

血圧上昇抑制作用を有する新規米飲料の開発

豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子、遠矢亮一*、木下しのぶ*、平敷兼清**

1 はじめに

本研究は、米タンパク質を加水分解することにより生じる血圧上昇抑制ペプチドを利用して健康増進に資する新規米飲料を開発し、米の消費拡大を図ることを目的とする。平成 7 年 11 月より米の備蓄を目的とする「主要食糧の需給及び価格の安定に関する法律」が施行されたことから、年産別回転備蓄のため恒常的に相当量の古米を消費していく必要がある。また、食生活の多様化により主食である米の消費減退が予想されるため、米の備蓄がますます進むと考えられている。以上のような背景から、古米の消費拡大が急務となっており、米の多様な利用法の開発が求められている。近年の研究の進展により、食品中に生体機能を調節する物質が存在し、栄養の吸収・免疫機能・物質代謝などを制御していることが明らかになりつつあり、こうした食品の機能を従来の栄養（1次機能）や味覚（2次機能）と区別して食品の第3次機能とよび、農学・栄養学・生化学などの分野で精力的に研究が行われている¹⁾⁴⁾。現在、死亡数の高い三大疾病は脳血管疾患、心疾患及び悪性新生物となっており、前二者は高血圧疾患と極めて高い関係が有るといわれている。アンジオテンシン変換酵素（ACE）は、強い血圧上昇作用を引き起こす引き金の役割を担っている酵素であり、ACEを阻害することにより高血圧の治療を行うことが可能である。本研究では、米を酵素により液化し、老人や病気の人にも摂取しやすい嗜好性に優れた ACE 阻害ペプチドを含有する新規米飲料を開発することを目的とする。また、米は、五大アレルギー食物の一つであり、米を主食とする日本では患者の経済的・精神的負担は大きなものである。開発する米飲料は、アレルギーの原因となるタンパク質を加水分解するために低アレルゲン化が予想され、米アレルギー患者向けの栄養補助飲料としての用途も期待される。したがって、本研究により確立される機能性米飲料の製造法は、米利用の多様化及びその需要拡大、備蓄米の消費拡大につながる。また、その技術は、他の穀類や農水産物にも応用可能であり、農林水産分野や食品加工分野に大きく寄与するものと考えられる。

2 実験方法

2-1 ACE 阻害活性を有する米飲料の調製法

より強力な ACE 阻害活性と優れた官能特性を有する米飲料を調製するために、基本条件を設定した後 各工程毎に調製条件を変化させ最適条件を決定した。すなわち、原料米を 2 回洗米後、十分量の水に浸漬し 6 時間静置吸水させ吸水率を約 20 % に調整した後、120 °C で 20 分間加熱して米デンプンの α 化を行った。その後 95 °C で一晚乾燥させ、超遠心粉碎機（MRK-Retsch, ZM100）により粉碎して α 化米粉を調製した。調製した α 化米粉 300g を 60 °C のアミラーゼ溶液 600ml に懸濁させ液化を行い、続いてプロテアーゼを添加し、50 °C で米タンパクの加水分解を行った後、沸騰水中で 15 分間加熱して酵素を失活させ米飲料を調製した。最適条件を決定するためのパラ

* 沖縄食糧株式会社

表 1 米飲料調製時におけるパラメーター

パラメーター	内 容
原料	
加工形態	玄米、胚芽米、精米、無洗米
品 種	キララ 397(北海道)、ヒルカ (佐賀)、アキタ子 (秋田)、サニシ (宮城)
経 年	10 年、9 年、8 年産
プロテアーゼ処理	
種 類	9 種類
添加量	対米重量比 0.1~2.0%
反応時間	0~5 時間
アミラーゼ処理	
種 類	9 種類
添加量	対米重量比 0.1~1.0%
反応時間	0~3 時間

