

# 高圧処理を利用した玄米中への $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の蓄積<sup>†</sup>

杵淵美倭子\*・関谷美由紀\*\*・山崎 彬\*\*・山元皓二\*

## Accumulation of GABA in Brown Rice by High Pressure Treatment

(Manufacture of Processed Brown Rice Enriched with GABA  
Accumulation Using High Pressure Treatment Part I)

Miwako KINEFUCHI\*, Miyuki SEKIYA\*\*, Akira YAMAZAKI\*\* and Koji YAMAMOTO\*

\* Nagaoka University of Technology, 1603-1, Kamitomioka-machi, Nagaoka-shi, Niigata 940-2136

\*\* Research Institute, Echigo Seika Co., Ltd., 1003-1, Takanashi-machi, Ojiya-shi, Niigata 947-0193

GABA has attracted considerable attention as an inhibitory amino acid which lowers blood pressure in mammals. We focused on the fact that GABA occurs naturally in brown rice and endeavored to manufacture an easy-to-cook processed brown rice with an increased GABA accumulation. High pressure was utilized to manufacture this processed brown rice. The following points were discussed in this report. After 400 MPa pressure treatment by soaking, the water content in the brown rice increased in comparison with the control rice. Eighteen point three mg GABA was extracted from 100 g dried brown rice soaked for 18h at 25°C after 400 MPa pressure treatment, on the other hand 10.8 mg GABA was extracted from the control rice. Both the amount of lysine which was a limiting amino acid and several free amino acids increased in the brown rice by pressure treatment and soaking. (Received Aug. 3, 1998 ; Accepted, Jan. 20, 1999)

GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $H_2NCH_2CH_2CH_2-COOH$ , 分子量 103.12) は、哺乳動物の中枢神経系で神経伝達物質として関与しているアミノ酸の一つである。中枢神経系には GABA が含まれているが、末梢組織には網膜を除いて痕跡程度しか存在しないため、単に代謝に関与しているだけではないとされ、現在では GABA の抑制性伝達物質としての役割はほぼ確実視されている<sup>1)</sup>。GABA 経路はクエン酸回路の酵素系を一部共有しており、グルタミン酸からグルタミン酸デカルボキシラーゼ (E.C.4.1.1.15, GAD ; glutamate decarboxylase) により生合成される<sup>2)</sup>。

植物における GABA の生理的役割に関しては以下のような報告がある。米の発芽率と GABA 生成酵素である GAD の量には粳米、糯米の両種とも高い相関関係が見られる<sup>3)</sup>。また嫌気状態では植物体の器官においても

カルスにおいても GABA が蓄積されるという報告があり<sup>4)</sup>、生命活動と密接に結び付いたアミノ酸であることを示唆している。

動物実験で、STANTON は単体の GABA を犬に 11  $\mu$ g/kg, ラットに 19  $\mu$ g/kg, 豚に 174  $\mu$ g/kg, 猫に 96  $\mu$ g/kg を投与することで血圧低下に効果があると報告している<sup>5)</sup>。TAKAHASHI は兎で GABA の投与量を増加させていくと、血圧抑制効果は対数比例するが 8~12 mg/kg で最も効果的であったと報告している<sup>6)</sup>。また経口の処方薬としては 5 mg と 10 mg の錠剤が市販されている<sup>7)</sup>。

植物由来の GABA の薬効も知られており、津志田らはお茶を嫌気酸酵させて GABA を増加させ、そのお茶をギャバロン茶と呼んだ<sup>8)</sup>。室崎らはギャバロン茶 (60  $\mu$ g/ml) を本体性高血圧自然発症ラット (SHR) に投与

<sup>†</sup> 高圧処理を利用して GABA を蓄積させた加工玄米の製造 (第 1 報)

\* 長岡技術科学大学 (〒940-2136 新潟県長岡市上富岡町 1603-1)

\*\* 越後製菓(株)総合研究所 (〒947-0193 新潟県小千谷市高梨町 1003-1)

