研究ノート

4-アミノ酪酸富化食品用玄米を生産するための品種選定 および追肥と収穫時期の検討

三枝貴代^{1,3*}, 石川哲也^{1,4}, 樋口浩二², 石田元彦^{1,5}

¹ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター

² 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

³ 現所属 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所

⁴ 現所属 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター

⁵ 現所属 石川県立大学生物資源環境学研究所

Effects of Rice Cultivar, Additional Fertilizer Application, and Harvest Time on 4-aminobutyric Acid (GABA) Content of Brown Rice : Potential Improvements to GABA-enriched Supplementary Foods

Takayo Saikusa^{1,3*}, Tetsuya Ishikawa^{1,4}, Kouji Higuchi² and Motohiko Ishida^{1,5}

¹ NARO Agricultural Research Center, Tsukuba 305-8666

² NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba 305-0901

³ Present address : NARO Institute of Crop Science, Tsukuba 305-8518

⁴ Present address : NARO Tohoku Agricultural Research Center, Fukushima 960-2156

⁵ Present address : Bioresources and Environmental Science, Ishikawa Prefectural University, Ishikawa 921-8836

There is considerable demand for 4-aminobutyric acid (GABA)-enriched brown rice because GABA effectively decreases blood pressure and improves mental stability. We examined the effect of early harvesting and additional fertilizer application on the GABA content of rice cultivars with various genetic backgrounds—data applicable to the production of GABA-enriched processed rice foods. Early harvesting and additional fertilizer application at the panicle formation stage or at the full heading stage did not lead to an increase in GABA contents. However, large variations in GABA accumulation were observed among the different cultivars, and one (cv. Bekogonomi) was able to accumulate 40 mg/100 g of GABA. This result suggests that it is possible to develop new GABA-enriched rice cultivars without a large germ for the supplementary health food sector.

(Received Apr. 2, 2015; Accepted Jun. 8, 2015)

Keywords : 4-aminobutyric acid (GABA), brown rice, cultivars, additional fertilizer, early harvesting

キーワード : GABA, 玄米, 品種, 追肥, 早刈り

著者らは1994年、米を水に浸漬することによって、4-アミノ酪酸（GABA）が大量に生成、蓄積することを発見した¹⁾。GABAは高等植物において機械的刺激や低温、低酸素、乾燥など、ストレスに対する応答として細胞内に流入するカルシウムイオンによって活性化するグルタミン酸脱炭酸酵素（GAD）の作用で、グルタミン酸からの一分子脱炭酸反応が起こることによって生成する^{2)~4)}。GABAは哺乳動物においては抑制系神経伝達物質であり、経口摂取により高血圧抑制効果⁵⁾や、不眠や抑鬱への緩和効果⁶⁾⁷⁾があることが知られており、GABAを蓄積させた加工食品は機

能性を期待して多種製造販売されている。特に発芽玄米⁸⁾や高圧処理玄米⁹⁾¹⁰⁾は白米に混ぜて手軽に炊飯できると、GABAのほかに食物繊維なども摂取でき肥満抑制効果も期待できる食品として需要が高い。これらの加工技術については多くの研究が行われているが¹¹⁾¹²⁾、原料米品種の選定にあたっては巨大胚芽米の利用が一部で試みられている¹³⁾¹⁴⁾ほかには専用品種が存在しない。そこで今回我々は、GABAを蓄積させる目的で栽培した玄米について、GABA蓄積量に対する早刈りや窒素肥料追肥の影響および品種選定の可能性について検討した。

¹ 〒305-8666 茨城県つくば市観音台3-1-1, ² 〒305-0901 茨城県つくば市池の台2, ³ 〒305-8518 茨城県つくば市観音台2-1-18

⁴ 〒960-2156 福島県福島市荒井字原宿南50, ⁵ 〒921-8836 石川県石川郡野々市町末松1-308

*連絡先 (Corresponding author), takayo@affrc.go.jp

表 1 玄米の水浸漬による GABA 蓄積量への刈り取り時期の影響

(mg/100g)

水浸漬時間 (hr)*	タカナリ		ふくひびき		奥羽飼 394 号		べこごのみ		夢あおば	
	早刈	完熟期刈	早刈	完熟期刈	早刈	完熟期刈	早刈	完熟期刈	早刈	完熟期刈
0	3.3	1.4	7.4	5.6	9.2	4.7	13.3	18.7	4.1	3.1
4	7.7	4.8	12.6	14.3	14.0	15.6	21.9	20.6	10.6	10.6
24	3.7	6.0	15.2	16.6					2.8	13.1

