

津山産巨大胚芽米：発芽条件の GABA 生成量

および抗酸化能に及ぼす影響

RICE WITH HUGE GERM (COCORO): EFFECT OF GERMINATING CONDITION ON GABA FORMATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY

船田 京子

Miyako FUNADA

津山市ではつやま新産業創出機構が中核となり、生産グループを結成して平成19年から巨大胚芽米の栽培を行い、「COCORO」という品名で商品化している。津山産巨大胚芽は胚芽の大きさが通常米より約3倍あり（図1）、通常の玄米に比べて発芽時にγ-アミノ酪酸（GABA）の発現量も高く¹⁾、ヒトの健康面への有益性、高機能性を期待されている。



図1.秋田こまちと巨大胚芽米の胚芽部の比較

その巨大胚芽米を使った加工品として、甘酒、胚芽酒、発芽玄米、発芽玄米粉、エクストルーダーを用いた多孔質の菓子などが試作品として作られている。

津山産巨大胚芽米を用いた研究は、岡山県北部の美作大学を中心に岡山県内の大学で行われている。津山産巨大胚芽米の食味に関する研究として人見らは炊飯時の巨大胚芽米と低アミロース米の配合割合は3：7が最適であり、巨大胚芽米の浸漬時間は吸水時間の関係からも約4時間以上が必要と報告している²⁾。また、巨大胚芽米（COCORO）の粉でも薄力粉に匹敵する良好な製品がで

きあがることが示唆されたことで³⁾、お菓子の材料としての普及にも取り組んできている。

一方、機能性に関する先行研究として小坂らは巨大胚芽米（COCORO）の摂取が通常人の排便に与える影響について検討した結果、試験食品の摂取により、排便回数に有意な増加が認められたことを報告した⁴⁾。また、馬場らは巨大胚芽米のDPPHラジカル消去能による抗酸化活性を測定している（カテキンを標準物質として使用）⁵⁾。

また、津山産発芽巨大胚芽米として、近畿中国四国農業研究センターでは玄米および胚芽精米の25℃水浸漬におけるGABAの生成量は、通常品種の2倍程度であることを報告し¹⁾、渡辺らはラットにおいて巨大胚芽米の長期間摂取は血圧上昇抑制にも効果があることを報告している⁶⁾。

GABAは植物体においてはグルタミン酸の脱炭酸反応によって生成され、本反応を触媒するグルタミン酸脱炭酸酵素の至適pHは酸性側にある⁷⁾。つまり植物が低酸素、低温などの環境ストレスに暴露されたことによって細胞質が酸性化するとき本反応が促進されることとなるが、この応答はグルタミン酸からGABAを生成する反応がプロトンの消費反応であることから、植物体の細胞質が環境ストレスにより酸性化するとグルタミン酸からGABAを生成する（プロトンを消費する）ことによって細胞質の酸性化を抑制し、細胞質pHを中性付近に維持するためのもの、といえる。大豆を対象とした研究では

あるが、発芽時に塩分などのストレスをかけた際に GABA 生成量が増加するという報告がある⁸⁾。また、Benavides ら⁹⁾はヒマワリの種や Chattopadhyay ら¹⁰⁾のイネにおいても塩分ストレスをかけた際には GABA 基質となるポリアミンの代謝に変化が起こることを報告している¹¹⁾。

本研究ではこれらの報告をもとに、GABA やフェルラ酸を始めとする抗酸化物質など、機能性成分生成量の多い巨大胚芽米のさらなる機能性成分生成量増加を図ることを主たる目的とし、巨大胚芽米を対象として発芽時に様々な発芽ストレスをかけた際の GABA 他機能性成分生成量の動向を探った。

また、その結果をもとに家庭で簡単にできる巨大胚芽米の GABA や抗酸化能を増加させる調理方法を模索することを目標とした。

実験Ⅰ．種々の発芽ストレス下における巨大胚芽米の GABA 生成量の測定

目的

発芽ストレス下における巨大胚芽米の GABA 生成量の変化を明らかにする目的で以下の実験を行った。

方法

28℃8時間の環境下で、4種類の発芽ストレス下(①食塩水 ②エタノール水溶液 ③酢酸水溶液 ④重曹水溶液)で巨大胚芽米を発芽させ、GABA 生成量を測定した。また、発芽ストレスの対照として、蒸留水を用いた。

