

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

Role of Endogenous Enzymes in Milled Rice of Various Cultivars in the Accumulation of Chemical Components in Rice Grains During Cooking

馬橋由佳^{*§} 三輪有紀枝^{**} 大倉哲也^{***} 香西みどり^{*}

Yuka Mabashi

Yukie Miwa

Tetsuya Ookura

Midori Kasai

The relationship between the activities of endogenous enzymes in milled rice and the accumulation of chemical components in the rice grains during cooking was compared for five cultivars: Koshihikari, Nipponbare, Habutae-mochi, Yumetoiro and jasmine rice. The effects of temperature on the accumulation of chemical components in grains of Nipponbare were similar to those of Koshihikari. Sugars, particularly glucose, in the rice grains accumulated during cooking with all cultivars. Amino acids accumulated much less than sugars. The hydrolytic activities of the endogenous enzymes for carbohydrates in the five cultivars were maximized at 60°C, while the proteolytic activities were weak under every condition. The gelatinization onset temperature of rice flour was 60–64°C for all the cultivars. The mechanism for the accumulation of chemical components during cooking by hydrolases in milled rice, as revealed for Koshihikari, was applicable to the various rice cultivars; around 60°C was the key temperature for substantial production of glucose by the endogenous enzymes in milled rice, and the amount of sugars in cooked rice depended mainly on the cooking conditions.

キーワード：米 rice；炊飯 rice cooking；内在性酵素 endogenous enzymes；品種 cultivar；化学成分 chemical components；温度履歴 temperature course

序

米はアジアで主食として広く食されており、収量性に優れる極めて重要な食料資源である。日本においては、粘りの強い米が好まれ、ジャポニカ亜種を炊き干し法により調理して食べられることが多く、炊飯についての研究も古くから多くなされている。米飯の食味には硬さや粘りといったテクスチャーとともに、還元糖^{1,2)} やオリゴ糖³⁾、アスパラギン酸やグルタミン酸⁴⁾ などの種々の化学成分も密接に関わっている。糖やアミノ酸は炊飯により増加し、特に水温が40°C から60°C に上昇する間にグルコースを主とした還元糖が顕著に増えることから⁵⁾、炊飯昇温期の温度履歴は米飯の化学成分の生成に大きく影響する。しかし、その化学成分生成のメカニズムに関する研究は少ない。

先に著者らは、我が国で最も多く食されるコシヒカリ90% 搗精米を用いて、炊飯による米飯成分の変化および米内在性酵素の働きについて詳細に解析した^{6,7)}。そして、炊飯中の成分変化のメカニズムに関して、60°C 付近においてデンプンの糊化の開始と酵素活性の上昇が連動し、グ

ルコースを主とした糖の生成が顕著に起こることを明らかにした。このように、炊飯による糖生成メカニズムを成分変化と内在性酵素の両面から検討した本結果を他品種にも適用できれば、米の調理加工に有用な知見となる。

米の品種によって米飯の呈味成分が異なることは報告されており、米の品種は米飯の食味に大きく関わる^{8,9)}。また、アミラーゼ、グルコシダーゼやプロテアーゼ類など米粒内在性酵素の活性に関しても、品種間差があることが報告されている^{10,11)}。しかしながら、米の品種による成分変化と米粒内在性酵素の差異は別々に研究されてきた。

そこで、本研究では、これまでに著者らが明らかにした炊飯過程の成分変化の特徴、精白米の酵素特性と糊化特性および両者の関係性から説明された炊飯中の成分変化のメカニズムが、異なる品種の精白米についても適用できるか確かめることを目的とした。そのために、わが国で消費される米の中から、遺伝的に系統の異なる5品種（コシヒカリ、日本晴、羽二重糯、夢十色、ジャスミンライス）を試料として、米飯成分および内在性酵素の活性を測定し、それらの特性を比較考察した。

実験方法

1. 試料米

試料米として、ジャポニカ亜種 (*Oryza sativa* L. ssp. *Japonica*) のコシヒカリ (平成17年度新潟産)、日本晴 (平成17年度滋賀産)、羽二重糯 (平成17年度滋賀産) およびインディカ亜種 (*O. sativa* L. ssp. *Indica*) の夢十色 (平成17年度千葉産)、ジャスミンライス (平成19年購入タ

* お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 (Ochanomizu University Graduate School of Humanities and Sciences)

** お茶の水女子大学生活科学部 (Ochanomizu University)

*** (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品機能研究領域 (Food Function Division, National Food Research Institute)

§ 連絡先 お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 〒112-8610 東京都文京区大塚2-1-1 TEL 03(5978)5761 FAX 03(5978)5760

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

イ産)を用いた。コシヒカリ, 日本晴, 羽二重糯は, 玄米を入手して4°Cで暗所に保存し, 実験前日に搗精機(トヨーテスター精米機, MC-90 A, 東洋精米機製作所)により歩留まり90%に搗精した。夢十色およびジャスミンライスはインディカ亜種であり, 長粒で欠けやすく, 実験室での搗精が不可能であったため, 搗精後脱気された精白米を購入し, 4°Cで暗所に保存した。各搗精米は目開き2 mmのふるいを通し, 破碎米を除去した。米粉試料としては, 精白米を小型粉碎機(ワンダーブレンダー WB-1, 大阪ケミカル)で粉末にし, 目開き500 μm のふるいを通したものを使用した。

2. 炊飯方法および米飯成分の測定

試料米100 gに1.5倍加水し, 20°Cで1時間の浸漬を行った。小型炊飯器(SR-03 F, 松下電器産業)にスライダックを接続して電圧を調節し, 標準炊飯としては, 昇温時間11分で沸騰させ, 沸騰継続13分の後消火し, 15分間の蒸らし操作を行った。また, 昇温期の温度履歴を変化させたものとして⁷⁾, 沸騰までの昇温時間を6分および45分とした炊飯, また, 昇温途中で40°C, 60°Cおよび80°Cの一定温度を15分間保持した後に標準炊飯した3条件の炊飯も行った(Fig. 1)。

