麦味噌および大麦麴のフェルラ酸と抗酸化活性

麦味噌は田舎味噌とも呼ばれ、古くから農家のつくる自家醸味噌の多くが麦を主原料としたからである。九州全域と沖縄県、愛媛県と四国の西部、中国地方の山口県などと、関東では埼玉・栃木県の一部に限ってつくられる。麦原料に由来する独特の風味と色調が根強い地方的嗜好として受け継がれている。麦味噌原料の麦（大麦、裸麦）は、米とは違い、蛋白質、食物繊維が多いなどの特徴を有し、これが製品の特性に影響を及ぼす。例えば、醤油の特徴香といわれる4GEなどのアルキルフェノール類は、麴の働きによって、小麦のリグニンから生成したフェルラ酸などのフェノール成分から *Candida* 属酵母の作用により生成される。

筆者らは、大麦に特徴的な物質変化の解明をすすめることで、麦味噌の特性を明らかにすることを企図され、一連の研究を進められている。まず、今回は、穀類のフェルラ酸に関する知見と併せ、麦味噌および大麦麴のフェルラ酸と、抗酸化活性について、詳細に解説いただいた。

松田 茂樹*・工藤 康文**

はじめに

穀類は世界の食糧供給の中心をなすものであり、大麦は小麦、米、トウモロコシ、大豆とともに主要な穀物のひとつである。大麦はビール等の醸造用としての需要が大部分であるが、我が国では米と同様、精麦して直接食用としても消費されている。また、伝統的な発酵食品である麦味噌の原料として不可欠のものであり、特に九州地方では全国のほとんどの麦味噌（約70%：2万9千トン）を生産しており、米味噌に比べて生産量は少ないものの、低食塩で糖分が多いなどの成分的特徴を有する味噌であり¹⁾、九州地方の特徴ある食生活の形成に大きな役割を果たしている。一方、穀類は食物繊維の供給源としても重要で、大麦の摂取が健康保持に役立つことが古くから知られており、米飯に大麦を混ぜることにより、食物繊維の摂取量が増加し、血糖値が改善されるなどの報告がなされている。このように、我々の食生活における大麦の有益性が重要視されて大麦の機能性に関する研究も多くなされるようになり、特に食物繊維²⁾やポリフェノール類³⁾が注目されている。筆者らはこれまでに明らかにされていない麦味噌の成分のひとつとしてフェルラ酸の存在に着目し、製麴から発酵・熟成の過程におけるフェル

ラ酸の挙動を調べることにより、麦味噌の特性を把握することを試みている⁴⁾。本稿では穀類のフェルラ酸に関する知見と併せ麦味噌麴の製麴過程におけるフェルラ酸の消長と抗酸化活性の関連について紹介したい。

1. 穀類のフェルラ酸の生合成と存在量

1-1 植物体におけるフェルラ酸の生合成

フェルラ酸 (3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoic acid) は米、小麦、大麦、オート麦等の穀類をはじめトマト、アスパラガス等の野菜類にも広く

Ferulic Acid Isoferulic Acid

第1図 フェルラ酸およびイソフェルラ酸の構造⁵⁾

Ferulic Acid Contents in *Mugi Miso* (Barley-Koji Miso) and Antioxidative Activity of *Mugi Koji*

*Shigeki MATSUDA (Kumamoto Industrial Research Institute)

**Yasufumi KUBOH (Kumamoto Food Processing Research Institute)

第2図 植物体におけるフェルラ酸の生合成経路⁵⁾

第3図 ポリフェノール類の構造⁵⁾

分布している。植物は一般的に第1図に示すようにイソフェルラ酸も生産することが知られている。植物体におけるフェルラ酸などのフェノール酸の生合成経路は第2図に示すようにフェニルアラニンおよびチロシンを前駆体とし、それらの脱アミノ化反応により、それぞれ桂皮酸、クマール酸となり、さらにクマール酸はカフェ酸、フェルラ酸となる。また、フェルラ酸の酸化的分解によりバニリン、グワイヤコール酸が生じる経路とともにグニンへの生合成経路が存在することが明らかになっている^{5),6)}。細胞壁に存在するフェルラ酸は遊離態でなく結合態となっており、マトリックスポリサッカライドとエステル結合して存在し、さらにこのフェルラ酸同士が結合してジフェルラ酸を形成し、細胞壁構造をより強固なものにしていると考えられる⁷⁾。HARUKAZE ら⁸⁾は米の遊離態および結合態のフェルラ酸を解析し、第3図に示したようにジフェルラ酸の結合様式を確認し、5,8'-ジフェルラ酸ベンゾフラン型の新規な結合様式も細胞壁に存在することを明らかにしている。

