

出穂後の平均気温が酒米品種「山田錦」のデンプン特性とタンパク質組成に及ぼす影響

誌名	北農
ISSN	00183490
著者名	芦田,かなえ 船附,稚子 荒木,悦子 藤本,啓之 池上,勝
発行元	北海道農事試験場北農會
巻/号	80巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 10-15
発行年月	2013年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



<試験成績・研究成果>

出穂後の平均気温が酒米品種「山田錦」のデンプン特性と
タンパク質組成に及ぼす影響芦田(吉田)かなえ* 船附 稚子** 荒木 悦子***
藤本 啓之**** 池上 勝****

要 旨

酒米「山田錦」は日本酒の原料として需要が高く兵庫県の特産物となっているが、近年、高温登熟による酒造適性の変化が問題となっている。そこで様々な温度条件下で栽培した「山田錦」を用いて、酒造適性に関わる成分特性を調査した。高温下で登熟した米では、アミロース含有率の低下と精米粉の糊化開始温度の上昇が認められた。さらに、出穂後30日間の平均気温と、易消化性タンパク質顆粒に蓄積されるタンパク質の割合との間に有意な正の相関が、難消化性タンパク質顆粒に蓄積されるタンパク質の割合との間に有意な負の相関がそれぞれ存在することが明らかになった。登熟中期にあたる出穂後11～20日の平均気温は、アミロース含有率、精米粉の糊化開始温度、タンパク質組成のいずれとも強い相関を示した。兵庫県で高温登熟対策として作期調節を行う場合、出穂後11～20日の高温を回避することが重要であり、これらは、将来北海道が温暖化に直面した場合に水稻が受ける品質に対する影響に関しても有用な知見と考えられる。

1. はじめに

酒米「山田錦」は兵庫県で育成され昭和11年に奨励品種に採用された品種であるが、現在でも日本酒の原料として需要が高い。特に兵庫県産のものは評価が高く、平成23年産の検査数量は15,227トンで全国の酒米の23.3%を占めている。しかし平成10年以降、兵庫県南東部の「山田錦」産地では、登熟期の平均気温が約2℃上昇しており、高温登熟による蒸米消化性の低下が問題となっており、風味にも影響があるのではないかと懸念されている。

Effect of temperature during grain ripening on starch properties and seed protein composition in rice cultivar 'Yamadanishiki'.

* 農研機構近畿中国四国農業研究センター
(現：北海道農業研究センター) Kanae ASHIDA

** 農研機構近畿中国四国農業研究センター
Wakako FUNATSUKI

*** 農研機構近畿中国四国農業研究センター
(現：農研機構作物研究所) Etsuko ARAKI

**** 兵庫県立農林水産技術総合センター
Hiroyuki FUJIMOTO, Masaru IkeGAMI

酒造りは、精米を洗って蒸すことから始まる。蒸米のデンプンはコウジカビによって糖類に糖化され、その糖類が酵母によってアルコールに変換される。酒造りは「一麴（こうじ）、二酛（もと）、三造り」と言われ、麴造りの過程が最も重要であると言われている（池上ら2010）。つまり、コウジカビによる蒸米の消化性が酒造適性を左右する。従って、蒸米の消化性試験によって求められる糖化の程度を示す糖度（Brix 値）は、酒米の酒造適性を表す重要な指標となっている（吉沢1972；酒米研究会1996）。

蒸米の消化性や酒の風味には、酒米の胚乳に含まれるデンプンやタンパク質の性質が大きく影響する。デンプンはグルコースが直鎖状につながったアミロースと枝分かれ構造を持つアミロペクチンから成るが、アミロース含量が低いほど蒸米の消化性は高い（Okuda et al. 2005）。また、アミロペクチンの短い枝（短鎖）が多いほど蒸米の消化性は良く、長い枝（長鎖）が多いほど蒸米の消化性は低下する（荒巻ら2004）。奥田ら（2009）は、日本全国から集めた酒米サンプルを用いて、出穂後一カ月間の平均気温とアミロペクチン長鎖

の割合および蒸米消化性との間に強い相関が存在することを報告している。しかし、これらの相関は、「山田錦」単一品種のみを見た場合には弱かったため、「山田錦」については正確な出穂期と気温データを用いて登熟気温とデンプン特性との関係を再検討する必要があると指摘されていた(奥田ら2010)。

