

# 米穀類の貯蔵による成分変化

## I. 貯蔵中における酵素活性の消長

青木みか・谷由美子

### Degeneration of the preserved rice.

#### I. Enzyme activity in the rice during the storage.

Mika AOKI and Yumiko TANI

### 緒 言

余剰米が増加し、休耕田の存在するわが国において貯蔵米の風味劣化は食品栄養学上また食糧政策上考慮されるべき問題であり、貯蔵米における成分変化ならびにその抑制法については若干の研究報告<sup>1)2)</sup>があるがまだ解明されていない点が多い。

一般に食品成分は付着した微生物による分解を除けば食品本来の酵素によって自己分解を生起して変性する場合が多いが酵素もまた貯蔵によって失活するためその活性度を測定して米の鮮度検定の指標にすることもできる。今回は玄米に含まれる主な酵素について貯蔵期間中における活性度の変化をしらべるとともに鮮度検定を行う場合の適切な酵素を検索することを目的として本実験を行った。

### 実 験 方 法

#### I. 酵素活性の測定

1967～1970年度産の玄米数種を試料としてそれに含有されるカタラーゼ、パーオキシダーゼ、アミラーゼ、トランスアミナーゼの活性を測定しさらにこれら玄米を室温または30℃の恒温器に16カ月貯蔵しその間1カ月毎にこれら酵素活性の消長を測定した。

##### 1) 試 料

供試玄米として下記の6種類のものを使用した。

表1. 供 試 玄 米

品 種	略 号	産 地	収獲年度	入手年月	実 験 期 間
金 南 風	(KM)	愛知農業試験場	1967	1969.7	1969.10～1971.1
ナギサ	(N)	三重 県	1967	1969.7	同 上
フジミノリ	(F)	新 潟 県	1968	1969.10	同 上
キンハリ	(KN)	滋 賀 県	1969	1969.10	同 上
コシホマレ	(KH)	新 潟 県	1970	1970.9	1970.10～1971.4
ハウネンワセ	(H)	富 山 県	1970	1970.9	同 上

##### 2) パーオキシダーゼの測定

###### i) 酵素剤の調整

洗淨した玄米 5.0g に水 20ml 加えて 20 分放置し海砂 1.0g を加えて 5 分間乳棒で十分磨砕したものを 50 ml に定容し、遠心分離後の上層を粗酵素剤とした。この場合遠心分離の回転数を 3,000 r.p.m. と 4,000 r.p.m., 回転分離時間を 5 分, 10 分, 15 分と変えて最も活性度の高い条件を選択したところ表 2 のとおり 4,000 r.p.m., 10 分となり, またパーオキシダーゼ, カタラーゼの構成成分である鉄の含有量を原子吸光分析<sup>6), 7)</sup>による標準添加法で定量した結果表 3 のとおり 4,000 r.p.m. の上層部に鉄の存在を確認したため以後の実験においては, 酵素液調整時の遠心分離条件を 4,000r.p.m., 10 分間と設定した。

表2. 遠心分離条件と酵素活性の関係

回 転 数 (r. p. m.)	3000			4000		
回転時間 (分)	5	10	15	5	10	15
酵素活性度 *	103	104	100	138	139	107

表3. 遠心分離上清の鉄含有量

遠 心 分 離 条 件	1000r. p. m., 10分	4000r. p. m., 10分
鉄 含 有 量 (p. p. m.)	4.34	4.94

\* 3000r.p.m. 15分. 回転の場合の酵素活性を 100 とした比率

## ii) 酵素活性の測定法

パーオキシダーゼ活性は J. L. Velter<sup>8)</sup> の O-フェニルジアミンに法よって比色定量した。すなわち 目盛付試験管に酵素液 5. ml, pH 6.8, M/15 磷酸緩衝液 2.0ml, 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1.0 ml, 1% O-フェニルジアミン水溶液 0.05ml 加えて混合し, 25 °C の湯浴中で 30 分間作用させ飽和 NaHSO<sub>3</sub> 1.0 ml 加えて反応を中止させた。これに 95% メチルアルコール 5 ml 加え 3000 r.p.m. 10 分間遠心分離を行い, 新玄米の場合は 10 倍に稀釈した後 430m $\mu$  における吸光度を測定した。作用時間零の空実験と本実験との差を求め玄米 1.0g 当たりの吸光度に換算して酵素活性を表示した。