メーターを表 1 に示す。先ず、基本条件を、加工形態は玄米、品種はキララ 397、年産は 10 年産、プロテアーゼ添加量は米重量に対して 1.0 %、プロテアーゼ反応時間は 4 時間、アミラーゼ添加量は米重量に対して 0.2 %、アミラーゼ反応時間は 2 時間とし、各々のパラメータで最適な条件を順次決定した。

2-2 ACE 阻害活性の測定

ACE 阻害活性は、Chuman と Chan⁹⁾ の方法に準じて行った。基質として、Hippuryl L-histidyl L-leucine を用い 608mM 塩化ナトリウムを含むホウ酸緩衝液 (pH8.3) に基質濃度が 7.6mM となるように溶解した。ACE (Sigma) はウサギ肺アセトンパウダー由来のものを用い、上記ホウ酸緩衝液に 67U/ml となるように溶解した。ACE 活性は、遊離した馬尿酸量を HPLC システムで測定し、コントロールとの生成比を求め ACE 活性 (%) とした。

2-3 糖の分析

全糖量は、フェノール硫酸法⁹⁾、還元糖量は、Somogyi - Nelson 法⁷⁾にて測定した。平均鎖長は、全糖量を還元糖量で除して算出した。

2-4 官能評価

官能評価は、図 1 の官能評価用紙を用い、3 ~ 16 名のパネラーにより米飲料の外観、香り、味、旨み及び甘さについて官能評価を行った。

No.	不良			普通	良		
	かなり -3	少し -2	わずかに -1		わずかに 1	少し 2	かなり 3
評点	-3	-2	-1	0	1	2	3
外観							
香り							
味							
旨み							
甘さ	甘くない				甘い		
総評							
コメント							

図1 官能評価用紙

2-5 動物実験

高血圧自然発症ラット (SHR) は、星野試験動物飼育所より 10 週齢の雄を購入し温度湿度環境調節室で個別飼育した。14 日間の予備飼育中は市販固形飼料 (クレア社製、CE-2) を供試した。米飲料は食餌として供試し難いため、凍結乾燥後粉碎し粉末飼料として投与することとした。対照としてカゼインをタンパク原とするコントロール群、 α 化处理行程までを行った粉末化玄米群を設定した。粉末化米飲料および粉末化玄米の栄養成分組成を表 2 に示す。この組成を元に調製した粉末飼料 (表 3) を、予備飼育後 20 日間蒸留水とともに自由摂取させた。なお、ラット

表 2 粉末化米飲料および粉末化玄米の栄養成分組成 (%)

	粉末化玄米	粉末化米飲料
水分	6.80	2.00
タンパク	7.00	6.60
脂質	2.68	2.41
灰分	1.15	1.22
繊維	1.00	1.00
糖質	81.37	86.77

表 3 食餌組成 (%)

	コントロール群	粉末化玄米添加群	粉末化米飲料添加群
カゼイン	22.00	19.20	19.36
ラード	10.00	8.93	9.04
調製ミネラル類	3.50	3.04	3.01
調製ビタミン類	1.00	1.00	1.00
塩化コリン	0.15	0.15	0.15
セルロース	3.00	2.52	2.52
食塩	1.00	1.00	1.00
β -コーンスターチ	59.35	26.90	24.72
粉末化玄米	-	37.26	-
粉末化米飲料	-	-	39.20
計	100.00	100.00	100.00

は体重および血圧に有意差が生じないように 1 群 5 匹に群分けした。血圧は、4 日おきに非観血式自動血圧測定装置 (Softron 社製) にて収縮期血圧および弛緩期血圧を測定した。統計処理は分散分析を行い、ダンカンの新多重範囲検定を用いた。

