

Original article

Comparison of α -dicarbonyl compound contents in alcoholic beverages.

Tatsushi Kimoto, Wakako Takabe, Masayuki Yagi, Mari Ogura, Yoshikazu Yonei

Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences,
Doshisha University, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 152-161
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

アルコール飲料に含まれる α -ジカルボニル化合物の比較

木本達士、高部稚子、八木雅之、小椋真理、米井嘉一

同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター

抄録

【目的】 糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs) が生成する過程において、 α -ジカルボニル化合物 (α -dicarbonyl compounds: α -DCs) は糖化反応の中間体 (intermediate for AGEs) となる。本研究では、アルコール飲料に含まれる α -DCsとして、3-デオキシグルコソシオン (3-deoxyglucosone: 3-DG)、グリオキサール (glyoxal: GO)、メチルグリオキサール (methylglyoxal: MGO) 量を測定した。

【方法】 試料には市販のアルコール飲料30品目 (醸造酒18品目：日本酒、ビール、赤ワイン、白ワイン、シェリー酒、蒸留酒15品目：ウイスキー、焼酎、ジン、ウォッカ、ラム) を用いた。各試料中の糖化反応中間体は2,3-diaminonaphthalene (DAN) にて標識し、逆相HPLC (reversed phase high performance liquid chromatography) にて測定した。

【結果】 アルコール飲料中の3-DG、GO濃度は醸造酒が蒸留酒と比べて高値であった。3-DG濃度は醸造酒においてビール ($1,048.7 \pm 120.6 \mu\text{g/mL}$)、白ワイン ($216.7 \pm 98.5 \mu\text{g/mL}$)、赤ワイン ($177.0 \pm 59.8 \mu\text{g/mL}$)、シェリー酒 ($107.3 \pm 7.6 \mu\text{g/mL}$)、日本酒 ($51.0 \pm 44.8 \mu\text{g/mL}$) の順に高値であった。蒸留酒の3-DG濃度は $4.8 \pm 13.8 \mu\text{g/mL}$ であった。醸造酒のGO濃度はシェリー酒 ($6.5 \pm 3.2 \mu\text{g/mL}$)、ビール ($4.5 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$)、赤ワイン ($3.3 \pm 0.7 \mu\text{g/mL}$)、白ワイン ($2.7 \pm 1.9 \mu\text{g/mL}$)、日本酒 ($0.9 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$) の順に高値であった。蒸留酒のGO濃度は $1.2 \pm 1.8 \mu\text{g/mL}$ であった。醸造酒の中では日本酒の α -DCs濃度が低値であった。

連絡先：教授 八木雅之
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・
糖化ストレス研究センター
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL & FAX : 0774-65-6394 e-mail : myagi@mail.doshisha.ac.jp
共著者：木本達士 ta.chan027@gmail.com; 高部稚子 wtakabe@mail.doshisha.ac.jp;
小椋真理 m-ogura@po.kbu.ac.jp; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 152-161
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

【結論】 アルコール飲料には α -DCsである3-DG、GO、MGOが含まれた。アルコール飲料のなかでは蒸留酒が α -DCs含有量が少ないことが示された。醸造酒においては日本酒の3-DG、GO含有量が少ないことが示された。糖化ストレスの負荷が少ないアルコール飲料は蒸留酒あるいは醸造酒であれば日本酒である可能性があった。但し、摂取量は適量を厳守すべきである。

KEY WORDS: 糖化最終生成物、3-デオキシグルコソン、グリオキサール、メチルグリオキサール、日本酒

緒言

生体内の糖化反応は還元糖と蛋白が非可逆的に反応することにより起こる。糖化反応はアマドリ化合物の脱水・加水分解、炭素間の開裂により、糖化反応中間体である α -ジカルボニル化合物 (α -dicarbonyl compounds: α -DCs) を生成する。生体内の α -DCsには2つのカルボニル結合 (C=O) を持つグリオキサール (glyoxal: GO)、メチルグリオキサール (methylglyoxal: MGO)、3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone: 3-DG) がある (Fig. 1)。 α -DCs は加熱や紫外線暴露によりアミノ酸と反応して、ストレスカー分解を起こし、二酸化炭素、アルデヒド、ピラジン、カルボニル化蛋白を生成する^{1,2)}。これらの化合物は糖化反応中間体となると共に、構造的にアルデヒド基 (-CHO) 有するため、生体内アルデヒドとして位置付けられる。生体内アルデヒドは生体内の糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs) の生成に関与する³⁾。AGEs の生体組織への蓄積は蛋白に機能低下を及ぼす要因となり、糖尿病や骨粗鬆症等の発症に関与することが報告されている⁴⁾。

食品にはエネルギー源、嗜好性、生体調整に関わる3つの機能がある。生体調節に関わる機能が強い食品は機能性食品と呼ばれている。近年、機能性食品には糖化反応の抑

制に作用する様々な素材が開発されている^{5,6)}。これらの中には発酵食品がある。発酵食品は食材を微生物等の作用で発酵させることにより加工した食品である。発酵食品のひとつである日本酒は、原料米を精米した後に、麴菌と酵母を添加して発酵させた食品である。日本酒には既に高血圧防止、骨粗鬆症の予防、コレステロールの吸収抑制、抗酸化作用などの機能性が報告されている⁷⁾。日本の諺には「酒は百薬の長」があり、適量であれば利点があると伝えられている。日本酒の機能性成分の同定やその作用メカニズムについては数多く報告されている^{8,9)}。一方、アルコール飲料は摂取量が増えると様々な臓器障害を惹起する¹⁰⁾。現在、アルコール飲料に含まれる α -DCsに関する報告は少ない^{11,12)}。本研究では、アルコール飲料に含まれる α -DCs量を測定し、アルコール飲料の分類別に含有量を比較したので報告する。

試料と方法

試料

試料のアルコール飲料は京都市内の酒店で33品目を購入して使用した。購入したアルコール飲料は醸造酒18品目 (日本酒6品目、ビール3品目、赤ワイン3品目、白ワイン3品目、シェリー酒3品目)、蒸留酒15品目 (ウイスキー3品目、焼酎3品目、ジン3品目、ウォッカ3品目、ラム3品目) に分類した (Table 1)。

固形分濃度の測定

試料の固形分濃度 (mg/mL) は試料5 mLをアルミトレイに添加し、120°C、2時間乾燥前後の重量を測定し、その変化値から算出した。

糖度の測定

試料の糖度はポケット糖度計 PL-1 (アタゴ、東京都港区) を用いて測定した。

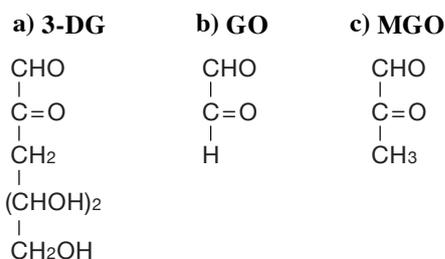


Fig. 1. Structures of α -DCs; 3-DG, GO and MGO.

a) 3-deoxyglucosone (3-DG); MW, 162.14 g/mol; density, 1.406 g/mL. **b)** Glyoxal (GO); MW, 58.04 g/mol; density, 1.270 g/mL. **c)** Methylglyoxal (MGO); MW, 72.06 g/mol; density, 1.046 g/mL. α -DCs, α -dicarbonyl compounds; MW, molecular weight.