## 3) カタラーゼ活性の測定

カタラーゼ活性は KMnO<sub>4</sub> 滴定法<sup>9)</sup>で測定した。すなわち 100 ml 容三角フラスコに pH 6.8 M/15 磷酸緩衝液 35ml, M/10 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5.0ml, 水 9.0ml を入れ 0°C に冷却して酵素液 2.0ml 添加した。この時を反応開始時とし 3 分, 6 分, 9 分経過後に各反応液 5.0ml を 2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5.0ml 中に入れ酵素作用を止めた後, 0.005N の KMnO<sub>4</sub> で残存基質を滴定し, 基質分解曲線を描き次式より反応速度恒数を求めて酵素活性を表示した。

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{A}{A-x}$$

K : 反応速度恒数

t : 反応時間 (分)

A : 反応開始時基質濃度

A - x : t 分後の基質濃度

## 4) $\beta$ -アミラーゼ活性の測定

目盛付試験管に 2% 局方ジャガイモデンプン溶液 2.0ml, pH 6.8, M/15 磷酸緩衝液 1.0ml,

酵素液 2.0ml 入れ, 37°Cの恒温槽で2時間振盪培養を行った後, 2 Nの HCl 0.5ml 加えて反応を停止させ10ml に定容した後, 1.0ml中の還元糖を Somogyi-Nelson<sup>10)</sup>法で測定した。予め作成しておいた検量線から麦芽糖量を求め作用時間零の空実験との差より生成糖量を算出し, 基質の分解率をもって酵素活性とした。

#### 5) トランスアミナーゼ (GOT) の測定

GOT は血清 GOT の測定法<sup>11)</sup>に準じて行った。すなわち基質は L-アスパラギン酸 2.66g,  $\alpha$ -ケトグルタル酸 29.2mg を pH 7.4, M/10 磷酸緩衝液で 100ml にしたものを使用し, 呈色液は 2.4ジニトロフェノールヒドラジン 20mg を濃塩酸 7.0ml に溶かし水を加えて 100ml (HCl 濃度 0.84~0.85N) にしたものを試薬とした。まず試験管に基質 1.0ml とり 37°C, 5分加温した後酵素液 0.5ml 添加し, 37°Cの恒温槽で60分間作用させた後, 呈色液 1.0ml 添加し, 20分間放置した後, 0.4 N-NaOH, 10ml 加えて混合し室温に30分放置して 505m $\mu$  の吸光度を測定して検量線より生成ピルビン酸量を求めて酵素活性を表示した。

## II. 米の鮮度検定とパーオキシダーゼ活性について

上記 I の実験により玄米貯蔵時において諸酵素の活性が低下するがパーオキシダーゼの低下が最も顕著であることを認めた。一方市販米の鮮度検定には従来グアヤコール比色法により本酵素の活性度を測定する方法も採用されているが, 収穫時における玄米の乾燥条件の相異や品種の相異による酵素活性への影響も考えられるためこれらの点を検討するため下記の実験を行った。

### 1) 玄米の乾燥条件とパーオキシダーゼ活性の関係

天日乾燥によって収穫した2種の玄米, 三重県産コシヒカリと岐阜県産日本晴を使用し, 各玄米を 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 60°C にそれぞれ20分, 40分, 60分間電気定温乾燥器で乾燥させた後, 上記 I-(2)の方法でパーオキシダーゼ活性を測定し加熱による酵素活性の消長をしらべた。

### 2) 米の品種または等級別によるパーオキシダーゼ活性の相異

1972年10月から1973年2月の期間に愛知および岐阜県内で購入した市販精白米について前述の方法でパーオキシダーゼ活性を測定した。すなわちササニシキ, トヨニシキ, コシヒカリ, キビヨシ, 農林22号, 越路早生, 日本晴など品種の相異による酵素活性の変化をみるとともに, 自由米, 自主流通米, 標準価格米, 徳用米を各10種ずつ米穀販売店より購入し, パーオキシダーゼ活性と米の等級差による関係をしらべ酵素活性が鮮度検定の指標になり得るか否かを検索した。なお実験は購入後, 直ちに酵素活性を測定し, さらにその後室温に3カ月貯蔵して1カ月毎にパーオキシダーゼの消長を測定した。

## 実験結果ならびに考察

### 1) 玄米入手時における酵素活性

1967年産のKM種とN種は収穫後2カ年経過した玄米を1969年に入手, 1968年産F種は収穫後1カ年経過した古米を1969年に入手, 1969年産KN種, 1970年産KHおよびH種は収穫1カ月後に新米として入手したが, これら玄米はいずれも貯蔵中に殺菌, 殺虫などの薬品処理を施行しなかったことを確認の上実験に供した。供試玄米におけるパーオキシダーゼ, カタラーゼ,  $\beta$ -アミラーゼおよびトランスアミラーゼの測定結果は表4に示すとおりであったが, い

