

バレイショ等道産デンプン質資源を用いた みりんタイプの機能性甘味飲料素材の開発

本堂正明, 榎賢治, 奥村幸広, 橋渡携

Development of a functional *mirin*-like sweetener made from high-starch produce in Hokkaido

Masaaki Hondo, Kenji Maki, Yukihiro Okumura and Tazusa Hashido

The sweet Japanese cooking wine called *mirin* is traditionally made from glutinous rice. To develop a *mirin*-like sweetener, high-starch produce (potatoes, edible lily bulbs, pumpkins) produced in Hokkaido was examined as raw materials. The antioxidative activities of these materials were also investigated. *Koji* (a preparation that is obtained by growing *Aspergillus oryzae* on boiled rice, barley, soybeans or the like and that is used as a starter for the fermentation in sake and soy-sauce production), heat-treated peeled potato, *shochu* spirits containing 35% (v/v) ethanol or 35% (w/v) aqueous ethanol, and commercially available powdered amylase and protease enzyme were mixed in a weight ratio of 0.4 : 2.0 : 1.0 : 0.005. After incubation at 30 °C for 45 or 60 days, the potato *mirin* was recovered. Lily bulb and pumpkin *mirins* were prepared similarly.

- 1) The yield ratio and glucose recovery ratio were slightly higher for enzyme-treated (0.15%) potato *mirin* than for enzyme-untreated potato *mirin*; the total nitrogen recovery ratio was greatly increased by enzyme addition.
- 2) The yield ratio of the potato *mirin* (70.5%) was higher than those of the enzyme-treated pumpkin and lily bulb *mirins*.
- 3) The total sugar content (glucose) of the enzyme-treated potato *mirin* (25.2%) was about a half that of commercially available rice *mirin*. The total amino acid content (1.4%) was about 6 times higher than that of commercial rice *mirin*.
- 4) The antioxidative activity of the enzyme-treated potato *mirin*, measured as butylated hydroxyanisole (BHA) equivalent, was 109 mg/ 100 ml. This was the highest among the potato, lily and pumpkin *mirins*.

バレイショ, ユリネとカボチャはデンプンを主要成分とする北海道の代表的な農産物である。いずれも, 現在, 生食用としての人気は高いが, 今後, 少子高齢化の進行, 消費者ニーズの多様化, 輸入品の市場流通や多品目少量生産の進展等により, 生食及び加工用途のどちらも, これまで以上の需要や消費が期待できない状況にある。このようなことから, バレイショ等のデンプン質資源の需

要や消費の確保を今後とも図っていくため, これらの成分特性に適した健康志向性の高い独自性に優れた新たな加工品開発の取り組みが不可欠となっている。

そこで, バレイショ, ユリネとカボチャの主要成分であるデンプンとタンパク質に着目し, これらのデンプン質資源を用いたみりんタイプの機能性甘味飲料素材の開発を目的とした。バレイショ, ユリネとカボチャのデン

事業名: 一般試験研究

課題名: バレイショみりんの開発

ブンは、アミロペクチンより老化されやすいアミロースが約 20% 含まれている^{1)~3)}。このため、糊化デンプンの老化によるデンプンの溶解性（グルコース回収率）と原料の溶け（収率）の低下が懸念される。また、タンパク質加水分解物（アミノ酸とペプチド）に由来するうま味と健康機能性等の増強を考慮すれば、これらのタンパク質可溶化率（全窒素回収率）を高める必要がある。そのため、内田ら^{4)~8)}の本みりん製造の合理化に関する一連の報告を参考に、既報⁹⁾で、みりんタイプのバレイショ甘味飲料素材の調製法を検討した。更に、津志田ら¹⁰⁾の野菜類の抗酸化性評価等に関する報告を基に、その抗酸化性¹¹⁾を評価した。本研究では、引き続き、バレイショ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率の向上と抗酸化性の増強を図るため、バレイショの前処理法と仕込時 0.15% 酵素剤添加の影響を検討した。並びに、0.15% 酵素剤添加バレイショ、ユリネ及びカボチャ甘味飲料素材（みりんタイプ甘味飲料素材）の収率と抗酸化性より、原料適性を比較した。

実験方法

1. 実験材料

バレイショ（市販品、男爵いも）、ユリネ（JA 芦別より供与）、カボチャ（市販品）、モチ米（市販品）、米麴（清酒用乾燥米麴、日本清酒（株）より入手）、焼酎（市販品）、アルコール（試薬特級品）と酵素剤（市販アミラーゼ 2 種類と市販プロテアーゼ 2 種類）を仕込原料に用いた。

2. 仕込原料の前処理法

(1) バレイショの加熱処理

煮沸（100℃）：十分水洗した未剥皮生バレイショを用いた。沸騰水中で、バレイショ塊茎の品温が 98℃ に達してから、30 分間煮沸した。放冷後剥皮した。

加圧蒸気加熱：十分水洗した未剥皮生バレイショを用いた。1 個ずつアルミホイルで包み、接触しないようにレトルト殺菌機（サクラ高圧蒸気滅菌装置、ΣY シリーズ 524、サクラ精機製）の庫内に入れ、それぞれ、105℃ と 121℃ の温度で、品温が所定の温度に達してから、どちらも 30 分間加熱した。放冷後、剥皮した。

以後、煮沸及び加圧蒸気加熱処理を加熱処理とした。

(2) バレイショの浸漬後加熱処理

剥皮生バレイショを用いた。pH4 と pH5 の 100mM 酢酸緩衝液に、24 時間、室温下で浸漬後、バレイショ表面の余分な水分を拭き取った。次に、それぞれの試料を 1 個ずつアルミホイルで包み、上述した同じレトルト殺菌

