

紅麹発酵物の製造に関する研究

比嘉賢一、鎌田靖弘

沖縄の伝統食材である紅麹を用い、血圧上昇抑制作用をもつ - アミノ酪酸 (GABA) およびモノコリンK (Lovastatin) に着目し、これら成分を高生産する紅麹もろみ発酵条件の検討を行った。その結果、紅麹飲料としてGABAを高生産する至適発酵条件を決定した。また、本紅麹もろみ発酵技術は、菌体生育と酵素生産を目的とする製麹技術並びに原料の液化作用を目的とするもろみ発酵技術を併せ持つ非常にユニークな発酵技術であることが推察された。

1 はじめに

日本人の平均寿命は年々延び続け、男女とも世界一であり、現代日本社会は超高齢化社会を迎えようとしている。一方で、高齢化に伴う身体機能の低下やこれまでの食生活に起因する肥満、糖尿病および高血圧症をはじめとする生活習慣病が社会的な問題として大きくクローズアップされている。

紅麹は、糸状菌の一種である *Monascus* 属を用いて製造される麹であり、漢方薬として古くから利用されてきた。また、その効用には消食活血 (消化を助け、血をよみがえらせる) および健脾乾胃 (内臓を健やかにし胃の調子を整える) の作用があることが知られている。最近の研究では血圧降下作用や血糖値低下作用およびコレステロール低下作用が報告されている¹⁾。紅麹には高脂血症抑制作用を有するモノコリンK (Lovastatin) や - アミノ酪酸 (以下GABA) が含まれており、特にGABAは平成16年に特定保健用食品の有効成分となった血圧降下作用を有する成分である。

食品全体の「健康食品化」が進む中、訴求力を維持できる商品が市場より求められており、本研究では、紅麹のLovastatinおよびGABA生産量を指標として合資会社あさひの保有する特許技術を活用した紅麹もろみ²⁾の至適発酵条件を検討し、最適発酵条件を確立した。

2 実験方法

2 - 1 供試種麹

紅麹もろみの発酵及び発酵特性の比較に用いた紅麹菌種麹及び黄麹菌種麹は合資会社あさひ保有の種麹を用いた。

2 - 2 紅麹もろみ発酵原料の調製

発酵原料は、市販無洗米あきたこまち (沖縄食糧社製) を用い、炊飯ジャー (象印マーホーピン社製、NS-SE10V6) を用いて炊飯米として調製した。また、炊飯時の添加水分量 (原料に対する百分率) を汲水歩合として定義し、汲水歩合を133%、166%および200%に調製した炊飯米

を発酵原料として用いた。

2 - 3 紅麹もろみの発酵

紅麹もろみの発酵は、原料の炊飯米に紅麹および黄麹の種麹を添加後よく攪拌し、蓋付きステンレスバット (240×360×60H) を発酵容器として用いて、恒温恒湿機 (日立製作所社製、EC-43HHP) にて発酵を行った²⁾。発酵の経過とともに炊飯米は液化し、発酵生成物は水分約60%の液化米が得られた。

2 - 4 紅麹もろみの菌体量および酵素力価の測定

紅麹もろみの水分はアルミニウム箔法、菌体量の指標としてN-アセチルグルコサミン量 (以下N-Ac-Glu) を麹菌体分析キット (キッコーマン社製)、酸性カルボキシペプチダーゼ活性 (以下ACP) は酸性カルボキシペプチダーゼ測定キット (キッコーマン社製)、グルコアミラーゼ活性 (以下GA) および酸性プロテアーゼ活性 (以下AP) は国税庁分析法注解³⁾ に準じて測定を行った。また、遊離アミノ酸およびGABAの定量は5%トリクロロ酢酸にて除タンパク後、高速アミノ酸分析計 (日立製作所社製、L-8800) を用いて測定した。モノコリンK (Lovastatin) の定量は、60%エタノール溶液にて抽出後⁴⁾ HPLC (島津製作所製、LC-ADvp)、カラム (和光純薬社製、Wakosil- 5C18) を用いて測定を行った。

2 - 5 グルタミン酸脱炭酸酵素活性

GABA生産量の指標となる糸状菌のグルタミン酸脱炭酸活性は土谷ら⁵⁾の方法に従って測定した。

3 実験結果及び考察

3 - 1 Lovastatinの産生

紅麹には高脂血症抑制作用を有するLovastatinの存在が報告されているのでGABAの至適発酵条件の検討と併せてLovastatin産生を検討した。

図1にLovastatinの標品及び紅麹もろみのHPLCクロマトグラムを示した。ピークP2はLovastatinのリテンションタイムとほぼ一致したがUVスペクトルパターンが異