GABA の分析は食品分析センターに委託した。今回の実験では浸漬させた巨大胚芽米の反応を止めるため、食品分析センターとの相談の結果、炊飯し熱を加えることとした。炊飯した巨大胚芽米は粗熱をとって冷凍させ、50g 程度を食品分析センターに送った。

1. 試料

試料は平成25年産の津山産巨大胚芽米「COCORO」を使用した。COCORO は岡山県勝田郡奈義町の俣ライスクロップ長尾から入手した。

2. 浸漬条件

(各実験群の発芽ストレス)

- ① 1. 3%塩化ナトリウム水溶液
- ② 1%エタノール水溶液
- ③ 1%酢酸水溶液
- ④ 1%重炭酸ナトリウム(重曹)水溶液
- ⑤ 蒸留水(対照)

3. 炊飯による発芽の停止処理

巨大胚芽米160gを5セット量った。それぞれを蒸留水で3回洗い、浸漬条件①～⑤の各水溶液240mlに28℃で8時間浸漬させた後、水気をきり蒸留水で1回洗った。米と水がそれぞれ合計400gになるように計量し、玄米モードで炊飯した。

4. 分析

一般財団法人 日本食品分析センターに依頼し、GABA は以下の方法で測定された。(図2)

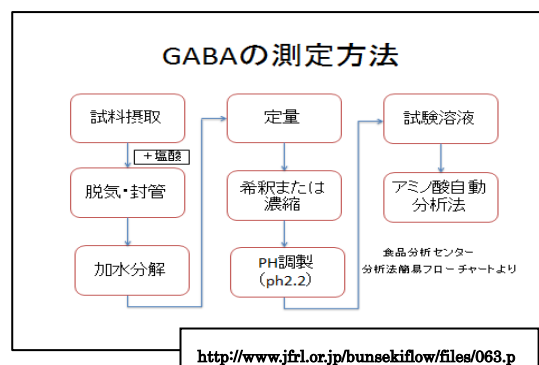


図2. 食品分析センターによる GABA 測定方法

結果

巨大胚芽米100gあたりの GABA 含量(mg)は、酢酸水溶液の浸漬条件では最も低く、エタノール水溶液と蒸留水の浸漬では同じ値で、食塩水と重曹水溶液の浸漬では高かった。

蒸留水を基準とした時、浸漬時に酢酸を加えると GABA 生成を阻害し、食塩と重曹の添加は GABA の生成を増加させることがわかった。

考察

筆者は発芽フェーズの進行速度が早いと GABA 生成量が増加すると仮説をたてていた。しかし、発芽ストレス環境下では膨らむ速度の遅かった食塩水、重曹水溶液群

の GABA 生成量が増加した。また、膨らむ速度の早い酢酸の GABA 生成量が減少した。すなわち、GABA 生成量と発芽フェーズを関連づけると GABA 生成量を増加させるためには「膨らむ」ために時間がかかる条件が適当であるということがわかった。一方、エタノール水溶液の発芽ステージ進行速度、GABA 生成量共に蒸留水と変わらないことから、1 %の濃度では巨大胚芽米にとって発芽ストレスになっていないことがわかった。

発芽時に塩分などのストレスをかけた際に GABA 生成量が増加するという報告がある⁸⁾が、巨大胚芽米でも大豆同様に食塩水を浸漬させることで同じ結果を得ることができた。また塩ストレスにより、イネに於いて GABA の基質となるプトレシン合成酵素であるアルギニン脱炭酸酵素の活性が一時的に上がることが報告されているが¹⁰⁾、本実験においても矛盾しない結果となった。

重曹水溶液も食塩水と同じように GABA 生成量が増加した。重炭酸ナトリウム（重曹）は塩化ナトリウム溶液の電気分解で得られた水酸化ナトリウム溶液に二酸化炭素を反応させて製造する ($\text{NaOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{NaHCO}_3$)。また、重炭酸ナトリウムの性質として、酸が加わると塩化ナトリウムが生成される。このことから玄米へのストレスが何らかの酸性物質を生成させ、弱アルカリ性の重炭酸ナトリウムと反応し、塩化ナトリウムを発生させ、塩化ナトリウムと同様に GABA 量を増加させたのではないかと考える。

