

## 多麴麦味噌の機能性に関する研究

食品工業部 岩屋 あまね, 亀沢 浩幸, 下野 かおり, 間世田 春作

### Study on Physiological Function of Miso containing Barley Koji at the High Ratio

Amane IWAYA, Hiroyuki KAMESAWA, Kaori SHIMONO and Shunsaku MASEDA

南九州の味噌は麦麴含量が高い(以後, 多麴麦味噌)という特徴があるが, その多麴麦味噌に関して機能性の評価を行った。麴が生産する機能性物質である -アミノ酪酸(GABA)の含量は, 麴歩合(麴の含有率)よりも製麴条件に影響されること, さらに麴のプロテアーゼ活性が大きく関与していることが分かった。その結果に基づいて, GABA生産に最適な製麴条件の検討を行った。また, 多麴麦味噌の抗酸化活性をDPPHラジカル消去活性で評価したところ, 熟成期間が長く着色の進んだ味噌ほど抗酸化活性が高いことが明らかになった。

#### 1. 緒言

大豆・麴(米, 麦, 豆)・塩で構成される味噌について, 機能性に関する研究は既に多く行われており, 抗ガン活性や抗酸化活性, 血圧降下作用, コレステロール低下作用, 胃潰瘍防止効果など 様々な機能性が明らかになっている。その研究対象となっている味噌は, 全国で一般的に消費される大豆含量の高い味噌(麴歩合: 5~10程度)に関するものがほとんどであり, その味噌の機能性物質のほとんどが豆の成分に由来するものであることが分かっている。

一方, 南九州の味噌は麦麴の含量が大豆よりも多く(麴歩合: 20以上) 熟成が短いという特徴があり, 一般的な大豆の多い味噌とは異なった, 麦麴由来の機能性があると考えられるが, それに関する研究はまだあまりされていない。そこで, 本研究では多麴麦味噌および麦麴の機能性について, 麴が生産する機能性物質である -アミノ酪酸(GABA)に焦点をあてて, 多麴麦味噌のGABA含量と製麴条件の関連性を調べ, GABA生産増加を目的とした製造条件の検討を行った。また, 県内産の多麴麦味噌について, 味噌の代表的な機能性の一つである抗酸化活性の評価を行った。

#### 2. 実験方法

##### 2.1 原料

麦麴の原料として, 麦は国産裸麦を, 種麴菌は(株)樋口松之助商店の麦味噌用粒状種麴を用いた。

県内産多麴麦味噌は, 県内の味噌製造業社13社から供与された製品15点を用いた。

##### 2.2 製麴方法

麴に使用した麦は水洗後, 水に1時間浸漬し, 水切りを2時間行い, 常圧で1時間蒸煮した。放冷後, 燕麦1kg当たり1gの種麴菌を植菌した。これをシャーレに約15gずつ採取し単層になるように均一に蒔き, 蓋をして, 3種類

の温度で, 通常の製麴時間である40時間前後, 培養した。湿度を飽和状態にするために, 恒温器内に水の容器を設置した。

##### 2.3 分析方法

###### 2.3.1 GABAの定量

試料5gに20mlの蒸留水を加えてホモジナイズし, 除タンパクのためにトリクロロ酢酸溶液を終濃度5%になるように添加し, 蒸留水で50mlに定容した。その麦麴懸濁液を遠心分離(10,000rpm×5min.)し, 上澄み液を0.45μmフィルターでろ過したろ液を試料液とした。

試料液中のGABA含量は, アミノ酸分析計(日本分光株製)を用いて分析した。

###### 2.3.2 プロテアーゼ活性

麦麴のプロテアーゼ活性は, みその品質に最も関与する中性プロテアーゼを, 基準みそ分析法に従い測定した。

###### 2.3.3 抗酸化活性評価

(ジフェニルピクリルヒドラジル(DPPH)ラジカル消去能) 県内産多麴麦味噌について, 熱水抽出(100℃, 10min.)を行い遠心分離(10,000rpm×5min.)した上澄液を試料液とした。