試料米20 g相当の各米飯に終濃度が50%になるようにエタノール水溶液100 mlを加え, ホモジナイザー(AM-10, 日本精機製作所)を用いて5分間ホモジナイズを行い, 20°Cで2時間の振盪抽出を行った。ろ過後, 残渣に50%エタノールを100 ml加えてさらに1時間の振盪抽出を繰り返した。ろ液を合わせて減圧濃縮および凍結乾燥し, 脱イオン蒸留水で10 mlに定容してポアサイズ0.22 μm のシリンジフィルターを通したものを米飯抽出液とした。米飯抽出液の全糖量をフェノール硫酸法¹²⁾, 還元糖をソモギー・ネルソン法¹³⁻¹⁵⁾, グルコース量を酵素法(グルコースCII-テストワコー, 和光純薬)で測定した。遊離アミノ酸

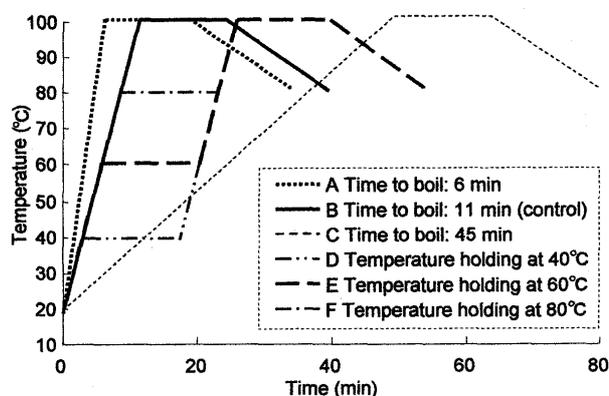


Fig. 1. Time course of temperature during cooking.

The time in the lower axis represents the time after the start of heating.

The rates of temperature increase in different temperature holding conditions (D-F) were the same as that of condition B (control).

は高速アミノ酸分析計(L-8800, 日立ハイテック)により測定した。21種のアミノ酸(アスパラギン酸, アスパラギン, グルタミン酸, グルタミン, アラニン, γ -アミノブチル酸, セリン, タウリン, スレオニン, グリシン, バリン, メチオニン, イソロイシン, ロイシン, チロシン, フェニルアラニン, トリプトファン, リジン, ヒスチジン, アルギニン, プロリン)について同定および定量を行い, これらの合計を総遊離アミノ酸量とした。成分抽出は各条件について3回繰り返して行い, 測定値は統計ソフトSPSS 15.0を用いて一元配置による分散分析を行ってTukeyのHSD法による多重比較により5%有意水準で検定した。

3. 粗酵素液の調製

各米粉試料30 gに5 mMジチオトレイトール(DTT)と100 mM NaClを含む50 mMリン酸緩衝液(pH 7.0)90 mlを加え, 4°Cで15時間, 振盪抽出を行った。抽出液を遠心分離(15,000 \times g, 30分, 4°C)し, 上清をガラスフィルター(GF-75, アドバンテック)でろ過したものを粗酵素抽出液とした。抽出は3連で行い, 合計した抽出液を透析膜(UC 36-32-100, 三光純薬)に入れ, ポリエチレングリコール(PEG, 分子量20,000, 和光純薬)を用いて4°Cで脱水濃縮を行った。脱水濃縮後, 20 mM 2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]エタンスルホン酸(HEPES)-NaOH緩衝液(pH 7.0)に対して透析し, 90 mlに定容したものを粗酵素液として用いた。

4. 酵素活性の測定⁶⁾

1) 可溶性デンプン分解活性の測定

基質溶液は, 1%可溶性デンプン, 5 mM CaCl₂を含む20 mM HEPES-NaOH緩衝液(pH 7.0)を100°C, 15分加温してデンプンを糊化させ, 調製した。可溶性デンプン基質溶液0.8 mlを予備加温し, 粗酵素液0.2 mlを加えて, 所定の温度(4, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80°C)で15分間のインキュベーションを行い, 氷冷の後速やかに1 N NaOHを125 μl 加えて反応を停止した。1 N HClを加えてpHを7.0に調整後, 還元糖量をソモギー・ネルソン法で, グルコース量を酵素法(グルコースCII-テストワコー, 和光純薬)で測定した。ブランク試料は, 粗酵素液を加えずに基質溶液のみを20°Cでインキュベートし, 1 N NaOHを加えた後に粗酵素液を加えた。還元糖量測定の標準試料はグルコース水溶液を用い, 測定値はグルコース当量として換算した。グルコース1 μg あるいは1 μg 当量の還元糖を遊離する酵素量を1 unitとし, 酵素活性は試料米1 gあたりの活性(units/g)で表した。

2) マルトース分解活性の測定

基質溶液として0.5%マルトースを含む20 mM HEPES-NaOH緩衝液(pH 7.0)を用いて1)と同様の操作を行い, グルコース量を酵素法で測定した。基質溶液のみを20°Cでインキュベートし, 1 N NaOHを加えた後に粗酵素液を

加えたものをブランク試料とし、グルコース $1 \mu\text{g}$ を遊離する酵素量を 1 unit とした。マルトース基質においては、マルトース 1 分子の分解により 2 分子のグルコースが生じるため、生じたグルコース量の半量を遊離したグルコース量とした。酵素活性は試料米 1 g あたりの活性 (units/g) で表した。

3) スクロース分解活性の測定法

基質溶液として 0.5% スクロースを含む 20 mM HEPES-NaOH 緩衝液 (pH 7.0) を用い、1), 2) と同様に測定を行った。

4) タンパク質分解活性の測定法

基質溶液として、1% カゼインを含む McIlvain 緩衝液 (pH 7.0) 0.1 ml を予備加熱し、粗酵素液 0.1 ml を加えて所定の温度 (4, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80°C) で 4 時間インキュベートした後に氷冷し、その後速やかに 0.8 N TCA を 0.1 ml 加えて反応を停止した。遠心分離 (15,000×g, 10 分, 4°C) 後、上清の 280 nm における吸光度を測定した (DU 640, ベックマン)。ブランク試料は、基質溶液のみを各温度でインキュベートし、氷冷の後に 0.8 M TCA と粗酵素液を同時に加えた。各試料とブランク試料との間に生じた吸光度の差を測定し、280 nm における吸光度を 0.01 上昇させる酵素量を 1 unit とした。酵素活性は試料米 1 g あたりの活性 (units/g) で表した。

