

米飯食味形成に関わる炊飯中の胚乳細胞壁の変化

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者名	辻井,良政 清瀬,紀子 立田,奈緒美 矢口,行雄 内野,昌孝 高野,克己
発行元	日本食品保蔵科学会
巻/号	35巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 127-134
発行年月	2009年5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



米飯食味形成に関わる炊飯中の胚乳細胞壁の変化

辻井良政^{*1§}・清瀬紀子^{*2}・立田奈緒美^{*2}
矢口行雄^{*3}・内野昌孝^{*2}・高野克己^{*2}

* 1 アルファ食品(株)

* 2 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科

* 3 東京農業大学地域環境科学部電子顕微鏡室

Change in The Endospermous Cell Wall of Cooked Rice and Its Effects on The Palatability of Cooked Rice

TSUJII Yoshimasa^{*1}, KIYOSE Noriko^{*1}, TATSUDA Naomi^{*1},
YAGUCHI Yukio^{*2}, UCHINO Masataka^{*1} and TAKANO Katsumi^{*1}

* 1 Alpha Foods Co., Ltd., Kitaaraki 645, Taisya-cho Izumo-shi, Shimane 699-0722

* 2 Department of Applied Biology and Chemistry Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture,
Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

* 3 Electron Microscope Laboratory Faculty of Regional Environment Science, Tokyo University of Agriculture,
Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

Cooked rice has a histological structure that correlates to its eating quality. One of the features of what affects the chain polysaccharide matrix structure of the cell wall. In this study, we clarified the relationships between cooked rice palatability and the decomposition of pectin, hemicellulose and cellulose as cell wall components during cooking. Upon electron microscopy, the degradation of fibrous tissue was confirmed in the pectin fraction, as well as the degradation of the dense disk-shaped structures of the hemicellulose A and B fractions. However, the cellulose structure showed no change under the same conditions. No changes in the cell wall occurred with HgCl₂ treatment, which designed to inhibit enzyme activity. The molecular sizes of pectin and hemicellulose A and B decreased owing to the degradation of these components' during cooking. The galacturonic acid content of the pectin fraction was reduced from 63.7% to 19.7%. In addition, the galactose and glucose contents of the hemicellulose A and B fractions were also reduced. The activities of enzymes for cell wall decomposition (polygalacturonase, β -galactosidase, β -xylanase, β -glucanase and α -mannosidase) were observed in the endosperm of rice. Results of the current study indicate that the chain polysaccharide matrix structure of the rice endosperm may be degraded by the action of endospermous enzymes during rice cooking, thereby influencing cooked rice texture regardless of rice grain freshness or cultivar.

(Received Sep. 22, 2008 ; Accepted Jan. 29, 2009)

Key words : cell wall, structure, rice, enzyme, taste
細胞壁, 構造, 米, 酵素, 食味

炊飯は米に水を加え加熱し、その主成分であるデンプンを糊化させて、可食状態にする操作である。一方、胚乳細胞壁は炊飯中に炊飯米の硬さを制御すると共にデンプンの自由な膨潤を制御し、米粒の形状を維持させていると考えられている。

胚乳細胞壁は、主にペクチン、ヘミセルロース、セルロースならびに少量のタンパク質からなるマトリックス成分に富んだ1次構造で構成されている¹⁾。なお、リグニン化の進んだ2次構造は果種皮や糊粉層の細胞壁で見られる²⁾。渋谷らにより、キシラナーゼによって米の胚

* 1 〒699-0722 島根県出雲市大社町北荒木645

§ 連絡先 (Corresponding author) E-mail : tsujii-y@alpha-come.co.jp

* 2 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

* 3 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

乳細胞が部分的に分解され、炊飯米テクスチャーの軟化と膨張容積が増加することが報告されている^{2),3)}。このことから、炊飯中における細胞壁の構造変化が炊飯米のテクスチャーや食味へ影響すると推論される²⁾。しかし、炊飯中における細胞壁多糖の構造変化やこれら分解に関与する内在酵素の作用性などの詳細については未だ明らかにされていない。

Tsujiiらは、細胞間結着物質であるペクチンを分解するポリガラクトクロナーゼを米胚乳から精製し、その性状から本酵素の炊飯中の作用性を推察した⁴⁾。そこで本報では、炊飯による各細胞壁多糖の構造変化、多糖の分子量変化ならびに同変化に対する内在細胞壁多糖分解酵素の作用性について検討し、得られた知見について報告する。

実験方法

1. 試料

試料は、千葉県産コシヒカリ（2006年産）の玄米を用いた。これを4℃で保存し、使用時に常温で戻した後、家庭用攪拌式精米機（MR-D500, ツインバード工業）を用い、90%歩留まりで搗精した。

2. 精白米と炊飯米からの粗細胞壁の調整

精白米500gを純水に浸漬（4℃, 1hr）、ヒスコトロ（NS-51, 日本医理科機械製作所）にてホモゲナイズ後、120メッシュの篩によりデンプン粒を除去した⁵⁾。残渣について1%SDSを含む1%メルカプトエタノール溶液にて除タンパク質処理し、さらにクロロホルム・メタノール（2:1 v/v）混液にて脱脂ならびにアセトンにて脱水処理を行った後、乾燥して精白米の粗細胞壁画分とした。

