

ケア環境研究所報告書

1. 試料

ケア環境研究所群馬事業所の次の玄米3つの品種を用いた。

- ・(水稻) ササシグレ
- ・(水稻) のとひかり
- ・(陸稻) ハッピーヒル

これらの品種で試料を水洗いし、水気を切って5°C、水180mLで15時間浸漬をしたもの(ササシグレ、のとひかり、ハッピーヒル)とそのままの状態で使用したもの(ササシグレ 生、のとひかり 生、ハッピーヒル 生)を試料とした。試料を液体窒素で急速凍結を行った。凍結後、凍結乾燥処理を行い、全ての乾燥試料はマルチビーズショッカーを用いて粉碎した。水洗いしなかった方はそのままの状態に粉碎した。得られた粉末試料は脱酸素剤と共に真空包装し、使用時まで-30°Cで保存した。

2. 成分分析

2-1 アミノ酸および糖の分析

2-1-1 抽出液の調製

プラスチック試験管に試料250mgを秤量した。メタノール:クロロホルム = 5:2の混合液1.75 mL加えた。振盪機で37°C、200 rpm、5分間インキュベートした。内部標準液25 μ L、超純水475 μ L加え、再び振盪機で37°C、200 rpm、10分間インキュベートした。4°C、3000rpm、3分間遠心分離し、上清1800 μ Lを別のプラスチック試験管に移し、超純水900 μ L加えた。4°C、3000 rpm、3分間遠心分離し、上清1800 μ Lを2 mLマイクロチューブに移した。遠心濃縮を行い、超純水で1.0mLにメスアップし、シリンジフィルターで濾過(0.22 μ m, NYLON)したものを分析試料とした。

〈アミノ酸分析用試料の調製〉

抽出液100 μ Lに超純水200 μ Lを加え、インサートバイアルへ注入した。これをアミノ酸分析用試料とした。使用時まで-30°Cで冷凍保存した。

〈糖分析用試料の調製〉

抽出液50 μ L、超純水950 μ Lをガラスバイアルに注入し、これを糖分析用試料とした。使用時まで-30°Cで冷凍保存した。

2-1-2 アミノ酸、糖内部標準液の調製

S-carboxymethyl-L-Cysteine 40 μ mol/10mL、サルコシン 40 μ mol/10mL、ラフィノース五水和物 117.8mg/10mL、レブリン酸 10mg/10mL になるように、超純水に溶解し、内部標準溶液を調製した。

2-1-3 アミノ酸分析

アジレント社のアプリケーションプログラムに準じて、OPA-FMOC 法によるプレカラム誘導体化-HPLC で分析を行った。

HPLC 装置；Agilent 1200 シリーズ

カラム；Poroshell120 HPH-C18(Φ 3.0 \times 100mm, 2.7 μ m,Agilent)

溶離液 A；10 mM リン酸-ホウ酸バッファー(pH 8.2)

溶離液 B；アセトニトリル：メタノール：超純水(45:45:10, v/v/v)

グラジエントプログラム：2% B(0 min), 2% B(0.35 min), 57% B(13.4 min),

100% B(13.5 min), 100% B(13.7 min), 2% B(15.8 -18 min)

蛍光検出波長：Ex=340 nm, Em=450 nm

Ex=266 nm, Em=305 nm

流速：0.63 ml/min

2-1-4 糖の HPLC 分析

糖は電気化学検出-HPLC を用いた内部標準法で定量を行った。

〈HPLC 分析条件〉

検出：パルスアンペロメトリック式電気化学検出器 (Antec Leyden 社)

カラム：InertSphere Sugar-1 (5 μ m,150 \times 4.6mm)

カラム温度：35 $^{\circ}$ C

溶離液：0.2M NaOH

流速：0.5ml/min

結果

表1 アミノ酸分析結果 (mg/100g(湿重量))

		浸漬前			浸漬後		
		1.ササングレ生	2.のとひかり生	3.ハッピーヒル生	4.ササングレ	5.のとひかり	6.ハッピーヒル
アミノ酸含有量 (mg/100g)	アスパラギン酸	7.2	6.2	12.1	2.8	3.6	2.1
	グルタミン酸	12.8	10.8	22.9	5.4	6.3	3.0
	アスパラギン	8.4	7.1	18.5	7.5	7.8	2.7
	セリン	2.7	2.1	5.0	2.8	2.8	1.2
	グルタミン	2.3	2.6	12.4	3.1	4.1	1.8
	ヒスチジン	0.6	1.2	0.6	0.0	0.0	0.1
	グリシン	0.6	0.5	1.2	0.8	0.9	0.5
	トレオニン	1.1	1.0	1.8	1.2	1.2	0.6
	シトルリン	0.6	0.7	1.2	0.5	0.5	0.4
	アルギニン	2.0	2.2	4.1	0.9	3.4	1.2
	アラニン	3.3	2.3	5.9	6.6	5.4	1.8
	γ-アミノ酢酸(GABA)	1.9	2.1	2.7	7.6	6.7	1.7
	チロシン	1.8	2.0	3.4	1.9	2.1	1.3
	α-アミノ酢酸	0.1	0.3	0.5	0.0	0.1	0.3
	システイン	0.3	1.2	0.4	0.2	0.4	0.3
	バリン	1.7	1.7	2.8	1.6	1.6	1.0
	メチオニン	0.2	0.6	2.0	0.3	0.3	0.6
	トリプトファン	1.8	2.5	3.8	1.8	1.9	1.5
	フェニルアラニン	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0
	イソロイシン	0.6	1.0	1.5	0.5	0.7	0.7
オルニチン	0.3	0.8	1.4	0.2	0.4	0.6	
ロイシン	0.8	1.0	1.5	0.7	0.8	0.8	
リシン	0.5	1.1	1.7	0.6	0.8	0.9	
ヒドロキシプロリン	3.9	3.9	6.4	1.6	2.7	2.3	
プロリン	2.5	2.4	2.7	1.0	1.2	0.9	
糖含有量 (mg/100g)	グルコース	2.53	2.94	3.23	4.51	4.46	3.20
	フルクトース	1.01	0.73	1.78	2.04	2.01	2.01
	スクロース	156.92	159.83	146.42	76.85	81.01	42.19
	マルトース	0.39	0.27	0.64	0.26	0.56	0.50

