

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：33939

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350106

研究課題名(和文) 浸漬による低アレルギー米の作製とその有効性評価

研究課題名(英文) Preparation and of hypoallergenic rice by soaking and assessment of that efficacy

研究代表者

和泉 秀彦 (IZUMI, HIDEHIKO)

名古屋学芸大学・管理栄養学部・教授

研究者番号：80351211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：精白米を酸性溶液あるいはパイナップル果汁に浸漬させることで、低アレルギー米を作製した。酸性溶液浸漬よりもパイナップル果汁浸漬のほうが低減化効果は大きかった。加熱パイナップル果汁浸漬では、その効果が低下したことから、パイナップル中のプロメリン(シシテインプロテアーゼ)がその低減化に有効であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Hypoallergenic rice was prepared by soaking in acidic solution and pineapple juice. The hypoallergenic effect by pineapple juice was greater than that by acidic solution. It was suggested that the protease included in pineapple have efficacy for proteolysis of rice allergens, because the hypoallergenic effect was weakened by soaking in heated pineapple juice.

研究分野：食品学

キーワード：精白米 低アレルギー化

1. 研究開始当初の背景

米は日本人にとって、主要なエネルギー源であるが、摂食量が多いため、重要なタンパク質源でもある。しかし、一方では、卵や牛乳のアレルギーよりは少ないものの、米を含む穀類や豆類などの植物性食品によるアレルギー患者が増加している。このような現状において、アレルゲンを同定し、その性質を明らかにするとともに、それらが低減化された食材を提供することは重要である。

これまでに我々は、米主要アレルゲンを単離・精製し、その構造と性質を明らかにしてきた^{1,2)}。米の低アレルゲン化については、荒井らにより、微生物由来のプロテアーゼと界面活性剤を併用した方法による主要アレルゲンの除去が報告されている³⁾。また、我々は、味噌溶液に精白米を浸漬することで、麹由来のプロテアーゼによってアレルゲンが減少すること⁴⁾、発芽させた玄米中のアレルゲンが発芽時に活性化されるプロテアーゼによって分解されることを報告している⁵⁾。さらに、精白米を酸性溶液に浸漬させることで20%以下までにアレルゲンが低減化することを明らかにしている。これらの低アレルゲン化は、米の主要アレルゲンが、可溶性画分に属し、ほとんどが外層部に局在しているため、プロテインボディ内に存在する不溶性の主要貯蔵タンパク質よりもプロテアーゼの作用を受け易く、溶出し易いことに起因していると考えられる。

そこで、本研究では、米の主要アレルゲンは塩に可溶性なタンパク質であり、プロテインボディに存在しないことに着目するとともに、米粒中に存在しているプロテアーゼおよび外部より添加するプロテアーゼの機能に期待して、米を浸漬させる条件を変化させることによって、家庭で容易にできるアレルゲンの低減化を目的とする。さらに、動物実験によりその消化性とアレルゲン性を解析し、さらには、アレルギー患者に対しての有効性についても評価する。

1) Izumi, H. et al., Nucleotide Sequence of cDNA Clone Encoding Major Allergenic Protein in Rice Seeds., *FEBS Lett.*, **302**, 213-216 (1992)

2) Izumi, H. et al., Structural Characterization of the 16-kDa Allergen, RA17, in Rice Seeds., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 2059-2063 (1999)

3) Watanabe, M. et al., Production of Hypoallergenic Rice by Enzymatic Decomposition of Constituent Proteins., *J. Food Sci.*, **55**, 781-783 (1990).

4) Izumi, H. et al., Decrease in Rice Allergenic Proteins of Polished Rice Grains by the Incubation with Miso Solution., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2248-2251 (2000)

5) Yamada, C. et al., Degradation of

Soluble Proteins Including Some Allergens in Brown Rice Grains by Endogenous Proteolytic Activity during Germination and Heat-Processing., *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1877-1883 (2005)

2. 研究の目的

近年、動物性食品のみならず、米を含む穀類や豆類などの植物性食品によるアレルギー患者が増加している。このような現状において、アレルゲンを同定し、その性質を明らかにするとともに、それらが低減化された食材を提供することは重要である。そこで、本研究では、米の浸漬による低アレルゲン化を目指し、その低減化における最適浸漬条件を探索する。その浸漬条件を発展させた技術を調理・加工に応用することで、新奇低アレルゲン米の作製・製造を実現させる。さらに、動物実験により新奇低アレルゲン米の消化性とアレルゲン性を解析し、さらには、アレルギー患者に対しての有効性についても評価する。

3. 研究の方法

(1) 塩溶液の pH を 3~9 の範囲で変化させたものを調整し、精白米を 24 時間以内の時間で浸漬させる。浸漬溶液は 1 種類では低減化が不完全である可能性もあるため、2 種類以上を組み合わせたたり、食品添加物として使用されているプロテアーゼも併用したりする。浸漬時に溶出したタンパク質、および浸漬後に精白米中に残存しているタンパク質について、タンパク質量を Lowry 法で、タンパク質組成を SDS-PAGE でおよびイムノブロットにより解析する。さらに、残存アレルゲン量を輝度解析により定量し、最も低アレルゲン化する浸漬条件を明らかにする。一方、浸漬後の米粒残層総(不溶性)タンパク質についても解析し、米のタンパク質源としての価値が残っているかを評価する。