3 実験結果および考察

3-1 原料形態の検討

玄米、胚芽米、精米及び無洗米について ACE 活性の検討及び官能評価を行った。原料の加工形態が ACE 活性に与える影響を表 4 に示す。玄米を原料とした場合が ACE 活性を最も強く阻害し、胚芽米、精米、無洗米の順で ACE 活性が上昇した。この結果は原料のタンパク含量に起因すると考えられる。すなわち、搗精が進むほど原料のタンパク含量が減少するため、それに伴って ACE 活性も上昇すると考えられる。官能評価では、甘みに若干の差が感じられるものの顕著な差は認められなかった。ACE 阻害活性および官能評価の結果から、米飲料に最適な原料形態

表 4 原料加工形態が ACE 活性に与える影響

原料加工形態	ACE 活性 (%)
玄米	14.6±0.31
胚芽米	17.6±0.57
精米	20.7±1.45
無洗米	21.2±3.29

数値：平均値±標準偏差 (n=3)

表 5 品種の差が ACE 活性に与える影響

品種	ACE 活性 (%)
ヒノヒカリ	30.3±1.64
キララ 397	31.4±4.91
ササニシキ	31.2±3.11
アキタコマチ	29.9±3.11

数値：平均値±標準偏差 (n=3)

は、「玄米」であると決定した。

3-2 品種の検討

キララ 397 (北海道産)、アキタコマチ (秋田産)、ヒノヒカリ (佐賀産) 及びササニシキ (宮城産) を用いて調製した米飲料が ACE 活性及び官能評価に及ぼす影響を検討した。品種の差が ACE 活性に与える影響を検討したところ (表 5)、品種間には危険率 5% で有意差が認められなかった。官能評価では、ササニシキとアキタコマチは官能的に不良であり、特にアキタコマチでは、ほとんどのパネラーから「臭みがある」、「あおくさい」、「糠臭があり飲みにくい」等のコメントが得られた。キララ 397 については、味は僅かに良好であるものの、甘みが強く感じ取れたためか総評としては低い評価となった。ヒノヒカリについては、味、旨みともに「僅かに良い」という評価が得られ、「臭みがない」、「さっぱりしている」等のコメントが得られ、甘味は強いものの良好な官能評価が得られた。以上の結果から、米飲料の原料品種はヒノヒカリに決定した。

3-3 経年変化の検討

平成 10、9 及び 8 年産のヒノヒカリを用いて米飲料を調製し、ACE 活性の検討および官能評価を行った。経年変化が ACE 活性に与える影響を表 6 に示す。最も ACE 阻害活性が高い年産は平成 9 年産であり、31.7% を示した。ただし、統計的には、平成 9 年産と 8 年産間にはのみ危険率 5% で有意差が認められ、10 年産と 8 年産に有意な差は認められないことから、この結果は原料収穫年の気候条件や施肥量の違いにより原料米中のタンパク含量等が異なることに原因があると考えられる。以上の結果より、原料を選定するには年産の違いよりも、米自身の履歴やタンパク含量等が重要な因子であることが示唆された。官能評価の結果、経年変化による差はほとんど感じられなかった。当初、古米の独特な臭いや旨みの低下による米飲料への官能低下が懸念されたが、その影響は認められず、古米による米飲料の調製が可能であることが明らかとなった。以上の結果より、年産に関して大きな違いは認められないと判断できるが、官能評価で 10 年産の評価がやや高かったことと、入手のしやすさから本節以降は平成 10 年産を用いることとした。

表 6 経年変化が ACE 活性に与える影響

年産	ACE 活性 (%)
10 年産	34.9±3.07
9 年産	31.7±1.46
8 年産	45.4±3.90

数値：平均値±標準偏差 (n=3)

表 7 プロテアーゼ種類の変化が ACE 活性に及ぼす影響

酵素名	ACE 活性 (%)
酵素 A	5.8±0.67
酵素 B	27.3±1.49
酵素 C	8.1±2.80
酵素 D	8.4±0.54
酵素 E	9.2±0.37
酵素 F	41.6±3.77
酵素 G	20.5±2.01
酵素 H	12.3±2.49
酵素 I	11.5±2.12

