米 α -グルコシダーゼ活性の品種間差異と貯蔵中の変化

*岩田 博・磯谷敦子・宇都宮仁・†猪谷富雄

(独立行政法人酒類総合研究所, †広島県立大学生物資源学部, *現名古屋国税局課税第二部鑑定官室)

平成 17 年 4 月 28 日受理

Characteristics of rice α -glucosidase

Hiroshi IWATA, Atsuko ISOGAI, Hitoshi UTUNOMIYA and Tomio ITANI†

(National Research Institute of Brewing, 3-7-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-0046, Japan,

†School of Bioresources, Hiroshima Prefectural University, 562 Nanatsuka, Shobara 727-0023, Japan)

In our previous study, we showed that rice α -glucosidase is the key enzyme for nuka-sake brewing. To examine the characteristics of rice α -glucosidase, we first measured the activities of α -glucosidase and α -amylase in brewer's rice, common rice (nonglutinous), glutinous rice, and upland rice. Upland rice had the highest α -glucosidase activity among the four kinds of rice. We then examined the storage characteristics of rice α -glucosidase and α -amylase in a short-term storage test. At 30°C, ca 30% humidity, the α -glucosidase activity of brown rice was about 120% of that in the control, but at 15°C, 70% humidity it was 80%. These results suggest that rice α -glucosidase is more susceptible to the water content of rice than to temperature. We also measured the activities of α -glucosidase and α -amylase in rice stored for a long time. In rice stored for 16-21-years, the α -glucosidase activity was 35-69% of that in the control, while the α -amylase activity was only 6-13%.

Key words : α -グルコシダーゼ活性・貯蔵試験・水分含量

緒 言

米粒中には、 α -アミラーゼ¹⁾、 α -グルコシダーゼ²⁾、 β -アミラーゼ³⁾などの糖化関連酵素活性の存在することが知られている。このうち α -グルコシダーゼについては、一般米（シンセツ）から精製され、至適 pH 等の酵素化学的性質が検討された²⁾。筆者らは、清酒製造で副生される白糠の有効利用法として糠酒を開発した⁴⁾が、その糖化には白糠内に残存している米 α -グルコシダーゼが重要な働きをしていることを見出した⁵⁾。また、酒造好適山田錦の α -グルコシダーゼを精製し、一般米の α -グルコシダーゼと性質を比較するとともに、米 α -グルコシダーゼは仕込みに使用される乳酸により容易に米から溶出されること等を報告した⁶⁾。次いで清酒醸造の原料処理工程におい

ても米 α -グルコシダーゼが少量のグルコースを生成し、米粒組織にも何らかの影響を与えることを示した⁷⁾。さらに、米胚乳内糖化関連酵素活性と食味との関連についても検討し、 α -グルコシダーゼは食味と関連のある各種の理化学特性値と相関があること、赤米等の古いタイプの米では活性が低く、コシヒカリやあきたこまちのような現代の品種では活性が高いことを示した⁸⁾。

このように米 α -グルコシダーゼは、糠酒糖化の主要酵素であり、かつ米の種々の性質や働きに関係しているが、米の品種間差異や貯蔵特性等についてはあまり検討されていない。本報では、酒造好適米、一般米、糯米、陸稲など各種の米を試料として α -グルコシダーゼ活性を測定し、その違いについて検討した。さらに、150 日間の短期貯蔵試験を行った米及び当所長期

貯蔵米（16～21 年間）の α -グルコシダーゼ活性を測定することにより、 α -グルコシダーゼ活性の安定性についても検討した。また、同じ糖化関連酵素の α -アミラーゼを同時に測定することによって両酵素の違いについても検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

米の種類による糖化関連酵素(α -グルコシダーゼ及び α -アミラーゼ)活性の違いを検討するため、平成 15 年度に酒米研究会で分析した酒造好適米（19 点，Table 1 a，貯蔵温度 10°C）と一般米（7 点，Table 1 b，貯蔵温度 10°C），及び平成 14 年に広島県立大学の水田（広島県庄原市）で栽培された糯米（8 点，Table 1 c，貯蔵温度 5°C）と陸稲（5 点，糯品種含む，Table 1 d，貯蔵温度 5°C），合計 39 点（全て精米歩合 70%）を試料に用いた。また，短期貯蔵試験には，平成 15 年当所水田産の山田錦と日本晴の玄米と精白米を用いた。さらに，長期貯蔵による影響を検討するため，当所長期貯蔵米（玄米）の昭和 58 年産米（21 年貯蔵）から昭和 63 年産米（16 年貯蔵）の 6 点を試料とした。なお，長期貯蔵米の貯蔵条件の詳細は不明であるが，試験時は温度 20°C，湿度 36%の貯蔵室の 2 l 容ポリエチレン容器に収納されていた。