ずれの酵素も貯蔵期間が長くなるにつれてほぼ比例して酵素活性は低下した。とくにパーオキシダーゼはこの傾向が顕著であったが収穫後12カ月経過したKN種は新米同様の活性を示したことは品種の影響か入手前における貯蔵条件の影響によるものと推察した。

表4. 玄米の貯蔵期間と酵素活性の関係

玄米 品種	貯蔵 期間(月)	酵 素			
		パーオキシダーゼ (吸光度/g)	カタラーゼ (反応速度恒数)	$\beta$ -アミラーゼ (基質分解率, %)	トランスア ミナーゼ (ピルビン酸量, r)
KM	22	2.60	0.160	0.50	41.8
N	22	2.35	0.197	1.02	59.4
F	12	5.10	0.230	1.01	68.0
KN	12	10.09	0.242	0.89	76.4
KH	1	9.72	0.278	2.48	95.2
H	1	11.71	0.261	1.75	90.0

2) 貯蔵中における玄米諸酵素活性の消長

i) パーオキシダーゼ

供試した6種の玄米について入手後30°Cの恒温器内または室温に16カ月貯蔵した場合のパー

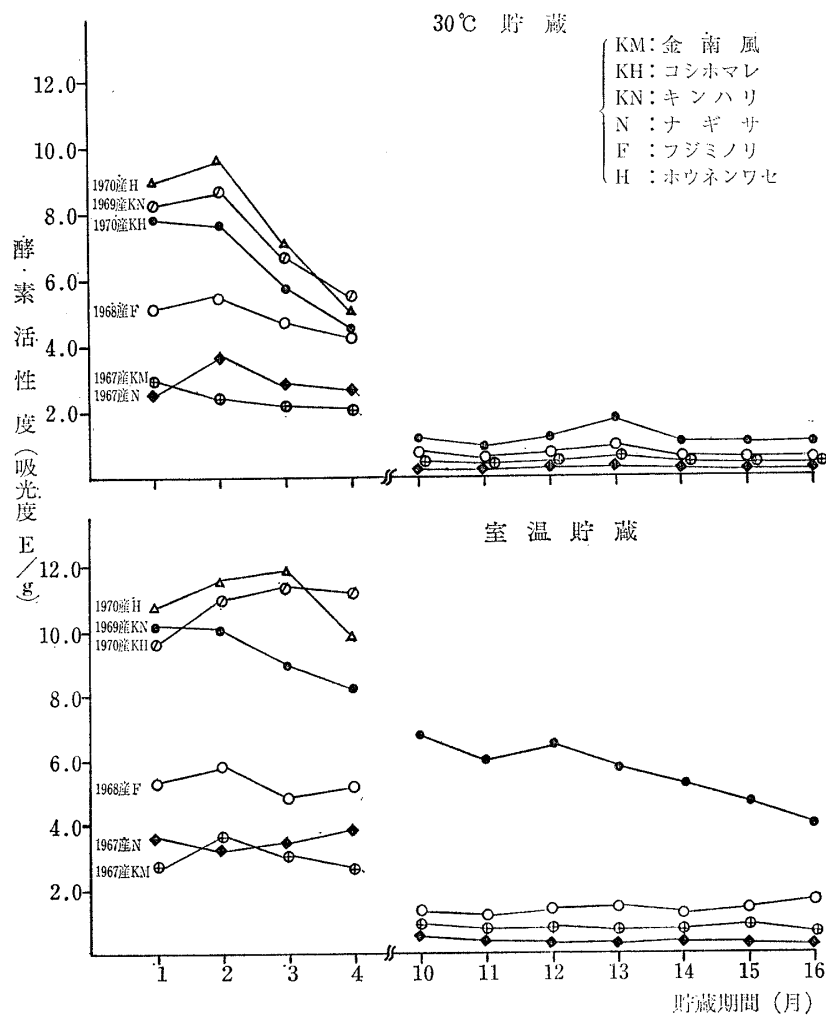


図1 貯蔵玄米におけるパーオキシダーゼの消長

オキシダーゼ活性の消長を図1に表示した。この結果貯蔵期間の長くなるにつれて酵素活性の顕著な低下が認められた。とくに30℃の貯蔵においては新米の酵素活性も4カ月経過時には約50%に低下し、10カ月以降古米にもほとんど酵素活性を認めなかった。室温貯蔵ではKN種において収穫13カ月経過時までには酵素活性の低下を認めず14カ月以降著しく低下した。収穫後2年以上経過した玄米はいずれも活性度低く新米の50%以下であった。

