

ハトムギを用いた紅麴の発酵条件と発酵により得られる有用成分に関する研究

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者	岡田, 幸子 多田, 幹朗 河野, 勇人 三宅, 剛史
巻/号	36巻4号
掲載ページ	p. 173-176
発行年月	2010年7月

ハトムギを用いた紅麴の発酵条件と発酵により得られる有用成分に関する研究

岡田幸子*¹・多田幹朗*²・河野勇人*³・三宅剛史*³

*1 ㈱半鐘屋

*2 中国学園大学現代生活学部

*3 岡山県工業技術センター

Establishment of Solid Culture Method for *Coix Lacryma-jobi* with *Monascus pilosus*

OKADA Sachiko*¹, TADA Mikio*², KONO Isato*³ and MIYAKE Tsuyoshi*³

*1 Hanshoya Co. Ltd., 23, Fushimi-cho, Tsuyama, Okayama 708-0032

*2 Faculty of Livelihood, Chugoku Gakuen University, 83, Niwase, Kita-ku Okayama, Okayama 701-0197

*3 Industrial Technology Center of Okayama Prefecture, 5301, Haga, Kita-ku Okayama, Okayama 701-1296

Coix lacryma-jobi var. *ma-yuen* contains functionally important nutritional constituents. *Monascus pilosus* is a microorganism used for the preparation of koji, and it also contains biologically active components. Therefore, production of koji with *Monascus pilosus* contributed to the development of foods of high nutritional value. However, there has been no detailed study on solid fermentation of *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* with *Monascus pilosus*. In the present study, we performed solid fermentation and traced the time-dependent production of functional constituents during the fermentation process. The production of free amino acid, γ -aminobutyric acid (GABA), anti-oxidant activity, and OD₅₀₀ value was found to increase with the growth of *Monascus pilosus*.

(Received Dec. 21, 2009 ; Accepted May 26, 2010)

Key words : *Coix Lacryma-jobi*, solid culture, GABA, TAS activity, *Monascus pilosus*

ハトムギ, 固体培養, γ -アミノ酪酸, 抗酸化活性, 紅麴菌

ハトムギ (*Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen*) は東南アジアを原産とする穀物であり, 消炎, 利尿, 排膿, 鎮痛, 緩下など, さまざまな作用が知られている¹⁾。古くから食用および漢方薬や民間薬としても用いられてきた。このハトムギを精白したものは, 薏苡仁 (ヨクイニン) と称され, 日本薬局方に記載されている¹⁾。その薬理成分としては, 抗癌作用物コイクセノリド²⁾および, 排卵誘起物質³⁾等の機能性成分が単離されている。

また, ハトムギは, 米や麦, 粟, きび, ひえなどの, ほかの穀物と比較して, たんぱく質, 脂質の含有量が多く, 有用アミノ酸も比較的バランスよく含まれ, 糯性で粘りがあるなどの特徴がある。米と混炊したり, 餅などにして, 食品としても用いられてきた⁴⁾。

一方, 紅麴菌 (*Monascus pilosus*) は, 中国, 台湾および沖縄などで, 豆腐よう (豆腐餅), 紅酒等の発酵食

品製造のための麴菌として用いられてきた^{5), 6)}。これらの麴は, 紅麴菌の菌糸の発育が進むに従い, 深紅赤色の鮮やかな色を呈することから紅麴と呼ばれる。中国の古書「本草綱目」には, 「消食活血」(消化を助け, 血行をよくする) とその効能が記載され, 薬用菌類としても利用されてきた⁷⁾。さらに遠藤らによって発見されたモノコリンKは, コレステロールの生化合物を阻害することがわかっている⁸⁾。また, 血圧降下作用^{9)~13)}のあることなど, 生理活性に関する論文が数多く発表されている。

以上のことから, ハトムギを基質として, 紅麴を作製することで, 機能性の高い食品開発につなげることができると考えられた。しかしながらハトムギ紅麴の製造については詳細に検討されていなかった。そこで筆者らは, ハトムギの, 紅麴菌を用いた固体培養による製造法を調整した。さらにこの固体培養法過程における, 色素生成