一方、米のタンパク質は酒造りにおいてペプチドやアミノ酸に分解され、酒の風味のもととなる。しかし、タンパク質が多すぎると雑味が増えるため、酒の品質は低下する。そのため、酒米のタンパク質含有率は低いものが求められる。米に含まれるタンパク質は、酵素によって分解されやすい易消化性タンパク質顆粒に蓄積されるものと、分解されにくい難消化性タンパク質顆粒に蓄積されるものの二種類に分けられる。酒造りにおいても、易消化性タンパク質顆粒は分解されやすく、難消化性タンパク質顆粒は分解されにくい(橋爪2008)。また、易消化性タンパク質顆粒に蓄積されるタンパク質は、苦味のもとになるペプチドを生じることとも報告されている(Hashizume et al. 2007)。このように、タンパク質は量だけでなくその組成も酒の品質に影響すると考えられているが、登熟気温がタンパク質組成に影響を及ぼすか否かは明らかにされていない。

そこで、酒米「山田錦」において、登熟期の気温が蒸米消化性に関わる成分とどの程度関わるのかを明らかにするため、また、風味に関わるタンパク質の量や質にどのような影響を及ぼしているのかを明らかにするため、兵庫県農林水産技術総合センターにおいて様々な条件下で栽培された「山田錦」のデンプン特性とタンパク質組成を分析し、出穂後の気温との関係を解析した。

なお、本報告は、酒米の高温障害抑制に関する

共同研究の成果(Ashida et al. 2013)の一部をとりまとめたものである。

2. 試験方法

1) 試験材料

2001年、2003年から2010年にかけて、兵庫県農林水産技術総合センターの試験圃場にて栽培された酒米品種「山田錦」を材料として用いた。標準移植栽培、遅植え栽培、幼苗／中苗移植、直播栽培など、様々な栽培方法を行うことで、幅広い気温で登熟した「山田錦」の玄米を得た(表1)。収穫物は玄米の状態ですり袋に入れて密封して冷蔵保存し、分析前に室温に戻してからパーレスト(ケット社)を用いて90%まで搗精した。

表1 様々な条件で栽培した「山田錦」の生育状況と出穂後の平均気温

播種日	移植日	出穂期	成熟期	出穂後の平均気温（℃）				
				1-10日	11-20日	21-30日	1-30日	
標準移植栽培（2006年～2010年の平均値；n＝5）								
5/14	6/ 6	8/26	10/ 9	26.9	24.5	23.6	25.0	
移植栽培作期試験（2006年～2010年の平均値；各n＝5）								
標準植え	5/14	6/ 4	8/25	9/30	26.5	25.4	23.4	25.1
遅植え	5/28	6/17	8/30	10/ 8	26.2	24.0	22.2	24.1
稚苗・中苗移植試験（2001年、2003年～2010年の平均値；各n＝9）								
稚苗	5/14	6/ 4	8/26	10/ 7	26.3	25.0	23.1	24.8
中苗	4/30	6/ 4	8/25	10/ 5	26.4	25.4	23.6	25.1
直播栽培作期試験（2009年～2010年の平均値；各n＝2）								
4月下旬	4/23	-	8/19	9/24	27.6	27.3	23.1	26.0
5月上旬	5/ 7	-	8/24	9/30	27.5	25.4	23.5	25.5
5月中旬	5/14	-	8/27	10/ 3	27.3	24.2	23.4	25.0
5月下旬	5/25	-	8/31	10/ 8	26.5	23.5	23.0	24.4
6月上旬	6/ 4	-	9/ 2	10/15	25.8	23.3	22.2	23.8
6月中旬	6/15	-	9/ 7	10/21	24.2	23.5	20.1	22.6
6月下旬	6/25	-	9/14	10/30	24.1	21.5	18.1	21.2
7月上旬	7/ 6	-	9/18	11/ 8	23.6	19.4	18.2	20.4
全サンプル（n＝49）								
平均値				26.2	24.5	22.6	24.5	
最小値				20.5	18.5	16.3	19.3	
最大値				29.6	29.0	26.9	28.1	

