

# 乳酸発酵並びに酵素利用技術を用いた機能性食品の開発

食品・環境科 主任研究員 玉屋 圭  
応用技術部 部長 河村 俊哉  
有限会社伊東精麦所 代表取締役 伊東 清一郎

大麦は九州地域で広く生産されており、味噌、焼酎などの原料として利用されている。通常は、外皮などを搗精加工して得られる胚乳部（精白麦）を食用として用いているが、この加工工程で発生する外皮、果皮、種皮などを含む大麦糠は家畜用の飼料として活用されているに過ぎない。

そこで本研究では、大麦糠の利用拡大を目的として、複数の搗精加工機を用いて各種の歩留率の糠を調製し、含有されるポリフェノールなどの機能性成分を測定した。

## 1. 緒言

近年、食生活の欧米化とともに、がん、循環器系疾患、肥満、アレルギー性疾患などの生活習慣病が若年から老年層にわたって増大している。

この状況から、食による疾病予防に対するニーズは依然として高く、機能性食品の市場は6432億円（特定保健用食品；2018年度）と大きな規模を保っている。2015年4月から機能性表示食品制度も開始され、今後の高齢化の進展や医療費の増大を考慮すると、疾病リスクを軽減する機能性食品の開発は新事業の創出及び育成に繋がると考えられる。

また、機能性食品素材には健康機能だけでなく安全性の担保も強く求められる。この観点から、原料産地の明確化は重要であり、県産の地域資源を用いての機能性食品開発はニーズが高いものと考えられる。

そこで、九州地域で広く生産されており、味噌、焼酎などの原料として利用されている大麦に着目し、検討素材とした。近年は、含有される $\beta$ -グルカンの健康機能により注目が集まり、更なる利用が期待されている。

大麦は、外皮などを搗精加工して得られる胚乳部（精白麦）を食用として用いているが、この加工工程で発生する外皮、果皮、種皮などを含む大麦糠は家畜用の飼料として活用されているに過ぎない。

本研究では、大麦糠の利用拡大を目的として、複数の搗精加工機を用いて各種の歩留率の糠を調製し、含有されるポリフェノールなどの機能性成分を測定した。

## 2. 実験方法

### ① 試供材料

大麦品種は、サチホゴールド（佐賀県産）を用いた。大麦糠の調製は、(有)伊東精麦所に設置されている横型大麦搗精機を用いて行った。

原麦を1～10号機まで直列に設置された搗精機に投入し、各機から排出される糠を採取した。本操作により得られた糠を試料として、以下の項目を測定した。

### ② 大麦糠からの抽出液の調製

粉碎した大麦糠粉末0.5gに対して、80%エタノール40mlを加え、16時間暗所で放置後、遠心分離し、上清を得た。残渣に再度80%エタノール7mlを加え攪拌して得られた上清と先に得られた分とを合わせて50mlに定容した。

### ③ 総ポリフェノール量の測定

総ポリフェノール量の測定はフォリン・デニス法<sup>1)</sup>により測定した。脱イオン水1.6mlを添加した試験管に、①で得られた80%エタノール抽出液100 $\mu$ Lを加え、次いでフォリン・デニス試薬100 $\mu$ L、飽和炭酸ナトリウム溶液200 $\mu$ Lを添加して30分間反応を行った。その後、760nmでの吸光度を測定し、乾燥重量100gあたりのクロロゲン酸相当量として算出した。

### ④ フェルラ酸の測定

(総フェルラ酸) 大麦糠に含まれる総フェルラ酸の測定は、西澤らの方法<sup>2)</sup>により行った。粉碎した大麦糠0.1gに0.5Mの水酸化ナトリウム5mLを添加し、均一な懸濁液になるまで攪拌を行った。本溶液を60℃に90分間保持し、加水分解を行った。本操作により、エステル結合していたフェルラ酸が遊離する。次いで、1.0Mの塩酸溶液を5mL添加し、酸性にした溶液に対して、80%濃度になるようにエタノールを加え、

50 mL に定容した。この溶液を逆相 HPLC に供し、総フェルラ酸を測定した。HPLC の測定条件は以下のものである。

カラム ; Waters ACQUITY UPLC BEH C18 カラム (直径 2.1 mm × 100 mm)、流速 ; 0.3 ml/min、測定波長 ; 325 nm、溶離液 ; A; 0.2 % ギ酸、B; アセトニトリル (グラジエント ; B: 1% → 25%, 30 分)