炊飯米からの粗細胞壁の調製は、以下のように行った。竹生らの炊飯特性試験法⁶⁾に準じ、試料米10gを金網カゴに入れ、純水中で10回の上下振とうを3回繰り返した後、金網カゴを160mlの純水の入った200mlトルビーカーに浸し、沸騰水中で20分間加熱し炊飯米とした。この炊飯米100gに酵素液（耐熱性 α -アミラーゼ（A3306）20000U, アミログルコシダーゼ（A7255）100U, SIGMA）を加え70℃, 16時間振とう反応（HB-100T, AITEC）を行い、デンプンを分解した。反応処理後、ヒスコトロで破碎し、遠心分離（20℃, 20min, 15,000 xg）を行い、沈殿物を得た。このデンプン除去操作を再度行い、得られた沈殿物を精白米の場合と同様に除タンパク質および脱脂処理し、炊飯米の粗細胞壁画分とした。なお、デンプン除去は、ヨウ素呈色にて確認した。また、対照試験として炊飯特性試験で用いる純水を1mM HgCl₂溶液に変更し行った。

3. 粗細胞壁画分の分画^{7)~9)}

粗細胞壁画分20mgに50倍容の2.5%シュウ酸アンモニウム溶液を加え、70℃, 8時間振とう（HB-100T, AITEC）, ガラスフィルター（1G3 HARIO）で濾過し、

得られた濾液をペクチン画分とした。残渣に25倍容の1M水酸化カリウム溶液を加え、20℃ 8時間振盪し溶解画分をヘミセルロースA画分、続いて4M水酸化カリウム溶液を加え、その溶解画分をヘミセルロースB画分、残渣をセルロース画分とした。各画分を酢酸にて中和後、純水に対し透析（Membrane MWCO: 3500, Spectra/Por 3）した後、凍結乾燥した。

4. 各細胞壁画分の走査型電子顕微鏡による観察

凍結乾燥した各細胞壁画分を両面テープで試料台に固定し、イオンスプッター（E102, 日立）により白金パラジウムコーティングした。観察は、走査型電子顕微鏡（S-4000, 日立）にて加速電圧5kVで行った。

5. HPLCによる糖分析

（1）炊飯外液および浸漬液 浸漬中および炊飯中に溶出する糖成分について分析した。実験方法2より得られた外液を炊飯外液とし凍結乾燥した。浸漬液は、上記の加熱前の外液を凍結乾燥した。それぞれ得られた試料2mgを純水に溶解後、N-アセチル化後、4-アミノ安息香酸エチルエステル（ABEE）により標識化し、HPLCにて可溶化している遊離単糖を分析した（J-オイル ABEE糖組成分析キット, 生化学工業）^{10),11)}。さらに、試料を加水分解し、分析については¹²⁾、同様の標識化処理後、全糖の分析も行った。

（2）細胞壁多糖画分 精白米と炊飯米から調整した各細胞壁多糖画分5mgを用い、（1）と同方法にて分析をした。なお、各糖の割合（%）は、[%] = 各糖量（ $\mu\text{mol/g}$ ）/各糖量の総和（ $\mu\text{mol/g}$ ） $\times 100$ で算出した。

6. 炊飯による細胞壁多糖画分の分子量変化の推定^{13)~15)}

ペクチン、ヘミセルロースAおよびB画分、それぞれ5mgを0.5M NaOH溶液500 μl に溶解し、ゲル濾過クロマトグラフィー（TSK-GEL G5000PWXL-G3000PWXL, 東ソー）に供した。溶出液は0.01M NaOH溶液（0.02% アジ化ナトリウム, 0.15M NaClおよび0.01M EDTAを含む）を用い、0.5ml/minにて流出し、その流出液を0.5mlずつ分画し、全糖量をフェノール・硫酸法¹⁶⁾にて測定した。溶出の分子量マーカーとして、Dextran（平均分子量 $\sim 2,000,000$, 425,000 $\sim 575,000$, 64,000 $\sim 70,000$, 35,000 $\sim 45,000$, 9,000 $\sim 11,000$, glucose, SGMA-ALDRICH）を用いた。

7. 粗酵素の調製

試料米0.5gに10mM DTT含む10mM PIPES-NaOH緩衝液（pH7.0）1.0mlを加えて、一晚浸漬（4℃）した後、ホモゲナイズ（HOMOGENIZER S-303, iuchi）し、4℃, 1時間、攪拌抽出（Deep Well Maximizer TAITEC）した。この抽出液を遠心分離（4℃, 20min）し、得られた上澄液を10mMマックルベン緩衝液（pH5.0）に対して一晚透析し粗酵素とした。

また、炊飯中の昇温過程において20, 40, 60および80℃に達した時点で米粒を採取し、それぞれTsujiiら⁴⁾の方法に従い粗酵素を調製した。

8. 細胞壁分解酵素の活性測定

ポリガラクトナーゼ活性の測定はTSUJIIら⁴⁾の方法, ペクチンエステラーゼ活性測定はTATIANAらの方法¹⁷⁾, α および β -ガラクトシダーゼ, β -キシラーゼ, α -マンノシダーゼおよび β -グルカナーゼは, 基質に各単糖の

