

市販の非加熱および加熱処理甘酒から検出される

α -アミラーゼ活性とビタミン B2 濃度の比較

西堀尚良

(平成 30 年 2 月 26 日受理)

四国大学短期大学部 人間健康科 食物栄養専攻

Summary

Amazake, a traditional sweet beverage made from fermented rice is now receiving a lot of attention because of its functionalities such as enzyme activities and various nutrition. To evaluate these functionalities of both non-heated and heated products, α -amylase activity and vitamin B2 concentration were determined. Though, enzymes produced by *Aspergillus* are known to be thermostable and active at wide range of pH, non-heated products revealed much higher amylase activities than heated products and two of them showed almost no enzyme activities. Vitamin B2 concentration also displayed higher levels in non-heated products than heated products. A linear relationship observed between amylase activities and vitamin B2 concentrations shows that enzyme activities and vitamin concentrations were both reduced by heating process. Using non-heated products seems important to use physiological *amazake* functionalities, such as enzyme activities in digestive organ and vitamin as nutrition.

Key words: *amazake*, α -amylase, vitamin B2

要旨：甘酒は種々の酵素活性を保持していること、およびグルコースをはじめとする多様な栄養素を含むことなどが知られており、近年甘酒のこれら食品機能が注目されている。非加熱あるいは加熱処理された市販甘酒のこれら食品機能の差を明らかにするため、 α -アミラーゼ活性とビタミン B2 濃度を測定した。*Aspergillus* が産生する酵素は耐熱性が高く広い pH 範囲で活性を保持することが知られているが、非加熱商品の α -アミラーゼ活性は加熱商品で検出された活性より極めて高く、2 種の加熱商品では α -アミラーゼ活性はほとんど検出されなかった。ビタミン B2 濃度も非加熱商品のほうが加熱商品より高かった。各商品試料の α -アミラーゼ活性とビタミン B2 濃度の間には相関が見られたことから、両者は加熱処理により減少したと考えられた。非加熱の甘酒の利用は、酵素活性の活用などの機能的側面に加え、ビタミンなどの栄養的側面からも重要であると考えられる。

キーワード：甘酒； α -アミラーゼ，ビタミン B2

連絡責任者・別刷請求 (Corresponding author, E-mail ; n-nishibori@shikoku-u.ac.jp)
四国大学短期大学部食物栄養専攻 (771-1192 徳島市応神町古川 123-1)
Shikoku University, Junior College, Ojin Tokushima 771-1192, Japan

緒言

甘酒は米麴を原料とする麴甘酒と酒粕を原料とする酒粕甘酒に大別できる。米を麴菌で分解して作られる麴甘酒には糖、ビタミン、アミノ酸などが豊富に含まれることから、麴甘酒は健康維持に有用な飲み物として注目されている。また、これらの甘酒がラジカル消去活性や抗酸化活性などの機能性を有することに加え^{1, 3)}、血圧上昇抑制効果も検出され、生活習慣病の予防改善の可能性が示唆されている⁴⁾。

江戸時代には体力回復に役立つ飲み物として夏季に好んで飲まれたことが記録されており、俳句では夏の季語として用いられている⁵⁾。これらのことは、麴甘酒の健康に対する有用性が古くから知られていたことを示しており、甘酒は日本古来の健康飲料であると言える。

麴甘酒では、*Aspergillus oryzae* が生産する酵素により米のデンプンが糖化されるが、この過程にはグルコアミラーゼおよび α -アミラーゼの作用が特に重要である。これら麴の産生する酵素に関しては多くの研究が古くから行われており、麴菌はこれらグルコアミラーゼおよび α -アミラーゼなどの糖質分解酵素の他にもタンパク質分解酵素や核酸分解酵素などを産生すること、*Aspergillus* 属真菌類の産生する酵素は広い pH 範囲で高い活性を保持し、比較的高い温度に抵抗性を示すことが数多く報告されている⁶⁻¹¹⁾。また、これら麴菌が産生する酵素は低い pH、および比較的高い温度に耐性を持つことから、消化促進や食欲不振に有効な成分として良く知られている。特に日本麴カビ (*Aspergillus oryzae*) から 1894 年に高峰譲吉により分離された糖化酵素が、タカジアスターゼとして使用されていることをはじめ¹²⁻¹³⁾、現在も医薬酵素や消化剤として多くの麴由来酵素が利用されている¹⁴⁾。このように、タカジアスターゼなどに代表される酵素の消化薬や整腸剤としての利用は、甘酒に含まれる麴菌が産生した酵素が、消化を補助する機能を有する可能性を示していると考えられる。さらに、*Aspergillus oryzae* をはじめとする麴菌は、種々の酵素に加えビタミン類などの多様な代謝産物を産生することから¹⁴⁾、麴甘酒には麴菌が産生するこれらビタミンや代謝産物が含まれることになる。このように、麴甘酒は豊富な