1-2 穀類のフェルラ酸含量

西澤ら⁹⁾は穀類および穀類を原料とする食品素材と加工食品に含まれるフェルラ酸含量を調べ、米では玄

米、胚芽精米、精白米の順に多く含まれ、小麦では胚芽と玄穀に多く含まれることを明らかにし、これはフェルラ酸は主として細胞壁に含まれるため、細胞壁含量が多いものほどフェルラ酸が多くなるものと推定している。また、加工品ではポップコーンが大きな値を示したが、これは胚芽部分を除去したコーンフレークと異なり全粒を原料としているためと考えられた。(第1表)

2. 麦味噌および大麦麴のフェルラ酸含量

平成11年11月に開催された熊本県味噌鑑評会に出品された味噌についてフェルラ酸含量を測定した。フェルラ酸の抽出は西澤ら⁹⁾の方法に準じて行った。味噌を乳鉢で磨砕し、均一化したものを試料とした。味噌500mgを精秤し、0.5N水酸化ナトリウム溶液5mℓを加えて、60℃で90分間加熱分解を行った。次いで、この液を6N塩酸溶液で酸性にし、*n*-ブタノール1.0mℓで3回抽出し、抽出液を合わせて3.0mℓに定容した。このようにして抽出したものをフェルラ酸総量として分析した。また、味噌1.0gに蒸留水を加えて加熱し、酸性にした後、同様に*n*-ブタノールを用いて抽出したものを遊離のフェルラ酸量とした。麴中のフェルラ酸は麴を凍結乾燥して粉末にしたもの100mgを精秤し、味噌と同様の方法で抽出した。

抽出したフェルラ酸はSHIBUYAの方法¹⁰⁾に準じてHPLCを用いて定量した。すなわちHPLC(ヒューレットパッカード社製LC-1100, カラム: Unisil C-18, 5μm, 4×250mm, ジーエルサイエンス(株)社製)に10μℓを注入し、320nmの吸収ピーク面積から算出した。溶離液はアセトニトリルを含む50mM酢酸緩衝液(pH4.0)による30分間のリニアグラジエント(5→25%アセトニトリル)をかけ、流速は1.0mℓ/minで行った。

麦味噌、米味噌中の遊離および総フェルラ酸含量を第2表に示す。味噌の総フェルラ酸含量は赤色麦味

第1表 穀類と加工品中のフェルラ酸含量⁹⁾
(mg/100g 乾物)

穀類・加工品		フェルラ酸
米	精白米	9.4
	玄米	41.8
	胚芽精米	21.4
小麦	玄穀	127.2
	薄力粉	4.7
	中力粉	7.0
	強力粉	7.9
大麦	強化押麦	34.0
	強化麦	34.8
オートミール		51.8
ライ麦粉		85.9
筍		243.6
大豆		18.5
小豆		19.7
炊飯米	精白米	8.5
	胚芽精白米	19.2
パン	白パン	5.6
	フランパン	5.5
コーン	ポップコーン	313.2
	コーンフレーク	13.0

第2表 味噌中の総フェルラ酸および遊離フェルラ酸量⁴⁾
(μg/g 乾物)

区 分	遊離フェルラ酸	総フェルラ酸
淡色麦味噌 (n=13)	7.2±4.6	59.2±16.0
赤色麦味噌 (n=10)	15.2±6.9	75.2±33.4
米味噌 (n=10)	6.0±3.3	25.6±7.6