-ニトロフェニル誘導体を用いた。測定方法は, 酵素液0.03mlに0.2Mマックルベン緩衝液 (pH7.0) 0.02mlを加え, 5 mM基質溶液を0.01ml加え, 37℃にて1時間反応させた。30%Tris溶液0.16mlを加え反応を停止ならびに発色させ, 400nmで吸光度を測定した。なお, 1分間に1 μ molの

-ニトロフェノールを遊離させる力価を1単位 (U) とした。

結 果

1. 細胞壁多糖画分の電子顕微鏡観察

精白米と炊飯米から抽出, 分画したそれぞれの細胞壁多糖画分の形状に差異が観察された (図1)。精白米のペクチン画分では, 繊維状組織が規則正しく密集した形状がみられたが, 炊飯米ではこの形状が大きく崩壊していた。精白米のヘミセルロースAおよびB画分ではそれぞれ平面の形状であったが, 炊飯米ではその形状が崩壊し繊維状組織が絡み合っている様子が観察された。精白米のセルロース画分はヘミセルロース画分と同様に平面形状であった。一方, 炊飯米の同画分では表面に浅い切れ込みが観察できたが, 崩壊に至るような形状的な大き

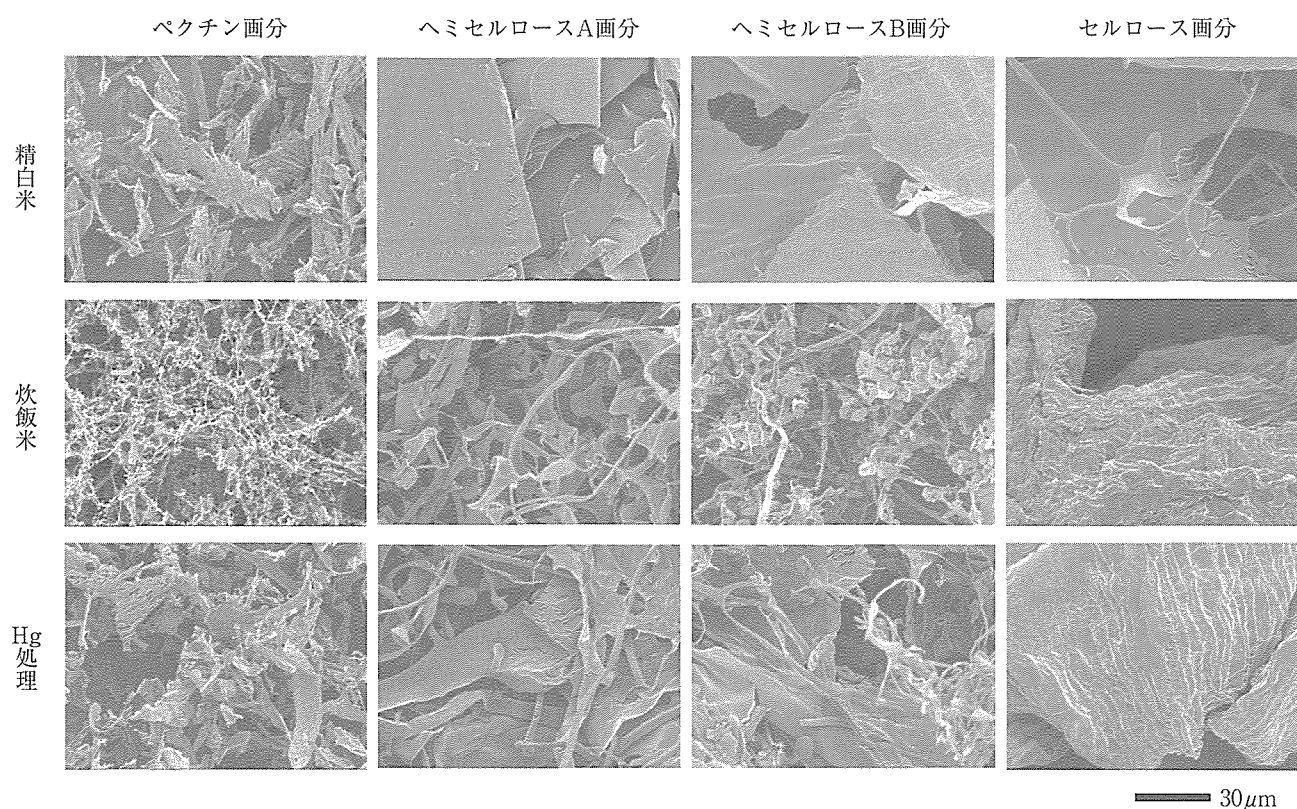


図1 精白米と炊飯米の細胞壁多糖画分の観察

表1 細胞壁構成糖の炊飯中の溶出量

	遊 離 糖			全 糖		
	浸 漬 液	炊飯外液	Hg処理 炊飯外液	浸 漬 液	炊飯外液	Hg処理 炊飯外液
D-グルクロン酸	N. D.	0.92 ± 0.44	0.32 ± 0.20	N. D.	0.38 ± 0.30	0.22 ± 0.42
D-ガラクトuron酸	N. D.	3.08 ± 0.39	1.19 ± 0.15	1.31 ± 1.16	7.50 ± 0.91	4.13 ± 1.17
D-ガラクトース	1.05 ± 0.11	6.80 ± 0.70	5.80 ± 0.66	2.11 ± 1.16	24.3 ± 5.60	16.0 ± 8.70
D-キシロース	N. D.	N. D.	N. D.	0.62 ± 0.48	3.16 ± 0.76	1.40 ± 0.11
D-マンノース	N. D.	N. D.	N. D.	0.50 ± 0.43	1.70 ± 0.17	1.71 ± 0.01
L-アラビノース	N. D.	N. D.	N. D.	0.90 ± 0.20	9.35 ± 2.84	4.00 ± 1.35
L-ラムノース	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