DPPHラジカル消去活性は前報<sup>1)</sup>に準じて測定した。すなわち, 100μM DPPHラジカル/エタノール溶液1mlとMclIv-ein緩衝液(pH6)1mlの混合液に, 蒸留水で適宜希釈した試料液を100μl添加し, 正確に20分後の517nmにおける吸光度(A<sub>517(s)</sub>)を測定した。対照として, 蒸留水を100μl添加したときの吸光度(A<sub>517(b)</sub>)を測定し, 消去能を(1)式により算出した。

$$\text{消去能(\%)} = 100 - \frac{A_{517(s)}}{A_{517(b)}} \times 100 \quad (1)$$

各試料の抗酸化活性は, DPPHラジカルの50%を消去する時の試料の添加量RS50(Radical Scavenging 50%)の逆数

で評価した。

2.3.4 色度

多麴麦味噌の色度は、カラーコンピュータSM-4（スガ試験機(株)製）で測定した。

3. 結果及び考察

3.1 麦麴および多麴麦味噌のGABA

3.1.1 県内産多麴麦味噌のGABA含量

麴歩合が18~33（平均26.2）の県内産多麴麦味噌についてGABA含量を測定した結果、GABAは平均で27mg/100g（11.6~50.1mg/100g）含まれていた。これは関東地方の長期熟成味噌のGABA含量（平均50mg/100g）<sup>2)</sup>の半分程度であった。

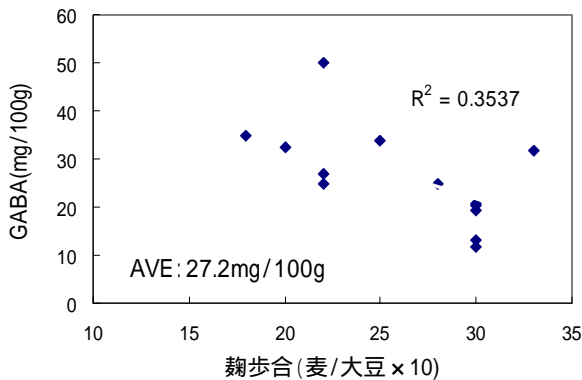


図1 県内産多麴麦味噌のGABA含量と麴歩合

また、図1に示したように、県内産味噌のGABA含量と麴歩合には相関関係が見られないことから、味噌中のGABA含量は単に麴の量だけではなく、製麴条件や熟成によって影響を受けるものと考えられた。

3.1.2 製麴温度とGABA

片岡ら<sup>3)</sup>は既に、GABAの前駆物質であるグルタミン酸を麴菌に添加するとGABAが増加することを報告している。グルタミン酸は、麴のプロテアーゼ活性を高めることで、原料麦から遊離して増加すると考えられるが、その麴のプロテアーゼ活性には製麴温度に大きく影響されると言われている<sup>4)</sup>。

そこで、製麴温度条件が麦麴のプロテアーゼ活性とGABA含量に及ぼす影響について調べた。

製麴温度を、麴菌の増殖最適温度と言われている35<sup>4)</sup>と、その前後±5である30および40に設定し、製麴試験を行った。その時の、麦麴のGABA含量の変化を図2に、麦麴のプロテアーゼ活性を図3に示した。

製麴の前半では、温度が高いほどGABA含量が高く、プロテアーゼ活性も高かった。このことから、製麴の初期の段階では、温度が高いほどグルタミン酸の生成およびグルタ

ミン酸 GABAの変換が進むものと考えられた。

製麴の後半になると、40では他の温度に比べプロテアーゼ活性の上昇およびGABAの増加が抑制され、35でもややその傾向が見られた。一方30では、GABAおよびプロテアーゼ活性の増加速度の抑制が見られず、プロテアーゼ活性については、最終的(40時間目)には30が最も高かった。プロテアーゼ生成には25~30が最適温度であると言われている<sup>4)</sup>が、今回の試験でも同様の結果が得られた。

