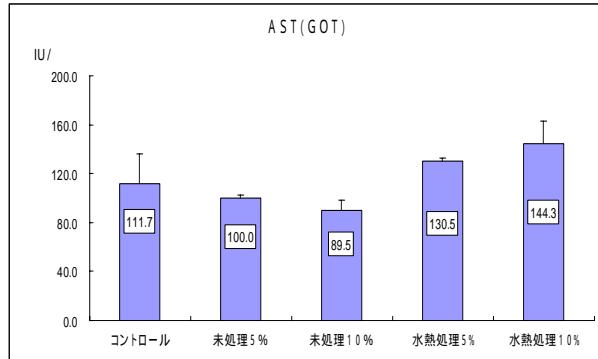
・ 体重測定、摂食量測定

・ 飼育終了後、解剖を行い臓器観察、血液の生化学的検査

飼養試験の結果、テスト群の動物がコントロール群の動物に比べ、摂食量がやや多い傾向にあることが認められた。

体重については、4つのテスト群の動物はコントロール群とほぼ同様の体重増加を示した。また、飼養試験中の動物の行動および毛並みやツヤ等について観察を行ったが、処理焼酎粕群を含む4つのテスト群の動物には特記するような異常は見られず、コントロール群との差異は認められなかった。

血清に関する生化学検査では、まず、肝機能検査としてAST(GOT)、ALT(GPT)および-GTPの比較を行った。



・ AST

コントロール群の動物に比べて処理焼酎粕群でやや高めの傾向がみられたが、有意差は認められなかった。(左図)

・ ALT(GPT)および-GTP

差異は認められなかった。

次に、腎機能に関しては、尿素窒素およびクレアチニンについて比較を行ったが、4つのテスト群とも正常値を示している事がわかった。

その他の検査項目として、総タンパク質、アルブミン、A/G比、リン脂質についての分析を行ったが、コントロール群の動物に対して有意差を認める項目はなかった。

以上の各種検査結果より、処理焼酎粕の単回投与における肝機能、腎機能および血清タンパク質やリン脂質に与える影響は認められなかった。

連続投与試験結果

下表に示したようなスケジュールに沿って、50日間の連続投与試験を行った。

・動物・・・BALB-cマウス（雄5週齢）
コントロール群 (n=5)
テスト群 (n=20)
未処理サンプル5%群 (n=5)
未処理サンプル10%群 (n=5)
水熱処理サンプル5%群 (n=5)
水熱処理サンプル10%群 (n=5)
・餌・・・コントロール群→AIN-93Mに準じた凍結乾燥の餌
テスト群→各サンプルの凍結乾燥物をコントロールの餌に加える（カゼインで調整）
・水・・・自由飲水
・飼育期間 50日間（平成22年3月22日～平成22年5月17日）
・測定・・・期間中は摂食量、体重測定
・飼育終了後、解剖を行い臓器観察、血液の生化学的検査

	摂食量	体重(0日目)	体重(50日目)	増体重	増加率
コントロール	140.2	18.07	24.49	6.42	5%
未処理5%	159.6	15.73	24.97	9.24	5%
未処理10%	155.3	15.66	24.86	9.19	5%
水熱処理5%	160.2	15.52	24.31	8.79	5%
水熱処理10%	165.4	15.79	24.50	8.80	5%

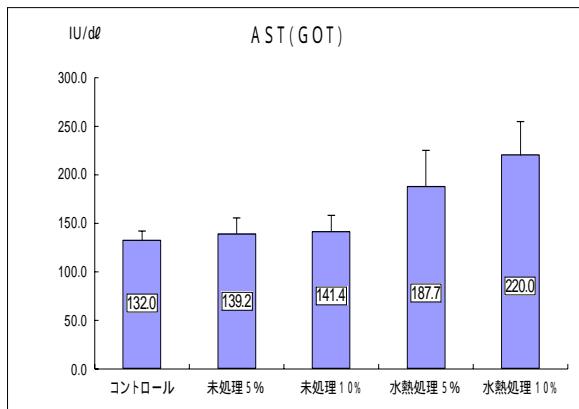
飼養試験の結果、テスト群の動物はコントロール群の動物と同等の摂食量であることが認められた。体重についても、4つのテスト群の動物はコントロール群の動物とほぼ同様の体重増加を示した。

以上のように、処理焼酎粕の50日間の連続投与による摂食障害や成長に及ぼす影響は認められないことがわかった。また、各テスト群の動物における行動や毛並みやツヤなどに關

しても何ら異常は認められなかった。

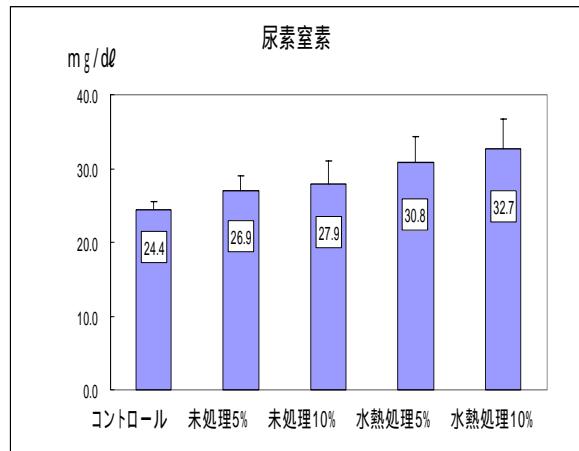
50日飼育後の各動物を麻酔後、解剖し、消化管その他の内臓の観察を行ったが、処理焼酎粕群を含むすべての群の動物で内臓はすべて intact で、異常所見はみつからなかった。さらに、肝臓、腎臓、脾臓について摘出後、重量の測定を行ったが、コントロール群の動物の重量との差異はみられなかった。