D-リボース	N. D.	N. D.	N. D.	0.24 ± 0.07	0.91 ± 0.44	1.00 ± 1.00

N = 5 A.V. ± S.D. N. D. = Not Detected (μ mol/g (精白米))

な変化は確認できなかった。Hgを添加し、胚乳中に内在する酵素作用を阻害した炊飯米では、ペクチン、ヘミセルロースAならびにB画分は精白米と比較して、米飯で確認された大きな崩壊はみられなかったが、部分的な崩壊が観察された。一方、セルロース画分では炊飯米と近似した形状が観察された。

2. 細胞壁構成糖の炊飯中の溶出挙動

炊飯による細胞壁構成糖の溶出量を表1に示した。炊飯外液に細胞壁の構成等であるD-グルクロン酸およびD-ガラクトースが、それぞれ 0.92 ± 0.44 および $3.08 \pm 0.39 \mu\text{mol/g}$ (精白米換算) 検出された。D-ガラクトースは炊飯外液で $6.80 \pm 0.70 \mu\text{mol/g}$ 検出され、浸漬液に比べ約6倍の値を示した。さらに浸漬および炊飯外液を加水分解処理したところ、浸漬液および炊飯外液に遊離糖として検出されなかったD-キシロース、D-マンノース、L-アラビノースおよびD-リボースの各糖が検出され、浸漬時に比べ炊飯時ではそれぞれ3~10倍増加した。Hg処理して炊飯中の酵素作用を阻害したところ、ほとんどの細胞壁構成糖で炊飯外液中の溶出量は減少傾向を示した。なお、D-グルコースの溶出も確認できたが、その由来がデンプンと細胞壁多糖構成糖が区別できないため、比較を対象から外した。

3. 炊飯による細胞壁多糖画分の分子量的変化

図2に精白米と炊飯米の細胞壁多糖画分のゲル濾過クロマトグラムを示した。電子顕微鏡で大きな形状変化が観察されたペクチン、ヘミセルロースAおよびB画分は、炊飯米は精白米に比べ主要な多糖ピークが低分子量に移行していることが確認できた。ペクチン画分は炊飯によって精白米でみられた分子量約1万の主要ピークが大きく減少し、分子量1万以下に主要ピークが検出された。ヘミセルロースA画分の主要ピークは精白米でボイドボリューム付近に、炊飯米では同ピークは分子量約200万付近に溶出された。ヘミセルロースB画分もペクチンおよびヘミセルロースA画分と同様に炊飯によって低分子量が観察されたが、その変化はこれらに比べ小さかった。以上、精白米の細胞壁を構成する多糖が低分子化するこ