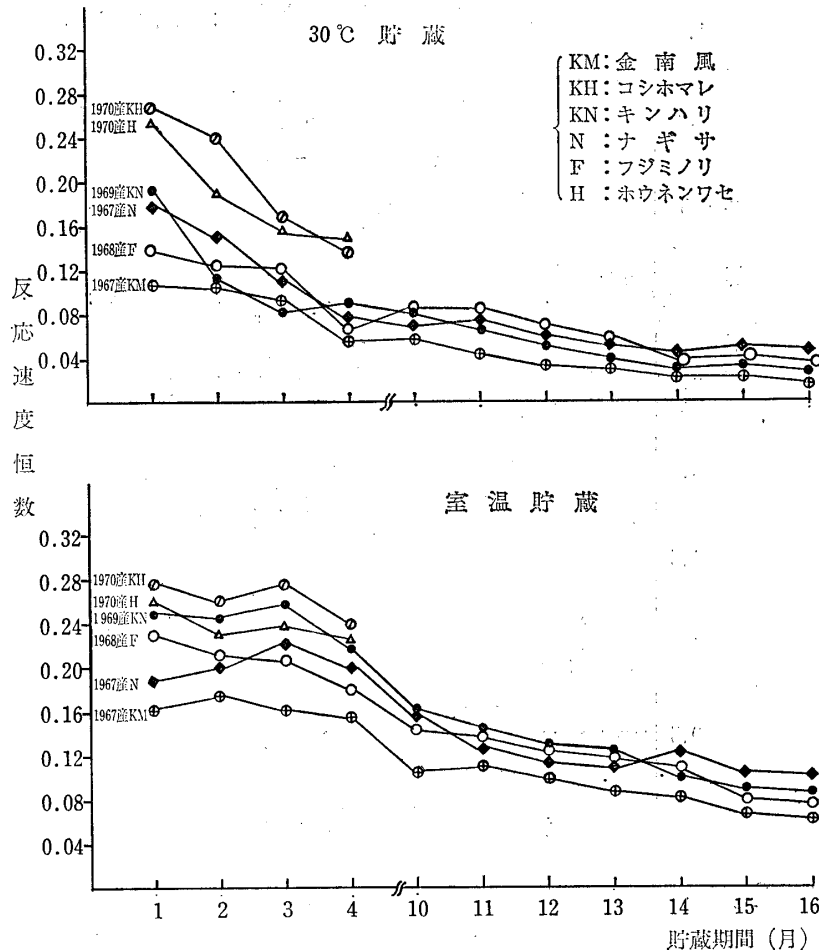


図2 貯蔵玄米におけるカタラーゼの消長

ii) カタラーゼ

カタラーゼ活性の測定結果は図2に示すとおりである。すなわち玄米の鮮度と酵素活性はほぼ逆相関の関係を示し、室温貯蔵においては1970年産新米2種が最高で古米は1969年、1968年、1967年産の順に活性が低下するが収穫後1年以上経過したものは16カ月の実験貯蔵期間を通じて試料間に顕著な差を認めず反応速度恒数はいずれも0.12~0.16であった。30℃貯蔵の場合は新米の酵素活性も急速に低下し室温貯蔵で4カ月間に約20%低下した酵素活性が30℃貯蔵において約80%低下することを認めた。

iii) β-アミラーゼ

β-アミラーゼ活性の測定結果は図3に示したとおりである。室温貯蔵の場合1970年産の新米は5カ月の貯蔵期間中常に高く、収穫後1~2年経過した玄米は酵素活性が半減した。3カ年経過した玄米のN種の酵素活性は古米と同様な値を示すのに反して3カ年経過のKN種はほとんど活性がなく品種の差による影響か入手以前の貯蔵条件が影響したものと推察される。30℃貯蔵の場合は新米においても4カ月以降は古米と同程度の活性となりいずれの試料も減少率は