血清に関する生化学検査では、まず、肝機能検査として AST(GOT) , ALT(GPT) および -GTP の比較を行った。



- AST
コントロール群の動物に比べて
処理焼酎粕群でやや高めの傾向が
みられたが、有意差は認められな
かった。（左図）
- ALT(GPT) および -GTP
差異は認められなかった。

次に、腎機能に関しては、尿素窒素およびクレアチニンについて比較を行った。



- 尿素窒素
テスト群でやや高めの傾向を示したが、
コントロール群に対して有意差は認めず、
正常範囲であった。（左図）
- クレアチニン
4つのテスト群とも正常値を示す事が
認められた。

その他の検査項目として、総タンパク質、アルブミン、A/G 比、リン脂質について分析を行ったが、コントロール群の動物に対して有意差を認める項目はなかった。

これらの各種検査の結果より、処理焼酎粕の 50 日間の連続投与においても肝機能、腎機能および血清タンパク質やリン脂質に与える影響は見られなかった。

以上、今回のマウスを用いた単回および連続投与試験においては、処理焼酎粕の摂取による成長や摂食に対する障害および消化器系、代謝系に与える影響は認められないことがわかった。

・抗変異原性試験

酵素処理した水熱処理について抗変異原性試験を行った。粕抗変異原の測定は一般的に行われている *Salmonella typhimurium* TA98 株を用いた Ames test 法で行い、変異原を抑制する効果を測定した。

その結果、焼酎粕、乾燥粕および乾燥粕の水熱処理粕はそれぞれ 4%、3%および 73%であった。このことから、水熱処理することで抗変異原性能を負荷できることがわかった。

さらに、酵素処理すると図 5 に示すように、水熱処理粕の 73%を上回る試料があり、特に酵素番号 14, 25 および 30 で処理した水熱処理粕は 90%以上の抗変異原性を示した。なお、いずれの試料からも変異原性能は認められなかった。

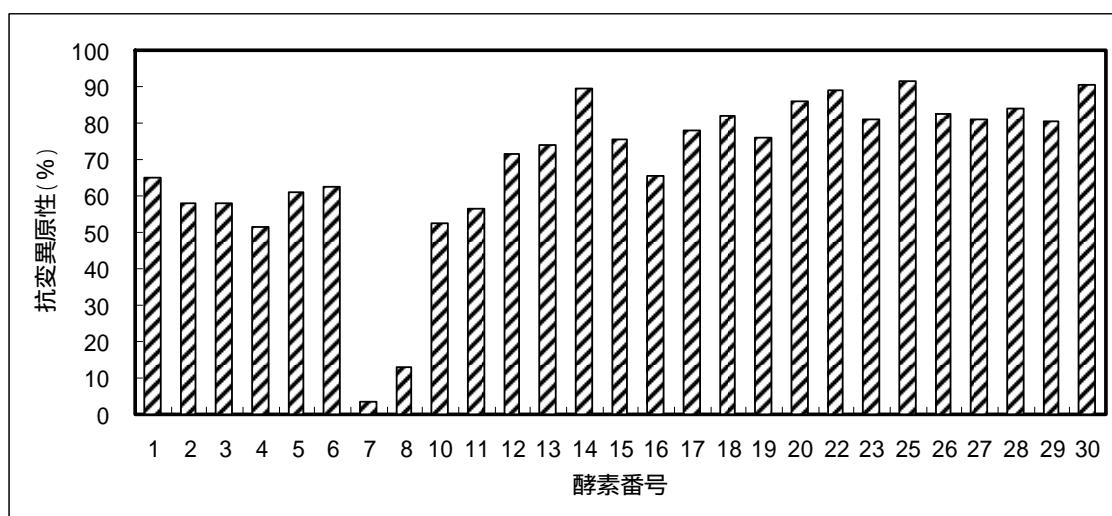


図 5 抗変異原性試験結果

・細胞毒性試験

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 を用いて焼酎粕液(水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕) の培養細胞に対する毒性の検討を行った。RAW264.7 を培養プレートに播き、24 時間予備培養後、焼酎粕液はそれぞれ 4 つの濃度 (0, 5%, 10%, 20%) で細胞培地に添加して、16 時間の共培養を行った。その結果、10%以下の添加で、16 時間の共培養では細胞毒性が認められなかった。

第5章 本論 - (4)

5 - 1 研究名称

機能性糖の成分解析と機能性評価（実施内容）

- 機能性糖の成分解析 - (実施内容 - 1)