機に入れ、品温が所定の温度に達してから、それぞれ、105℃ と 121℃ で 30 分間加熱後、冷却した。

以後、pH 調整液浸漬後加圧蒸気加熱処理を浸漬後加熱処理とした。

(3) ユリネ、カボチャとモチ米の加熱処理

十分水洗したユリネ塊根、種子・ワタを取り除き、果肉部分を小片にカットしたカボチャと室温下、水道水で 1 日間浸漬したモチ米を用いた。それぞれ、表面の水分を拭き取った後、予め蒸気で充分暖めた蒸米機に入れ、0.7kg/cm² の圧力で 30 分間蒸し、その後放冷した。カボチャについては、放冷後剥皮した。

以後、蒸し処理を加熱処理とした。

以上をまとめて、仕込原料の前処理条件として表 1 に示した。

表 1 仕込原料の前処理条件

仕込原料	前処理	加熱条件
バレイショ	加熱処理	100℃・30 分
〃	〃	105℃・30 分
〃	〃	121℃・30 分
浸漬後加熱処理	pH4 調整液浸漬後	105℃・30 分
〃	pH4 調整液浸漬後	121℃・30 分
〃	pH5 調整液浸漬後	105℃・30 分
〃	pH5 調整液浸漬後	121℃・30 分
ユリネ	加熱処理	蒸し (0.7kg/cm ²)・30 分
カボチャ	〃	〃
モチ米	〃	〃

3. 仕込時酵素剤添加

酵素剤の組合せ：市販酵素剤として、アミラーゼ 2 種類、アミラーゼ AD「アマノ」1（粉末状、天野エンザイム製、以後、AA とする。）とノバミル 1500MG（粉末状、ノボノルディスク製、以後、AN とする）及びプロテアーゼ 2 種類、プロテアーゼ A「アマノ」（粉末状、天野エンザイム製、以後、PA とする）とデナチーム AP（粉末状、長瀬産業製、以後、PN とする）を用いた。加熱処理バレイショ（121℃・30 分）を仕込原料に用い、仕込時に、AA と PA、AN と PA、AA と PN 及び AN と PA、4 種類の組合せの酵素剤を各 0.15%（w/w）濃度で添加した。

バレイショの前処理法と各種仕込原料の検討：仕込時に 0.15% 酵素剤（AA と PN、各同量）を添加した。以上の各対照試料として酵素剤未添加試料を用いた。

4. 小仕込試験（仕込と熟成）

破碎： 加熱処理及び浸漬後加熱処理バレイショ（7種類）、加熱処理ユリネと加熱処理カボチャの試料をそれぞれ数個ずつプラスチックフィルム袋（縦36cm×横24cm）に入れ、袋の上から押しつぶして塊がなくなるまで破碎し、よく混合した。加熱処理モチ米については、未破碎でそのまま使用した。

仕込： 蓋付き密封ガラス瓶（1L容）に麴歩合が20%となるように各試料200gと米麴40gを入れ、次に、前者重量の半量の焼酎又は35%（w/v）エタノール水溶液100gを添加後、仕込原料をかき混ぜた。そこに酵素剤を添加し、更に十分混合した。

熟成： 混合した仕込原料を30℃で45日間又は60日間静置して貯蔵した。熟成中、4～5日おきに仕込原料（もろみ）をかき混ぜた。

清澄化： 熟成終了後のもろみを晒木綿布で絞り、粕と分離し、得られた絞り汁を遠心分離（12000×g, 20分, 5℃）し清澄化した。これらをバレイショ、ユリネ及びカボチャ甘味飲料素材と試作本みりんとし、各分析用試料に用いた。

5. 分析用試料の調製

(1) 粉末試料の調製

前処理（2.の(1),(2)と(3)参照）した仕込原料は、それぞれ、約100gを用いた。大型シャーレに各試料を入れ、精秤後、時々ガラス棒でかき混ぜながら、80℃・1日間通風乾燥機で乾燥した。得られた乾燥物を粉碎器で粉末化した。乾燥米麴については、直接同じ粉碎器で粉末化した。

(2) デンプンの加水分解

精秤した粉末試料0.2～1gを用いた。試料中のデンプン等を塩酸加水分解法¹²⁾で加水分解した。加水分解液を1M及び0.1M-水酸化ナトリウム溶液で中和（pH7）後、ろ過しろ液を100mlに定容した。

(3) 粉末試料より分析用試料溶液の調製

精秤した粉末試料約10gを三角フラスコ（1L容）に入れ、85%（v/v）エタノール水溶液250mlを加え、室温で30分間攪拌振とうし可溶性成分を抽出した。冷却遠心分離（12000×g, 20分, 5℃）後、残さをもう一度同様に攪拌振とうした。2回分の抽出液を合せ、抽出液中のエタノールと水をエバポレータで除去濃縮後、蒸留水で100mlに定容した。