したところ、GABA単体の投与よりも血圧降下作用を示したとし、お茶に含まれる他の成分(カテキン、フラボノールなど)との併用が有効であると報告している<sup>9)</sup>。また三枝らは粳米の胚芽を40℃付近の水に浸漬してGABAを蓄積させ、米の銘柄によって浸漬水へのGABAの溶解量が異なることを報告している<sup>10)11)</sup>。斎藤はSHRの餌の10%を水に浸漬した胚芽で置き換えたところ血圧上昇が抑制されたとしている<sup>12)</sup>。

我々はこれまで高圧(圧力)を食品の調理加工・殺菌・抽出などに利用することを研究してきた<sup>13)~16)</sup>。米粒に対する圧力処理の効果として、山崎らは400 MPaの圧力処理によって広い範囲で澱粉粒の間に水が浸入した形跡があるとし<sup>16)</sup>、渡辺らは100 MPaの圧力処理によって米の細胞膜が損傷すると報告している<sup>17)</sup>。このことは圧力処理が米粒の改質をもたらして炊飯に必要な早期の吸水を導くとともに、酵素反応も進行させることを示唆している。更にGABAに関する知見として伊藤らは次のように報告している。700 MPaで圧力処理を施すことにより、水溶液中のGADの活性はほぼ10%に低下した。しかし、玄米粒に400~700 MPaの圧力処理を施した場合、40℃の保存状態で無処理と同程度にGABAが生成され増加した。またGADの活性は0℃においても30℃の活性の約1/6以上が残存していた<sup>18)</sup>。このことは玄米粒に700 MPa以下の圧力処理を施してもGAD活性が残り、かつ低温域でもGABAを生成させることができることを示唆している。また酵素反応を妨げずに微生物の殺菌ができるとの報告もあることから<sup>19)15)</sup>、腐敗させずに玄米を加工できる可能性がある。

以上をふまえ、本論文では玄米に対する加水量を変化させて圧力処理を施し、その後25℃で浸漬した場合の玄米の水分変化ならびに玄米中へのGABAの蓄積量の変化を調べて報告した。

## 実験方法

### 1. 試料

1996年新潟県産コシヒカリ(*Oryza sativa* L. *Japonica*, cv. Koshihikari)の玄米を使用した。農産物規格規定の水稲粳玄米品位規格の1等米<sup>19)</sup>から著しい死米、着色粒、異種穀粒は除いたが粒の大小や青未熟米などはそのまま使用した。

### 2. 試料の調製

コシヒカリの玄米(水分、15%)を10g採取して軽く水洗いし、玄米と水が1:1(w/w)(水分、57.5%)および1:0.3(w/w)(水分、34.6%)になるように水を加え

た。これを軟質性樹脂袋(5cm×7cm)に封入し、25℃の恒温水槽中に10分間保持をして試料の温度を一定にさせた後、圧力処理を施した。圧力処理後も25℃に設定した恒温振盪器(YAMATO SCIENTIFIC社 WATER INCUBATOR BT-31)中に保持してGABAの蓄積を行った。所定時間が経過した後、玄米を取り出し速やかに乾燥(30℃, 30分)し、玄米の水分を15%とした。この玄米を小型粉碎機(Tecater社 CYCLOTEC 1093 Sample mill)で粉碎し150 $\mu$ mを通過する粉末にした。浸漬水が残ったものについては、これを100℃, 10分間加熱して酵素を失活させ、これも合わせて浸漬玄米のGABAの検体とした。

### 3. 圧力処理

圧力処理装置は石川島播磨重工業製の食品用高圧特機(最高圧力1.5 GPa, 容量0.3~7 l)を使用した。圧力処理の条件は次のように設定した。温度は圧力容器にブラインを循環して25℃とし、200 MPa, 400 MPa, 700 MPaで試料を加圧した。圧力の保持時間は所定の圧力に到達してから10分とした。昇圧ならびに減圧の設定時間はそれぞれ2.5分と3.5分とした。

### 4. 水分測定

浸漬した玄米の付着水を除くために遠心機(国産遠心機 H-100 B)で遠心分離(1 000 rpm, 5分)を行った。四訂日本食品標準成分表に記載の常法に従い、玄米をアルミ秤量缶に入れて、常圧135℃で恒量に達するまで乾燥して水分を求めた<sup>20)</sup>。

