

Short Report

難消化性澱粉 (RS) を多く含む米の試験管内における機能性評価

藤田直子¹, 保坂優子¹, 阿部美里¹, 新田陽佳², 長谷部満², 涌井徹²¹ 秋田県立大学生物資源科学部生物生産科学科² 株式会社大瀧村あきたこまち生産者協会

難消化性澱粉 (RS) は、消化器官では消化されにくく、小腸で吸収されずに比較的高分子のまま大腸に移行する澱粉のことである。カロリーになりにくく、食物繊維と類似した機能性を示すといわれていることから、RS を多く含む食品は機能性食品として期待されている。我々は、RS を通常の米より格段に多く含む変異体米を見つけ、これらを育種することで高 RS 米の実用化を目指している。本研究では、我々の開発した高 RS 変異体米の中で、最も育種が進み、2019 年度に品種登録申請予定の「A6」を用いて、その炊飯米や加工したものの RS 含量を試験管内で測定することで、その機能性の評価を試みた。炊飯米は、米粒をそのまま測定した場合と比べて乳鉢ですり潰した場合のほうが RS 含量が低下した。また、精米を粉碎した米粉は、澱粉を糊化していないにもかかわらず、RS 含量は大きく低下した。一方、米ゲルを用いた場合、あるいは、酵素処理により糖化液に加工した場合でも、RS 含量は高く維持されることが明らかになった。以上のことから、加工方法によって、機能性を維持した食品の開発が可能であることが示唆された。

キーワード：難消化性澱粉，変異体米，インビトロ実験，機能性米，米ゲル

我が国の米の消費量は、50 年前と比べて半減しており、毎年、休耕田が全国で猛烈な勢いで増加している。一方、各県や農水省の試験場では、良食味の主食用米が多数、ブランド米として品種化されている。我々は、これまでの主食用米や糯米、酒米とは異なる機能性米の開発と普及を目指している。我々が着目した機能性米は、難消化性澱粉（レジスタントスターチ，RS）を通常の米より格段に多く含んだ米である。澱粉生合成に関与する多数ある酵素のうち、枝作り酵素（BE）IIb が欠損すると、RS 含量が著しく増加することが明らかになった（Tsuiki ら，2016）。BEIIb が欠損した変異体系統の中でも、同時にスターチシンターゼ（SS）IIIa を欠損した二重変異体 #4019（Asai ら，2014）は、玄米のサイズが比較的大きかったため、これを真っ先に育種して実用化することを目指した。#4019 を用いて作ったパック米飯と米菓は、単回摂取ヒト試験により、血糖値

の上昇とインスリン分泌が対照食の日本晴と比べて優位に低下していることが明らかになっている（特許出願中）。#4019 を超多収米である秋田 63 号と戻し交配を 3 回行うことで、玄米重量は元の変異体 #4019 の約 1.5 倍に増大し（藤田ら，2014；藤田ら，2017）、大規模栽培も可能となっている。研究上では「A6」として育成したこの系統は、2019 年度には、新たな品種名をつけて本学、秋田県および JIRCAS が育成者となって品種登録申請する予定である。育成した米の機能性がどの程度かを把握するためには、最終的には、ヒト介入試験が必要である。しかし、ヒト試験は、手間や費用などの観点から、頻繁に実施することは困難である。RS 含量が高いほど、その機能性が高まるのが容易に想像できるため、我々は、試験管内で行える（インビトロ実験）手法を用いて、ある程度の機能性の評価法として用いている。我々はメガザイム社が販売している Resistant starch

Assay Kit を用いて、高 RS 米から加工した食品を想定して、RS 含量を求めた。

材料と方法

高 RS 米として SSIIIa と BEIIb が欠損した二重変異体#4019 を「秋田 63 号」と 2 回戻し交配した A6BC₂ の精米と、対照として「コシヒカリ」、「日本晴」および「秋田 63 号」の精米を用いた。15 mL の蓋つきプラスチック製試験管に精米 5 粒と 1.5 倍加水量となるように水を加え、200 mL の水を加えた炊飯鍋に試験管を寝かせて市販の炊飯器の通常モードで炊飯した。炊飯米の RS 含量は、すり潰さないそのままの炊飯米と、炊飯後に乳鉢で完全にすり潰した炊飯米の両方を測定した。すり潰さない場合は炊飯した精米 5 粒を、すり潰した場合は、250 mg を測り取り、RS 含量を測定した。米粉は、精米をペンチで粉碎し、乳鉢ですり潰し、100 μm のメッシュに通したものをを用いた。

米ピューレは、Nitta ら (2019) の方法で、メッシュのクリアランスが 0.1-0.2 mm のもので作出した。また、米ピューレを α アミラーゼやグルコアミラーゼを含む加水分解酵素で処理したものを糖化液として、RS 含量測定に用いた。

