

# TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

## 構造観察による米評価技術の開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-06-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 富田, 晴雄 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1761">https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1761</a>

博士学位論文

構造観察による米評価技術の開発

平成 30 年度  
(2019 年 3 月)

東京海洋大学大学院  
海洋科学技術研究科  
応用生命科学専攻

富田 晴雄



博士学位論文

構造観察による米評価技術の開発

平成 30 年度  
(2019 年 3 月)

東京海洋大学大学院  
海洋科学技術研究科  
応用生命科学専攻

富田 晴雄

# 目次

1. 序論.....	1
1.1. 社会的背景.....	1
1.2. 技術的背景.....	2
1.2.1 澱粉.....	2
1.2.2 澱粉食品.....	3
1.3. 本研究の狙い.....	6
1.4. 参考文献.....	7
2. 偏光画像観察による浸漬米吸水状態の定性・定量評価手法の開発.....	11
2.1. 緒言.....	11
2.2. 実験方法.....	12
2.2.1. サンプル.....	12
2.2.2. 偏光顕微鏡観察.....	12
2.2.3. 画像解析.....	12
2.2.4. MRI.....	13
2.2.5. 水分率.....	14
2.2.6. 計算.....	14
2.2.7. 統計分析.....	15
2.3. 実験結果と考察.....	16
2.3.1. 吸水状態の可視化.....	16
2.3.2. 吸水状態の定量化.....	20
2.3.3. 計算.....	24
2.3.4. 各指標間の相関分析.....	34
2.4. 結言.....	35
2.5. 参考文献.....	36
3. 浸漬条件の異なる炊飯米の微細構造とテクスチャーの関係性評価.....	38
3.1. 緒言.....	38
3.2. 実験方法.....	38
3.2.1. サンプル.....	38
3.2.2. 水分率.....	39
3.2.3. 糊化度.....	40
3.2.4. SEM 観察.....	40
3.2.5. テクスチャー.....	41
3.2.6. 統計処理.....	41
3.3. 実験結果と考察.....	42
3.3.1. 物性評価.....	42
3.3.2. 構造観察.....	43
3.3.3. テクスチャー.....	51

3.3.4. 各指標間の相関.....	53
3.4. 結言.....	55
3.5. 参考文献.....	56
4. XRD による米飯の老化定量化手法の開発.....	58
4.1. 緒言.....	58
4.2. 実験方法.....	59
4.2.1. サンプル.....	59
4.2.2. XRD.....	60
4.2.3. DSC.....	60
4.2.4. <i>In-situ</i> XRD.....	60
4.3. 実験結果と考察.....	61
4.3.1. XRD.....	61
4.3.2. DSC.....	64
4.3.3. <i>In-situ</i> XRD 測定.....	65
4.3.4. 各指標間の相関.....	66
4.3.5. パンの老化評価.....	67
4.4. 結言.....	68
4.5. 参考文献.....	69
5. 総括.....	71

## 1. 序論

### 1.1. 社会的背景

米や小麦、じゃがいもなどの澱粉食品は、炭水化物を多く含むエネルギー源として、食生活に欠かせないものであり、特に日本では米が日本の気候・風土に適した作物であることから、古くは縄文時代から今も日本人の主食として位置付けられている。しかしながら、食の欧米化や減反政策などにより、米の生産量ならびに消費量は減少の一途をたどっており、現在では1960年と比べて半分以上の消費量になっている（農水省「食料需給表」より）。今後人口減少によりさらに消費量の減少が見込まれる中、新品種の開発による米の多品種化や、機能性の高い米（無洗米、発芽玄米、低タンパク米、高ビタミン米など）の開発など米の消費拡大を図る動きが活発になってきている。

Yokoo ら (2005)は、日本における水稻の作付面積の推移を調査した結果、作付面積上位5品種が全体の作付面積に占める割合が1960年では26%に過ぎなかったのが、2000年時点で67%を占めるようになったと報告しており、米穀安定供給機構の調べでは2016年時点の品種別作付面積はコシヒカリ、ひとめぼれ、ヒノヒカリの3品種だけで50%超を占めており、あきたこまち、ななつぼしを加えると全体の65%であることが示されていた。多くの研究や開発はこういった作付面積上位の品種をターゲットとしてきたことが推察される。一方で、日本には2014年度末時点で594種類もの米が登録されており、ごはん用だけでも260種類以上作付されている。その上、近年毎年のように新品種の米が発売されており、その多くが食味評価で特Aランクをとるなど高評価を得ている中、最近の高機能炊飯器では20~40種類もの銘柄炊きモードが搭載されてきている。今後、地産地消の流れの中でこういった多種多様な米を適切に炊き分ける技術がより重要となることが予想される。

また、消費の点でも従来の家で炊き立てのご飯を食べる内食スタイルから、スーパーの惣菜などの中食または外食で食事する機会が増加してきており、農水省の主食用米の用途別消費量推移調査によると中食・外食での米消費が全体に占める割合は昭和58年の18%から平成20年には36%と倍増していた。よって、炊飯直後のご飯のおいしさだけでなく、チルドや冷凍などでの保管後もおいしさを長く維持するための炊飯や保管の技術開発が必要となってきている。

本研究では、上記のように家庭での炊飯から、食品産業における中食・外食の米飯調理、米加工品を含めて、米を取り巻く環境が大きく変わってきている中で、多種多様な米を適切に炊き分け、食味を向上させるとともに、その食味を維持するために重要となる、調理・加工プロセスにおける米の変化を捉えるための評価技術の開発を行なった。

## 1.2. 技術的背景

米飯をはじめとする澱粉食品は、調理・加工プロセスにおいて吸水・糊化・老化という物理化学変化を通じて外観や物性が大きく変化し、食味に影響を与える。これらの現象のメカニズムを解明し、正しく評価できるようになることは食味の向上だけでなく、生産性の向上や、製造の安定化を図る上で非常に重要である。これまでに澱粉科学の分野では澱粉の構造解明や糊化・老化特性評価など、調理科学の分野では澱粉の集合体としての澱粉食品の調理・加工操作時の挙動解明や、食味との関係性評価など多岐に渡る多くの研究がなされている。詳細は二国らによる澱粉科学ハンドブックや Hizukuri (1970)、Kainuma (2012)、Suzuki (1999)らの総論に譲り、ここでは調理における澱粉の挙動について述べる。

### 1.2.1 澱粉

澱粉は緑色植物の光合成によって根や茎、胚乳部分に蓄積される最小単位がグルコース（ブドウ糖）からなる炭水化物であり、グルコースが $\alpha$ 1-4結合によって重合し、直鎖状に連なったアミロースと $\alpha$ 1-6結合で枝分かれしたアミロペクチンからなる直径数 $\mu\text{m}$ ～数十 $\mu\text{m}$ の澱粉粒が細胞小器官であるアミロプラストに単独もしくは複数存在する物質である。アミロースは分子量が比較的小さく、熱水抽出されるのが特徴であり、アミロペクチンは分子量が比較的大きく、熱水抽出されず、枝分かれ構造中に水を保持できるためアミロースよりも老化しにくい。澱粉は植物から抽出されるが、植物によって澱粉粒の大きさやアミロースとアミロペクチンの割合、糊化のしやすさなどが大きく異なる(Table 1-1)。また、同じ植物でも米の場合ではジャポニカ米とインディカ米では特性が異なるが、これは従来は見た目のアミロース量が大きく異なるとされていたが、近年ではインディカ米のアミロペクチン中にアミロースより分子量が小さい長鎖構造が存在しているためだと言われている。またジャポニカ米でも粳米と糯米でアミロース量が大きく異なるなど、植物種だけでなく、品種によっても大きく異なってくる。