2. 短期貯蔵試験

糖化関連酵素の短期貯蔵による変化を調べるため米の貯蔵温度を 5，15，30°C の 3 区分とした試験を行った。5°C 区分は低温恒温室で行い，15°C 区分は低温恒温恒湿装置（㈱東洋製作所，THE101FA）を用いて食糧庁低温貯蔵庫と同条件の湿度 70%とした。30°C 区分は，恒温室（30°C，湿度未調整）で行ったが，試料採取時の湿度は毎回約 30%であった。試験方法は，山田錦の玄米，70%精白米，40%精白米及び日本晴の玄米，70%精白米，60%精白米，計 6 種類の米各 150 g を不織布和紙タイプ製容器（商品名ダスポン）に入れ静置することによった。なお，5°C 区分は，コントロールとするためチャック付ポリエチレン製の袋に各米試料を入れ保管することによった。試験は，平成 16 年 1 月 30 日から 6 月 30 日までの 150 日間行った。その間貯蔵後 0，30，60，90，150 日目に 10 g ずつサンプリングを行い，直ちに冷凍保存（-85°C）し，試験終了後にまとめて糖化関連酵素活性と水分の測定を

行った。なお，短期試験の酵素活性は水分の影響を除くため乾物重量当たりで示した。

3. 米胚乳内糖化関連酵素活性の測定

各試料をオートクラッシャー（サタケ，AC1A）で粉碎後，355 μ m の篩でふるったものを用いて酵素抽出を行った後，糖化関連酵素活性（ α -グルコシダーゼ及び α -アミラーゼ）を測定⁹⁾した。

4. 水分測定

国税庁所定分析法¹⁰⁾によった。

結果及び考察

1. 各種米の糖化関連酵素活性

各種米の糖化関連酵素活性の結果を Table 1 a～d に示した。 α -グルコシダーゼについて，酒造好適米は試料数が 19 点と最も多かったが，平均値 0.225，標準偏差が 0.033 でややバラツキが大きかった。一般米は平均値 0.261 と酒造好適米より活性がやや高く，標準偏差も 0.025 でバラツキも小さかった。最も活性の高かったのは陸稲で，平均値 0.346 と最低の活性であった糯米の平均値 0.211 の 1.6 倍の活性があり，最低値でも他の米の最大値に近かった。また，陸稲には，糯米のオワリハタモチと陸稲農林 12 号が含まれていたが，これらの α -グルコシダーゼ活性は 0.446，0.360 と高く，水稻の糯米とは傾向が異なっていた。 α -アミラーゼ活性についても平均値で比較すると，陸稲と糯米が高く，酒造好適米と一般米は低く， α -グルコシダーゼと傾向がやや異なっていた。

陸稲は， α -グルコシダーゼと α -アミラーゼの両活性が高く，平均値で酒造好適米のそれぞれ 1.5，1.7 倍であった。白糠の有効利用法として糠酒を開発したが，糠酒の糖化においては α -アミラーゼと α -グルコシダーゼが協調して反応を進行させるため，陸稲は糠酒の製造に適した米と推定された。また，陸稲で両糖化酵素活性が高かった理由として，陸稲は水稻と異なり厳しい乾燥条件の中で発芽，生育しなければならないことが考えられた。

2. 短期貯蔵試験

3 段階の貯蔵温度 5°C，15°C，30°C における α -グルコシダーゼ活性（乾物換算値）の変化を各々 Fig. 1 a～c に示した。5°C 区分では，貯蔵 60 日目まで活性変化はほとんどなかったが，日本晴は 90 日目で玄米，白米とも 0 日目の約 85%に，150 日目では玄米は 82