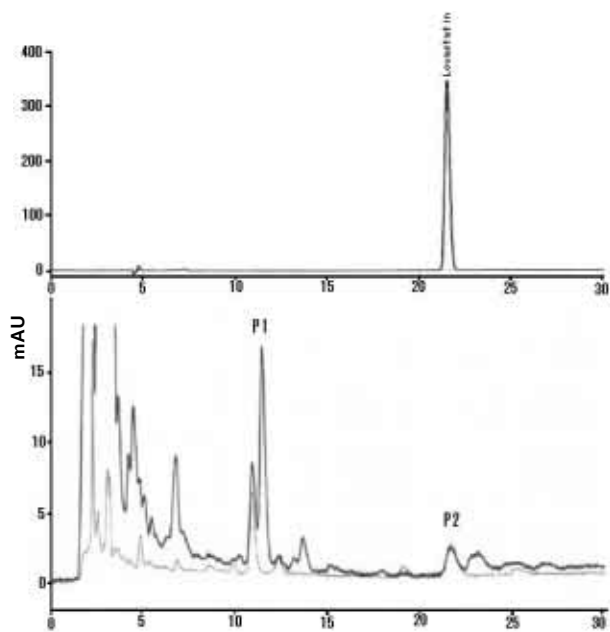


図1 Lovastatinの標品および紅麹もろみのHPLCクロマトグラム

—— 238nm - - - - 400nm

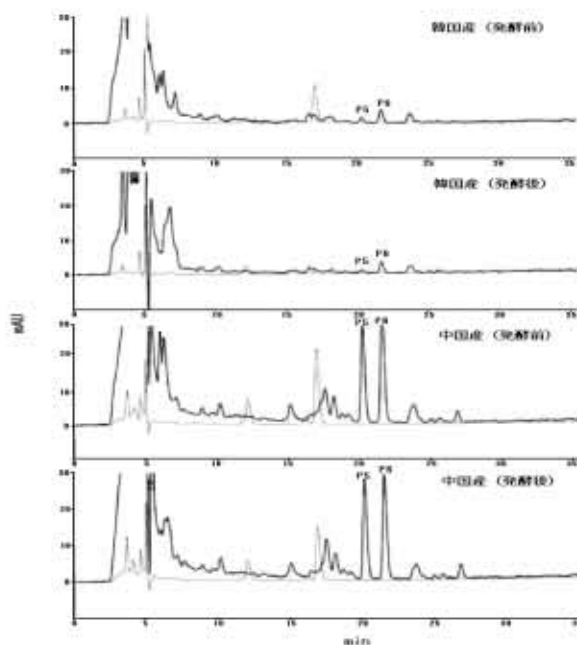


図3 韓国産および中国産種麹にて発酵した紅麹もろみのHPLCクロマトグラム

—— 238nm - - - - 400nm

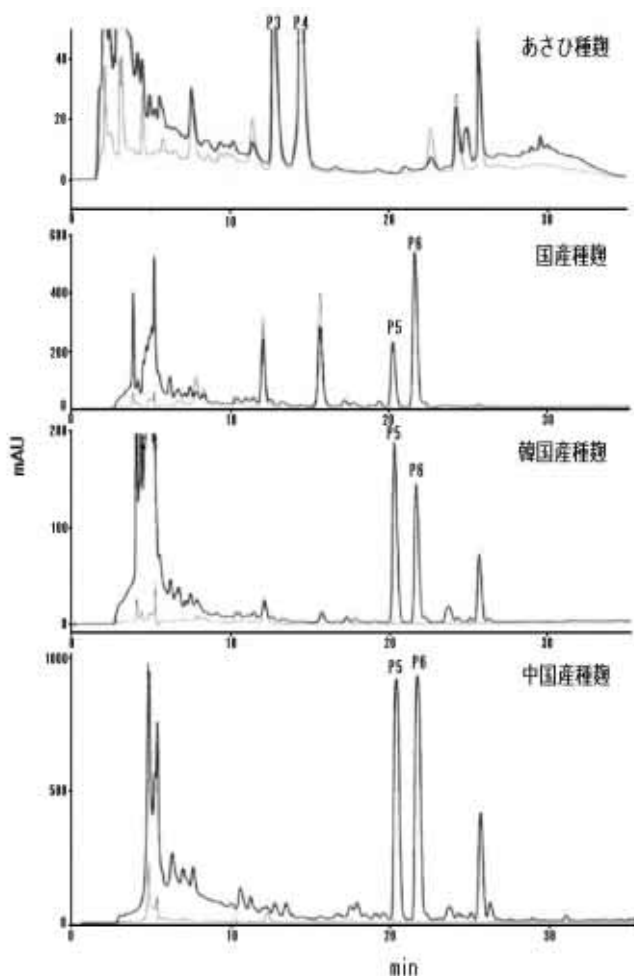


図2 種麹のHPLCクロマトグラム

—— 238nm - - - - 400nm

なるためLovastatinではないことが判明した。また、GABA高生産の条件下で検出されたP1はUVスペクトルがLovastatinの標品と類似していることから、スタチン系の化合物（Compactin、Fluvastatin、SimvastatinおよびPravastatin）と推察したが、リテンションタイムは一致しなかった。

Lovastatinが産生しなかった要因に、種麹が影響していると推測されたので、あさひ種麹、国産種麹、韓国産種麹および中国産種麹についてLovastatinの含有量を測定した。図2に示したように、あさひ種麹は他の種麹とは異なるクロマトグラムが得られた。ピークP3およびP4はあさひの種麹にのみ確認された成分であり、400nmに吸収を有することからあさひ種麹に特有の色素成分であることがわかった。また、あさひ以外の種麹に共通する成分にピークP5およびP6が検出された。