これらの構造は強い水素結合によって会合しているが、澱粉粒を水の存在下で加熱すると高温で不安定になった澱粉の水素結合が破壊され結晶構造がなくなり、自由に水和し始めることで大きく膨潤し始める。この現象を“糊化”といい、その後加熱を続けるとアミロースが溶出して最終的には粒が崩壊する現象が生じる。糊化した澱粉を放置すると、水素結合は低温になるに従い安定化し、澱粉分子の水素結合が形成され、水分子と澱粉分子の分離が起こり、全体として疎水性を増すことで沈殿が生じる。この現象を“老化”といい、最終的には元の結晶構造に近い構造をとるようになる (Hizukuri ら (1970))。



Table 1-1. Characteristics of several starches. (澱粉科学ハンドブック：二國二郎監修より)

	Rice	Rice (Waxy)	Flour	Corn	Potato	Tapioca
<b>Moisture content (%)</b>	10- 12	12- 13	13- 14	13- 14	18- 20	13- 15
<b>Starch particle size (μm)</b>	2- 10	2- 10	2- 40	6- 30	2- 100	4- 35
<b>Amylose content (%)</b>	15- 25	0	21- 27	21	20- 22	16- 17
<b>Amylopectin content (%)</b>	75- 85	100	73- 79	79	78- 80	83- 84
<b>Gelatinization temperature (°C)</b>	61- 77.5	58- 80	52- 63	62- 72	56- 66	58.5- 70

## 澱粉評価技術

構造変化を評価する手法として、Katz ら (1930)は X 線回折と偏光観察による結晶構造ならびに複屈折性の消失を利用した結晶構造評価を、Hizukuri ら (1960)は X 線回折と粘性評価による結晶構造消失に伴う粘性の増加を利用した粘度測定を、Kainuma ら (1981)はβ-アミラーゼ・プルラーゼ酵素を用いた糊化・老化澱粉の化学的分析法 (BAP 法) を構築し、現在でも糊化や老化の評価に利用されている。上記以外にも濁度法や DSC 法などの手法も構築されてきたが、Matsunaga ら (1985)は、BAP 法と濁度法、DSC 法、X 線回折の 4 手法について炊飯過程での糊化度の比較を行ない、糊化を示す変化は XRD が最も早く変化しており、DSC、濁度法、BAP 法の順で炊飯の後期で糊化の進行を示すようになる。これらの手法の中では酵素を用いる BAP 法が最も感度が良いと報告されていた。このような糊化を間接的に評価する手法に対し、上述のように食感を反映しているとされる直接的な米飯評価手法として画像観察やテクスチャー測定も米飯の糊化度合いの評価に用いられるようになってきた。

### 1.2.2 澱粉食品

澱粉食品はこれらの澱粉が澱粉粒単独としてではなく、アミロプラストや胚乳細胞などの組織の中に存在することや、タンパク質、脂質などと複雑に絡み合うため、それらの影響を考慮することが必要となる。例えば、澱粉を糊化させるためには約 30%程度の水分が最低限必要となるが (Miura ら (2003))、Table 1-1 のように初期水分は 20 %以下であるため糊化のための“加熱操作”の前に“吸水操作”を行なうことで食品内部までの糊化を容易にする。また、“加熱操作”時の加熱方法や加熱後の“保存操作”によっても糊化度合いや老化度合いが異なってくるため、各操作時に生じる物理化学変化を把握する必要がある。

## 吸水

穀物を調理する上で、乾燥状態から糊化可能な状態へと移行させる吸水操作は不要な成分の除去や機能性成分を生成したり、調理を容易にしたりする重要な工程である。前者に関しては植物が生育する過程における生理的な活動（栄養蓄積や発芽など）を人工的に生じさせており、例えば、Albarracin ら (2013)や Liang ら (2009)、Vijayakumari ら (2007)、Lestienne ら (2005)がマグネシウムや亜鉛、銅、鉄などのミネラルを体内から排出させてしまうフィチン酸の除去に吸水操作が有効であると報告している。また、もみ殻のまま部分的に茹でるパーボイルド米や発芽玄米もビタミンや $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA)など栄養的な観点から注目されており、Miah ら (2002)や Thakur ら (2006)、Horie ら (2003)はそこでも吸水は重要な役割をすることを述べている。さらに、Yamada ら (2006)は低アレルギー米を作成する上で塩溶液への浸漬が有効であることを報告している。

後者に関しては、穀物を調理前に水に浸すことは、高い栄養で、消化しやすくし、調理された際によりおいしくするための伝統的な習慣であり、地域や食材、調理法によっては浸漬の仕方も変わってくる。例えば小豆や玄米は吸水しにくいために一晩浸漬する必要があるが、大豆や精白米は吸水しやすいために短時間の浸漬で充分であり、パエリアなどの調理では浸漬が必須ではないなど、求める料理と密接に関係する。パスタでは形状加工をしてから吸水させることで調理時間を大幅に短縮した商品が出ているが、米の場合では $\alpha$ 化米やフリーズドライ米飯のような商品を除いて、一般的には浸漬温度を高くすることで吸水時間を短くするケースが多く、炊飯器でも 40℃から 60℃で短時間予備吸水させることで早炊きモードを実現しているものが多い。一方で、Arai ら (1997)は加温浸漬ではデンプン流出と酵素反応により粘りが生じると述べており、Kato ら (2013)は米の浸漬温度が 65℃以上では米が割れやすく、炊飯時に中身が溶出してしまうため品質の高くない米飯ができてしまうと報告しており、高温吸水した場合に米飯の品質が維持できるかが課題である (Fukai ら (2006))。また、浸漬液となる水の質についても、Ito ら (2004)は調味料を含むことで吸水速度や量に影響を与えると報告している。Kainuma (2000)らは吸水が不十分の場合、糊化の進行が遅くなり、糊化が不十分だと老化もしやすくなると報告しており、炊飯直後だけでなく、保存した米飯の品質も吸水状態の影響を大きく受けることが示唆されている。

このように吸水操作によって食に適した状態に変化させるだけでなく、付加価値をつけることが可能である一方で、吸水操作を間違えると料理の品質を下げってしまうため、浸漬工程の適切な管理が必要である。その上、吸水特性は品種、産地、収穫年度、貯蔵期間など食品によるものだけでなく、吸水させる水の温度、成分などの浸漬条件によっても影響を受けることはよく知られており、浸漬工程での吸水状態を正しく評価できることが求められている。

## 糊化

吸水後の米は加熱操作により糊化し、消化しやすい米飯になるとともに、澱粉やタンパク質の分解により糖やアミノ酸などが生成され、米飯の食味が形成される。水分は吸水操作によって得られた分に加え、加熱中も吸水されることで糊化に必要な水分が蓄えられる。吸水量だけでなく水質も炊飯に影響すると言われており、Mizuno ら (2016)は硬度の高い水で炊飯した場合、黄色味が増し、食味が低下するが、硬度が 300 以下では特に問題ないと報告されていた。また、加熱についても Kasai ら (2000)や Mahasi ら (2007)が加熱条件(昇温速度や時間)によって生じる還元糖やアミノ酸が異なってくることを報告されており、さらに Tsuyukubo (2013)は、米内在酵素であるアミラーゼやブドウ糖酵素、グルコシダーゼなどは活性温度帯が異なるため加熱過程の中でも酵素が働くタイミングが異なることを報告されており、米の持つ酵素の活性を最大化するような加熱方法を設定することが味を引き出すうえで重要であることが示唆される。このように米飯の食味は米の品種だけでなく、加熱方法によっても大きく影響を受けることが分かる。

