

# 発芽玄米における抗酸化ストレス成分と食味に関する研究

竹内 若子・沈 江\*

## Studies on Antioxidative Stress Ingredients and Taste of Germinated Brown Rice

Wakako TAKEUCHI and Shen JIANG

### Abstract

We examined the starch-degrading enzyme activity in a germinated brown rice and drifting of bioactive substances. We used these to examine the difference of the germinated brown rice prepared by germination at a low (10°C) or warm temperature (30°C) .

In the brown rice germinated at 10°C, the enzyme activity of both  $\alpha$ -GSD and PUL was 1.5 times that germinated at 30°C. In addition, the total polyphenol content was 1.4 times. On the other hand, amylase activity was not detected in the brown rice germinated at 10°C.

Analyses by the head-space gas method revealed a large difference in the intensity and quality of smell between the brown rice germinated at 10°C and that germinated at 30°C. There was also a positive correlation between the amount of glucose and the taste of the germinated rice.

### 結 言

近年、発芽玄米中の機能性成分が高く評価され、米飯以外にも製パンをはじめとする多くの加工食品への利用が拡大化しつつある。ことに血圧降下作用などで知られる $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA)<sup>1-2)</sup>や脂質の酸化抑制効果をもつとされるフェルラ酸などの含有等の報告<sup>1)</sup>から、新たな健康機能性食材としてさらなる期待が寄せられている<sup>3)</sup>。

発芽玄米はこれまでの米への発想を転換させたもので、その名のとおり玄米に水分を与えて短時間の発芽処理をしたものであるが、その発芽過程における玄米の代謝反応は複雑かつ巧妙なメカニズムをもっている。こうした反応の結果、米の栄養成分やオリゴ糖をはじめとする遊離糖類の増加がもたらされ、炊飯時の食味の改善効果にも深く寄与すると考えられている。ま

---

\*名古屋女子大学大学院・生活学研究科・食物栄養学専攻 修士課程

た、発芽玄米中のGABA量は、米ぬかに吸水させただけでも量的な増加がみられることから発芽の生理的な機構とは直接的に関係なく、単なる吸水に伴う科学的な変化によるものと考えられている。

そこで本研究では、愛知県の農業センターより入手した玄米を対象に発芽米調製の条件を変えて収穫したものを試料とし、発芽玄米における酵素活性の変動や生理活性物質（二次代謝産物）の量的な変化ならびににおい識別装置法により、それぞれを炊飯したものについて食味との相関性について比較・検討した。

## 実験材料および方法

### 1. 実験材料および発芽玄米の調製法

玄米は、2002年度愛知県産の水稲品種「あいちのかおり」(*Oriza sativa* L., cv. Aichi no kaori) および「日本晴」(*Oriza sativa* L., cv. Nipponbare), の国産のうるち種とともに中国産の香り米や古代米としての黒米（中国産もち種）および赤米（福島県産）などを用いた。これら玄米を①低温法（約10℃で発芽させる法）ならびに②保温法（約30℃で発芽させる法）とで発芽処理したものを試料とした。なお、発芽処理は24時間から最長で72時間までそれぞれ実施した。

低温法は、玄米を洗米後、次亜塩素酸溶液にて（有効塩素 0.5% 濃度）で15分間振とうしながら殺菌処理し、塩素臭がなくなるまで（20～30分間）流水中ですすいだ後、ザルに揚げ、軽く水分を切り、ビーカーなどの容器内に移し、パラフィルムで密封し、10℃下で発芽処理〔24時間～72時間〕した。保温法では、同様に殺菌処理後、水洗したのち、容器に移し、25～30℃の温水とともにインキュベーター〔30℃〕内で発芽〔24～72時間〕させた。

### 2. 実験方法

1) 粗酵素液の調製：上記の調製発芽玄米を秤量（約1～2 g）し、これにpH 5.0, 100 mM-酢酸緩衝液（3～5 ml）を加えて1～2分間磨砕した。これを遠心用のポリチューブに採取し、12,000 rpm（4℃）にて15分間冷却遠心分離（クボタ製 6700）し、得られた上清を分析用の粗酵素液とした。なお、コントロールとして、同様に純水で処理したのもも実施した。