(遊離フェルラ酸) 大麦糠に遊離状態で存在するフェルラ酸の測定は松田らの方法<sup>13)</sup>により行った。粉碎した大麦糠 0.1 g に 0.5 M の蒸留水 5 mL を添加し、攪拌した。本溶液を 60 °C に 90 分間保持し、抽出を行った後、1.0 M の塩酸溶液を 5 mL 添加した。さらに、エタノールを 80 % 濃度になるように加え、50 mL に定容した。この溶液を逆相 HPLC に供し、遊離フェルラ酸を測定した。

#### ⑤ フラバノール (カテキン + プロアントシアニジン) の測定

フラバノールの定量は、カテキンおよびプロアントシアニジンの C8 位の炭素に結合する 4-dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA) を検出試薬<sup>14)</sup>として実施した。粉碎した大麦糠 0.3 g にメタノール 45 mL を添加し、16 時間暗所で放置した。その後、遠心分離により得られた上清を 50 mL に定容し、試験溶液とした。試験溶液 200 μL に検出試薬溶液 (0.1 % DMACA / 0.12N HCl - メタノール) を加えて混合し、室温に 10 分間放置した後に、640 nm で吸光度を測定した。なお、乾燥重量 100 g あたりのフラバノール量を (+) - カテキン相当量として算出した。

#### ⑥ DPPH ラジカル消去活性

DPPH ラジカル消去活性の測定は沖らの方法<sup>15)</sup>に準じ、DPPH 溶液の 520 nm における吸光度を 96 穴マイクロプレートリーダー法にて測定した。DPPH ラジカル消去活性は乾燥重量 1 g あたりの Trolox 相当量として算出した。

### 3. 結果

#### ① 大麦糠の調製と精麦率の算出

今回の試験に用いた大麦糠は、各々の搗精機が原麦を精麦して排出したものを採取して得られた。通常の前製では、各機で得られた糠は移送ラインによりタンクに送られた後、まとめて回収されるのに対して、今回の検討では各機から排出される糠を直接採取する方式を採用した。各搗精機での歩留率を表 1 に示した。なお歩留率は、精麦により得られた丸麦の原麦に対す

る重量の割合を示している。算出は以下の式を用いた。  
歩留率 = (各搗精機から得られた大麦 100 粒の平均重量 (g)) / (搗精前の原麦 100 粒の平均重量 (g)) × 100

表 1 各搗精機での歩留率の算出

搗精機 (号機)	歩留率 (%)
3	93
4	89
5	87
6	86
7	85
8	82
9	80
10	78

表 1 に明らかなように、搗精機による精麦が進行すると糠の除去が進む結果、生成する丸麦の割合を示す歩留率の値は小さくなっていった。外皮、果皮、種皮などの部分が削られて、食用部である胚乳が得られた結果と考えられた。また、今回の検討に用いた搗精機は、10 号機による操作終了時に歩留率が 70 ~ 80 % となるように設定したものであった。精麦した結果を見ると、10 号機での歩留率は 78 % であり、想定される範囲の値であることが確認された。なお、今回のサチホゴールデン品種の精麦については、麦のかたさなどの状態を考慮し、1 号機からではなく、3 号機からの搗精を行った。

#### ② 大麦糠の総ポリフェノール量

各精麦段階で得られる大麦糠に含まれる総ポリフェノール量を表 2 に示した。ポリフェノール量は歩留率が 93 % のときに、1100 mg/100 g と最も高い含量を示した。その後、87 % までにはほぼ 1000 mg/100 g の含量を保っていたが、歩留率が小さくなるにつれて総量は徐々に低下し、78 % の歩留率では 680 mg/100 g 程度であった。

この結果は、歩留率が高い段階、すなわち外皮などが精麦される段階で得られた糠がポリフェノールを多く含むことを示していた。食用部である胚乳がある中心部分よりも、外皮などの皮にポリフェノールが多く含まれていることを確認した。穀類のポリフェノール含量としては、黒米や赤米などの有色米についての報告<sup>16)</sup>がなされており、その含量は 330 ~ 1220 mg/100 g - 乾燥重量の範囲にあった。また、当センターでは県産のばれいしよに含まれるポリフェノール量を測定<sup>17)</sup>

表2 各種の歩留率で得られる大麦糠の  
総ポリフェノール量

歩留率 (%)	総ポリフェノール量 (mg/100 g- クロロゲン酸相当量)
93	1100
89	1090
87	950
86	720
85	840
82	740
80	570
78	680