5 - 2 研究目的と概要

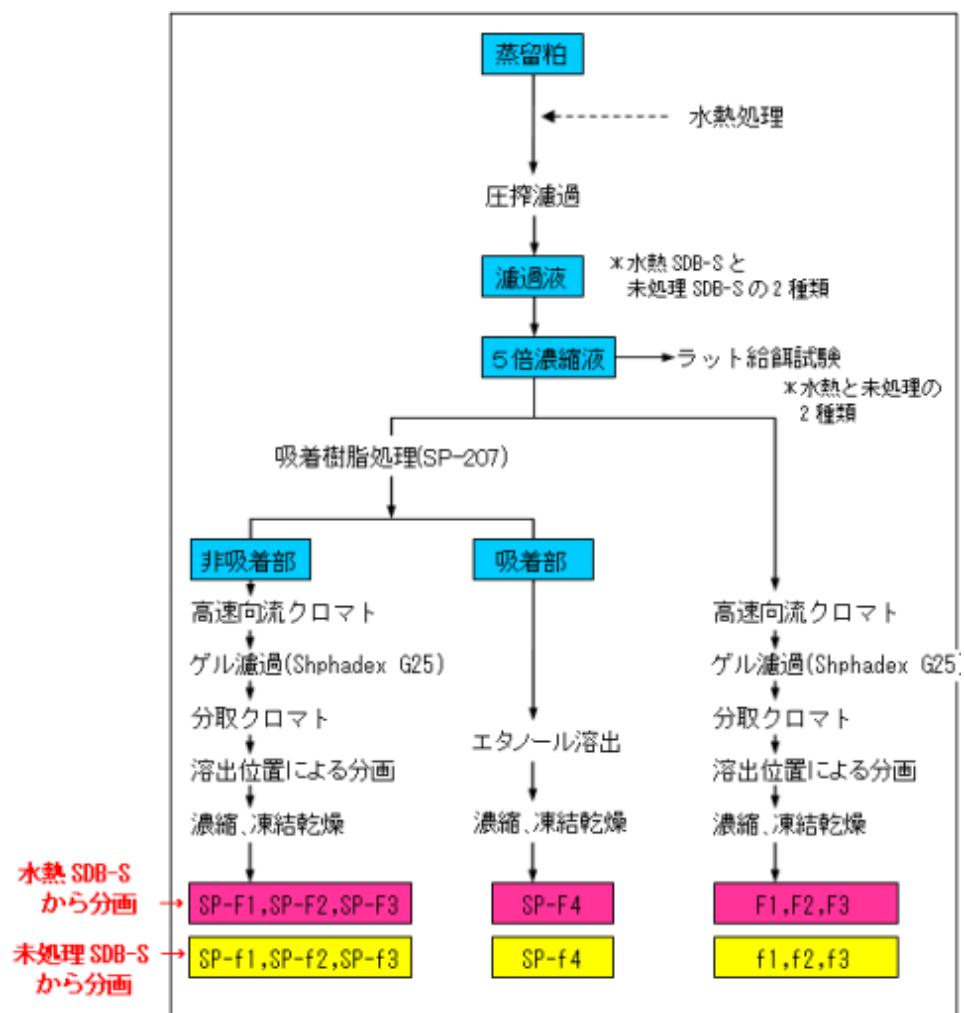
水熱反応処理した焼酎粕を濃縮・精製して得られる機能性糖や機能性成分を多く含む液体（機能性糖画分）または粉体に含まれるオリゴ糖など機能性糖の含有量分析と成分同定を、薩摩酒造および宮崎大学において行う。

5 - 3 研究成果

(1) 機能性糖の成分分析

・機能性成分の分離

第3章で述べたとおり、以下の手順で焼酎粕から機能性成分を分離、濃縮・精製を行う。



・各画分凍結乾燥物中の糖含量

薩摩酒造において、各画分の凍結乾燥物の全糖量および酸性糖含量を測定したところ、未処理焼酎粕から得られる SP-f1 は全糖量割合が最も高く、低分子域の画分ほど全糖割合は低くなった (SP-f1>SP-f2>SP-f3)。酸性糖は SP-f1、SP-f2 に約 3% 含まれたが、SP-f3 ではその 1/10 量に減少した。水熱処理すると全ての画分で全糖割合が減少し、酸性糖割合は SP-F1、SP-F2 では減少するが SP-F3 では増加した。

・分子量分布

分子量に基づく分離が可能な HPLC カラムによるクロマトグラムで分子量分布を見たところ、水熱処理は各画分の分子量分布を低分子化する方向に作用することが分かった。また分子量で各画分に 20 万(プルランの分子量標品より推定)前後の高分子が存在したが、このピークには 220nm 吸収が見られ、糖質以外の成分の存在が示唆された。

・構成糖

各画分を加水分解して検出される中性糖の割合を図 1 に示す。

主な構成糖は Glc, Ara, Gal, Xyl で、少量ではあるが Rha が含まれた。これらの構成糖割合は各画分によって異なり、また水熱処理の有無によって大きく変化した。最も顕著な変化は水熱 SP-F1 で、この画分は Xyl が殆どを占めた。比較的高分子のキシランが水熱処理で遊離されたと考えられた。また水熱 SP-F2、SP-F3 では Glc 割合が増加しているが、焼酎粕中に存在する難消化性澱粉の可溶化、加水分解に起因すると考えられる。

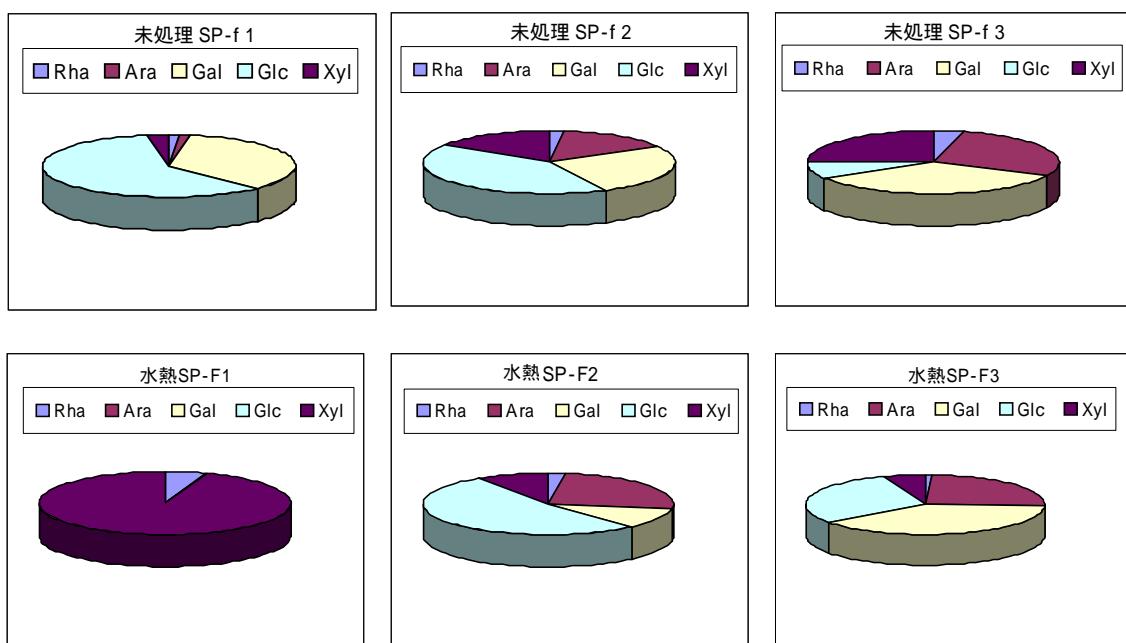


図 1 . 分画画分の構成糖割合

・消化性の評価

消化性は食物纖維測定に用いる酵系(耐熱 アミラーゼとアミログルコシダーゼ)およびレジスタンストスターーチ測定での酵素系(パンクレアチンとアミログルコシダーゼ)による還元力増加によって評価した。