### 5. GABAの抽出とアミノ酸分析

GABAの抽出は以下のように行った。玄米粉末2.5 gを採取し、これを2回分準備した。75%アルコールを30 ml加え、80℃で30分間還流抽出を行い、遠心分離(3 000 rpm, 10分)をして上澄みを採取した。残渣は再度還流抽出を行い、2回分の上澄みを合わせて玄米の抽出液とした。玄米と水が1:1の場合は浸漬水が残るので、玄米粉末2.5 gに対応する浸漬水を計量し、玄米の抽出液に加えて浸漬玄米のGABAの抽出液とした。2回分の抽出液を合わせてエバポレーターで蒸発乾固した。乾固時の温度設定は35℃とし、消泡剤(ファルマシア社 ANTI-FOAM)を数滴加えた。乾固した抽出物は0.02 N HClで2回洗い出した。卓上型小型遠心機(岩城硝子 CFM-100)で遠心(12 000 rpm, 10分)して上澄みをアミノ酸分析用の検体とした。アミノ酸分析は高速アミノ酸分析計(日立製作所 835形)を用い、50または100 $\mu$ lを注入した。玄米に含まれる遊離アミノ酸の含有量は乾物100 g当たりで示した。

## 実験結果

## 1. 圧力処理および浸漬時間によるコシヒカリ玄米中の水分変化

Fig. 1 に玄米と水を 1:1 の水分量で圧力処理を施した後浸漬した場合の、浸漬時間による玄米の水分変化を示した。浸漬 18 時間後には圧力処理の有無にかかわらず、約 32% の水分量に達した。しかし圧力処理後 30 分は処理圧力に応じて玄米の水分量が上昇した。その後は 400 MPa で圧力処理を施した玄米は、無処理に比較して水分の吸収が早かったが、700 MPa で圧力処理を施した玄米は無処理と同程度に吸水した。400 MPa と 700 MPa の圧力処理では浸漬中の玄米の吸水速度が違うことが認められた。なお玄米と水が 1:0.3 の場合も同様な水分変化を示した。

## 2. 圧力処理および浸漬による玄米中の遊離アミノ酸量の変化

Table 1 に乾物 100 g のコシヒカリの原料玄米中に含まれる遊離アミノ酸の含有量を示した。GABA は 6.4 mg 含まれており、特に多く含まれているアミノ酸はア

スパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸であった。

また Table 1 には圧力処理ならびに無処理の、18 時間浸漬後の玄米（玄米と水を 1:1 に調製）から抽出された遊離アミノ酸の含有量を示した。加圧を行わずに浸漬した場合は原料玄米のアミノ酸の含有量に比較し、アラニン、グルタミン酸、ヒスチジン、GABA などのアミノ酸の含有量が増加した。圧力処理を施して浸漬した場合にはアラニン、アルギニン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、ロイシン、米の制限アミノ酸であるリジン、GABA などのアミノ酸の含有量が増加していた。しかしその中でアスパラギン、アスパラギン酸は減少していた。GABA の基質であるグルタミン酸は浸漬により増加したが、圧力処理を行ったほうが、無加圧のものより 0.7 mg ほどグルタミン酸量は増加していた。

## 3. 圧力処理および浸漬時間による玄米中への GABA の蓄積

(1) Table 2 に玄米と水を 1:1 に調製して圧力処理を施し、25°C で浸漬したときの玄米中への GABA の蓄積量を示した。乾物 100 g の玄米中への GABA の蓄積量は圧力処理を施した玄米の方が無処理に比較して多い

Table 1 Change in free amino acid content in Koshihikari brown rice resulting from 400 MPa pressure treatment and soaking time (mg/100 g brown rice dry basis)

