コメ胚芽中の 4-アミノ酪酸 (GABA) 蓄積に及ぼす 有機溶媒脱脂の影響

三枝貴代*・岡田忠司**・村井弘道**・森 隆***・堀野俊郎****
大森正司*****・伊藤昌博*****・小野田明彦*****

The Effect of Defatting with Organic Solvent on Accumulation of 4-Aminobutyric Acid (GABA) in the Rice Germ

Takayo SAIKUSA*, Tadashi OKADA**, Hiromichi MURAI**, Masashi OHMORI***,
Yutaka MORI****, Toshiro HORINO*****, Masahiro ITOU*****
and Akihiko ONODA*****

* National Agricultural Research Center, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
3-1-1, Kannondai, Tsukuba-shi Ibaraki 305-8666

** Oryza Oil and Fat Chemical co. ltd., 1, Numata, Kitakata-cho, Ichimiya-shi, Aichi 493-8003

*** Ohtsuma Women's Univ., 12, Sanban-cho, Chiyodaku, Tokyo 102-8357

**** National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
2-1-2, Kannondai, Tsukuba-shi Ibaraki 305-8642

***** Chugoku National Agricultural Experiment Station, Ministry of Agriculture,
Forestry and Fisheries, 6-12-1, Nishifukatsu, Fukuyama-shi Hiroshima 721-8514

***** Onishi Food co. ltd., 1-15-41, Niitaka, Yodogawa-ku, Osaka, 532-0033

***** Institute of Agricultural Machinery, 1-40-2, Nishin-cho, Ohmiya-shi,
Saitama 331-8537

The 4-aminobutyric acid (γ -aminobutyric acid, GABA) was accumulated steeply in the rice germ during water soaking. GABA-enriched rice germ work effectively to lower the blood pressure of patients of hypertension. However, the rice germ have a high amount of oil that will be rancidity. In this study, we tried a defatting of the rice germ without inactivation of glutamate dehydrogenase. The oil content was decreased to 3.9% (w/w) from 21.5% (w/w) and the accumulated GABA content increased to 328 mg/100 g from 251 mg/100 g after defatting of the rice germ with n-hexane for 2 h at 40°C. High temperature of defatting decreased the oil content. There was no effect of defatting temperature on the amount of accumulated GABA contents. However long time processing decreased the accumulated GABA content. There was no effect to GABA-accumulation of solvent change to acetone from n-hexane. However, ethanol decreased the accumulated GABA content. And the residue of solvent, n-hexane have no effect on GABA accumulation, but ethanol decreased the content of accumulated GABA during water soaking. (Received Mar. 6, 2000 ; Accepted Nov. 30, 2000)

* 農水省農業研究センター (〒305-8666 茨城県つくば市観音台 3-1-1)

** オリザ油化株式会社 (〒493-8003 愛知県一宮市北方町沼田 1)

*** 農水省食品総合研究所 (〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-2)

**** 農水省中国農業試験場 (〒721-8514 広島県福山市西深津町 6-12-1)

***** 大妻女子大学 (〒102-8357 東京都千代田区三番町 12)

***** 尾西食品株式会社 (〒532-0033 大阪市淀川区新高 1-15-41)

***** 生物系特定産業技術研究推進機構 (〒331-8537 埼玉県大宮市日進町 1-40-2)

コメ胚芽は精米によって生じるコメ糠に通常3割程度含まれており、栄養価にすぐれ、味も良い食品であるが、そのほとんどは利用されていない。コメ胚芽が広く利用されていない原因は、胚芽に20%程度含まれている油脂が分解、酸敗しやすいためである¹⁾。

1994年 SAIKUSA ら²⁾³⁾は、コメ胚芽に水を加えることによって、4-アミノ酪酸(γ -アミノ酪酸, GABA)が急激に増大、蓄積することを発見した。GABAは神経伝達物質の一つで、哺乳動物の血圧を正常レベルに維持する効果があることが知られている⁴⁾。GABAを蓄積させた日本茶は経口投与によってラットの血圧を正常レベルに維持することが確認され⁵⁾、現在健康食品として市販されている。我々はGABAを蓄積させたコメ胚芽が特定保健用食品素材として利用できるかどうかを検討するために、高血圧症患者に投与する実験をおこなった⁶⁾。その結果、血圧安定化の効果を確認したばかりではなく、精神状態の改善などの知見も得た。