2) 成分分析

超遠心粉碎機(ZM200, レッチェ社)で粉碎した精米粉末200mgを試料として、簡易ヨード比色法(大坪1995)に基づいてアミロース含有率を測定した。各試料のアミロース含有率は、含有率の明らかな高アミロース米とモチ米を種々の割合で混合した6種の標準試料の600nmにおける吸光度から作成した近似曲線を用いて算出した。窒素含有率はRapidN III(Elementar社)を用

いて燃焼法により定量した。

また、タンパク質組成の分析は、Ashida et al (2006) に準じて行った。精米をミルミキサー(ミルサー720G)で粉砕したものを30mgに、SDSと8 M尿素を含む溶液を700 μ l加えて粗タンパク質を抽出し、15%ポリアクリルアミドゲルでSDS-PAGEを行った。泳動後のゲルを染色して撮影し、ソフトウェアPhoretix 1D (Nonlinear Dynamics社)を用いてバンドの濃度を解析した。

3) 糊化粘度特性の分析

糊化粘度特性は、ラビッド・ビスコ・アナライザー(RVA 3D+)を用いて解析した。超遠心粉碎機で粉砕した精米粉3.5gをアルミ缶に入れてMilli-Q水25.0mL(14%水分ベース)を加え、パドルを一定速度(160rpm)で回転させながら50℃で1分間平衡化した後、1分間に6℃の割合で95℃まで加熱し、そのまま95℃で5分間保持した後に、1分間に6℃の割合で50℃まで冷却した。

4) 統計解析

試験圃場の気温は、圃場付近に設置した百葉箱中の気温データロガーを用いて10分ごとに取得した。本研究では現地での普及性を考慮し、最高気温と最低気温の単純平均を日平均気温として算出した。成分分析と糊化粘度特性の分析は少なくとも2反復行い、得られた値を平均した。統計解析ソフトSAS 9.2 (SAS Institute)のCORRプロシジャを用いて相関解析を、GLMプロシジャを用いてTukeyの多重比較を行った。

3. 結 果

1) 栽培条件と出穂後の平均気温

出穂期と出穂後30日間の平均気温は、栽培条件によって変動した(表1)。年次変動はあるものの、移植栽培では遅植えをすることで、直播栽培では遅播きをすることで、出穂後30日間の平均気温は低下する傾向が認められた。出穂期から成熟期までの期間は、全サンプルの平均で約41日、標準移植栽培で約43日、4月下旬直播栽培で約35日、

7月上旬直播栽培で約51日であり、遅植えや遅播きによって長くなる傾向が認められた。標準移植栽培で、出穂後30日間の平均気温が最も低かったのは2009年の23.0℃で、最も高かったのは2007年の26.8℃であった。全栽培条件の中で出穂後30日間の平均気温が最も低かったのは、2009年の6月上旬の直播栽培(19.3℃)で、最も高かったのは、2010年の4月下旬の直播栽培(28.1℃)であり、その差は8.8℃であった。

2) アミロース含有率、窒素含有率と出穂後の平均気温との関係

精米のアミロース含有率は16.9%~22.7%を示し、その平均値は19.8%であった。出穂後30日間の平均気温とアミロース含有率の間には有意な負の相関(相関係数: $r = -0.76^{**}$)が認められ(図1A)、高温登熟によってアミロース含有率が

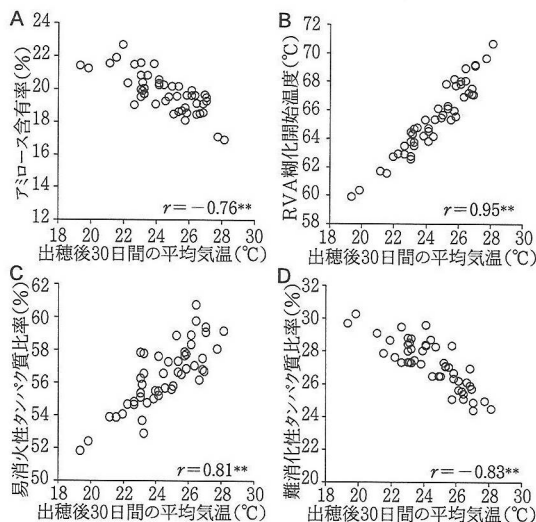


図1 出穂後30日間の平均気温と酒造特性に関わる成分との相関

** 危険率1%未満で有意。

低下することが示された。出穂後30日間を、出穂後1~10日、11~20日、21~30日に区切ると、いずれの期間の平均気温もアミロース含量と有意な相関を示したが、中でも出穂後11~20日の期間の相関が最も高かった(図2A)。