6. 分析方法

(1) pH

デジタルpHメータを用いて測定した。

(2) 水分

105℃常圧乾燥法¹²⁾によった。

(3) 全窒素とタンパク質

ケルダール窒素分解法¹²⁾により測定した。全窒素にタンパク質換算係数6.25を掛けてタンパク質とした。

(4) 糖質

試料溶液を0.45μmのフィルターで精密ろ過して用いた。

糖質成分： 試料溶液中の糖質を順相分配モードの高速液体クロマトグラフィ（HPLC）法¹³⁾で測定した。標準糖質試料の保持時間から試料糖質を推定し定量した。使用した標準糖質試薬は、フルクトース（和光純薬工業製）、グルコース（同）、スクロース（同）、ニゲロース（同）、マルトース（同）、パノース（同）、マルトトリオース（同）、トレハロース（林原製）、マルトテトラオース（林原生化学研究所製）、イソマルトース（生化学工業製）、イソマルトトリオース（同）とイソマルトテトラオース（同）である。また、測定条件は以下の通りである。ガードカラム；TSKガードゲルAmide-80（3.2mmI.D.×1.5cm）、分離カラム；TSKgel Amide-80（4.6mmI.D.×25cm）、検出器；RI、移動相；70%アセトニトリル溶液（v/v）、流速；0.5ml/分、カラム温度；80℃、試料；20μl。

全糖質（グルコースとして）： 試料溶液中の全糖質をゲルろ過モードのHPLC法¹⁴⁾で測定した。単糖とオリゴ糖のピークをそれぞれ、グルコースとイソマルトースとした。イソマルトースについては、0.95で割り、グルコースに換算した。測定条件は以下の通りである。ガードカラム；TSKガードカラムオリゴ（6.0mmI.D.×4cm）、分離カラム；TSKgel G-oligo-PW（7.8mmI.D.×30cm）、検出器；RI、移動相；蒸留水、流速；1ml/分、カラム温度；50℃、試料注入量；20μL。

デンプン： 上述のゲルろ過モードのHPLC法¹⁴⁾で測定した。デンプンの加水分解（5の(2)参照）で得られた試料溶液を用いた。単一の単糖ピークをグルコースとして測定し、全糖とした。それに0.90を掛け、デンプンを算出した。

(5) エタノール

上記のゲルろ過モードのHPLC法¹⁴⁾で測定した。

(6) 遊離アミノ酸

日立L-8800アミノ酸アナライザーにより、生体成分分析法¹⁵⁾にて定量した。

(7) 着色度

分光光度計で550nmの波長における吸光度を測定した。

(8) 全フェノール成分

全フェノール成分の測定には Singleton と Rassi らの報告を一部改変した米山ら¹⁶⁾の方法によった。すなわち、蒸留水で2倍に希釈したフェノール試薬(和光純薬製) 0.5mlに、試料 0.5ml, 0.4M 炭酸ナトリウム溶液 2.5mlを加え、50℃, 5分間反応させた後、直ちに流水中で冷却し、765nmの吸光度を測定した。標準物質の没食子酸を用いた検量線より、全フェノール成分を定量した。

(9) 抗酸化性

Millerの方法を改良した津志田ら¹⁰⁾の方法に準じて行った。すなわち、β-カロテン溶液(100mg/100ml クロロホルム) 0.5ml, リノール酸溶液(10g/100ml クロロホルム) 0.2ml, ツイーン40溶液(20g/100ml クロロホルム) 1.0mlをそれぞれ200ml容ナス型フラスコに入れ、エバポレータでクロロホルムを除去後、100mlの蒸留水を加え溶解した。この共役酸化系懸濁液=リノール酸-β-カロテン溶液45mlに0.2M 燐酸緩衝液(pH7.0) 4mlを添加し、静かに攪拌後、2.45mlをガラスセル(縦1cm×横1cm×高さ4.5cm)に分注した。各セルに原液又は希釈した50μlの試料溶液、対照としてのコントロール溶液と標準溶液としてのブチルヒドロキシルアニソール(BHA)溶液(1mg/100ml)をそれぞれ添加した。すばやく蓋をし攪拌後、50℃の反応槽に移し、10分毎に60分間までOD470nmを測定した。

次に、Igarashiら¹⁷⁾の方法により酸化阻止率を算出した。すなわち、対照溶液、試料溶液とBHA溶液のそれぞれ0分後に対する20分後の吸光度の百分率を、 $P_c = (OD_{20分後} / OD_0分) \times 100$, $P_s = (OD_{20分後} / OD_0分) \times 100$ と $P_b = (OD_{20分後} / OD_0分) \times 100$ で示すと、試料溶液とBHA溶液の酸化阻止率は次式に

なる。試料溶液の酸化阻止率(%) = $100 \times [(100 - P_c) - (100 - P_s)] / (100 - P_c)$, BHA溶液の酸化阻止率(%) = $100 \times [(100 - P_c) - (100 - P_b)] / (100 - P_c)$ 。BHA濃度(1~4mg/100ml)に対応して得られた酸化阻止率(73.8~84.5%)の曲線から、試料溶液の酸化阻止率に相当するBHA量を求めた。これをβ-カロテン退色法による抗酸化性とした。但し、試料溶液の酸化阻止率が84.5%を越える場合には、73.8~84.5%の範囲に入るように蒸留水で希釈した試料溶液を用いた。仕込原料のBHA相当量をmg/100gで、みりんタイプの甘味飲料素材と試作本みりんのBHA相当量をmg/100mlで示した。

7. みりんタイプ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率の算出

収率(仕込原料の溶け): 甘味飲料素材(g)に対する全仕込原料(g)の百分率で収率(%)を示した。

グルコース回収率(糊化デンプンの溶解性): 甘味飲料素材中の全糖質(グルコースとして)(g)に対する全仕込原料の全糖質(グルコースとして)(g)の百分率でグルコース回収率(%)を示した。