しており、160～800 mg/100 g - 乾燥重量の範囲であった。これら値と比較しても、大麦糠の本成分含量は高いレベルにあることが判明した。

### ③ 大麦糠のフェルラ酸含量

②での検討の結果、大麦糠が高いポリフェノール含量を有することが明らかになった。

そこで、糠のポリフェノールを構成する成分を検討するため、その一つであるフェルラ酸を測定した。フェルラ酸は穀類の細胞壁に含まれるフェノール酸の一種であり、その多くが食物繊維のアラビノキシランとエステル結合した状態で存在している。フェルラ酸はいくつかの報告で抗酸化性を有することが示されており、さらにラットの消化器系から循環器系に吸収されることも確認<sup>14</sup>されていることから、生体内での抗酸化作用を発揮することが示唆されている。

本検討では、大麦糠に含まれるフェルラ酸含量を明らかにするため、糠を水酸化ナトリウム溶液により加水分解し逆相 HPLC 法に供することにより総フェルラ酸量を測定した。

また、熱水抽出した試料を同様に HPLC 法に供することにより、遊離フェルラ酸量を測定した。

表3に、大麦糠に含まれるフェルラ酸の測定結果を示した。歩留率93%で得られる糠が、総量及び遊離型のどちらにおいても最も高い含有値を示した。特に、総フェルラ酸量は225 mg/100 gと高値であり、報告されている押麦<sup>15</sup> (34 mg) の6倍の数値であった。

さらに、歩留率が小さくなるほどフェルラ酸量は総量、遊離型ともに低下し、②の総ポリフェノール量の結果と同様の傾向であった。歩留率93%の試料では総ポリフェノール量は1100 mg/100 gであり、それに占めるフェルラ酸総量 (225 mg/100 g) の割合は20%

表3 大麦糠に含まれるフェルラ酸含量

歩留率 (%)	総フェルラ酸 (mg/100 g)	遊離フェルラ酸 (mg/100 g)
93	225	10.8
89	174	8.8
87	170	5.4
86	118	3.5
85	92	4.1
82	77	2.1
80	68	1.6
78	64	1.5

程度であった。

また、遊離型のフェルラ酸の全体量に対する割合は約5%であり、したがって本成分の95%は細胞壁に結合していることを確認した。

### ④ フラバノール (カテキン+プロアントシアニジン) の測定

③の検討で、ポリフェノールの一種であるフェルラ酸が大麦糠に多く含まれることを明らかにした。さらに、糠のポリフェノール成分を明らかにするため、カテキンやプロアントシアニジンを主とするフラバノールをその検出試薬である DMACA を用いて測定した。

その結果、歩留率93%の糠において、含まれるフラバノール量は最も高い値 (470 mg/100 g) を示し、その後87%まで同程度の数 (450 mg/100 g) を有していた。②の総ポリフェノール量、③のフェルラ酸含量と同様に、歩留率が小さくなるほど、フラバノール含量は低下する傾向にあった。

歩留率93%の試料では総ポリフェノール量は1100 mg/100 gであり、それに占めるフラバノールの割合は43%と算出され、フェルラ酸 (20%) よりも高い割合を示していた。

フラバノールに分類されるプロアントシアニジンは、大麦にも含まれることが報告<sup>16</sup>されており、カテキンから構成される二量体、三量体が主であることがわかっている。大麦プロアントシアニジンの機能は未だ不明な点が多いが、他食品素材 (ブドウ種子、カカオなど) に含まれるプロアントシアニジンは抗酸化、糖代謝促進作用<sup>17</sup>などを有することが報告されている。大麦に含まれるポリフェノールとしては、プロアントシアニジンを含むフラバノールは、フェルラ酸よりも含有量が高いこともあり、機能が発揮されることが期待できると考えられた。

### ⑤ DPPH ラジカル消去活性の測定

表4 各種の歩留率で得られる大麦糠のフラバノール量

歩留率 (%)	フラバノール量 (mg/100 g- (+)-カテキン相当量)
93	470
89	450
87	440
86	320
85	280
82	310
80	250
78	260

これまでの検討で、大麦糠が抗酸化性を有するポリフェノール、特にフェルラ酸やフラバノールを豊富に含有することを明らかにした。次いで、糠の抗酸化性を検討するために、DPPH ラジカル消去活性を測定した。表1に、各歩留率の大麦糠の有する DPPH ラジカル消去活性を示した。

②、③、④の検討で得られた結果と同様に、歩留率93%の糠が最も高いラジカル消去活性を示した。89%の試料も93%とほぼ同等の活性の高さを有していたが、歩留率が低下していくほど活性は低いものとなっていた。