2) 酵素活性の測定： $\alpha$ -グルコシダーゼ（以下、 $\alpha$ -GSD）およびプルラーナーゼ（以下、PUL）

#### ① $\alpha$ -GSD活性の測定

$\alpha$ -GSD活性は、前報<sup>4)</sup>に準じた法で（前法とはキット試薬の内容が変更）粗酵素液に、10 mMマルトース溶液を基質とし、CaCl<sub>2</sub>含有 50 mM 酢酸緩衝液（pH 5.0）とともに一定時間（10分間）、反応（30℃）させた後、生成グルコース量をグルコースCII-テストワコー（和光純薬）を用いて測定した。

#### ② PUL活性の測定

PUL活性は、0.25% プルラン溶液を基質とし、100 mM McIlvaine 緩衝液（pH 5.6）とともに反応させた後、生成マルトトリオース量をジニトロサリチル酸法（以下、DNS法）で測定した。

### 3) 薄層クロマトグラフィー (Thin Layer Chromatography; TLC) 法による遊離糖の分離と同定

上記の両粗抽出液 (コントロールとpH 5.0 抽出) を毛细管 [ $10 \mu\text{l}$ ] を用いて, TLC プレート (シリカゲル, Merck社製:  $10 \times 10\text{cm}$ ) の原点上にドライヤーで1回ずつ乾燥させながら一定量をプロットした. これを展開溶媒 (ブタノール: エタノール: 水 = 2: 1: 1) 中で展開させた. プレートを乾燥後, 10 % 硫酸溶液をプレート上に均一に噴霧し,  $100^\circ\text{C}$  で10分間加熱処理した. 反応後の各スポットのRf 値を算出し, 糖類標品のRf 値をもとに各試料中の遊離糖類についてTLC解析を行った.

#### (ア) 高速液体クロマトグラフィー法

(High Performance Liquid Chromatography; HPLC) 法による分析

TLCの結果をふまえ, オリゴ糖など遊離糖についてさらに詳細な情報を得ることを目的として, 上記の各抽出試料液の一定量をエッペンチューブにとり, 等量のエタノールを加えて30~60分間ほど放置し, 遠心分離してデンプンを沈殿除去した. 遠心後の上清をフィルターろ過 (Millex-LH  $0.45 \mu\text{m}$ ) し, このうちの $10 \mu\text{l}$  をHPLC 分析に供した. 分析条件は, 以下のとおりである. 分析カラム: Shodex Asahipak  $\text{NH}_2\text{P}-504\text{E}$  ( $4.6 \times 250\text{mm}$ ), ガードカラム: Shodex  $\text{NH}_2\text{P}-50\text{G}$ , 移動相: 75% アセトニトリル水溶液, 流量:  $0.8\text{ml/min}$ , 温度:  $40^\circ\text{C}$ , ポンプ: 日立L-6200, 検出器: Shodex RI-71 (示差屈折率検出器), データ処理: 日立D-2500インテグレーターとした.

#### (イ) におい識別装置 (島津FF-1, および2A) による比較・解析

サンプル $20\text{g}$  をビーカーにとり, 蒸留水 $20\text{ml}$ を加え,  $150^\circ\text{C}$  に設定したホットプレート上にのせ, アルミホイルで蓋をして水分がなくなるまで炊飯した. 炊飯後のサンプルを室温で約1分間蒸らしたのち, 全量をサンプルバッグに移し, 乾燥窒素ガスを充填し, キャップで密封した. これを室温 ( $25^\circ\text{C}$ ) で1時間放置後, 別のサンプルバッグへヘッドスペースガスを移し, 分析した. なお, これらの分析は, 武庫川女子大学, 升井洋至博士との共同研究の下に実施した. また, 一部は島津分析センターへ分析依頼をした.

## 結果および考察

## 1. 発芽環境と糖質分解酵素

## (常在酵素) の活性変動

米の常在酵素である $\alpha$ -GSD活性とPUL活性の活性変動については, Fig. 1 a, 1 bとFig. 2 a, 2 bにそれぞれ示した.