数値：平均値±標準偏差 (n=3)

3-4 プロテアーゼ処理の検討

プロテアーゼの種類及び反応条件について検討した。すなわち、9種類のプロテアーゼを用いて調製した米飲料の ACE 活性 (表 7) および官能評価に与える影響を検討した。9種中 4 種を用いた場合に 10% 以下の ACE 活性が認められ、その中でも酵素 A を用いた場合が 5.8% と最も低い ACE 活性が認められた。官能評価の結果、酵素 A を用いた場合は、「口当たりが良い」、「まろやか」という回答が得られたが「味に特徴がない」という回答も得られた。ACE 阻害活性が最も高いこと、副原料等を混合する場合に風味にアクセントをつけ易いこと等を考慮して、酵素 A を今後用いることとした。さらに、酵素 A を用いて添加量及び反応時間を検討した。すなわち、酵素 A を米重量に対し 0.1、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0% となるように添加し、1 時間毎に各系列の ACE 活性を測定した (図 2)。添加量 0.1%、反応時間 2-3 時間の条件において、最も低い ACE 活性が認められた。以上の結果より、酵素添加量と反応時間は 0.1%、2 時間と決定した。

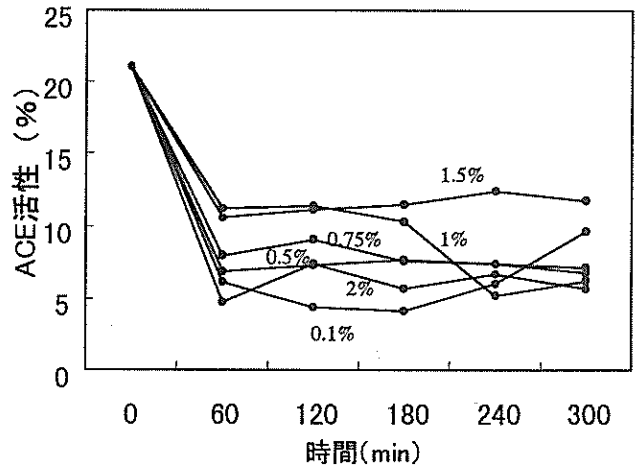


図2 酵素の添加量および反応時間がACE活性に与える影響

3-5 アミラーゼ処理の検討

9種類のアミラーゼを用いて米デンプンの加水分解反応を行い、官能評価に基づいてアミラーゼの選定を行った。その結果、2種類については本条件での液化は不可能であり試料はもち状を呈した。また、3種類のアミラーゼでも本条件では十分な液化が行われず、流動性の悪い試料が得られた。残りの4種類のアミラーゼで処理をすると、流動性の高い試料が得られた。4種中より比較のおだやかな味で、のどごしが良好な試料を調製できるアミラーゼを選定した。この酵素について、添加量及び反応時間について検討した。すなわち、酵素を米重量に対して 0.1、0.2、0.5、1.0% となるように添加し、30 毎にサンプリングを行い官能評価を行った。その結果、添加量が 0.1 から 0.5% の範囲ではその粘性・甘さは比較的飲みやすい状態にあり、特に 0.2% の添加では程よい甘さを呈し、喉ごしが良好であると感じられた。反応時間については 2 時間の場合に良好な評価が得られ、「まろやかな甘さ」「喉ごしがすっきりしている」というコメントが得られた。添加量が 1.0% の場合は、甘味が強く粘性が強まったため「後味が悪い」、「飲みにくい」という評価が得られた。よって、添加量は 0.2%、反応時間は 2 時間と決定した。

3-6 米飲料の諸性質に関する検討

本開発で開発する米飲料は、生理機能性だけでなく老人や病後の人にも摂取しやすいことも目的としている。そこで、のどごしや舌触りと関係の深い粘度、甘さの指標である遊離全糖量及び遊離還元糖量、消化に関する糖質の平均鎖長等を測定し米飲料の基礎的性質を検討した。アミラーゼ処理過程における遊離還元糖量及び遊離全糖量を図 3、4 に示す。遊離還元糖量、遊離全糖量ともに経時的に増加し、加水分解が順調に進行していることが伺えた。平均鎖長 = 全糖量 /

