酒造原料米のプロテインボディーの品種間差

木崎 康造・小原 昭*・逸見 彰則**

荒巻 功・小林 信也***・岡崎 直人

(国税庁醸造試験所)

平成4年11月15日受理

Difference in Protein Body Components among Rice Cultivars used for Sake Brewing

Yasuzo KIZAKI, Akira OHARA, Akinori HENMI, Isao ARAMAKI,
Shin-ya KOBAYASHI and Naoto OKAZAKI

(National Research Institute of Brewing, 2-6-30
Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114, Japan)

Contents of protein bodies (PB-I and PB-II) in polished rice (polishing ratio 70%) of various cultivars were determined by densitometry after sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Populations of PB-I and PB-II in total protein of polished rice were 23.6% and 61.7%, respectively, on the average of 120 samples (25 cultivars), and the ratio of PB-II/PB-I was 2.67. Suitable cultivars for sake brewing had a tendency to contain smaller amount of PB-I and to have higher ratio of PB-II/PB-I than ordinary commercial rice except *Omachi*. *Gohyakumangoku* from Ishikawa, Fukui, and Toyama Prefectures was similar in PB population as compared with the same cultivars from other districts in cluster analysis. *Akebono* and *Omachi* contained large amount of PB-I and were low in the ratio PB-II/PB-I. A specific protein band was recognized in SDS-PAGE of *Koganemasari*. Therefore, it is possible to distinguish it from other 24 cultivars.

Key words: 原料米・プロテインボディー・醸造適性・酒造原料米

緒 言

酒造用原料米中のタンパク質は、その約 90% が貯蔵タンパク質顆粒 (Protein Body, 以下 PB と略) として米粒中に存在し²⁾、また、白米中には PB-I と PB-II の 2 種類³⁾があることが知られている。著者らは、酒造原料米中の PB を sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis (以下 SDS-PAGE) により分離・定量する方法を確立し、PB-I と PB-II の含有量、精歩合別の存在比等について報告した¹⁾。

今回は、酒造原料米 120 点を集め、PB 含量の品種間差異等について検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 分析試料

平成2年産の玄米 120 点 (内好適米 10 品種 53 点、一般米 15 品種 67 点) を使用した (Table 1)。試料は全国国税局鑑定官室の協力を得て同一品種を同一県で 5 点程度となるように集めた。精米は小型堅型精米試験機⁴⁾ ((株) チョダエンジニアリング製) により、回転数 1,600 rpm で 3 分、以後 1,100 rpm で精米歩合 70% まで行った。玄米の精米特性を把握するため、玄米千粒重、玄米整粒率、白米の真精米歩合、白米の碎米率を求めた。また、白米タンパク質量はバイブレーティングサンプルミル (平工製) で粉碎した白米を 0.1 N NaOH に溶解後 Lowry 法⁵⁾により求めた。

2. PB-I と PB-II の定量

既報¹⁾に従い、SDS-PAGE は粉碎白米 20 mg に SDS, 2-メルカプトエタノールを含む緩衝液を 0.5 ml

* 現在 醇鯨酒造(株) ** 現在 (株)若狭富士

*** 現在 熊本国税局課税部

加え、60°C、2時間処理してタンパク質画分を抽出し、遠心分離した上澄を試料とし、その10 μ lについて、10~20%のポリアクリルアミドリアグラジェントゲル（第一化学薬品（株）製）を用いて行った。さらに、PB-IとPB-IIの定量はデンスitomーター（島津製作所（株）製CS-910）を用い、標準タンパク質Carbonic Anhydrase（シグマ社製）との面積比により求め、全タンパク質量に占める割合を計算した。