RS 含量は、Resistant starch Assay Kit (メガザイム) を用いて、その説明書の手法通りの方法で行った。簡単には、以下の方法である。100 mg 相当の米に豚膵臓 α アミラーゼとアミログルコシダーゼを混合したモデル消化液を加え、37°C で浸透しながら 16 時間加温した。その後、遠心分離により上清 (消化された画分) と沈殿 (消化されなかった画分) に分け、上清のグルコース量を測定した。沈殿は、2 M KOH で難消化性澱粉を溶解し、中和した後、アミログルコシダーゼを加えて、グルコースまで分解し、グルコース量を測定した。上清と沈殿のグルコース量の合計に対する沈殿のグルコース量の割合を RS 含量 (%) として算出した。

結果と考察

高 RS 米および対照米を加工したものの RS 含量を

系統		加工方法	RS含量 (%)
高RS米	A6BC ₂	炊飯米 (すり潰さず)	14.9±0.9
対照米	秋田63号 ^a		1.0±0.1
高RS米	A6BC ₂	炊飯米 (すり潰す)	6.7±0.4
対照米	コシヒカリ		0.4±0.1
高RS米	A6BC ₂	米粉 (生澱粉)	2.8±0.0
対照米	秋田63号 ^b		0.4±0.1
高RS米	A6BC ₂	米ピューレ	11.5±0.2
高RS米	A6BC ₂	糖化液	12.2±0.1

^a高原, 2017から引用、^b菊地, 2019から引用、玄米粉の値

測定した (表 1)。A6BC₂ のすり潰さない炊飯米は 14.9% であり、対照米の秋田 63 号 (1.0%) より格段に高い値を示したが、すり潰すと (6.7%) 半分以下の値に低下した。通常、我々は、食品を食べるとき咀嚼をするが、咀嚼によって RS を多く含む米であっても消化が良くなることが明らかになった。咀嚼の程度は人によって異なることから、実際の A6BC₂ 炊飯米の RS 含量は、すり潰さないで測定した RS 含量 (14.9%) とすり潰して測定した RS 含量 (6.7%) の間の値をとると予想される。

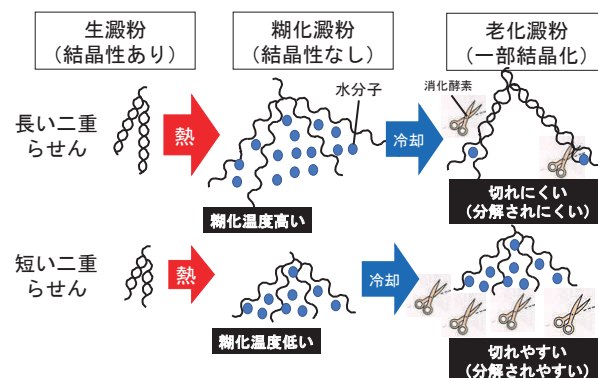


図1 澱粉の性状の違いによる分子構造
藤田直子 (2013) 応用糖質科学3: 202-204を改変。

澱粉は、アミロペクチンとアミロースからなり、主成分であるアミロペクチンの枝は、近接した側鎖が二重らせんを形成している (Kainuma と French, 1972, 図 1)。水を含んだ状態で澱粉を加熱すると糊化するが、これは二重らせんがほどけ、水分子が入り込むからであると考えられている。糊化した澱粉は、冷却あるいは放置すると老化する。老化澱粉は、糊化によってほどけた澱粉が再びよりを戻すことであるとされている。消化液には消化酵素が含ま

れているが、多くの酵素は二重らせんがほどけた部分のほうが分解しやすい。ヒトは、澱粉質の作物を摂取する際は、バナナなどの果物の例外を除いて、多くの場合は加熱によって糊化してから摂取する。糊化したほうが、消化と食味が良いからである。これは、生澱粉の二重らせんが熱によってほどけ、消化液で消化されやすくなるからである（図 1）。

通常の澱粉は、生の状態でもアミロペクチンの鎖の長さが短いため、かなり消化酵素で分解される。一方、BEII b が欠損すると、アミロペクチンの平均鎖長が長くなり、分解されにくい。これは、糊化した後に冷却して生じる老化澱粉でも同様のことが言える。平均鎖長の長い澱粉は、老化する際、平均鎖長の短い澱粉よりも鎖が再びらせんを形成しやすいため、消化酵素で分解されにくい（図 1）。炊飯米は糊化澱粉と老化澱粉の両方を含むが、平均鎖長の長い構造を持つ米は、高温でも老化しやすく、多くの老化澱粉を含んでいると考えられる。

米粉は、加熱していない生の澱粉であるため、糊化澱粉より消化されにくいと予想される。A6BC₂の米粉は、秋田 63 号の米粉よりは格段に高い値を示したが、A6BC₂の炊飯米より低い値を示した（表 1）。これは、一見矛盾しているように思えるが、米粉のほうが表面積が大きく、表面積が小さい炊飯米より消化酵素の攻撃を受けることが一因であると考えられる。一方、遺伝的背景の異なる高 RS 米系統では、米粉の RS 含量が炊飯米の RS 含量より大きい値を示す系統が存在することが明らかになってきており、それぞれの系統の澱粉構造の違いが原因であることがわかってきた（菊地，2019）。A6BC₂の炊飯米は、生澱粉より消化しにくい老化澱粉が多く含まれていることを示唆している。米粉は、生のままで摂取するというわけではなく、実際には、パンや菓子、麺、などに用い、最終的には焼成後や茹でてで摂取する。これらの食品の機能性を評価する場合は、最終商品での RS 含量の測定が必要となる。