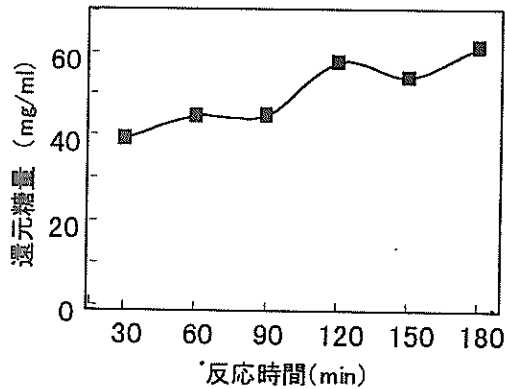


図3 アミラーゼ処理過程における遊離還元糖量の変化

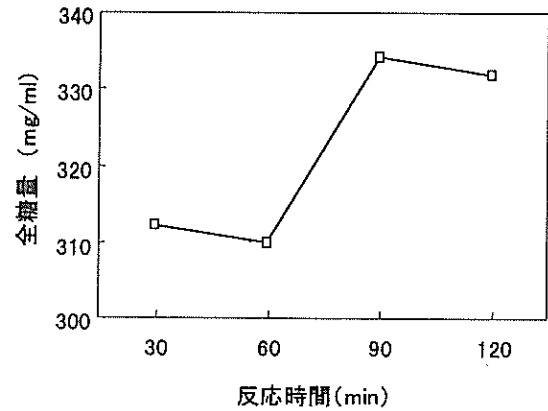


図4 アミラーゼ処理過程における遊離全糖量の変化

還元糖量の式により算出した遊離オリゴ糖の平均鎖長を図5に示す。遊離オリゴ糖の平均鎖長は、反応開始30分では、約8グルコース残基/分子であったが、120分ごろから約5.7グルコース残基/分子程度となり、アミラーゼによってこれ以上の分解を受けないことが明らかとなった。粘度は、スパイラル粘度計（株式会社マルコム、MODEL PC-1TL）を用い、アミラーゼ処理反応開始からプロテアーゼ処理反応終了までの経時変化について測定した（図6）。粘度はアミラーゼ反応開始から徐々に低下し、プロテアーゼ添加後約30分で約80mPa・Sで平衡化することが明らかとなった。米飲料および米タンパクのサイズ排除クロマトグラフィーパターンを図7に示す。高分子側のピークが少なくなり、低分子側にピークがシフトしていることから、米飲料中のタンパク質加水分解反応が進行している事が明らかとなり、低分子化による低アレルゲン化が予想された。