3. 解析

酒造原料米中のPB-IとPB-IIデータをもとに、平

均値の差の検定、母平均の95%信頼区間、クラスター分析⁶⁾をパーソナルコンピューター（日本電気（株）PC-9801）を用いて行った。

実験結果及び考察

1. 玄米及び白米の性状

試料120点全体及び点数が4点以上の品種ごとの玄米及び白米の性状をTable 2に示した。試料玄米の整粒率は全体で平均94%と農産物規格規程⁷⁾の醸造用玄米特上の規格を有していた。また、白米の精米歩合は70%を目標としたが、全試料の平均で真精米歩合71.3%、標準偏差1.24と各白米はほぼ同等の精白に仕上がっているものと考えられた。精米時の砕け易さの指標である碎米率は、この精米条件ではFig. 1に示したように、おくほまれ、トドロキワセ、松山三井が低く、日本晴、ツクシホマレが高かったが、好適米と一般米間に差は見られなかった。各品種ごとの変動係数も高いことから、品種間差とともに、産地、気候、栽培条件等による影響も強いと考えられた。白米中のタンパク質量（Lowry法）は、Fig. 2に示したとおり一般米は好適米に比べて多いものがありバラツキが大きかった。

2. 酒造原料米中のPB-I及びPB-IIの含有割合

平成2年度産酒造原料米25品種120点の全タンパク質量に占めるPB-IとPB-IIの割合等を好適米と一般米別にTable 3に示した。SDS-PAGEによるPBの定量は、既報⁷⁾で報告したように、プロラミンバンド（M. W. 10-16 KDa）をPB-I、グルテリンの酸性サブユニットバンド（M. W. 37-39 KDa）をPB-II（a）、グルテリンの塩基性サブユニットバンド（M. W. 22-23

Table 1 Sample number (25 cultivars) of raw rice used in this study.

Cultivars of rice A	Sample number	Cultivars of rice B	Sample number
<i>Yamadanishiki</i>	2	<i>Yukihikari</i>	4
<i>Gohyakumangoku</i>	29	<i>Kirara 397</i>	2
<i>Miyamanishiki</i>	5	<i>Niigatawase</i>	1
<i>Hyogokitanishiki</i>	1	<i>Niigataakihikari</i>	1
<i>Wakamizu</i>	1	<i>Todorokiwase</i>	4
<i>Hidahomare</i>	1	<i>Hatsuboshi</i>	2
<i>Okuhomare</i>	5	<i>Nipponbare</i>	13
<i>Tamazakae</i>	1	<i>Koganebare</i>	4
<i>Hattannishiki</i>	5	<i>Nakateshinsenbon</i>	7
<i>Omachi</i>	3	<i>Akebono</i>	4
		<i>Koganemasari</i>	7
		<i>Matsuyamamii</i>	5
		<i>Akitsuho</i>	3
		<i>Tsukushihomare</i>	8
		<i>Minaminishiki</i>	2

Group A was suitable rice for sake brewing and B was ordinary commercial rice.

Table 2 Property of various cultivars rice.

Cultivars of rice	Sample number	Raw rice				Polished rice							
		1,000 grains weight (g)		Normal grain ratio (%)		Polishing ratio (%)		True polishing ratio (%)		Cracking ratio (%)		Protein content mg/g rice	
		Ave.	S. D.	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.
<i>Gohyakumangoku</i>	29	25.8	0.68	94.5	1.47	70.0	1.05	71.3	1.50	17.3	10.89	52.5	2.86
<i>Miyamanishiki</i>	5	24.9	0.61	94.2	1.33	70.3	0.39	71.4	0.75	14.1	7.93	50.7	2.08
<i>Okuhomare</i>	5	29.6	0.31	93.1	0.75	69.9	1.01	71.3	1.32	10.2	2.29	51.2	0.97
<i>Hattannishiki</i>	5	27.2	0.58	96.6	1.60	70.5	0.40	72.6	0.94	19.1	6.79	49.8	1.70
<i>Yukihikari</i>	4	21.2	1.25	95.1	2.61	70.7	0.20	71.1	0.39	16.2	8.00	55.6	3.54
<i>Todorokiwase</i>	4	21.9	0.41	93.8	1.49	70.4	0.15	70.8	0.43	11.4	3.58	45.9	2.44
<i>Nipponbare</i>	13	22.6	0.75	93.9	2.75	70.2	0.78	70.9	0.92	35.0	19.05	53.8	3.93
<i>Nakateshinsenbon</i>	7	22.9	0.55	93.5	3.09	70.3	1.04	71.2	1.23	21.4	13.69	46.7	2.30
<i>Koganemasari</i>	7	20.6	0.99	94.2	1.62	70.9	0.37	71.2	0.81	10.3	10.77	61.1	4.10
<i>Matsuyamamii</i>	5	24.3	0.47	89.8	2.49	70.6	0.44	72.3	1.08	14.9	5.55	56.6	2.40
<i>Tsukushihomare</i>	8	22.2	0.68	95.1	1.32	70.1	0.20	71.3	0.70	25.4	12.71	61.5	2.73
Total	120	24.2	2.50	94.1	2.38	70.2	0.81	71.3	1.24	19.1	13.60	53.2	4.93