一方で、米飯の食味は食感など物理的要因が大きな割合を占めていると考えられている(Kainuma ら (1994))。Takahashi ら (2000)は官能評価における硬さと相関が高いのは飯粒全体の硬さであり、粘りは表層の粘りとの関係性が高いと述べており、光学顕微鏡や電子顕微鏡などによる米飯の微細構造の直接評価も行われるようになってきた(Ikeda ら (1996)、Takahashi ら (1997, 2000, 2001)、Ogawa ら (1999)、Matsuda ら (2001)、Yadav ら(2007))。Takahashi ら (2001)は一定の条件下で前処理した試料を走査型電子顕微鏡(SEM)で澱粉粒の構造変化を直接観察した結果、良食味米と低食味米では炊飯後の澱粉粒の微細構造が異なることを報告されていた。近年の炊飯技術の進歩により、多種・多様な米の品種に対応した高度な炊飯が可能となり、炊飯米の食感(テクスチャー)のわずかな違いを評価する必要性が出てきている中で、糊化時における澱粉の変化を理解することは、米飯の食感を制御する上でさらに重要になってきている。

## 老化

炊飯後の米飯は炊飯直後から徐々に老化し始め、ぼそぼそとした食感になることで食味が大きく低下する。老化は生米のアミロース割合が多いほど、米飯の水分が少ないほど、糊化度が低いほど進行しやすく、米飯粒の内側から進行する(Hizukuri (1970)、Tuji (1983))。そのため、おにぎりや弁当など炊飯後に時間が経過してから喫食する用途では低アミロース米を利用したり、炊飯時に含水率を高く炊き上げたりすることで保存性を高める対策が取られている。また、水分の離水防止用に糖や食物繊維を添加剤として用いる取り組みもなされている(Hirata (2009)、Yamauchi ら (2013))。糊化度を高める取り組みとしては、蒸気炊飯やゆとり炊飯など米への伝熱を増大させる炊き方によ

って保存性を高めることができている (Takemitsu ら (2013)、Yasuda ら (1976))。ただ、これらの対策は食味にも影響するため、一般的な米飯で食味を維持できることが望ましいと考えられる。

### 1.3. 本研究の狙い

本研究では米飯を対象に、吸水、炊飯、保存の各プロセスで新たな評価技術を開発し、多種多様な米の特性を引き出し、最大化することを目的としている。

本研究では米の浸漬過程における吸水状態、糊化状態を反映した炊飯米の食感、さらに炊飯後の貯蔵における米飯の老化状態の新たな評価技術の開発を行なった。

第二章で、炊飯後の米飯の品質を安定化させる上で重要となる浸漬工程について、簡易な手法による浸漬米の吸水状態の可視化・定量評価を目指し、デジタルマイクロスコープの偏光システムを利用して、リアルタイムに取得した偏光画像の画像処理による吸水状態評価法の開発およびその検証について述べた。

第三章では、多種・多様な米の品種に対応した高度な炊飯が可能となり、炊飯米の食感（テクスチャー）のわずかな違いを評価する必要性が出てきている中で、食感の違いを構造観察により定量的に評価する手法の提案とその検証を行なった。炊飯前の浸漬条件を変えて食感が異なる米飯を作製し、走査型電子顕微鏡（SEM）による構造観察とテクスチャー測定により両者の関係を調べた。

第四章では、コンビニおにぎりやチルド米飯の普及に向けて重要となる、炊飯後の澱粉の老化について、X線回折の従来とは異なるピーク ( $2\theta=5.5^\circ$ )を用いた評価法の提案と検証を行なった。アミロースおよびアミロペクチン含量の異なる品種の米を炊飯し、5°Cで数日間保管した際の老化度合いを本技術および熱分析法（DSC）で評価した。

今後、本研究で開発した浸漬状態の評価技術を利用し、米の吸水特性を簡易に把握することで世の中に500種以上ある米の特性を引き出す炊飯の実現や弁当工場などでの炊飯品質の安定化、品種改良などへのフィードバックなど、農業・製造業・サービス業への活用を目指したい。また、糊化状態や老化状態の評価技術についても、今後ますます増加する中食や外食において、炊き立てのご飯の食味をさらに向上させるとともに、おいしさを長く維持するための炊飯・保存技術の開発や添加剤の開発など食産業の発展に貢献していきたい。

#### 1.4. 参考文献

- Albarracin, M., Gonzalez, R. J., Drago, S. R. (2013). Effect of soaking process on nutrient bio-accessibility and phytic acid content of brown rice cultivar. *LWT- Food Science and Technology*, 53, 76-80.
- Fukai, Y., Okamura, O., Tukada, K. (2003). Influence of Period and Temperature of Soaking on Quality of Cooked Rice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 53, 592-595.
- Hirata, T. (2009). Effects of trehalose on texture of cooked rice. *Bulletin of Hiroshima Prefectural Technology Research Institute Food Technology Research Center*, 25, 1-4.
- Hizukuri, S., Fuji M., Nikuni, J. (1960). X-Ray Diffractometric Studies on Starches. (V) Relation between Viscosity Change and Micelle Structure in the Gelatinization of Starches. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 34, 178-182.
- Hizukuri, S. (1970). Rice cooking and retrogradation of starch. *Journal of Cookery Science*, 3, 225-229.
- Horie, N., Higashiguchi, S., Horie, K., Kimu, M. (2003). Development of food materials 'farmer GABA' contained with GABA of high content. *The Food Industry*, 46, 60-67.
- Horigane, A.K., Takahashi, H., Maruyama, S., Ohtsubo, K. and Yoshida, M. (2006). Water penetration into rice grains during soaking observed by gradient echo magnetic resonance imaging, *Journal of Cereal Science*. 44, 307-316.
- Ikeda, H., Kimura, T., Saiki, Y., Ogawa, K., Tomoda, K., Kuchiba, N. (1996). Relation between the Physicochemical Properties and the Structures of Cooked Rice (Part 1). *Journal of Home Economics of Japan*, 47, 877-887.
- Ito, J., Kasai, M., Kainuma, Y., Hatae, N. (2004). The Effect of the Various Seasonings on Cooking Properties of Rice (Part 1). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 51, 531-538.
- Kainuma, Y. (1994). Cooking on Rice. *Journal of Cookery Science*, 27, 287-293.
- Kasai, M., Ishiguro, K., Kyouda, H., Hamazono, T. (2000). Change in the Amounts of Reducing Sugars and Free Amino Acids in Rice during the Cooking Processes. *Journal of Home Economics of Japan*, 51, 579-585.
- Katz, J. R., Itallie, T. B. (1930). The physical chemistry of starch and bread making. V. All varieties of starch have similar retrogradation spectra. *Z. Physik. Chem*, 150, 90-99.
- Lestienne, I., Icard- Verniere, C. Mouquet, C., Picq, C., Treche, S. (2005). Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry*, 89, 421-425.
- Liang, J., Han, B., Nout, M. J., Hamer, R. J. (2009). Effect of soaking and phytase treatment on phytic acid, calcium, iron and zinc in rice fractions. *Food Chemistry*, 115, 789-794.