*1 〒708-0032 岡山県津山市伏見町23

*2 〒701-0197 岡山県岡山市北区庭瀬83

*3 〒701-1296 岡山県岡山市北区芳賀5301

§ Corresponding author, E-mail: hanshoya@k6.dion.ne.jp

量, 遊離アミノ酸含量, γ -アミノ酪酸 (GABA) 生成量および抗酸化能 (TAS活性) の推移について調べた。

実験方法

1. 供試材料

供試紅麴として, グンゼ研究開発センター製の粒湿体 (1G-WL-K5, *Monascus pilosus* IFO4520) を用いた。また供試ハトムギとして, 福田龍製の市販ハトムギを用いた。この供試ハトムギは, 精白していても胚芽が残っている状態のもので, 米に比べ粒体が大きく硬質である。

2. ハトムギの吸水・蒸煮方法

供試ハトムギは, 室温下で2倍量の水に10時間流水浸漬し, 含水率39%前後の浸漬物を得た。この浸漬ハトムギを, 蒸煮装置 (SanpoスーパーポイラーS-1, 三宝ステンレス工業製) を用いて, 蒸煮・殺菌処理した。

3. ハトムギ紅麴の固体培養方法

固体培養は, インキュベーター (ヤエガキ多段式自動醗酵機HKW-60型, ヤエガキF&S製) を用いて行った。培養温度は, $34 \pm 2^\circ\text{C}$ に設定した。

4. 含水率測定

含水率は, 供試ハトムギに当倍量の水を加えて室温下で静置し, 経時的にケット法により調べた。

5. 色度の測定

色度として, 測定サンプルを10倍量の60%エタノールに3日間浸漬後, 濾過 ($\phi 0.20\mu\text{m}$) した溶液の500nmにおける吸光度 (OD_{500}) を測定した。

6. 菌体量の測定

菌体量は, グルコサミン含量測定により評価した。サンプル0.5gを60%硫酸2mlに加え24時間放置し, 水で1Nに希釈した後, 121°C で1時間加水分解した。この加水分解物を中和してアセチルアセトン試薬と共に 90°C で1時間加熱後水冷し, 96%エタノール5mlとエールリッヒ試薬0.5mlを加え攪拌して1時間放置した。調整した溶液の530nmにおける吸光度 (OD_{530}) を測定 (UV-1200, 島津製作所製) して菌体量を求めた。

グルコサミン含量と530nmにおける吸光度 (OD_{530}) の計算式を次に記す。

$$y = 0.017x + 0.006$$

$$(y; \text{OD}_{530}, X; \text{グルコサミン量 (mg/100ml)})$$

7. 抗酸化活性測定方法

抗酸化活性は, 抗酸化能測定キットTAS (Total Antioxidant Status) キット (Randox laboratories製) を用いた。サンプルの乾燥粉末水溶液 (50mg/ml) を被験液として用い, そのTAS活性を測定し, トロロックス等量で求めた。

8. アミノ酸分析

遊離アミノ酸は, サンプルの乾燥粉末を10倍量の60%エタノールに3日間浸漬し, 濾過 ($\phi 0.20\mu\text{m}$) したものを, アミノ酸分析計 (JLC-500/V, 日本分光製) を用いて分析した。

実験結果および考察

1. ハトムギ紅麴の固体培養法の検討

紅麴菌の培養には, 液体培養法と固体培養法があるが, 固体培養において液体培養時よりも大量の酵素を分泌生産することがわかっている¹⁴⁾。また, 固体培養では, 乾燥・粉末化などの後処理も簡便であることから, 本研究では固体培養における次の諸条件について検討した。

(1) ハトムギの吸水条件の検討 原料に使用したハトムギは, 非常に硬質であり, 米よりも粒度が大きいため十分な吸水には, 長い時間を要すると思われた。そこで吸水条件を調べた。その結果, データには示さないが約7時間で飽和状態に達することがわかった。従って, 以下の実験は, 十分な時間をとり, ハトムギを10時間浸漬したものを用いた。