これは、外皮などを含む高い歩留率の糠がフェルラ酸、フラバノールなどの抗酸化性を有するポリフェノールを多く含有し、その結果優れたラジカル消去活性を發揮したと考えられた。

表5 各種の歩留率で得られる大麦糠のDPPH ラジカル消去活性

歩留率 (%)	DPPH ラジカル消去活性 ( $\mu$ mol-Trolox/g)
93	470
93	470
89	450
87	440
86	320
85	280
82	310
80	250

#### 4. 結 言

本研究ではまず、サチホゴールデン品種の搗精機ごとの歩留率と総ポリフェノール量との関係を検討し

た。その結果、93%の歩留率において、高いポリフェノール含量(1100 mg/100 g)を有することが判明した。しかしながら、搗精を進めていくほど、含量は低下(600~700 mg/100 g)していた。

次いで、糠のポリフェノール成分を明らかにするため、大麦糠に含まれるフェルラ酸を測定したところ、歩留率93%で得られる糠が、総量及び遊離型のどちらにおいても最も高い含有値を示した。特に、総フェルラ酸量は225 mg/100 gと高値であった。

さらに、カテキンやプロアントシアニジンを中心とするフラバノールを測定した結果、歩留率93%の糠において、含まれるフラバノール量は最も高い値(470 mg/100 g)を示し、その後87%まで同程度の数値(440 mg/100 g)を有していた。総ポリフェノール量、フェルラ酸含量と同様に、歩留率が小さくなるほど、フラバノール含量は低下する傾向にあった。

また、ポリフェノール各種成分は抗酸化性を有すると考えられることから、糠の有する機能を明らかにするため、DPPH ラジカル消去活性を測定した。最も高い含有量を示した歩留率93%の糠が中でも高いラジカル消去活性を示した。89%の試料も93%とほぼ同等の活性の高さを有していたが、歩留率が低下していくほど活性は低いものとなっていた。この結果は、外皮などを含む高い歩留率の糠がフェルラ酸、フラバノールなどの抗酸化性を有するポリフェノールを多く含有し、その結果優れたラジカル消去活性を發揮したためと考えられた。

今回の試験に用いた大麦糠は、各々の搗精機が原麦を精麦して排出したものを採取して、得られた。通常精麦では、各機で得られた糠は移送ラインによりタンクに送られた後、まとめて回収される。これまでの報告では、カナダ産の大麦品種から得られる歩留率80%から90%の糠をまとめて原料として、有機溶媒による抽出物の抗酸化性を検討した例<sup>8)</sup>は見られる。しかしながら、各機から得られる糠に含まれるポリフェノール成分を直接測定した例は認められない。

今回の検討で明らかになった歩留率を選択することにより、高ポリフェノール含量の大麦糠を獲得できることが明らかになった。さらに、獲得した糠に溶媒や分画カラムなどの各種方法を適用することで、機能性成分を高含有する抽出物を製造することも可能となる。

本研究では、今後乳酸菌などの微生物発酵、酵素利用といった手法を用いて、高付加価値の抽出物やエキ

スの開発を実施していく。

#### 参考文献

- [1] 津志田藤二郎：食品機能研究法, 318-322, 光琳 (2002).
- [2] 西澤千恵子、太田剛雄、江頭祐嘉合、真田宏夫：日本食品科学工学会, 45 (8), 499-503 (1998)
- [3] 松田茂樹、工藤康文：日本醸造協会誌, 100-106 (2001).
- [4] 柳沢貴司、神山紀子、阿部大吾、長嶺敬、高橋飛鳥：大麦粉のフラバノールおよび総ポリフェノール含量を簡易に定量する方法, 近畿中国四国農業研究センター 2010 年の成果情報, 農研機構 HP.
- [5] 沖智之、増田真美、古田收、西場洋一、須田郁夫：日本食品科学工学会, 48 (12), 926-932 (2001).
- [6] 伊藤史朗、水口聡、石々川英樹：愛媛県農林水産研究所報告, 2, 43-51 (2010).
- [7] 玉屋 圭、芋川あゆみ,ほか2名：有色ばれいしょの加工品開発 長崎県工業技術センター報告, 41, 7-10 (2011).
- [8] 玉川浩司、小林敏樹、飯塚崇史、池田彰男、小池肇、長沼慶太、小宮山美弘：日本食品保蔵科学会誌, 25 (6), 271-276 (1999).
- [9] 山下陽子、芦田均、：化学と生物, 54 (10), 747-752 (2016).