(2) (1) の実験において、塩溶液の浸漬のみでは十分なアレルゲンの低減化が見られない場合に、食品添加物として利用可能な各種プロテアーゼを作用させて低減化を試み、その成果が十分に得られれば、そのプロテアーゼを含む特定の食品(果物や調味料など)そのもの、あるいはプロテアーゼを含む画分を食品から抽出し、精白米を浸漬させる際に添加して、(1) の実験でのプロテアーゼを作用させた場合と同様の効果が得られるかを検証する。

4. 研究成果

(1) 精白米を 0.65% のクエン酸溶液および生パイナップル果汁に 40 で 6 時間浸漬後、水で洗浄し、精白米中に残存しているタンパク質を SDS およびメルカプトエタノールを含

む溶液で抽出し試料溶液とした。それぞれの試料溶液中のタンパク質組成を SDS-PAGE で、14-16kDa アレルゲンを特異抗体を用いたイムノブロットにより検出し、原料米と比較した。

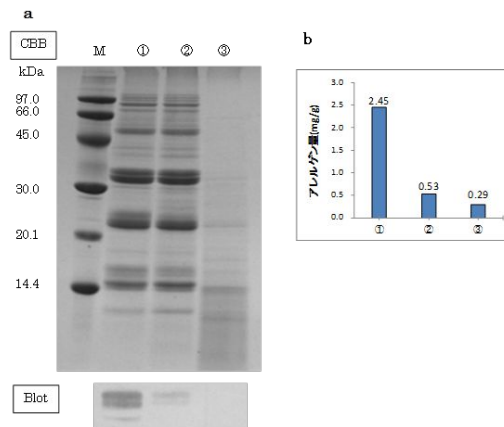


図1 各溶液浸漬後の残存タンパク質および残存アレルゲン
a: 各溶液浸漬後のタンパク質の組成解析および14-16kDaアレルゲンの検出
b: 米粒中に残存した14-16kDaアレルゲンの定量
※図中のM: 分子量マーカー
①: 原料米
②: クエン酸緩衝液浸漬米
③: パイナップル果汁浸漬米

浸漬後に精白米中に残存しているアレルゲン量は、0.63%クエン溶液浸漬により25%に、生パイナップル果汁浸漬により12%に低減化しており、生パイナップル果汁のほうが低アレルゲン化に効果的であることが明らかとなった。

(2)(1)の効果、パイナップル果汁の酵素による低アレルゲン化かどうかを確認するために、加熱したパイナップル果汁を用いて同様の実験を行った。

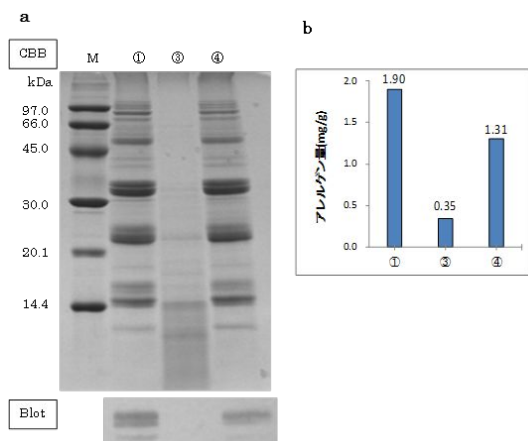


図2 パイナップル果汁浸漬の加熱の有無によるタンパク質の低減化に及ぼす影響
a: パイナップル果汁浸漬の加熱の有無によるタンパク質の組成解析および14-16kDaアレルゲンの検出
b: 米粒中に残存した14-16kDaアレルゲンの定量
※図中のM: 分子量マーカー
①: 原料米
②: 生パイナップル果汁浸漬米
③: 加熱パイナップル果汁浸漬米

精白米を加熱した生パイナップル果汁に浸漬すると、その低減化効果は弱くなった。よって、米の低アレルゲン化には、酸性溶液に加えて、パイナップルに含まれるプロメリン（システインプロテアーゼ）が効果的に働くことが示唆された。

(3)さらに、アレルゲン量が75%以上減少した生パイナップルの原料果汁6時間浸漬米、2倍希釈パイナップル果汁6時間浸漬米、5倍希釈パイナップル果汁24時間浸漬米と原料米とで官能検査を行った。喫食調査で2倍希釈パイナップル果汁6時間浸漬米と5倍希釈パイナップル果汁24時間浸漬米との間に大きな差がなく、パイナップル臭が残存していることが指摘された。そこで、工程の簡便さから、2倍希釈パイナップル果汁6時間浸漬米を米粉にし、パイナップル臭を感じさせないレシピを考案した。

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 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

鈴木美沙、山田千佳子、和泉秀彦、パイナップル果汁を用いた米の低アレルゲン化、平成27年度日本調理科学会 東海・北陸支部、近畿支部合同研究発表会

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者

和泉 秀彦 (IZUMI Hidehiko)
名古屋学芸大学・管理栄養学部・教授
研究者番号：80351211