全窒素回収率(タンパク質の可溶性率): 甘味飲料素材中の全窒素(g)に対する全仕込原料の全窒素(g)の百分率で全窒素回収率(%)を示した。

実験結果および考察

1. 仕込原料の主要成分

加熱処理バレイショ(121℃・30分)、加熱処理ユリネと加熱処理モチ米のデンプンは、それぞれ、15.2%、22.6%と52.3%であった(表2)。バレイショとユリネのデンプンは、それぞれ、モチ米のデンプンの約29%

表2 仕込原料の主要成分

		(g/100g)			
仕込原料	供試試料	水分	デンプン	タンパク質	エタノール
バレイショ	加熱処理バレイショ(121℃・30分)	79.1	15.2	2.0	
ユリネ	加熱処理ユリネ	65.6	22.6	3.0	
モチ米	加熱処理モチ米	40.1	52.3	5.1	
米麴	乾燥米麴	5.9	77.4	5.6	
焼酎	アルコール分35度(v/v)甲類焼酎				29.7
アルコール	35%(w/v)エタノール水溶液				38.4
酵素剤	アマラーゼAD「アマノ」1	4.6	86.9	0.6	
	ノバミル1500MG	10.5	60.8	10.4	
	プロテアーゼA「アマノ」	2.3	63.8	20.4	
	デナチームAP	2.3	62.9	19.4	

と約43%で少なかった。このため、みりんタイプの甘味飲料素材の原料に向いていると考えられた。一方、モチ米と同様のデンプン含量に調整するためには、水分が多いバレイショ等の場合、乾燥処理が不可欠であったが、これは、今後の検討課題である。

2. バレイショ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率に及ぼすバレイショの前処理法と酵素剤添加の影響

デンプンの糊化の程度^{1) 2)}、タンパク質の加熱変性度やもろみ pH 等が収率とグルコース及び全窒素回収率に影響すると考えられるため、バレイショの前処理法の加熱処理では、通常加熱(100℃・30分)と高温加熱(105℃及び121℃・30分)、浸漬後加熱処理では、pH4及びpH5調整液に十分浸漬吸水後、それぞれ、高温加熱(105℃及び121℃・30分)を試みた。

一方、米麴のアミラーゼやプロテアーゼは、もろみ中の高いエタノール濃度により阻害され、本みりんの収率とグルコース及び全窒素回収率が、抑制されるが、比較的、エタノール耐性の *Bacillus subtilis* 由来 α -アミラーゼと糸状菌由来中性プロテアーゼの酵素剤を併用することにより、著しく向上することが報告されている⁵⁾。そこで、*Bacillus subtilis* 由来の市販アミラーゼ(AAとAN)と糸状菌由来の市販プロテアーゼ(PAとPN)を用い、添加効果を検討した。

(1) 仕込時酵素剤の組合せの影響

既報⁹⁾の結果から、バレイショ甘味飲料素材の全窒素含量が、0.15%酵素剤濃度で、最も高くなったため、仕込時に0.15%酵素剤添加を本試験で行った。

酵素剤の組合せ4種類(AA+PA, AN+PN, AA+PN, AN+PA)の間では、収率とグルコース及び全窒素回収率は、ほとんど変わらず、それぞれ、69.5~72.2%、69.0~74.0%及び66.8~69.1%であった(図1)。表には示していないが、本酵素剤の α -アミラーゼ活性¹⁸⁾(AAは、16500U/g, ANは、13800U/gであった。)と中性プロテアーゼ活性¹⁹⁾(PAは、9500U/g, PNは、10400U/gであった。)にほとんど差がなかったことから、それぞれ、同程度の結果が得られたと考えられた。以後、仕込時酵素剤添加条件として、AAとPNの組合せで、各0.15%濃度で使用した。

(2) バレイショの前処理法と仕込時0.15%酵素剤添加の影響

収率は、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、ほとんど変わらなかったが、酵素剤未添加と0.15%酵素

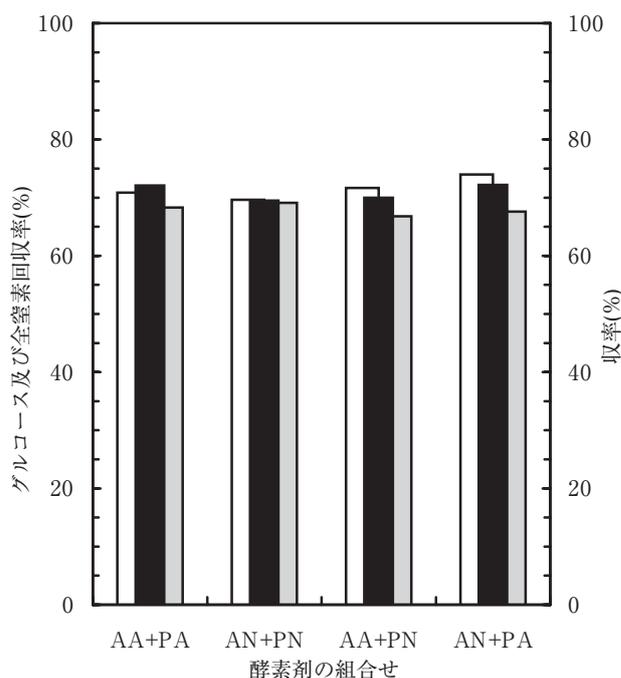


図1 0.15%酵素剤添加バレイショ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率に及ぼす酵素剤の組合せの影響

□:グルコース回収率 □:全窒素回収率 ■:収率
 ・供試バレイショ:加熱処理バレイショ(121℃・30分)
 ・酵素剤濃度:各0.15%(w/w)