Amino acid	Control	Control, 18 h	400 MPa, 18 h
Ala	3.7	5.3	7.9
Arg	1.9	1.8	4.4
Asn	33.5	16.6	20.6
Asp	6.8	3.9	5.3
Cys	0.0	0.0	0.0
Glu	8.7	12.8	13.5
Gly	0.8	0.4	2.4
His	0.4	1.0	2.1
Ile	0.3	0.1	0.9
Leu	0.4	0.4	2.0
Lys	0.4	0.6	2.3
Met	0.4	0.2	0.9
Phe	0.4	0.5	1.5
Pro	0.9	1.1	2.0
Ser	2.4	2.6	4.4
Thr	0.6	0.6	1.7
Tyr	0.6	0.5	2.0
Val	0.9	0.9	2.1
GABA	6.4	10.8	18.3

Table 2 GABA accumulation in brown rice according to pressure treatment and soaking time  
(mg/100 g brown rice d.b.)

Pressure	Soaking time		
	0 h	10 h	18 h
Control	6.4	8.7	10.8
200 MPa	6.4	12.0	16.2
400 MPa	6.4	13.0	18.3
700 MPa	6.4	11.5	15.9

Brown rice to water was 1 : 1.

Table 3 Accumulation of GABA in brown rice according to 400 MPa pressure treatment and 10 h soaking time  
(mg/100 g brown rice d.b.)

Pressure	Water content	
	34.6%	57.5%
Control	8.7	8.7
400 MPa	13.0	13.0

ことが認められた。圧力処理を施した玄米の場合、400 MPaの圧力処理においてGABAの蓄積量が最も多くなっていた。

(2) Table 3に玄米と水を1:1(水分, 57.5%)および1:0.3(水分, 34.6%)に調製した場合の、10時間後における玄米中のGABAの蓄積量を示した。玄米と水の比率を1:1から1:0.3に変化させても蓄積されるGABAの量には差が認められなかった。

## 考 察

### 1. 玄米に含まれる遊離アミノ酸の活用

玄米を摂食する場合、一般的には玄米中の繊維やビタミンEの機能性を期待している。しかしTable 1に示したように原料玄米中には、哺乳動物の中枢神経系の神経伝達物質のうち、興奮性アミノ酸としてグルタミン酸、アスパラギン酸、抑制性アミノ酸としてGABA、グリシン、アラニン、セリン<sup>1)</sup>が多く見出された。この点からも米は優れた機能性のある食品であると推測される。さらに圧力処理を施して浸漬した場合、米の制限アミノ酸であるリジンの増加が認められた。これは栄養のバランスについても圧力処理が役立つことを示している。

### 2. 圧力処理による酵素反応の活性化

Table 1の遊離アミノ酸量を比較すると、400 MPaで圧力処理を施して浸漬した玄米は、無処理よりも全体的にアミノ酸の抽出量が多かった。Table 2からは圧力処理を施した玄米にGABAの蓄積が多く、特に400 MPaに多いことが認められた。またTable 3に示したように、玄米中のGABAの蓄積は玄米と水の比率が1:1でも1:0.3でも同じであった。これらの結果、必要最小限の浸漬水量とともに圧力処理(特に400 MPa)を施すと、GABAおよび他の遊離アミノ酸が多く蓄積することが示唆された。

圧力処理(特に400 MPa)によって酵素反応が活発になった理由は以下のように考えられる。

三枝らは米が水に触れると、5分以内にGABAが増加し始めると報告している<sup>10)</sup>ことから、水を媒介してグルタミン酸とGADの反応は速やかに開始すると考えられる。

山崎らは米粒への圧力処理の結果、200 MPaで処理された場合よりも、400 MPaで処理された場合の方が米粒の水分量が高く、また米粒の組織には非常に広範囲にわたって水の浸入した形跡が見受けられると報告している<sup>16)</sup>。このことから400 MPaの圧力処理により、米粒内の組織レベルでの変化が広範囲に生じ、水を媒介とした米粒中の酵素と基質の会合の機会が増加するため、GABAの蓄積量が増加したものと推察された。