一方、浸透圧面で見てみると塩化ナトリウムの分子量は 58 に対して重炭酸ナトリウムは 84 である。今回浸漬させた水溶液は食塩水では 0.23 mol に対し、重曹水溶液では 0.12 mol であった。モル濃度で考えると重炭酸ナトリウムは塩化ナトリウムの約半量であった。発芽ストレスが浸透圧によるものだとすると重曹と塩化ナトリウムの効果が同等であったことは説明できないが、先述のように新たに生成した塩化ナトリウムが条件をそろえた可能性はある。また細胞質の pH は GABA 生成に非常に大きな要因であるため、重曹以外の pH 変化条件を試す必要がある。

今回は反応を止めるために熱を加えた（炊飯した）ことから、重炭酸ナトリウムが熱と反応して二酸化炭素が生じ、細胞質 pH を低下させたことも GABA 生成量を増加させた要因の 1 つかもしれない。

実験Ⅱ 巨大胚芽米の抗酸化能に関する検討

厚生労働省が発表した平成 21 年の日本人の死因の第 2 位は心疾患、第 3 位は脳血管疾患である。¹²⁾ 血液中のコレステロールが高いと心筋梗塞などの動脈硬化を起こしやすいことは知られている。とくに LDL は活性酸素などによって酸化変性 LDL になって動脈硬化を起こすことがわかってきた。この LDL の酸化を防ぐためにはビタミン E、カロテノイド、ビタミン C を始めとしてポリフェノールなど種々の抗酸化物の摂取の重要性がクローズアップされてきた¹³⁾。

とりわけ玄米は通常米よりビタミン E (α トコフェノール) が多い¹⁴⁾。とくに、巨大胚芽米の原料となっている「はいいぶき」の α トコフェノールは通常の精白米より 1.5 倍含まれている¹⁾。日本人の多くが主食として食べている米から抗酸化能を有効に利用できれば、心疾患や脳血管疾患に限らず健康の維持、疾病や病気の予防に役立てることができる。

そこで著者は今回の実験では馬場ら⁵⁾の先行研究のもと、巨大胚芽米の環境下ストレスにおける抗酸化能の違いを明らかにする目的で①有機溶媒抽出希釈倍率の検討②発芽条件毎の抗酸化能の検討③サンプル洗浄の検討④抽出溶媒の検討を行った。なお、本実験では D P P H (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) をラジカル発生剤に選び、安定なラジカルを発生させて、各試料と反応させた後、比色法によって各試料の抗酸化成分のラジカル捕捉活性を評価した¹⁵⁾。

発芽ストレス毎の抗酸化能測定条件の検討

目的

発芽ストレスをかけることによって巨大胚芽米の発芽ストレス毎の抗酸化能が変化するかを明らかにする目的で以下の実験を行った。

方法

1. 試料

試料は平成25年産の津山産巨大胚芽米「COCORO」を使用した。COCOROは岡山県勝田郡奈義町の俣ライスクロップ長尾から入手した。

2. 浸漬条件

(各実験群の発芽ストレス)

- ① 1. 3%塩化ナトリウム水溶液
- ② 1%エタノール水溶液
- ③ 1%酢酸水溶液
- ④ 1%重炭酸ナトリウム（重曹）水溶液
- ⑤ 蒸留水（対照）

3. 発芽方法

玄米はそれぞれ抽出溶液で3回ずつ洗浄した。6孔マイクロプレートに巨大胚芽米を4gと浸漬条件①～⑤をそれぞれ6mlずつ入れ、蓋をして保温器に入れた。設定温度・時間（28℃8時間）になるとマイクロプレートから取り出し、蒸留水で1回洗浄した後、キッチンペーパーで軽く水気をとった。

4. 実験方法

発芽ストレス後の巨大胚芽米4gにクロロホルム/メタノール混液（1:2）12mlをいれ、ホモイナイズした。それを遠心分離（3000rpm、20分）にかけ、抽出液を暗所で1日放置した。10倍に希釈した抽出溶液1mlを試験管に入れ、エタノール1.5ml、DPPH/エタノール溶液（0.15mM）0.5mlを添加し、3mlとした。暗所で30分間反応させ、517nmにおける吸光度を測定した。なお、実験は一つの試料に対して18回行った。