Ave. and S. D. were described in Fig. 1.

Cultivars of rice	Sample number	Cracking ratio (%) of polished rice			95% confidence level of population average
		Ave.	S.D.	C.V.	
<i>Gohyakumangoku</i>	29	17.3	10.89	62.9	
<i>Miyamanishiki</i>	5	14.1	7.93	56.2	
<i>Okuhomare</i>	5	10.2	2.29	22.5	
<i>Hattannishiki</i>	5	19.1	6.79	35.5	
<i>Yukihikari</i>	4	16.2	8.00	49.4	
<i>Todorokiwase</i>	4	11.4	3.58	31.4	
<i>Nipponbare</i>	13	35.0	19.05	54.4	
<i>Nakateshinsenbon</i>	7	21.4	13.69	64.0	
<i>Koganemasari</i>	7	10.3	10.77	104.7	
<i>Matsuyamamii</i>	5	14.9	5.55	37.2	
<i>Tsukushihomare</i>	8	25.4	12.71	50.0	
Total	120	19.1	13.60	71.2	

Fig. 1 Comparison of cracking ratio (%) in cultivars of rice.

Ave.: Average, S.D.: Standard deviation, C.V.: Coefficient of variation, 95% confidence level of population average was calculated by $\text{Ave.} \pm t(n-1, 0.05) \times \sqrt{\text{population variance}/n}$.

Fig. 2 Distribution of protein contents among rice cultivars tested by Lowry method.
 □ : A, ■ : B. Group A and B were described in Table 1.

KDa) を PB-II (b) とし, PB-II (a) と PB-II (b) の和を PB-II として求めた。

PB-I は米タンパク質中の比率としてジャポニカ種で約 20%, インデカ種で 30% に達するものがある⁸⁾と言われているが, 今回の分析試料では平均で 23.6% であった。PB-II は清酒醪中で麴酵素により分解される⁹⁾ことが知られているが, その比率は全試料の平均で 61.7% であった。PB-I と PB-II の合計は 85.3% であり, 米貯蔵タンパク質はその約 90% が PB に存在するとの値とはほぼ一致した。

PB-II(a)/PB-II(b) は, グルテリンの酸性及び塩基性サブユニットが 1:1 で結合していることからほぼ 1 になると考えられるが, 好適米で 0.990, 一般米では

Table 3 Composition of PB-I and PB-II in polished rice between group A and B.

Sample	A		B		T	Total	
	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.		Ave.	S. D.
Number	53		67			120	
PB-II (%)	62.06	4.04	61.42	2.63	—	61.70	3.34
PB-II (a) (%)	30.82	2.20	29.82	1.46	**	30.26	1.89
PB-II (b) (%)	31.24	2.45	31.60	1.75	—	31.44	2.10
PB-I (%)	21.68	3.19	25.04	2.59	**	23.56	3.32
Others (%)	16.26	5.50	13.54	3.62	**	14.74	4.75
Total (%)	100.00		100.00			100.00	
PB-II (a)/PB-II (b)	0.990	0.078	0.945	0.056	**	0.965	0.070
PB-II/PB-I	2.912	0.388	2.478	0.270	**	2.670	0.392

Group A and B were described in Table 1. Ave. and S.D. were described in Fig.1. T means *t*-test (Welch method), $t(118, 0.05)=1.99(*)$ or $t(118, 0.01)=2.64(**)<t_0$: significant. PB-II (a) and PB-II (b) were each subunit proteins of glutelin in SDS-PAGE and its values were details of PB-II (%).