(2) 紅麴菌の接種菌量の検討 固体培養における紅麴菌の植菌量について検討した。まず, 洗浄と雑菌の増殖の抑制のために, 流水中で浸漬し十分吸水させた供試ハトムギを1時間蒸煮した。蒸煮ハトムギは, 40°C まで冷却した後, 紅麴菌を供試ハトムギの重量に対して, それぞれ1%, 3%, 5%, 10%植菌し, 開放型の発酵箱に入れ, インキュベーター内で静置培養し, 生育状態を肉眼観察することにより評価した。その結果, 種麴菌量が10%未満の製麴条件では, 紅麴菌の生育が不良であり, 1%と3%では20日間培養しても紅麴菌の生育がみられず, また5%では生育が遅く, 発色が不良であった。10%の植菌量では十分な発育が認められたことから, 植菌量は10%以上を用いることが必要であるとわかった。

(3) 紅麴菌の増殖性 蒸煮ハトムギを発酵箱に入れ, 紅麴菌を10%植菌した。ハトムギ紅麴の固体培養において, 菌体量は培養10日目までは増加したが, その後の増加は認められなかった。なお, 製麴中の品温は, 培養開始~7日目までは $30 \sim 34^\circ\text{C}$, 8日目~14日目までは $35 \sim 42^\circ\text{C}$, 15日目~21日目までは $30 \sim 34^\circ\text{C}$ で推移した。

(4) ハトムギ紅麴の製造方法 以上の検討を踏まえて, ハトムギ紅麴の固体培養を以下の方法で行った。

蒸煮ハトムギを発酵箱に入れ, 紅麴菌を10%植菌した。培養温度は $34 \pm 2^\circ\text{C}$ に設定し, 製麴中の品温を $30 \sim 42^\circ\text{C}$ の範囲で推移するよう調整した。この方法により, 培養期間21日を経過した培養物をハトムギ紅麴として用いた。本培養法による培養物の写真をFig. 1に示した。

2. ハトムギ紅麴の固体培養における色素生産

紅麴菌の色素は食品着色料として利用されている。紅麴菌が産生する色素は, これまでに黄色のモナスシン, アンカフラビン, 橙赤色のルプロパンクタチン, モナスコブリン, 赤紫色のモナスコブルラン, ルプロパンクタチンの6種類が知られている¹⁵⁾。本研究では, ハトムギ紅麴の培養中における色素生産について試料抽出液の500nmにおける吸光度 (OD_{500}) の値を経時的に測定することによって検討した。Fig. 2に示したとおり, 培養初

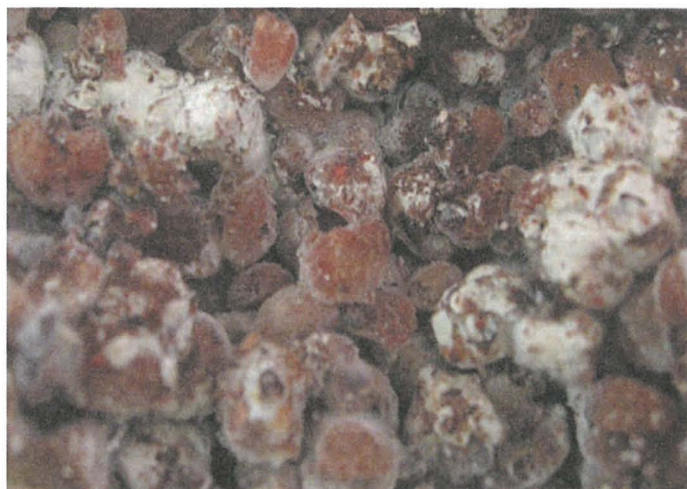


Fig. 1 *Hatomugi beni-koji* on the 21st cultivation day

Hatomugi was soaked in water for 10 h and then dehydrated. After autoclaving, the *Hatomugi* was mixed with mature *beni-koji* (10% of the total weight of *Hatomugi*) prepared with *Monascus pilosus* IFO 4520, and this mixture was incubated at $34 \pm 2^\circ\text{C}$ for 21 days.