その結果、分画画分の糖質は消化酵素(-アミラーゼとアミログルコシダーゼ)によつて殆ど消化されない多糖で、体内においても消化吸收されず、大腸に到達する可能性が高いと評価された。水熱 SP-F2 の消化性は若干増加しているが、難消化性澱粉が可溶化し、この画分に含まれていると推測できる。

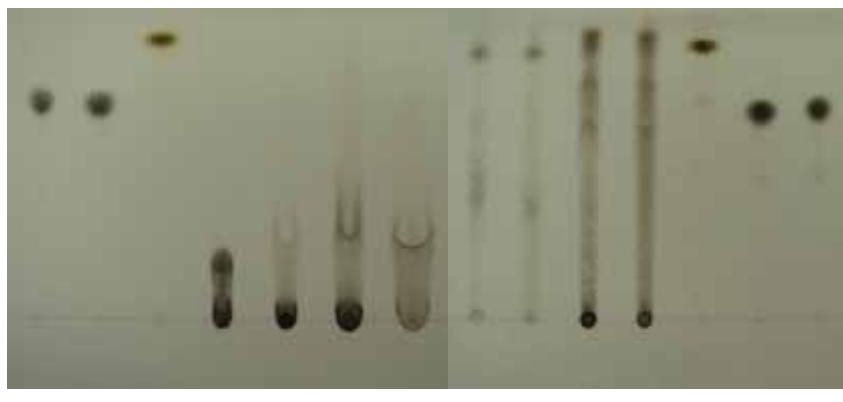
(2) 糖質の分析

宮崎大学では、薩摩酒造と協力し、以下の8種類のサンプルについてオリゴ糖や単糖などの糖質の分析を薄層クロマトグラフィー(TLC)および高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて行った。

水熱処理なし	水熱処理
SP-f1	SP-F1
SP-f2	SP-F2
SP-f3	SP-F3
SP-f4	SP-F4

まず、薄層クロマトグラフィー(TLC)分析を行った結果、下図のように、サンプル SP-F3、SP-f3、SP-F4、SP-f4 に単糖やオリゴ糖のような低分子の糖が検出されたが、SP-F1、SP-f1、SP-F2、SP-f2 には強いスポットは見られなかった。

ゲルろ過による分画によって、相対的に分子量の大きな糖が増えたためであろうと考えられた。



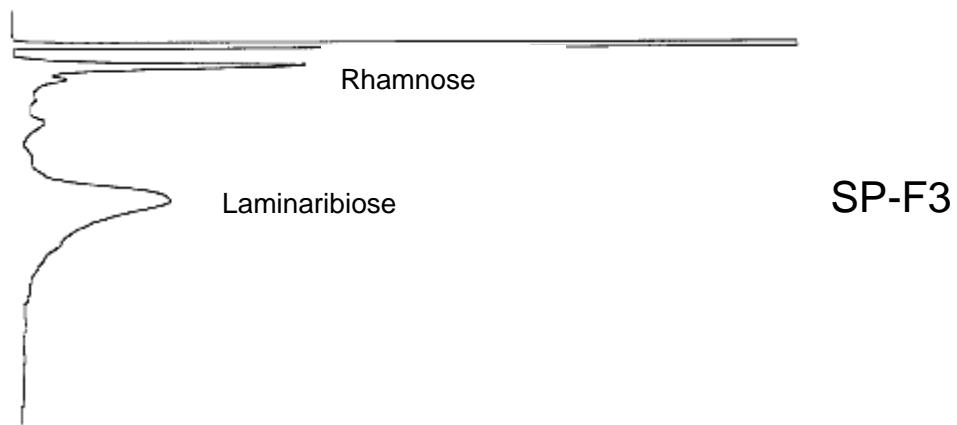
L: ラミナリビオース (laminaribiose)

G: グルコース (glucose)

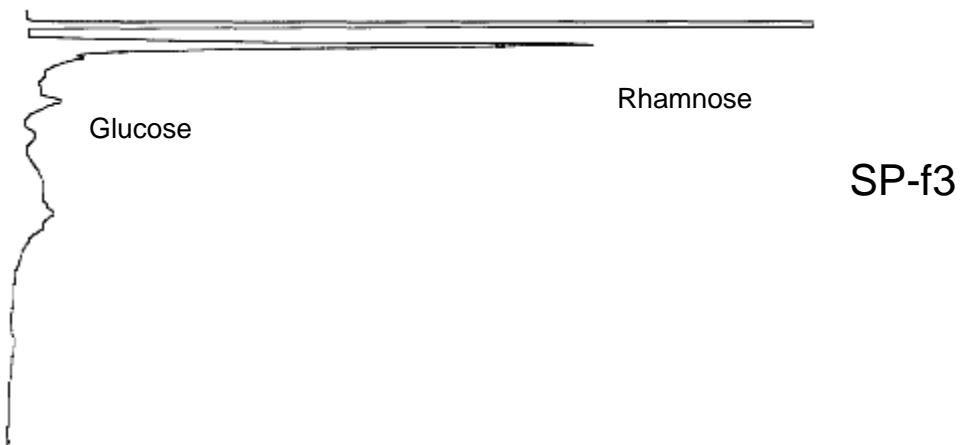
R: ラムノース (rhamnose)