Table. 1 Enzyme Activities of Various Rice Strains

a) Rice for sake brewing

Variety	Prefecture	α -Glucosidase (u/g)	α -Amylase (u/g)
1 Daichinohoshi	Hokkaido	0.190	0.008
2 Dewasansan	Yamagata	0.206	0.006
3 Ginpu	Hokkaido	0.284	0.009
4 Gohyakumangoku-1	Hyogo	0.232	0.006
5 Gohyakumangoku-2	Ishikawa	0.225	0.006
6 Gohyakumangoku-3	Fukui	0.222	0.006
7 Gohyakumangoku-4	Fukui	0.236	0.006
8 Gohyakumangoku-5	Niigata	0.227	0.005
9 Hatsushizuku	Hokkaido	0.160	0.007
10 Hitogokochi	Tochigi	0.226	0.005
11 Hyougokitanishiki	Hyogo	0.269	0.006
12 Okuhomare-1	Fukui	0.233	0.008
13 Okuhomare-2	Fukui	0.201	0.005
14 Ooseto	Kagawa	0.210	0.007
15 Oyamanishiki	Toyama	0.171	0.006
16 Sounomai	Chiba	0.291	0.004
17 Toujinhana	Hyogo	0.236	0.005
18 Toujinoyme	Hyogo	0.221	0.006
19 Yamadanishiki	Hiroshima	0.233	0.006
Mean		0.225	0.0061
S. D.		0.033	0.0012

b) Common rice (nonglutinous)

Variety	Prefecture	α -Glucosidase (u/g)	α -Amylase (u/g)
1 Tentakaku	Toyama	0.289	0.006
2 Koshihikari	Chiba	0.261	0.005
3 Hatsuboshi	Chiba	0.251	0.007
4 Chiyonishiki	Ibaragi	0.298	0.006
5 Nipponbare-1	Shiga	0.255	0.007
6 Nipponbare-2	Hiroshima	0.227	0.007
7 Nipponbare-3	Ibaragi	0.246	0.008
Mean		0.261	0.0065
S. D.		0.025	0.0011

c) Glutinous rice

Variety	Prefecture	α -Glucosidase (u/g)	α -Amylase (u/g)
1 Tsukushiakamochi	Hiroshima	0.119	0.007
2 Shanghai-kouketsumochi	Hiroshima	0.155	0.012
3 Shinoharamochi	Hiroshima	0.191	0.011
4 Chinkomochi	Hiroshima	0.220	0.012
5 Hiemochi	Hiroshima	0.230	0.008
6 Shimizumochi	Hiroshima	0.243	0.014
7 Tanchoumochi	Hiroshima	0.262	0.006
8 IR 29	Hiroshima	0.267	0.005
Mean		0.211	0.0093
S. D.		0.052	0.0034

d) Upland rice

Variety	Prefecture	α -Glucosidase (u/g)	α -Amylase (u/g)
1 Hakamuri	Hiroshima	0.348	0.009
2 Takachiho	Hiroshima	0.291	0.008
3 Tamasari	Hiroshima	0.285	0.009
4 Rikutou-nourin 12	Hiroshima	0.360	0.011
5 Owarihatamochi	Hiroshima	0.446	0.014
Mean		0.346	0.0102
S. D.		0.065	0.0021

Fig. 1 α -Glucosidase activities during storage at three different temperatures

a) : Stored at 5°C, b) : Stored at 15°C, c) : Stored at 30°C

Symbols : ◆, Yamadanishiki (brown rice) ; ■, Yamadanishiki (70% polished) ; ▲, Yamadanishiki (40% polished) ; ◇, Nipponbare (brown rice) ; △, Nipponbare (70% polished) ; □, Nipponbare (60% polished)

%に、白米は84～89%に減少した。山田錦は、150日目の玄米で0日目の85%に減少したが、白米では90%以上の活性を保った。15°Cの区分では、貯蔵30日目から山田錦、日本晴の白米は急激に活性が低下し、0日目の71～80%となった。一方、玄米も低下したが87～91%と白米よりおだやかな減少であった。以後、150日目には、山田錦の白米は約68%、日本晴の白米は62%に、玄米は山田錦、日本晴とも80%程度に減少した。貯蔵温度が最も高い30°Cの区分では、山田錦、日本晴とも玄米は貯蔵60日目までに0日目の116～121%に上昇し、150日目でも106～108%の活性があった。白米では、玄米のような活性上昇は見られなかったが、150日目でも90%以上の活性があった。

