

発芽玄米研究の最前線

信州大学大学院 農学研究科 茅原 紘

1. はじめに

発芽玄米とは、玄米を約32℃で22時間程度水に浸漬させ、0.5～1mmほど発芽させた玄米である。高機能性食品素材としてますます注目を集めている発芽玄米は、20世紀末に長野県上田市のドーマー(株)から製造・販売され、白米と同様に炊飯でき、美味しく、やわらかく、しかも玄米の持つ栄養面の良さおよび生体調節機能因子を増強させたすぐれものであり、日本で既に認知されつつあるが、最近では中国、韓国、台湾さらに米国にまで企業進出が及んでいる。

発芽玄米

発芽玄米の生理作用の研究は、まだ端緒の段階であり、ドーマー社と私たちの共同研究でなされた酵素プロリルエンドペプチダーゼ(略してPEP)の阻害活性の研究以外は主食にしている人々の体験談および臨床実験が先行しているのが現状であろう。酵素PEPの活性を阻害すると、アルツハイマー型認知症の予防・軽減化が期待される。実際、発芽玄米を主食に取り入れた高齢者用の病院や施設で患者さんの症状改善が見られたといううれしい臨床実験が報告されている。

私たちは長野県産「コシヒカリ」を使用し、マイコン電気発芽器「発芽美人HP-100」で発芽玄米を調整して、活性酸素消去能、リポキシゲナーゼ阻害活性、チロシナーゼ阻害活性、さらに、発芽過程でのフェノール成分の含量変化が生理活性に及ぼす影響等について考察したので、それらの結果について報告する。

2. 生理活性測定方法

2-1. 活性酸素消去能

白米、玄米、発芽玄米のメタノール抽出物をジメチルスルホキサイド(DMSO)に溶解させ、異なった濃度のサンプル(0.3mL)を2.0mLの反応混液{0.1mMエチレンジアミンテトラアセテート(0.5mL), 0.05mMキサンチン(0.5mL), 蒸留水(1.0mL)を含む50mMのリン酸カリウム緩衝液, pH7.8}に加えた。混合液を25℃で20分間培養し、反応を0.01mMのチトクロームC(0.5mL)とキサンチンオキシダーゼ溶液(0.2mL)を加えることにより開始させた。UV分光光度計を用いて、550nmでの吸光度を測定し、活性酸素消去能を下記の式から算出した。

$$\text{活性酸素消去能 (\%)} = (1 - (\Delta A_s - \Delta A_c) / \Delta A_b) \times 100$$

ΔA_s : サンプルの吸光度の増加, ΔA_b : 1 分間のブランクでの吸光度の増加,

ΔA_c : 1 分間のコントロールでの吸光度の増加

活性酸素消去能の%をサンプル濃度でプロットし, IC_{50} (50%消去するときのサンプル濃度)を算出した.

2-2. リポキシゲナーゼ活性阻害能

白米, 玄米, 発芽玄米のメタノール抽出物をメタノールに溶解し, 20 μ L のサンプル溶液と 2 mL の 0.2M ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH9.0) を混合させ 酵素溶液 (20 μ L のホウ酸ナトリウム緩衝液中の 1000 ユニット) を加えた. 50 μ L のリノール酸溶液 (エタノール中 4.18mM) を加えて反応させた. 分光光度計を用い, 25°C で 234nm での吸光度を測定して, リポキシゲナーゼ活性阻害能を下記の式から算出した.

$$\text{活性阻害能} = \frac{1 - (20 \text{ 分以内のコントロールの } \Delta Abs)}{(20 \text{ 分以内のサンプルの } \Delta abs)} \times 100$$

2-3. チロシナーゼ活性阻害能

Saruno らの方法を改良して測定した. 要約すると, Mallvaine 緩衝液 (pH6.8) およびサンプルの 1.0mL ジメチルスルフォキシド溶液中に, 0.3mM のチロシンを溶かした溶液 1 mL と 0.2MMallvaine 緩衝液 (pH6.8) を試験管中で混合させた. 混合液を 30°C で 10 分間前培養後, Mallvaine 緩衝液 (pH6.8) にチロシナーゼ (1000~2000 ユニット) を溶かした溶液 0.1mL を添加した. 30°C, 20 分間反応させた後, 1.0M のアジ化ナトリウムを 0.1mL 添加して反応を停止させた. ブランク反応をジメチルスルフォキシドで行い, チロシン無添加の反応混液をサンプルコントロールとして使用した. ブランクコントロールは 0.1mL のチロシナーゼ溶液を添加する前に 1.0M のアジ化ナトリウム 0.1mL で処理した. チロシナーゼ活性阻害率 (%) は次式で算出した.

$$\text{阻害率} = ((B-Bc) - (S-Sc)) / (B-Bc) \times 100$$

B : 475nm での吸光度, Bc : ブランクコントロールの吸光度, S : サンプルの吸光度, Sc : サンプルコントロールの吸光度を表す.

3. 米中のフェノール成分の改良分析方法

11 種類のフェノール成分について, HPLC 分析方法を開発した. 各米粉末の 70%エタノール抽出物から, Sep-Pak[®]C₁₈ plus を用いてフェノール成分を濃縮した試料を調整し, 分析条件を詳細に検討して, 最適条件を下記のように決定した.

