

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 8 日現在

機関番号：36102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22700737

研究課題名（和文） 紫黒米の調理・加工過程におけるアントシアニン成分とその機能性の挙動に関する研究

研究課題名（英文） Study on behavior of anthocyanin and its functionality during the cooking and processing of purple black rice

研究代表者

近藤 美樹 (KONDO MIKI)

徳島文理大学・人間生活学部・准教授

研究者番号：80326412

研究成果の概要（和文）：紫黒米はさまざまな機能性を有するアントシアニン色素を豊富に含むため、それら機能性が期待される食品であるが、調理・加工による機能性の変化は不明である。本研究では、紫黒米粉含有パンを作成し、加工に伴うアントシアニンの挙動と抗酸化性の変化を検討した。主要成分のシアニジン 3-グルコシド（C3G）の約 80%はプロトカテキュ酸（PCA）に分解されたが、PCA は C3G より高い抗酸化性を示した。これらの結果から、紫黒米は加工後も抗酸化性を有することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Black purple rice is rich in anthocyanin pigments with various functions. Therefore, black purple rice would be able to utilize as functional food. However, changes in functionality by cooking and processing of black purple rice is unknown. In this study, breads containing black purple rice flour were prepared, the changes in antioxidant properties and behavior of anthocyanins in the processing were examined. While 80% of cyanidin 3-glucoside (C3G), a major anthocyanin in black purple rice, was degraded to protocatechuic acid (PCA), PCA showed antioxidant higher than C3G. These results show that black purple rice after processing has antioxidant property.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
2013 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：紫黒米、アントシアニン、製パン、プロトカテキュ酸、抗酸化性

1. 研究開始当初の背景

パンの主原料は小麦粉であるが、我が国のパン用小麦の自給率は低い。さらに、食糧自給率もカロリーベースで約 40%と低く、食糧

の安定供給が危惧されている。一方、米は小麦に比較してアミノ酸スコアで見ると栄養価が高く、生産量も多いことから、小麦粉の代替品として米粉が注目されている。従って、

パン製造において小麦粉の一部を米粉へ代替することは、小麦確保のリスク低下、米の消費拡大に伴う自給率の向上、さらに日本の農業の再生に有効と考えられる。

紫黒米は暗紫色を呈する米であり、その主要な色素成分はアントシアニンに分類されるシアニジン 3-グルコシド (C3G) である。当該成分は代表的な機能として抗酸化作用、抗糖尿病作用、抗炎症作用や抗動脈硬化症などの各種の機能が報告されている。さらに、糊粉層には、食物繊維、ビタミンやミネラルが多く存在し、紫黒米は白米と比べてその栄養価が高い。従って、紫黒米を利用した加工食品は栄養価に富む機能性食品として新規な利用が期待される。

アントシアニンを含む代表的な食品である黒大豆や紫黒米は、生食には適さず、加熱調理・加工されて摂取される。しかし、紫黒米の C3G は炊飯操作により約 80%が分解され、その分解産物としてプロトカテキユ酸 (PCA) が生成する。この現象は、加熱処理は有効成分である C3G の劇的な減少をもたらす結果、本来の機能が低下することが予想されるが、それに関する情報が乏しい。従って、アントシアニン含有食品の加熱調理・加工後の機能性の評価が必要である。

2. 研究の目的

アントシアニンは抗酸化作用をはじめ様々な生理機能を有する。紫黒米は当該成分を多く含む食品であり、紫黒米を調理・加工した食品は機能性食品として利用が期待されるが、調理・加工後の機能性はよく理解されていない。そこで、紫黒米粉食パンを作成し、アントシアニンが関与する機能として、抗酸化性および抗アレルギー効果に着目し、紫黒米粉食パンの機能性食品としての有効性を明らかにするために、以下を目標とした。

(1) 紫黒米粉パンの製パン性の評価 (外観測

定、物性測定および官能検査) から、最適な黒米粉食パンの配合条件を確立する。

(2) 紫黒米粉パン抽出液における総ポリフェノール量とその有効成分 (アントシアニンおよびその分解物) を定量し、加工に伴う成分変化を明らかにする。

(3) 紫黒米粉パン抽出液と C3G ならびにその分解物の抗酸化能の比較検討を行う。

(4) 紫黒米粉パン抽出液と C3G およびその分解物の抗アレルギー効果の比較検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 材料