α -アミラーゼ活性について、3種類の貯蔵温度5°C、15°C、30°Cにおける変化を各々Fig. 2 a～cに示した。 α -アミラーゼは、 α -グルコシダーゼとは異なり米の外層部に大部分の活性が存在する⁵⁾ので、活性の低い精白米の結果を省略し活性の高い玄米についての結果のみを検討した。5°C区分について、日本晴は150日目でも0日目の99%の活性があり、貯蔵期間中の活性はほぼ一定であった。山田錦についても150日目でやや活性の低下が見られたがこちらもほぼ一定と考えられた。15°C区分については、山田錦、日本晴とも60日目までやや活性が上昇し、90日目に0日目の90～94%に減少し、以後ほぼ一定であった。30°C区分について、山田錦は、60日目までは15°C区分と同様に活性がやや上昇し、90日目に97%に減少し、150日目で93%に低下した。日本晴は、貯蔵中わずかな減少し、150日目で0日目の84%になった。以上、3区分とも150日目の活性にあまり差はなかった。

今までの結果は、各試料の水分を測定し乾物換算で示したが、貯蔵中の酵素活性の変化は、各試料の水分に影響されることも推定された。そこで3段階の貯蔵温度5°C、15°C、30°Cにおける試料の水分変化を各々Fig. 3 a～cに示した。5°C区分では、貯蔵150日の間、各試料が元来持っていた水分をほぼ保持し、玄米約14%、白米約10～12%であった。15°C区分では、湿度を70%一定に調節したため、各試料とも30日目からほぼ14～15%となった。そのため水分の少なかった各精白米の水分は3～4%も上昇したが、玄米は貯蔵中ほとんど水分の変化はなかった。一方、30°C区

Fig. 2 α -Amylase activities during storage at three different temperatures
Symbols are the same as those in Fig. 1.

分は、湿度調整を行わなかったが湿度は約30%と低かった。その結果、全ての試料の水分が貯蔵中に減少し、150日目には約8%にまで低下した。特に、玄米試料は貯蔵により5%以上の水分低下があった。

α -グルコシダーゼについて、15°C区分が3区分の

中で最も活性低下が著しかった。この原因として、上記の試料水分の増加が考えられた。特に、水分増加の大きかった精白米において活性低下が顕著であった。また、5°C区分においても水分の高い玄米の活性低下が大きかった。一方、30°C区分は、15°C区分より高温貯蔵なため、当初、酵素へのダメージが大きいと推定したが、 α -グルコシダーゼにおいては逆であった。特に、水分低下の大きかった玄米試料で活性の増大があったのは予想と異なった。また、 α -アミラーゼについては α -グルコシダーゼほど水分増減の影響を受けなかった。以上から、 α -グルコシダーゼは α -アミラーゼと比較して、温度より米水分（湿度）の影響を受けやすいものと推定された。一般に、種子の貯蔵は水分を4～8%に保ち出来るだけ低温で貯蔵するのが良いとされており¹¹⁾、今回の結果から米水分を低下させることは α -グルコシダーゼ活性維持のためにも重要であると考えられた。さらに、15°C区分は米の品質劣化を抑制する目的で定められた食糧庁の米低温貯蔵庫の条件と同一であるが、 α -グルコシダーゼ安定性の観点からは好ましい条件とは言えないことが分かった。なお、 α -グルコシダーゼ、 α -アミラーゼとも貯蔵中に酵素活性の増大が見られたが、このような現象はプロテアーゼ、フィターゼ、ホスファターゼ等でも知られている¹²⁾。これは、米が一時的に発芽に近い状態となり酵素活性の増大、又は誘導等がもたらされた結果と推定されたが詳細については不明である。

3. 長期貯蔵米の糖化関連酵素活性

当所長期貯蔵米(玄米)の α -グルコシダーゼと α -アミラーゼ活性をFig. 4に示した。これらの試料は、低温室でプラスチック製容器に保管されていたもので、貯蔵当初の酵素活性は不明である。そのため、グラフでは、各試料の酵素活性を平成15年当所産日本晴(玄米)の酵素活性との相対値(%)で表した。グラフから明らかなように、 α -グルコシダーゼ活性は、16年～21年貯蔵した試料でも対照の35～69%の活性があったが、 α -アミラーゼ活性は6～13%程度しかなく両者の差は顕著であった。この原因として、両酵素の存在部位が全く異なり、 α -グルコシダーゼは米内部ほど活性が高いのに対し α -アミラーゼは米外層部の活性の高いことが考えられた。米は、貯蔵中に昆虫やカビなどの微生物による被害を受けやすい¹³⁾が、これは、外層部ほどその影響が大きいと考えられるか

Fig. 3 Water content during storage at three different temperatures
Symbols are the same as those in Fig. 1.