期から色素の生産が始まり、培養15日でピークを迎え、その後は増加せずほぼ一定となることがわかった。このことから紅麹菌の菌体内で生産される色素等の代謝産物が、その菌体の生育期に生産されていると推測された。

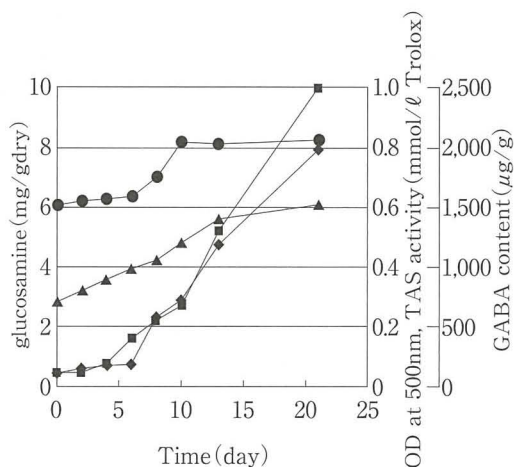


Fig. 2 Changes in glucosamine content, optical density at 500 nm, γ -amino butyric acid content, and total antioxidant status (TAS) during solid culture of *Hatomugi beni-koji*

The mycelial weight during solid culture of *Hatomugi beni-koji* was estimated from the glucosamine content (●). The OD_{500nm} value (▲), GABA content (◆), and TAS (■) in *Hatomugi beni-koji* during solid culture were estimated as described in the text.

3. ハトムギ紅麹の固体培養におけるアミノ酸組成、GABA含量の推移

固体培養における遊離アミノ酸の推移をTable 1に示した。またGABA含量の推移をFig. 2に示した。培養21

Table 1 Changes in amino acid content in *Hatomugi beni-koji* during solid culture

($\mu\text{g/g}$ dry weight)

Amino acids	<i>Hatomugi</i> (Raw material)	<i>Hatomugi beni-koji</i> (7 th cultivation day)	<i>Hatomugi beni-koji</i> (21 st cultivation day)	<i>Beni-koji</i> (1 G-WL-K 5)
Asp.	6.3	114.4	2612.9	107.4
Thr.	5.6	608.3	606.5	150.5
Ser.	11.0	216.2	991.4	135.8
Glu.	19.7	573.4	1592.5	207.4
Gly.	6.0	132.4	1481.7	88.4
Ala.	12.9	482.5	7247.3	989.2
Cys.	3.3	56.3	261.3	96.8
Val.	6.2	195.2	2763.4	0
Met.	2.7	191.9	650.5	163.1
Ileu.	3.3	140.3	2109.7	76.8
Leu.	3.6	338.8	4987.1	171.6
Tyr.	1.0	189.2	1379.1	120.0
Phe.	6.7	484.2	838.7	115.8
GABA	2.9	83.7	2531.2	392.6
Lys.	5.6	269.0	1340.9	337.9
His.	12.1	514.3	650.5	156.8
Arg.	4.0	155.1	90.3	588.4
Pro.	15.4	467.7	2086.0	88.4

Hatomugi material was mixed with mature *beni-koji* (1 G-WL-K 5 Gunze Ltd., 10% of the total weight of *Hatomugi*) prepared with *Monascus pilosus*, and this mixture was incubated at $34 \pm 2^\circ\text{C}$ for 21 days. The amino acid content in *Hatomugi beni-koji* was measured as follows: 5 grams of the sample was soaked in 50ml of 60% ethanol solution for 3 days and the filtrate ($\phi 0.20 \mu\text{m}$) was analyzed using a JLC-500/V amino acid analyzer.

日目まで、アルギニンなどの一部のアミノ酸を除き、ほとんどのアミノ酸含量が増大した。アミノ酸の一種であるGABAは、血圧降下作用等の機能性を有することが知られている。供試ハトムギ中のグルタミン酸含有量は20 $\mu\text{g/g}$ 程度であり、GABA含有量は、3 $\mu\text{g/g}$ 程度であった。固体培養により、7日間後には83 $\mu\text{g/g}$ に、21日間後には2,531 $\mu\text{g/g}$ と増大した (Fig. 2)。なお、米では、吸水過程において、GABA含量の増大が報告されているが¹⁰⁾、ハトムギについては顕著な増大は認められなかった (データは示していない)。

4. ハトムギ紅麴の固体培養における抗酸化活性の推移

固体培養における抗酸化活性 (TAS活性) の推移を Fig. 2に示した。ハトムギ紅麴を培養すると、紅麴菌の生育に従って、抗酸化活性が高まることがわかった。このTAS活性は、紅麴菌の生産物、あるいはハトムギの代謝分解物等に由来すると考えられた。