ピークP6はLovastatinのリテンションタイムとそのUVスペクトルが一致することからLovastatinの酸形であると判断した。またピークP5は廉屋らの特許公報⁴⁾から Lovastatinのラクトン形と推定した。Lovastatinの酸形およびLovastatinのラクトン形の含有量は、各種麹で異なり国産種麹には酸形、韓国産はラクトン型が多く、中国産には両形が等量含有されているのが特徴であった。あさひ種麹には、両成分とも検出されなかった。

次に、GABA高生産の至適条件下で、韓国産と中国産種麹を用いて紅麹もろみの発酵を行った。図3に紅麹もろみのHPLC分析結果を示した。

GABA高生産の発酵条件において、韓国産および中国産種麹を用いた紅麹もろみからLovastatinが検出され、その濃度は、種麹が含有するLovastatin量を反映し、かつ発酵前後で変化が認められなかった。

以上の結果より本発酵条件は、Lovastatinの消長には関与せず、種麹由来のLovastatinを紅麹もろみに反映することが推察され、種麹におけるLovastatin産生が重要であると推測された。

そこで、種麹のLovastatin含有の相違は、菌株の影響か、製麹条件の影響か検討を行った。各種麹をあさひ製麹条件にて製麹を行い得られた種麹のHPLC分析を行った。図4に示したように、各種麹ともあさひの条件にて製麹した種麹ではピークP5およびP6の検出は低く、Lovastatinの生成には種麹製麹条件が大きく影響を与えていることが確認された。