5. 示差走査熱量測定 (DSC 測定)

内容積 70 μl のアルミニウム製セルに 10 mg の米粉試料を精秤し、15 μl の RO 水を加えて密閉した後、20°C で 1 時間静置した。その後、示差走査熱量計 (DSC 6100, セイコー電子工業) を用いてデンプンの糊化挙動を分析した。リファレンスには RO 水を用いた。昇温速度は沸騰まで 11 分の標準炊飯と等しい 7.3°C/分とし、測定温度範囲は 20°C から 150°C までとした。吸熱曲線の変曲点より糊化開始温度 (T_0) および終了温度 (T_e) を、吸熱ピーク点より糊化ピーク温度 (T_p) を、吸熱曲線とベースラインによって囲まれる面積より糊化熱 (ΔH) を算出した。

実験結果および考察

1. 日本晴米飯成分へ炊飯温度履歴が及ぼす影響

コシヒカリでみられた 6 つの炊飯温度履歴の違いによる米飯成分の変化⁷⁾ を、ジャポニカ・粳種の米の中でコシヒカリと最も系統が離れている品種の 1 つである日本晴について検討した。

沸騰までの昇温時間を標準の 11 分、標準条件より短い 6 分、長い 45 分とした日本晴の米飯の全糖・還元糖・グルコース量は、昇温速度が遅いほど増加した (Fig. 2)。これは、先のコシヒカリ⁷⁾ と同様の傾向であり、日本晴においても炊飯昇温期に糖量の増加が起こることが示された。また、日本晴を用いた昇温期に一定温度保持を伴う炊飯では、40°C・80°C の温度保持によって還元糖およびグルコ

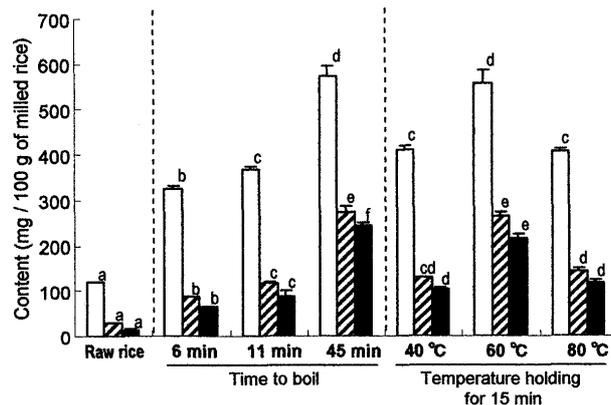


Fig. 2. Changes in the amounts of sugars in the 90% milled Nipponbare grains under different heating conditions. 90% milled Nipponbare grains were cooked under different heating conditions indicated at the lower axis. The bars indicate the amounts of sugars in rice grains; total sugars (white), reducing sugars (shaded), and glucose (black). Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements. Different superscripts in the same component show significant differences ($p < 0.05$) by Tukey's HSD test.

ースが標準炊飯に比べて有意に増加し、60°C の温度保持によっては還元糖およびグルコースが 2 倍以上に著しく増加した。この、60°C での増加傾向は、コシヒカリと類似しており、日本晴においても、昇温期 60°C 付近で糖の生成が起こりやすく、60°C の温度保持が米飯の糖量増加に有効であることが示された。ただし、その増加率はコシヒカリより日本晴の方が高い傾向にあり、炊飯温度履歴の違いによる糖量増加の傾向は同じであっても、その増加率は品種ごとに異なった。このことから、品種によって、炊飯の工夫が米飯の食味におよぼす影響が異なる可能性が示唆された。

総遊離アミノ酸量については、炊飯操作によって生米より有意に増加した (Fig. 3)。しかしその増加率は、最も変化の大きい 40°C の温度保持によっても標準炊飯に比べて 1.06 倍であり、コシヒカリ同様⁷⁾、炊飯温度履歴の違いによる大きな変化はみられなかった。

2. 異なる品種における米飯の化学成分の比較

次に、遺伝的に系統の異なる 5 品種 (コシヒカリ、日本晴、羽二重糯、夢十色、ジャスミンライス) について、炊飯過程における成分変化を比較した。インディカ亜種の試料としては、わが国で栽培された夢十色に加え、わが国で主に市販されているインディカ亜種であるジャスミンライスを用いた。

生米および沸騰まで 11 分の標準条件で炊飯した米飯の全糖、還元糖、グルコース量を比較したところ、いずれの品種においても炊飯操作によって糖量は有意に増加した (Table 1)。全糖量を還元糖量で割って得られる還元糖の平均重合度は、夢十色を除いたすべての品種で生米よりも

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

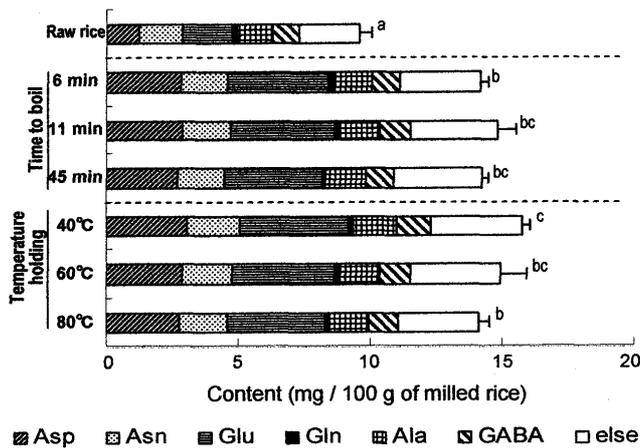


Fig. 3. Changes in the amounts of free amino acids in the 90% milled Nipponbare grains under different heating conditions.