栄養素を含むだけでなく、消化管内で作用することが期待できる酵素を含む食品で、麴甘酒は栄養機能的な側面のみならず消化促進や食欲不振に有効である可能性が考えられる。

一方、近年甘酒は多様な栄養素を含む食品として注目されていることから、多くの企業から市販されるようになった。製品化する場合には、保存性を高めることを目的に加熱処理して商品とする場合が多く、麴が産生するアミラーゼをはじめとする多くの酵素は失活していると考えられる。一方、商品の特徴の一つとして加熱しない甘酒を販売するメーカーもあることから、酵素活性やビタミン量は製造元、および火入れの有無など、商品により大きな差があると思われる。そこで、市販の麴甘酒を用い各麴甘酒の α -アミラーゼ活性とビタミン B₂ 濃度を測定し、加熱処理が及ぼす α -アミラーゼ活性とビタミン B₂ 濃度に対する影響を検討するとともに、非加熱および加熱甘酒の食品機能評価を試みた。

方法

1. 試料

試料として用いた麴甘酒は S 社の製品 2 種および N 社、K 社、Y 社の製品各 1 種類の計 5 種の麴甘酒であり、何れも市販品である。アミラーゼ活性およびビタミンの定量には、予めホモジナイズした甘酒を遠心分離後に GF/C フィルターを用いてろ過した試料を用いた。

2. α -アミラーゼ活性

α -アミラーゼ活性は、既報に従って測定した¹⁵⁾。まず、希釈した甘酒 60 μ L と 100mM トリス緩衝液(pH=8) 60 μ L を混合し、氷上にて 2g/L のデンプン溶液を 100 μ L 加えた後に、37°C で 5 分間反応させた。その後、50 μ L の 5M 塩酸を反応液に加えて反応を停止し、ヨウ素・ヨウ化カリウム溶液 250 μ L を加えて未分解のデンプンを発色させ、水 750 μ L を加えて混合した後 580nm の吸光度を測定した。なお、ポジティブコントロールとして 0.25U/ml のアミラーゼ溶液 60 μ L を用いた。

3. ビタミン B₂

ビタミン B₂ 濃度は HPLC 法により求めた。

カラムには Capcellpak C18 MGII (2 x 150mm) を室温で、溶離液には 20%メタノールを含む酢酸緩衝液を用い、流速 0.3ml/min で分析を行った。検出には蛍光検出器を用い、励起波長 445nm、蛍光波長 530nm で検出した。

実験結果および考察

市販の麴甘酒には糖質、ビタミン類、アミノ酸など多くの栄養素が含まれる。特に甘酒に重要な甘味を与える糖質は、米のデンプンが麹菌のアミラーゼによる分解されて生じる。製品化する場合には一般的に火入れされるが、加熱しない昔ながらの麴甘酒を販売する企業もあることから、市販の麴甘酒は酵素活性やビタミン濃度が異なり、甘酒の機能性に大きな差異が生じていることが予想できる。そこで、市販甘酒を用いて α -アミラーゼ活性の有無およびビタミン B2 濃度を測定した。

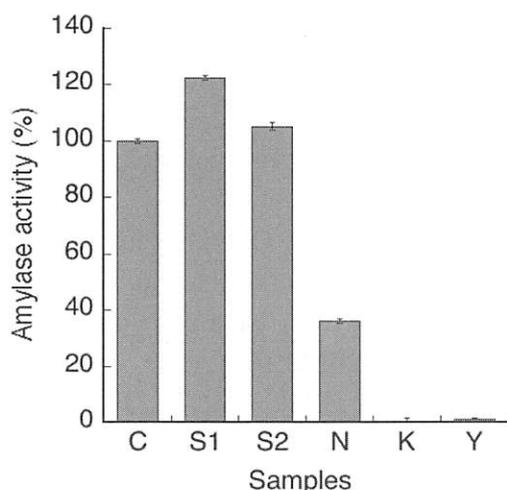


図 1.各甘酒試料から検出された α -アミラーゼ活性 (C:0.25u/ml, S1,S2:非加熱商品, N,K,Y:加熱商品)

各試料の α -アミラーゼ活性を、コントロールの活性を 100%とした相対強度で図 1 に示した。 α -アミラーゼ活性は試料によって大きく異なることが明らかになった。すなわち、2 種の非加熱商品ではそれぞれ 0.3 U/ml, および 0.25 U/ml のアミラーゼ活性が検出され、 α -アミラーゼ活性の相対強度の平均は 113%であった。一方、3 種の加熱商品のうち 1 種類は 0.1U/ml 程度のアミラーゼ活性を示したものの、2 種の

