

ササニシキの生産性と炭水化物

第3報 アミログルコシターゼを利用した水稻風乾試料中のデンプン含量の分析

斎藤 公夫・中鉢 富夫・長谷川 栄一

(宮城県農業センター)

The Carbohydrates of the Rice Plant Variety "Sasanishiki" with Relation to the Productivity

3. Analysis of the starch contents of rice plant using amyloglucosidase

Kimio SAITO, Tomio TYUBATI and Eiichi HASEGAWA

(Miyagi Prefectural Agricultural Research Center)

1 はじめに

前報に継続してアミラーゼ糖化とグルコスタット法を組み合わせたデンプン定量について検討した。

2 方 法

可溶性の80%エタノール抽出残渣を湿ったままで糊化-糖化に供する。糊化法により次の二法に分かれる。

(1) オートクレーブ糊化-アミラーゼ糖化²⁾ ポリスマンでこすりおとしながら遠沈管内の残渣を約20mlの水で50ml三角フラスコに移す。アルミホイルで栓をし、120℃、1hrのオートクレーブにより糊化を行う。室温に戻しpH4.5の2M酢酸ナトリウム緩衝液1mlを加え、Amyloglucosidase(SIGMA, from Rizopus mold, 5~10u/mg) 20mg, 安息香酸 5mgを小スクープで添加する。55℃で2hr振とうして糖化を行い、水で50ml定容とした後、ろ過する。ろ液はグルコニス0~80ppmになるように希釈して前報¹⁾に述べたグルコスタットフロー分析により定量する。

(2) KOHによる糊化 エタノール抽出残渣に6mlの0.5MKOHを加え約30分間よく攪拌してデンプンの糊化を行う。2mlの28%(V/V)酢酸でpH4.5とし、以下(1)と同様にして(緩衝液は不要)酵素による糖化及び、糖の定量を行う。

3 方法の検討結果

(1) アミラーゼによる糖化条件の検討 糖化時の酵素量、時間、pH、異なる糊化処理のデンプン回収への影響について稲体試料を用いて調べた。この場合試料は可溶性の抽出は行わず、直接、水又はKOHによる磨砕を行った。

酵素の量と反応時間の影響についてみたのが表1である。酵素量5mg, 2hr~5hrではデンプンの回収が劣るが、酵素20mg以上、反応時間2hr以上では差が認められない。したがって、アミラーゼによる糖化条件として酵素20mg, 55℃での糖化時間2hrが適当と考えた。

酵素20mg, 55℃-2hr条件でpHがデンプン回収に及ぼす影響をみたのが図1である。玄米、葉鞘のどちらについてもpHが4~5の間であれば一定の回収を得ると見てよ

い。

防腐剤の保存効果をみたのが表2である。安息香酸、又は1%ストマイの添加により糖化液は長期間安定であることが分る。

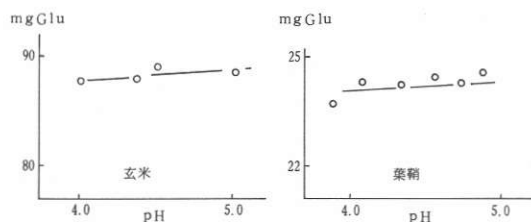


図1 糖化のpHがデンプンの回収に及ぼす影響

表1 アミラーゼによるデンプンの糖化-酵素の量と反応時間(55℃)の影響

試料	酵 素 (mg)	反応時間 (hr)	デンプン (Glumg)
稲 葉 鞘 0.2g	50	2	48.8
	20	5	49.3
	20	2	50.4
	5	5	46.8
	5	2	45.8
葉鞘 0.2g + スターチ 0.1g	20	5	138
	20	2	145
	5	2	134

表2 防腐剤の効果-玄米糖化液について

防腐剤 / 50ml 玄米糖化液	回収 Glucose (ppm)	
	はじめ	室温5か月後
安息香酸 5mg	87.0	81.0
1%ストマイ 3滴	89.0	82.5
クロロホルム 1滴	88.0	tr
トルエン 1滴	81.0	17.5

糊化処理としてオートクレーブによるものと0.5MKOHによるものとを比較をみたのが表3である。この結果、糊化処理によるデンプン回収の差は認めがたい。しかしこれは試料をKOHとよく磨砕した場合であり、一般的にはオ