The amounts of free amino acids in rice grains under different heating conditions were determined. 'else' means free amino acids except Asp, Asn, Glu, Gln, Ala and GABA. Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements. Different superscripts show significant differences ($p < 0.05$) by Tukey's HSD test.

米飯で有意に小さくなった。また、還元糖に対するグルコース割合は、いずれの品種においても生米よりも米飯で有意に高くなった。このことから、炊飯過程において、デンプンの分解による還元糖の生成が起こること、また、その中でもグルコースの生成が顕著に起こることは、広い品種間で共通の現象であることが示された。

炊飯による糖の増加について品種間の比較をすると、日本晴およびジャスミンライスは生米抽出液に含まれる還元糖量やグルコース量が他の品種に比べて少なかった

(Table 1)。このため、米飯に含まれるこれらの糖量は少ないにもかかわらず炊飯操作による増加率は高くなり、米飯に含まれるグルコース量は日本晴で生米の6.1倍、ジャスミンライスでは15.8倍と、コシヒカリの3.8倍に比べて非常に高くなった。

遊離アミノ酸量も、5つ全ての品種において、生米から米飯へと有意に増加した (Fig. 4)。生米に元々含まれる総遊離アミノ酸量は試料米100gあたり約30mgと、グルコースとほぼ同程度だが、炊飯過程における総遊離アミノ酸の増加率は、1.1-1.6倍であり、全ての品種で3.5倍以上に増加したグルコースに比べて低かった。これらから、著者が過去の報告⁷⁾で明らかにした、炊飯中のアミノ酸の生成がグルコースを主とする糖に比べて非常に少ないという現象は、コシヒカリだけでなく広い品種についてあてはまるといえる。一方、生米に含まれる各アミノ酸の構成割合は品種によって大きく異なっており、炊飯による変化よりも生米での品種による違いの方が明らかであった (Fig. 4)。すなわち、90%搗精米の米飯のアミノ酸量に関しては、炊飯過程における変化は品種によらず一様に少なく、米飯のアミノ酸量には各品種における生米のアミノ酸量が反映されることが明らかとなった。

3. 異なる品種における酵素活性の比較

精白米内在性酵素の特性を把握するため、異なる5品種の90%精白米から同一の方法で粗酵素液を調製し、様々な基質に対する加水分解活性の温度特性を調べた。

可溶性デンプンに粗酵素液を加え、8種の温度(4, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80℃)で15分間インキュベートし、生成した還元糖量およびグルコース量を測定した (Fig. 5)。粗酵素液を用いたデンプン分解反応においては、基質として用いたデンプンの α -アミラーゼなどによるエンド型の分

Table 1. Changes in the amounts of chemical components during cooking in various rice cultivars.

Time to boil	Total sugar (mg/100 g of milled rice)	Reducing sugar (mg/100 g of milled rice)	Glucose (mg/100 g of milled rice)	Degree of polymerization (Total sugar/Reducing sugar)	Proportion of glucose (Glucose/Reducing sugar (%))
Koshihikari					
Raw rice	194.6±27.9	52.2±3.0	30.0±2.2	3.72±0.34	57.4±1.2
11 min	398.0±25.9	163.4±18.2	113.6±6.5	2.45±0.13	69.9±4.7
Nipponbare					
Raw rice	121.7±0.3	28.4±0.8	14.6±0.9	4.29±0.13	51.6±4.6
11 min	369.3±5.5	117.4±4.0	88.6±10.8	3.15±0.13	75.4±8.0
Habutaemochi					
Raw rice	396.7±10.6	55.4±3.6	23.5±0.2	7.18±0.27	42.5±2.7
11 min	676.7±17.6	175.3±6.5	114.8±6.1	3.86±0.10	65.5±1.1
Yumetoiro					
Raw rice	109.2±2.1	63.6±0.6	28.1±0.7	1.72±0.04	44.1±1.1
11 min	314.3±8.5	159.7±3.2	108.9±1.1	1.97±0.01	68.2±1.3
Jasmin rice					
Raw rice	62.5±2.4	17.6±0.2	6.3±0.1	3.56±0.13	36.0±0.8
11 min	259.7±7.0	117.6±3.9	99.7±5.2	2.21±0.05	84.7±1.6

Differences between raw rice and cooked rice (time to boil; 11 min) were significant in all cultivars ($p < 0.05$).

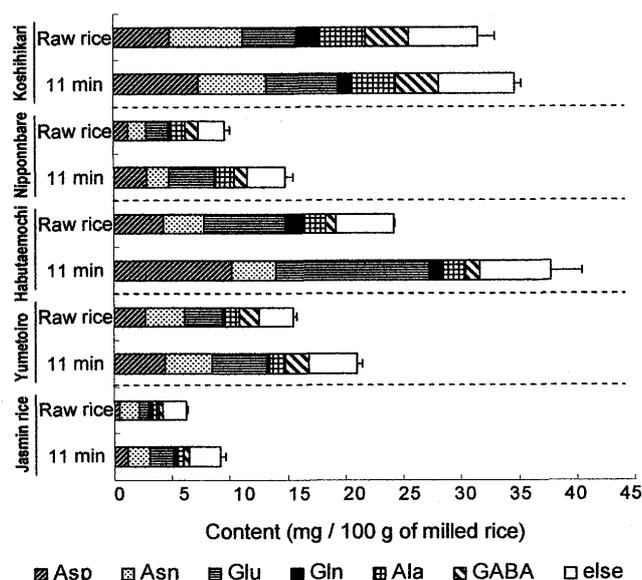


Fig. 4. Changes in the amounts of free amino acids during cooking in various rice cultivars.

The amounts of free amino acids in raw rice grains and cooked rice (time to boil; 11 min) were determined. 'else' means free amino acids except Asp, Asn, Glu, Gln, Ala and GABA. Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements. Differences between raw rice and cooked rice (11 min) were significant in all cultivars ($p < 0.05$).