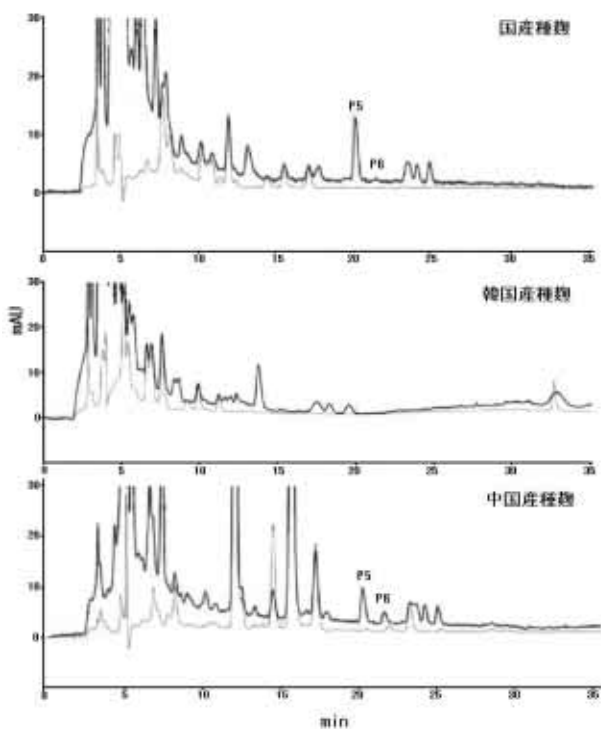


図4 あさひの製麹条件で製麹した各種麹のHPLCクロマトグラム

—— 238nm - - - - 400nm

3 - 2 紅麹もろみの発酵時間の検討

図5および図6に示したようにGABAおよびアミノ酸総量は発酵時間とともに増加し、GABAの生産量は48時間以上の発酵時間でも高生産を示すことが示唆されたが、アミノ酸総量において29時間から48時間における増加が少ないこと、48時間以上の発酵は変敗の可能性が高い等の理由から、発酵時間は48時間に決定した。

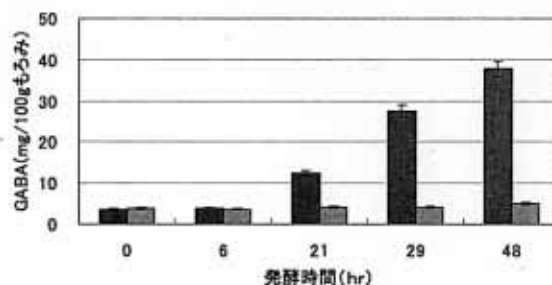


図5 GABA産生量の経時変化

■ 汲水歩合166%、発酵温度45°C ▨ 汲水歩合166%、発酵温度50°C

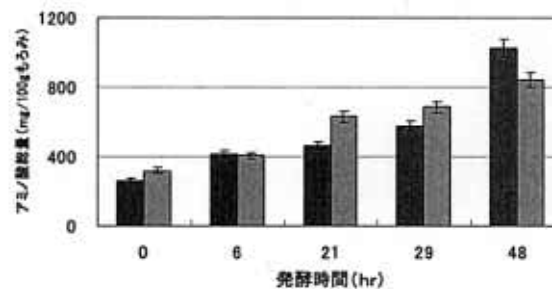


図6 遊離アミノ酸総量の経時変化

■ 汲水歩合166%、発酵温度45°C ▨ 汲水歩合166%、発酵温度50°C

3 - 3 汲水歩合の検討

炊飯米調製時の水分割合を汲水歩合として定義しその添加量を検討した。

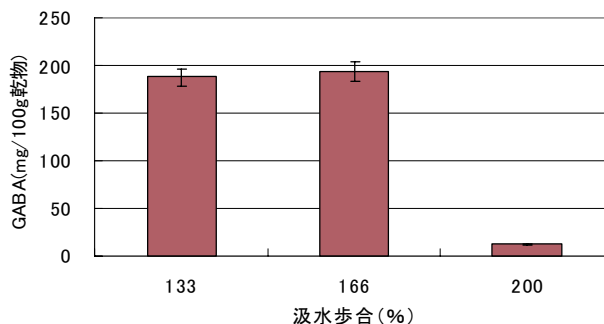


図7 GABAの産生に及ぼす汲水の影響

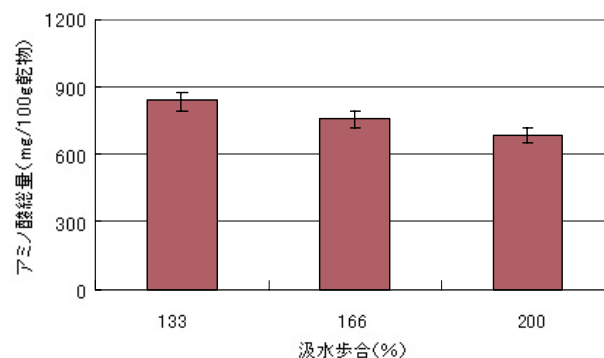


図8 遊離アミノ酸総量に及ぼす汲水の影響

GABAの産生については、図7に示したように133%および166%汲水歩合において高い産生量を示し、200%の高汲水歩合では、GABAの産生量は低かった。また、アミノ酸総量の産生（図8）には汲水歩合の影響が認められないことから、汲水歩合133%および166%においてGABAを優先的に産生していることが確認された。