- Mabashi, Y., Ookura, T., Kasai, M. (2007). Effects of Rate of Temperature Increase and Holding Temperature Durin Cooking on the Amounts of Chemical Components in Rice Grains. *Journal of Cookery Science*, 40, 323-328.
- Matsuda, T., Chonan, N., Tutiya, T. (2001). Fine structure and taste of cooked rice. *Japanese Journal of Crop Science*, 58, 259-260.
- Matsunaga, A., Ishida, N., Kainuma, K. (1985). Degree of Gelatinization of Starch during the Cooking Process of Rice. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 32, 797-803.
- Matsunaga, A. (1986). Comparative Studies on Methods to Determine the Degree of Gelatinization and Retrogradation of Starch. *Bulletin of Ibaraki Women's Junior College*, 13, 96-106.
- Miah, M. A. K., Haque, A., Douglass, M. P., Clarke, B. (2002a). Parboiling of rice. Part I: Effect of hot soaking time on quality of milled rice. *International Journal of Food Science & technology*, 37, 527–537.
- Miah, K., Haque, A., Douglass, M. P., Clarke, B. (2002b). Parboiling of rice. Part II: Effect of hot soaking time on the degree of starch gelatinization. *International Journal of Food Science & technology*, 37, 539–545.
- Miura, Y. (2003). Thermal Analysis on Gelatinization and Retrogradation of Starch. *Bulletin of Hiroshima Jogakuin University*, 53, 79-87.
- Mizuno, C., Takamura, H. (2016). Effects of Mineral Waters Different in Hardness on the Properties and Preference of Cooked Wash-free Rice. *Food and Clinical Nutrition*, e2016, 1-12.
- Ogawa, K., Kimura, T., Wada, M., Nishimura, M., Itoh, S., Yamada, M. (1999). Comparison of Sample Preparation Methods for Observing Cooked Rice by Scanning Electron Microscopy. *Journal of Home Economics of Japan*, 50, 1281-1289.
- Otahara, M., Hatae, K., Shimada, A. (1995). Objective Evaluation of Staling of Cooked Rice. *Journal of Home Economics of Japan*, 46, 841-848.
- Schoch, T. J. (1942). Fractionation of Starch by Selective Precipitation with Butanol. *JACS.*, 64, 2957-2961.
- Schoch, T. J. and Maywald, E. (1956). Microscopic examination of modified starches. *Anal Chem.*, 28, 382-2-2-87.
- Suzuki, A. (1999). *Cookery Science of Starchy Foods: The Structure and Function of Starch*. *J. Appl. Glycosci.*, 46,65-74.
- Takahashi, K., Wada, K. (1981). Thermal Analysis of Food. *Science of Cookery*, 14, 152-1-161.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Okazaki, N., Chonan N. (1997). Influences of Storage Period and Condition on

- the Fine Structure and Taste of Cooked in Milled Rice. *Tohoku Journal of Crop Science*. 40, 59-60.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Nitta, Y. (2000). Fine structure and taste of cooked rice. *Japanese Journal of Crop Science*, 69, 38-39.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Nitta, Y. (2001). Time-Course Changes of the Fine Structure of Rice Starch Grains during Cooking Process by Scanning Electron Microscopy. *Japanese Journal of Crop Science*, 70, 47-53.
- Takahashi, S. (2011). *Cookery Science of Starch*. *J. Appl. Glycosci.*, 1, 23-28.
- Takeda, Y. (2011). *Structure of Starch*. *J. Appl. Glycosci.*, 1, 13-16.
- Thakur, A. K., Gupta, A. K. (2006). Water absorption characteristics of paddy, brown rice and husk during soaking. *Journal of Food Engineering*, 75, 252-257.
- Tsuji, S. (1983). Reexamination of the State Analysis of Cooked Rice on Staling by X-Ray Diffractometer. *Journal of Home Economics of Japan.*, 34, 200-205.
- Tsuyukubo, M. (2013). Distribution of starch degrading enzymes in rice grains and elution behavior of them during rice cooking. *Journal of Cookery Science*, 46, 145-152.
- Takemitsu, H., Hayashi, Y., Sako, Y., Kitamura, S. (2013). Taste and Freshness of Cooked Rice Using a Superheated Steam Rice Cooking Machine. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 60, 628-634.
- Vijayakumari, K., Pugalenth, M., Vadivel, V. (2007). Effect of soaking and hydrothermal processing methods on the levels of antinutrients and in vitro protein digestibility of *Bauhinia purpurea* L. seeds. *Food Chemistry*, 103, 968-975.
- Yadav, B. K., Jindal, V. K. (2007). Dimensional changes in milled rice (*Oryza sativa* L.) kernel during cooking in relation to its physicochemical properties by image analysis. *Journal of Food Engineering*, 81, 710-720.
- Yamada, C., Nabeta, S., Yamamoto, M., Izumi, H., Matsuda, T., Kato, Y. (2006). Decrease in Rice Allergens by Soaking in NaCl Solution. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 53, 583-586.
- Yamada, C., Izumi, M., Kato, Y. (2006). Allergenic Proteins in Rice and Hypoallergenic Rice Products. *Kawasaki Journal of Medical Welfare*, 16, 21-29.
- Yasuda, T., Shimomura, M., Yamazaki, K. (1976). Cooked Rice by Yutori Method. *Journal of Home Economics of Japan*, 27, 29-32.
- Yokoo, M., Hirao, M., Imai, T. (2005). Annual Change in Leading Rice Varieties between 1956 and 2000 in Japan. *Bulletin of the National Institute of Crop Science*, 7, 19-125.
- 公益社団法人米穀安定供給確保支援機構平成 29 年産水稻の品種別作付動向について :

<http://www.komenet.jp/pdf/H29sakutuke.pdf>

二國二郎（監修），中村道徳，鈴木繁男（編）：澱粉科学ハンドブック，朝倉書店，1977，p632.



## 2. 偏光画像観察による浸漬米吸水状態の定性・定量評価手法の開発

### 2.1. 緒言

穀物を調理する上で、乾燥状態から糊化可能な状態へと移行させる“吸水操作”は調理を容易にしたり、不要な成分を取り除いたりする重要な工程である。例えば、Albarracin ら (2013)や Liang ら (2009)、Vijayakumari ら (2007)、Lestienne ら (2005)がマグネシウムや亜鉛、銅、鉄などのミネラルを体内から排出させてしまうフィチン酸の除去に吸水操作が有効であると報告している。また、もみ殻のまま部分的に茹でるパーボイルド米もビタミンなど栄養的な観点から注目されており、Miah ら (2002)や Thakur ら (2006)はそこでも吸水は重要な役割をすることが知られている。さらに、調理前に米粒を浸すことは、調理された米をよりおいしく、高い栄養で、消化しやすくするための伝統的な習慣である。米粒の吸水特性は品種、産地、収穫年度、貯蔵期間など米によるものだけでなく、吸水させる水の温度、成分などの浸漬条件によっても影響を受けることはよく知られている。炊飯米の品質は米粒の吸水状態の影響を大きく受けるため (Kainuma (2000), Tomita ら (2015))、浸漬工程での吸水状態を適切に評価する必要がある。

吸水状態の分析に最も一般的かつよく使われている方法は、赤外線水分計や乾燥オーブンなどを用いて米粒全体の平均的な含水量を重量測定するものである。また、吸水過程の分析には、重量測定結果を用いた含水量変化の水の浸透シミュレーションなどの研究も多く行なわれており、Murata ら (1996)は米や麦などの穀物の吸水を減率乾燥第二段過程の逆過程とし、Thakur & Gupta (2006)や Kashaninejad ら(2007)は粒内のゼロ次元拡散モデルで、Bello ら (2010)や Tagawa ら (2003)は穀物の粒内での球形非線形拡散モデルで、Perez ら (2011)や Sato ら(2011)はジャポニカ米についての3次元解析モデルを提案した。これらの研究では、より直接的な観察手法や可視化データを用いて、水の浸透の多次元的情報が得られる方がより望ましいと思われる。

米粒が吸水した水分量は重要な情報ではあるが、より多次元的な解析を行なう上では限界がある。その点では、MRI を用いた非破壊分析は2次元、3次元的な吸水状態を観察できる非常に有効な手法である。Takeuchi ら (1997a, b)や Mohoric ら (2004)は茹で中の米の水分浸透の観察を、Ishida ら (2004)は収穫後の米粒の水分減少の観察を、Horigane ら (2013)は浸漬中の米の水分浸透の観察にMRIを用い、米粒内の水分変化を明らかにした。しかしながら、MRIによる分析は、操作に特殊技能が必要なこと、利便性に欠けること、装置が高額であることなどから工業的に活用することは困難であり、米粒中の水分状態を容易に観察でき、定量評価も可能な評価手法が必要であると考えられる。このような理由から、本研究では、デジタルマイクロスコープを用いた画像観察による吸水中の米粒の水分状態の可視化および定量化手法の開発を目指した。