さらにFig. 1の玄米の水分変化を計算すると、400 MPaで処理を施したものは初期水分が上昇し、浸漬2時間後には無処理や700 MPaの圧力処理を施した玄米

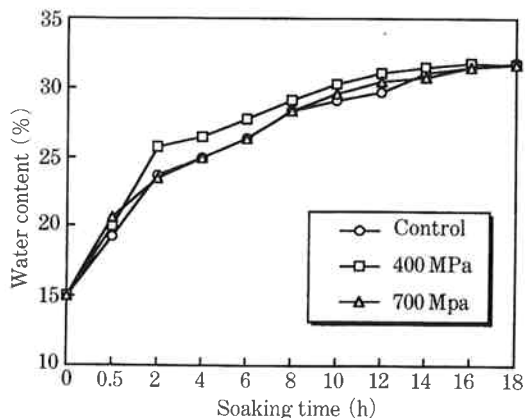


Fig. 1 Change in water content of brown rice according to pressure treatment and soaking time

に比較して約2%多くなった。この2%の水分変化は玄米の浸漬による全水分変化の12%に相当することから、初期段階での水分変化は顕著であるといえる。またこの吸水された遊離水は、酵素反応の進行に役立つと考えられた。

以上の点から米粒内部での酵素反応の進行を考えると、GADが水を媒介に速やかに反応を開始する性質があるうえに、圧力処理による酵素と基質の会合度合いの上昇、初期水分の上昇などが加わって400 MPaの圧力処理でGABAの生成量の増加が顕著であったと推察される。その他の遊離アミノ酸量の増加もこれに近い反応機構によっていると考えられた。

700 MPaの圧力処理でGABA生成量が低下した理由は、伊藤らが報告しているように、700 MPaではGADの酵素活性が400 MPaに比較して低下する<sup>18)</sup>ためではないかと推察された。

米と水が1:0.3(水分, 34.6%)の場合、18時間の浸漬で32%ほどの水が玄米に吸水される(Fig. 1)ことから、浸漬水は吸水終了後に若干米粒のまわりに付着水として残る程度となる。この水量でGABAが蓄積されたことは加工玄米を製造する上で非常に利点となる。GABAは水溶性のため、浸漬水に溶出し易い。もし米粒に含みうる水を圧力処理で強制的に含浸させ、生成したGABAを失うことなく、乾燥させて流通に提供することができれば非常に効率がよいと考えられた。

Table 1の遊離アミノ酸の組成を比較すると、浸漬した玄米では圧力処理の有無にかかわらず、基質であるグルタミン酸が原料玄米より増加している。これは酵素反応でグルタミン酸が補われたことを示している。三枝らは胚芽浸漬水中の遊離のグルタミン酸は、40°Cの反応条件においては20分程度で急速に減少し、初期の1/4程度に達して一定の値を保つが、GABAは蓄積し続けると報告し、またこの原因として蛋白質の分解によってグルタミン酸が供給されるためだとしている<sup>11)</sup>。

今回の実験結果では原料玄米中に多くみられるアスパラギンが、浸漬中に約半分減少するという現象が見られ、アスパラギン酸も原料玄米より減少した。このことからアスパラギンからアスパラギン酸に、アスパラギン酸と2-オキソグルタル酸からアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼによってL-グルタミン酸とオキサロ酢酸を生じ、L-グルタミン酸と2-オキソグルタル酸からGABAが生じた可能性を否定できない。しかし圧力処理によって米粒の中のどの酵素が不活化され、あるいは活性化されるかなどに関し、今後の研究を待たねば

ならない。

## 要 約

### 1. コシヒカリの原料玄米中の遊離アミノ酸

コシヒカリの原料玄米からは6.4 mgのGABAが抽出された。特に多く含まれていた遊離アミノ酸はアスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸であった。

### 2. 圧力処理による玄米の水分変化

400 MPaの圧力処理によって玄米中の水分の吸収が早まった。700 MPaの場合は圧力処理直後の水分吸収が顕著であった。しかしそれ以降の吸水は無処理のものに比較して大きな差が認められなかった。

### 3. 圧力処理および浸漬時間による玄米中へのGABAの蓄積

(1) 400 MPaで圧力処理を施し、25°Cで浸漬した玄米からは10時間で13.0 mg、18時間で18.3 mgのGABAが抽出された。200 MPa、700 MPaでは400 MPaよりGABAの蓄積量が少なく、無処理では更に少なかった。