Table 1. The sample list of alcoholic beverages

ID	Liquor type	Classification	Sample name	Product name	Manufacturer	Alcohol percentage	Solid content (mg/mL)	Sugar content (%)
S5	Japanese sake (Seishu)	Brewages	Seishu A	Konteki (Jozo type)	Higashiyama Shuzo (Kyoto, Japan)	16%	46.2	10.6
S7			Seishu B	Hana no Izanai (Ginjo type)	Shoutoku Shuzo (Kyoto, Japan)	12%	28.0	7.5
S7s			Seishu C	Hana no Izanai (Summer limited edition) (Ginjo type)	Shoutoku Shuzo (Kyoto, Japan)	12%	33.0	8.3
S8			Seishu D	Densho Yamahai Shikomi Tamanohikari (Ginjo type)	Tamanohikari Shuzo (Kyoto, Japan)	16%	45.5	10.9
S11			Seishu E	Tomiou Tanshu Yamada-nishiki (Ginjo type)	Kitagawa Honke (Kyoto, Japan)	15%	47.6	10.9
S15			Seishu F	Eikun Koto Sen-nen (Ginjo type)	Saito Shuzo (Kyoto, Japan)	15%	52.3	11.0
B1	Beer	Brewages	Beer A	Ichiban Shibori	Kirin Brewery (Tokyo, Japan)	5%	167.1	6.4
B2			Beer B	Super Dry	Asahi Breweries (Tokyo, Japan)	5%	161.5	6.2
B3			Beer C	Black Label	Sapporo Breweries (Tokyo, Japan)	5%	168.9	6.2
WR1	Red wine	Brewages	Red wine A	World Selection	Mercian (Tokyo, Japan)	12%	121.5	7.0
WR2			Red wine B	Vina Maipo Cabernet Sauvignon	Vina Maipo (Santiago, Chile)	12%	136.1	7.6
WR3			Red wine C	Aires Andinos	Bodegas La Rosa (Mendoza, Argentina)	12%	128.0	7.5
WW1	White wine	Brewages	White wine A	Tree Bear	Lion (Sydney, Australia)	13%	143.9	7.7
WW2			White wine B	Miramonte	Miramonte Sauvignon Blanc-Semillon (Valle Central, Chile)	12%	92.0	6.9
WW3			White wine C	Grande Polaire Okayama Muscatbailey	Sapporo Breweries (Tokyo, Japan)	11%	241.8	9.1
WS1	Sherry	Brewages	Sherry A	González Tio Pepe	González Byass (Jerez de la Frontera, Spain)	15%	54.6	7.2
WS2			Sherry B	Manzanilla La Sanluquena	Bodegas Teresa Rivero (Sanlúcar de Barrameda, Spain)	15%	68.3	7.6
WS3			Sherry C	Sandeman Fino	Sandeman (Jerez de la Frontera, Spain)	15%	66.7	7.4
W1	Whisky	Brewages	Whisky A	Suntory Yamazaki	Suntory (Osaka, Japan)	40%	3.5	15.1
W2			Whisky B	Chita	Suntory (Osaka, Japan)	43%	2.9	15.8
W3			Whisky C	Jack Daniel's	Jack Daniel's (Lynchburg, USA)	40%	5.2	15.1
J1	Shochu	Brewages	Potato shochu	Kuro Kirishima	Kirishima Shuzo (Miyazaki, Japan)	25%	0.2	10.0
J2			Barley shochu	Iichiko	Sanwa Shurui (Oita, Japan)	20%	0.2	7.8
J3			Rice shochu	Chonma	Hakutaka (Nada, Hyogo, Japan)	25%	0.1	9.9

G1			Gin A	Beefeater	Beefeater (London, UK)	47%	0.0	16.4
G2	Gin	Distilled spirits	Gin B	Dry Gin	Suntory (Osaka, Japan)	40%	0.0	14.8
G3			Gin C	Wilkinson	Nikka Whisky (Yoichi, Hokkaido, Japan)	37%	0.1	14.0
V1			Vodka A	Skyy	Skyy Spirits (San Francisco, USA)	40%	0.0	14.7
V2	Vodka		Vodka B	Suntory Vodka	Suntory (Osaka, Japan)	40%	0.0	14.6
V3			Vodka C	Wilkinson	Nikka Whisky (Yoichi, Hokkaido)	40%	0.4	14.7
R1			Rum A	Myers's Rum	Sazerac (Metairie, USA)	40%	13.9	14.9
R2	Rum		Rum B	Dover White	Dover (Tokyo, Japan)	45%	0.5	15.7
R3			Rum C	Dover 45	Dover (Tokyo, Japan)	45%	7.4	15.8

Table 2. HPLC condition.

Column: Unison UK-Phenyl, 75 × 3 mm I.D. (Imtakt, Kyoto, Japan)
 Eluent: A: 2.5 mmol/L phosphate, B: acetonitrile
 Gradient: 0-30 min (0-10% B), 30-42 min (10% B), 42-47 min (10-70% B)
 Detector: Excitation: 271 nm, Emission: 503 nm
 Flow rate: 1.0 mL/min
 Column temperature: 40°C
 Injection volume: 20 µL

アルコール飲料中のジカルボニル化合物 (α -DCs) 測定

アルコール飲料中の α -DCsは3-DG、GO、MGO濃度を既報¹³⁾に従って測定した。すなわち試料の前処理は、各試料100 µL、精製水155 µL、200 mmol/Lリン酸緩衝液75 µLを添加後、さらに6%過塩素酸170 µLを添加し、15,000 rpm、10分間にて遠心分離した。 α -DCsの2,3-diaminonaphthalene (DAN) 標識化には、遠心分離後の上清400 µLと飽和炭酸水素ナトリウム溶液350 µLを混合した後、1 mg/mL DANの50%メタノール溶液50 µLを添加し、4°C、22時間反応させた。標識化後の反応液は4°C、15,000 rpm、10分間遠心分離し、その上清をHPLC測定試料溶液とした。HPLCによる3-DG、GO、MGOの分析条件はTable 2に示した。

統計解析

測定は各試料3回実施し (n = 3)、結果を平均値 ± 標準偏差で示した。測定値の統計学的解析は2群間の比較にt検定、3群以上の比較にTukey-Kramer多重比較検定を