*水浸漬処理は 40℃で行った。

1. 実験方法

(1) 供試材料

玄米はすべて茨城県つくばみらい市の中央農業総合研究センター谷和原水田圃場で栽培した水稻から得た。収穫後、稲袈かけにより乾燥、脱穀し、籾摺後に 1.8mm で篩選し、供試まで 4℃で保管した。

収穫時期の影響を確認する実験に供試した、タカナリ、ふくひびき、奥羽飼 394 号、べこごのみ、夢あおばは 2005 年に、基肥なし条件および基肥多肥条件下での追肥の影響を確認する実験に供試した、ふくひびき、べこごのみは 2006 年に、それぞれ移植条件で栽培した。基肥標準条件下での追肥の影響を確認する実験に供試した、べこあおば、モミロマンの栽培は 2007 年に湛水直播条件で栽培した。試験に用いた品種は全て胚芽の大きさは標準範囲内（玄米中の胚芽重量比が 2~3% 前後）であり、巨大胚芽米ではない。

(2) 収穫時期

いずれの品種も出穂後 5 週間後を目安に、5 割程度の籾が黄化し玄米が透明になった時期（黄熟期）に早刈りを行った。完熟期刈りは、その 1 週間後、ほとんどの籾が黄化し、玄米の 9 割程度が緑色を失った時期に行った。

(3) 施肥条件

2005 年は、基肥として高度化成を用いて窒素 7.0kg/10a を施用し、幼穂形成期に NK 化成を用いて窒素 5.1kg/10a を追肥した。

2006 年は、基肥なし区では基肥を施用せず、多肥（基肥多肥+幼穂形成期追肥）区では基肥として高度化成を用いて窒素 7.0kg/10a を施用し、幼穂形成期に NK 化成を用いて窒素 5.1kg/10a を追肥した。いずれも穂揃期に硫酸を用いて 2.1kg/10a を追肥する試験区（基肥なし+追肥区、多肥+追肥区）を設けた。

2007 年は、基肥として被覆尿素肥料を用いて窒素 8.3kg/10a を施用した。さらに幼穂形成期に NK 化成を用いて窒素を 3.4kg/10a 追肥する試験区（基肥標準+追肥区）を設けた。

(4) GABA 蓄積量測定方法

玄米は目開き 0.5mm のふるいをつけた遠心式粉碎器（pullerisette 14, FRITSCH, ドイツ）で粉碎し、1.00g を秤量、ねじ口つき試験管に入れ、蒸留水を 4.00ml 加えた。蓋をした試験管を恒温振とう槽（パーソナル 11・SDN, TAITEC, 埼玉）に設置し、ゆるい振とうを行いつつ 40℃

で保管、0, 4, 24 時間後 40% (w/v) トリクロロ酢酸水溶液を 1.00ml 加えて攪拌、酵素反応を停止した。

この混濁液をろ紙（No.2, ADVANTEC, 東京）と 0.45 μm 孔のセルロースアセテートフィルターユニット（DISMIC 25CS045AN, ADVANTEC, 東京）でろ過後、アミノ酸アナライザー（L-8500, 日立ハイテクノロジーズ, 東京）にイオン交換カラム（P/N855-3501, 4.6mmID×6.0 mm, 三菱化成, 東京）を接続、クエン酸リチウム緩衝液を用いる生体液分析プログラムにて GABA を定量した。