TAS活性を示す機能性物質については、今後の解明が待たれる。この抗酸化性を有するハトムギ紅麴は、加齢や生体内酸化に起因する疾病予防に効果が期待される。

要 約

本報告では、ハトムギの、紅麴菌による固体培養法を用いた製造方法およびその生産物「ハトムギ紅麴」の機能性成分について検討した。ハトムギを紅麴菌で固体培養させることにより、遊離アミノ酸や、GABAの成分、および抗酸化活性が増大した。

- ① ハトムギは、7時間以上吸水処理が必要であり、ハトムギの紅麴菌による固体培養は、種用紅麴を10%以上用いる必要があった。
- ② 固体培養におけるハトムギ紅麴の菌体量、色度は、培養10日目まで増加した。
- ③ 固体培養におけるハトムギ紅麴のGABA含量は、培養日数の経過とともに顕著に増大した。
- ④ 固体培養におけるハトムギ紅麴の遊離アミノ酸は、培養日数の経過とともに顕著に増大した。
- ⑤ 固体培養におけるハトムギ紅麴の抗酸化活性 (TAS活性) は、培養日数の経過とともに顕著に増大した。

文 献

- 1) 日本公定書協会編：第9改正，日本薬局方解説書 (広川書店)，PD-900 (1976)
- 2) UKITA, T. and TANIMURA, A: Studies on the Anti-tumor Component in the Seeds of Coix Lachryma-Jobi L. VAR. Ma-yuen (ROMAN.), *Chem.*

Pharm. Bull. Japan, **9**, 43~46 (1961)

- 3) Isolation of Ovulatory-Active Substances from Crops of Job's Tears (*Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* STAPF.), *Chem. Pharm. Bull.*, **36**(8), 3147~3152 (1988)
- 4) 有坂将美・楠正 敏・谷地田武雄：ハトムギの食品への利用性に関する研究，新潟県食品研究所研究報告，**20**，65~70 (1985)
- 5) 広井忠夫：紅麴菌の食品加工への利用，*New Food Industry*, **30**，1~6 (1988)
- 6) 横井庄一：紅麴素材の開発と利用，食品と開発，**28**，47~50 (1993)
- 7) 木村幸一・鈴木真海：新註校定 国驛本草綱目，第7冊「紅麴」，pp.256~258 (1975)
- 8) 根岸恵則・黄 正財・蓮見恵司・村川茂雄・遠藤章：Monascus属におけるMonacolinK (Mevinolin) の生産性，*醗酵工学*，**64**，509~512 (1986)
- 9) 辻 敬介・市川富夫・田辺伸和・阿部士朗・樽井庄一・中川靖枝：紅麴菌体量が高血圧自然発症ラットの血圧降下に及ぼす影響，*日食工誌*，**39**，919~924 (1992)
- 10) 井上 清・向山美雄・辻 敬介・田辺伸和・高橋誠・阿部士朗・樽井庄一：紅麴抽出物が本態性高血圧者の血圧に及ぼす影響，*医学と薬学*，**31**，231~240 (1994)
- 11) 辻 敬介・中川靖枝・市川富夫：紅麴の抽出物と色素が高血圧自然発症ラットの血圧，ミネラル出納，コレステロール代謝に与える影響，*家政誌*，**44**，109~114 (1993)
- 12) 久代登志男・橋田 潤・河村 博・三ッ林裕己・斎藤友昭・鈴木裕太郎・高橋直之・石井利明・木村卓朗・辻 敬介・田辺伸和・浅野幸一・阿部士朗・樽井庄一：本態性高血圧に対する紅麴の臨床評価：プラセボを対照とした多施設二重盲検出比較試験，*日腎会誌*，**38**，625~633 (1996)
- 13) 河野勇人・三宅剛史・産本弘之・野崎信行：抗酸化能を有する食品の開発，岡山県工業技術センター報告，**32**，57 (2006)
- 14) 秦 洋二：麴菌の固体培養での遺伝子発現特性 (ミニレビュー)，*日本農芸化学会誌*，**76**，715~718 (2002)
- 15) 谷村顕雄編：5-8-1 モナスカス色素 (紅麴の生成する色素)，天然着色料ハンドブック (光琳，東京)，444~453 (1979)
- 16) 三枝貴代：米胚芽中の γ -アミノ酪酸 (GABA) を増やす，*化学と生物*，**33**，211 (1995)