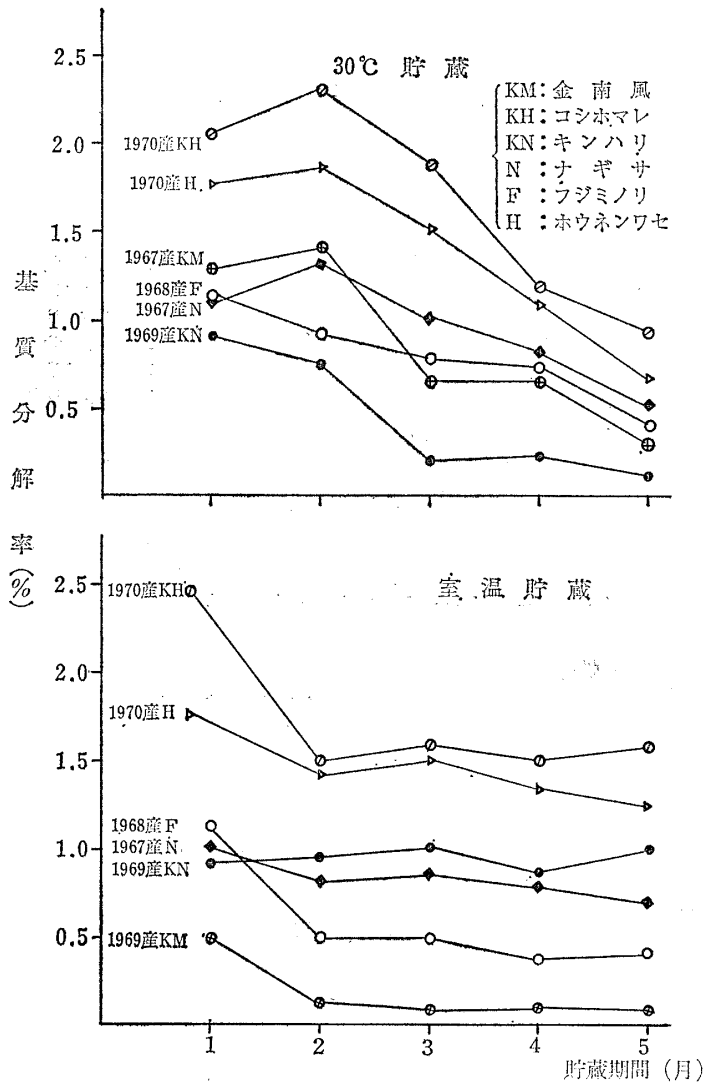


図3 貯蔵玄米におけるβ-アミラーゼの消長

室温貯蔵に比べて著しい。すなわちβ-アミラーゼ活性も貯蔵期間に比例して減少する傾向があるが、生ジャガイモデンプンを基質とした本実験においてはいずれの場合も基質分解率は僅少であった。

iV) トランスアミナーゼ (GOT)

トランスアミナーゼの測定結果は図4に示したが室温貯蔵において新米、古米、2年貯蔵米、3年貯蔵米の順に酵素活性は低下し16カ月の実験期間中においても徐々に低下することが認められた。30°C貯蔵でもほぼ同様な傾向を示すが新米の酵素活性の減少は急激で貯蔵4カ月経過時において古米と同程度の活性となった。

以上貯蔵玄米における酵素活性の測定結果よりパーオキシダーゼ、カタラーゼ、β-アミラーゼ、トランスアミナーゼいずれも貯蔵期間が長くなるにつれて活性は低下しさらに室温貯蔵より30°C貯蔵の方が低下率が高いことを認めた。一般に玄米は収穫後室温貯蔵をする場合が多いが、室温貯蔵の実験においてはカタラーゼ、トランスアミナーゼとも新米、古米、2年貯蔵、3年貯蔵米に顕著な差を認めずβ-アミラーゼ活性はいずれの試料も微弱であり、米の鮮度に最も顕著に影響するのはパーオキシダーゼであることを確認した。