玄米は 115℃, 12 時間乾燥し、重量法で水分率を計算、GABA 蓄積量を計算した。

測定は、いずれも収穫後一年以内に、同じ年の試料は常に同時に行った。

2. 実験結果および考察

(1) 収穫時期による影響

早刈りでの GABA 蓄積量と完熟期刈りでの GABA 蓄積量を表 1 に示した。早刈りによって、GABA 蓄積量の増大は確認されなかった。

玄米中の GABA は水浸漬により、米粒内に元々存在していた遊離グルタミン酸の量よりも多く蓄積する場合がある¹⁾。これは GABA の蓄積に GAD 以外にプロテアーゼやペプチダーゼなどのタンパク質分解酵素などが深く関わっていることを示している。原料保管中に GABA 生成に係わる各種酵素の活性が低下することによって GABA 蓄積量が低下する現象は、米に限らず多くの GABA 富化食品の製造現場で観察されており、米も鮮度が高いほど多くの GABA を蓄積する可能性が高いことが推定される。一方、イネは完熟より 10 日収穫の早い早刈りによって澱粉分解酵素の活性が高い米を収穫することができ、それによって炊飯後の白米の甘みが増す現象が報告されている¹⁵⁾。GABA 蓄積に関与する酵素も早刈りによって高い活性が予想され GABA 蓄積量が増大することを期待したが、GABA 蓄積量は大きく変動しなかった。米粒において GABA は水浸漬中に生合成されるのみでなく、分解もされており¹⁶⁾、最終的な蓄積量は合成量から分解量を差し引いた量に相当する。GABA の蓄積は多くの酵素が複雑に関与する現象であるため、早刈りによる単純な蓄積量増大は起こらなかったものと考えられる。

(2) 追肥による影響

基肥なし条件および多肥（基肥多肥+幼穂形成期追肥）

表 2 玄米の水浸漬による GABA 蓄積量への穂揃期追肥の影響と玄米収量
基肥なしあるいは多肥（基肥多肥＋幼穂形成期追肥）条件において

	水浸漬時間 (hr)*	べこごのみ				ふくひびき			
		基肥なし区	基肥なし ＋追肥区	多肥区	多肥 ＋追肥区	基肥なし区	基肥なし ＋追肥区	多肥区	多肥 ＋追肥区
GABA 蓄積量 (mg/100 g)	0	2.6	2.4	10.5	9.1	3.2	4.0	3.6	3.4
	4	11.3	10.9	23.2	21.7	32.9	31.3	30.4	16.2
	24	28.1	40.6	44.3	47.5	13.0	25.6	2.9	17.1
玄米収量 (kg/10 a)**		509	502	599	587	437	420	720	730

* 水浸漬処理は 40℃で行った。

** べこごのみは一部鳥害を被った。

表 3 玄米の水浸漬による GABA 蓄積量への基肥標準条件における幼穂形成期での追肥の影響と、玄米収量

	水浸漬時間 (hr)*	べこあおば		モミロマン	
		基肥標準区	基肥標準 ＋追肥区	基肥標準区	基肥標準 ＋追肥区
GABA 蓄積量 (mg/100 g)	0	0.3	0.9	1.3	1.7
	4	2.2	2.6	4.4	3.6
	24	1.7	1.9	15.2	6.8
玄米収量 (kg/10 a)		439	693	492	515

* 水浸漬処理は 40℃で行った。

条件下での穂揃期での追肥が GABA 蓄積量におよぼす影響について表 2 に示した。基肥なし条件では追肥が GABA 蓄積量の増大に効果があるように見えたが、多肥条件では追肥を行っても GABA 蓄積量が増加せず、ふくひびきでは多肥条件下での追肥はむしろ GABA 蓄積量を減らした。また、穂揃期の追肥は収量の増大に寄与しなかった。

穂揃期の追肥は収量の増大に寄与しなかったため、追肥した窒素はタンパク質などの窒素化合物として米粒中に蓄積した可能性が高い。従って基肥なし条件では、不足していた米粒中のタンパク質含量が穂揃期の追肥によって補われた事による GABA 蓄積量の増大があった可能性が考えられる。しかし多肥条件では、GABA の合成に関与する酵素だけでなく分解に関与する酵素も増大したからか、あるいは追肥がプロラミンのように水浸漬後すぐには分解しない窒素化合物の増大にのみ寄与したためか、GABA 蓄積量は増大しなかった。しかし建部ら¹⁷⁾の報告によれば、施肥条件によってプロラミン含量割合の変動は確認されていないため、追肥によって特定のタンパク質のみの増大の可能性はあまりないものと考えられるため、増大した窒素化合物がプロラミンだけであった可能性は低いと推定される。

基肥標準施肥での幼穂形成期での追肥が GABA 蓄積量におよぼす影響について表 3 に示した。ここでも追肥は GABA 蓄積量の増大に寄与しなかった。また、モミロマンでは追肥がむしろ GABA 蓄積量を減少させる傾向があった。