解, およびその分解物と基質デンプンに対する α -グルコシダーゼによる非還元末端からのグルコースの遊離などを含めた, 複数の加水分解反応が同時に進行する。よって, 本反応における還元糖の生成量は, デンプン分解に関与する酵素の活性の総和を示す。可溶性デンプンの分解により生成した還元糖量は, いずれの品種においても 60°C のインキュベートで最大となり, 各種糖加水分解酵素の活性の総和の最高値は 60°C 付近に存在することが示された (Fig. 5, ●印)。一方, 同じ反応液におけるグルコース生成活性は, いずれの品種においても 60°C で最大となったが, 活性の強さは品種によって異なり, ジャポニカ亜種梗米のコシヒカリと日本晴が強かった (Fig. 5, ■印)。可溶性デンプンからのグルコース生成に関しては, 可溶性デンプンそれ自体あるいはアミラーゼ類の作用によって生じる可溶性デンプンの分解物に, α -グルコシダーゼが作用することによってグルコースが遊離するため, その生成には α -グルコシダーゼの影響が大きいと考えられる。他の品種に比べ特にコシヒカリでは, 60°C において, 還元糖生成活性に対するグルコース生成活性が高く, 先の報告で示した⁶⁾ 60°C に至適温度を持つ α -グルコシダーゼの活性が他の品種よりも相対的に高いことが示唆された。岩田ら¹⁰⁾は様々な品種の米の炊飯特性試験結果と α -アミラーゼ, β -アミラーゼ, α -グルコシダーゼ活性との相関について報告しており, α -グルコシダーゼが米飯の食味と関連があることを示唆している。本実験からもグルコース生成に

直接的に関わる α -グルコシダーゼ活性が品種によって特に異なることが示唆され, 岩田らの報告にあるように食味を左右するなど, 食用としての米の性質を左右し得ることが明らかになった。

次に, 精白米内在性 α -グルコシダーゼの挙動を把握するため, マルトースおよびスクロースの加水分解活性を測定した。マルトースを基質として各粗酵素液による加水分解の温度特性を測定したところ, いずれの品種においても 60°C のインキュベートでマルトース加水分解活性が最大となった (Fig. 6 A)。 60°C におけるマルトース分解活性の強さは, 日本晴, コシヒカリがほぼ同程度で最も高く, 続いて羽二重糯, 夢十色, ジャスミンライス順であった。また, インディカ亜種の夢十色およびジャスミンライスで 70°C における活性が他の品種より相対的に低くなり, インディカ亜種とジャポニカ亜種でマルトース基質に対する α -グルコシダーゼ活性の温度特性がやや異なる可能性が示された。これは, 精白米内で主要な α -グルコシダーゼの温度特性が両品種間でやや異なること, あるいは, 至適温度の異なる複数の α -グルコシダーゼの存在比率が違うことを意味すると考えられた。スクロースを基質とした場合は, 5品種全てで, いずれの温度帯においても分解は確認されなかった (Fig. 6 B)。これにより, 生米に多く含まれるスクロースは炊飯過程で酵素分解を受けず, 炊飯中の量的変化が起きないことが, 米共通の現象であることが示唆された。

次に, カゼインを基質として用い, 各品種の粗酵素液のプロテアーゼ活性を測定した。いずれの品種においても, 短時間のインキュベートでの活性測定は困難であり, 精白米に内在するプロテアーゼ活性は低いことが考えられた。そこで, 4時間のインキュベートによって測定を行うと, いずれの品種においても $40\text{--}60^{\circ}\text{C}$ でプロテアーゼ活性が高くなることが示された (Fig. 7)。 50°C における活性は羽二重糯が最も高く, 次いで夢十色, ジャスミンライス, 日本晴, コシヒカリの順となり, 活性の強度は Fig. 6 A で示した, マルトース基質に対する α -グルコシダーゼ活性とは異なる順であった。

以上の通り, 5品種の精白米に含まれる加水分解酵素の活性について比較を行ったところ, その温度特性は, 総合的には既報⁶⁾で詳細に測定したコシヒカリの内在性酵素の特性と類似の傾向を示した。特に, 可溶性デンプン基質, マルトース基質ではいずれの品種においても 60°C での分解活性が強くなった。このことから, 広い品種の米で, 炊飯過程においても 60°C 付近で糖類の分解が盛んになることが示唆された。一方, 加水分解酵素の活性強度や温度特性などは品種によって異なる部分もあり, 炊飯過程における成分変化に影響を与え得ると考えられた。