製パン材料の米として、黒米はおくのおむらさき (ジャポニカ種、うるち)、比較対照である精白米ならびに玄米にはササニシキ (ジャポニカ種、うるち) を岩手県の古代米生産組合より購入し、製粉したものをを用いた。黒米は湿式ならびに乾式製粉、精白米は湿式製粉、玄米は乾式製粉のものをを用いた。その他の製パン材料である、強力粉、上白糖、スキムミルク、食塩、ドライイーストは食料品店から購入した。その他の実験用の試薬は市販の特級試薬を用いた。

(2) 紫黒米粉パンの製パン性の評価

① 紫黒米粉を小麦粉の一部 (0, 10, 20, 30%) と置換し、副材料を添加して、自動ホームベーカリー SD-BM102 (パナソニック株式会社、大阪) を用い、食パン早焼きコースにてパンを焼成した。さらに、各種米粉を用いて 20% 米粉パンを調製した。

② ① について、クリープメータにて物性測定、菜種置換法による比容積測定、色差計による、明度、色相、彩度の評価を行った。

③ ① について、外皮色相、内皮色相、内

相キメ、内相膜厚、香り、硬さ、滑らかさ、味について、5段階評点法にて官能検査を行った。

④②及び③より、紫黒米粉パンの最適な紫黒米粉の配合割合を決定し、さらに同じ配合率の各種米粉パンの嗜好性を総合的に評価した。

(3) 総フェノール量とその有効成分の定量

①(2)にて調製した各種米粉パンを凍結乾燥後に粉碎し、酸性含水メタノールにて有効成分を抽出し、成分分析ならびに抗酸化及び抗アレルギー効果の評価の試料とした。

②①の試料中の総フェノールをフォーリンチオカルト法により没食子酸を標準物質として測定し、さらに、HPLCにより、C3Gとその分解産物であるPCAを各標準品により作成した検量線を用いて定量した。

(4) 抗酸化性の検討

①(2)の抽出試料およびC3Gとその関連化合物の抗酸化性を親水性活性酸素消去能(H-ORAC)により測定し、トロロックス当量として算出した。

②C3Gおよび分解産物をICRマウスに経口投与後、血液を採取してカートリッジにて前処理した後、H-ORAC法により抗酸化能を測定した。

(5) 抗アレルギー効果の検討

①(2)の抽出試料およびC3Gとその関連化合物の抗アレルギー効果について、RBL2H-3細胞を用いて脱顆粒抑制効果を指標に検討した。IgE抗体として抗ジニトロフェニル(DNP)抗体、抗原にはDNP-アルブミンを用いて各々の標準物質の共存下、脱顆粒により化学伝達物質と同時に放出

される β -ヘキソサミニダーゼを測定し、その酵素活性を50%抑制する濃度(IC50値)として算出した。

②被験物質をICRマウスに経口投与し、上述の抗体および抗原の組み合わせで耳介急性受動皮膚アナフィラキシー反応を惹起した。抗原投与前に標準物質をゾンデにて胃内に強制投与し、アナフィラキシー反応の抑制程度を検討した。

4. 研究成果

(1) 紫黒米粉パンの製パン性の評価(外観測定、物性測定および官能検査)と最適黒米粉食パンの配合条件の確立

黒米粉の最適配合割合を決定するために、小麦粉重量の10%ごとに10%から40%まで置換配合した食パンを焼成し、比容積を指標とした製パン性、破断応力および粘弾性により構成される物性測定、および官能検査から、20%配合が最適であることを確認した(図1)。