行った。有意水準は、両側検定で危険率5%未満を有意差ありとした。

結果

1. 固形分濃度と糖度

試料に用いたアルコール飲料の固形成分濃度と糖度をTable 1に示した。アルコール飲料の固形分濃度は醸造酒 (100.2 ± 60.6 mg/mL, n = 18) が蒸留酒 (2.3 ± 3.9 mg/mL, n = 15) よりも43.7倍高値であった (p < 0.001)。醸造酒の固形分濃度はビール (165.8 ± 3.9 mg/mL, n = 3)、白ワイン (159.2 ± 76.1 mg/mL, n = 3)、赤ワイン (128.5 ± 7.3 mg/mL, n = 3)、シェリー酒 (63.2 ± 7.5 mg/mL, n = 3)、日本酒 (42.9 ± 9.4 mg/mL, n = 6) の順に高値であった。蒸留酒の固形分濃度はラム (7.3 ± 6.7 mg/mL, n = 3)、ウイスキー (3.9 ± 1.2 mg/mL, n = 3)、焼酎 (0.2 ± 0.1 mg/mL, n = 3)、ジン (0.1 ± 0.2 mg/mL, n = 3)、ウォッカ (0.03 ± 0.1 mg/mL) の順に高値であった。

アルコール飲料の糖度は蒸留酒 ($14.0 \pm 2.6\%$) が醸造酒 ($8.1 \pm 1.7\%$, $n = 18$) に比べて1.7倍高値であった ($p < 0.001$)。醸造酒の糖度は日本酒 ($9.9 \pm 1.6\%$, $n = 6$)、白ワイン ($7.9 \pm 1.1\%$, $n = 3$)、赤ワイン ($7.4 \pm 0.3\%$, $n = 3$)、シェリー酒 ($7.4 \pm 0.2\%$, $n = 3$)、ビール ($6.3 \pm 0.1\%$, $n = 3$) の順に高値であった。蒸留酒の糖度はウイスキー ($15.3 \pm 0.4\%$, $n = 3$)、ラム ($15.5 \pm 0.5\%$, $n = 3$)、ジン ($15.1 \pm 1.2 \text{ mg/mL}$, $n = 3$)、ウォッカ ($14.7 \pm 0.1\%$, $n = 3$)、焼酎 ($9.2 \pm 1.2\%$, $n = 3$) の順に高値であった。

2. アルコール飲料中の3-DG濃度

アルコール飲料中の3-DG濃度は試料ごとの値に違いが見られたものの、平均値で醸造酒 ($275.3 \pm 366.7 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 18$) が蒸留酒 ($4.8 \pm 13.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 15$) よりも57.8倍高値であった ($p < 0.001$, Fig. 2)。醸造酒中の3-DG濃度はビール ($1,048.7 \pm 120.6 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、白ワイン ($216.7 \pm 98.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、赤ワイン ($177.0 \pm 59.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、シェリー酒 ($107.3 \pm 7.6 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、日本酒 ($51.0 \pm 44.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 6$) の順に高値であった。蒸留酒の3-DG濃度はラム ($19.4 \pm 30.1 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ウイスキー ($4.2 \pm 2.1 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、焼酎 ($0.2 \pm 0.3 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$) に高値であった。しかし3-DGはジンとウォッカに認められなかった。

3. アルコール飲料中のGO濃度

アルコール飲料中のGO濃度は3-DG濃度と比べて低値であり、平均値で醸造酒 ($3.1 \pm 2.4 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 18$) が蒸留酒 ($1.2 \pm 1.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 15$) よりも2.7倍高値であった ($p < 0.05$, Fig. 3)。醸造酒中のGO濃度はシェリー酒 ($6.5 \pm 3.2 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ビール ($4.5 \pm 0.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、赤ワイン ($3.3 \pm 0.7 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、白ワイン ($2.7 \pm 1.9 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、日本酒 ($0.9 \pm 0.3 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 6$) の順に高値であった。蒸留酒の3-DG濃度はウイスキー ($3.4 \pm 1.3 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ラム ($2.4 \pm 2.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$) に認められ、焼酎に僅かに認められ、ジンとウォッカに認められなかった。

4. アルコール飲料中のMGO濃度

アルコール飲料中のMGO濃度はGO濃度と同様に、3-DG濃度と比べて低値であり、平均値で醸造酒 ($3.7 \pm 2.9 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 18$)、蒸留酒 ($2.0 \pm 3.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 15$) であったが、両群に有意な違いが認められなかった ($p = 0.138$, Fig. 4)。醸造酒中のMGO濃度は白ワイン ($6.7 \pm 3.8 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、赤ワイン ($5.8 \pm 0.3 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、シェリー酒 ($4.9 \pm 2.6 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ビール ($2.6 \pm 0.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、日本酒 ($1.0 \pm 0.4 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 6$) の順に高値であった。蒸留酒のMGO濃度はウイスキー ($8.2 \pm 2.9 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ラム ($1.3 \pm 1.5 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$) に認められた。しかしMGOは焼酎 ($0.2 \pm 0.0 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$)、ジン ($0.1 \pm 0.1 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$) とウォッカ ($0.1 \pm 0.1 \text{ }\mu\text{g/mL}$, $n = 3$) に僅かしか認められなかった。

5. アルコール飲料の分類別 α -DCs濃度

試料としたアルコール飲料を10分類し、分類群ごとに3DG、GO、MGO濃度を比較した。3-DG濃度はビールが他の9分類群よりも高値であった ($p < 0.001$, Fig. 5)。また白ワインは日本酒、ウイスキー、焼酎、ジン、ウォッカ、ラムよりも高値であった ($p < 0.001$)。さらに赤ワインはウイスキー、焼酎、ジン、ウォッカ、ラムよりも高値であった ($p < 0.05$)。日本酒は白ワインと比べて低値であった ($p < 0.001$)。

GO濃度はシェリー酒が日本酒、焼酎、ジン、ウォッカ ($p < 0.001$)、ラム ($p < 0.05$) よりも高値であった (Fig. 6)。ビールは日本酒 ($p < 0.001$)、焼酎、ジン、ウォッカ ($p < 0.05$) よりも高値であった。また日本酒はビール、シェリー酒よりも低値であった ($p < 0.001$)。

MGO濃度はウイスキー、白ワイン、赤ワインのそれぞれが、日本酒、焼酎、ジン、ウォッカ、ラムよりも高値であった ($p < 0.05$, Fig. 7)。シェリー酒はウォッカよりも高値であった ($p < 0.05$)。また日本酒は赤ワイン、白ワイン、ウイスキーよりも低値であった ($p < 0.001$)。

考察

1. アルコール飲料の製法と固形分濃度、糖度

一般的に、醸造酒は原料を酵母などでアルコール発酵させた酒類である。また蒸留酒は醸造酒を蒸留した酒類である。固形分濃度は醸造酒が蒸留酒と比較し、43.7倍高値であった ($p < 0.001$)。一方、糖度は醸造酒が蒸留酒と比べて1.7倍低値であった ($p < 0.001$)。醸造酒の固形分は原料を酵母でアルコール発酵させる醸造の過程で生じた糖類や、発酵の過程で原料の穀類から生じる成分に由来すると考えられる。一般的に蒸留酒では原材料酒の蒸留を繰り返すほどアルコール度数が高くなり、原材料由来の糖質が取り除かれ、固形分は減少する。本測定において蒸留酒の糖度が、醸造酒よりも高値に測定された。これは糖度計による糖度測定においてアルコール濃度が影響した可能性がある。糖度計は試料溶液の屈折率から糖濃度を算出する。蒸留酒のアルコール度数は $37.8 \pm 0.08\%$ ($n = 15$) であり、醸造酒の $12.1 \pm 0.04\%$ ($n = 18$) と比べて3.1倍高濃度であった。また全試料のアルコール度数と糖度測定値には正の相関性が認められた ($y = 24.245x + 4.999$, $r = 0.958$, $n = 33$)。