精米の窒素含有率は0.94~1.33%を示し、その平均値は1.05%であったが、各サンプル間で有意

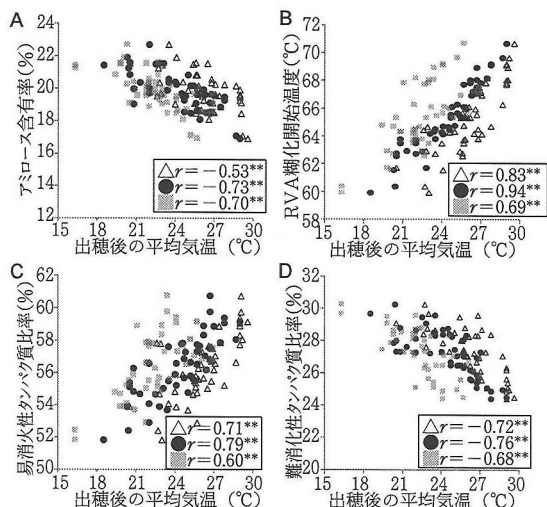


図2 出穂後10日毎の平均気温と酒造特性に関わる成分との相関

△, 出穂後1～10日；●, 出穂後11～20日；■, 出穂後21～30日。

な差は認められなかった。また、出穂後の平均気温との間にも相関はなかった。

3) 糊化開始温度と出穂後の平均気温との関係

出穂後30日間の平均気温は、精米粉のRVA最高粘度、ブレイクダウン、最終粘度、セットバック、ピーク時間と有意な相関を示した（相関係数はそれぞれ 0.84^{**}, 0.88^{**}, -0.51^{**}, -0.86^{**}, -0.60^{**}）が、RVA 糊化開始温度との間には特に強い正の相関関係が認められた ($r=0.95^{**}$, 図1 B)。出穂後30日間を10日毎に区切ると、アミロース含有率と同様、出穂後11～20日の平均気温がRVA 糊化開始温度と最も高い相関係数を示した（図2 B）。RVAの糊化開始温度は、アミロペクチンの長鎖／短鎖比率と強い正の相関関係がある (Okuda et al 2009)。本研究で認められた出穂後の平均気温とRVA 糊化開始温度との強い正の相関は、出穂後の平均気温が高くなるほど「山田錦」のアミロペクチン長鎖／短鎖比率が大きくなることを示唆する。

4) タンパク質組成と出穂後の平均気温との関係

精米から抽出した粗タンパク質のSDS-PAGE泳動像を図3に示した。タンパク質を難消化性タ

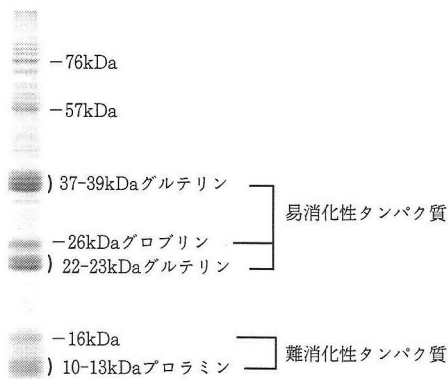


図3 精米タンパク質のSDS-PAGE像

ンパク質顆粒に蓄積されるバンド（10-13kDa, 16kDa）と易消化性タンパク質顆粒に蓄積されるバンド（22-23kDa, 26kDa, 37-39kDa）、その他のバンド（57kDa, 76kDa）とに分類し、これらのバンド全体の濃度に対する易消化性タンパク質および難消化性タンパク質のバンド濃度の割合から、易消化性タンパク質比率、難消化性タンパク質比率をそれぞれ算出した。前述したとおり、サンプル間で精米の窒素含有率に有意な差は認められなかったが、出穂後30日間の平均気温と易消化性タンパク質比率の間には有意な正の相関が認められた（図1 C）。一方、出穂後30日間の平均気温と難消化性タンパク質比率の間には有意な負の相関が認められた（図1 D）。また、易消化性タンパク質と難消化性タンパク質比率を算出すると、出穂後の平均気温と易消化性／難消化性タンパク質比率の間には非常に強い正の相関が認められた ($r=0.88^{**}$)。これらの結果は、高温登熟によってタンパク質の消化性が上昇することを示している。出穂後30日間を10日毎に区切ると、易消化性タンパク質比率、難消化性タンパク質比率との間の相関が最も高いのは、いずれも出穂後11～20日の登熟中期の期間であった（図2 C, D）。