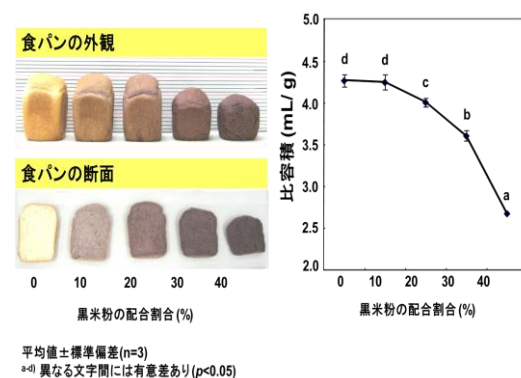


図1 異なる配合割合の紫黒米粉パンとその比容積

次いで、対照の米粉不含パンに加えて、精白米、玄米、および紫黒米粉を用いて20%各種米粉パンを焼成した(図2)。紫黒米粉パンについては、湿式および乾式製粉にて調製された2種類の米粉を用いた。外観および色は異なるが、食感、香り、味、甘味、硬さ、粘

り、ふわふわ感、粘り、もろさの9項目および総合評価から同等の嗜好性を有することを確認した(図3)。

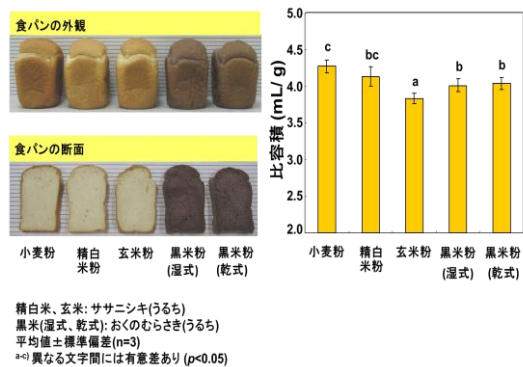


図2 各種米粉パンとその比容積

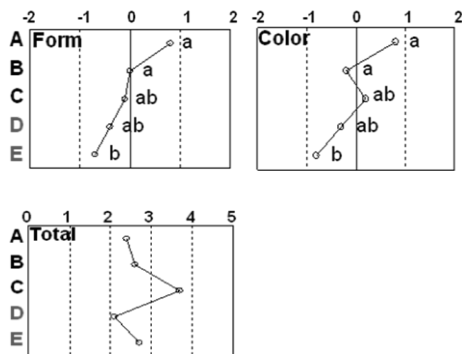


図3 各種米粉パンの官能検査(一部)

A, 小麦(米粉不含); B, 精白米; C, 玄米; D, 紫黒米(湿式); E, 紫黒米(乾式)。

(2) 紫黒米粉パン抽出液における総フェノール量とその有効成分の定量

HPLC分析により、C3Gは、紫黒米パンとその原材料でのみ検出され、製パン後には約20%に減少し、一方で分解産物のPCAは約5倍に増加した(表1)。標準品の熱安定性は、C3Gが100℃15分の加熱によりPCAが生成されるのに対し、PCAは8時間の加熱でも安定であった。総フェノール量は、紫黒米パンで含有量が高く、製パン後も有意な変化はなかった。

表1 米粉パン抽出液のC3G及びPCA含量

置換材料	含有量(μmol/g乾燥重量)			
	C3G		PCA	
	未処理	パン	未処理	パン
小麦粉	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
精白米粉	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
玄米粉	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
黒米粉(湿式)	0.36 ± 0.03 a	0.09 ± 0.01 b	0.04 ± 0.01 a	0.16 ± 0.00 b
黒米粉(乾式)	0.52 ± 0.02 a	0.17 ± 0.01 b	0.06 ± 0.04 a	0.23 ± 0.01 b

平均値±標準偏差(n=3), N.D.: 未検出
 a¹c 同じ種類の製パン前後において異なる文字間には有意差あり(p<0.05)

(3) C3Gならびにその分解物と紫黒米粉パン抽出液の抗酸化性

抗酸化能はH-ORACにより検討した(表2)。黒米粉の添加により無添加の約2倍のH-ORAC値を示し、さらにその効果は製パン後に有意に上昇した。さらに、標準物質のH-ORAC値については、C3Gと比較してPCAにおいて高値を示した。加工後にはC3Gの約8割は分解してPCAを生成することから、製パン後に上昇したH-ORAC値はC3Gの分解物であるPCAに起因することが示唆された。

