報　文

甘酒製造過程におけるポリフェノール量の推移

Changes in Polyphenol Content during the manufacturing process of Amazake

新居　佳孝[*1]，岡久　修己[*1]，西岡　浩貴[*1]，戸田　昌宏[*2]，門脇　昌史[*2]，
河田　守[*2]，金丸　芳[*3]
NII Yoshitaka, OKAHISA Naoki, NISHIOKA Hiroki, TODA Masahiro, KADOWAKI Masashi,
KAWATA Mamoru and KANEMARU Kaori

抄　録

米麹は発酵食品（甘酒，味噌，酒類等）の主要な原材料である．近年，発酵食品の機能性が多く報告されているが，その機能性の多くは麹由来の酵素により生成されるポリフェノールが大きく関与している．ポリフェノールは，生活習慣病の発症抑制との関連が指摘されている食品の抗酸化活性と密接に関連している．そこで，米麹を用いて甘酒を作製し，ポリフェノールおよびフェルラ酸量を原料麹と比較した．その結果，甘酒を作製することにより，ポリフェノール量は，白麹菌，黄麹菌ともに原料麹に比べて 3 倍近く増加した．また，遊離フェルラ酸が原料麹に比べて大きく増加することが明らかとなった．これらは麹菌のもつ酵素の影響であると示唆された．

1　はじめに

米麹は発酵食品（甘酒，味噌，酒類等）の主要な原材料である．近年，発酵食品の機能性が多く報告されているが，その機能性の多くは麹由来の酵素により生成されるポリフェノールが大きく関与している [1]．ポリフェノールは，生活習慣病の発症抑制との関連が指摘されている食品の抗酸化活性と密接に関連している [2),3)]．

そこで，米麹を用いて甘酒を作製し，ポリフェノールおよびフェルラ酸量を原料麹と比較した．

2　実験方法

2・1　実験用製麹条件による米麹の作製

丸米を 500g 秤量し，水に浸漬した．浸漬後，水を切り，密閉した状態で常温にて静置した．翌日，浸漬した米を 30 分間蒸し，35℃以下まで放冷（絶対水分目標 35%）してから種麹（白麹菌または黄麹菌）を散布し，インキュベータ内で 35℃，24 時間静置した．その後，黄麹菌を用いた試料は 24 時間インキュベータ内で広げながら適時品温を上昇させ，最高温度 40℃に設定した．白麹菌を用いた試料は品温 30～32℃に設定した．ともに 28 時間静置した後，ドライヤーで乾燥させ，米麹（乾燥麹）を作製した．また，甘酒作製に用いた米麹は，製造現場に近い条件で製麹したものを用いた．

2・2　甘酒の作製

各米麹 50g を三角フラスコに秤量し，蒸留水を 138mL 加えた．それぞれの温度に調整したウォーターバスで 21 時間静置した．

2・3　ポリフェノールの測定

試料の総ポリフェノールはフォーリン–チオカルト法により分析した [4),5)]．米麹もしくは甘酒は，ミルサー（IFM-700G, 岩谷産業（株））を用いて均一化し，80%メタノールを用いて抽出した．抽出液 10μL を 96 穴マイクロプレートに入れ，さらにフェノール試薬（10 倍希釈）75μL を加えた．撹拌し，室温で 5 分放置した後，2%炭酸ナトリウム溶液 75μL を加えて，再度撹拌し，室温で 30 分間反応させた．反応後，吸光度をマイクロプレートリーダー（750nm）（Infinite F200PRO, Tecan）により測定した．試料中のポリフェノール量は没食子酸換算で表した．

2・4　遊離フェルラ酸の測定

試料の遊離フェルラ酸は高速液体クロマトグラフ（HPLC）（LC-10Avp，（株）島津製作所）を用いて分析した [6),7)]．米麹を約 500mg（甘酒は約 5g）精