そこで、次にサンプル SP-F3、SP-f3、SP-F4、SP-f4について、高速液体クロマトグラフイー（HPLC）分析を行った。SP-F3とSP-f3のHPLCチャートを次に示す。

サンプル SP-F3 の HPLC チャート



サンプル SP-f3 の HPLC チャート



水熱処理を施していないサンプル SP-f3 には、ラムノースのピークと若干ではあるがグルコースのピークが検出された。ラムノースは - 1で前述したようにバイオゲル P-2 処理したサンプルにおいても同様に検出されている。

水熱処理およびゲルろ過処理を施したサンプル SP-F3 では、ラムノースとラミナリビオースのピークが検出された。今回調製した粉末サンプル SP-F3 の糖組成を検討した結果、80%(w/v)以上が低分子の糖であった。また、その 70%以上がラミナリビオースであった。

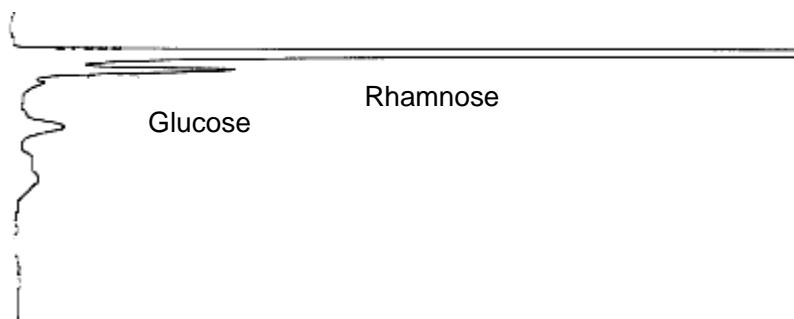
従って、今回行った処理方法は、希少糖であるラミナリビオースを焼酎粕から調製するための方法として期待ができると考えられた。水熱処理後にゲルろ過で低分子のみを分画し、乾燥することにより、もとの水熱処理焼酎粕の水可溶性画分よりもラミナリビオース

がかなり濃縮されたのではないかと推測された。

サンプル SP-F4 とサンプル SP-f4 にはオリゴ糖らしきピークは検出されなかった。これらのサンプルは樹脂吸着成分であり、サンプル SP-F3 やサンプル SP-f3 とは成分が全く異なるのではないかと推測される。TLC 分析ではサンプル SP-F4 とサンプル SP-f4 には発色が見られたが、糖質以外の物質か水熱処理によって糖質から分解や他の成分と反応することによって生成した物質であろうと考えられる。

次に、サンプル SP-F3 を加水分解して構成糖の検出を試みた。その HPLC チャートを以下に示す。

サンプル SP-F3 の加水分解物の HPLC チャート



ラミナリビオースのピークが減少し、構成糖であるグルコースのピークが検出された。しかし、グルコースのピークが余り大きくなかったことから、加水分解の反応条件の検討は今後の課題であると考えられる。

付記 1：専門用語の解説

- 1) TLC: Thin layer chromatography の頭文字をとったもので、オリゴ糖の微量定性分析に適している方法。
- 2) HPLC : High performance liquid chromatography の頭文字をとったもので、オリゴ糖の定性定量分析に適している方法。

第6章 本論 - (5)

6 - 1 研究名称

機能性糖の成分解析と機能性評価（実施内容）

- 抽出された糖の機能性評価 - (実施内容 - 2)

6 - 2 研究目的と概要

水熱反応処理した焼酎粕を濃縮・精製して得られる機能性糖を高濃度に含む試料について、アレルギー抑制効果、抗炎症効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果などの機能性評価および安全性評価を行う。

機能性評価は、細胞実験、試験管反応などにより薩摩酒造および鹿児島大学が行う。

安全性評価は、変異原性試験および細胞毒性試験により鹿児島大学、鹿児島純心女子大学が協力して行う。

6 - 3 研究成果

(1) アレルギー抑制効果

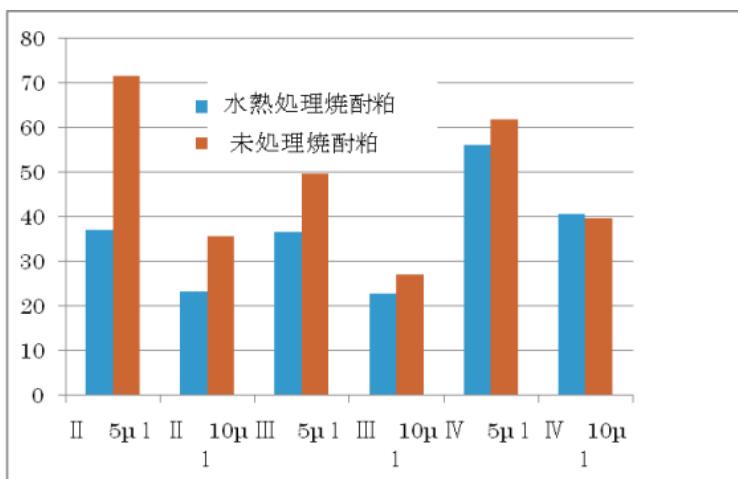
・マスト細胞を用いたアレルギー抑制実験

細胞実験は、第4章（処理焼酎粕の機能性評価）と同様の方法で行い、アレルギー誘導物質である -ヘキソサミニダーゼの放出抑制効果を検討する。

培地に添加する試料は、Sephadex G25 を用いたゲルろ過により分画したものを使用し、水熱処理した焼酎粕と未処理焼酎粕の濃度を統一して同じにして各画分の -ヘキソダミニダーゼ活性の放出抑制効果を比較した。