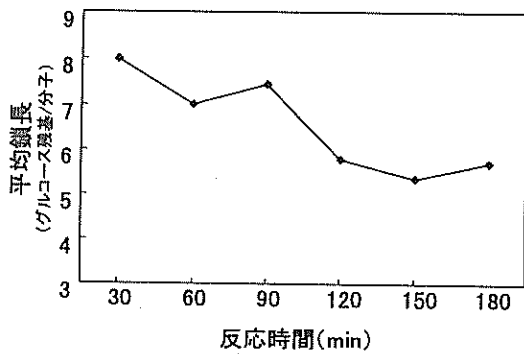


図5 遊離糖質の平均鎖長

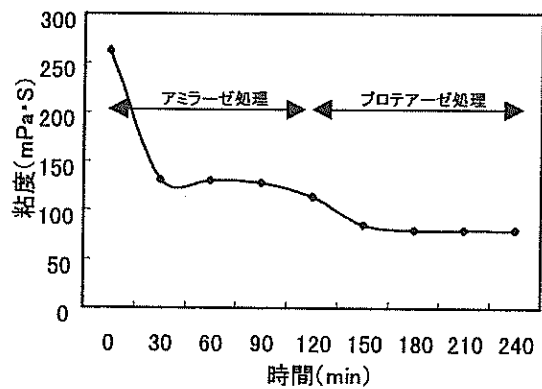


図6 液化行程における粘度の経時変化

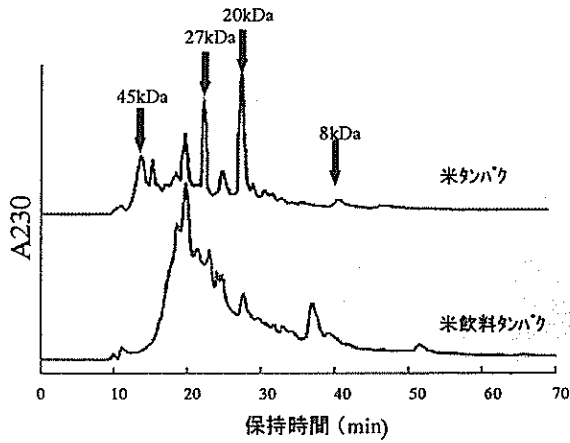


図7 米飲料上清のゲルろ過クロマトグラム
カラム:アサヒパック GF-1G 7B、溶媒:1/15Mリン酸緩衝液、
流速:0.5ml/min、検出波長:230nm

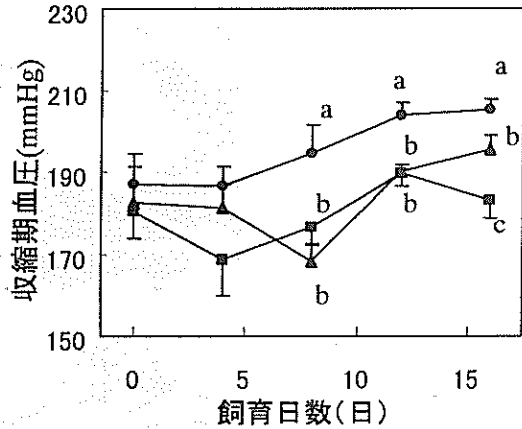


図8 粉末化米飲料の投与が高血圧自然発症ラットの収縮期血圧に与える影響

(●—): コントロール群、(▲—): 粉末化玄米添加群、(■—): 粉末化米飲料添加群。粉末化米飲料を2週間自由摂取させ、非観血式血圧計により尾部の血圧を測定した。検定はダンカンの新多重範囲検定を行った(n=5, P<0.05)。異なる文字間に有意差があることを示す。

3-7 粉末米飲料投与が高血圧自然発症ラット (SHR) に与える影響

粉末化米飲料投与が、SHR の収縮期血圧に与える影響を図8に示す。粉末化米飲料投与群および粉末化玄米添加群は、投与開始8日目よりコントロール群に対して有意な(P<0.05)血圧上昇抑制作用が認められた。また、粉末化米飲料添加群は16日目において粉末化玄米投与群に対して有意な血圧上昇抑制作用が確認された。ここでは示さないが、弛緩期血圧も同様の傾向が認められた。体重増加量・食餌摂取量・肝重量および腎重量ともに3群間に有意な差は認められなかったことより(表8、9)、粉末化米飲料に毒性は認められないことが明らかとなった。

表8 体重増加量および食餌摂取量

	体重増加量 (g/day)	食餌摂取量 (g/day)
コントロール群	2.26±0.89	17.00±0.32
粉末化玄米添加群	2.50±0.44	16.00±0.45
粉末米飲料添加群	2.47±0.53	16.20±0.42

表9 肝重量および腎重量 (g/kg・体重)

	肝重量	腎重量
コントロール群	34.45±1.19	6.35±0.23
粉末化玄米添加群	35.17±1.04	6.44±0.06
粉末化米飲料添加群	34.16±1.28	6.60±0.16