*1 食品・応用生物担当，*2 徳島製麹（株），
*3 徳島大学

秤し，80%アセトン 5mL を加えて 1 時間抽出した．6N 塩酸 0. 2mL を加えて酸性にした後，酢酸エチルを 1mL 加えて撹拌した．遠心分離（3,000rpm，5 分）し，上清を採取した後，窒素ガスにて溶媒を除去した．メタノール 1mL に再溶解し，フィルターろ過した後，10μL を HPLC に注入した．カラムは ODS カラム（COSMOSIL Cholester, 4.6mmID x 150mm，ナカライテスク（株））を用い，カラム温度 40℃に設定した. 移動相は A 液（50mmol/L 酢酸緩衝液（pH4.5））と B 液（アセトニトリル）を用い, B 液を 30 分で 1%から 25%まで直線的に上昇させる勾配を設定し，流速 1.0mL/min にて送液した．検出波長は 320nm とした．

3　結果と考察

原料米を製麹することにより, フォーリン–チオカルト法を用いたポリフェノール量が大幅に増加した（表 1）．フォーリン–チオカルト法では, ポリフェノール類だけでなく還元性物質に広く反応する [4]．表 1 に示されたポリフェノール量の変化は, ポリフェノール類だけでなく, 製麹中に生成される還元性物質であるグルコースの影響が大きい [8]と考えられる．焼酎製造に用いられる白麹菌（クエン酸高生産麹菌）および日本酒，味噌，甘酒などの製造に用いられている黄麹菌を用いて製麹した米麹でも，同様の結果を示した．

表 1　製麹によるポリフェノール量の変化

種麹	ポリフェノール (mg/100g)	
	原料米	製麹後
白麹菌	4.9	47.1
黄麹菌	1.1	46.9

次に，各米麹を用いて甘酒を作製し，ポリフェノールを測定した（表2）．比較のために，甘酒のポリフェノール量は原料麹100gあたりの生成量（総量）に換算した値で示した．その結果，甘酒を作製することにより，ポリフェノール量は, 白麹菌，黄麹菌ともに原料麹に比べて3倍近く増加することが分かった．

フェルラ酸は米, 小麦などの細胞壁を構成するフェノール酸の一種であり, 大部分が細胞壁成分に結合した形で存在している[6]. 発酵食品では, 麹の酵素により遊離型に変換され, 強い抗酸化活性をもつことが報告されている[6]. 三枝と大庭は, 甘酒の抗酸化活性の増加は麹菌由来のグルコアミラーゼ活性の増加によるフェルラ酸の遊離に起因すると推察している[9]．本研究においても原料米に由来するフェルラ酸の関与が予想されるため, 米麹と甘酒に含まれる遊離フェルラ酸を分析した（表3）．

その結果, 甘酒にすることで遊離フェルラ酸が原料麹に比べて大きく増加することが明らかとなった．特に, 黄麹菌はフェルラ酸を加水分解するフェルロイルエステラーゼを生産することが報告されており[10], 本研究でも同様の結果を示した．

表2に示したポリフェノール量の増加は, フェルラ酸の他, フェノール酸に分類されるコウジ酸やクマル酸の影響も考えられる．また, 甘酒では, 麹菌の酵素により還元性をもつグルコースやマルトースも多く生成されることから, これら物質の影響も大きいと考えられる[11].

表2　原料麹と甘酒のポリフェノール量

種麹	ポリフェノール (mg/100g)	
	原料麹	甘酒*
白麹菌	60.0	233.9
黄麹菌	49.7	157.2

*原料麹100gあたりに換算

表3　原料麹と甘酒の遊離フェルラ酸量

種麹	遊離フェルラ酸 (mg/100g)	
	原料麹	甘酒*
白麹菌	0.22	0.68
黄麹菌	0.25	1.35

*原料麹100gあたりに換算

次に, 糖化温度を変化させた甘酒を作製し，ポリフェノール量を測定した（図1）．その結果，白麹菌で50℃と60℃, 黄麹菌では40℃で最も多く生成した．これまでに観察されたポリフェノール生成量の増加は，麹菌のもつ酵素の影響であると示唆された．