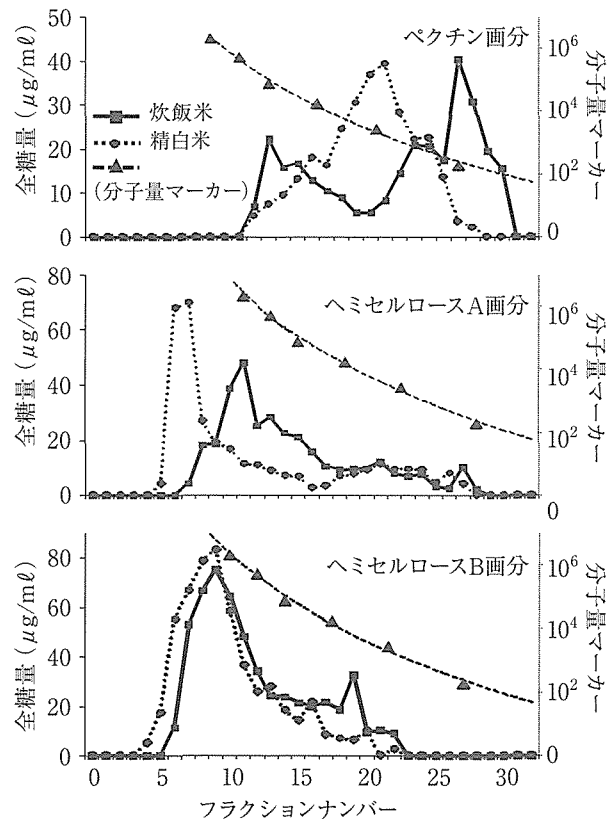


図2 精白米および炊飯米の細胞壁多糖画分のゲル濾過クロマトグラム

とが明らかになった。

4. 細胞壁多糖成分の構成糖分析

表2に、精白米と炊飯米より調製した細胞壁多糖画分の構成糖の組成比を示した。ペクチン画分では主要構成糖であるD-ガラクトースが精白米および炊飯米でそれぞれ $63.70 \pm 19.67\%$ および $19.71 \pm 8.30\%$ を示し、炊飯によって大きく減少した。また、ガラクトース、D-キシロースおよびL-アラビノースも炊飯によって減少した。一方、D-グルコースおよびD-リボースはそれぞれ $4.08 \pm 0.02\%$ から $36.91 \pm 10.98\%$ へ、 $1.12 \pm 0.20\%$ から $22.17 \pm 5.20\%$ を示しそれらの組成比は増加した。ヘミセルロ

表2 炊飯による精白米細胞壁を構成する多糖画分の糖組成の変化

	ペクチン画分		ヘミセルロースA画分		ヘミセルロースB画分	
	精白米	炊飯米	精白米	炊飯米	精白米	炊飯米
D-グルクロン酸	0.59 ± 0.38	0.84 ± 1.12	0.25 ± 0.39	3.11 ± 0.67	0.94 ± 1.31	3.86 ± 0.53
D-ガラクトース	63.70 ± 19.67	19.71 ± 8.30	0.69 ± 1.18	1.84 ± 1.60	1.35 ± 1.27	1.23 ± 1.88
D-ガラクトース	8.19 ± 0.76	4.94 ± 1.03	2.14 ± 1.81	2.40 ± 0.27	6.20 ± 0.50	3.77 ± 1.00
D-キシロース	8.49 ± 0.74	5.93 ± 0.25	47.69 ± 4.17	49.79 ± 4.45	39.45 ± 4.82	51.40 ± 6.21
D-マンノース	0.70 ± 0.36	1.09 ± 0.36	0.50 ± 0.40	0.66 ± 0.06	4.66 ± 2.81	0.66 ± 0.20
L-アラビノース	11.99 ± 0.59	6.01 ± 0.18	30.38 ± 2.01	34.46 ± 0.45	22.61 ± 3.51	26.37 ± 7.62
L-ラムノース	1.14 ± 0.54	2.39 ± 3.27	0.03 ± 0.02	0.36 ± 0.05	0.75 ± 0.55	0.68 ± 0.17
D-リボース	1.12 ± 0.20	22.17 ± 5.20	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
D-グルコース	4.08 ± 0.02	36.91 ± 10.98	18.33 ± 9.47	6.89 ± 5.31	20.04 ± 5.44	11.07 ± 7.28

N = 3 A.V. ± S.D. N.D. = Not Detected 割合 (%) : 「%」 = 各糖量 ($\mu\text{mol/g}$) / 各糖量の総和 ($\mu\text{mol/g}$) × 100

ースAおよびB画分では、精白米に比べ炊飯米で、主要構成糖であるそれぞれD-キシロースは2.10および11.95%、L-アラビノースはそれぞれ4.08および3.76%増加した。これに対し両画分共にD-グルコースは大きく減少し、またヘミセルロースB画分では、マンノースおよびガラクトースがそれぞれ4.00%および2.43%減少した。この結果、炊飯によって精白米胚乳細胞壁の多糖画分のペクチン画分では、D-ガラクトース、D-キシロースおよびL-ラムノース、ヘミセルロースA画分ではD-グルコース、ヘミセルロースB画分では、D-ガラクトース、D-マンノースおよびD-グルコースからなる領域あるいは多糖が特異的な分解を受け低分子量化することが示唆された。

表3 米胚乳中の細胞壁多糖分解酵素の検出

酵 素	活性量 (U/g)
ポリガラクトナーゼ	0.011
ペクチンエステラーゼ	N. D.
α -ガラクトシダーゼ	35.6
β -ガラクトシダーゼ	6.7
β -キシラーゼ	4.5
α -マンノシダーゼ	36.9
β -グルカナーゼ	37.1