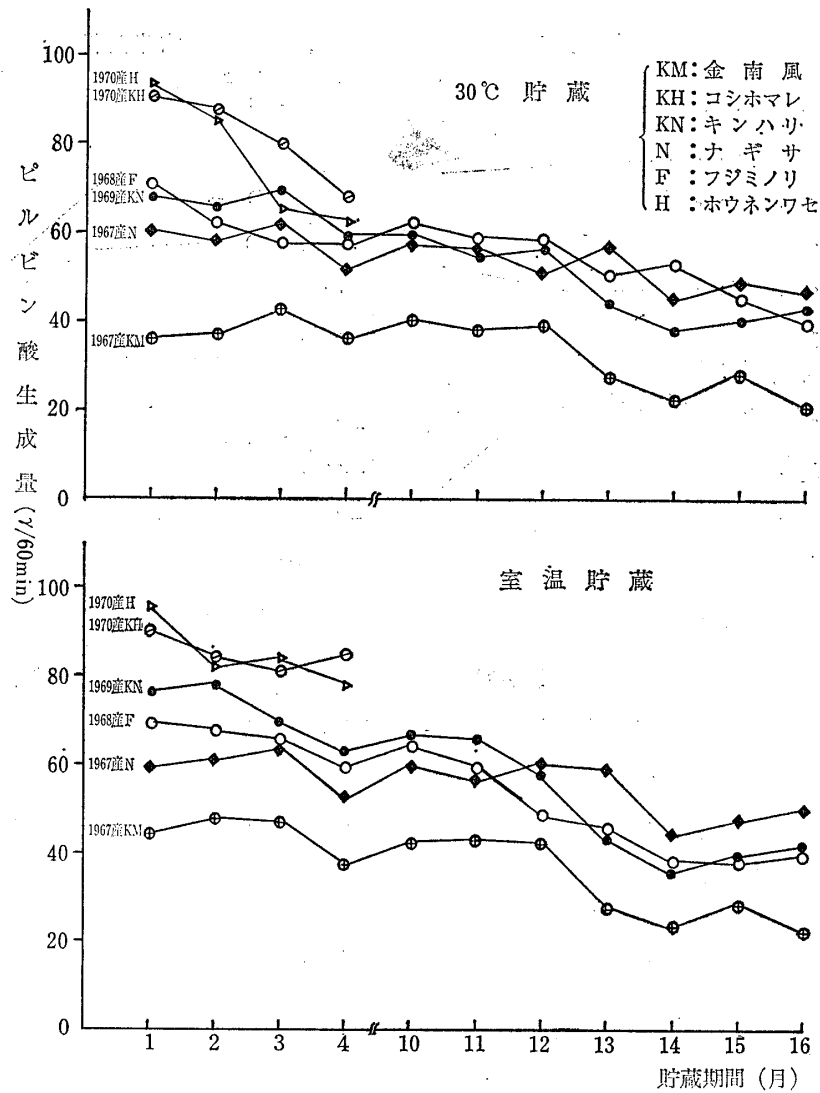


図4 貯蔵玄米におけるトランスアミナーゼ (GOT) の消長

### 3) パーオキシダーゼによる米の鮮度検定の検討

#### i) 玄米乾燥条件とパーオキシダーゼ活性の関係

収穫した粳米を天日乾燥で処理した場合の玄米のパーオキシダーゼ活性を100とし、35°C、40°C、45°C、50°C、60°Cで各20分、40分、60分加熱処理した場合の酵素活性の増減比率を示したのが図5である。試料Aは三重県産コシヒカリ、試料Bは岐阜県産日本晴であるがいずれも40°Cで20~60分加熱処理をすると酵素活性は約60%上昇する。2種の試料において加熱処理の条件と酵素活性の上昇率は若干相異なる点もあるが35~50°Cに20~60分間処理すれば活性は上昇し、60°Cに40分以上処理すれば活性が低することが認められた。Gardner<sup>12)</sup>もパーオキシダーゼは他の酵素に比較して熱に対して安定であることを認めている。

パーオキシダーゼの活性度をもって米の鮮度検定の指標にすることが従来から行われているが、今回の実験結果より粳や玄米の乾燥条件が酵素活性に影響することも考慮される。

一般に農家や業者が使用する穀類通風乾燥機は常温ないし50°C以下で処理される場合が多いが、天日乾燥の米より機械乾燥の米の方がパーオキシダーゼ活性が高いことがあり得るため本