その結果、著しい差は認められず、水熱反応によって生じているオリゴペプチドの比活性はそれほど変わらないことが示唆された。（下図）

水熱反応によりオリゴ糖が増加するデータが予備実験から得られているので、水熱反応により比活性は変わらないオリゴ糖の総量が増加したものと推定される。



(2) 抗炎症効果

・細胞内在性サイトカインに対する処理焼酎粕の影響

焼酎粕液の SP-207 カラム画分（水熱処理焼酎粕(WF)の SP-F1,SP-F2,SP-F3 および SP-F4 と一般焼酎粕(CF)の SP-f1, SP-f2,SP-f3 および SP-f4）はそれぞれ 0, 2, 4 mg/ml の最終濃度で RAW264.7 細胞に添加した。16 時間の共培養後、培地を回収し、サイトカインの測定に供試した。あるいは、-80° のフリーザーに保管し、後日に測定した。

細胞内在性サイトカインは、24 種類のサイトカインを網羅的に測定できる『サスペンションアレイシステム (Bio-Plex 200)』を用いて同時測定した。

その結果、水熱処理焼酎粕と一般焼酎粕の SP-207 カラム画分とも、23 種類のサイトカインの細胞内在性分泌に対する影響がなかった。これらの結果から処理焼酎粕自身が、細胞炎症性因子を誘発しないことが示唆された。

・誘発性サイトカインに対する処理焼酎粕の作用

細胞は、外来炎症誘発性因子により、サイトカインが過剰に産生され、アレルギーや炎症などを引き起こすことが明らかとなっている。そこで、焼酎粕液の SP-207 カラム画分(水熱処理焼酎粕(WF) の SP-F1,SP-F2,SP-F3 および SP-F4 と一般焼酎粕(CF) の SP-f1, SP-f2,SP-f3 および SP-f4) が外来炎症誘発性因子によるサイトカインの過剰産生を抑制するかどうかを明らかにするため、細菌リポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS) による誘発性サイトカイン分泌に対する作用を調べた。RAW264.7 を培養プレートに播き、24 時間予備培養後、各カラム画分はそれぞれ 0, 2, 4 mg/ml の最終濃度で細胞培地に添加した。30 分培養後、LPS を添加し、さらに 16 時間の共培養を行った。回収した細胞培地を『サスペンションアレイシステム (Bio-Plex 200)』により、23 種類のサイトカインの分泌量を測定した。その結果、焼酎粕液の SP-207 カラム画分 4 (SP-F4(WF4) と SP-f4(CF4) とも) 23 種類中の 19 種類の細菌リポ多糖誘発性サイトカインの分泌に対して、濃度依存的な抑制効果が認められた(表 1、図 1)。また、焼酎粕液の SP-207 カラム画分 3 も画分 4 より弱いながら、リポ多糖誘発性サイトカインの分泌に対する抑制効果が認められた(図 1)。その他では顕著な影響は認められなかった(図 1)。