剤添加では、後者で僅かに増加した。グルコース回収率も収率と同様の結果を示した(表3)。

酵素剤未添加の場合でも、収率とグルコース回収率は、それぞれ、62.2~65.5%と58.9~67.4%を示し、比較的高かったことから、米麴由来のデンプン分解酵素(α -アミラーゼやグルコアミラーゼ等)により、もろみ中の

表3 バレイショ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率に及ぼすバレイショの前処理と仕込時0.15%酵素剤添加の影響

		酵素剤	
前処理		未添加	0.15%添加
収率	加熱処理	62.6~65.2	67.8~69.7
	浸漬後加熱処理	62.2~65.6	66.2~71.0
グルコース回収率	加熱処理	58.9~66.7	66.9~77.2
	浸漬後加熱処理	64.5~67.4	68.3~81.2
全窒素回収率	加熱処理	44.0~50.6	61.1~65.1
	浸漬後加熱処理	40.7~45.9	55.6~70.8

・酵素剤の組合せ:AAとPN。(各0.15%(w/w)).

糊化デンプンが大半加水分解された可能性が高い。恐らく、糊化デンプンの老化があまり進行していなかったため、デンプンの溶解性が向上したと考えられた。通常、デンプンはアミロースとアミロペクチンから構成されている。アミロースはアミロペクチンより老化されやすい^{1) 2)}ため、アミロースを約20%含むバレイショデンプン^{1) 2)}は、当初、糊化デンプンの老化により、加水分解されにくいと考えられたが、アミロペクチン100%のモチ米デンプンと同様、糊化デンプンの溶解性が高く、バレイショの溶けが良好であったことが判明した。バレイショが、みりんタイプの甘味飲料素材として大変適していることがわかった。

一方、全窒素回収率は、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、あまり変わらなかったが、酵素剤未添加と0.15%酵素剤添加では、後者で顕著に増加した(表3)。すなわち、全窒素回収率は、0.15%酵素剤添加で著しく向上した。

以上の結果から、バレイショの前処理法として浸漬後加熱処理の効果がほとんど認められなかったため、バレイショの加熱処理を行った後、仕込時に0.15%酵素剤(AAとPN)を添加する方法がより良いと考えられた。

3. 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の収率等の比較

(1) 収率とグルコース及び全窒素回収率

ユリネは、保水性の高い不溶性のグルコマンナン²⁰⁾

を含むため、ユリネ甘味飲料素材の収率は、若干低かったが、総じて、三者の収率は、良好であった。その中で、バレイショ甘味飲料素材の収率が最も高かった。バレイショ甘味飲料素材の収率、グルコース及び全窒素回収率は、それぞれ、70.5%、70.3%と69.8%を示し、通常の本みりんのもの⁴⁾よりも良好であった(表4)。このことから、みりんタイプの甘味飲料素材の仕込原料としてバレイショが最も適していることがわかった。

(2) 主要成分

一般成分：バレイショ甘味飲料素材と市販本みりんの全糖質は、それぞれ25.2%と51.1%であった(表5)。バレイショ甘味飲料素材の全糖質は、市販本みりんの約49%であるため、本みりんの代用甘味調味料としてよりもみりんタイプの新規甘味飲料素材として低糖度、低甘味や低粘性を活かした利用法を検討していく必要があった。

糖質成分：バレイショ甘味飲料素材では、グルコースとイソマルトースが多く含まれ、それぞれ、18.3%と2.3%であった。それ以外の糖質や糖質転移生成物は非常に少なかった。市販本みりんでは、グルコース、マルトース、イソマルトースとパノースが多く含まれ、それぞれ、32.6%、2.6%、3.1%と1.4%であった。糖質転移生成物のイソマルトトリオースも0.6%含まれた(表6)。

遊離アミノ酸：遊離アミノ酸は、本みりんよりバレイショ甘味飲料素材で、約5.9倍多く含まれた。一方、みりんタイプ甘味飲料素材の遊離アミノ酸含量は、1.1

表4 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の収率とグルコース及び全窒素回収率

試料	収率	%	
		グルコース 回収率	全窒素 回収率
バレイショ甘味飲料素材	70.5	70.3	69.8
ユリネ甘味飲料素材	60.2	64.9	46.5
カボチャ甘味飲料素材	64.4	-	-
本みりん	63~67	62~65	10

・酵素剤の組合せと濃度：AAとPN、各0.15% (w/w)
・文献値⁴⁾

表5 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の一般成分

	(g/100ml)			
	バレイショ 甘味飲料素材	ユリネ 甘味飲料素材	カボチャ 甘味飲料素材	市販 本みりん
全糖質(グルコース換算)	25.2	28.9	26.9	51.1
全窒素	0.28	0.41	0.22	0.06
エタノール	10.7	8.3	12.1	10.9

・酵素剤の組合せ：AAとPN (各0.15% (w/w))

～1.6%で顕著な差がなかった。また、バレイショ甘味飲料素材では、アスパラギン酸が、最も多く19.7%含まれた。ユリネ甘味飲料素材では、アルギニンが、最も多く、15.6%含まれた(表7)。

4. 仕込原料の抗酸化性

乾燥米麴のBHA相当量は、36mgと高かった。加熱処理バレイショ(100℃・30分)、加熱処理ユリネと加熱処理モチ米のBHA相当量は、それぞれ、4mg、10mg及び1mg/100gを示し低かった。(図2)。データ