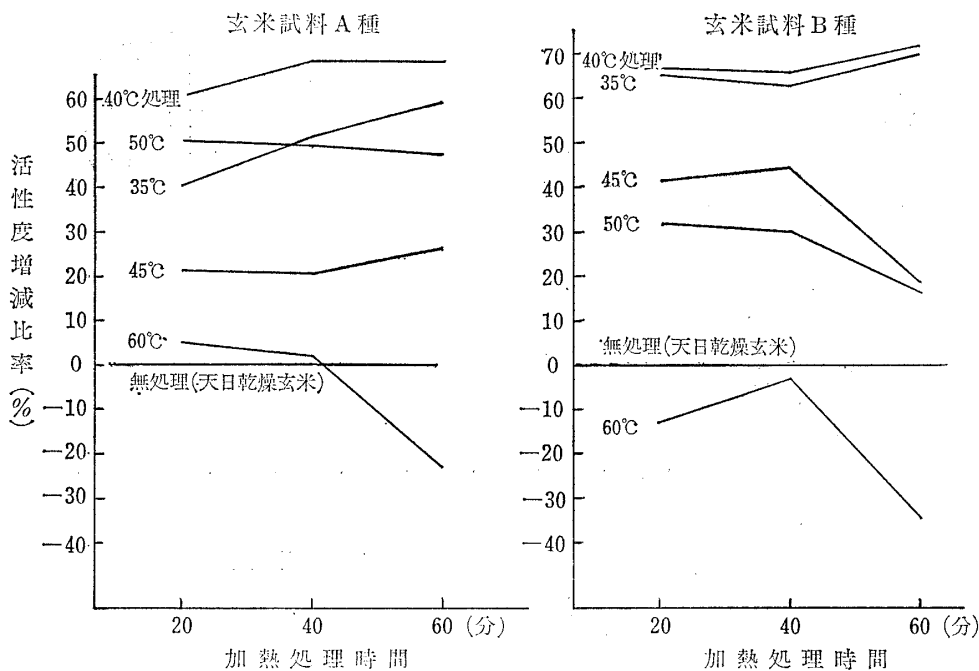


図5 加熱処理によるパーオキシダーゼ活性の消長

酵素の活性値のみで鮮度検定を行うことは適切でないとも考えられる。しかし加熱処理で一時活性が上昇した酵素はその後の室温貯蔵によって元の状態に低下するか否かは不明であり今後の実験にまたねばならない。

ii) 市販精白米の品種別ならびに等級別によるパーオキシダーゼ活性の相違  
 品種別のパーオキシダーゼ活性を表5に、等級別の同酵素活性を図6に示した。すなわち、

表5. 精白米の品種別パーオキシダーゼ活性

品 種 産 地 (県名)	ササニシキ			トヨニシキ		キビヨシ	コシ ヒカリ	農林22号	越路早生	日本晴
	山形	秋田	宮城	秋田	岩手	岡山	三重	岡山	新潟	富山
酵素活性*	3.90	4.52	5.13	4.22	5.68	2.88	10.21	4.57	2.35	2.22

\* 活性度は精白米 1.0g当たりの吸光度を10倍した数値である。

表5にみられるように品種の相違により酵素活性は著しく変化するが同品種においても産地別に若干の変動が認められた。

米の品質には品種、産地、土壌、栽培管理法、肥料の質、気象条件、収穫後の乾燥条件など多くの因子が関与するが籾の火力乾燥を60°Cで40~70分間行くと食味の低下することが認められている。<sup>13) 14)</sup> また米に含有される諸酵素もこれらの因子によって変化することが考えられる。従来のようにハザ干し、脱穀、籾干しと徐々に乾燥し水分含量も平均化された処理に対し、今日の生脱穀、火力乾燥は過剰乾燥になり易く不均一に乾燥する可能性があるため試料採取部位によっても成分や酵素活性の変動のあることが推察される。すなわち今回の実験において同年度収穫の同品種の米にはパーオキシダーゼ活性にかなりの差の現れたことは収穫時の処理法ならびに産地、気象条件などが影響を及ぼしているものと考えられる。



図6は市販精白米を自主流通米，自由米，標準価格米，徳用上米の等級別に各10種類ずつ測定したパーオキシダーゼ活性の平均値と購入後室温（18°C±5°C）に3カ月貯蔵した場合の酵素活性の消長を示したものである。この結果自主流通米の酵素活性が最も高く自由米，標準価格米，徳用上米の順に顕著に活性が低下するという興味ある事実を認めた。パーオキシダーゼを鮮度検定の指標とすれば自主流通米は新米であり自由米，標準価格米には若干古米が混入され徳用上米は古米であることが推定される。また精白米の場合には前述（2-i）の玄米の場合に比較して貯蔵中の酵素低下が早く，酵素による古米化が促進される傾向がみられた。

### 要 約

1) 収穫年度の異なる玄米に含有されるパーオキシダーゼ，カタラーゼ， $\beta$ -アミラーゼ，トランスアミナーゼの活性を測定しいずれの酵素も新米，古米，2年貯蔵米，3年貯蔵米の順に酵素活性が低下することを認めた。