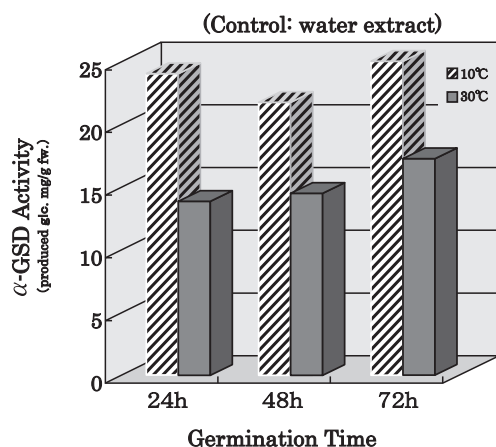


Fig. 1 a Effects of Germination Conditions (at 10°C and 30°C) on  $\alpha$ -GSD Activity from Germinated Brown Rice : Case of Water Extract (Control)

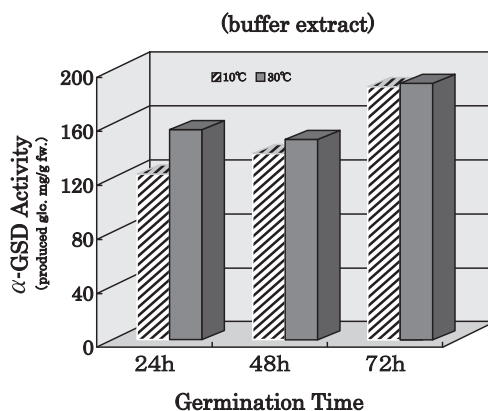


Fig. 1 b Effects of Germination Conditions (at 10°C and 30°C) on  $\alpha$ -GSD Activity from Germinated Brown Rice : Case of Buffer (pH 5.0) Extract

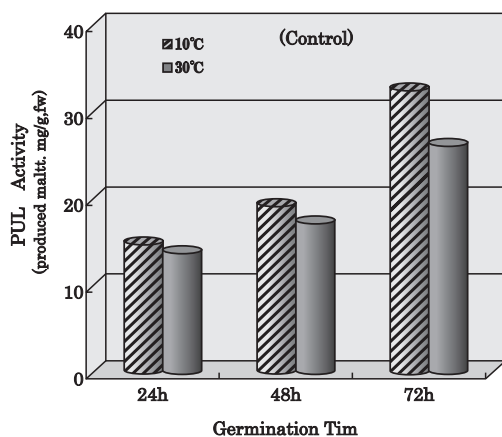


Fig. 2 a Effects of Germination Conditions (at 10°C and 30°C) on PUL Activity from Germinated Brown Rice : Case of Water Extract (Control)

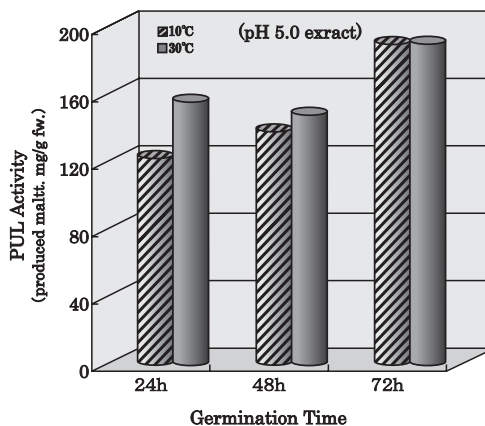


Fig. 2 b Effects of Germination Conditions (at 10°C and 30°C) on PUL Activity from Germinated Brown Rice : Case of Buffer (pH 5.0) Extract

コントロール (水抽出) 中での $\alpha$ -GSD活性は, 低温発芽処理の本実験で試した範囲 (24~72時間) 内では, すべて保温法の約1.5倍もの高い活性が認められた。ただ, pH 5.0抽出においては, コントロールの5~8倍ほどの顕著な活性増大とともに, 低温法と保温法との活性上での差は, ほとんど見られなかった。PUL活性でも $\alpha$ -GSD活性と同様の挙動がみられ, 低温法で

の活性のほうが高い傾向にあったが、pH 5.0抽出の24時間では、保温法との差が大きく、その後の時間経過に伴ない活性差はなくなった。一方、発芽に伴ない *de novo*合成されるアミラーゼの活性変動については、低温発芽米ではほとんど検出されず、保温法では高い活性を検出した。