らである。もう一つの理由として、 α -グルコシダーゼの方が α -アミラーゼより本質的に貯蔵安定性の高いことも推定されるが、今回の短期貯蔵試験の条件と長期貯蔵米の貯蔵条件が異なり明確ではない。今後、さらに種々条件下での米長期貯蔵試験を行いこの点を明らかにしていく予定である。今回の結果から、 α -グルコシダーゼは20年以上貯蔵してもその活性をかなり保持していることが分かったが、この性質は α -グルコシダーゼの米生育における生理的役割を考える上でも、またこの酵素を利用する場合においても興味あるものと思われた。

最後に、貴重な試料を提供いただいた酒米研究会に深謝します。

要 約

1 各種米の α -グルコシダーゼ活性は、平均値で陸稲0.346、一般米0.261、酒造好適米0.225、糯米0.211の順であった。陸稲は、最低値でも他の米の最大値に近く特に活性が高かった。 α -アミラーゼ活性は、陸稲と糯米が高く、酒造好適米と一般米は低かった。

2 短期貯蔵試験の結果、 α -グルコシダーゼ活性は、

Fig. 4 Relative activities of α -glucosidase and α -amylase in rice stored for a long time. Each relative activity was calculated by the activity of Nipponbare (2004) as a control.

5℃区分で、対照0日目の値に対し150日目で玄米82～85%、白米84～96%に減少した。15℃区分（湿度70%）では、同様に白米62～68%、玄米80%に減少した。30℃区分（湿度約30%）の玄米では、貯蔵中に活性の増加（116～121%）が見られ、150日目でも106～108%の活性があった。白米では、150日目でも90%以上の活性があった。一方、 α -アミラーゼ活性は、3区分での差が少なく、150日目の活性が対照0日目の約90%であった。貯蔵中の米水分は、5℃区分で玄米14%、白米10～12%とほぼ一定であり、15℃区分の白米は約3～4%上昇し、玄米はほとんど変化がなかった。また、30℃区分の試料水分は全て150日目までに約8%に低下した。以上から、 α -グルコシダーゼは、 α -アミラーゼと比較して温度より米水分（湿度）の影響を受けやすいものと推定された。

3 長期貯蔵米の α -グルコシダーゼ活性は16年～21年間貯蔵した米試料で平成15年産日本晴の35～69%であったが、 α -アミラーゼ活性は6～13%と低かった。

文 献

- 1) L. C. Baun, E. P. Palmiano, C. M. Peret, and B. O. Juliano : *Plant Physiol.*, **46**, 429-434 (1970)
- 2) N. Takahashi, T. Shimomura, and S. Chiba : *Agric. Biol. Chem.*, **35**(13), 2015-2024 (1971)
- 3) R. Shinke, K. Maegawa, T. Yamaguchi, and H. Nishira : *Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ.*, **13**, 135-140 (1978)
- 4) 岩田 博, 長野哲也, 塩川和宏, 鈴木昭紀 : 醸協, **93**, 139-147 (1998)
- 5) H. Iwata, T. Suzuki, K. Takahashi, and I. Aramaki : *J. Biosci. Bioeng.*, **93**, 296-302 (2002)
- 6) H. Iwata, T. Suzuki, K. Takahashi, and I. Aramaki : *J. Biosci. Bioeng.*, **95**, 106-108 (2003)
- 7) 岩田 博, 磯谷敦子, 宇都宮 仁, 西尾尚道 : 醸協, **99**, 467-473 (2004)
- 8) 岩田 博, 岩瀬新吾, 高浜圭誠, 松浦宏行, 猪

- 谷富雄，荒巻 功：日本食品科学工学会誌，
48, 482-490 (2001)
- 9) 岩田 博，磯谷敦子，宇都宮 仁，猪谷富雄，
西尾尚道：農化，77, 1130-1136 (2003)
- 10) 注解編集委員会編：第四回改正国税庁所定分析
法注解，p 150 (1993)
- 11) 農学大事典編集委員会編：農学大事典（第2次増
補改定版），養賢堂，p 1259 (1987)
- 12) 中村俊一郎：農林種子学総論，養賢堂，
p 217 (1985)
- 13) 石谷孝佑，大坪研一編：米の科学，朝倉書店，
p 104 (1995)
-