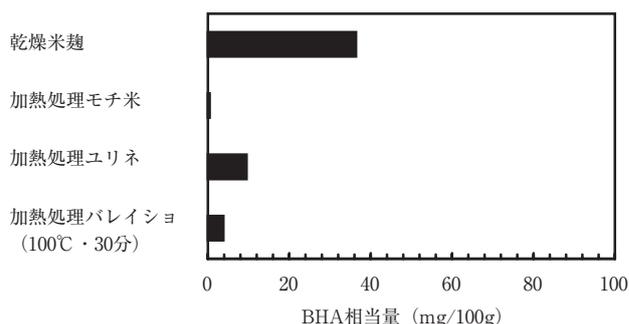


図2 仕込原料の抗酸化性

表6 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の糖質組成

糖質	(g/100ml)			
	バレイショ 甘味飲料素材	ユリネ 甘味飲料素材	カボチャ 甘味飲料素材	市販 本みりん
フルクトース	0.0	2.2	1.6	0.0
グルコース	18.3	19.5	21.4	32.6
ニゲロース	0.2	0.4	0.3	0.4
マルトース	0.3	0.9	0.5	2.6
イソマルトース	2.3	1.8	1.9	3.1
マルトトリオース	0.0	0.0	0.0	0.3
イソマルトトリオース	0.0	0.0	0.0	1.4
パノース	0.0	0.0	0.0	0.6
イソマルトテトラオース	0.0	0.0	0.0	0.1
総含量	21.1	24.8	25.7	41.1

・酵素剤の組合せ：AAとPN、各0.15% (w/w)

表7 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の遊離アミノ酸組成

遊離アミノ酸	(g/100ml)			
	バレイショ 甘味飲料素材	ユリネ 甘味飲料素材	カボチャ 甘味飲料素材	市販 本みりん
アスパラギン酸	268.5	122.5	167.1	23.2
スレオニン	47.8	53.9	40.6	8.9
セリン	59.3	87.9	58.4	15.8
グルタミン酸	162.7	198.8	194.2	31.4
グリシン	35.3	50.8	41.7	12.0
アラニン	54.5	88.1	68.8	15.6
バリン	105.1	108.6	75.3	17.2
メチオニン	31.6	23.2	19.6	6.7
イソロイシン	56.3	68.4	51.5	10.3
ロイシン	90.1	142.2	92.7	21.2
チロシン	74.7	76.5	49.4	15.4
フェニルアラニン	67.2	80.7	51.7	13.4
γ-アミノ酪酸	67.1	78.8	39.5	5.1
トリプトファン	16.9	16.9	10.7	3.5
リジン	68.1	69.6	44.0	5.2
ヒスチジン	15.7	13.4	10.1	2.8
アルギニン	99.7	245.5	80.8	15.6
プロリン	43.6	51.7	34.3	9.6
総含量	1364.2	1577.5	1130.4	232.9

・酵素剤の組合せ：AAとPN、各0.15% (w/w)

は示していないが、生バレイショと未加熱処理ユリネのBHA相当量は、それぞれ、10mg及び15mg/100gであったため、加熱により、熱に弱い抗酸化成分が変化し、若干抗酸化性が低下した可能性がある。津志田ら¹⁰⁾は、根菜、葉菜や果菜等いろいろな野菜の抗酸化性を β -カロテン退色法により、BHA相当量として測定している。その中で、バレイショとカボチャのBHA相当量は、それぞれ、5~25mg/100gと5mg以下/100gであり、野菜の中ではあまり高い方ではなかったと報告している。

5. バレイショ甘味飲料素材の抗酸化性、全フェノール成分、着色度とpHに及ぼすバレイショの前処理法と仕込時0.15%酵素剤添加の影響

BHA相当量は、酵素剤未添加と0.15%酵素剤添加では、ほとんど変わらなかったが、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、前者で著しく高かった(表8)。すなわち、抗酸化性は、バレイショの加熱処理で著しく増強された。

最近、各種のポリフェノール成分が、抗酸化性を示すことで注目されている。ポリフェノール成分と抗酸化性の間に高い相関があり、ポリフェノール成分が多く含まれると、抗酸化性も強くなる傾向があると報告されている¹⁰⁾。そのため、全フェノール成分を測定した。全フェノール成分は、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、変わらなかったが、酵素剤未添加と0.15%酵素剤添加では、後者で著しく増加した(表8)。BHA相当量は、0.15%酵素剤添加では、変わらなかったため、全フェノール成分の増加が、抗酸化性の増強に寄与してい

る可能性は低かった。データは示していないが、チロシン含有量もまた全フェノール成分含有量と同様の傾向を示したことから、モノフェノール成分のチロシンが、酵素剤プロテアーゼにより、更に加水分解され増大したため、全フェノール成分が増加したと考えられた。

着色度は、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、顕著な差がなかったが、酵素剤未添加と0.15%酵素剤添加では、後者で著しく増加した(表8)。すなわち、0.15%酵素剤添加で、著しく褐変が進行した。アミノ酸と糖との褐変反応(メイラード反応)生成物の抗酸化性が報告されている²¹⁾が、着色度とBHA相当量の結果が一致しなかったため、抗酸化性に対する着色成分の寄与が低いものと推察された。

pHは、酵素剤未添加と0.15%酵素剤添加では、あまり変わらなかったが、バレイショの加熱処理と浸漬後加熱処理では、後者で若干低かった(表8)。すなわち、もろみpHが若干低くなるバレイショの浸漬後加熱処理で、抗酸化性が低下した。既に、プロテアーゼのタンパク質加水分解作用によって生成されるペプチドの抗酸化性が明らかにされている^{22)~24)}ため、もろみ中のプロテアーゼにより、同様の抗酸化ペプチドが生成されたと仮定した場合、その生成量が、pHが若干低いもろみ中で、減少した可能性がある。しかしながら、抗酸化ペプチドの検討は今後の課題である。