菌体量の指標となるN-Ac-Glu量は汲水歩合が高くなるにしたがい増加する傾向が認められたが、菌のAP活性、およびGA活性は、汲水歩合が高くなるにしたがい低下した（図9、10、11）。岡崎らは黄麹菌の製麹において酵素生産に蒸米水分が大きな影響を与え、低蒸米水分の条件下で酵素生産が高くなることを報告している。紅麹もろみの発酵条件は、清酒の製麹条件に比較して高い蒸米水分の条件で発酵を行っているが、岡崎らの結果と一致した。

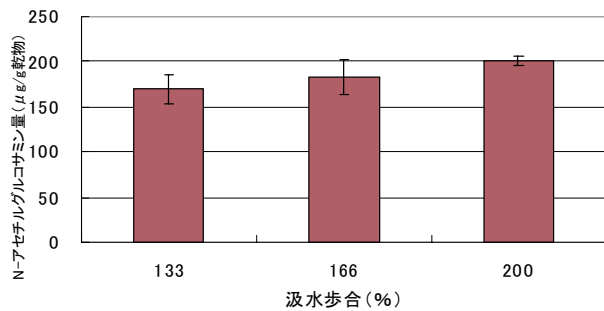


図9 N-Ac-Glu量に及ぼす汲水の影響

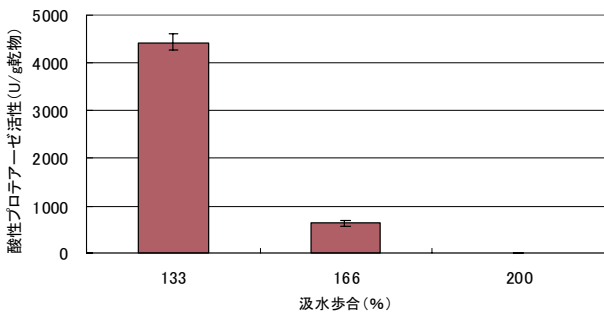


図10 酸性プロテアーゼ産生に及ぼす汲水の影響

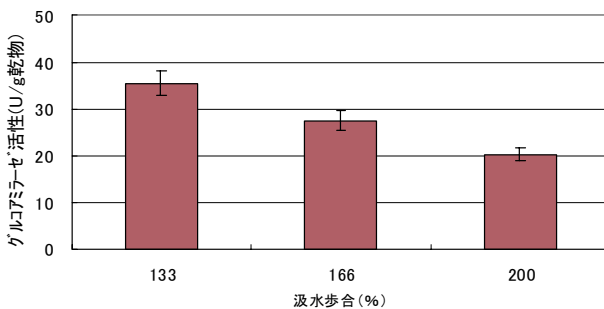


図11 グルコアミラーゼ産生に及ぼす汲水の影響

3-4 発酵温度の検討

紅麹もろみのGABA産生に及ぼす発酵温度の影響について検討を行った。（図12 - 図15）

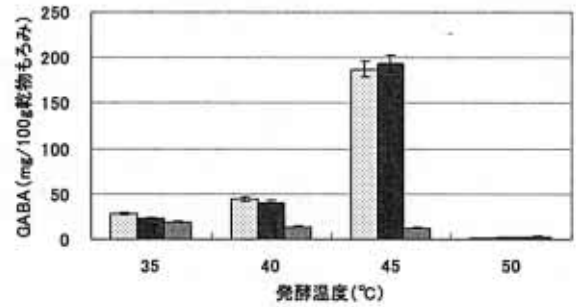


図12 GABA産生に及ぼす発酵温度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

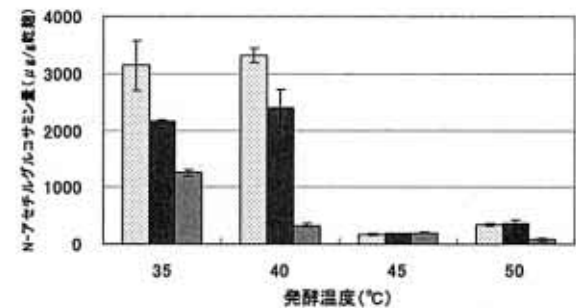


図13 N-Ac-Glu量に及ぼす発酵温度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

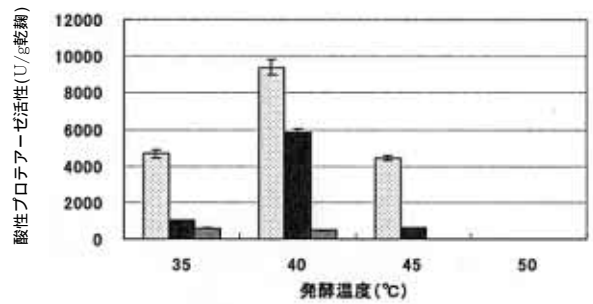


図14 AP活性に及ぼす発酵温度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

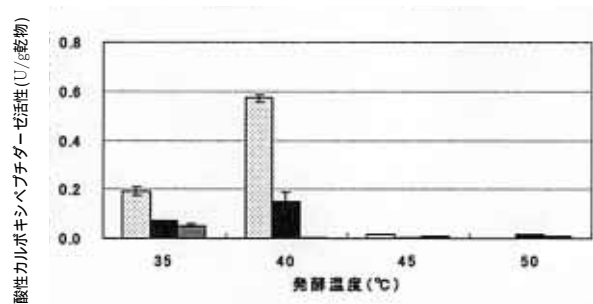


図15 ACP活性に及ぼす発酵温度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