4. 考 察

1) 出穂後の平均気温が酒造適性に関わる成分に与える影響

酒米「山田錦」において、様々な水稻品種にお

けるこれまでの報告と同様に、出穂後の平均気温が高くなるほどアミロース含有率が低下し、RVA糊化開始温度が上昇することが確認された。これまで、「山田錦」の登熟気温とデンプン特性との間の相関は明瞭でなかったが(奥田ら2010)、本研究では様々な栽培条件で収穫されたサンプルと正確な気温データを用いることで、出穂後の平均気温とデンプン特性との関係を明確にすることができた。

アミロース含有率が低いと蒸米の消化性が良いことが報告されているが、奥田ら(2009)は、出穂後1カ月間の平均気温が23℃より高くなると、アミロースの量が減りアミロペクチンの量が増えるので、高温登熟した場合はアミロペクチンの分子構造の影響が強く現れ蒸米の消化性が低下すると指摘している。「山田錦」においても、出穂後の平均気温とRVA糊化開始温度との間に強い相関が認められたことから、高温登熟による蒸米消化性の低下は、アミロペクチン長鎖/短鎖比の上昇によって引き起こされると考えられる。一方、高温登熟によるアミロース含有率の低下が蒸米消化性に与える影響は少ないと考えられた。

また、これまで出穂後の気温がタンパク質組成に及ぼす影響は明らかでなかったが、本研究では、出穂後の平均気温が高いほど、易消化性タンパク質の割合が増え、難消化性タンパク質の割合が減ることが示された。Yamakawa et al (2007)は、マイクロアレイを用いて高温登熟で発現が誘導される遺伝子と抑制される遺伝子を調べ、高温登熟で難消化性タンパク質顆粒に蓄積されるプロラミン遺伝子は発現量が低下するが、易消化性タンパク質顆粒に蓄積されるグルテリン遺伝子に関しては、それほど気温の影響を受けないことを報告している。本研究では、精米のタンパク質を調べることで、高温登熟による易消化性タンパク質割合の増加を見出した。グルテリン遺伝子そのものだけでなく、種子貯蔵タンパク質の輸送等に関わる遺伝子の発現が変化することで、易消化性タンパク質の割合が増加した可能性があると考えられる。

高温登熟による易消化性タンパク質比率の増加は、タンパク質全体の消化性の上昇につながると考えられる。しかし、奥田ら(2009)は、高温登熟した米ではタンパク質の消化性が低くなり、その理由として、米の大半を占めるデンプンに由来する蒸米全体の消化性の低下がタンパク質の消化性にも影響していると報告している。このことから、高温登熟によるタンパク質組成の変化は、酒造りにおけるタンパク質の消化性にはあまり影響しない可能性もある。一方、米に含まれるタンパク質の種類によって生じるアミノ酸やペプチドが異なるため、高温登熟による易消化性/難消化性タンパク質比率の変化は、酒の風味に影響を及ぼす可能性が高いと考えられる。今後、高温登熟が酒のアミノ酸やペプチド等の風味に及ぼす影響を明らかにする必要がある。

2) 登熟中期の気温がタンパク質やデンプンに最も影響する

兵庫県農林水産技術総合センターの圃場では、標準的な移植栽培を行った場合、出穂期から約40日で成熟期になる。出穂後一カ月間を10日毎に区切ると、出穂後11~20日の登熟中期の平均気温が、アミロース含有率、RVA糊化開始温度、易消化性タンパク質比率、難消化性タンパク質比率のいずれとも強い相関を示した。このことは、登熟中期の気温がデンプン特性やタンパク質組成に最も影響を与えることを示唆している。高温登熟による品質低下を回避するためには、出穂後11~20日の高温を回避することが重要であると考えられる。ただし、出穂後の気温が低くなりすぎると精玄米歩合が低くなる(勝場ら2012)ため、玄米品質の低下が起きないように考慮する必要もある。また、本研究で用いた試料の一部については、現在、兵庫県農林水産技術総合センターにて蒸米消化性の試験が行われている。本研究で得られたデータに蒸米消化性試験の結果を合わせることで、デンプン特性及びタンパク質組成の適正值と出穂後11~20日の最適気温が明らかになると考えられる。