4. 異なる品種における糊化特性の比較

次に, 炊飯過程の米のデンプン分解に影響を与える要因

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

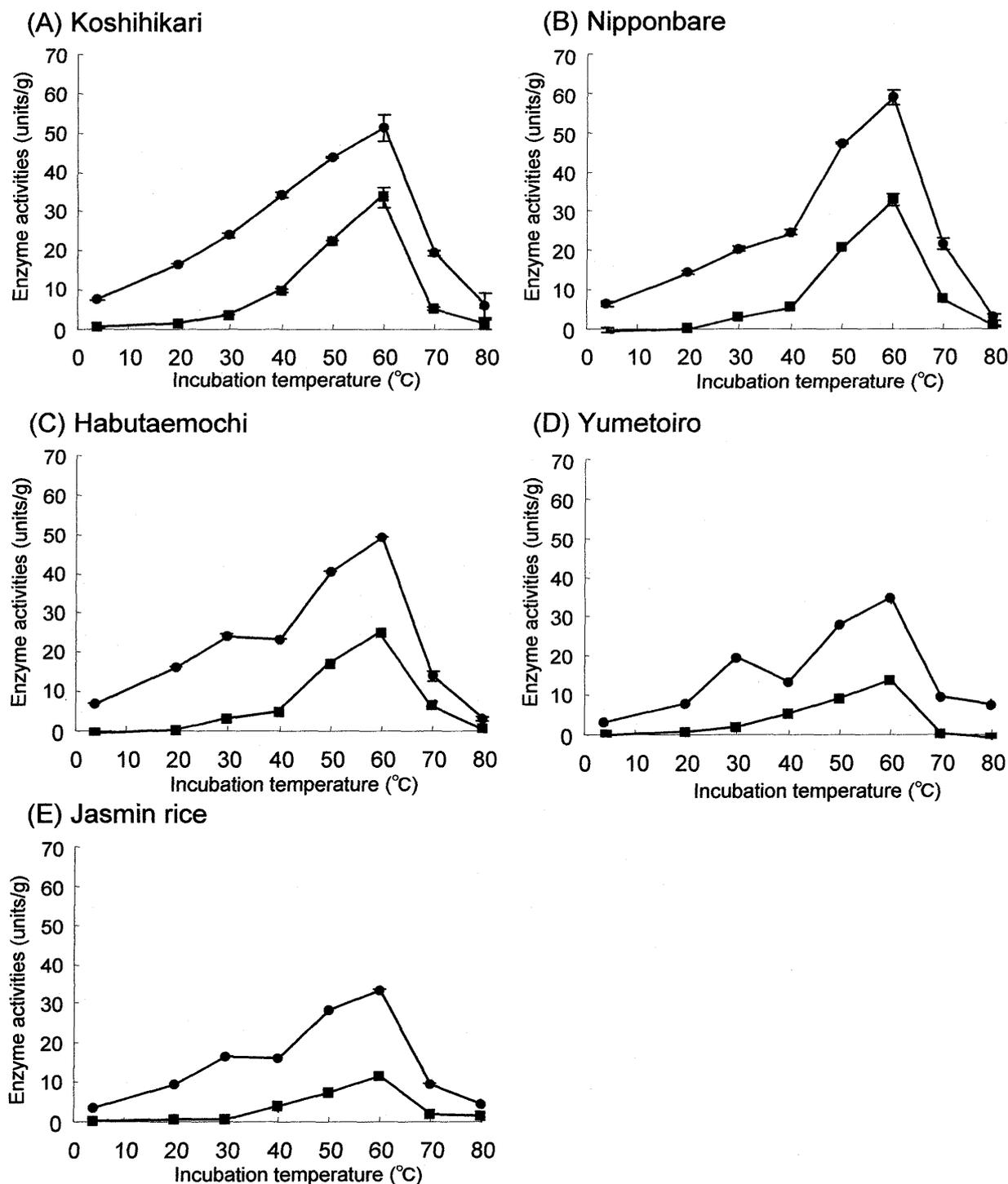


Fig. 5. Hydrolytic activity on soluble starch of crude enzyme extracts from various rice cultivars.

Reaction mixtures containing 0.8 ml of 1% soluble starch and 0.2 ml of crude enzyme extracts were incubated at various temperatures for 15 min. The enzyme activity of one unit is defined as the amount of enzyme that produces reducing sugars corresponding to 1 mg of glucose (●) or liberates 1 mg of glucose (■) per minute. The enzyme activity of crude extracts was expressed as units per 1 g of raw rice. Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements.

として、糊化特性の品種間差をDSCを用いて測定した。通常のDSC測定ではより明瞭な糊化ピークを得ることを目的に、試料の5倍程度の加水や0.5-2°C/分という昇温条件を用いることが多いが、ここでは、炊飯過程における

糊化状態をより实际的に把握するため、標準的な炊飯条件と同様の条件、すなわち加水比1.5倍、沸騰までの時間を11分(7.3°C/分)として、DSC測定を行った。本条件下におけるDSC測定において、5品種の糊化開始温度は60-

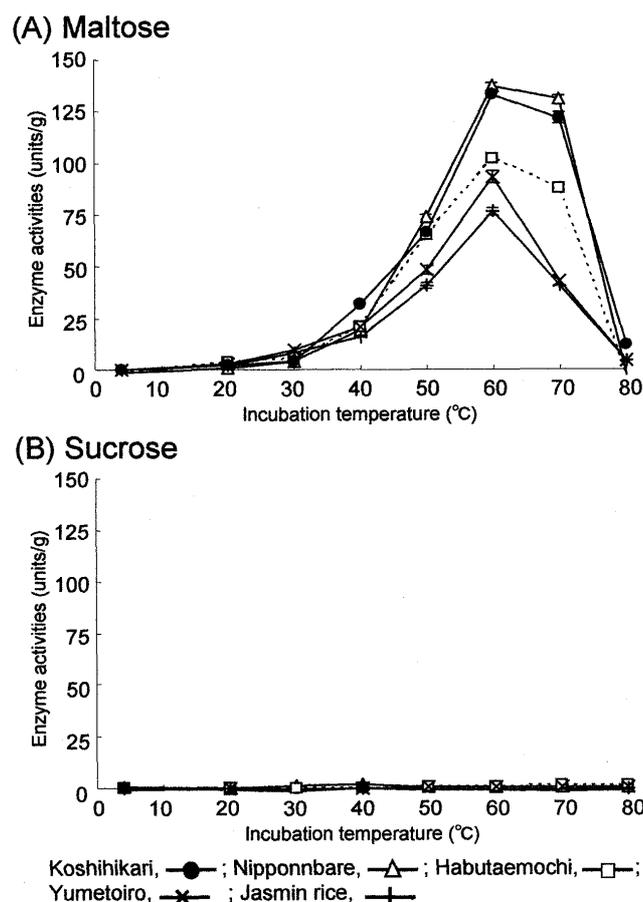


Fig. 6. Hydrolytic activity on maltose or sucrose of crude enzyme extracts from various rice cultivars.

Reaction mixtures containing 0.8 ml of 0.5% maltose (A) or sucrose (B) and 0.2 ml of crude enzyme extracts were incubated at various temperatures for 15 min. One unit is defined as the amount of enzyme that liberates 1 mg of glucose per minute. The enzyme activity was expressed as units per 1 g of raw rice. Maltose degradation occurred in any cultivars (A), while sucrose degradation was not observed in any cultivars (B). Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements.