また、焼酎粕液の SP-207 カラム画分 4 による細菌リポ多糖誘発性サイトカイン分泌の抑制活性は細胞毒性によるものではないことも明らかとなった。

図1. 水熱焼酎粕分画によるリボ多糖誘発性 IL-9 及び IL-12 産生の抑制効果

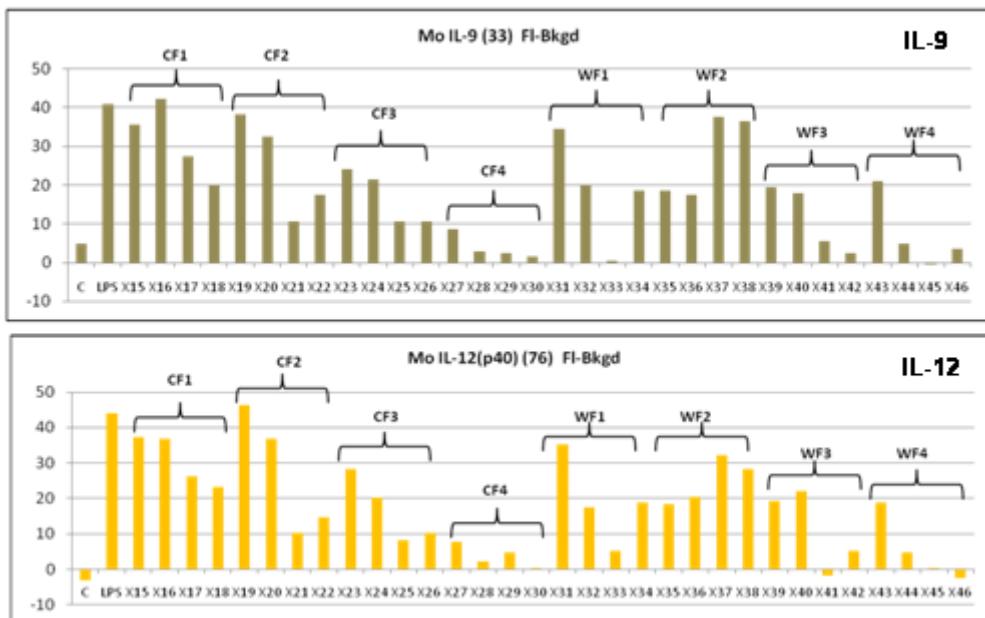


表1. 水熱焼酎粕分画によるリボ多糖誘発性サイトカイン産生の抑制効果

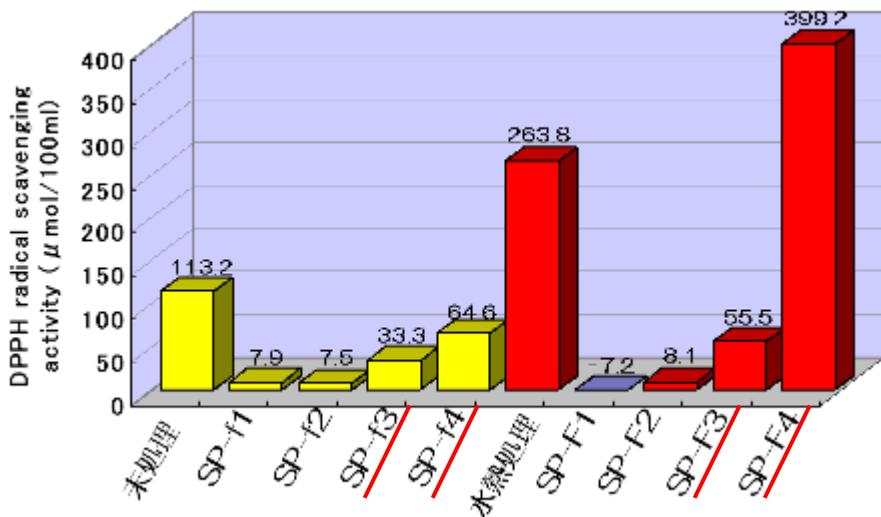
サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用	サイトカイン	効果	サイトカインの主要作用
IL-1 α	↓	炎症性サイトカイン	IL-17	↓	幹中球の遊走、サイトカイン産生
IL-1 β	↓	炎症性サイトカイン	Eotaxin	↓	ケモカイン、幹細胞遊走調節等
IL-2	—	B,T細胞分化、増殖促進&細胞活性化等	G-CSF	↓	幹中球増殖、幹中球減少症治療薬
IL-3	↓	造血幹、B細胞分化促進、 肥満細胞増殖	GM-CSF	↓	造血系細胞の増殖・分化を促進
IL-4	↓	抗炎症性サイトカイン	IFN- γ	↓	炎症性サイトカイン
IL-5	↓	IgM分認亢進、幹細胞増殖分化誘導等	KC	—	ケラチノサイト、皮膚の免疫反応に関与
IL-6	↓	炎症性サイトカイン	MCP-1	↓	走化性の亢進、IL-1、IL-6の産生誘導など
IL-9	↓	ヘルペス-T・胸膜・ 肥満細胞増殖	MIP-1 α	—	炎症性サイトカイン
IL-10	↓	抗炎症性サイトカイン	MIP-1 β	—	血管新生、炎症に関連
IL-12(p40)	↓	IL-12サブユニット 不活性型	RANTES	↓	幹細胞を活性化、急性腎不全の要因
IL-12(p70)	↓	炎症性サイトカイン 活性型	TNF- α	↓	炎症性サイトカイン
IL-13	↓	抗炎症性サイトカイン			マウスマクロファージRAW264.7細胞による活性

(3) 抗酸化活性

• DPPH ラジカル消去能の測定

DPPH 分光測定法で行い、DPPH ラジカル消去能を標準物質 Trolox 相当量として求め、抗酸化活性の測定を行った。その結果、蒸留粕の未処理と水熱処理した液部とその各分画各分

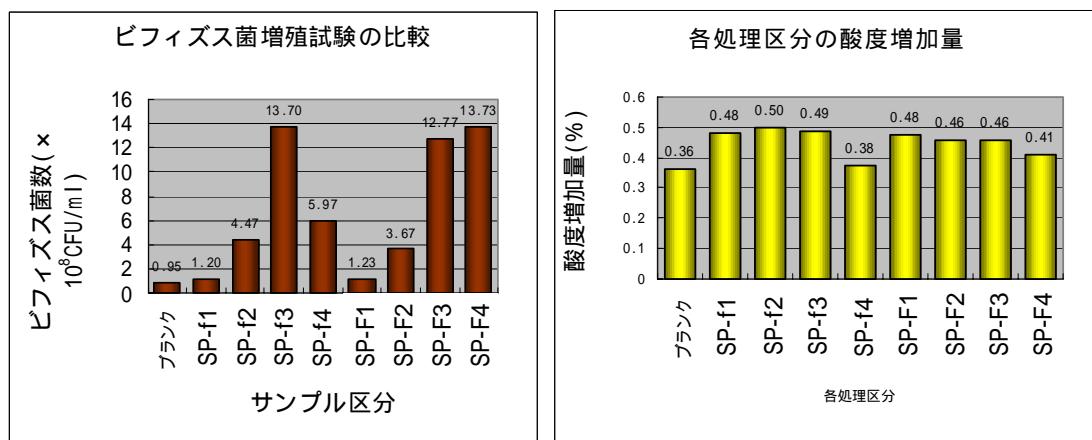
について抗酸化活性を測定した結果、水熱処理することで未処理焼酎粕の約2倍に増加していたことは第4章（処理焼酎粕の機能性評価）で述べたが、各画分の抗酸化活性は、どちらも画分3（未処理SP-f3と水熱SP-F3）と画分4（未処理SP-f4と水熱SP-F4）の部分に多く含まれていた。特に水熱処理したものはSP-F4の画分に高い抗酸化活性が認められた。（下図）



（4）ビフィズス菌増殖効果

本研究で得られた各分画画分を使用し、ビフィズス菌培養試験を行った結果、水プランク（コントロール）に対し、未処理の分画画分SP-f3、水熱処理SP-F3, SP-F4(着色成分)で10倍以上の増殖効果が認められた。特に水熱処理したSP-F4画分には、未処理のSP-f4の2倍の増殖効果が見られた。（下左図）

また、一般的に、ビフィズス菌数は酸度に比例することから、酸度増加量の値を調べることによりビフィズス菌数を推定した。未処理SP-f4、水熱処理SP-F4とも酸度増加量が減少する傾向が見られた。このことは、ビフィズス菌の生産活動を抑制する可能性を示唆している。（下右図）