N. D.=Not Detected

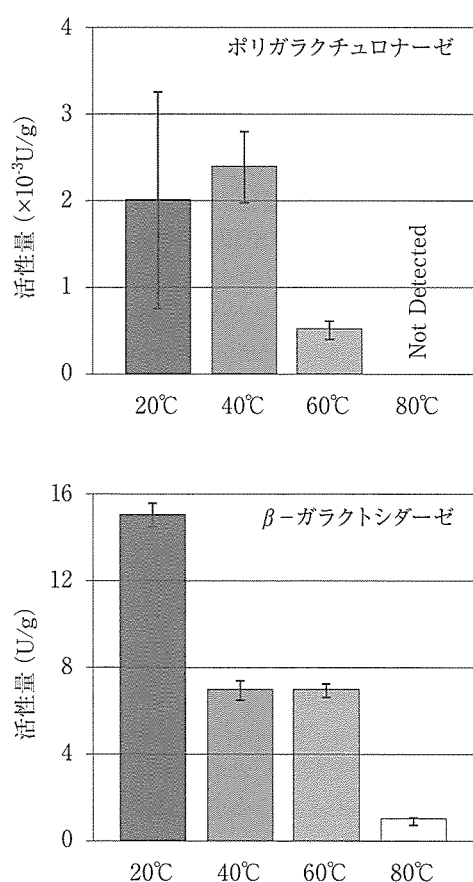


図3 炊飯過程における米粒内の酵素活性の挙動

5. 米胚乳中の細胞壁多糖分解酵素について

米胚乳中の細胞壁に作用すると思われる各種酵素について活性の検出を行った。その結果、米胚乳中にポリガラクトナーゼの他、 α および β -ガラクトシダーゼ、 β -キシラーゼ、 α -マンノシダーゼおよび β -グルカナーゼの6種の酵素活性の存在が確認された(表3)。 α -ガラクトシダーゼ、 α -マンノシダーゼおよび β -グルカナーゼは高い活性を示した。

一方、先の試験結果より、炊飯中にD-ガラクトースの溶出量(表1)がそれぞれ3.08および6.80 μ mol/g(精白米換算)と他の糖に比べて多かったにもかかわらず、これらの糖の遊離に大きく関与するポリガラクトナーゼと β -ガラクトシダーゼの活性は小さかった。そこで、これら酵素の炊飯中の米粒内の活性挙動を検討したところ(図3)、両酵素とも炊飯温度が高くなるに従い活性量は低下したが、 β -ガラクトシダーゼは80°Cで1.0U/g、ポリガラクトナーゼは60°Cで 0.5×10^{-3} U/gの活性を示し、炊飯中で両酵素が十分に作用することが確認された。

考 察

本研究は、炊飯前後での米胚乳細胞壁の状態観察、構成糖ならびに多糖の分解変化について解析を試みた。電子顕微鏡観察の結果、精白米と炊飯米ではペクチン、ヘミセルロースAならびにB画分の形状が大きく変化していた。一方、セルロース画分では崩壊に至るような形状の大きな変化はみられなかった。このような炊飯米での細胞壁多糖画分の形状の変化の挙動については、これまで報告はされていない。

米飯は粒で食されるために、その組織構造が維持された食品であり、米飯テクチャーに対しデンプン粒の膨潤や糊化の状態だけでなく細胞壁の構造変化も影響していると考えられている。小川らは炊飯による米粒の組織構造の変化と圧縮による変化の関係について報告し¹⁸⁾、細胞壁の構造変化が米飯テクチャーに大きく影響すると推測している。また、渋谷らはキシラーゼの添加によって、テクチャーが大きく変化した事実および本研究にて炊飯による精白米の細胞壁の各多糖画分の形状が変化し、それらいずれも低分子化していたことから、炊飯による米飯食味の形成に対する細胞壁多糖分解酵素の作用が大きな役割を演ずることを明らかにすることができた。

炊飯によって溶出した可溶性糖画分を分析したところ、トマトの軟化時に増加する報告のあるD-ガラクトース^{19),20)}と果物や野菜などのペクチン主要構成糖であるD-ガラクトースが遊離糖として検出した^{21)~24)}。また、可溶性糖画分の加水分解によってD-キシロース、D-マンノースならびにD-アラビノースが検出され、これらの糖から構成されたヘテロオリゴ糖が可溶化していることが示唆された。また、Hgにて炊飯中での分解酵素作用

を阻害すると、可溶性糖画分は減少を示した。これまで、炊飯中の細胞壁の分解は予想されてきたが^{22), 25)}、今回の結果から、炊飯中で可溶化する溶出するこれらの糖は、米胚乳中の酵素の作用により細胞壁多糖が部分的に分解され、生成することが明らかになった。また、可溶性糖中には遊単糖とヘテロオリゴ糖が存在したことから、細胞壁多糖分解様式が異なる酵素の存在と作用が示唆された。これらの作用と米飯テクスチャーおよび食味との関係については、今後の課題である。

炊飯米より調製した細胞壁多糖であるペクチン、ヘミセルロースAおよびB画分は、精米のそれらに比べ低分子量化していた。モモ、イチゴ、ナシおよびキウイフルーツなど熟成に伴うペクチンの分解による低分子化が報告されており^{14), 15), 23), 26)~27)}、ヘミセルロースも同様な報告がある^{14), 28), 29)}。

渋谷の報告では、米胚乳細胞壁のヘミセルロース画分の主成分はアラビノキシランであり²⁾、本報でも構成比を反映していた。炊飯によって、ペクチン画分はペクチンの主鎖であるD-ガラクトチュロン酸の構成割合が大きく低下したが、ヘミセルロースAおよびB画分では主要構成糖であるD-キシロースおよびL-アラビノースの構成割合が増加した。これらの多糖画分の分解は、いずれも電子顕微鏡観察の結果、炊飯米は精白米と大きく形状が変化していたが、これらの変化は、ペクチン画分のペクチン主鎖、ヘミセルロースAおよびB画分の主要多糖の側鎖の分解が大きな要因と考えられ、各画分で分解を受けている部位が異なると示唆された。