そこでGABA蓄積コメ胚芽を特定保健用食品として利用するため、胚芽の加工法に関する問題を解決すべく、2つの点について研究を行った。第1点は、胚芽の保存性を高め、有害な酸敗脂質の発生を防止するために、胚芽の有機溶媒脱脂を行う試みである。GABA蓄積に関与する内在性の酵素の活性を維持したまま胚芽から油分を効率的に取り除く条件を明らかにするために、抽出用の有機溶媒の種類と抽出条件について検討した。第2点は、加水によりGABAが蓄積した状態のコメ胚芽を、腐敗させずに素早く乾燥させることである。このため乾燥速度が速いといわれる遠赤外線乾燥装置を試作し、その特性について検討した。

実 験 方 法

1. コメ胚芽

胚芽は、平成5年産のササニシキ玄米を15℃の保冷倉庫に貯蔵しておいたものを平成6年2月に精米し、得られた糠から2.5mmメッシュのふるいによってわけとり、ただちに実験に用いた。胚芽の水分含量は5.76% (w/w)、油分は21.5% (w/w)、GABA含量は37.6mg/100gであった。

2. 胚芽中のGABA含量の測定

胚芽0.400gに8.0% (w/v) -トリクロ酢酸(TCA)水溶液10.00mlを加えて、40℃で2h振とうしてGABAを抽出した。抽出液をアミノ酸分析装置(L-8500, Hitachi)を用いて、ニンヒドリン発色法によって測定、GABA含量を求めた。

3. 水分量、油分、酸価の測定

水分は、135℃17h乾燥後の重量測定によって求めた。油分は日本油化学会の基準油脂分析法⁷⁾に従い、エチルエーテル抽出部分の重量を測定して求めた。

酸価は日本油化学会の基準油脂分析法⁸⁾に従い、エチルエーテル抽出油1g中の遊離脂肪酸を中和するに要する水酸化カリウムのmg重量を、滴定法によって求めた。

4. コメ胚芽の脱脂

胚芽20.0gに有機溶媒100mlを加え、任意の時間と温度で、振とう(50回/min, 10cm振幅)を行い油脂を抽出した。胚芽をろ紙(No. 2, ADVANTEC)でわけとって、室温で減圧乾燥を行い、脱脂胚芽を得た。

5. コメ胚芽でのGABA蓄積量の測定

胚芽0.400gに蒸留水8.00mlを加え、40℃で2h振とう(100回/min, 10cm振幅)してGABAを蓄積させたのち、40.0% (w/v) -TCA 2.00mlを加えて、GABAの蓄積を停止させた。ろ紙で胚芽を取り除き、ろ液中に抽出されたGABA量を前述の方法によって測定した。

6. 遠赤外線乾燥装置の試作

装置は内部に金属製トレイを設置し、トレイの上下から遠赤外線を照射するように設計した。熱センサーを庫内に設置し、ヒーターの温度設定は可変にした。装置の仕様は下記の通りである。

外寸: 600 W×700 L×1480 H (mm)

質量: 約120 kg

電力: 遠赤外線ヒータ 3.6 KW (0.15 KW×24 pieces)

波長: ピーク 2.4 μ m (温度設定 120℃のとき)

ワークトレイ: 300 W×150 L×50 H (mm)

通風方式: トレイ上部に配置した5本のダクト(ID 2 mmのノズル計20個)から200 mmAqの圧力で送風

7. 脱脂コメ胚芽の遠赤外線乾燥装置による加工

遠赤外線乾燥装置内に設置したトレイに脱脂胚芽50.0gを均一に広げ、蒸留水を加え、ヒーターを50℃に設定、品温を30~40℃に維持した状態で4h静置した後、各温度で加熱乾燥処理した。

実 験 結 果

1. GABA蓄積への有機溶媒脱脂の影響

(1) n-ヘキサン脱脂による影響

植物油脂抽出にもっとも一般的に用いられる有機溶媒n-ヘキサンでの脱脂の、コメ胚芽への影響を検討した。

n-ヘキサンの40℃2h常圧脱脂を行うと、コメ胚芽の油分は21.5% (w/w) から3.9% (w/w) に減少した。

このとき、酸価は 51.5 mg/g から 22.8 mg/g、油分中の遊離脂肪酸含有率は 5.54% (w/w) から 0.45% (w/w) へと減少した。

生胚芽と n-ヘキサン脱脂胚芽は、蒸留水に浸漬する以前はそれぞれ 37.6 mg/100 g と 44.6 mg/100 g の GABA を含んでいたが、40℃ 2h の水浸漬によって生胚芽で 251 mg/100 g、脱脂胚芽で 329 mg/100 g にまで GABA が蓄積した。

