

氏名	大友理宣
学位(専攻分野の名称)	博士(生物産業学)
学位記番号	乙第939号
学位授与の日付	平成31年3月17日
学位論文題目	<b>米糠を用いた機能性発酵素材の開発</b>
論文審査委員	主査 教授・農学博士 戸枝一喜 教授・博士(農学) 妙田貴生 准教授・博士(醸造学) 門倉利守 博士(学術) 島 恵 司*

## 論文内容の要旨

近年、食生活の欧米化による消費者の食に対する変化や高齢化社会による健康に関する意識が高まっている。この背景は清酒業界にも影響し、生産量が最大期の20%程度まで激減し、消費者の飲酒スタイルが量から質に変化している。これは、日本の伝統産業である国酒の清酒製造業にとって深刻な問題である。しかし、清酒製造業は、既存の醸造設備や発酵技術を保有していることから、今後、新たな発酵製品などの開発は可能と考えられる。また、国民の主食である米の消費者量および生産量も減少傾向を推移している。しかしながら、国内米生産量は約750万トン(平成28年度)もあり、その米を使用する場合には必ず米糠が発生する。また、生活スタイルの変化や利便性による無洗米も急速に増えているが、無洗米粕が発生している。これらの大量発生する精米副産物は、豊富な栄養素などを含んでいるが産業的に有効利用されていない。

本論文では、低利用の精米副産物である米糠や無洗米粕を原料に用いた乳酸菌発酵によるGABA生成に関する報告が少ないことから、日本国内で大量に発生している精米副産物の米糠または無洗米粕の有効利用を目的とし、かつ酒蔵の醸造設備や発酵技術を活用した乳酸菌による効率的なGABA含有発酵素材の開発および機能性評価の解明による実用化に関してまとめたものである。

## 第2章 米糠を用いた乳酸菌による米糠発酵素材の生産法

本章では、精米副産物の米糠または無洗米粕を発酵原料に用いた現有醸造設備による効率的なGABA生産法の確立および実用化について研究をした。米糠(あきたこまち、めんこいな、秋田酒こまち)を唯一の栄養源とした米糠混合液(酵素未処理)を用いた *L. brevis* IFO12005 乳酸菌の培養では、米糠重量に対して8%(w/w)の添加MSGから90%以上の変換率でGABAを生産することを確認した。しかし、米糠混合液中の栄養源不足が原因でMSG濃度8%以上ではGABAの変換効率が低下した。そこで、複合酵素剤で米糠混合液を

\*秋田県総合食品研究センター 上席研究員

処理したところ、乳酸菌の栄養源となるアミノ酸や糖分を確保しながら GABA を高生産で  
きることを見出した。なお、RB 培地中の水の配合量が多いと GABA 変換速度も早いこと、  
さらに、MSG 添加量も 16% にすることで、高収量での GABA 生産に成功した。30L ジャ  
ー培養装置による RB 培地 20kg スケールの培養により GABA が 1.4% (w/w) 生産された。  
培養液の固液分離によって 1.0% (w/w) 以上の GABA 含有米糠発酵素材の液体、固体の生産  
法を確立し、実用化した。無洗米粕 (NWRL) では、米糠同様に NWRL 配合液の酵素処理に  
よって GABA 生産性に優れた NWRL 培地を開発し、乳酸菌培養による 1.6% (w/w) の GABA  
生産法を確立した。さらに、米糠または無洗米粕を原料に用いて開発した乳酸発酵培地は、  
合成培地よりも菌体増殖に優れた培地であることから GABA の高生産法を検討した。RB  
培地の米糠配合量 12.0% とし、乳酸発酵を pH5.0 で制御することで 7.1% (w/w) の GABA  
生成に成功した。本製法はすでに実用化され、GABA 発酵生産では、最も高濃度に GABA  
を生産する新製法となった。実用化した GABA 含有米糠発酵素材の応用を検討するため、  
同素材の米飯、パン、うどんに対する加工適性を検証した。その結果、炊飯およびパン焼成  
工程等における GABA の減少は少なく、官能評価において風味にも影響が少ないことが判  
明した。