米胚乳細胞壁を分解する酵素活性量を検討した結果、精白米中にポリガラクトチュロナーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、 β -キシラナーゼ、 α -マンノシダーゼおよび β -グルカナナーゼの各活性が検出された。しかし、ペクチンエステラーゼ活性量は測定できなかったが、ポリアクリルアミド電気泳動法を用いた活性染色法によりペクチンエステラーゼの存在を確認している（データ未掲載）。これらの酵素の作用が炊飯中の細胞壁多糖に作用し、それらの構造を変化させ、米飯テクスチャー形成に関与すると考えられる。炊飯外液中にはD-ガラクトース、D-ガラクトチュロン酸、D-キシロースおよびD-アラビノース溶出量が多いこと、多糖画分における糖の組成の変化からエキソ型の β -ガラクトシダーゼおよびポリガラクトチュロナーゼ、キシラナーゼおよびアラビノシダーゼの作用が大きく影響していると考えられた。これら酵素は、果実や野菜などの軟化に関与することが報告されている²⁹⁾。 β -ガラクトシダーゼおよびポリガラクトチュロナーゼ活性は、炊飯過程においても確認できたことから、各種の胚乳細胞壁多糖分解酵素による炊飯中の作用が、米飯の軟化および食味形成の大きな要因になっていると考えられる。

本研究により、炊飯による米胚乳細胞壁多糖画分の形状が変化、各多糖の低分子化および糖組成から、米胚乳

中細胞壁多糖分解酵素の作用が考えられる。また、炊飯時間はこれら酵素の作用によって細胞壁構造が明確に変化するのに十分な時間であると推察された。今後、米の新鮮度や品種の違いによる炊飯過程での細胞壁多糖分解に関与する酵素の作用性との関係など検討し、食味形成を明らかにすることによって、食味評価に関わる新しい理化学的要因が得られ、米飯の食味形成の機序ができると考えられる。

要 約

本研究で、炊飯において米胚乳細胞壁構成成分のペクチン、ヘミセルロースおよびセルロースの分解と米胚乳酵素の作用について検討した。

- ① 米飯から抽出したペクチン画分は、精米の同画分に比べ繊維状組織が崩壊し、ヘミセルロースAおよびB画分は密な板状構造が大きく崩壊していた。しかし、セルロースにおいては、明確な差はみられなかった。
- ② 炊飯外液には、D-ガラクトチュロン酸、D-キシロース、D-マンノースおよびD-アラビノース等が検出され、また、これらの糖から構成されたヘテロオリゴ糖が可溶化していることから、米胚乳細胞壁が炊飯中に分解していると示唆された。
- ③ 米飯の各細胞壁多糖画分は、精米の同画分に比べて低分子量領域に変化していることを確認し、特にペクチン画分の変化は顕著であった。
- ④ 米飯の各細胞壁多糖画分の構成糖の変化から、ペクチン画分ではD-ガラクトチュロン酸が大きく低下し、ヘミセルロースAおよびB画分ではD-キシロースおよびL-アラビノースが増加したことから、各画分で分解を受けている部位が異なると示唆された。
- ⑤ 米胚乳より調製した酵素液中に、ポリガラクトチュロナーゼ、 α および β -ガラクトシダーゼ、 β -キシラナーゼ、 β -グルカナナーゼおよび α -マンノシダーゼ活性を確認し、これらの酵素は炊飯中の温度上昇下で作用していると示唆された。

以上の結果から、炊飯において米胚乳中に存在する各種細胞壁分解酵素の作用によって、米胚乳細胞壁多糖画分が低分子量化し、米飯の食味形成に対する影響力が示唆された。

本研究は、農林水産省の委託プロジェクト「低コストで質の良い加工・業務用農産物の安定供給技術の開発」の助成を受けて実施した。

謝 辞 試料米を提供いただいた木徳神糧株式会社様の協力にお礼を申し上げますと共に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 石谷孝佑・大坪研一：米の品質，米の科学（朝倉書