追肥を幼穂形成期に行った場合、玄米中のタンパク質含量は増大せず、玄米収量のみが増加することが知られている¹⁸⁾。表 3 に示した通り、幼穂形成期の追肥は収量増大に寄与したが、種子中のタンパク質含量増大にはあまり寄与しなかったため GABA 蓄積量に追肥の影響が大きくなかったのではないかと推定された。

追肥が玄米中のタンパク質含量をあげる効果は、追肥の時期によって大きく異なる¹⁹⁾²⁰⁾。GABA 蓄積量を増大させるためには玄米のタンパク質等窒素化合物の含量を上げることが効果的であると予想されるので、追肥は幼穂形成期より穂揃期に施用する方が望ましいと推測されるが、その効果は必ずしも確認されなかった。また、米粒中のタンパク質含量を増大させることは食味を低下させることとなり、実用上では問題が大きい。

(3) 品種間差

2005 年～2007 年、早刈りや追肥による GABA 蓄積量の増加について試みたが、GABA 蓄積量を劇的に増大させることはできなかった。

一方、2005 年 4 時間水浸漬での GABA 蓄積量は、刈り取り時期による差の大きい品種でもその差が 1.6 倍程度であったのに比べ、品種間差は 3 倍以上あった(表 1)。また、2006 年、べこごのみは水浸漬 4 時間後から 24 時間後の間にも GABA 蓄積量が増大し続けたのに対し、ふくひびきは 4 時間後に蓄積していた GABA が 24 時間後には分解されているという品種の特徴がはっきりと確認された(表

2). この品種による差異は2007年の試験でも観察され、モミロマンは水浸漬4時間後から24時間後GABAの蓄積量が増大したのに対してべこあおばは4時間後に蓄積していたGABAが24時間後に分解されていた(表3). さらに2005年と2006年の結果から、べこごのみでは4時間水浸漬で約20mg/100g、24時間水浸漬で約40mg/100gというきわめて多量のGABAが蓄積する傾向があることが確認された.

遺伝的背景の近い米品種においてはGABA蓄積量に大きな差はなく、その蓄積量の変動も時間に対してどの品種もほぼ同じ動きを示すが²¹⁾、1994年に行った胚芽を用いた実験の結果¹⁶⁾や今回の実験結果のように、遺伝的背景の大きく異なる米品種同士ではGABA蓄積量は大きく変動し、一部の品種では長時間の水浸漬では一度蓄積したGABAが減少する場合があった. 米胚芽は米粒の中で特にGABAの蓄積量が多い¹⁾、そのためGABAを増加させるための専用米品種は、現在までのところ巨大胚芽米品種のみで育成されてきた. それらの巨大胚芽米は、GABA蓄積量が多い(20~45mg/100g程度¹³⁾¹⁴⁾)が、大きな胚芽による独特の食感が食味を低下させる傾向がある. しかし表1~3の結果から、GABA蓄積量の多い品種を選抜する事で、巨大胚芽米以外でも巨大胚芽米と同程度かそれ以上のGABA蓄積が期待できるGABA富化食品用の品種を育種することも可能であることが示唆された.

3. 要 約

4-アミノ酪酸(GABA)を蓄積させた玄米は、血圧低下効果や精神安定作用が期待できるためにニーズが高い. GABA蓄積加工用米として利用するために、多様な遺伝背景を持つ米で、早刈りや窒素追肥の効果を検討した. 早刈りによってGABA蓄積量は増大しなかった. また、幼穂形成期および穂揃期での窒素追肥によってもGABA蓄積量は必ずしも増大しなかった. しかし品種が異なるとGABA蓄積量は大きく変動し、一部(品種名べこごのみ)は40mg/100gまで到達した. この結果は、巨大胚芽米以外にもGABA富化食品用米品種の作出の可能性があることを示唆している.