出穂後の平均気温は表1に示すように、遅植え

や遅播きによって低くすることができる。また、近畿中国四国地域では、品種・栽培地・田植日・田植時の葉数から、出穂期と成熟期を予測するシステムが開発されている（須藤ら2010；Web水稻生育予測<http://www.aginfo.jp/RGP/>）。従って、実際の「山田錦」栽培地において、過去の気象データから現行の栽培における登熟気温を推定し、出穂後11～20日の気温が最適になるよう移植日や播種日を決定するためのシステムも開発できると考えられる。今後、実際の現地農家で栽培された「山田錦」について、どの程度の気温でどの程度の糊化温度になるか、どの程度のタンパク質組成になるのかを明らかにすることで、地域に応じた最適な作期を決定できると考えられる。

以上の成果は、今後北海道も直面すると予想される温暖化による水稻の品質変動に対して有益な示唆を与えるものになると考えられる。

謝辞

本研究は農林水産省「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業（22053）」（平成22～24年度）の支援を受けて実施された。

参考文献

- Ashida K., Iida S., Yasui T. (2006) : Lack of 26 kDa globulin accompanied increased free amino acid content in rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Journal of Cereal Science* 43, 387-392.
- Ashida K., Araki E., Maruyama-Funatsuki W., Fujimoto H., Ikegami M. (2013) : Temperature during grain ripening affects the ratio of type-II/type-I protein body and starch pasting properties of rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Cereal Science* 57, 153-159.
- Hashizume K., Okuda M., Numata M., Iwashita K. (2007) : Bitter-tasting sake peptides derived from the n-terminus of the rice glutelin acidic subunit. *Food Science and Technology Research* 13, 270-274.
- 橋爪克己 (2008) : 原料米タンパク質に由来する清酒の苦味ペプチド. *日本醸造協会誌*103, 574-580.
- 勝場善之助, 池上 勝, 大久保和男 (2012) : 酒造好適米品種における米品質「近畿中国四国地域における水稻高温登熟障害の要因解析と技術対策」近畿中国四国農用研究センター研究資料, 第9号, pp.122-132
- 池上 勝, 西田清数, 世古晴美, 三好昭宏 (2010) : 山田錦物語人と風土が育てた日本一の酒米, 神戸新聞総合出版センター.
- Okuda M., Aramaki I., Koseki T., Satoh H., Hashizume K. (2005) : Structural characteristics, properties and in vitro digestibility of rice. *Cereal Chemistry* 82, 361-368.
- Okuda M., Hashizume K., Aramaki I., Numata M., Joyo M., Goto-Yamamoto N., Mikami S. (2009) : Influence of starch characteristics on digestibility of steamed rice grains under sake-making conditions, and rapid estimation methods of digestibility by physical analysis. *Journal of Applied Glycoscience* 56, 185-192.
- 奥田将生, 橋爪克己, 沼田美子代, 上用みどり, 後藤奈美, 三上重明 (2009) : 気象データと原料米の酒造特性との関係, *日本醸造協会誌*104, 699-711.
- 奥田将生, 橋爪克己, 上用みどり, 沼田美子代, 後藤奈美, 三上重明 (2010) : イネ登熟期気温と酒造用原料米のデンプン特性の年次・産地間変動, *日本醸造協会誌*105, 97-105.
- 大坪研一 (1995) : アミロース含量. 農業研究センター研究資料第30号稲育種マニュアル pp. 46-48.
- 酒米研究会 (1996) : 酒造用原料米全国統一分析法, 酒米研究会編 (<http://www.sakamai.jp/bunseki.html>から入手可能)
- 須藤健一, 牛尾昭浩, 吉田智一, 高橋英博, 寺本郁博 (2010) : Web版水稻出穂期・成熟期予測システム, 兵庫県農業技術センター研究報告, 58, 31-35.
- 吉沢淑 (1972) : 「原料米の分析法(2)」, *日本醸造協会誌* 77, 798-805.
- Web水稻生育予測 (2013年5月現在) : <http://www.aginfo.jp/RGP/>