2) 上記(1)に使用した6種の玄米をさらに室温または30°Cの恒温器に16カ月貯蔵し経時的に諸酵素の消長を測定した結果，カタラーゼ，トランスアミナーゼ， $\beta$ -アミラーゼいずれも貯蔵期間の長くなるにつれて徐々に活性は低下するがパーオキシダーゼの変化が最も顕著であることならびに室温貯蔵より30°C貯蔵の方がいずれの酵素も活性低下が促進されることを認めた。

3) 市販米の鮮度検定にパーオキシダーゼ活性を指標とする従来の測定法において，粳や玄米の乾燥条件の相違がパーオキシダーゼ活性の変化を促さないかを検討するため玄米を20~60分間，35~60°Cに加熱処理した場合の酵素活性を測定したところ，60°C加熱では活性が低下するが35~50°C加熱の場合は活性が上昇することを認めた。

4) 市販精白米を品種別，等級別にパーオキシダーゼ活性を測定した結果，同年度産の米においても酵素活性は異なること。等級別に分ければ自主流通米の活性が最高で自由米，標準価格米，徳用上米の順に活性が低下し，パーオキシダーゼ活性をもって鮮度検定を行う場合おおよその指標となりうることを推定した。

本実験に協力頂いた川松直子，野村三枝子様へ感謝の意を表します。

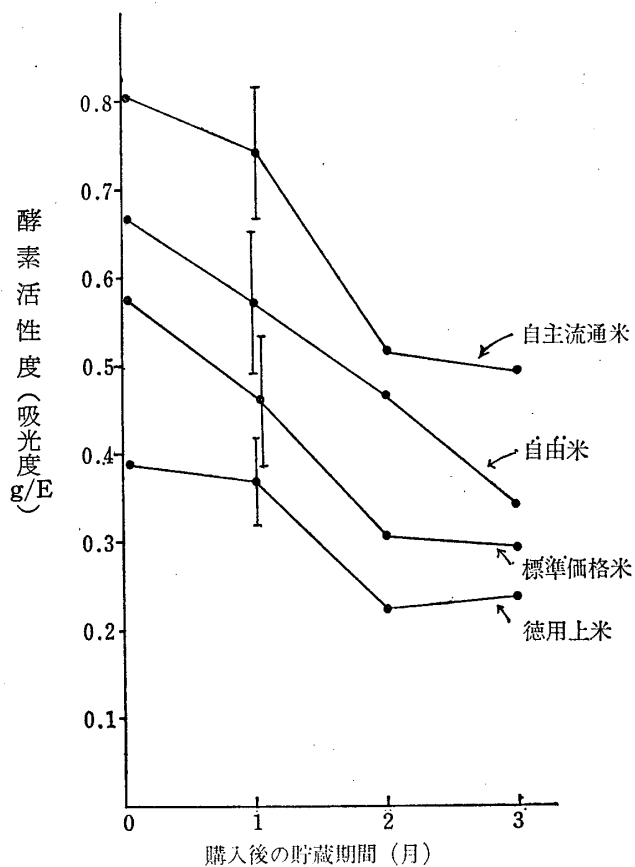


図6 市販精白米におけるパーオキシダーゼの消長

## 参 考 文 献

- 1) 谷達雄, 竹生新次郎他: 米の品質と貯蔵, 食糧技術普及シリーズ7, 20, 58, 68 (1969)
- 2) 安松克治: 食品工業 18, 26 (1968)
- 3) 満田久輝, 河合文雄: 栄養と食糧 21, 118 (1968), 22, 127, 578 (1969), 23, 251 (1970)
- 4) 森高真太郎, 沢田幸七, 安松克治: 栄養と食糧 24, 457 (1971), 25, 16 (1972)
- 5) 鈴木やす子, 松元文子: 家政学雑誌 22, 288 (1971)
- 6) 下村滋他: 原子吸光分析 p.99 広川書店 (1971)
- 7) 農林省食研: 食糧 ——その科学と技術—— 13, 14 (1970)
- 8) J. L. Velter, M. P. Steinberg & A. I. Nelson: J. Agr. Food Chem., 6, 38 (1958)
- 9) 京大農学部農化編: 農化実験書 2, 646
- 10) S. Nelson: J. Biol. Chem., 153, 375 (1944)
- 11) 上田英雄他: 臨床検査法, 207 杏林書院 (1969)
- 12) H. W. Gardner, G. E. Inglett & R. A. Anderson: Cereal Chem. 46, 626 (1969)
- 13) 長戸一雄: 食の科学 1, 52 (1971)
- 14) 竹生新次郎: 食の科学 1, 79 (1971)