分析結果から、アミノ酸は浸漬したものの中では他の二つと比べてハッピーヒルは全体的に各アミノ酸の含有量が少ない傾向が見られた。生の方ではハッピーヒルが他の二つと比べて全体的に各アミノ酸の含有量が多い傾向が見られた。また、各アミノ酸で多かったのは浸漬させたものではアスパラギン、アラニン、 γ -アミノ酢酸(GABA)であり、生ではアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギンが多かった。

糖は、浸漬させたものと生米のまま使用したものでは大きな違いはなくどれも、スクロースの含有量がグルコース、フルクトース、マルトースに比べてとても多く見られた。

2-2 ミネラル含有量の分析

2-2-1 試料の調製

試料は生の状態のままマルチビーズショッカーで粉碎したものを使用した。粉末試料を 2 g 秤量し、るつぼに入れた。(n=3)

電気マッフル炉で 100°C-1h、300°C-1h、550°C-5h の温度を保持して灰化させた。冷却後に 20%塩酸 5 mL で溶解した。約 150°C のホットプレート上で加熱を行い蒸発乾固させて、乾固させたら 1%塩酸 5 mL を加えて蒸発乾固を再び行った。室温冷却し、分解残留物を 1%塩酸で洗いこみながらメスフラスコに 25mL に定容したものを試料溶液とした。試料液を僅かに使い、濾紙 (ADVANTEC 定量濾紙 No.6) を湿らした後、濾液は 50 mL プラスチックチューブに入れて常温保存した。

2-2-2 標準溶液の調製

Mg、Zn、Fe、K の 0.1%標準液を以下の濃度になるように調製した。

- ・ Mg、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$
- ・ Zn、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$
- ・ Fe、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、
- ・ K、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、

2-2-3 原子吸光光度計によるミネラルの定量

標準溶液、試料溶液を以下の条件で原子吸光光度計のフレーム原子吸光法により分析を行った。

	Mg	Fe	Zn	K
ランプ電流値(mA)	7.5	12.5	5	10
波長(nm)	285.2	248.3	231.9	766.5
スリット(nm)	1.3	0.2	1.3	1.3
バーナーヘッド	標準バーナー	標準バーナー	標準バーナー	標準バーナー
バーナー高さ(nm)	7.5	7.5	7.5	7.5
フレーム	空気-アセチレン	空気-アセチレン	空気-アセチレン	空気-アセチレン
助燃ガス圧力(kPa)	160	160	160	160
燃料ガス流量(L/min)	1.8	2.2	1.8	2.2

2-2-4 結果

表 2 定量結果

		ササシグレ	のとひかり	ハッピーヒル	食品成分表値(mg/100g)
含有量 (mg/100g)	Mg	313	306	330	110
	Fe	7.7	7.6	8.2	2.1
	Zn	4.3	4.8	3.6	1.8
	K	534	462	604	230

分析結果から Mg、Fe、Zn、K の各元素は 3 品種全て食品成分表の含有量よりも約 2~4 倍多いことがわかった。

3-1.脂肪酸分析

3-1-1 試薬の調整

- ・ I.S ストック溶液 ヘプタデカン酸メチル 4mg/mL(in トルエン)
- ・ FFA 用 I.S 溶液 ヘプタデカン酸メチル 0.8mg/mL(in トルエン)
 - * FFA 用 I.S 溶液は I.S ストック溶液をトルエンで 5 倍に希釈した
- ・ CFA 用 I.S 溶液 ヘプタデカン酸メチル 0.08mg/mL(in ヘキサン)
 - * CFA 用 I.S 溶液は I.S ストック溶液をヘキサンで 50 倍に希釈した
- ・ 0.01% BHT(in アセトン)溶液
- ・ 8%(w/v)HCl(in 85% MeOH):濃塩酸 9.7mL+MeOH42.5mL
- ・ 2MKOH(in MeOH):11.224g/100mL