試料からはほとんどアミラーゼ活性が検出されず、加熱商品から検出された α -アミラーゼ活性の相対強度の平均は 11%であった。t-検定の結果両者は有意に異なり、非加熱商品の α -アミラーゼ活性は加熱商品よりも極めて高いことが明らかとなった ($p < 0.001$)。麹菌が産生する糖質分解酵素やタンパク質分解酵素は一般的に熱耐性が高いが、菌株や培養条件によって酵素の性質が異なることが報告されている¹⁶⁻¹⁷)。用いた 5 種の市販甘酒は異なる 4 社の製品であり、使用された麹菌あるいは菌株、および温度などの甘酒製造条件が異なるため、商品ごとのアミラーゼ活性の差に影響を与えている可能性が考えられる。しかしながら、商品間の最も大きな差は商品が加熱処理されているか否かであると思われ、本実験の結果は加熱処理による酵素活性の低下と消失を示していると考えられる。

市販胃腸薬に含まれるタカジアスターゼのでんぷん糖化力は 2500~5000 U/g で、成人一回の使用量は 0.2~0.3 g とされている¹⁸)。これらことから、一回の使用量は 500~1500 U と算定される。また、整腸剤に含まれるビオジアスターゼ 1000 では 7800~11000 U/g で成人一回の使用量は 20mg とされていることから¹⁹)、一回当たりの使用量は 156~220 U と算定される。0.3Uの甘酒 200ml を飲んだ場合には 60U の α -アミラーゼを摂取することになり、これは胃腸薬および整腸剤を服用した場合のそれぞれ 4~12%, および 30~40%に相当する。

表 1. 各試料甘酒のビタミン B2 濃度

試料	加熱	ビタミン B2 濃度 (μ g/100ml)
S1	無	45
S2	無	46
N	有	23
K	有	11
Y	有	15

一方ビタミン B2 の濃度は 2 種の非加熱商品では 45, 46 μ g/100ml, 一方、3 種の加熱商品では、23, 11, 15 μ g/100mL, 平均 16 μ g/100mL であり非加熱商品のビタミン B2 濃度は加熱商品のそれより有意に高いことが明らかになっ

た ($p=0.007$) (表 1)。日本食品成分表によると²⁰⁾、甘酒のビタミン B2 濃度は $30 \mu\text{g}/100\text{g}$ であり、加熱商品ではこの値より小さくなったが、非加熱商品ではこれより高い値であった。

各試料のアミラーゼ活性を縦軸に、ビタミン B2 濃度を横軸にプロットすると (図 2)、両者の間には正の相関がみられた ($r^2=0.98$)。甘酒中の α -アミラーゼ活性は、加熱により低下したと考えられ、両者の相関は熱に比較的強いと考えられるビタミン B2 も甘酒の加熱処理により減少したことを示している。

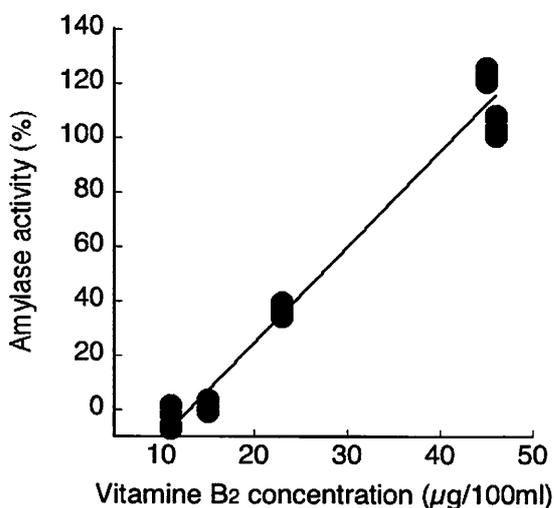


図 2. 甘酒の α -アミラーゼ活性とビタミン B2 濃度との関係

以上のように、非加熱の甘酒は加熱処理された麹甘酒に比べ、 α -アミラーゼ活性が高いだけでなくビタミン B2 も多く含まれることが明らかになった。両者の関係が正の相関を示したことから、アミラーゼ活性の低下とビタミン B2 濃度の減少はともに、加熱処理が原因であると考えられた。これらのことから、加熱前の甘酒中にはビタミン類に加え、広い pH で作用する種々の酵素が存在し、これら酵素が消化補助剤として作用する可能性があるものの、加熱処理によりビタミン類の濃度が減少するとともに、これら酵素の活性が大きく低下すると推定された。