## 2.2. 実験方法

### 2.2.1. サンプル

試料米は 2013 年丹波産コシヒカリの精白米を使用した。ひび割れのある米粒や中心部の白い米粒はあらかじめ除外して下記実験を行った。

### 2.2.2. 偏光顕微鏡観察

米粒は吸水することで白濁した外観が透明へと変化していくが、この現象を利用し、偏光によって変化を強調することで米粒の吸水状態の変化を評価した。まず、表面の汚れ除去のため手のひらの上で米粒を軽くすすぎ、約 10 ml の脱気水を入れたガラスシャーレに米粒を 4 粒投入し、偏光レンズを装着したデジタルマイクロスコープ（キーエンス製 VHX-2000）で米粒投入と同時に動画撮影を開始した。なお、ペルチェ素子で温度調節を行うことで、浸漬時の水温を 10 °C、25 °C、40 °C、55 °C に保持した。

次に、吸水状態の定量評価のため、撮影後の動画を任意の時間で静止画像として切り出し、画像処理により各米粒の平均輝度と投影面積を算出した。静止画像には浸漬直後、2、5、10、20、30、40、50、60、120 分後の画像を用いた。

### 2.2.3. 画像解析

#### 平均輝度

静止画像を画像編集用フリーソフト ImageJ で RGB 画像から白黒画像に変換し、各ピクセルを 0~255 の 256 階調（0 が黒、255 が白）で数値化した。なお、画像の画素数は 196 万ピクセルで、撮影範囲は 1.39 cm<sup>2</sup>であったため、1 ピクセルは 72.6 μm<sup>2</sup> (7.4 μm × 9.8 μm) の情報の平均となる。

次に各米粒の輝度のヒストグラムを得るため、画像を 4 つに分割し、それぞれの画像の全ピクセルを米粒の輝度である 50~200 の範囲で 10 ずつの 15 領域に区切り、各領域に含まれるピクセル数 ( $N_i$ ) ( $i$  is the region number,  $i=1-15$ ) を求めた。さらに、各領域の頻出度合い ( $F_i$ ) を求めるため、各領域のピクセル数を米粒の総ピクセル数で割ることで規格化を行った (Eqs. 2-1)。

$$F_i = \frac{N_i}{\sum_{i=1}^{15} N_i} \quad (i = 1 - 15) \quad (2-1)$$

なお、50 以下の輝度のピクセルはノイズのみ、200 以上は背景部分の水であったため、上記の計算をする上で除外することにした。最後に、米粒の輝度 ( $B_{ave}$ ) を各領域の頻度と中央値 ( $B_{1/2}(i)$ )

の積の合計から求めた (Eqs. 2-2)。

$$\text{average}B = \sum_{i=1}^{15} \frac{B_1(i)}{2} \times F_i \quad (2-2)$$

### 投影面積増加

米粒の投影面積は、上述のように米粒の輝度が 50~200 の範囲であるため、その範囲内の合計ピクセル数を投影面積とした。浸漬直後の投影面積を 100 とし、その後の吸水による面積増加を面積増加率としてあらわした。

#### 2.2.4. MRI

MRI 測定は、磁場 9.4 T の NMR spectrometer (Bruker BioSpin 製 AVANCE400WB)、ワイドボアタイプ・マイクロイメージングアクセサリ付きを使用し、パルスプログラム mic-msme (マルチスライスマルチエコー法) で米一粒の 2 次元  $^1\text{H}$  画像を取得した。直径 5.0 mm のバードケイジ型 RF コイル中央に、外径 5.0 mm の NMR 試験管をセットし、あらかじめ蒸留水を入れた試験管に蛍光式光ファイバー温度計 (フォトンコントロール製 Fluo Temp) を挿入して、NMR マグネット内で目的の温度に到達するまで加熱/冷却をおこなった。目的の温度に達したのち、プローブを取り外し、NMR 試験管内に米粒一粒を入れるとともに、光ファイバー温度計も挿入したのち、再びプローブをマグネットへ挿入した。試験管内の蒸留水へ投入したタイミングを浸漬開始時間とした。

NMR 内の試料加熱制御は、コンプレッサーからプローブ内・ラジオ波コイルへと流れる空気をプローブ下部から挿入した温度制御用ヒーターによって加熱し、ラジオ波コイル直下に設置された白金抵抗測温体温度計で計測される温度を指標としてヒーター出力が自動制御されるようになっている。空気流量 270 L/h、ヒーター出力 5 % に設定して実験を行った。

一方、冷却実験は、コンプレッサーからの空気を冷却空気発生装置マイクロクーリングモジュール (エアプロ製 UCM-T1) に導入し、これをプローブへ接続することで、低温の空気をプローブ・ラジオ波コイルへ導入するものである。(本クーリングモジュールはボルテックス・チューブを利用したものである) これと先に述べた温度制御用ヒーターを併用することで、目的温度を維持した。コンプレッサーからクーリングモジュールへ導入した圧縮空気は流量約 50 L/min、圧力約 1.3 MPa であった。加熱・冷却ともに、試料とともに NMR 試験管内へ挿入した光ファイバー温度計が示す温度をモニタリングしながら目的温度を維持するようにした。

計測時の繰返し時間は 150 ms、エコー時間は 3.836 ms、画像マトリックスは 256×256、スライス厚さは 0.5 mm であり、空間分解能は 39×39×500  $\mu\text{m}^3$ 、積算回数は 6 回、1 スキャンにかかる時間は 3 分 50 秒で測定した。

### 2.2.5. 水分率

浸漬により米粒が吸水した量を測定するため、試験管に米粒を 5 g 入れ、そこに水を 50 cc 入れて所定の浸漬温度（10、25、40 ならびに 55 °C）および時間（浸漬直後、2、5、10、20、30、60 ならびに 120 分）で浸漬後に、浸漬液ごと試験管から茶こしに移し、水を切ってからペーパータオルで荒拭きすることで余分な水分を除去した。その後、水分率計（島津製作所製 MOC63u）で 135 °C で 3 時間加熱した後の重量減少から含有水分率を評価した。

### 2.2.6. 計算

吸水予測モデル構築のため、Murata ら (1996) や Genkawa ら (2011) が穀物の吸水特性の解析に用いた、吸水過程を減率乾燥第二段過程の逆過程として捉えた無限平板拡散モデル(Eqs. 2-3)と実測データを基に、最小二乗法によるフィッティングから拡散係数と飽和水分率を得た。

$$\begin{aligned} \frac{M_e - M}{M_e - M_0} &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{8}{(2n-1)^2 \pi^2} \exp\left\{-\frac{(2n-1)^2 D \pi^2 t}{4l^2}\right\} \\ &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{8}{(2n-1)^2 \pi^2} \exp\{-(2n-1)^2 kt\} \quad (2-3) \end{aligned}$$

ただし、 $D$  : 拡散係数 ( $\text{m}^2/\text{h}$ ),  $M_0$  : 初期水分率 (%d.b.),  $M_e$  : 平衡水分率 (%d.b.),  $t$  : 浸漬時間 (h),  $l$  : 米長辺の長さ (m),  $k$  : 吸水速度定数 (1/h)を表す。Murata らは浸漬時間が長い場合、Eqs. 2-3 の第二項以降は無視できると述べており、本実験においても 10 分以降のデータについては結果に影響を及ぼさないことを確認している。Eqs. 2-3 を展開すると Eqs. 2-4 となり、左辺を実測値および変数  $M_e$ 、右辺を変数  $k$  を用い、エクセルソルバー機能で実測と計算の差が最小になるような平衡水分率  $M_e$  および速度定数  $k$  を求めた。なお、0 分時点では Eqs. 2-3, 2-4 とともに左右の式と等号が成り立たないため、右辺は 0 分を 1 とし、0 分以降ではそのまま計算に用いた。

$$\frac{M_e - M}{M_e - M_0} = \frac{8}{\pi^2} \exp(-kt) \quad (2-4)$$

また、得られた  $M_e$  や  $k$  を用いて Eqs.4' で吸水曲線をグラフ化した。

$$M = M_e - (M_e - M_0) \times \frac{8}{\pi^2} \exp(-kt) \quad (2-4)'$$

ここでは  $M$  として、輝度 (-) や投影面積変化率 (%)、水分率 (%w.b.) をそれぞれ用いた。

### 2.2.7. 統計分析

輝度、投影面積、水分率の相関解析には、SPSS 15.0 for Windows を用いて一元配置分散分析を行い、Tukey の方法により群間の検定を行った。有意水準は 5% 未満とした。