## 2. 発芽玄米中の総ポリフェノール含量の比較

Folin-Denis 法による低温発芽玄米と保温発芽玄米中の総ポリフェノール量の測定結果をFig. 3に示した。二次代謝産物としてのポリフェノール量は、「日本晴」・「あいちのかおり」とも低温処理の方が保温法の約1.4倍と量的には多かったが、72時間処理では玄米の60%にまで低下した。また、一次代謝系酵素の総アミラーゼ活性（ヨウ素デンプン反応法）が保温法では87単位/gと顕著な増加がみられたのに対し、低温法では全く検出されなかったが、総ポリフェノール量は1.4倍も多く含有されていた。これは低温（10℃）ストレスによる増大の可能性もあるが、今後の課題でもある。

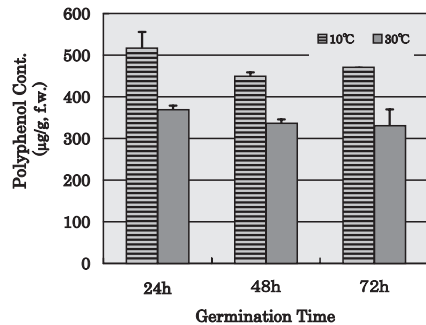
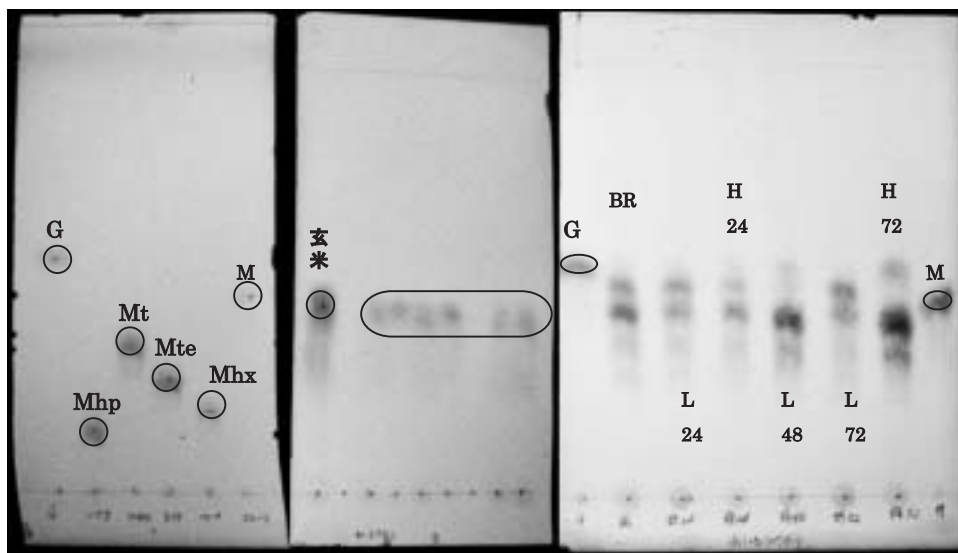


Fig. 3 Course of Polyphenol Content from Germinated Brown Rice by Folin-Denis Method. Dry rice seeds were allowed to imbibe, and incubated in darkness at 10°C and 30°C for 24, 48, and 72 hours. Data are means  $\pm$  SE (n = 3)

## 3. TLC解析による遊離糖の同定

粗抽出液中の遊離糖に関する情報を得るために試したTLC法での結果をFig. 4に示した。コ



a): Standard      b): Buffer (pH 5.0) extract      c): Control (H<sub>2</sub>O) extract

Fig. 4 TLC of Standard Sugars and Solubilized Sugars from Germinated Brown Rice. The standard sugars were Glucose (G), Sucrose (S), Maltose (M), Maltotriose (Mt), Maltotetraose (Mte), Maltopentaose (Mhp) and Maltohexaose (Mhx).; a) Buffer (pH 5.0) Extract; b) Control (Water) Extract; c)

ントロール (水抽出) の場合とちがい, buffer抽出中では主にマルトースの検出スポットが顕著であったのに対し, コントロールでは, 低温, 保温法の双方ともに検出スポットの数が多く, ことに保温法においてマルトースやマルトトリオースの検出が目立った。