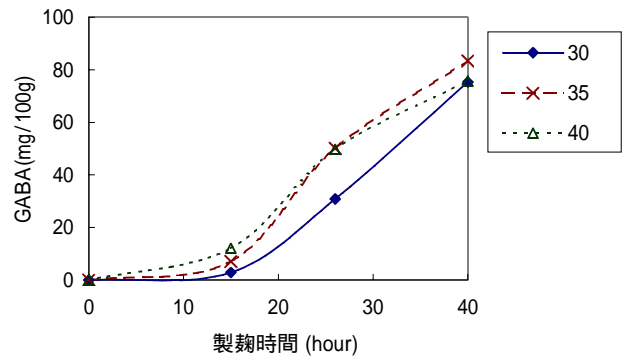


図2 製麴温度とGABA含量

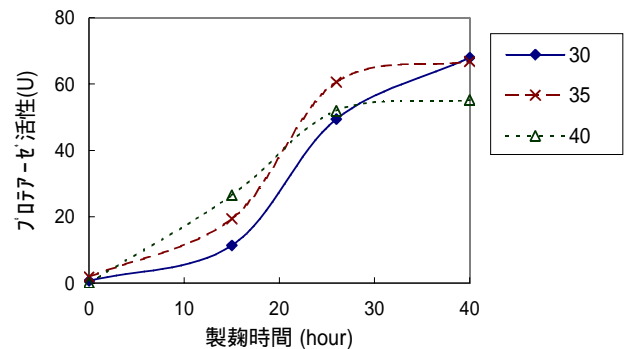


図3 製麴温度とプロテアーゼ活性

これらの結果より、後半の温度を30で制御し、製麴時間を延長することで、プロテアーゼ活性およびGABA含量の高い麴が得られる可能性が示唆された。

3.1.3 製麴温度の変化とGABA

製麴の前半（0~16時間目以前）を麴菌の増殖に最適な35で、後半(16時間目以降)を30で制御して、製麴時間を42時間に延長して製麴試験を行った。対照として、35一貫で42時間製麴したものについて、同様の分析を行った。図4が、その時のGABAおよびプロテアーゼ活性の経時変化を調べた結果である。また、42時間目のGABAとプロテアーゼ活性の比を表1に示した。

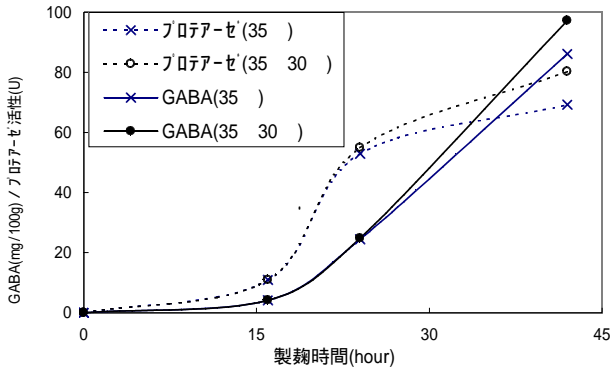


図4 温度勾配とGABAおよびプロテアーゼ

表1 出麹時(42時間目)の各成分

製麹温度 ( )	プロテアーゼ (U)	GABA (mg/100g)	GABA プロテアーゼ
35 30	80.3	97	1.2
35	69.2	86	1.2

後半の製麹温度を30 に下げると、42時間目において、35 一貫で製麹するよりプロテアーゼ活性が高くなり、GABA含量も有意に高かった。また、プロテアーゼ活性とGABA含量の比はほぼ等しい値であった。

麹のプロテアーゼによりタンパクからグルタミン酸が遊離し、そのグルタミン酸を麹の脱炭酸酵素がGABAへ変換することで、麹中にGABAが生成される。今回の結果より、麹中のGABAの生成過程においてプロテアーゼが重要な役割を果たしていることが示唆された。また、製麹温度を後半低めに制御することでプロテアーゼおよびGABA含量の高い麹が得られることが分かった。