6. 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の抗酸化性

バレイショ甘味飲料素材のBHA相当量は、109mg/

表8 バレイショ甘味飲料素材の抗酸化性、全フェノール成分、着色度とpHに及ぼすバレイショの前処理と仕込時0.15%酵素剤添加の影響

	前処理	酵素剤	
		未添加	0.15%添加
抗酸化性 (BHA相当量mg/100ml)	加熱処理	89~106	70~109
	浸漬後加熱処理	43~77	36~70
全フェノール成分 (mg/100ml)	加熱処理	74.8~91.1	104.3~116.9
	浸漬後加熱処理	70.1~76.9	92.0~114.3
着色度	加熱処理	0.22~0.30	0.58~0.74
	浸漬後加熱処理	0.19~0.24	0.65~0.81
pH	加熱処理	5.7~5.8	5.6~5.7
	浸漬後加熱処理	5.4~5.6	5.3~5.5

・酵素剤の組合せ：AAとPN、各0.15% (w/w)

100ml を示し、抗酸化性が最も高かった (図 3)。使用した米麴 40g と加熱処理バレイシヨ (100℃・30 分) 200g の総 BHA 相当量は、22.4mg になる。得られたバレイシヨ甘味飲料素材 220ml の総 BHA 相当量が、239.8mg となるため、仕込原料の抗酸化性は、熟成により、約 10.7 倍に増強された。このことから、バレイシヨ甘味飲料素材が抗酸化食品素材として十分利用できることがわかった。

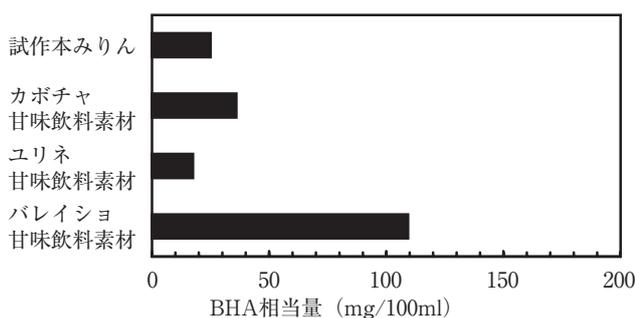


図 3 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の抗酸化性

- ・ 供試バレイシヨ：加熱処理バレイシヨ (100℃・30 分)
- ・ 酵素剤の組合せ：AA と PN, 各 0.15% (w/w)

7. 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の官能評価

香りや色で官能評価を行った。みりんタイプ甘味飲料素材のいずれも、原料由来の香りがほのかに感じられた。いずれの甘味飲料素材も、メイラード反応やポリフェノール成分による着色のため、茶褐色を呈した。その中でも、ユリネ甘味飲料素材の着色はかなり強く、濃い褐色を呈したため、活性炭等による脱色の必要性があった。カボチャ甘味飲料素材は、 β -カロテンの溶出により、若干赤色を呈した。甘味飲料素材の色●に?●ついて無色透明を基準に評価した場合、バレイシヨ甘味飲料素材の色は、茶褐色が薄く透明感があるため、三者の中では、最も良好であった。このことから、バレイシヨ甘味飲料素材の製品化の可能性が高いと判断された。

要 約

バレイシヨ、ユリネとカボチャの主要成分であるデンプンとタンパク質に着目し、これらのデンプン質資源を用いたみりんタイプの機能性甘味飲料素材の開発を行った。仕込原料として、前処理バレイシヨ、加熱処理ユリネと加熱処理カボチャ等各 200g、米麴 40g とアルコール (焼酎アルコール分 35 度 (v/v) 又は 35% (w/v)

エタノール水溶液) 100g を用いた。30℃、45 又は 60 日間、もろみを熟成した。バレイシヨ甘味飲料素材の収率等の向上と抗酸化性の増強を図るため、バレイシヨの前処理法と仕込時 0.15%酵素剤添加の影響を検討した。並びに、0.15%酵素剤添加バレイシヨ、ユリネ及びカボチャ甘味飲料素材 (みりんタイプ甘味飲料素材) の収率と抗酸化性から、原料適性を比較した。

(1) 仕込時 0.15%酵素剤添加 (市販アミラーゼと市販プロテアーゼ、各同量添加) で、バレイシヨ甘味飲料素材の収率とグルコース回収率は、それぞれ、僅かに増加したが、全窒素回収率は、著しく増加した。一方、収率とグルコース及び全窒素回収率は、バレイシヨの加熱処理 (100℃、105℃及び 121℃・30 分) と浸漬後加熱処理 (pH4 及び pH5 調整液浸漬後、各 105℃及び 121℃・30 分) では、あまり変わらなかった。バレイシヨの浸漬後加熱処理の効果が認められなかったため、バレイシヨの前処理法として、加熱処理を行い、仕込時に、0.15%酵素剤を添加する方法が、より良いと考えられた。

(2) 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の中で、バレイシヨ甘味飲料素材の収率が、最も良かった。バレイシヨ甘味飲料素材の収率、グルコース及び全窒素回収率は、それぞれ、70.5%、70.3%と 69.8%を示した。バレイシヨが、みりんタイプの甘味飲料素材の原料として最も適していた。

(3) 0.15%酵素剤添加バレイシヨ甘味飲料素材の全糖質は、25.2%で市販本みりんの約 49%であった。遊離アミノ酸含量は、1.4%で、市販本みりんの約 5.9 倍であった。