2. 日本酒のアルデヒド含有量

日本酒のアセトアルデヒド含有量についてはいくつか報告がある^{11,12})。日本酒に含まれるアセトアルデヒドは醸造過程で生成するエタノールが酸化して生成する。すなわちアルコールは酸化反応により逐次、エタノール→アセトアルデヒド→酢酸へと変化する。アルデヒドの含有量は日本酒の種類によって $30 \sim 110 \text{ }\mu\text{L/mL}$ と3倍以上の差異が

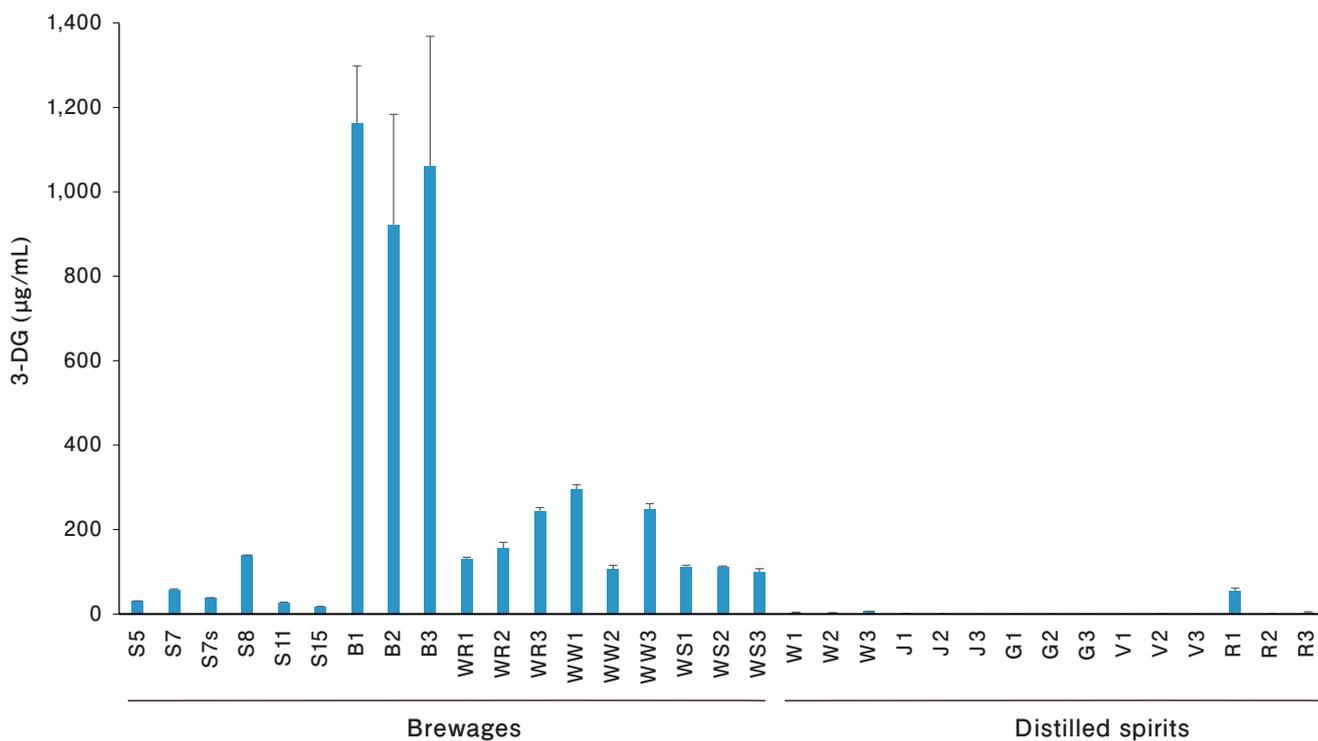


Fig.2. 3-DG content in alcoholic beverage.

Results are expressed as mean ± standard deviation in the triplet measurement. 3-DG, 3-deoxyglucosone.

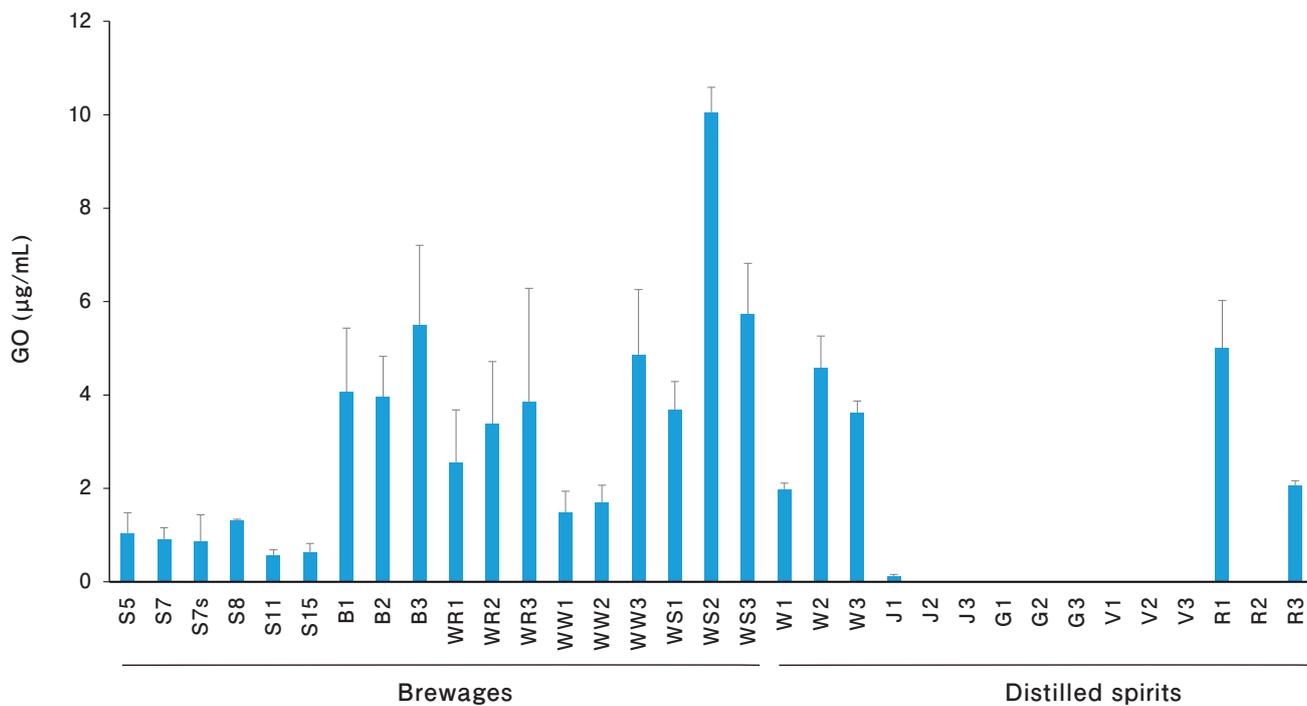


Fig.3. GO content in alcoholic beverage.