3-1-2 試料の調製

試料は浸漬前と浸漬後のものを使用した。粉末資料を遊離脂肪酸(FFA)用と中性脂肪酸(CFA)用でそれぞれ 20mg 秤量し、ネジ付き試験管に入れた(n=6)。秤量した試料に 100 μ L の 0.01% BHT(in アセトン)溶液を加え、デシケーターを用いて 200Pa で乾燥させた。

(1) 遊離脂肪酸(FFA)：乾燥させた試料に FFA 用 IS 溶液(ヘプタデカン酸メチル 0.8mg/mL)200 μ L、メタノール 1.75 mL、8% HCl (in MeOH) 50 μ L を攪拌しながら加えた。蓋を閉めて激しく振盪し、45°C で 1 時間加温して流水で常温に戻した。ヘキサン 1mL と超純水 200 μ L を加え攪拌した。遠心分離機でフラッシュ遠心 (3000 rpm)した。試料の上層 1 mL を分析試料とした。

(2) 中性脂肪酸(CFA)：乾燥させた試料に CFA 用 IS(ヘプタデカン酸メチル 0.08 mg/mL)2 mL、2 M KOH (in MeOH) 200 μ L を加え、蓋をして 5 分間超音波にかけた。酢酸 25 μ L、超純水 2 mL を加え、遠心分離機でフラッシュ遠心 (3000 rpm)した。試料の上層 1 mL を分析試料とした。

それぞれ得られたデータについては、各脂肪酸の和とトリアシルグリセロール当量を求めた。

表3 全脂肪酸分析結果 (mg/100g(湿重量))

		浸漬前			浸漬後			食品成分表(mg/100g)
		1. ササシグレ生	2. のとひかり生	3. ハッピーヒル生	4. ササシグレ	5. のとひかり	6. ハッピーヒル	
	トリアシルグリセロール当量(mg/100g)	2622	1957	4158	3033	3551	1475	2500
脂肪酸含有量 (mg/100g)	オクタン酸	68.89	58.20	71.11	31.77	38.29	39.43	
	デカン酸	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	
	ウンデシル酸	0.01	0.71	0.23	0.25	0.00	0.26	
	ラウリン酸	0.00	0.68	0.00	0.28	0.00	0.00	
	トリデカン酸	0.00	0.19	0.18	0.21	0.00	0.00	
	ミリスチン酸	8.64	12.62	13.00	10.54	7.61	5.24	
	ミリストレイン酸	0.01	1.07	0.44	2.30	0.00	0.73	
	ペンタデカン酸	0.02	1.27	1.41	2.86	1.00	0.86	
	ペンタデセン酸	0.00	0.00	0.37	0.19	0.00	0.00	
	パルミチン酸	364.36	262.26	449.17	350.89	160.24	227.70	
	パルミトレイン酸	6.85	5.33	4.14	6.28	1.26	0.91	
	ヘプタデセン酸	11.35	0.00	0.36	0.51	0.00	0.00	
	ステアリン酸	76.33	47.26	63.90	92.32	28.07	30.82	
	オレイン酸	1273.79	717.09	1130.39	1071.23	414.40	538.96	
	エライジン酸	9.60	6.86	8.95	8.45	4.03	4.49	
	リノール酸	1216.68	978.32	1634.52	1143.05	604.85	826.68	
	γ-リノレン酸	7.76	15.74	15.30	10.92	9.50	9.64	
	α-リノレン酸	37.57	40.03	60.52	38.57	24.61	30.89	
	アラキジン酸	24.50	18.09	20.26	22.02	10.38	9.73	
	エイコセン酸	24.61	18.21	26.04	21.89	10.82	11.26	
	エイコサジエン酸	1.15	0.22	0.35	0.80	0.00	0.00	
	ヘンニコル酸	1.11	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	
	エイコサトリエン酸	1.33	3.85	3.35	0.00	0.00	0.00	
	アラキドン酸	29.71	36.26	55.66	5.39	8.67	14.03	
	ジホモ-γ-リノレン酸	0.02	3.93	1.70	2.65	0.00	1.38	
	エイコサペンタエン酸	48.83	25.55	42.10	13.54	14.32	14.48	
	ベヘン酸	19.24	53.08	50.16	14.07	9.51	24.34	
	ドコセン酸	58.28	79.48	126.38	6.81	22.02	30.17	
	ドコサジエン酸	0.01	0.00	0.00	0.55	0.00	0.00	
	トリコシル酸	0.02	0.99	1.23	2.13	0.81	0.87	
リグノセリン酸	105.03	110.56	185.88	17.91	33.37	42.08		
ネルボン酸	0.12	10.01	10.00	20.84	6.07	6.07		
ドコサヘキサエン酸	0.00	0.00	0.00	0.36	0.00	0.00		

分析結果よりサンプルの脂肪酸の含有量では、全てのサンプルでパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸が他の脂肪酸より多く含まれていることが見られた。トリアシルグリセロール当量は食品成分表の値と比べてみると浸漬後のものではハッピーヒルが下回っていた。浸漬前のものでは、ハッピーヒルが最も高い値で、のとひかりは食品成分表の値を下回っていた。