(2) n-ヘキサン脱脂温度の影響

-20, 0, 10, 20, 30, 40, 50, 69℃ の各温度で n-ヘキサンにより常圧で 2 h 脱脂を行ったコメ胚芽での GABA 蓄積量と残留油分量を図 1 に示した。測定は 3 回行い、単純平均値を示した。高温で脱脂した胚芽のほうが残留油分量は少なかった。特に 30℃ 以下の範囲では、残留油分は抽出温度が高いほど低くなった。脱脂温度は、その後の GABA 蓄積量には有意な影響を与えなかった。

(3) n-ヘキサン脱脂時間の影響

n-ヘキサンを用いた 30℃ での脱脂操作を、1~24 h の各時間で行った胚芽での GABA 蓄積量と残留油分量を図 2 に示した。測定は 3 回行い、単純平均値を示した。長時間 (6h 以上) の脱脂操作は、GABA 蓄積量を減少させた。

(4) n-ヘキサン脱脂回数の影響

2 h 脱脂を 1~3 回行った胚芽での GABA 蓄積量と残留油分量を図 3 に示した。測定は 3 回行い、単純平均値を示した。油分は脱脂回数に応じて減少したが、脱脂回

数はその後の GABA 蓄積量に影響を与えなかった。

(5) 脱脂有機溶媒変更の影響

現在、食用油脂の抽出・精製に用いることが許可されている有機溶媒は n-ヘキサンと、アセトン、エタノールの 3 種のみである。n-ヘキサン以外の有機溶媒で脱脂を行ったとき、胚芽での GABA 蓄積量に影響があるかどうかを検討した。

抽出溶媒の一部から全部を n-ヘキサンからエタノールもしくはアセトンで置き換えて脱脂した胚芽での GABA 蓄積量を図 4 に示した。測定は 3 回行い、単純平均値を示した。n-ヘキサンをアセトンで置き換えた場合には、GABA 蓄積量に有意な変化はなかった。しかしエタノールで置き換えた場合には、わずか 5% (v/v) の置き換えで GABA 蓄積量は約 40% も減少した。しかしながら、抽出溶媒をエタノールに置き換える割合を増加させた時に、GABA 蓄積量の減少は大きくはならず、100% エタノール抽出では n-ヘキサン脱脂と比べ約 20% の減少にまで回復した。

(6) 脱脂溶媒残存の影響

脱脂を行ったときに用いた有機溶媒が残存していた場合、脱脂胚芽での GABA 蓄積量に影響があるかどうか検討するために、n-ヘキサン脱脂 (40℃, 2h) を行った後充分に有機溶媒を取り除いた胚芽に、n-ヘキサンもしくはエタノールを一定重量比添加した条件で、加水による GABA 蓄積操作を行った時の GABA 蓄積量を測定した。結果を図 5 に示した。測定は 3 回行い、単純平均値を示した。n-ヘキサン添加によって GABA 蓄積は

図 1 胚芽脱脂温度と、脱脂後の GABA 蓄積量及び油分量

□ : GABA 蓄積量, ■ : 油分.

図 2 胚芽脱脂時間と、脱脂後の GABA 蓄積量及び油分量

□ : GABA 蓄積量, ■ : 油分.

図 3 胚芽脱脂回数と、脱脂後の GABA 蓄積量及び油分量

□ : GABA 蓄積量, ■ : 油分.

阻害されなかったが、エタノールの添加は GABA の蓄積を著しく阻害した。その阻害割合は添加量が増大するにともなって大きくなった。

2. 遠赤外線乾燥装置で処理した時の脱脂胚芽への GABA の蓄積

(1) 加水条件による影響

ヒーターの設定温度 50.0℃、水浸漬開始時の胚芽温度 24.0℃、4 h 浸漬後の胚芽温度 37.5℃、乾燥時間 2 h 後の

図 4 脱脂溶媒と、脱脂後の GABA 蓄積量

○ : アセトン, ● : エタノール.

図 5 有機溶媒添加と GABA 蓄積量

○ : n-ヘキサン, ● : エタノール.