結果

5条件の吸光度は①食塩水が0.270nm②エタノール水溶液0.292nm③酢酸水溶液0.295nm④重曹水溶液0.281nm⑤蒸留水0.285nmの値になった。分散分析の結果は、p値が0.15>0.005となり5つの条件での平均値には差がないことがわかった。また、吸光度をカテキン相当量に換算しても有意な

差はみられなかった。

発芽ストレスにおける5条件間には有意差が認められなかった。この結果は発芽ストレスの有無においては抗酸化能に差がないことが示唆された。味付けご飯を作るときに米の吸水時に塩分等の調味料を加えることがあるが、28℃8時間の環境下においては抗酸化能を増加させる目的では塩分等の調味料を加えても抗酸化能の増加を阻害しないことがわかった。

考察

今回の実験から以下のことが確認できた。

本実験の食塩水の結果は Benavides ら⁹⁾ やヒマワリの種や Chattopadhyay ら¹⁰⁾ のイネにおいて塩分ストレスをかけた先行実験と矛盾するものではなく、妥当な結果であると言える。重曹水溶液の結果に関しては、植物体の細胞質が環境ストレスにより酸性化するとグルタミン酸から GABA を精製する⁷⁾ 先行研究とは矛盾する。しかし、筆者は玄米へのストレスが何らかの酸性物質を生成させ、弱アルカリ性の重炭酸ナトリウムと反応したことで、塩化ナトリウムを発生させ、細胞質の酸性化を抑制し、細胞質 pH を中性付近に維持したものと考えた。

総括

発芽玄米と玄米の最大の違いは酵素作用による分解の有無である。玄米の最外層に存在する繊維成分、胚芽中の脂質成分、胚乳中の澱粉等が発芽により分解され、低分子化され一部の組織崩壊が起こる。その結果、全体が柔らかくなると同時に多糖類の一部が酵素分解され単糖、オリゴ糖が生成され、たんぱく質も一部分解され低分子化が起こることなどにより甘味、旨味が生成されてくる。発芽中のアミラーゼ活性は水浸漬30℃での環境下では、酵素活性は12時間頃から増加する。とくに胚芽の部分は6時間から増加し、12時間がピークとなる¹⁶⁾。巨大胚芽米の胚芽は通常米の胚芽の3倍あることから、発芽中のアミラーゼ活性が通常米の胚芽より遅く始まり、時間がかかると推測できる。今後は巨大胚芽米の浸漬時間や浸漬温度の違いがアミラーゼ活性にどのように影響を

するのかを検討したい。

また近年、活性水や機能水と言われる水が注目されている。これらの水は何らかの方法で水を処理することにより創ることができ、その特徴は高い活性や特定の機能、例えば強い殺菌力、食物の生長促進作用などである。その方法の一つとして物質の添加がある。例としては水素、オゾンなどのガス成分やミネラル、ミネラル濃縮液などである。それらを添加すると誘電率や粘性率、表面張力、浸透圧などの影響を受け、さらにクラスターの大きさと構造は浸透性や透過性と密接な関係がある。浸透性や透過性の向上はさらに植物の生長促進といった現象につながっている¹⁷⁾。本実験においてもこれらの新しい技術は類似するところがあり、今後は新しい発展が期待できる分野である。

今後の展開

今回の実験を通して巨大胚芽米は28℃8時間で膨らみ、浸漬水に食塩または重曹を加えることにより発芽時のGABA生成量を蒸留水と比較すると増加させることがわかった。

塩、しょうゆ、清酒は浸漬中、米への水吸収を妨げる¹⁸⁾という報告がある。浸漬時間が4時間であると食塩水やエタノールの場合、胚芽の状態が「変化なし」の状態の米が数個あった。しっかり吸水して胚芽を膨らませるためにも8時間は浸水時間が必要ではないかと考える。

また、塩味は飯の0.6～0.7%が適当であり¹⁸⁾、これは炊き水の1%に相当する。塩のみで味をつけるのであれば、2合の飯を炊く場合、米の重量の1.5倍の水に対して小さじ1杯弱の塩を入れる必要がある。今回は0.23Mの塩化ナトリウム水溶液であったために、パーセントに直すと1.3%に等しい。これでは味が濃くなってしまうので、炊飯する前に水を交換して炊くことが望ましい。