Results are expressed as mean ± standard deviation in the triplet measurement. GO, glyoxal.

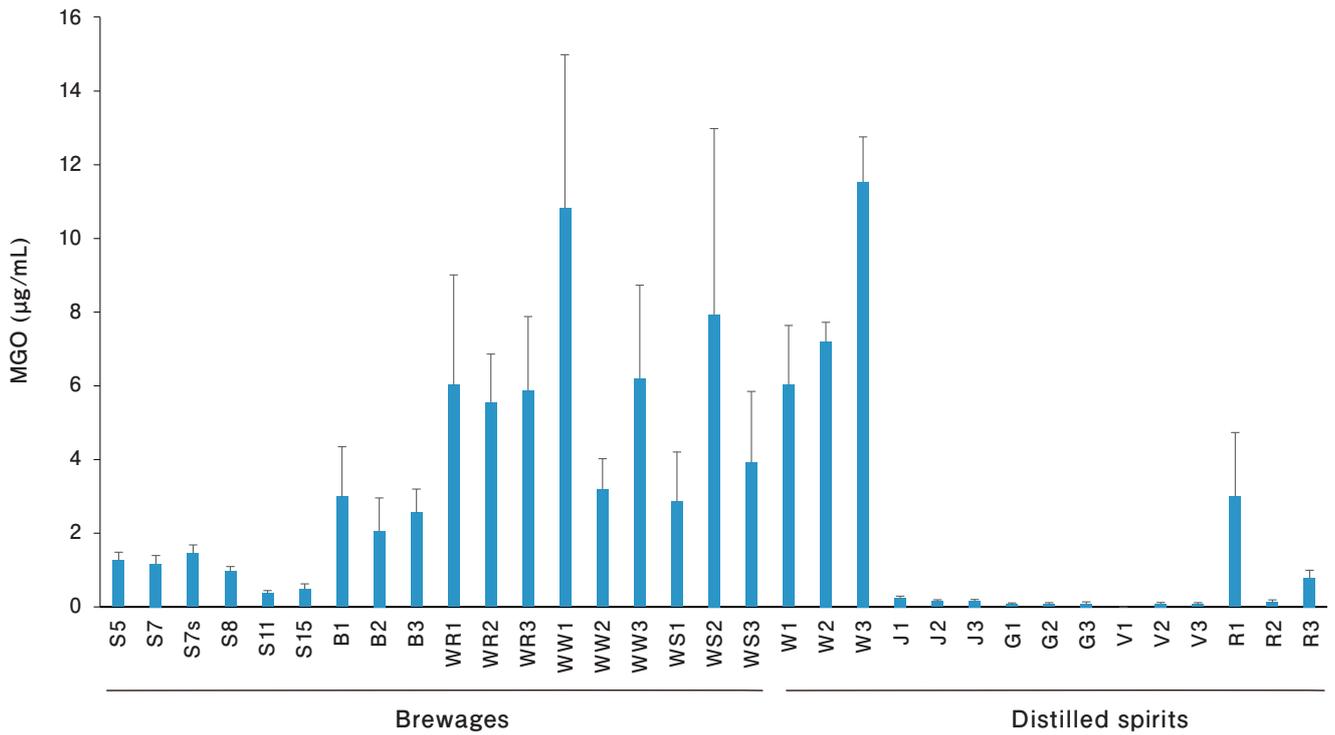


Fig. 4. MGO content in alcoholic beverage.

Results are expressed as mean \pm standard deviation in the triplet measurement. MGO, methylglyoxal.

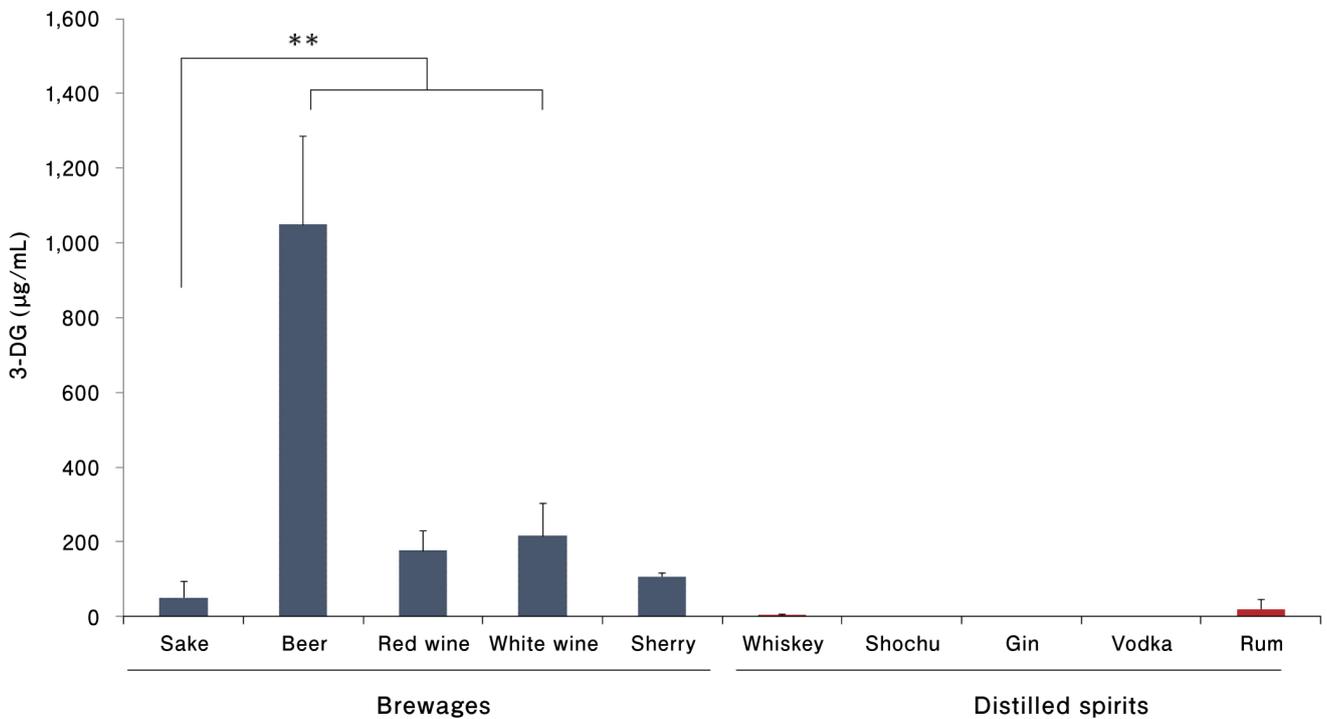


Fig. 5. Comparison of 3-DG content by a type of alcoholic beverage.

Results are expressed as mean \pm standard deviation, ** $p < 0.01$ by Tukey-Kramer test, $n = 3$ each except sake ($n = 6$). 3-DG, 3-deoxyglucosone.