0.945 と一般米の方がやや小さかった。また、PB-I と PB-II の存在比は 1:2.67 で、既報¹⁾と比べてやや高くなった。

Fig. 3 Distribution of PB-II/PB-I.
Group A and B were described in Table 1.

好適米と一般米の差を平均値の差の検定 (T-検定) で見ると、PB-II の割合は両者に差がなかったが、PB-I に関しては 1% の危険率で酒造好適米の方が少なく、その他タンパク質では 1% の危険率で好適米が多かった。

そのため、Fig. 3 に示したように PB-I と PB-II の比 (PB-II/PB-I) は、好適米で高い値を、一般米では低い値の分布を示した。

3. PB-I 及び PB-II の品種間差

酒造原料米の PB-I 及び PB-II の品種間差を、県単位で試料数が 1 品種 3 点以上ある 14 品種 20 区分について比較した。

Table 4 に PB-I, PB-II, その他タンパク質の全タンパク質に占める比率, PB-II(a)/PB-II(b) 及び PB-II/PB-I の平均値と標準偏差を示した。

好適米品種の一般米品種と比べて雄町を除き PB-I の割合が低く、PB-II/PB-I が高い傾向にあった。PB-II の割合については、好適米品種と一般米品種間に一定の傾向は見いだせなかった。PB-II(a)/PB-II(b) は、雄町、アケボノ、ツクシホマレが低い値を示した。一般米のアケボノ (岡山) は PB-I の割合が高く、PB-II/PB-I が低い傾向にあり、好適米の雄町と類似していた。

14 品種 20 区分の PB-I, PB-II の割合, PB-II(a)/PB-II(b) 及び PB-II/PB-I の 4 変量 (各区分の平均値

Table 4 Comparison of PB-I, PB-II in polished rice of each rice cultivars (polishing ratio 70%).

Cultivars of rice	Sample number	Composition (Total 100%)						PB-II (a)/PB-II (b)		PB-II/PB-I	
		PB-II (%)		PB-I (%)		Other (%)		Ave.	S. D.	Ave.	S. D.
		Ave.	S. D.	Ave.	S. D.	Ave.	S. D.				
Gohyakumangoku (Niigata)	3	65.11	0.97	21.81	1.09	13.08	1.07	0.980	0.019	2.994	0.171
Gohyakumangoku (Kyoto)	4	66.47	3.17	20.25	1.29	13.28	1.89	0.950	0.035	3.308	0.391
Gohyakumangoku (Ishikawa)	5	61.12	2.33	19.18	0.89	19.70	1.87	1.058	0.080	3.197	0.248
Gohyakumangoku (Fukui)	5	59.52	3.77	20.14	1.50	20.34	4.74	0.982	0.029	2.964	0.184
Gohyakumangoku (Toyama)	6	60.99	1.86	19.57	0.69	19.44	2.38	1.088	0.074	3.118	0.084
Gohyakumangoku (Shimane)	5	66.79	1.97	22.61	1.93	10.60	1.27	0.964	0.049	2.982	0.331
Miyamanishiki (Nagano)	4	63.59	0.45	23.08	0.34	13.32	0.60	0.965	0.042	2.756	0.043
Okuhomare (Fukui)	5	60.24	1.95	19.50	1.77	20.26	2.59	0.991	0.058	3.098	0.188
Hattaunishiki (Hiroshima)	5	55.04	1.17	21.15	1.85	23.81	2.20	0.968	0.052	2.622	0.231
Omachi (Okayama)	3	60.94	0.63	31.24	0.33	7.82	0.69	0.882	0.006	1.951	0.030
Yukihikari (Hokkaido)	4	59.82	0.95	24.89	1.17	15.29	1.44	0.954	0.012	2.408	0.109
Todorokiware (Nagano)	3	61.79	2.01	22.74	0.77	15.46	2.69	0.983	0.018	2.717	0.051
Nipponbare (Kyoto)	4	65.28	1.32	25.79	1.36	8.92	1.20	0.942	0.033	2.539	0.163
Nipponbare (Shiga)	4	61.55	2.67	24.90	1.24	13.55	2.62	0.994	0.057	2.479	0.178
Nakateshinsenbon (Hiroshima)	5	56.95	1.34	22.25	0.43	20.80	1.52	0.962	0.010	2.560	0.065
Akebono (Okayama)	4	61.58	1.02	30.51	1.02	7.92	0.61	0.902	0.016	2.022	0.098
Koganemasari (Kagawa)	6	62.02	1.07	22.57	1.36	15.42	1.29	0.965	0.058	2.759	0.182
Matsuyamamii (Ehime)	5	59.50	0.49	27.57	0.98	12.94	1.09	0.947	0.014	2.161	0.076
Akitsuho (Kochi)	3	61.39	0.85	26.35	0.80	12.26	0.46	0.961	0.033	2.332	0.097
Tsukushihomare (Fukuoka)	8	61.52	1.46	26.86	1.04	11.62	1.35	0.887	0.031	2.295	0.123