文 献

- 1) Saikusa, T., Horino, T. and Mori, Y., Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1122-1125 (1994).
- 2) Baum, G., Lev-Yadun, S., Fridmann, Y., Arazi, T., Katsnelson, H., Zik, M. and Fromm, H., Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. *EMBO J.*, **15**, 2988-2996 (1996).
- 3) Shelp, B.J., Bown, W. and McLean, M.D., Metabolism and functions of gamma-amino butyric acid. *Trends plant Sci.*, **4**, 446-452 (1999).
- 4) Kinnersley, A.M. and Turano, F.J., Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Crit. Rev. Plant Sci.*, **19**, 479-509 (2000).
- 5) Stanton, H.C., Mode of action of gamma aminobutyric acid on the cardiovascular system. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **143**, 195-204 (1963).
- 6) 岡田忠司, 杉下朋子, 村上太郎, 村井弘道, 三枝貴代, 堀野俊郎, 小野田明彦, 梶本修身, 高橋 励, 高橋丈夫, γ -アミノ酪酸蓄積脱脂コメ胚芽の経口投与における更年期障害及び初老期精神障害に対する効果, 日本食品科学工学会誌, **47**, 596-603 (2000).
- 7) 藤林真美, 神谷智康, 高垣欣也, 森谷敏夫, GABA 経口摂取による自律神経活動の活性化, 日本栄養・食糧学会誌, **61**, 129-133 (2008).
- 8) 海老塚広子, 佐々木千恵, 喜瀬光男, 有田政信, 発芽玄米含有レトルト米飯を摂取したときの健康人の栄養状態及び身体状況に与える影響, 日本食生活学会誌, **18**, 216-222 (2007).
- 9) 杵淵美倭子, 関谷美由紀, 山崎 彬, 山本皓二, 高圧処理を利用した玄米中への γ -アミノ酪酸(GABA)の蓄積, 日本食品科学工学会誌, **46**, 323-328 (1999).
- 10) Sasagawa, A., Naiki, Y., Nagashima, S., Yamakura, M., Yamazaki, A. and Yamada, A., Process for producing brown rice with increased accumulation of GABA using high-pressure treatment and properties of GABA-increased brown rice. *J. Appl. Glycosci.*, **53**, 27-33 (2006).
- 11) 山崎 彬, 笹川秋彦, 高圧処理によるコメ加工食品の開発, 日本食品科学工学会誌, **45**, 526-532 (1998).
- 12) 佐竹利子, 福森 武, 劉 厚清, 河野元信, 佐々木泰弘, 高機能性米の調製加工技術の開発 第1報 玄米の浸漬条件がGABA成分の生成等に及ぼす影響, 農業機械学会誌, **66**, 115-121 (2004).
- 13) 河野元信, 劉 厚清, 平井 敬, 水野英則, 飯田修一, 春原嘉弘, 松下 景, 出田 収, 巨大胚米を用いた発芽米及び発芽玄米の加工特性に関する研究, 美味技術研究会誌, **11**, 25-28 (2008).
- 14) 石井卓朗, 出田 収, 松下 景, 春原嘉弘, 前田英郎, 飯田修一, 苗立ち性のすぐれる低アミロース巨大胚水稻品種「はいごころ」の育成, 近畿中国四国農業研究センター研究報告, **12**, 25-41 (2013).
- 15) 新井映子, 米の糖質分解酵素活性と米飯食味 早刈り米のおいしさの秘密とは, 応用糖質科学, **2**, 203-207 (2012).
- 16) Saikusa, T., Horino, T. and Mori, Y., Accumulation of γ -aminobutyric acid (gaba) in the rice germ during water soaking. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2291-2292 (1994).
- 17) 建部雅子, 及川 勉, 松野宏治, 清水恵美子, 米山忠克, 水稻白米のグルテリン及びプロラミン含有率に対する窒素栄養条件の影響, 日本土壌肥科学雑誌, **67**, 139-146 (1996).
- 18) 平 宏和, 多収穫栽培米のタンパク質含量に与える施肥の影響, 日本作物学会紀事, **39**, 200-203 (1970).
- 19) 藤井弘志, 安藤 豊, 松田裕之, 追肥時期および遮光処理による顕花生産効率の変化とそれが精米中のタンパク質含有率に及ぼす影響, 日本土壌肥科学雑誌, **69**, 463-469 (1998).
- 20) 後藤英次, 野村美智子, 稲津 脩, 寒地水稻に対する時期別追肥窒素の利用効率と各器官への分配, 日本作物学会紀事, **75**, 443-450 (2006).
- 21) 呂 慶伝, 後藤清和, 西津貴久, 玄米のGABA富化条件と品質について, 農業機械学会誌, **72**, 291-296 (2010).

(平成27年4月2日受付, 平成27年6月8日受理)