噌で平均 $75.2\mu\text{g/g}$ で、次いで淡色麦味噌の $59.2\mu\text{g/g}$ 、米味噌の $25.6\mu\text{g/g}$ 順であり、麦味噌は米味噌に比べて多い値を示した。同様に遊離のフェルラ酸量も麦味噌で多い傾向を示した。味噌の原料である大麦と破碎米を比較すると、大麦には約 $240\mu\text{g/g}$ の総フェルラ酸が存在し、米の $126\mu\text{g/g}$ に比べてほぼ倍量が含まれていた。一方、原料大麦には遊離のフェルラ酸はほとんど含まれないのに対して味噌中には遊離のフェルラ酸が多く検出された。穀類にあってはフェルラ酸は遊離の状態ではほとんど存在せず、ジエステル結合をしているとされるが¹¹⁾、味噌中には遊離態のものが検出されたことから、製麹工程あるいは味噌の熟成過程でフェルラ酸が遊離したものと思われた。また、米味噌に比べ麦味噌にフェルラ酸が多く検出されるのは、原料ベースで米に比べて多く含まれることと、麦味噌仕込み時の麴歩合（米又は大麦/大豆 $\times 10$ ）が 20 以上と米味噌の場合の 10 前後に比べて約 2 倍量の原料を使用することになるため、原料からの持ち込みによるものと考えられた。

麦味噌用の 4 社（A, B, C, D）の市販種麴（各 2 種類のタイプ）を用いて製麹試験を行い、フェルラ酸の変化を調べた。淡色（AW, BW, CW, DW）および赤色麦味噌用の麴菌（AR, BR, CR, DR）を用いて 40 時間製麹した麦麴と市販米麴中の総フェルラ酸量と遊離フェルラ酸量をそれぞれ第 4 図 A, 第 4 図 B に示す。米麴中の総フェルラ酸は $73\mu\text{g/g}$ であり、麦麴に比べて低い値を示した。また、麦麴中の総フェルラ酸量は対照（麴菌無接種）の $306\mu\text{g/g}$ に対して 50~80% の存在量が認められ、ほとんどの麴で製麹中に分解あるいは他の物質に変換されたと考えられるが、その減少の程度は麴菌により差が認められた。一

第 4 図 麦麴と米麴に含まれるフェルラ酸量の比較⁴⁾
(A) 総フェルラ酸量；(B) 遊離フェルラ酸量
AW, BW, CW, DW, EW は淡色麦味噌用種麴，AR, BR, CR, DR は赤色麦味噌用種麴を使用した麦麴。Control は種麴非接種。

方、第 4 図 B に示したように遊離のフェルラ酸は米麴ではわずかに存在するものの ($2\mu\text{g/g}$)、麦麴では対照の $3\mu\text{g/g}$ に対していずれの麴でも 20~70 $\mu\text{g/g}$ と増加しており、製麹の過程で麴菌により遊離されることが分かった。特に、麴菌 DR で製麹した麴は他の麴に比べて数倍の遊離フェルラ酸量が認められ、かつ第 4 図 A に示したように総フェルラ酸量の減少も少ないことから、この麴菌はフェルラ酸ジエステルの分解活性が弱く、フェルラ酸から他の物質への代謝も少ない性質のものと思われた。

第 5 図 麦麴製麹中のフェルラ酸の変化⁴⁾

(A) 総フェルラ酸量；(B) 遊離フェルラ酸量

■ DW (淡色麦味噌用種麴) ● DR (赤色麦味噌用種麴)

第6図 フェルラ酸ラジカルの共鳴安定体⁵⁾

3. フェルラ酸に対する麹菌の作用

淡色麦味噌用麹菌(DW)および赤色用麹菌(DR)を使用した麦麴の製麴過程におけるフェルラ酸の消長を第5図に示す。製麴中の総フェルラ酸は15時間以降、徐々に減少したが、DRはDWに比べて緩やかに減少した。また、遊離のフェルラ酸はDWでは15時間後に約70 $\mu\text{g/g}$ に達した後、時間の経過とともに減少した。これに対して、DRは30時間まで緩やかに増加し、以後急速に低下した。これらのことからDWは製麴過程において遊離したフェルラ酸を逐次消費あるいは他の物質に変換していると推察され、逆にDRではその作用が緩慢であり、このためDRでは麴中に遊離のフェルラ酸が多く残存するものと考えられた。これまで数種の微生物が植物繊維に存在するフェルラ酸を代謝することが知られているが^{12),13)}、味噌製造に使用される麹菌もこのような作用を有することが示唆された。

第7図 麦麴製麴中のラジカル捕捉能とポリフェノール量の変化⁴⁾

ラジカル捕捉能：■ DW(淡色麦味噌用種麴)
● DR(赤色麦味噌用種麴)
ポリフェノール量：□ DW(淡色麦味噌用種麴)
○ DR(赤色麦味噌用種麴)