64°C, 糊化ピーク温度が69–73°C, 糊化終了温度が101–106°Cと比較的狭い範囲に集中していた (Table 2)。

ここで、炊飯過程における成分変化の品種間差について考察する。各品種の生米抽出液に含まれる糖の量や構成割合は品種によって大きく異なり、生米100 gから抽出されるグルコース量は6–30 mgと最大で約5倍の違いがあった (Table 2)。一方で、糖の分解に関する内在性酵素はいずれの品種においても比較的高い活性を持っており、特に60°C付近で最も高い活性を示すなど、特性も共通する点が多く見られた (Fig. 5, 6)。また、米デンプンの糊化温度特性も共通し、60°C付近から糊化が開始した (Table 2)。すなわち、いずれの品種においても、炊飯昇温期60°C付近において、糖加水分解酵素活性の上昇とデンプン糊化による酵素消化性の上昇がほぼ同時に起こり、著しい糖生成

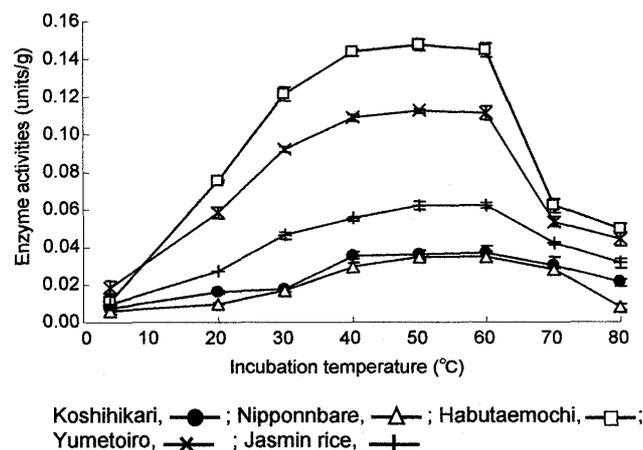


Fig. 7. Proteolytic activities of crude enzyme extracts from various rice cultivars.

Reaction mixtures containing 0.1 ml of 1% casein and 0.1 ml of crude extracts were incubated at various temperatures for 4 h. The reaction was stopped by the addition of 0.1 ml of 0.8 M trichloroacetic acid and absorbance at 280 nm of centrifuged supernatant was measured. One unit of activity is defined as the amount of enzyme that produces an increase in absorbance unit (280 nm) of 0.01 per minute on the reaction conditions. The enzyme activity of crude extracts was expressed as units per 1 g of raw rice. Error bars indicate the standard deviations of three independent measurements.

Table 2. Endothermal properties of rice flour from different cultivars.

	Endothermal temperature			ΔH (mJ/mg)
	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	
Koshihikari	63.1±0.5 ^c	71.6±0.5 ^b	102.2±0.8 ^{ab}	10.8±0.5 ^b
Nipponbare	64.6±0.2 ^d	72.7±0.6 ^{bc}	103.6±1.9 ^{bc}	11.3±0.4 ^b
Habutaemochi	61.4±0.2 ^b	72.6±0.5 ^{bc}	105.8±0.7 ^c	13.9±0.1 ^c
Yumetoiro	60.0±0.6 ^a	69.1±0.2 ^a	100.7±0.6 ^a	8.7±0.5 ^a
Jasmin rice	64.1±0.4 ^d	73.2±0.6 ^c	102.1±0.4 ^{ab}	11.5±0.5 ^b

Mean values±S.D. (n=3). T_o , Onset temperature; T_p , Peak temperature; T_c , Conclusion temperature; ΔH , endothermic enthalpy of gelatinization.

Different superscripts in the same column show significant differences ($p<0.05$) by Tukey's HSD test.

につながる事が示唆された。そして、グルコースを主とした糖はいずれの品種においても炊飯過程で有意に増加した。標準炊飯の米飯から抽出されたグルコース量は生米100 g当たり89–115 mgとなり、品種間の量差および品種間の量比も炊飯前よりも小さくなる事が明らかになった (Table 2)。既報⁷⁾のコシヒカリや本研究での日本晴を試料として示したように、炊飯昇温期の温度履歴を変化させることによって、米飯の糖量は顕著に変化する。本実験から、炊飯過程における糖量の増加が大きいことや、その増加率が品種間で異なる事が明らかとなり、米飯に含まれるグルコースを主とした糖量は、品種による生米での含有量の違いよりも、炊飯温度履歴による影響を大きく受ける

異なる品種における精白米内在性酵素の米飯成分への関与

ことが示唆された。このことは、米飯の食味を考える場合、生米に含まれる糖量は米飯中のその多い少ないを必ずしも反映せず、生米の成分測定のみでは米飯の成分の十分な予測ができないことも意味する。また同時に、米飯に含まれる糖量を考える上で、著者らが先に示した^{6,7)}炊飯過程における糖生成に関係する基礎的データがより広範囲な炊飯に応用できることを示している。

一方、炊飯過程におけるアミノ酸の生成に関しては、その生成に関わるプロテアーゼの活性強度には品種間差が見られたものの、その活性は糖加水分解酵素に比べると一様に低かった (Fig. 5-7)。また、米飯中のアミノ酸成分の解析においては、いずれの品種でも炊飯による量的変化は糖に比べ小さかった (Fig. 4)。すなわち、本実験から、炊飯中にアミノ酸の生成を担うプロテアーゼ活性は様々な品種の精白米において低く、米飯に含まれるアミノ酸量に関しては、糖の場合とは異なり、生米中のアミノ酸量および組成の品種間差が比較的大きく影響することが示唆された。