移動相 : 0.025%TFA 水溶液 (A), アセトニトリル (B) グラジエント (B) % :

0min-5%, 5min-9%, 15min-9%, 22min-11%, 35min-18%

カラム 38℃, 流速: 0.8ml/min

測定波長: 桂皮酸類 325nm, ヒドロキシ安息香酸類 280nm

以上の分析条件により, 11種類のフェノール成分およびフェノール含量変化の測定を行った。

4. 結果および考察

単位重量あたりの発芽玄米メタノール抽出物は, すべての試験で白米, 玄米より活性が高く, 白米と玄米メタノール抽出物の活性はほぼ同程度であった。この活性試験結果と各メタノール抽出物量から, 米 10gあたりの活性酸素消去能および酵素阻害能を評価したところ, 発芽玄米の活性酸素消去能は玄米と同レベルで白米よりも3倍高く, リポキシゲナーゼ阻害活性は玄米の1.1倍, 白米の3.3倍, チロシナーゼ阻害活性は玄米の2.5倍, 白米の4倍高いという結果が得られた。体内で活性酸素が蓄積されると, 各種生活習慣病を誘発することが知られている。また酵素リポキシゲナーゼはアラキドン酸から数段階を経てロイコトリエンB₄という炎症の原因となりえる物質の産生に関与しており, もし、リポキシゲナーゼの活性を抑えることができれば, 各種炎症の予防・軽減化が期待できる。

米に含まれるフェノール成分の分析過程で2つの未知成分が検出されたため, これらの2つの化合物を分離、精製し、UV, IR, HRFAB-MS, ESI-MS, 及び

¹H, ¹³C-NMR, 二次元NMR解析結果から、6'-*O*-feruloylsucrose および 6'-

O-sinapoylsucrose であると決定した。これらの成分はヒメハギ中に存在するという報告はあるが、米中の存在は初めてである。

これら2つの配糖体を含む桂皮酸類、ヒドロキシ安息香酸類からなる11種類のフェノール成分について、3に記載した条件でHPLC分析を行った。

その結果、11種類のフェノール成分を完全に分離でき、優れた再現性と回収率が得られた。この分析方法で発芽によるフェノール含有量変化を測定した。

まず、米粉末を水酸化ナトリウムで処理し、結合型フェノール成分含量を測定した結果、フェルラ酸が米の主要な結合型フェノール成分であり、次いでクマール酸、シナピン酸含量が多いことが分かった。玄米と発芽玄米は、白米より結合型フェノール成分含量がかなり多かったことから、多くの結合型フェノール成分は米ぬかに含まれていると考えられる。

結合型フェノール成分は、癌の予防および抗酸化活性が報告されており、結合型フェノール成分をより多く含む発芽玄米には、玄米や白米よりも癌をはじめとする生活習慣病の予防・軽減化が期待できる。

次に、11種類の可溶性フェノール成分含量を測定した結果、玄米と発芽玄米は白米よりも多く含んでおり、玄米中には前述の2つの配糖体が主要な成分であった。しかし、発芽によってこの2つの成分含量は約1/3に減少し、配糖体の減少にともない、遊離のフェルラ酸とシナピン酸の量が増加した。特に、シナピン酸は発芽によって約10倍増加した。

発芽玄米中の遊離フェノール成分含量の増加が発芽玄米の生理活性増強に及ぼす影響を検

討するため、2つの配糖体を除く9種類のフェノール成分単独での活性酸素消去能およびチロシナーゼ阻害活性を測定した。その結果、クロロゲン酸、カフェー酸、シナピン酸が高い活性酸素消去能を、クマール酸、シリンガ酸、シナピン酸、クロロゲン酸が高いチロシナーゼ阻害能を有することがわかった。この結果からクロロゲン酸、カフェー酸、シナピン酸、クマール酸をより多く含む発芽玄米の総活性酸素消去能は、玄米の約3倍、白米の約5倍、総チロシナーゼ阻害活性は、玄米の約1.6倍、白米の約5倍高いと見積もられた。

これらの結果から、発芽による遊離フェノール成分含量、特に活性酸素消去能とチロシナーゼ阻害活性の高いフェノール成分の増加が発芽玄米の生理活性を向上させた一因であると結論付けた。

参考資料

- 1) Su Tian, Kozo Nakamura, Hiroshi Kayahara, Analysis of phenolic components in white rice, brown rice and germinated brown rice. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4808~4813(2004).
- 2) Su Tian, Kozo Nakamura, Tong Cui and Hiroshi Kayahara, High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. *J. Chromatography A*, 1063, 121~128(2005).
- 3) Kozo Nakamura, Hiroshi Kayahara and Su Tian, Germinated brown rice and its function from GABA to Phenols. *Food Research*, 592, 12~16(2004).
- 4) Kozo Nakamura, Su Tian and Hiroshi Kayahara, Functionality enhancement in germinated brown rice. *In Food Flavor and Chemistry: Exploration into the 21 Century*. In press.

本原稿は2005年に農学博士を取得した中国からの留学生、
田 栗様および信州大学農学部応用生命科学科中村浩蔵助教授との共同研究を
基礎に執筆した