(2) 玄米と水が1:1(w/w)、1:0.3(w/w)の場合とも10時間後に玄米中へ蓄積されたGABAの量に違いは認められなかった。

### 4. その他の遊離アミノ酸の変化

(1) 玄米を浸漬することによって多くの遊離アミノ酸が増加したが、400 MPaで圧力処理を施した後に浸漬をした場合にはそれが顕著であった。GABAの基質であるグルタミン酸も増加した。しかし圧力処理の有無にかかわらず浸漬中にアスパラギンとアスパラギン酸は減少した。

(2) 圧力処理後浸漬を施した玄米中には無処理に比較して制限アミノ酸であるリジンの増加が認められた。

本研究にあたりアミノ酸分析に関してご協力を頂いた、新潟県農業総合研究所 食品研究センターならびに分析方法に関してご指導頂いた吉井洋一氏に深く感謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) 田中千賀子：NEW薬理学，第2版，田中千賀子・加藤隆一編（南江堂，東京），p.140（1994）。
- 2) 生化学辞典，第2版，今堀和友・山川民夫監修（東京化学同人，東京），p.70（1990）。
- 3) BAUTISTA, G.M., LUGAY, J.G., CRUZ, L.J. and JULIANO, B.O.: *Cereal Chem.*, **41**, 188 (1964).
- 4) STREETER, J.G. and THOMPSON, J.F.: *Plant*

- Physiol.*, **49**, 572 (1972).
- 5) STANTON, H.C.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **143**, 195 (1963).
  - 6) TAKAHASHI, H., TIBA, M., INO, M. and TAKAYASU, T.: *Jap. J. Physiol.*, **6**, 334 (1955).
  - 7) 医者からもらった薬早わかり辞典, 水島 裕・工藤三恵子監修 (主婦と生活社, 東京), p. 404 (1996).
  - 8) 津志田藤二郎・村井敏信・大森正司・岡本順子: 日本農芸化学会誌, **61**, 817 (1987).
  - 9) 室崎伸二・長峯興治・遠藤勝美・小高裕之・松尾隆夫: 日本栄養・食糧学会第44回大会講演要旨集, p. 121, 仙台 (1990).
  - 10) SAIKUSA, T., HORINO, T. and MORI, Y.: *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1122 (1994).
  - 11) SAIKUSA, T., HORINO, T. and MORI, Y.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2291 (1994).
  - 12) 斎藤ひろみ・小久保清子・中田裕子・大森正司・三枝貴代・堀野俊郎・森 隆: 日本食品工業学会第42回大会講演要旨集, p. 139, 名古屋 (1995).
  - 13) 山崎 彬・笹川秋彦・杵淵美倭子・山田明文: 高圧バイオサイエンス, 功刀滋・嶋田昇二・鈴木敦士・林 力丸編 (さんえい出版, 京都), p. 328 (1994).
  - 14) 笹川秋彦・杵淵美倭子・山崎 彬・山田明文: 高圧バイオサイエンス, 功刀滋・嶋田昇二・鈴木敦士・林 力丸編 (さんえい出版, 京都), p. 336 (1994).
  - 15) 杵淵美倭子・山崎 彬・山元皓二: 応用糖質科学, **42**, 237 (1995).
  - 16) 山崎 彬・杵淵美倭子・山本和宏・山田明文: 高圧力の科学と技術, **5**, 168 (1996).
  - 17) WATANABE, M., ARAI, E., HONMA, K. and FUKU, S.: *Agri. Biol. Chem.*, **55**, 2725 (1991).
  - 18) 伊藤満敏・山崎 彬: 日本分析化学会関東支部新潟地区部会研究発表会第6回講演要旨集, p. 8, 長岡 (1995).
  - 19) 農産物検査手帳, 食糧庁検査課監修, p. 72 (1992).
  - 20) 四訂食品成分表, 科学技術庁資源調査会編 (女子栄養大学出版部, 東京), p. 11 (1987).
- (平成10年8月3日受付, 平成11年1月20日受理)