これまで、米の品種間の比較においては、生米成分から米飯の食味が予測されることが多かった。しかしながら、本研究で得られた知見より、米飯の糖量は生米成分の品種間差よりも炊飯方法によって大きく変化する事が明らかとなった。さらに、著者らがこれまで明らかにした^{6,7)}炊飯における成分変化のメカニズムが異なる品種の米にも適用可能であり、米の酵素特性および糊化特性が炊飯温度履歴による米飯成分の変化と対応していることが示された。このような炊飯に関する基礎的データは米飯成分の予測に広く応用可能であり、米の調理加工に関する有用な知見であると考えられる。

要 約

本研究では、コシヒカリ 90% 搗精米を用いてこれまでに著者らが明らかにした炊飯過程の成分変化の特徴、精白米の酵素特性と糊化特性および両者の関係性から説明された炊飯中の成分変化のメカニズムが、他の品種の搗精米についても適用できることを明らかにした。

- (1) 日本晴について、昇温速度が遅くなるほど、また、昇温期の 60℃ 15 分間保持によって、グルコースを主とした糖量が増加し、これらはコシヒカリと共通の現象であった。米飯中の総遊離アミノ酸には、炊飯温度履歴の違いによる明らかな量差はみられなかった。
- (2) 系統の異なる 5 品種 (コシヒカリ, 日本晴, 羽二重糯, 夢十色, ジャスミンライス) の標準炊飯米の糖量を比較したところ、炊飯過程においてデンプンの分解による還元糖の生成が起こること、中でもグルコースの生成が顕著に起こることが米共通の現象であることが示された。アミノ酸量は、炊飯過程における変化は品種によらず一様に少なく、生米に含まれる各アミノ酸が

米飯のアミノ酸量に反映することが示唆された。

- (3) 5 品種に含まれる加水分解酵素の温度特性は、総合的にはコシヒカリ精白米の酵素活性と類似であった。特に、可溶性デンプン、マルトース基質ではすべての品種で 60℃ での最大活性となった。また、5 種の米粉の糊化は 60-64℃ から開始し、広い品種の米で炊飯昇温期 60℃ 付近に糖類の分解が盛んになることが示唆された。プロテアーゼに関しては、その活性は糖加水分解酵素に比べると一様に低く、90% 搗精米の米飯中のアミノ酸量に関しては、糖の場合とは異なり、生米中のアミノ酸量および組成が大きく影響することが、酵素活性の面からも説明された。

文 献

- 1) 丸山悦子, 西千代子, 宮田康子, 梶田武俊 (1981) 炊飯に関する研究 (第 4 報) 炊飯中におけるアミラーゼ活性の挙動, 家政誌, **32**, 253-258
- 2) 丸山悦子, 東紀代香, 梶田武俊 (1983) 米飯の物理化学的特性と食味評価の関係, 家政誌, **34**, 819-825
- 3) 田島眞, 加藤万里子, 飯塚敏恵 (1994) 炊飯米に含まれるオリゴ糖, 日食工誌, **41**, 339-340
- 4) 松崎昭夫, 高野哲夫, 坂本晴一, 久保山勉 (1992) 食味と穀粒成分および炊飯米のアミノ酸との関係, 日作紀, **61**, 561-567
- 5) 香西みどり, 石黒恭子, 京田比奈子, 浜藺貴子, 畑江敬子, 島田淳子 (2000) 米の炊飯過程における還元糖および遊離アミノ酸量の変化, 家政誌, **51**, 579-585
- 6) Mabashi, Y., Ookura, T., Tominaga, N. and Kasai, M. (2009) Characterization of Endogenous Enzymes of Milled Rice and Its Application to Rice Cooking, *Food Res. Int.*, **42**, 157-164
- 7) 馬橋由佳, 大倉哲也, 香西みどり (2007) 炊飯の温度履歴が米飯の化学成分に及ぼす影響, 日調科誌, **40**, 323-328
- 8) 石谷孝佑編 (2002) 「米の事典—稲作からゲノムまで—」, 幸書房, 東京, pp. 1-15
- 9) 竹生新治郎監修, 石谷孝介, 大坪研一編集 (1995) 「米の科学」, 朝倉書店, 東京, pp. 83-86
- 10) 岩田博, 岩瀬新吾, 高浜圭誠, 松浦宏行, 猪谷富雄, 荒巻功 (2001) 米 α -グルコシダーゼ活性と理学的特性値との関係, 日食工誌, **48**, 482-490
- 11) Yamaguchi, J., Itoh, S., Saitoh, T., Ikeda, A., Tashiro, T. and Nagato, Y. (1999) Characterization of β -amylase and its Deficiency in Various Rice Cultivars, *Theor. Appl. Genet.*, **98**, 32-38
- 12) Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith F. (1956) Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356
- 13) Nelson, N. (1944) A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose, *J. Biol. Chem.*, **153**, 375-380
- 14) Somogyi, M. (1945) A New Reagent for the Determination of Sugars, *J. Biol. Chem.*, **160**, 61-68
- 15) Somogyi, M. (1952) Notes on Sugar Determination, *J. Biol. Chem.*, **195**, 19-23

(平成 21 年 10 月 26 日受付 平成 22 年 3 月 20 日受理)

和文抄録

米飯成分に及ぼす精白米内在性酵素の影響を5品種の米（コシヒカリ・日本晴・羽二重糯・夢十色・ジャスミンライス）で比較した。炊飯温度履歴が米飯成分に及ぼす影響を日本晴を試料米として調べたところ、先に示したコシヒカリと同様の挙動を示した。また、炊飯によってグルコースを主とした糖類が増加すること、一方でアミノ酸の変化は少ないことが5品種共通の現象として確認された。内在性の加水分解酵素の温度特性は、5品種で類似しており、糖基質の分解は60℃で最大となった。一方でプロテアーゼ活性はいずれも低かった。5品種の米粉の糊化は60-64℃で開始した。これらから、コシヒカリで示した炊飯過程における米飯成分変化のメカニズムは、他品種の米にも適用可能であることが示された。すなわち、内在性酵素によるグルコース生成においては60℃付近が重要であり、米飯の糖成分には炊飯方法が大きく影響することが明らかになった。