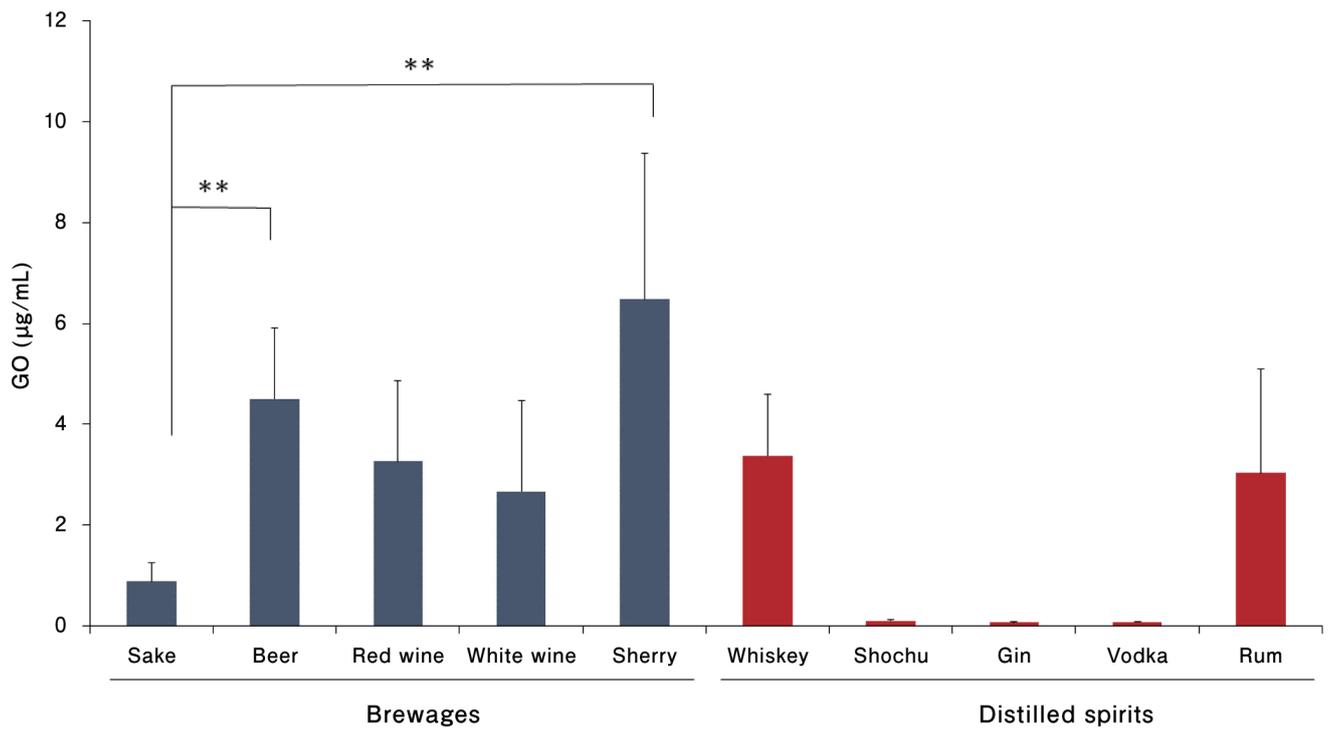


Fig. 6. Comparison of GO content by a type of alcoholic beverage.

Results are expressed as mean \pm standard deviation, ** $p < 0.01$ by Tukey-Kramer test, $n = 3$ each except sake ($n = 6$). GO, glyoxal.

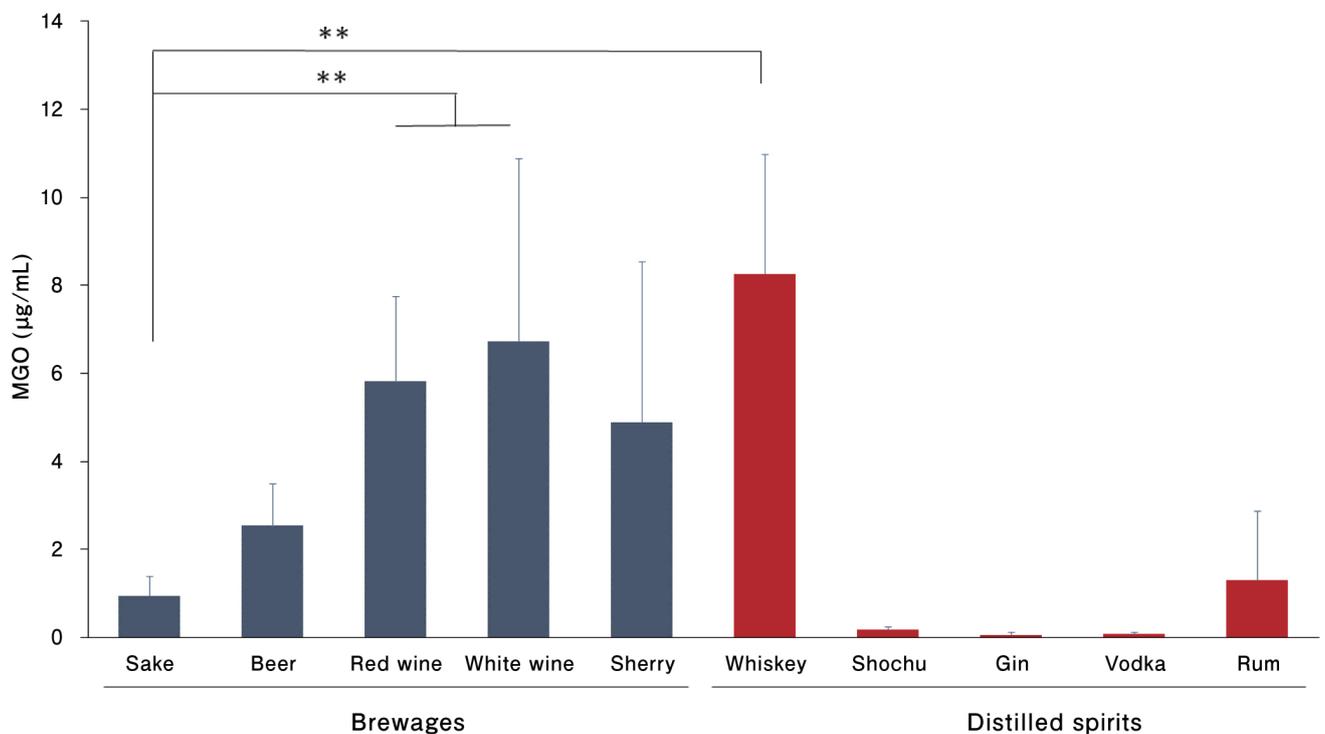


Fig. 7. Comparison of MGP content by a type of alcoholic beverage.

Results are expressed as mean \pm standard deviation, ** $p < 0.01$ by Tukey-Kramer test, $n = 3$ each except sake ($n = 6$). MGO, methylglyoxal.