3-8 多面的応用の検討

飲料以外の利用法を探るため、クッキーやアイスクリームへの利用法を検討した。試作したクッキー、アイスクリーム、麺を図9に示す。いずれの試作品も成形性で問題となるような点は見受けられなかった。官能的には、クッキーおよびアイスクリームでは米特有の香味や風味は全く感じ取ることができなかった。このことから、成形性の点がクリアできれば添加量を増加させる

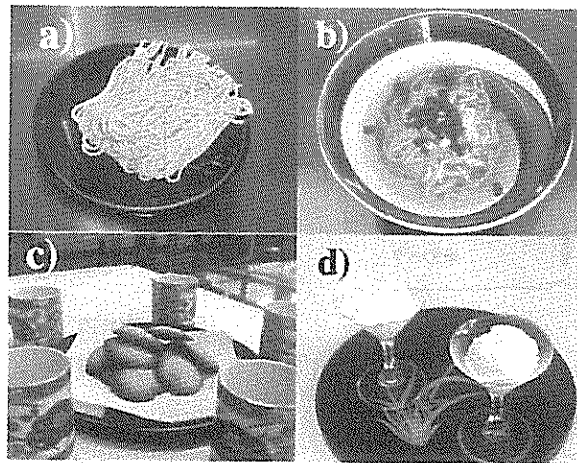


図9 米飲料の多面的利用の検討
a), b) 麺、c) クッキー、d) アイスクリーム

ことが可能である。麺に関しては、コシがなく弾力性に乏しい麺が形成された。これは、米粉の添加量が多すぎたためにグルテンネットワークが十分に形成されなかったためと考えられる。麺に関しては添加量ならびに小麦粉のグルテン量の検討が必要である。

4 まとめ

以上、ACE 阻害活性を有する米飲料の調製法に関して最適条件を決定し、SHR による生体試験で血圧上昇抑制効果を確認した。原料は、形態として玄米、品種としてヒノヒカリが最適であった。年産に関しては、差が認められなかった。アミラーゼの最適条件は、添加量が米重量に対し 0.2 %、反応時間は 2 時間とすることにより、まろやかな甘味を有し視覚的にも良好な飲料へ加工できることが明らかとなった。プロテアーゼ処理は、酵素 A を用い、添加量は米重量に対し 0.1 %、反応時間は 2 時間とすることにより ACE 阻害効果の高く嗜好性に優れた米飲料が調製できることが明らかとなった。経年変化の差が認められないことは非常に注目すべき結果であり、古米や古古米等の備蓄米消費の新たな道が開けたものと考えられる。さらに、加工形態も麺やクッキーアイスクリーム等多様な形態をとることが可能であり、さらなる需要拡大が期待できる。また、高血圧自然発症ラットによる試験により本飲料は生体においてもその効果を発揮することが明らかとなった。

謝辞

本事業の一部は食糧庁の「平成 11 年度米成分の高度加工・利用技術開発事業」により行ったものであり、感謝の意を表します。また、動物実験において飼育施設を提供していただくとともに多大なるご助言を賜りました琉球大学農学部の知念功教授と屋宏典助教授に併せて感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 村上浩、上野川修一編、食品と生体防御、講談社サイエンティフィック、1992
- 2) 川岸舜朗編、食品中の生体機能調節物質研究法、学会出版センター、1996
- 3) 大田明一監修、新食品機能素材の開発、シー エム シー
- 4) 村上ら、米タンパク質由来の高血圧上昇抑制ペプチド、1991 年農芸化学会要旨集
- 5) Cusman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E.F and Ondetti, M. A.: Biochemistry, 16, 5484 (1977)
- 6) Dabus M, Colorimetric method for determination of sugars and related Substances. Analytical Chemistry, Vol.28;350-356. 1956
- 7) 福井新造、還元糖の定量法、学会出版センター、1969

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。