Ave. and S. D. were described in Fig.1.

をデータとした)をもとに、クラスター分析(マハラノビスの距離を非類似度とする最長距離法)を行い、Fig. 4 のデンドログラムを得た。その結果、五百万石は県別

Fig. 4 Dendrogram of various rice cultivars. This dendrogram was culcured for relationships among rice varieties by the cluster analysis (further neighbor method) using PB-I, PB-III, PB-II (a)/PB-II (b) and PB-II/PB-I.

Each numbers of figure were following, 1: *Gohyakumangoku* (Niigata), 2: *Gohyakumangoku* (Kyoto), 3: *Gohyakumangoku* (Ishikawa), 4: *Gohyakumangoku* (Fukui), 5: *Gohyakumangoku* (Toyama), 6: *Gohyakumangoku* (Shimane), 7: *Miyamanishiki* (Nagano), 8: *Okuhomare* (Fukui), 9: *Hattannishiki* (Hiroshima), 10: *Omachi* (Okayama), 11: *Yukihikari* (Hokkaido), 12: *Todorokiware* (Nagano), 13: *Nipponbare* (Kyoto), 14: *Nipponbare* (Shiga), 15: *Nakateshinsenbon* (Hiroshima), 16: *Akebono* (Okayama), 17: *Koganemasari* (Kagawa), 18: *Matsuyamamii* (Ehime), 19: *Akitsuho* (Kochi), 20: *Tsukushihomare* (Fukuoka).

Fig. 5 Distribution of rice cultivars (polishing ratio 70%) plotted with protein contents of Lowry method and PB-II/PB-I.

Group of *Gohyakumangoku* (○) were No.1, 2, 3, 4, 5 and 6. Each numbers of figure were discribed in Fig.4.

に見ると、新潟、島根、京都が1つのクラスターを、石川、富山、福井の3県は別のクラスターで、大きく北陸3県とそれ以外にわけられる傾向であった。距離3で分けた場合、5つのグループ、すなわち、新潟、島根、京都の五百万石グループ、美山錦、トドロキワセ、コガネマサリ、日本晴(滋賀、京都)、ユキヒカリ、アキツホ、松山三井グループ、雄町、アケボノ、ツクシホマレグループ、石川、富山の五百万石グループ、福井の五百万石、オクホマレ、八反錦、中生新千本グループに分けられた。

また、白米中の Lowry 法によるタンパク質量と PB-II/PB-I の値をもとに 14 品種 20 区分を 2 次元プロット (Fig. 5) すると、五百万石はタンパク質量は平均的で PB-II/PB-I が高いひとつのグループにまとまっていた。雄町、アケボノはタンパク質量は平均的で PB-

Fig. 6 Family tree of *Koganemasari* cultivars

Fig. 7 Specific protein band (→) in *Koganemasari* appeared in SDS-PAGE.