4. 大麦および大麦麴の抗酸化能

フェノール酸では水酸基の数が多くなるにつれて抗酸化能が強くなる傾向が認められ、桂皮酸が最も弱く、カフェ酸が最も強いとされる。一方、フェルラ酸はp-クマール酸やカフェ酸と異なり、スーパーオキシドジムスターゼ様の作用やスーパーオキシドで誘起される脂肪の酸化を抑制する効果があることが報告されている¹⁴⁾。フェルラ酸のラジカル安定化の状態モデルを第6図に示す。このようなことからフェルラ酸は天然抗酸化物質として食品添加物、化粧品、医薬品への展開が期待されている。

各種麹菌による麴の75%エタノール抽出液について

第8図 大麦ポリフェノール抽出物のリノール酸に対する抗酸化能²⁰⁾
(50°Cでの酸化反応をチオバルビツル酸法により測定)
■ 対照(抗酸化剤無添加) △ BHA
● ポリフェノール抽出物 ○ α-トコフェロール □ BHT ▲ アスコルビン酸

てBloisの方法¹⁵⁾によりDPPHラジカル捕捉能を測定した。総ポリフェノール量は麴抽出液に0.2Nフェノール試液を加えて発色させ700nmの吸光度を測定し、標準液として用いた(+)カテキンの濃度に換算して表した¹⁶⁾。麴菌DWおよびDRを用いた麦麴の製麴過程における麴抽出液のラジカル捕捉能と総ポリフェノール含量の変化を第7図に示す。総ポリフェノールは製麴前的大麦には0.53mg/g含まれるが、製麴時間の経過とともにその量は増加し、製麴後は約3~4倍の値となった。一方、麴抽出液のDPPHラジカルの捕捉能も製麴時間の経過とともに強くなる傾向を示し、製麴開始時の25 μ M(アスコルビン酸相当濃度)から終期には100 μ M以上の値になった。また、製麴終期にDWに比べてポリフェノール含量が多くなるDRではラジカル捕捉能も強くなる傾向が認められた。以上のことから、麦麴に特有の強い抗酸化能には麴の製麴過程で生成するポリフェノールが影響しているものと考えられた¹⁷⁾。しかしながら、フェルラ酸については製麴終期では減少していることから、CHENら^{18),19)}が報告しているように植物体に含まれる種々のポリフェノールが抗酸化を示すことを考慮すると、フェルラ酸以外のポリフェノールやその他の成分が抗酸化能に寄与しているものと考えられた。大麦由来のポリフェノールの抗酸化能作用について、玉川ら²⁰⁾は第8図に示すように大麦糠から抽出したポリフェノールを主成分とする抽出物について、その抗酸化能を測定し、リノール酸からの過酸化物生成に対する抑制効果を認めている。

これらのことから、麦味噌に使用される大麦にはフェルラ酸などのフェノール酸をはじめ種々のポリフェノール類が多く含まれ、特に製麴段階で麴菌の作用によりこれらが遊離あるいは分解されることが判明したが、今後これらの物質が味噌の熟成・発酵の過程でどのような成分に変化し、麦味噌の品質に影響を及ぼすのかを検討する必要がある。

おわりに

以上、穀類に存在するフェルラ酸の生合成経路や存在形態、さらにフェルラ酸の抗酸化活性に関する研究例を紹介した。また、これまで明らかでなかった大麦麴と麦味噌に含まれるフェルラ酸の変化と抗酸化活性について著者らの研究例を紹介した。この中で麦味噌

および米味噌に含まれる遊離および総フェルラ酸を分析したところフェルラ酸は麦味噌に多く含まれることがわかった。これは原料である大麦にフェルラ酸が多く含まれることによるものと考えられた。また、麦麴には米麴に比べて総フェルラ酸、遊離フェルラ酸含量ともに多く、特に製麴初期にはほとんど検出されない遊離フェルラ酸は40時間後の麴には多量に見い出された。この麴中の遊離フェルラ酸含量は麴菌の種類によって異なったが、これは製麴過程で結合態のフェルラ酸を分解あるいは他の物質へ変換する能力の差によるものと思われた。今後は遊離したフェルラ酸が製麴過程あるいは味噌の熟成過程でどのような物質に変化するのかを明らかにしたいと考える。