3.2 多麴麦味噌の抗酸化活性

県内産多麴麦味噌15点について、DPPHラジカル消去活性を測定した結果を図5に示した。

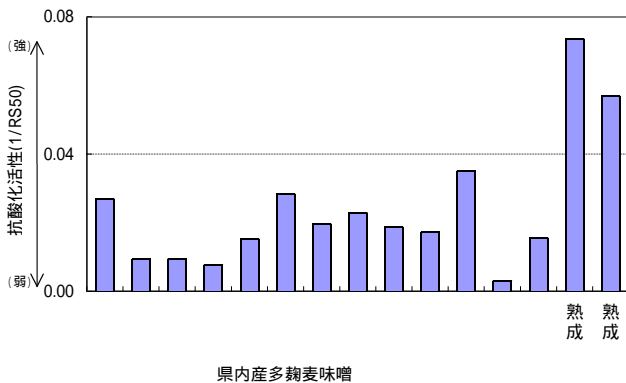


図5 味噌のDPPHラジカル消去活性

県内産の短期熟成味噌は1/RS50 (値が高いほど、抗酸化活性が高い) の平均が0.018 (0.003~0.035) であり、関

東地方の味噌 (1/RS50 = 0.008 ~ 0.167)<sup>5)</sup> に比べ、抗酸化活性は低かった。しかし、県内産味噌の1年以上熟成させた味噌は、比較的高い抗酸化活性(1/RS50 = 0.057 ~ 0.074) を有していた。

また、熟成に伴い増加する着色度と抗酸化活性の関係を図6に示した。その結果、色度と抗酸化活性には良好な相関がみられた。味噌の褐色色素はメラノイジン<sup>6)</sup>であるが、そのメラノイジンは抗酸化活性を有する<sup>7)</sup>とされている。これらのことより、多麴麦味噌の抗酸化活性には褐色色素メラノイジンが大きく関与していることが示唆された。

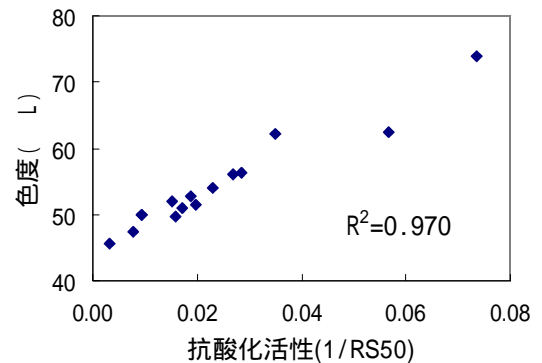


図6 県内産多麴麦味噌の抗酸化活性と色度

4. 結 言

南九州に特有の多麴麦味噌について、麹の生産する機能性物質を中心に機能性の評価を行った結果、以下のことが明らかになった。

- (1) 味噌中のGABA (麹の生産する機能性物質) 含量は、その麹歩合とは相関関係が見られない。
- (2) 麦麹中のGABA含量はプロテアーゼ活性と良い相関がみられた。
- (3) 製麹後半に、温度をプロテアーゼ生産に適する30 で制御することで、プロテアーゼ活性が高くGABA含量の高い麹が得られた。
- (4) 抗酸化活性は、県内産の短期熟成・多麴麦味噌は比較的低いですが、熟成が長いとその活性は増加した。また、味噌の抗酸化活性には、熟成中に生成する着色物質が大きく関与することが示唆された。

謝 辞

研究を進めるに当たり、試料味噌をご提供いただきました県内の味噌製造業社の方々に謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 岩屋あまね, 瀬戸口真治, 亀沢浩幸, 下野かおり, 間世田春作: 鹿児島県工業技術センター研究報告, 12,

- 27(1998)
- 2)阿久津智美, 宮間浩一: 日本食品科学工学会第45回大会講演集, 111(1998)
- 3)片岡浩平, 岩井洋子, 家村芳次, 原昌道: 特許出願公開平10-165191(1998)
- 4)奈良原英樹: 味噌の科学と技術, 46, 432(1998)
- 5)竹内徳男, 稲荷妙子, 森本仁美: 日本食品科学工学会第46回大会講演集, 190(1999)
- 6)五明紀香: 味噌の科学と技術, 47, 205(1999)
- 7)本間清一: "蛋白の糖化 - AGEの基礎と臨床", 医学書院, (1997), p142