### 第 3 章 米糠発酵素材の食品・ペットフード用に向けた機能性の評価

本章では、米糠発酵素材の機能性を探るため、細胞や小動物による脂質異常抑制作用など  
の機能性評価試験および遺伝子メカニズムの解明をまとめた。米糠発酵素材を 2% (w/w) 配  
合した高脂肪食 HFD を雄性 SD ラットに給与したところ、血中中性脂肪値およびコレステ  
ロール値に有意な正常化作用 (いずれも  $p < 0.05$ )、および肝臓重量、腸管膜周囲脂肪重量なら  
びに精巣周囲脂肪重量の顕著な増加抑制 ( $p < 0.05$ ) が確認できた。以上から、米糠発酵素材  
には、高脂肪食負荷ラットにおける肝臓および脂肪組織に対する脂肪蓄積低減作用、血中脂  
質値 (中性脂肪およびコレステロール値) の正常化作用を有することを見出した。そこで、米  
糠発酵素材の高脂肪食負荷ラットに対する臓器脂肪蓄積抑制作用および血中中性脂肪値正  
常化作用に関する遺伝子メカニズムの解明を目的として、ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞  
による脂質代謝の影響について検証した。その結果、HepG2 細胞に対して米糠発酵素材を  
1.0 mg/mL 以上添加することで、中性脂肪およびコレステロールの分泌促進を濃度依存的  
に有意に抑制 ( $p < 0.01$ ) することが判明した。また、HepG2 細胞にオレイン酸を負荷する  
ことで VLDL および LDL 中性脂肪が濃度上昇するのに対し、米糠発酵素材添加区では  
VLDL および LDL の上昇抑制をリポタンパク質プロファイルで確認した。さらに、米糠発  
酵素材は、細胞中の脂質生成酵素およびコレステロール酵素の発現抑制をすることで  
HepG2 ヒト肝癌細胞からの脂質合成および分泌の減衰を見出した。次に、小腸上皮細胞を  
分化させたヒト結腸癌由来 Caco2 細胞における米糠発酵素材の脂質吸収抑制作用を検証し

た。その結果、Caco2 細胞に対して米糠発酵素材添加 1.0 mg/mL 以上で、中性脂肪およびコレステロールの分泌促進を濃度依存的に抑制 ( $p < 0.01$ ) することを確認した。また、Caco2 細胞にオレイン酸を負荷することで CM, VLDL および LDL 中性脂肪濃度が上昇するのに対し、米糠発酵素材添加区では CM, VLDL および LDL の上昇抑制をリポタンパク質プロファイルで確認した。さらに、米糠発酵素材は、Caco2 ヒト大腸癌細胞中の脂質生成酵素およびコレステロール酵素の発現によって、脂質合成および分泌の上昇抑制をした。また、ヒト以外に対する GABA 含有素材の波及を図るため、ペットフード産業に利用可能な研究を試みた。そこで、一般家庭の飼育犬 ( $n=54$ ) を対象とした米糠発酵素材配合サプリメントによるモニター調査、解析をした。犬の腹囲は、開始前に比べ 4 週～8 週間後に有意な減少 ( $p < 0.05$ ) を確認したが、体重は有意差を確認できなかった。また、腹囲の減少効果は、7 歳未満の年齢が若い個体において明瞭であることが判明した。以上の結果から、米糠発酵素材はヒト以外にも機能性素材として多目的用途に利用可能であることが判明した。

本研究の結果より、精米副産物である米糠または無洗米粕を原料に用いた発酵培地の開発、および乳酸菌発酵による効率的な GABA 生産法を確立した。これは、精米副産物の有効利用および醸造設備・発酵技術の有効活用にも考慮した機能性発酵素材の開発としての新規性があるため、特許出願により権利化した。また、米糠発酵素材の各機能性検証による脂質異常正常化作用および遺伝子メカニズム解明などの知見を得られたことは、実用化製品の販売において重要な役割を担う。さらに、犬に関する知見を得たことで、ペットフード産業での利用も期待できる。本研究素材は、食品、健康食品およびペットフード産業において、各用途に適応した多目的な利用が可能な素材である。さらに、各商品に本素材を微量配合することで機能性効果が付与され、商品の付加価値化に貢献できる。

## 審査報告概要

精米副産物である米糠は、豊富な栄養素などを含んでいるが産業的に有効利用されていない。本研究では、大量に発生している米糠の有効利用を目的とし、かつ酒蔵の醸造設備や発酵技術を活用した乳酸菌による効率的な GABA 含有発酵素材の開発および機能性評価の解明による実用化に関して検討した。米糠を用いて *Lactobacillus brevis* IFO12005 による乳酸発酵による GABA の効率的な生産法を検討した結果、米糠の複合酵素処理による米糠培地 (RB 培地) を開発し、培養条件の最適化により GABA を 7.1% 生産する新規生産法を開発した。得られた GABA を含む米糠発酵素材は、高脂肪食負荷ラットにおける肝臓および脂肪組織に対する脂肪蓄積低減作用、血中脂質値の正常化作用を有しており、その活性成分と

してフィチン酸やフェルラ酸を見出した。更に脂質異常正常化作用の遺伝子メカニズムも解明した。これらの研究成果は、米糠発酵素材製造や加工食品、ペットフードに利用されており、学術的および産業学的意義は高いと評価される。これらの研究成果等を詳細に検討した結果、審査員一同は博士（生物産業学）の学位を授与する価値があると判断した。