ポリフェノールは抗酸化活性に関与する成分であり, ポリフェノール量が多いと抗酸化活性も高く

なることが広く知られている．本研究では，米麹で糖化させた甘酒において，フェルラ酸をはじめとするポリフェノール量が増加した．

以上の結果より，米麹を原料とする甘酒は，抗酸化成分を有する機能性食品素材としての利用拡大が見込まれることが示された．

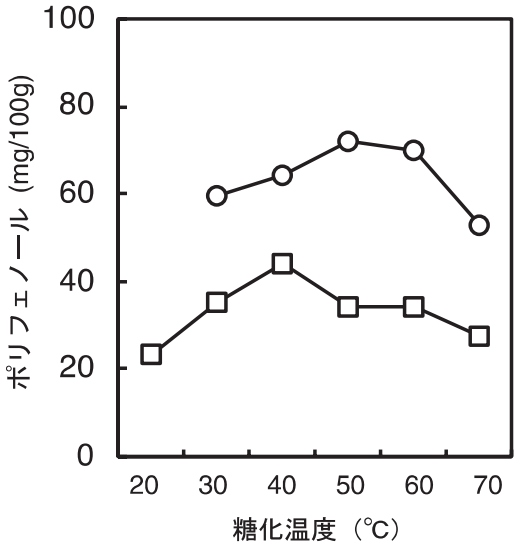

図1　糖化温度を変化させて作製した甘酒のポリフェノール量

○：白麹菌，□：黄麹菌

4　まとめ

（1）甘酒を作製することにより，ポリフェノール量は，白麹菌，黄麹菌ともに原料麹に比べて 3 倍近く増加した．

（2）甘酒を作製することにより，遊離フェルラ酸が原料麹に比べて大きく増加することが明らかとなった．これは麹菌のもつ酵素の影響であると示唆された．

参考文献

1) 奥津果優，鮫島吉廣．麹の高機能食品素材化に関する研究．食品と開発，2013, Vol. 48, No. 7, p. 4-7.

2) 渡辺純，沖智之，竹林純，山崎光司，津志田藤二郎．“食品の抗酸化能測定法の統一化を目指して ORAC 法の有用性と他の測定法との相関性”．化学と生物，2009, 47, p. 237-243.

3) 石川（髙野）祐子．“農産物・食品の抗酸化能測定法（酸素ラジカル吸収能（ORAC）法）の妥当性確認”．食品の試験と研究第 48 号，2013, p. 19-24.

4) 金谷健一郎．“ポリフェノール類・総量”．新・食品分析法［Ⅱ］．（社）日本食品科学工学会食品分析研究会，光琳，2006，p. 68-79.

5) 鶴田裕美，吉村臣史，澤田和敬．“農水産物の機能性を強化する加工条件の構築と応用―レンコンの部位ごとにおける成分および機能性比較―”．平成 26 年度佐賀県工業技術センター研究報告書，2014, p. 57-62.

6) 韓宝祥，原崇，城斗志夫．“3 種の麹菌を用いて調製した玄米麹と玄米塩麹の抗酸化活性とフェルラ酸含量”．食科工，2020, 67, p. 236-241.

7) 松田茂樹，工藤康文．“麦味噌および大麦麹のフェルラ酸と抗酸化活性”．醸協，2001, 96, p. 100-106.

8) 岩野君夫，中沢伸重，伊藤俊彦．“麹における黄麹菌の増殖量と代謝生産物量との関係”．醸協，2002, 97, p. 865-871.

9) Saigusa, N. and Ohba, R. “Effects of *koji* production and saccharification time on the antioxidant activity of *amazake*”. Food. Sci. Technol. Res., 2007, 13, p. 162-165.

10) 橋爪克己．“清酒と原料米のフェノール酸関連化合物”．醸協，2015, 110, p. 2-7.

11) 倉橋敦，小黒芳史．“麹甘酒に含まれる成分について”．醸協，2017, 112, p. 668-674.