胚芽の最終温度 53.1℃ の条件の時、胚芽の 1.5 倍 (w/w) と 3.0 倍 (w/w) の蒸留水を加えた場合、GABA はそれぞれ乾燥重量で 302 mg/100 g と 346 mg/100 g 蓄積した。その時の最終水分量はそれぞれ 12.0% (w/w) と 14.7% (w/w) であった。

(2) 乾燥温度による影響

乾燥時の胚芽温度、水分量の変化および GABA の蓄積を表に示した。ヒータ設定温度をそれぞれ 70℃、85℃ および 100℃ とした時、最終的な胚芽温度は 50℃、60℃ および 70℃ となったが、各温度ごとの GABA 蓄積量は乾物量 100 g あたりでそれぞれ 370 mg、331 mg、326 mg となり、低温での処理の方が GABA 蓄積量は多くなった。

表 遠赤外線乾燥装置の乾燥温度が胚芽の水分量と GABA 蓄積量に及ぼす影響

ヒーター設定温度 (°C) 胚芽温度 (°C)	70 50		85 60		100 70	
	水分量 (%, w/w)	GABA 含量* (mg/100 g)	水分量 (%, w/w)	GABA 含量* (mg/100 g)	水分量 (%, w/w)	GABA 含量* (mg/100 g)
加水直前	23.1	76	23.1	76	23.1	76
加水直後	198.5	76	198.5	76	198.5	76
乾燥開始時	24.7	320	24.7	320	24.7	320
乾燥 1h 後	12.7	357	11.8	326	10.7	325
乾燥 2h 後	12.0	370	10.9	331	9.5	326

* 乾物重あたりで表示

考 察

GABA 蓄積コメ胚芽は、高血圧症患者向けの特定保健用食品として有望であると考えられた⁶⁾が、コメ胚芽には高い割合で油分が含まれているため高カロリーであり、肥満によって悪影響をうける高血圧症患者向けの食品として望ましくない性質もあった。さらに、コメ胚芽の油分は、コメ内在性のリパーゼなどの酵素によって素早く分解され、味や匂いが不快で毒性もある酸敗油となりやすいことも知られている。これらの問題を解決するために最も簡便で確実な方法は、胚芽を脱脂することだと考えられる。

GABA 蓄積脱脂コメ胚芽を製造する際、胚芽を脱脂する時期は、GABA を蓄積させる前と後とのいずれかが考えられるが、油分が酸敗する前にできるかぎり早く脱脂処理するほうが望ましいこと、GABA 蓄積過程で胚芽中の高分子物質の加水分解も起こることで胚芽がもろくなって加水処理後は脱脂処理がしにくくなるであろうことが予想されること、脱脂をあらかじめ行っておくと重量減によって乾燥工程での取り扱い量を減少させることができることなどの理由から、GABA 蓄積前に脱脂するほうが望ましいと考えられた。

GABA 蓄積操作前に脱脂を行う場合問題となるのは、脱脂工程で GABA 生成に関与する酵素、グルタミン酸脱炭酸酵素やペプチダーゼなどの失活が起こるかどうかである。現在、食品に使用することが許可されている有機溶媒は n-ヘキサン、アセトン、エタノールの 3 種のみである。コメ胚芽を有機溶媒脱脂する場合にもこの 3 種の溶媒の内いずれかを使用することが考えられた。通常植物油脂の抽出に用いられている n-ヘキサンで胚芽の脱脂を行ったところ、胚芽での GABA 蓄積量は減少せず、むしろ増加した。これは GABA 生成に関与する

酵素の失活が起こらなかったことを示すと同時に、n-ヘキサンでの脱脂によって油分が減少した結果、胚芽中でのアミノ酸およびタンパク質の相対的な重量増加が起こったためと考えられる。その結果、GABA 蓄積量は胚芽の単位重量あたりのおおよそ 30% も増大し、より理想的な食品素材を作出できることがあきらかになった。

脱脂条件としては、n-ヘキサンをを用いる場合、十分に油分を減少させるためには 30℃ 以上の温度範囲で行うことが望ましかった。抽出溶媒量を増やすか、脱脂回数を増やすと残存油分をより少なくすることも可能なことが、抽出回数を変化させた実験 (図 3) から予測されたが、長時間の作業は酵素の失活を招く可能性も示唆された (図 2)。長時間作業による酵素失活は、脱脂温度による影響が少ないことから、主に長時間攪拌をおったことによる機械的な理由によるものと考えられた。脱脂のための有機溶媒は n-ヘキサンをアセトンに置き換えても問題はなかったが、一部でもエタノールに置き換えると GABA 蓄積量が大幅に減少した (図 4)。この時エタノールの混入割合が少ない方が失活が激しかったのは、胚芽中に有機溶媒が浸透しやすい疎水性の高い条件下で水和性の有機溶媒であるエタノールが胚芽内部まで運ばれて酵素の変性を引き起こしたためではないかと考えられるが、具体的な作用機序については不明である。