重曹は味をつけるという目的よりも、つやを出す、膨らます、柔らかくするために添加されることが多い。また、食品添加の他に汚れを落とす洗剤としても手段と利用されることもある。玄米は精白米とは違い、搗精され

ていない。それゆえに栄養もあるのだが、表面に農薬や微生物等も多少なりついている。それらの汚れを落とすためにも重曹で浸漬させるのはよい方法ではないかと思う。塩分と同じように、炊飯する前に軽く洗いを水を変えて炊飯することを提案する。

謝辞

実験にあたって試料を提供いただきました株式会社ライスクロップ長尾様、修士論文の執筆にあたって、絶えず御指導を下さいました美作大学大学院曾根良昭教授、美作大学短期大学部桑守正範教授、そしていつも見守り励まして下さった美作大学大学院妻藤真彦教授、美作大学人見哲子准教授、最後にGABA測定や実験参考資料などを提供いただきましたつやま新産業創出機構の職員の皆様に深く御礼申し上げます。

(引用文献)

1. 松下景、春原嘉弘、飯田修一、前田英郎、根本博、石井卓朗、吉田泰二、中川宣興、坂井真：巨大胚水稻品種「はいいぶき」の育成 近中四国農研報 71-14(2008)
2. 人見哲子、芦田菜々子、新垣はたる：巨大胚芽米(COCORO)と低アミロース米(姫ごのみ)の混合米による評価 美作大学・美作大学短期大学紀要(2013.Vol. 58. p. 113 ～ p. 117)
3. 人見哲子、角記子：薄力粉・米粉・玄米粉(COCORO)の粉の違いがシュー皮の膨化と味におよぼす影響 美作大学・美作大学短期大学紀要(2010.Vol. 55. p. 15 ～p. 21)
4. 小坂和江、廣瀬夏歩：巨大胚芽米(COCORO)の摂取が便通におよぼす影響 美作大学・美作大学短期大学紀要(2013.Vol. 58. p. 81 ～ p. 84)
5. 馬場直道、石原朋恵、吉岡祥司、吉田光佑、古川裕隆：はいぶき米粉の脂質成分組成比および抗酸化活性に関する研究 岡山大学大学院 2010. 3. 11
6. 渡辺典子、石橋源次、菊永茂司：巨大胚芽米の自然

- 発症高血圧ラットにおける血圧、脂質代謝におよぼす影響 ノートルダム清心女子大学紀要（巻：34号：1 p.111～p.117 .2010）
7. 今堀和友、山川民夫監修：第2版生化学事典 70 東京化学同人 1990
 8. くめ・クオリティ・プロダクツ株式会社：公開特許公報 2009-89682 (2009)
 9. Benavides, M. P., G. Aizencang and M. L. Tomaro. 1997. Polyamines in *Helianthus annuus* L. during germination under salt stress .J.Plant Growth Regul. 16:205-211
 10. Chattopadhyay, M. K., S. Gupta, D. N. Sengupta and B. Ghosh. 1997. Expression of arginine decarboxylase in seedlings of indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars affected by salinity stress. Plant Mol. Biol. 34:477-483
 11. 森本 拓哉：植物におけるポリアミンの代謝・制御およびストレス反応へのかかわり 果樹研報 Bull. Natl. Inst. Fruit Tree Sci. 3:1～20. 2004
 12. 厚生労働省 第8表死因順位（第5位まで）別にみた年齢階級・性別死亡数・死亡率（人口10万対）・構成割合
 13. 国立健康・栄養研究所 第2版 健康・栄養一知っておきたい基礎知識― 国民健康栄養振興会編 p 54・p 55
 14. 女子栄養大学出版部 食品成分表 2013 p16-17
 15. 道家晶子：食品の組み合わせによる抗酸化能の変化 岐阜市立女子短期大学研究紀要第53輯（平成16年3月）
 16. 森田尚文、前田智子：発芽玄米の機能特性と食品加工への応用 FFI JOURNAL, Vol. 213, NO. 11, 2008 1021-1022
 17. 久保田昌治 西本右子 これでわかる水の基礎知識 p144-145
 18. 和田淑子、大越ひろ 改定健康・調理の科学 第2版 p154-p155