- 店, 東京), pp.32~34 (1995)
- 2) 渋谷直人: コメの細胞壁と化学構造と品質, 日食工誌, **37**, 740~748 (1990)
- 3) SHIBUYA, N. and IWASAKI, T.: Effect of cell wall degrading enzymes on cooking properties of milled rice and the texture of cooked rice, *J. Japanese Soc. Food Sci. Tech.*, **31**, 656~660 (1984)
- 4) TSUJI, Y., UCHINO, M. and TAKANO, K.: Purification and Polygalacturonase from Polished Rice, *Food Preservation Science*, **33**, 189~196 (2007)
- 5) 山崎雅夫・大谷俊二・沖田健一・高野克己:モチ米飯のテクスチャーと胚乳細胞壁中のヒドロキシプロリン含量の関係, 食科工, **48**, 302~305 (2001)
- 6) 竹生新次郎・岩崎哲也・谷 達雄: 米の炊飯嗜好性に関する研究 (第1報), 栄養と食糧, **13**, 137~140 (1960)
- 7) SHIBUYA, N. and NAKANE, R.: Pectic polysaccharides of rice endosperm cell walls [Isolation and structural analysis], *Phytochemistry*, **23**, 1425~1429 (1984)
- 8) ARIEL, R. V., CLAUDIA, O., ANN, L. T., POWELL, L., CARL, G. and JOHN M. L.: Temporal Sequence of Cell Wall Disassembly Events in Developing Fruits, *Agric. Food Chem.*, **55**, 4119~4124 (2007)
- 9) TRINETTE, S., JAN, G. B., KEES, R., ALFONS, G. J. V. and CEES, V. D.: Changes in Pectic and Hemicellulosic Polymers of Green Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during Industrial Processing, *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 4790~4799 (1997)
- 10) YASUNO, S., MURATA, T., KOKUBO, K. and KAMEI, M.: Two-mode analysis by high-performance liquid chromatography of p-aminobenzoic ethyl ester-derivatized monosaccharides, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 1944~1946 (1997)
- 11) YASUNO, S., KOKUBO, K. and KAMEI, M.: New Method for Determining the Sugar Composition of Glycoproteins, Glycolipids, and Oligosaccharides by High-performance Liquid Chromatography, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **63**, 1353~1359 (1999)
- 12) SUZUKI, J., KONDO, A., KATO, I., HASE, S. and IKENAKA, T.: Analysis by high-performance anion-exchange chromatography of component sugars as their fluorescent pyridylamino derivatives, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 283~284 (1991)
- 13) LI, X., NAKAGAWA, N., NEVINS, D. J. and SAKURAI, N.: Changes in the cell-wall polysaccharides of outer pericarp tissues of kiwifruit during development, *Plant Physiol Biochem.*, **44**, 115~123 (2006)
- 14) HIWASA, K., NAKANO, R., HASHIMOTO, A., MATSUZAKI, M., MURAYAMA, H., INABA, A. and KUBO, Y.: European, Chinese and Japanese pear fruits exhibit differential softening characteristics during ripening, *J. Exp. Bot.*, **55**, 2281~2290 (2004)
- 15) 村松 昇・田中敬一・朝倉利員・立木美保・土師 岳: モモ果実のアルカリ可溶性ペクチン性多糖類の単離と解析, 園学雑, **73**, 541~545 (2004)
- 16) DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A. and SMITH, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956)
- 17) TATIANA, d. C. R. P. and FLAVIO, F.: Extraction and assay of pectic enzymes from Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft.), *Food Chem.*, **89**, 85~92 (2005)
- 18) 小川幸春・田川彰男: 米の食味と機能性および食品素材化技術I 組織構造とテクスチャーから見た米飯の特性, 食品工業, **48**, 26~33 (2005)
- 19) GROSS, K. C. and WALLNER, S. J.: Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening, *Plant Physiol.*, **63**, 117~120 (1979)
- 20) GROSS, K. C. and SALTVEIT, J. M. E.: Galactose concentration and metabolism in pericarp tissue from normal and non-ripening tomato fruit, *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **107**, 328~330 (1982)
- 21) BRUMMELL, D. A. and HARPSTER, M. H.: Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants, *Plant Mol. Biol.*, **47**, 311~340 (2001)
- 22) JIN, C. H., KASHIWAGI, T. and MIZUNO, M.: Structural changes in the cell wall pectic polysaccharides accompanied by softening of apple (*Malus pumila* Mill) cultivars Fuji and Kinsei, *Food Pres. Sci.*, **25**, 293~300 (1999)
- 23) MURAMATSU, N., TANAKA, K., ASAKURA, T. and HAJI, T.: Changes in cell wall polysaccharides and physical properties of peach (*Prunus persica* Batsch) fruit during ripening, *J. Japan. Soc. Hort. Sc.*, **73**, 534~540 (2004)
- 24) 稲荷妙子・竹内徳男: イチゴ果実の成熟におけるペクチンの変化, 食科工, **44**, 319~324 (1997)
- 25) 新井映子・清水智恵子・渡辺道子: 加温浸漬による米飯の品質改変, 家政誌, **43**, 789~795 (1997)
- 26) 稲荷妙子・竹内徳男: イチゴ果実の成熟におけるペクチンの変化, 食科工, **44**, 319~324 (1997)
- 27) LI, X., NAKAGAWA, N., NEVINS, D. J. and SAKURAI, N.: Changes in the cell-wall polysaccharides of outer pericarp tissues of kiwifruit during development, *Physiol. Biochem.*, **44**, 115~124 (2006)
- 28) VICENTE, A. R., ORTUGNO, C., ROSLI, H., POWELL, A. L., GREVE, L. C. and LABAVITCH, J. M.: Temporal

- sequence of cell wall disassembly events in developing fruits, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 4125~4130 (2007)
- 29) BRUMMELL, D. A. and HARPSTER, M. H.: Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants, *Plant Mol. Biol.*, **47**, 311~340 (2001)
- (平成20年 9 月22日受付, 平成21年 1 月29日受理)
-