## 2.3. 実験結果と考察

### 2.3.1. 吸水状態の可視化

#### 偏光顕微鏡観察

浸漬開始とともに偏光画像上では米粒の色は吸水によって黒く変化し、時間とともに全体的に黒くなるとともに、黒色の度合い（濃さ）も強くなっていった (Fig. 2-1)。色の変化は胚芽跡や表面全体、特に腹側から始まり、時間とともに中心側へと進行していった。10 °C や 25 °C 浸漬の場合は、浸漬途中で米粒に入ったクラック周辺から急激に黒くなる傾向があったが、40 °C では胚芽跡や周囲からの色の変化の方が支配的であり、さらに 55 °C ではクラック部の線の色がほとんど黒くなっていないように見えた。

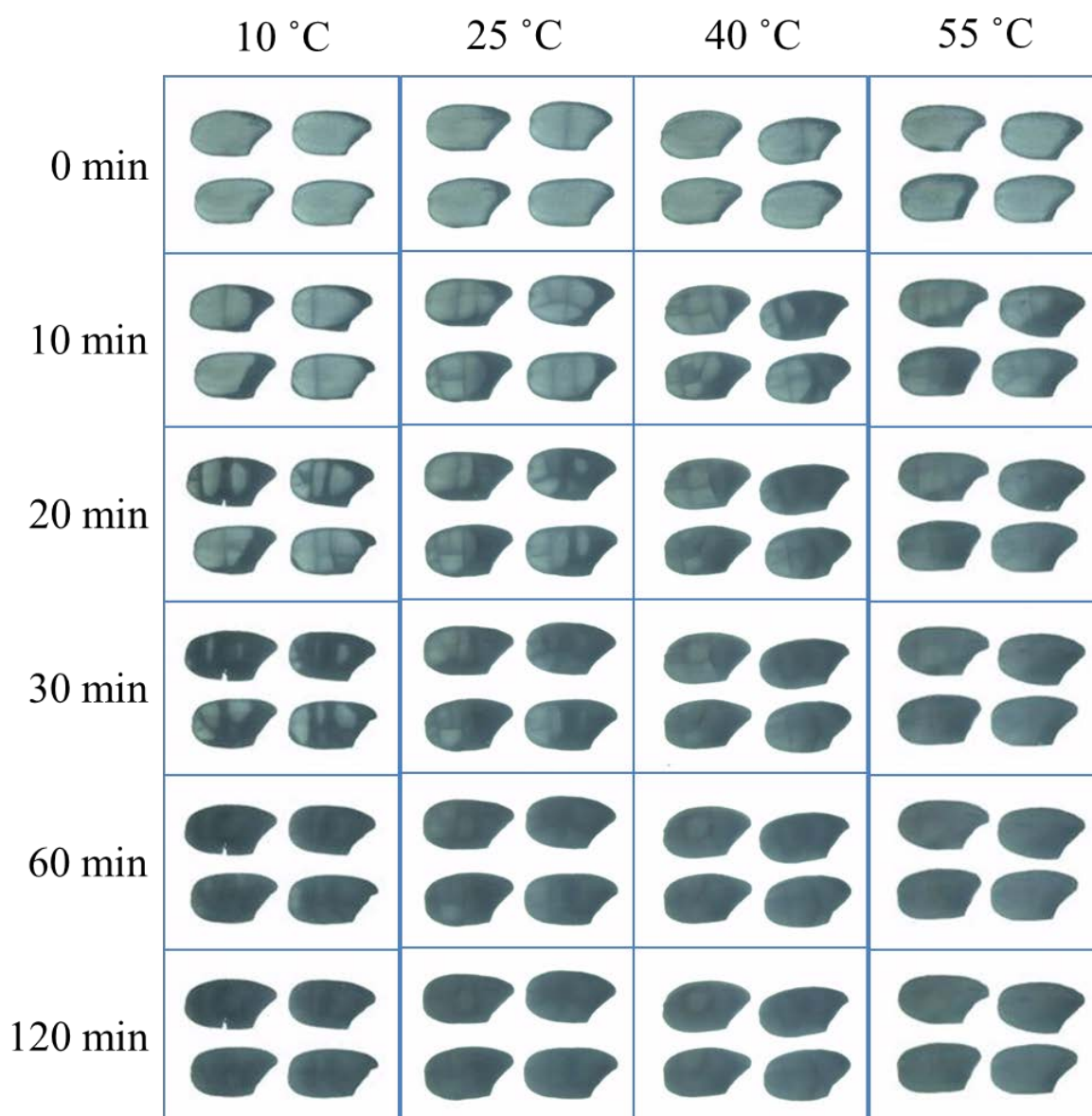


Fig. 2-1. Polarized microscopy images of the rice grains under different soaking temperature (10, 25, 40, and 55 °C) and soaking time (0, 10, 20, 30, 60, and 120 minutes).

また、40 °C では 120 分経過後もクラック近くの部位が黒くなりきっていない米粒も見られており、40 °C や 55 °C といった高温での浸漬ではクラックからの吸水は少ないと考えられる。Genkawa ら (2011) は、吸水によって生じる引張応力が米粒の引張強度を上回った時にオープンクラックが生じると報告しており、低温での引張応力は高温よりも大きいと述べていた。今回の実験で得られた結果も本報告とよく合致した。40 °C や 55 °C では 20 分の浸漬で米粒全体が黒くなる一方、25 °C では全体の 30~ 50 %、10 °C は 10~ 30 % 程度が黒くなった。よって吸水による米粒の色の変化は、高温ほど早く変化することが分かった。

以上の結果をまとめると、低温浸漬では胚芽跡からの吸水は遅く、クラック周辺の部位の吸水も少ないため、クラック形成によって急激にクラックから吸水されたと考えられる。吸水が平衡状態に達している 120 分浸漬では、米粒の黒さ（色の濃さ）は低温浸漬の方が高温浸漬よりも黒いことから、浸漬温度の違いは吸水速度だけでなく、吸水経路や平衡状態の吸水量にも影響を与えていることが示唆された。

### MRI 観察

MRI では、Figure 2-2 のように米粒の背腹方向 (dorsiventral line) と厚み方向 (lateral line) の水分分布の情報が、それぞれ冠状面 (coronal plane) および横断面 (transverse/ axial plane) の観察から得られる。なお、横断面画像の米の上下に見える黒い線は米粒を挟むプラスチック、黒丸はファイバー温度計であり、冠状面胚芽除去部付近にある黒丸もファイバー温度計である。

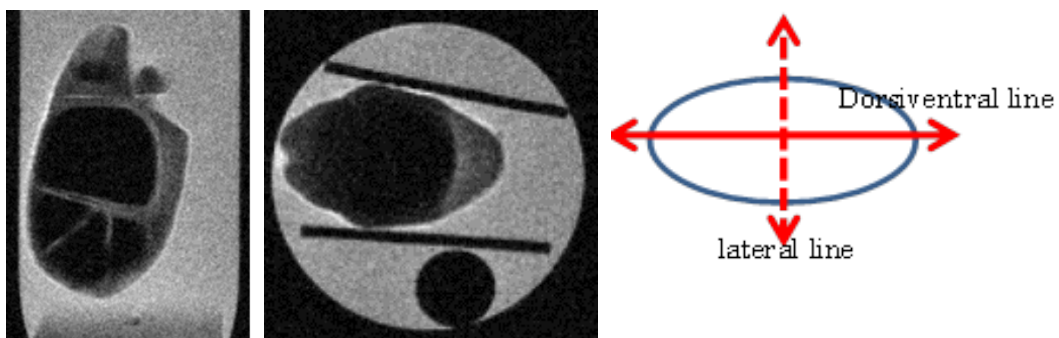


Fig. 2-2. MR image of the soaked rice grain. Dorsiventral profile (left image) obtained by the coronal plane imaging and lateral profile (middle image) obtained by the transverse/axial plane imaging.