ある¹¹⁾。日本酒に含まれるアセトアルデヒド量は、日本酒の旧種別である2級酒が最も多く、次いで1級酒、特級酒の順位であった。日本酒の製法の違いとアセトアルデヒド量の関係は、大吟醸酒(0.26 $\mu\text{L/mL}$)、古酒(0.475 $\mu\text{L/mL}$)、吟醸酒(0.96 $\mu\text{L/mL}$)、純米酒(1.0 $\mu\text{L/mL}$)、本醸造(1.2 $\mu\text{L/mL}$)と報告されている¹²⁾。アルコールの酸化によって生成した酢酸は、エタノールと反応して酢酸エチルを生成する。大吟醸酒や古酒はアセトアルデヒド量が少なく、酢酸エチルが多く含まれるため、独特の味と香りを有する。大吟醸酒の醸造法はアルコール度数を高くするため、生成するエタノールが酸化されやすく、酢酸エチルを多く含む。古酒は醸造後の熟成によってアルコールの酸化が進行し、酢酸エチル量が増加する。

3-DG含有量

日本酒の3-DG含有量は、0.137~0.407 mmol/L (22.2~66.0 $\mu\text{g/mL}$)と約3.0倍の違いがあり、種別では純米酒に比較的多い傾向がみられたとの報告がある¹¹⁾。試料に使用した日本酒(n=6)の3-DG量は最低:16.9 $\mu\text{g/mL}$ から最高:138.5 $\mu\text{g/mL}$ (0.104~0.854 mmol/L)の幅があり、8.2倍の違いが認められた。日本酒の醸造工程では、原料として使用される米澱粉由来の糖が3-DGと反応してフルフラール(furfural)を多く生成する。フルフラール生成量は醸造時の生成糖で決まる¹³⁾。フルフラール含有量は大吟醸酒1.5 $\mu\text{L/mL}$ 、吟醸酒1.0 $\mu\text{L/mL}$ 、純米酒0.6 $\mu\text{L/mL}$ 、本醸造0.4 $\mu\text{L/mL}$ の順に高く、精米歩合が高い酒ほどフルフラール量多い。フルフラールは古酒(1.0 $\mu\text{L/mL}$)にも多く含まれ、独特の味と風味を醸し出すことが知られている^{11,13)}。3-DGは醸造酒において蒸留酒の約57.8倍多く多く含まれた。フルフラールと3-DGは日本酒独特の風味を醸し出す要因と考えられる。

GO含有量

GOはジン、ウォッカを除く全てのアルコール飲料に認められた。アルコール飲料中のGO濃度の違いには、グルコースの自動酸化や酒樽中での熟成期間が関与している可能性がある。ウイスキーの熟成に使用される酒樽には主にオーク(ミズナラ: *Quercus crispula*)の木材が使用される。木材中にはエラグ酸などのポリフェノールが含まれる。ポリフェノールは3-DG、GO、MGOなどの糖化反応中間体の生成抑制作用が報告されている¹⁴⁾。またポリフェノールは抗酸化作用を有し、GOの生成抑制に関与する可能性がある¹⁵⁾。日本酒はGO量が少ないことが特徴の一つと言えよう。

MGO含有量

アルコール飲料中のMGOは3-DGと比べて低濃度であったが、ウイスキー(8.2 \pm 2.9 $\mu\text{g/mL}$, n=3)、白ワイン(6.7 \pm 3.8 $\mu\text{g/mL}$, n=3)、赤ワイン(5.8 \pm 0.3 $\mu\text{g/mL}$, n=3)に認められた。ウイスキーの製造工程には、ポット

スチル(pot still)と呼ばれる銅製の蒸留器が用いられる。蒸留工程では加熱によって糖化反応が起こり、 β -ダマセノン(β -damascenone)やフラールなどの生成することが知られている^{16,17)}。ウイスキー中のMGOは蒸留工程で生成した糖化物の自動酸化による可能性がある。MGO量が少ないことが日本酒の特徴の一つと言えよう。

3. 食品に含まれる α -DCsの安全性に関して

本研究ではアルコール飲料中に α -ジカルボニル化合物(α -DCs)として3-DG、GO、MGOが含まれることを見出した。

MGOを含む食品には、マヌカハニー、コーヒーが知られている。マヌカハニーはニュージーランド原産のマヌカ(*Leptospermum scoparium*)の花蜜をミツバチが集めた蜂蜜で、生薬を感じさせる特有の風味を有する。マヌカはニュージーランドの先住民・マオリ族の言葉として「復活の木」「癒しの木」を意味する。既にマヌカハニーには抗菌作用¹⁸⁾、抗ウイルス作用¹⁹⁾、創傷治癒促進²⁰⁾、歯垢予防作用²¹⁾が報告されている。マヌカハニー中にはMGOが80 mg/kg (80 $\mu\text{g/g}$)~1,200 mg/kg (1,200 $\mu\text{g/g}$)含まれる^{22,23)}。マヌカハニーの品質はMGO含有量が高いほど良いとされている。またコーヒーにはMGOが50~70 $\mu\text{mol/L}$ 含まれる。コーヒーのMGOは豆の品種やコーヒーの抽出法によっても異なる。エスプレッソにはMGOが230.9 $\mu\text{mol/L}$ (16.6 $\mu\text{g/mL}$)含まれる²⁴⁾。アルコール飲料中に含まれるMGO濃度は15 $\mu\text{g/mL}$ 以下であり、マヌカハニーやエスプレッソと比べて低濃度である。

糖化ストレスに関連するGO²⁵⁾などの α -DCsやアルデヒドは、その量が多ければDNA損傷をもたらし、遺伝子変異や催奇形性を惹起する可能性がある^{26,27)}。生体内における3-DGの生成は催奇形性のリスクを高める²⁸⁾。アルコール飲料の過剰摂取は扁平上皮細胞のDNA損傷を惹起し、食道癌の発症リスクを高める²⁹⁾。特にアルコール度数が高い酒は食道癌のリスクを高める。

食品の安全性評価には様々な指標がある。無毒性量(no observed adverse effect level: NOAEL)は動物を使った毒性試験において、何ら有害作用が認められなかった用量レベルである。一般的にNOAELの1/100濃度(用量)が、人における一日摂取許容量(acceptable daily intake: ADI)に設定される。ADIとは、人が、毎日、一生涯、食べ続けても、健康に悪影響がでないと考えられる量である。一般的に毎日摂取しても安全な摂取量はADIの3分の1とされる。

GOはアルコール飲料のほか、味噌、ヨーグルトなどの発酵食品(0.63~4.2 mg/kg)、パンなどのベーカリー食品(0.07~1.6 mg/kg)、植物性の食品素材(3~14 mg/kg)、食用油(最高で6.5 mg/kg)にも含まれている。

GOの中長期毒性について推測すると、NOAELは100~130 mg/kg bw/day (EU data)であり³⁰⁾、ADI 1.0~1.3 mg/kg bw/day、その三分の1量が0.3~0.4 mg/kg bw/day