最後に、A6BC₂を用いた米ピューレとこれを加水分解酵素で処理した糖化液の RS 含量を測定したところ、両者ともにすり潰した炊飯米よりは高い値を示した（表 1）。米ピューレは米ゲルとも言われ、最近、グルテンフリー食品等に多用されるようになって

た。米粉を配合したパンは、小麦粉 100%のパンよりふくらみが悪いことが問題となるが、米ゲルを用いると小麦粉 100%のパン並みにパンのふくらみが改善され、加工もしやすい（Nitta ら，2019）。A6BC₂を用いた米ピューレの RS 含量は米粉よりも格段に高い RS 含量を示すことから、A6 の米ピューレを用いることで、RS 含量を維持した食品が開発できる可能性がある。また、加水分解酵素で処理した糖化液の結果は、麴で作る甘酒などにも応用できると考えられる。今後、これらを用いた機能性食品の開発を加速させたいと考えている。

謝辞

本研究は、本学平成 29 年度産学連携・共同研究推進事業および農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業・実用技術開発ステージ(28029C)の支援で行われた。

文献

- Asai, H., Abe, N., Matsushima, R., Crofts, N., Oitome, NF., Nakamura, Y. & Fujita, N. (2014). Deficiencies in both starch synthase (SS) IIIa and branching enzyme IIb lead to a significant increase in amylose in SSIIa inactive japonica rice seeds. *Journal of Experimental Botany* 65, 5497-5507.
- 藤田直子，大野智子，保田謙太郎（2017）。「低カロリー機能性米の地域普及を目指して～調理法の開発と栽培簡易化～」『秋田県立大学ウェブジャーナル B』4: 158-163
- 藤田直子，立木芳，追留那緒子，阿部美里，クロフツ尚子，川本朋彦，小玉郁子，加藤和直，佐藤健介，高橋竜一，伏見力（2014）。「新規澱粉米品種の育成に向けて～BC₂F₃ 種子および BC₂F₂ 植物の解析～」『秋田県立大学ウェブジャーナル B』1: 7-11
- Kainuma, K., and French D. (1972) Nägeli amylopectin and its relationship to starch granule structure. II. Role of water in crystallization of B-starch. *Biopolymers* 11, 2241-2250.

菊地佳奈 (2019) 「難消化性澱粉を多く含む複数の枝作り酵素 (BE) IIb 欠損変異体米系統の解析」『秋田県立大学生物資源科学部平成 30 年度卒業論文』.

Nitta, H., Hasebe, M., Hosaka, Y., Wakui, T., Fujita, N. (2019). Physical Properties and Starch Structure of Ground Rice Puree. *Food Science and Technology Research* 25 (4),499-505.

高原美香 (2017). 「難消化性澱粉を多く含む変異体米を用いた低カロリー機能性食品の実用化をめざした研究」『秋田県立大学生物資源科学部平成 28 年度卒業論文』.

Tsuiki, K., Fujisawa, H., Itoh, A., Sato, M. & Fujita, N. (2016). Alterations of Starch Structure Lead to Increased Resistant Starch of Steamed Rice: Identification of High Resistant Starch Rice Lines. *Journal of Cereal Science* 68, 88-92.

〔 2019 年 6 月 30 日受付 〕
〔 2019 年 7 月 9 日受理 〕

Evaluation of *in vitro* function of high resistant starch rice

Naoko Fujita¹, Yuko Hosaka¹, Misato Abe¹, Haruka Nitta², Michiru Hasebe², Toru Wakui²

¹ *Department of Biological Production, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University*

² *Ogata Village Akitakomachi Rice Producers Co., Ltd.*

Resistant starch (RS) is defined as a starch product that resists digestion as it passes through the small intestine. Since RS is thought to be similar to the dietary fiber with low caloric functionalities, foods with a high RS level are expected to perform as functional foods. We found mutant rice lines with a high level of RS and developed practical high RS rice lines by back-crossing with elite rice cultivars. In this study, we evaluated the function of high RS rice processed foods such as steamed rice, rice flour, and rice gel, through *in vitro* experiments using the high-RS rice line “A6,” which will be registered in 2019. The RS value of mashed steamed rice was lower than that of non-mashed steamed rice. The RS value of A6 rice flour had a much smaller value than steamed rice. However, A6 rice gel and saccharified liquid, which was digested with a hydrolase of A6 rice gel, maintained high RS values. These results suggested that it will be possible to develop high RS functional foods using A6 rice gel.

Keywords: Resistant starch, rice mutant lines, *in vitro* experiments, functional rice, rice gel