各汲水歩合において発酵温度45℃におけるGABA産生量が最も高い値を示し、GABA産生の至適温度は45℃であることが確認された。N-Ac-Glu含有量は35%及び40%の発酵温度において高い値を示し(図13)、それを反映してAP活性およびACP活性も35%および40%の発酵温度が高い値を示した(図14、15)。岡崎ら⁶⁾は黄麹菌の製麹において麹菌の比増殖速度は37.5で最大値を示し、酵素の生産は菌の増殖とともに生産される増殖連動型であることを報告している。紅麹もろみの発酵条件下で、35%および40%における発酵は、紅麹菌の増殖および酵素生産から製麹工程と同様に麹菌の生育を中心とした発酵を行っていると同推察され、GABAの産生は酵素生産とは異なる条件下で産生していることが確認された。また、発酵温度が高い条件では紅麹もろみの液化が良好に進行することからあさひの保有する紅麹もろみ発酵技術は、菌体生育と酵素生産を目的とする製麹技術と原料の液化、糖化作用を目的とするもろみ発酵技術を併せ持つ非常にユニークな発酵技術であることが推察された。

3-5 環発酵湿度の検討

紅麹もろみの発酵に及ぼす発酵湿度の影響を検討した。発酵湿度の増加に伴いGABA産生量は増加し、またGABA産生における至適湿度は98%であることを確認した(図16)。N-Ac-Glu含有量(図17)、AP活性及び(図18)ACP活性は発酵湿度の増加に伴い減少した(図19)。以上のことから発酵湿度の影響についても、発酵温度の影響と同様に麹菌体および酵素生産とは異なる条件下でGABAが多く産生していた。

3-6 グルタミン脱炭酸活性の検討

麹菌のGABA生成能の指標となるグルタミン酸脱炭酸活性の測定結果を表1に示した。あさひ保有の紅麹菌株は黄麹菌および国産紅麹に比較してグルタミン酸脱炭酸活性は低い値を示した。しかし、本研究の発酵条件下では紅麹菌単独の発酵が、黄麹併用の発酵(データ未提示)と同程度のGABA産生(200mg/100g乾もろみ)を示し、麹菌のグルタミン酸脱炭酸活性より発酵条件がGABA産生へ大きく影響を与えることがわかった。