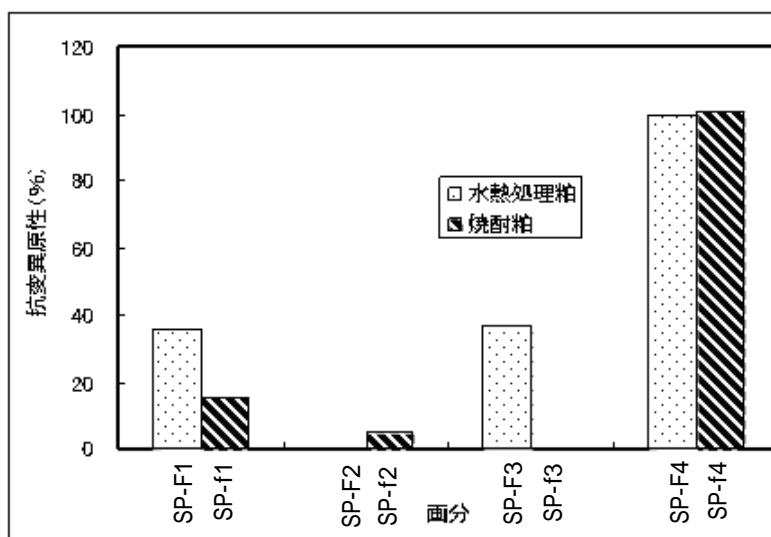
水熱処理を行ったさつまいも発酵液を用いると、処理温度が高くなるに従いビフィズス菌数が増加するにも関わらず、酸度増加量が減少する傾向が見られた。このことは芋焼酎粕の水熱処理が pH 緩衝作用のある成分を分解する、あるいはビフィズス菌の生酸活動を抑制する可能性を示唆している。

(5) 安全性評価

・抗変異原性試験

焼酎粕を分画して得られた SP-f1, SP-f2, SP-f3 および SP-f4 および水熱処理粕を分画して得られた SP-F1, SP-F2, SP-F3 および SP-F4 について抗変異原性を確認した。抗変異原の測定には一般的に行われている *Salmonella typhimurium* TA98 株を用いた Ames test 法により変異原を抑制する効果として測定した。

その結果、下図に示すように、焼酎粕では SP-f3 画分、水熱処理粕では SP-F2 画分には抗変異原性は認められなかった。一方、画分 4(SP-f4, SP-F4)はいずれの試料ともほぼ 100% の抗変異原性を示した。



・細胞毒性試験

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 を用いて画分された焼酎粕の培養細胞に対する毒性の検討を行った。RAW264.7 を培養プレートに播き、24 時間予備培養後、焼酎粕液の SP-207 カラム画分（水熱処理焼酎粕(WF)の SP-F1, SP-F2, SP-F3 および SP-F4 と一般焼酎粕(CF)の SP-f1, SP-f2, SP-f3 および SP-f4、薩摩酒造調製したもの）はそれぞれ 4 つの濃度 (0, 2, 4, 8 mg/ml) で細胞培地に添加して、16 時間の共培養を行った。その結果、4 mg/ml 以下の添加で、16 時間の共培養では細胞毒性が認められなかった。

第7章 全体総括

サツマイモ焼酎粕は、サツマイモと米に麹と酵母を作用させてアルコール発酵させた「もろみ」からアルコール分を加熱蒸留により除いた残り、つまり、もろみからサツマイモ焼酎を得たあの残部のことであり、生産される焼酎の約2倍量产生する。サツマイモ焼酎粕には、サツマイモ由来の成分や、発酵に利用される米由来物質に加え、麹菌と酵母という2種類の微生物による複雑な代謝を経ることで生産された多様かつ高機能な物質が含まれている。多くの機能性物質は、焼酎粕中に多量に残存しているが、その活用については、農業用肥料や家畜飼料などの付加価値が高いとは言い難い活用が主体であり、もろみ飲料などの食品に利用されている例は僅少である。

そこで、より付加価値の高い活用方法として、薩摩酒造株式会社では健康食品分野への応用を考え、サツマイモ焼酎粕を用いた乳酸菌飲料や、サツマイモ焼酎粕を用いた従来のビフィズス菌飲料の10倍の菌数を含む高機能ビフィズス菌飲料に関する研究開発を行い、サツマイモ焼酎粕を活用した乳飲料が製造可能であること、その飲料がアレルギー抑制効果、抗腫瘍効果など多くの機能を持つことを実証してきた。これらの研究を経て、サツマイモ焼酎粕の機能性は、サツマイモ焼酎粕中に多種・多量に含まれる機能性糖成分に由来しているという可能性に辿り着いた。

一方で、中小健康食品製造業者が、不況の最中も好調なオリゴ糖商品を比較的安価で製造・販売することが困難な現状を知り、サツマイモ焼酎粕から機能性糖を抽出し、健康食品業界へ提供することを考え、本事業に至った。

本事業は、オリゴ糖をはじめとする機能性糖をサツマイモ焼酎粕から効率的に抽出する技術について研究開発を行い、次年度以降、利用しやすい価格の健康食材としての実用化を目指し、実施した。

その結果、サツマイモ焼酎粕由来の機能性糖は焼酎粕を固部と液部とに分離した液部から抽出するが、分離前の焼酎粕に水熱反応処理や酵素処理を行うことで、固体（不溶）部の纖維成分から機能性を持つオリゴ糖などを加水分解作用により液部に可溶化させ、オリゴ糖など機能性糖の增量を図ることが出来た。そのために、より効率的な製造プロセスや水熱反応処理条件の検討を行い、適当なプロセス・水熱処理の温度、酵素条件を設定した。さらに機能性糖成分の効率的分離方法の検討と、濃縮・精製について検討した。また、水熱反応処理や酵素処理を行ったサツマイモ焼酎粕及び処理焼酎粕から分離された各成分について、マウス動物実験や細胞実験、抗変異原性試験などによりアレルギー抑制効果、抗炎症効果、肥満抑制効果、抗酸化活性、ビフィズス菌増殖効果等の機能性評価および安全性評価を行い、アレルギー抑制効果以外、全て機能性が増加していることを明らかにした。この中で、肥満抑制効果と抗炎症効果、抗酸化活性（従来と比べ3倍程度）は特筆すべきデータと考える。これらの結果は今後、健康食品や食材に道を開くものと考える。この結果をもとに本事業のメンバーで協力し、引き続き商品化試験と市場展開を行う予定である。