さらに、生体での抗酸化性を検討する目的でC3GおよびPCAを投与したICRマウスから、一定時間ごとに血液を採取して、H-ORAC値を求めた。PCAを投与したマウスでは、同モル濃度のC3Gでは認められなかったH-ORAC C値の上昇が観察された。従って、PCAの経口摂取は抗酸化性を発揮し、その効果はC3Gよりも高いことが明らかになった。

表2 米粉パン抽出液の抗酸化能

配合材料	ORAC値(μmol of TE ¹ /g乾燥重量)			
	未処理		パン	
	値	(T)	値	(T)
小麦粉	3.6 ± 1.1	(1.0)	1.5 ± 0.2	(1.0) (42)
精白米粉	2.6 ± 1.4	(0.7)	1.7 ± 0.7	(1.1) (65)
玄米粉	3.8 ± 0.6	(1.1)	2.7 ± 0.3	(1.8) (71)
黒米粉(湿式)	6.2 ± 0.4	(1.7)	4.4 ± 0.3	(2.9) (71)
黒米粉(乾式)	8.3 ± 0.8	(2.3)	5.6 ± 0.1	(3.7) (67)

平均値±標準偏差(n=3)
¹TE: H-ORAC値
 (): 未処理の小麦粉/パンの原材料のORAC値を1とした時の比率
 (): 加工後の小麦粉/パンのORAC値を1とした時の比率
 (): 製パン加工による各種パンのORAC値の変化率(%)

(4) C3G ならびにその分解物と紫黒米粉パン抽出液の抗アレルギー効果

RBL2H-3細胞における脱顆粒抑制効果は、黒米粉添加による抑制効果は認められなかったが、未処理の原料に対して製パン後に高くなることが示された。しかし、C3GとPCAの抑制効果は同程度であり、製パン後に上昇した効果は他の物質に起因することが示唆された。

次いで、抗原刺激前にC3GもしくはPCAを経口投与した実験動物における受動皮膚アナフィラキシー反応の抑制効果を検討した。C3GとPCAを同濃度で投与した場合、C3Gの方がPCAよりも阻害率が高いが、PCAにも抑制効果を認めた。

本研究では、紫黒米を調理・加工した後の機能性について検討し、特に抗酸化性に関しては、C3Gを加熱分解してPCAとして摂取することで効率的に機能を発揮し、紫黒米利用食品は機能性食品としてその効果が期待できることを示した。このようにC3Gの加熱後の分解物に焦点を当て、その機能性の変化を系統的かつ詳細に検討した報告は、国外においても存在しない。今後は、日常の食生活における摂取量の提示とその効果の実証が必要と考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① 比江森(近藤) 美樹 (2013) アントシアニンに起因する生理活性の効果的な活用技術の確立と機能性食品の開発、山陽技術雑誌、査読無、60、6-11

② 松下至、比江森美樹、川上貴代、金行孝雄、田中彩子(2012) 粉末化法の違いによるアントシアニン類の抗酸化能の比較研究、岡

山学院大学・岡山短期大学紀要、査読有、35、1-7

[学会発表] (計 10 件)

① 永易あゆ子、比江森美樹、酸化ストレスモデルマウスに対するC3Gの熱分解産物の影響、日本栄養・食糧学会 第66回大会、2012年05月18日～2012年05月20日、仙台市

② A. Nagayasu and M. Hiemori, Antioxidant effect of black rice flour bread. International Conference on Food Factors, November 20-23, 2011, International Convention Center, Taipei, Taiwan

③ 比江森美樹、永易あゆ子、黒米粉の添加が食パンの抗酸化性に及ぼす影響、第 65 回日本栄養・食糧学会大会、2011年5月13日1～15日、お茶の水女子大学

④ 永易あゆ子、生野めぐみ、藤倉路子、辻英明、比江森美樹、黒米粉パンの製パン性の評価、日本調理科学会平成22年度大会、2010年8月27日～28日、中村学園大学

⑤ 比江森美樹、生野めぐみ、濃野仁美、永易あゆ子、辻英明、黒米粉パンの抗酸化能に関する評価、日本調理科学会平成22年度大会、2010年8月27日～28日、中村学園大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 美樹 (KONDO MIKI)

徳島文理大学・人間生活学部・准教授

研究者番号：80326412

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：