(4) バレイシヨ甘味飲料素材の抗酸化性は、バレイシヨの加熱処理で著しく向上したが、0.15%酵素剤添加では、あまり変わらなかった。抗酸化性は熟成により著しく増強された。

(5) 0.15%酵素剤添加みりんタイプ甘味飲料素材の中で、バレイシヨ甘味飲料素材の抗酸化性が最も高く、BHA 相当量で 109mg/100ml であった。バレイシヨ甘味飲料素材が、抗酸化食品素材として最も適していた。

文 献

- 1) 加藤博通, 内海成, 鬼頭誠, 山内文男, 小倉長雄, 中林敏郎, 新農産物利用学, (朝倉書店, 東京), p.15-20, p.20-23 (1987).
- 2) 二國二郎監修, 中村道徳, 鈴木繁男編集, 澱粉科学ハンドブック, (朝倉書店, 東京), p.39-42, p.9-19 (1977).

- 3) 杉本温美, 山下安代, 鈴木睦代, 森下正博, 不破英次, 貯蔵中のカボチャの澱粉の性質について, 応用糖質科学, 45, 33-39 (1998).
- 4) Uchida, M. and Oka, S., Efficiency of utilization of raw materials in conventional mirin-making, J. Ferment. Technol., 61, 13-18 (1983).
- 5) Uchida, M., Oyashiki, H., Nagahara, G. and Hanai, S., Improvement of yield by application of some commercial enzyme preparations in mirin-making, J. Ferment. Technol., 61, 127-134 (1983).
- 6) Uchida, M., Oyashiki, H., Nagahara, G. and Hanai, S., An Improved processe of mirin-making using supplemental enzyme preparations at a limited concentration of alcohol, J. Ferment. Technol., 61, 247-252 (1983).
- 7) Uchida, M., Oyashiki, H., Nagashima, G. and Hanai, S., Evaluation of conditions affecting productivity in the improved process, J. Ferment. Technol., 62, 315-320 (1984).
- 8) 内田正裕, みりん製造の合理化に関する研究, 発酵工学会誌, 68, 137-154 (1990).
- 9) 本堂正明, 榎賢治, 奥村幸広, 山木携, 味醂様バレイショ甘味調味料の調製, 食科工誌, 48, 361-364 (2001)
- 10) 津志田藤二郎, 鈴木雅博, 黒木柁吉, 各種野菜の抗酸化性の評価及び数種の抗酸化成分の同定, 食科工誌, 41, 611-618 (1994).
- 11) 本堂正明, 勝藤繁, 榎賢治, 奥村幸広, 山木携, 味醂様バレイショ甘味調味料の抗酸化性, 食科工誌, 48, 299-301 (2001)
- 12) 永原太郎, 岩尾裕之, 久保彰治, 全訂食品分析法, (柴田書店, 東京), p.78-84, p.99-108, p.123-124 (1977).
- 13) 「東ソー科学計測事業部」編集, 高速液体クロマトグラフィ用充填剤 TSKgel Amide-80 を用いた糖類の分離 (1) SEPARATION REPORT No.055, (東ソー, 東京).
- 14) 「東ソー科学計測事業部」編集, 高速液体クロマトグラフィ TSK-GEL 総合カタログ 2001, (東ソー, 東京), p.41 (2001).
- 15) 「日立製作所」編集, L-8800 形高速アミノ酸分析計 (本体編集) 取扱説明書 5 章 応用分析法, 改訂第 2 版 (日立製作所, 東京), p. 1-24 (1997).
- 16) 米山智恵子, 櫛田忠衛, Polyvinyl-poly pyrrolidone 処理した甲州種白ワイン中のフェノール試薬陽性物質, 日食工誌, 26, 498-502 (1979).
- 17) Igarashi, K., Yoshida, T. and Suzuki, E., Antioxidative activity of Nasumin in Chouja-nasu, Nippon Shyokuhin Kogyo Gakkaishi, 40, 138-143 (1993).
- 18) 「天野エンザイム食品事業部」編集, [文書管理番号: NAQ-3-10-3-1017] でんぷん糊精化力試験法 天野法 (pH5.0, 6.0, 7.0), (天野エンザイム, 名古屋), p.4-5.
- 19) 「天野エンザイム食品事業部」編集, [文書管理番号: NAQ-3-10-3-1101] たん白消化力試験法 天野法 (pH3.0, 6.0, 7.0, 8.0, 10.0), (天野エンザイム, 名古屋), p.4-6.
- 20) 井上吉之監修, 日本食品辞典, (医歯薬出版, 東京), p.307-308 (1976).
- 21) 山口直彦, メイラード反応生成物 アミノカルボニル反応物の抗酸化性, 食品工業, 35, 26-33 (1992).
- 22) 河村幸雄, 大久保一良編集, 「日本食品科学工学会」監修, ダイズのヘルシーテクノロジー 大豆ペプチドの抗酸化性, (光琳, 東京), p.147-166 (1998).
- 23) 工藤康文, 松田茂樹, 井越敬司, 沖智之, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* IFO13953 で発酵させた発酵乳から分離された抗酸化ペプチド, 食科工誌, 48, 44-50 (2001).
- 24) Kudoh, K., Matsumoto, M., Onodera, S., Takeda, Y., Andoh, K. and Shiomi, N., Antioxidative Activity and Protective Effect against Ethanol-Induced Gastric Mucosal Damage of a Potato Protein Hydrolysate, J. Nutr. Sci. Vitaminol, 49, 451-455 (2003)