表3 オートクレーブ, 0.5 M KOH 糊化処理によるデンプン回収の比較

試料		デンプン回収(mgGlu)	
		オートクレーブ	0.5 MKOH
玄米	0.1 g	91.8	87.8
葉鞘	0.2 g	49.2	50.3
葉身	0.2 g	3.3	3.1
葉身 + スターチ	0.2 g 0.1 g	91.0	90.8

オートクレーブの方が簡便であると考えられる。

(2) デンプン分析法の比較 糖化法としてアミラーゼ法、又は従来よく用いられる 0.7 N HCl 加水分解法³⁾を用いた場合、糖の定量としてグルコスタット若しくはアンスロン法を用いた場合のデンプン定量値について比較したのが表4である。その結果糖の定量にグルコスタットを用いた場合に比べ、アンスロンを用いた場合は、葉鞘で約30%、葉身で数倍の過大評価することになる。アンスロンは玄米のようにデンプンが主体である試料以外には不適な方法といえる。グルコスタットを用いると糖化の穏やかなアミラーゼ法とやや過激な HCl 加水分解法との間には殆ど差が認められない。したがってデンプン分析のポイントはグルコースの特異的定量にあるといえる。

表4 アミラーゼ法と HCl 加水分解法の比較

試料	デンプン含量mgGlu / 0.1 g 試料			
	アミラーゼ		HCl 加水分解	
	グルコスタット	アンスロン	グルコスタット	アンスロン
葉身 出穂期	1.3	5.2	1.6	6.3
葉鞘 減分期	22.8	26.1	22.5	26.3
玄米	88.5	92.5	88.0	87.0
葉身 出穂期	1.9	8.0	1.5	7.3
葉鞘 "	18.8	26.8	18.4	27.1
穂 "	3.0	8.6	3.0	9.0
かん基 "	29.9	36.0	32.0	39.5

エタノール抽出時の乳鉢磨砕の効果、水抽出処理のデンプン回収への影響についてみたのが表5である。まずエタノール抽出時の磨砕の効果については、総じて磨砕により回収が向上することはないといえる。水抽出処理後のデンプンの回収は、エタノール抽出に比べ明らかに低く、水抽

表5 デンプン定量における磨砕、水抽出の影響

試料 (出穂期)	抽出	デンプン含量 (mgGlu / 0.1 g 試料)			
		エタノール		水抽出	
		アミラーゼ		HCl 加水分解	
		あり	なし	あり	なし
葉身	磨砕	1.9	2.4	1.5	1.3
葉鞘		18.8	20.8	18.4	19.1
葉		3.0	3.5	3.0	2.7
かん基		29.9	32.1	32.0	32.8

出時にデンプンの一部が水に溶解して失われたものと考えられる。

4 ま と め

(1) アミラーゼによる水稻風乾試料中のデンプンの糖化条件として、試料 0.1 ~ 0.2 g に対しアミログルコシダーゼ酵素量 20 mg, 55℃の糖化時間 2 hr, pH 4 ~ 5 が適当であった。酵素糖化の前の糊化法としてオートクレーブ処理、0.5 MKOH 処理との間にデンプンの回収の差はないが、オートクレーブの方が簡便である。

(2) アミラーゼ法と 0.7 N HCl 加水分解法との比較を見たところ、糖の定量としてグルコスタットを用いた場合、両法の値に差がなかった。しかしアンスロン法による場合はグルコスタット法に比べ 5 ~ 8 mg / 0.1 g 試料ほど過大になった。可溶性糖抽出時の磨砕によりデンプンの回収が向上することはなかった。水抽出処理後のデンプンの回収は劣った。

引 用 文 献

- 1) 斎藤公夫, 中鉢富夫, 長谷川栄一. 1986. ササニシキの生産性と炭水化物 (第2報), 東北農業研究 39:49-50.
- 2) 田村太郎. 1975. 特異反応による糖類の分別定量法. 栽培植物分析測定法. 養賢堂. p. 299.
- 3) 吉野 実. 1975. 炭水化物の分別定量法. 栽培植物分析測定法. 養賢堂. p. 333.