非加熱の麹甘酒中には麹菌の作用により生産された糖類やビタミンなどの多様な栄養素に加え、種々の機能性を示す多様なペプチドな

どの機能性成分も含まれることが期待できる。また、用いる麹菌の種類を選択することで多様な機能性を持った甘酒を作成できる可能性があり、甘酒は栄養摂取だけでなく機能性成分の側面からの発展も期待できる。また、加齢による消化酵素自体の機能低下は見られないものの²¹⁾、老年期には唾液腺機能の衰えが現れることから²²⁾、昔ながらの非加熱の甘酒の利用は、高齢者の栄養補給とともに、消化補助剤としても有効である可能性が考えられる。非加熱の甘酒の利用を進めることは、甘酒本来の栄養や機能性成分を有効に利用する方法の一つであろう。

文 献

- 1) 山本晋平 松郷誠一 甘酒の機能性-酒粕甘酒を中心として ニューフードインダストリー-50(12) 43-54 2008
- 2) Yamamoto, S., Nakashima, Y., Yoshikawa, J., Wada, N. and Matsugo, S Radical Scavenging Activity of the Japanese Traditional Food, Amazake. Food Sci. Technol. Res., 17 (3), 209-218, 2011
- 3) Saigusa, N. and Ohba, R. Effects of koji Production and Saccharification Time on the Antioxidant Activity of amazake. Food Sci Technol Res 13(2) 162-165 (2007)
- 4) 大浦新, 鈴木佐和子, 秦洋二, 戸川章嗣 安部康久 マウス試験による甘酒の機能性評価 日本醸造協会誌 102(10) 781-788 (2007)
- 5) 小泉武夫 食と日本人の知恵 (公開講座) 日本農村医学会雑誌 61(6) 835-839 (2013)
- 6) 徳岡有三 麹アミラーゼに就いて (第一報) 酒麹 Amylase の浸出にたいする酒造用水の効果 日本農芸化学会誌 12(12) 1185-1188 (1936)
- 7) 山崎何恵 上田誠之助 生澱粉に対する黒麹アミラーゼ作用の研究 (第 1 報) 日本農芸化学会誌 24(4) 181-185 (1950)
- 8) 布川弥太郎 難波康之祐 衣山陽三 米麹のプロテアーゼ組成に関する研究 (第 2 報) 日本農芸化学会誌 36(11) 879-883 (1962)
- 9) 来間健次 布川弥太郎 麹酵素によるタンパク質の分解 (第 1 報) 日本農芸化学会誌

- 42(6) 319-324 (1968)
- 10) 岩野君夫 三上重明 焼酎白麹の諸酵素の特徴について 日本醸造協会誌 83(12) 791-796 (1988)
- 11) 谷口肇 澱粉の酵素分解 特集:澱粉研究の潮流その1 応用糖質科学 1(1) 17-22 (2011)
- 12) 井上憲政 *Aspergillus oryzae* タカ麹及びタカジアスターゼ中の酵素に就いての既往の業績 栄養学雑誌 2 5-11 (1959)
- 秋山裕一 高峰譲吉博士と麹菌 近代日本の創造史 1 29-34 (2006)
- 13) 鈴木信之 家庭薬物語 第28回 強力わかもと ファルマシア 53(1) 54-55 (2017)
- 14) 戸井田仁一 五味英紀 蟻川幸彦 麹菌ビタミンB2 高生産株R2 の実用化及び代謝産物に関する研究 長野県工業技術総合センター 研究報告 10 171-173 (2015)
- 15) Nishibori, N., Sawaguchi, M., Hitoi, T., Sagara, T., Itoh, M., Her, S., Lee, M-S. and Morita, K. Inhibitory effects of aqueous extract prepared from lotus root on α -amylase and α -glucosidase activities. *Phytopharmacology* 3(1) 1-11. (2012)
- 16) 高橋仁 伊藤俊彦 佐藤勉 志賀拓也 中沢伸重 岩野君夫 製麹における麹菌のタンパク質分解酵素生産に対する麹米と麹菌株の影響 日本醸造協会誌 103(11) 894-900 (2008)
- 17) 秋田修 大城衣賀 伏木愛香 境野佑 阿部真紀 自然界から分離した黒麹菌と実用焼酎麹菌との特性比較 実践女子大学生生活科学部紀要 54 37-44 (2017)
- 18) 消化酵素剤タカジアスターゼ原末添付文書 第一三共株式会社
- 19) 太田胃散整腸薬添付文書 株式会社太田胃散
- 20) 日本食品成分表 2017 医師薬出版編 医師薬出版株式会社, 東京, p178 (2017)
- 21) 宮坂京子 船越頭博 加齢と消化・吸収科学と生物 37(6) 368-374 (1999)
- 22) 今野昭義 伊藤永子 岡本美孝 加齢による唾液腺の変化と口内乾燥症 日本耳鼻咽喉科学会会報 91 1837-1846 (1988)