また脱脂後に水浸漬処理によって GABA 蓄積操作を行う時にも、エタノールが混入すれば GABA 生成酵素が失活するためか、著しい GABA 蓄積阻害が起こった (図 5)。GABA 蓄積コメ胚芽の製造を行う場合には、エタノールが工程に混入しない注意が必要と考えられる。一方 n-ヘキサンの場合には、脱脂後の溶媒残留が GABA 蓄積工程に悪影響を及ぼすことがないと予想されたので、GABA 蓄積操作後に乾燥、焙煎などの工程があって n-ヘキサンが取り除かれることが予想されるの

ならば、脱脂直後に n-ヘキサンを完璧に取り除いておく必要はないことが示唆された。

GABA は胚芽中で内在性酵素の作用によって生成すると同時に分解もされている。実際に胚芽を食品として利用するときには TCA などの劇物によって酵素活性を停止させることは不可能なので、胚芽を GABA が蓄積した状態で維持するためには、乾燥あるいは加熱によって GABA 分解に関与する酵素作用を停止させる必要がある。また、水分活性が高い状態のコメ胚芽は乳酸菌などによって腐敗しやすいため、食品衛生上からも、すばやく乾燥させて水分活性を下げる必要がある。今回試作した遠赤外線乾燥機では、ヒーターを低温で維持して GABA 蓄積工程を行った後、ヒーター温度を 70~100℃ に上げて乾燥工程に移行できるように設計した。GABA 蓄積工程では水分は充分与えた方が蓄積量が多くなったが、初期水分が多いと後の乾燥に要するエネルギーや時間を多く必要とすること予測されることから、むやみに増やさない方が良くとも考えられる。乾燥工程では胚芽温度はヒーター設定温度よりやや低い 50~70℃ に保たれるが、乾燥温度は低い方が GABA の蓄積量が多かった。その理由は GABA 生成のための至適温度が 30~50℃²⁾ であり、胚芽が乾燥中もその条件に維持されたためであると考えられた。

n-ヘキサンで脱脂し、遠赤外線乾燥機で乾燥した GABA 蓄積脱脂コメ胚芽は、粉碎することによって、タブレット状態に整形することができ、またクッキーやウエハースなどの材料である小麦と一部置き換えることによって加工を行うことも可能であった。本素材は他の材料の持ち味を消すような強い味はなく、各種の食品に利用可能であると思われる。

要 旨

GABA 蓄積コメ胚芽を特定保健用食品素材として用いるために、脱脂条件、乾燥方法について検討した。

1) コメ胚芽を n-ヘキサンで脱脂すると、油分が取り除かれたことによって胚芽の保存性が増しただけでなく、単位重量あたりの GABA 蓄積含量が増大し、特定保健用食品としてより理想的な食品素材が得られた。

2) GABA 蓄積用コメ胚芽は 30℃ 以上の温度で短時間に脱脂を行うことが望ましかった。

3) コメ胚芽の脱脂にエタノールを用いると GABA 蓄積が阻害されることがわかった。また胚芽に GABA を蓄積させるための加水操作中にエタノールの混入があると、GABA 蓄積量が著しく減少することが明らかとなった。

4) 水浸漬操作で GABA を蓄積させたコメ胚芽を乾燥、加熱処理する時には、その過程で GABA 蓄積に至適な温度条件 (30~50℃) を長時間維持することで多量の GABA 蓄積が期待できた。

文 献

- 1) 宮川高明：食用油製造の実際 (幸書房、東京)、p. 28 (1988)。
- 2) SAIKUSA, T., HORINO, T., MORI, Y.: *J. Agri. Food Chem.*, **42**, 1122 (1994)。
- 3) SAIKUSA, T., HORINO, T., MORI, Y.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2291 (1994)。
- 4) STANTON, H.C.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **143**, 195 (1963)。
- 5) 大森正司・矢野とし子・岡本順子・津志田藤二郎・村井俊信・樋口 満：日農化誌, **61**, 1449 (1987)。
- 6) 岡田忠司・村井弘道・村上太郎・三枝貴代・堀野俊郎・小野田明彦・梶本修身・高橋 励：日食工誌, **47**, 596 (2000)。
- 7) 日本油化学協会：基準油脂分析法 (日本油化学協会、東京)、1.1.3.3-71 (1990)。
- 8) 日本油化学協会：基準油脂分析法 (日本油化学協会、東京)、1.1.3.4-83 (1990)。

(平成 12 年 3 月 6 日受付、平成 12 年 11 月 30 日受理)