表1 各麹菌のグルタミン酸脱炭酸活性 単位: U/g麹

あさひ紅麹	あさひ黄麹	国産紅麹	韓国産紅麹	中国産紅麹
0.215	0.796	1.198	0.074	検出限界以下

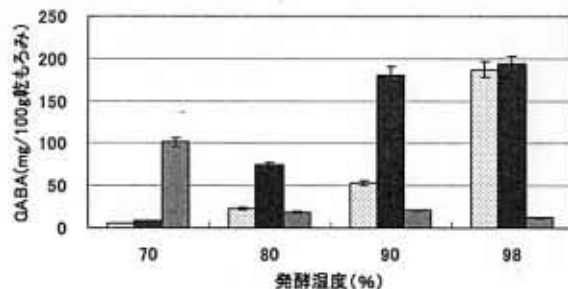


図16 GABAの産生及ぼす発酵湿度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

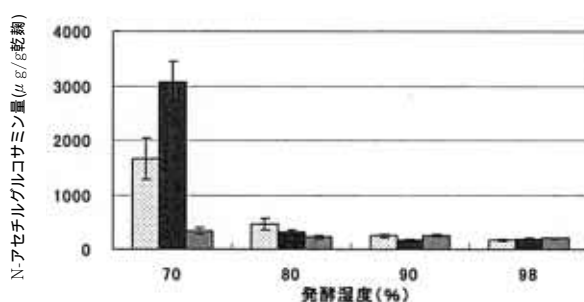


図17 N-Ac-Glu量及ぼす発酵湿度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

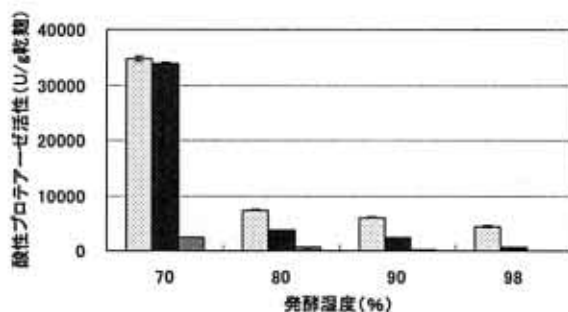


図18 AP活性及ぼす発酵湿度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

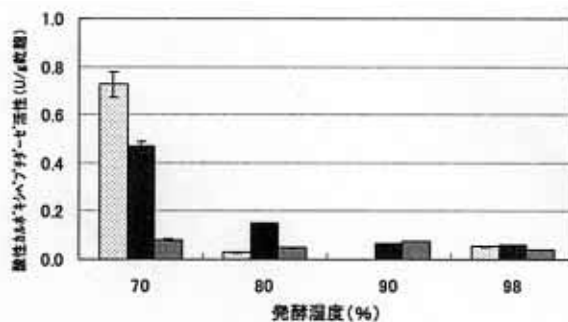


図19 ACP活性及ぼす発酵湿度の影響

● 汲水歩合133% ■ 汲水歩合166% ▨ 汲水歩合200%

4 まとめ

第74巻，第10号，pp.683-686（1979）

紅麹もろみの発酵条件を検討した結果、以下のことが明らかとなった。

Lovastatinの産生は紅麹もろみ発酵条件より種麹製麹における条件が大きく寄与することが確認された。

GABAの産生量は、汲水歩合133%および166%において高い産生量を示し、汲水歩合200%のでは、GABAの産生量は低かった。

発酵温度45℃におけるGABA産生量が最も高い値を示し、紅麹もろみにおけるGABA産生の至適温度は45℃であることが確認された

あさひの保有する紅麹もろみ発酵技術は、菌体生育と酵素生産を目的とする製麹技術と原料の液化、糖化作用を目的とするもろみ発酵技術を併せ持つ非常にユニークな発酵技術であることが推察された

本研究の結果から具体的には、汲水歩合133%及び166%、発酵温度45℃および発酵湿度98%の条件を設定することで紅麹もろみにおけるGABAを高生産することが可能である。

謝辞

本研究は平成16年度中小企業産業技術研究開発（地域中小企業支援型研究開発）委託費委託研究テーマとして行ったものであり、ご指導を賜りました独立行政法人産業技術総合研究所生物機能工学研究部門の丸山進先生、共同研究体として紅麹もろみ発酵技術に関する情報を提供していただきました合資会社あさひの赤嶺厚司社長に深く感謝致します。

参考文献

- 1) 辻啓介，市川富雄，田辺伸和，阿部史朗，樽井庄一，中川靖枝，紅麹食品が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響，日本食品工業学会誌，Vol.39，No.10，pp.919-924（1992）
- 2) 赤嶺 厚司，大城 実，紅麹もろみの製造方法及びその紅麹もろみを用いた食品，特開2004-313024号（2004.11.11）
- 3) 第四回改正国税庁所定分析法注解，注解編集委員会，（財）日本醸造協会，pp.211-228（1993）
- 4) 廉屋 巧，田邊 伸和，紅麹およびその製造法，特開2001-204460号（2001.7.31）
- 5) 土谷紀美，西村賢了，醸造用糸状菌のグルタミン酸脱炭酸活性とその特性，日本醸造協会誌，第97巻，第6号，pp.382-386（2002）
- 6) 岡崎直人，竹内啓修，菅間誠之助，製麹条件の増殖および酵素生産におよぼす影響，日本醸造協会誌，

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。