Lane 1, 12, Maker (Carbonic Anhydrase 29 KEa); lane 2, *Koganemasari*; lane 3, *Nipponbare*; lane 4, *Koganenishiki*; lane 5, *Shuhou*; lane 6, *Nourin 22*; lane 6, *Nourin 6*; lane 8, *Futaba*; lane 9, *Nourin 84*; lane 10, *Jyoshu*; lane 11, *Senichi*.

II/PB-I が低いグループ、トドロキワセ、中生新千本はタンパク質量が少なく、PB-II/PB-I が平均的なグループに位置づけられた。

4. コガネマサリの特異タンパク質

酒造用原料米 25 品種の SDS-PAGE から、コガネマサリには他の品種にない特徴的なタンパク質バンドが見いだされた。このバンドは既報¹⁾のデンスシトグラムのピーク No. ⑧ である。

コガネマサリの系統 (Line) は Fig. 6 に示したように日本晴を母、黄金錦を父としており、日本晴にはこのバンドが見られなかったことから、このバンドの由来を求めるため黄金錦系統の品種について SDS-PAGE を行った。

しかし、Fig. 7 に示すようにいずれの品種からもバンドが検出されず、表現形質として遺伝したタンパク質ではないと考えられた。このタンパク質は、SDS-PAGE による定量で、全タンパク質の 1.1% (コガネマサリ 7 点の平均) を占めており、また、分子量は約 5 万程度と推定された。これらの結果から、コガネマサリについてはタンパク質の SDS-PAGE によって品種判定ができると考えられた。

要 約

1) 平成 2 年度産酒造原料米 25 品種 120 点を精米歩合 70% まで精米後、SDS-PAGE 及びデンスシトメーターを用い PB-I, PB-II を定量し、原料米タンパクの品種間差を検討した。全タンパク量に占める PB-I, PB-II の割合は、平均でそれぞれ 23.6% と 61.7% であり、PB-I と PB-II の比は、約 1:2.67 であった。

2) 県別に試料数が多い品種を比較すると、好適米品種は雄町を除き PB-I の割合が低く、PB-II/PB-I が高い傾向にあった。五百万石を県別に見ると、石川、福井、富山の 3 県がクラスター分析による類似度が高かった。一般米では、アケボノ (岡山) が PB-I 割合が高く、PB-II/PB-I が低い傾向にあり、雄町と似ていた。

3) 25 品種の内、コガネマサリには他の品種に見られないタンパクバンドが確認された。

最後に、貴重な試料をいただきました全国国税局鑑定官室の方々に深謝いたしますとともに、コガネマサリの親系統の品種を分譲いただきました農林水産省農業生物資源研究所にお礼申し上げます。

文 献

- 1) 木崎康造, 井上康裕, 岡崎直人, 小林信也: 醸協, 86, (4) 293 (1991)
- 2) M. OGAWA, T. TANAKA, H. SATOH, N. IWATA, T. OMURA, Z. KASAI, K. TANAKA: *Plant Cell Physiol.*, 28, 1517 (1978)
- 3) K. TANAKA, T. SUGIMOTO, M. OGAWA, Z. KASAI: *Agric. Biol. Chem.*, 44, 1633 (1980)
- 4) 第 16 回酒米懇談会講演要旨集, p. 1 (1992)
- 5) O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, R. J. RANDALL: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 6) 田中 豊, 垂水共之, 脇本和昌編: パソコン統計解析ハンドブック II, p. 226 (1984)
- 7) 農産物検査法 (昭和 26 年 5 月 25 日施行) 農産物規格規程 (平成 2 年 5 月 15 日告示 632 号)
- 8) 田中國介, 増村威宏: 化学と生物, 26, 543 (1988)
- 9) 1990 年度日本農芸化学大会講演要旨集, p. 431 (1990)