10°C で浸漬した場合、Figure 2-3 に見られるように胚芽除去部の直下の腹側が先行して水が浸透する様子が顕著である。背腹方向の水の浸透が、厚み方向に先行する様子は、米粒の硬度の違いを反映して厚み方向に比べて背腹方向の方が容易に浸透するという長門ら (1963) の報告と合致する。これは冠状面の画像からも明確であり、クラックが水の浸透経路になっている様子とともに、

胚芽除去部分と腹側表面からの浸透によって暗視野領域が減少していく様子が観察される。30分においては、背側からの浸透も観察される。さらに浸漬が30分を超えると腹側に局在していた水が内部へ浸透したことによって、より均一な輝度の画像となっている様子が横断面画像からわかる。しかしながら背腹線に沿った中心部で輝度が高くなっており、この領域に多くの水が局在している、または、緩和時間の比較的長い水が局在していると推察される。米中心部に水が局在するという知見は、MRIを用いた Horigane ら (2013)の研究でも報告されており、それに合致する結果となった。一方、冠状面画像40分を見ると、内部に輝度の低い暗い領域すなわち、水が浸透していない領域が背側に近く形成されており、米粒内の水分分布は不均一であることがわかる。

このように浸漬時間に応じて内部の水分分布は異なるが、特に、浸漬時に水が到達していない領域が内部に形成されると、加熱によって糊化が先行する部位の保水能力が過度に上昇することで、益々水不足となり、糊化が不十分な領域が飯粒内に残ることにつながる。

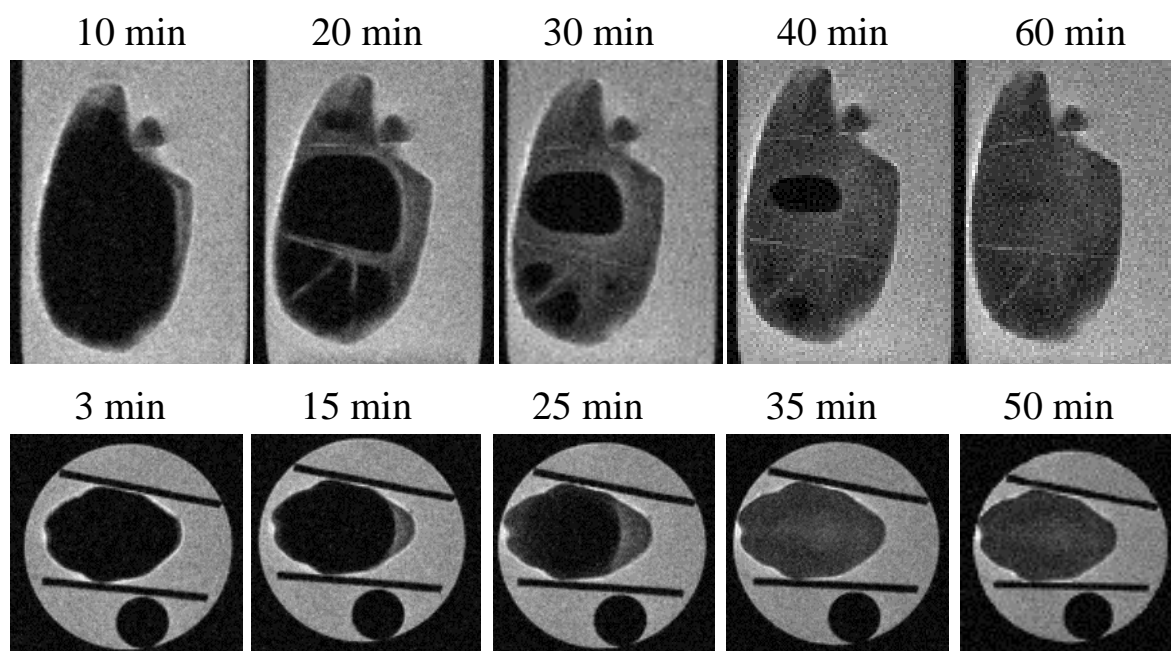


Fig. 2-3. Changes of the MR image of rice grain during soaking at 10 °C. Upper images are dorsiventral profiles and lower images are lateral profile.

40 °C 浸漬では、Figure 2-4 に見られるように、早い段階で米内部まで水が浸透している様子がわかる。10 °C 浸漬と同様に、胚芽除去部から水が浸透していくが、米粒下部では浸透し難い領域が明瞭に残ることがわかる。硬度の高い、粒子密度が高いことが反映され、40 °C であっても内部への浸透が容易ではないと言える。横断面画像において、10 °C 浸漬時に見られた顕著な背腹方向の水の浸透が、厚み方向に先行する様子は観測されなかった。

10 °C と 40 °C の冠状面での吸水状態の比較を Figure 2-5 に示すが、胚芽除去部からの水の浸透



が 40 °C の方が 10 °C よりも速いこと、また除去部近く米粒上部では 40 °C 浸漬の場合は背腹間での水の浸透の違いはあまりなく、10 °C の場合は腹側から浸透していること、長軸方向底部において、40 °C では浸透しにくいことなどが分かった。MRI で観察した米の吸水状態は、デジタルマイクロスコープ観察の結果とよく一致していることから、デジタルマイクロスコープの画像を活用して吸水状態の定量化を試みた。

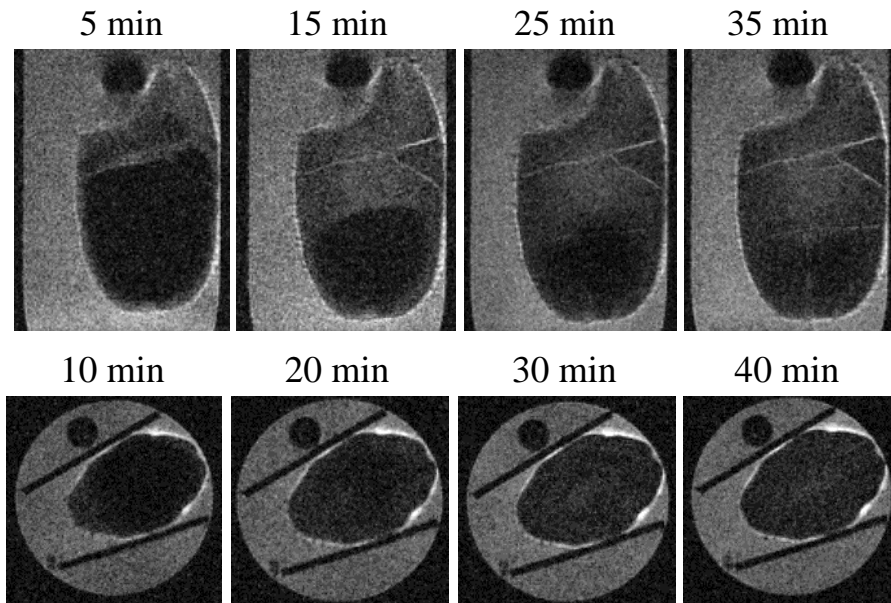


Fig. 2-4. Changes of the MR image of rice grain during soaking at 40 °C. Upper images are dorsiventral profiles and lower images are lateral profile.