#### 4. HPLC分析法での遊離糖量の比較

各種の糖類標品やサンプルのHPLC解析の結果 (Fig. 5), 相対保持時間 (Rt,min) は, フ

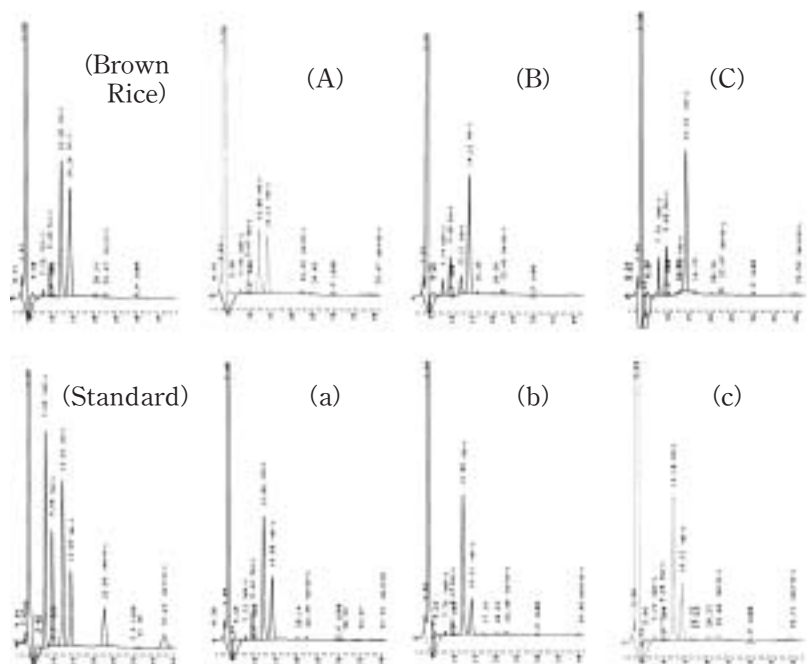


Fig.5 Typical HPLC Patterns of Standard Sugars and Solubilized Sugars from Germinated Brown Rice.

A : 24h, B : 48h, and C : 72h at Thermal (30°C) Germinative Method.  
a : 24h, b : 48h, and c : 72h at Low (10°C) Temperature Germinative Method.

ルクトース (Fru, 7.9), グルコース (Glc, 9.5), スクロース (Suc, 12.2), マルトース (Mal, 14.3), マルトトリオース (22.7) マルトテトラオース (37.6) となった。低温発芽玄米の水抽出 (コントロール) 中での遊離糖は, Suc., Mal., Glc. の順であったが, ことに Suc. のピークが大きく検出された。また保温法では Mal., Suc., Glc. の順でことに Mal. 量が多く検出された。この結果は, TLC法からも支持される結果であった。また, データとしては示さなかったが, 発芽玄米中の Glc. 量だけを測定したところ, 低温法では, 試したどの処理時間においても玄米の約 1.5 倍量に増加したのに対し, 保温法での Glc. は逆に低下していき, 48 時間では玄米の約 1/4 ちかくまで減少していた。

#### 5. におい識別装置による解析

におい識別装置解析においては, ヒトの鼻粘膜のにおいレセプターに準じた解析システムをとるもので, 直接, 複数のにおいセンサー素子ににおいを導入して解析するものである。本実験では, それぞれ調製した発芽玄米を一定条件の下で炊飯したときのにおいをセンサーに導入



し、その強さと質的な違いを判定することで解析した。その結果をTable 1に示した。ここでは「日本晴」低温法、保温法の24時間処理したものと古代米である「赤米」の保温処理した48時間、72時間とを比較をした。その結果、

Table 1 Fragrance and Flavor Analysis by FF-2 A (Shimazu)  
: Similarity with BasisGas

Similarity (%)									
Sample	硫化水素	硫黄系	アンモニア	アミン系	有機酸系	アルデヒド系	エステル系	芳香族系	炭化水素系
Nipponbare (10°C, 24h)	10.9	9.6	39.8	10.7	11.6	17.5	14.1	8.1	9.5
	9.9	9.4	39.9	10.7	11.8	14.5	14.3	8.2	9.6
	9.9	9.4	38.6	10.7	11.9	30.0	14.3	8.3	9.6
Nipponbare (30°C, 24h)	29.6	8.1	24.1	9.3	29.1	13.0	14.4	8.2	8.8
	30.3	8.1	22.5	9.2	31.3	9.9	14.5	8.4	8.6
	27.7	8.0	23.4	9.2	32.3	9.8	14.6	8.5	8.6
Red rice (30°C, 48h)	36.9	9.0	16.6	9.7	15.9	18.7	19.2	9.5	9.0
	36.8	9.0	16.2	9.7	17.5	13.3	20.8	9.6	9.0
	36.8	9.1	15.6	9.7	18.5	10.0	21.6	9.7	9.0
Red rice (30°C, 72h)	34.4	8.5	12.2	10.1	11.0	58.5	13.7	7.7	8.9
	35.4	8.5	10.8	10.1	11.0	58.7	13.7	7.7	8.9
	36.6	8.5	9.9	10.1	11.0	58.9	13.8	7.7	8.9