麦麴のエタノール抽出液のDPPHラジカル捕捉能と総ポリフェノール含量には正の相関が認められること、この抗酸化活性は製麴過程でのポリフェノールの増加とともに強くなる傾向が認められることから、フェルラ酸のみならず他のポリフェノール類も関与しているものと考えている。このように大麦に特徴的な物質変化の解明を進めることで麦味噌の特性も明らかになるものと思われる。

〈*熊本県工業技術センター,**熊本県食品加工研究所〉

文 献

- 1) 藤波 博子: 味噌の科学と技術, **47**(10), 342 (1999)
- 2) L. BRAVO, R. ABIA, F. SAURA-CALIXTOF: *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1481 (1994)
- 3) 玉川浩司, 飯塚崇史, 小堀真珠子, 新本洋士, 津志田藤二郎: 日食科工, **45**(7), 420 (1998)
- 4) 松田茂樹, 工藤康文: 日食保蔵誌, **26**(4), 199 (2000)
- 5) E. GRAF: *Free Radical Biology & Medicine*, **13**, 435 (1992)
- 6) 加藤陽治: 醸協, **87**(2), 107 (1992)
- 7) K. WAKABAYASHI, T. HOSONO, S. KAMISAKA: *Plant Physiol.*, **113**, 967 (1997)
- 8) A. HARUKAZE, M. MURATA and S. HOMMA: *Food Sci. Technol. Res.*, **5**(1), 74 (1999)
- 9) 西澤千恵子, 太田剛雄, 江頭祐嘉合, 真田宏夫: 日食科工, **45**(8), 499 (1998)
- 10) N. SHIBUYA: *Phytochemistry*, **23**(10), 2233 (1984)

- 11) R. TILLET, J. R. L. WALKER: *Arch. Microbiol.* **154**, 205 (1990)
- 12) T. OHTA, S. YAMASAKI, Y. EGASHIRA, H. SANADA: *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 653 (1994)
- 13) 小関卓也, 伊藤康朗, 伊藤 清, 岩野君夫, 蓼沼 誠: 醸協, **89**(5), 408 (1994)
- 14) S. TODA, M. KUMURA and M. OHNISHI: *Planta Medica.*, **57**, 8 (1991)
- 15) BLOIS, M. S.: *Nature*, **4617**, 1198 (1958)
- 16) S. KAMISAKA, S. TAKEDA, K. TAKAHASHI, K. SHIBATA: *PHYSIOLOGIA PLANTARUM*, **78**, 1 (1990)
- 17) M. MATSUO: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**(12), 1968 (1997)
- 18) J. H. CHEN and C. T. HO: *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2374 (1997)
- 19) S. N. Onyeneho and N. S. Hettiarachchy: *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1496 (1992)
- 20) 玉川浩司, 飯塚崇史, 福島 誠, 遠藤好司, 小宮山美弘: 日食科工, **44**(7), 512 (1997)

執筆者紹介 (順不同・敬称略)

松田茂樹<Shigeki MATSUDA>

昭和25年7月2日生れ<勤務先とその所在地>熊本県工業技術センター, 〒862-0901 熊本市東町3-11-38<略歴>昭和48年宮崎大学農学部農業化学科卒, 同年熊本県庁入庁, 熊本県衛生公害研究所を経て, 50年熊本県工業試験場技師, 現在熊本県工業技術センター微生物応用部研究参事(工学博士)。<抱負>熊本県の食品産業, 特に発酵食品分野の企業振興に微力を尽くしたい。<趣味>魚釣り, 山歩きと収集癖(魚類切手, 松尾芭蕉の文献等)。

工藤康文<Yasufumi KUDOH>

昭和30年3月31日生れ<勤務先とその所在地>熊本県食品加工研究所研究開発課, 〒862-0901 熊本市東町3-11-38<略歴>昭和54年九州大学農学部農学科卒, 同年熊本県庁入庁, 昭和56年熊本県農業試験場園芸支場畑作部勤務, 平成2年熊本県食品加工研究所研究開発課勤務, 現在に至る。<抱負>県産農産物を素材とした発酵食品の機能性の向上<趣味>「春, 夏, 秋はシーカヤック, 冬はスキー」といえば, 典型的なアウトドア人間であるが, 実際は家でゴロゴロしていることが多い。