となり、体重 50 kg の人が摂取しても問題ないと推測される量は 15~20 mg/day となる。しかし発癌性に関する安全性評価はまだ行われていない。

GO の生殖・発生毒性を推測すると、母ラットの NOEAL は 25 mg/kg/day (EU data) である³⁰⁾。このため安全性を厳格に推測すると GO の NOEAL は 3~4 mg/day 程度になる。日本酒 300 mL、ビール 120 mL、ワイン 50 mL、ウイスキー 40 mL の摂取は、GO の NOEAL に達する計算となる。このため、できる限り妊婦の常用飲酒は控えるべきである。EU における GO 摂取量の安全基準は 0.17 mg/kg bw/day としている。但し、この計算は 1 週間毎日アルコールを摂取した際の換算である。このため、個々人が休肝日を設けた上で摂取量を遵守すれば、これより許容量が大きくなる。

結論

アルコール飲料には α -DCs である 3-DG、GO、MGO が含まれた。アルコール飲料のなかでは蒸留酒の α -DCs 含有量が少ないことが示された。醸造酒においては日本酒の 3-DG、GO 含有量が少ないことが示された。糖化ストレスの負荷が少ないアルコール飲料は、蒸留酒あるいは醸造酒であれば日本酒である可能性があった。但し、摂取量は適量を厳守すべきである。

謝辞

本研究の一部は第 18 回糖化ストレス研究会 (2019 年 8 月 31 日、京都) で発表した。

利益相反申告

本研究に関して該当事項はない。

参考文献

- 1) Fujimaki M, Kobayashi N, Kurata T, et al. Reactivities of some carbonyl compounds in Strecker degradation. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1968; 32: 46-50.
- 2) Ogata Y, Kimura M, Kondo Y. Photo-promoted hypochlorite oxidation of α -amino acids: Kinetics and irradiation effect for the Strecker degradation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1981; 54: 2057-2060.
- 3) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging related disease. *Anti-Aging Med*. 2010; 7: 112-119.
- 4) Takeuchi M, Takino J, Yamagishi S. Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: A novel therapeutic strategy. *Current Drug Target*. 2010; 11: 1468-1482.
- 5) Yagi M, Nomoto K, Hori M, et al. The effect of edible purple chrysanthemum extract on advanced glycation end products generation in skin: A randomized controlled clinical trial and *in vitro* study. *Anti-Aging Med*. 2012; 9: 61-74.
- 6) Yagi M, Shimode A, Hamada U, et al. Evaluation of the anti-glycation effect and the safety of a vinegar beverage containing indigestible dextrin and a mixed herbal extract: A placebo-controlled, double-blind study. *Glycative Stress Res*. 2014; 1: 14-24.
- 7) 今安 聡, 川戸章嗣. <醸造物の機能性> 清酒の健康と美容効果 (その 2). *日本醸造協会誌*. 1999; 94: 201-208.
- 8) 秦 洋二. 清酒の機能性: 解明されつつある「酒は百薬の長」. *熱工学コンファレンス講演論文集*. 2007; 1-2.
- 9) Tadasue K, Takabe W, Yagi M, et al. Anti-glycative effect of Japanese sake (seishu): Prevention of advanced glycation end product (AGE) formation. *Glycative Stress Res*. 2017; 4: 80-86.
- 10) 堀江義則, 山岸由幸, 加藤真三, 他. アルコールによる臓器障害の動向と問題点: わが国における C 型肝炎とアルコール性肝障害の関係について. *日本アルコール・薬物医学会雑誌*. 2006; 41: 424-430.
- 11) 池見元宏, 齋藤久一, 小泉武夫, 他. タイプ別清酒の成分比較について (第 1 報): 一般成分, 微量成分, アミノ酸, 有機酸および香気成分組成の比較. *日本醸造協会雑誌*. 1981; 76: 831-834.
- 12) 小川治雄, 中島友和, 吉原伸敏, 他. 日本酒の成分分析. *東京学芸大学紀要: 自然科学系*. 2010; 62: 23-31.
- 13) 磯谷敦子, 宇都宮 仁, 岩田 博. 清酒の熟成によるソトロンおよびフルフラールの変化. *日本醸造協会誌*. 2004; 99: 374-380.
- 14) Fujieda M, Tanaka T, Suwa Y, et al. Isolation and Structure of Whiskey Polyphenols Produced by Oxidation of Oak Wood Ellagitannins. *J Agric Food Chem*. 2008; 56: 7205-7310.
- 15) Yamaguchi T, Takabe W, Yagi M, et al. Analysis of anti-glycative components in *Smilax japonica* (yacon). *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 36-44.

- 16) Kwok T, Kirkpatrick G, Yusof H, et al. Rapid colorimetric determination of methylglyoxal equivalents for Manuka honey. *J Adv Biol Biotechnol*. 2016; 7: 1-6.
- 17) 古賀邦正. 最新 ウイスキーの科学: 熟成の香味を生む驚きのプロセス. 講談社. 2018.
- 18) Johnston M, McBride M, Dahiya D, et al. Antibacterial activity of Manuka honey and its components: An overview. *AIMS Microbiol*. 2018; 4: 655-664.
- 19) Watanabe K, Rahmasari R, Matsunaga A, et al. Anti-influenza viral effects of honey *in vitro*: Potent high activity of manuka honey. *Arch Med Res*. 2014; 45: 359-365.
- 20) Malhotra R, Ziahosseini K, Poitelea C, et al. Effect of Manuka honey on eyelid wound healing: A randomized controlled trial. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*. 2017; 33: 268-272.
- 21) Nayak PA, Nayak UA, Mythili R. Effect of Manuka honey, chlorhexidine gluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque. *Contemp Clin Dent*. 2010; 1: 214-217.
- 22) Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC. The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr Res*. 2009; 344: 1050-1053.
- 23) Daglia M, Ferrari D, Collina S, et al. Influence of *in vitro* simulated gastroduodenal digestion on methylglyoxal concentration of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *J Agric Food Chem*. 2013; 61: 2140-2145.
- 24) Wang J, Chang T. Methylglyoxal content in drinking coffee as a cytotoxic factor. *J Food Sci*. 2010; 75: H167-171.
- 25) Murata-Kamiya N, Kamiya H, Kaji H, et al. Mutations induced by glyoxal and methylglyoxal in mammalian cells. *Nucleic Acids Symp Ser*. 2000; 44: 3-4.
- 26) Murata M, Mizutani M, Oikawa S, et al. Oxidative DNA damage by hyperglycemia-related aldehydes and its marked enhancement by hydrogen peroxide. *FEBS Lett*. 2003; 554: 138-142.
- 27) Thornalley PJ. Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems--role in ageing and disease. *Drug Metabol Drug Interact*. 2008; 23: 125-150.
- 28) Eriksson UJ, Wentzel P, Minhas HS, et al. Teratogenicity of 3-deoxyglucosone and diabetic embryopathy. *Diabetes*. 1998; 47: 1960-1966.
- 29) 横山 顕. 食道扁平上皮癌の危険因子と頭頸部・胃を含む field cancerization. *日本消化器病学会雑誌*. 2018; 115: 868-880.
- 30) European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General. Scientific Committee on Consumer Products: Opinion on glyoxal. SCCP/0881/05, 2005 https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_023.pdf