においの強さはいずれも保温法で顕著に高く、低温法の1.3倍の臭気指数相当値であった。また処理時間のちがいがあったにも関わらず、保温法での「日本晴」、「赤米」に差はほとんど認められなかった。また、サンプルガスとの比較から、赤米ではアルデヒド系や硫化水素系の基準ガスとの類似度が高かったのに対し、「日本晴」ではアンモニア系との類似度が高いことが示され、両サンプル間におけるにおいの質的なちがいが示唆された。あわせてにおいの質の類似性では、「日本晴」保温24時間と「赤米」保温48時間との類似性が推定され、「日本晴」低温24時間とは全く類似性がないことがわかった。これらの因子と炊飯米の食味との関連性についてはさらに継続実験が望まれるところである。しかしながら、低温発芽玄米では、保温発芽玄米に感じられる特有のにおいがほとんどなく、また、発芽途中の換水の手間もなく、利便性のうえでも、遊離糖量やポリフェノール含量の多さなどの機能性面からも推奨される調製法だと考えられる。こうした米飯での香気成分の解析は、口腔内の咀嚼によって食味を決定づける因子として重要なものであり、米のデンプン分解酵素活性と関連付けて追跡することこそが、炊飯米のおいしさの科学的な解明に結びつくものと考えている。

## 要 約

低温（10°C）発芽玄米と保温（30°C）発芽玄米とを試料として用い、これら両調製法での発芽玄米中のデンプン分解酵素の活性の変動ならびに生理活性物質の変化等について調べ、食味の決定因子でもある香気成分についてこれら調製発芽玄米の炊飯米をにおい識別装置法によって解析してみた。

- 1) 低温発芽法のコントロールの24時間処理では、 $\alpha$ -GSD, PULの両活性とも保温発芽に比べて1.5倍も高い活性を認めた。また、pH 5.0バッファ抽出では、さらに顕著な活性増加を再確認した。
- 2) 米のアリューロン層で、発芽に伴って*de novo*合成されるアミラーゼ作用は、低温発芽法では全く検出されなかったが、保温法では著しい増大がみられた。
- 3) 発芽玄米中の総ポリフェノール量は、低温発芽玄米において保温芽玄米の約1.4倍もの高い含量が検出された。

- 4) 低温発芽玄米の水抽出液を用いたTLC法からは、数多くの可溶化糖が検出されたのに対し、pH 5.0バッファ抽出では主にマルトースが、保温法ではマルトース、マルトリオースのスポットが目立った。さらにこれらの結果は、HPLC分析からも確認された。
- 5) 調製した発芽玄米の炊飯処理後のにおいについてヘッドガススペース法に基づく「におい識別装置」で解析した結果、低温発芽米と保温発芽米とはにおいの強度とともに質的な違いも大きいことがわかった。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究費の一部は本学の特別研究助成（平成18年度）を受けて行われたものであることを記し、謝意を表します。また、実験内容の一部は、平成18年度 食物栄養学科 卒論生の濱田 有香、坂東 可奈子、間瀬 愛さんらのご協力によるものであることを記し、あらためて感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 大森正司，矢野とし子，岡本順子，津志田藤二郎，村井敏信，樋口 満：嫌気処理緑茶による高血圧自然発症ラットの血圧上昇抑制作用，日本農芸化学会誌，61，1449～1451（1987）
- 2) 辻 啓介，市川富夫，田辺伸和，阿部士朗，横井庄一，中川靖枝：紅麴抽出物と $\gamma$ -アミノ酪酸の高血圧自然発症ラットにおける血圧降下作用，栄養学雑誌，50，285～291（1992）
- 3) 新家 龍，南浦能至，北畑寿美雄，大西正健：糖質の科学，p 69，朝倉書店（1996）
- 4) 竹内若子：白米炊飯時における還元糖生成の分子機構に関する研究，名古屋女子大学紀要（家政・自然編），第48号，25～23（2002）