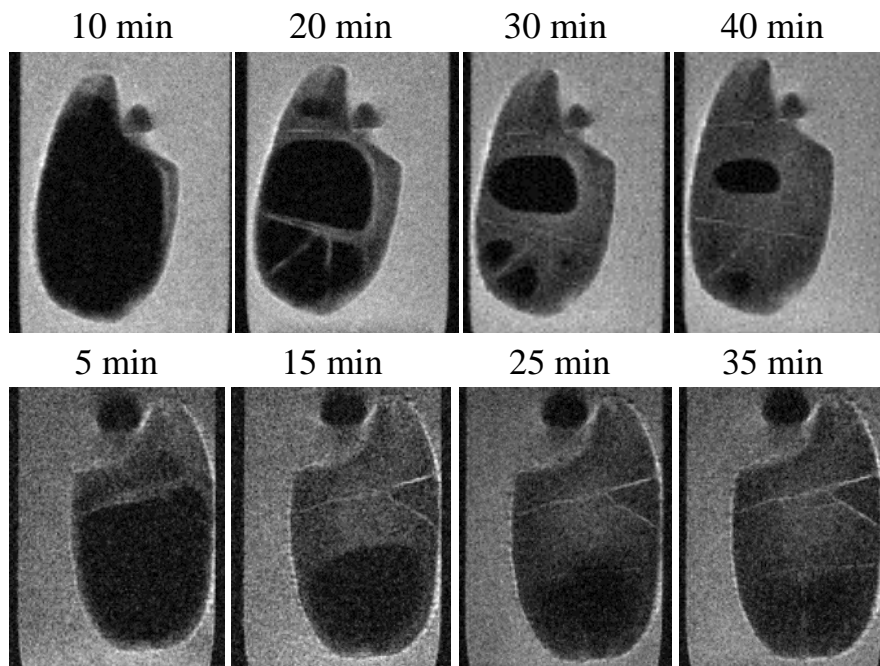


Fig. 2-5. Dorsiventral profile changes of the MR image of rice grain during soaking. Upper images are 10 °C and lower images are 40 °C.

### 2.3.2. 吸水状態の定量化

#### 画像解析による輝度分布の評価

Figure 2-6 に異なる浸漬温度で浸漬した場合の、吸水中の米粒の輝度ヒストグラム変化を示す。浸漬直後はどの温度でも輝度 140~150 を中心としたピークが存在しており、時間とともにそれらのピークの値が減少し、80~110 の位置に新たなピークが出現した。前者のピークは浸漬していない米の輝度と同じであったため、未浸漬の米を表す初期ピークだと考えられる。この初期ピークは高温では低温よりも早く消失し、低輝度側のピークは高温の方が早いタイミングで出現した。また、浸漬 60 分時点の低輝度側のピークは低温ほど低輝度にピークがあり、10 °C や 25 °C の方が 40 °C や 55 °C よりも黒くなっているという、前節の定性評価の結果と合致した。この傾向は 120 分でも継続して見られた。

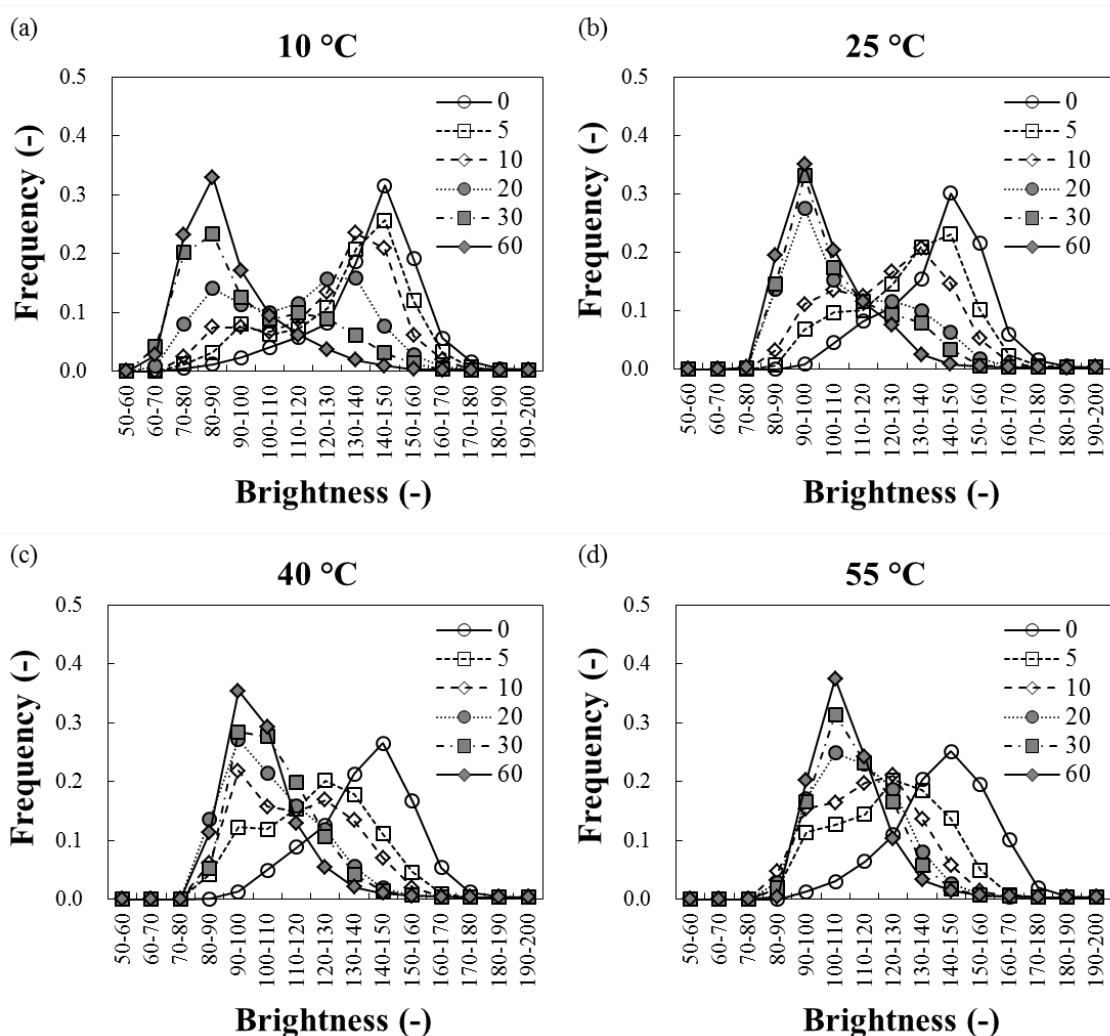


Fig. 2-6. Brightness histogram changes of the rice grains at different soaking time points. (a) 10 °C, (b) 25 °C, (c) 40 °C, and (d) 55 °C. (n= 8).

### 画像解析による平均輝度の評価

次に、各浸漬温度における米粒の輝度の変化を Figure 2-7 に示す。浸漬初期は高温ほど急激に輝度が低下し、平衡状態に早く到達した。浸漬直後から 10 分間の輝度変化速度は 10 °C から順に 1.38, 1.68, 2.25, 2.49 (/分) となり、10 °C と 55 °C では 2 倍ほど輝度が早く変化していた。平衡状態までの間はサンプル間のばらつきが大きく、高温ほどその差は小さかった。10 °C や 25 °C ではクラックから急激に吸水することで米粒の色が黒くなったが、クラックが入るタイミングが米によって異なるため、輝度のばらつきも大きくなったと考えられる。一方で、40 °C や 55 °C では、胚芽跡からの吸水が支配的であったため、サンプル間のばらつきが小さくなったと考えられる。

平衡状態では、55 °C と 40 °C では有意な差がなかったが、40 °C 以下では温度が低いほど輝度が有意に低下した( $p < 0.05$ )。120 分時点 (平衡状態) の輝度は、10 °C から順に  $90.7 \pm 5.2$ ,  $100.7 \pm 4.4$ ,  $105.6 \pm 3.1$ ,  $106.5 \pm 3.3$  となり、10 °C と 25 °C では輝度が大きく異なっていた。

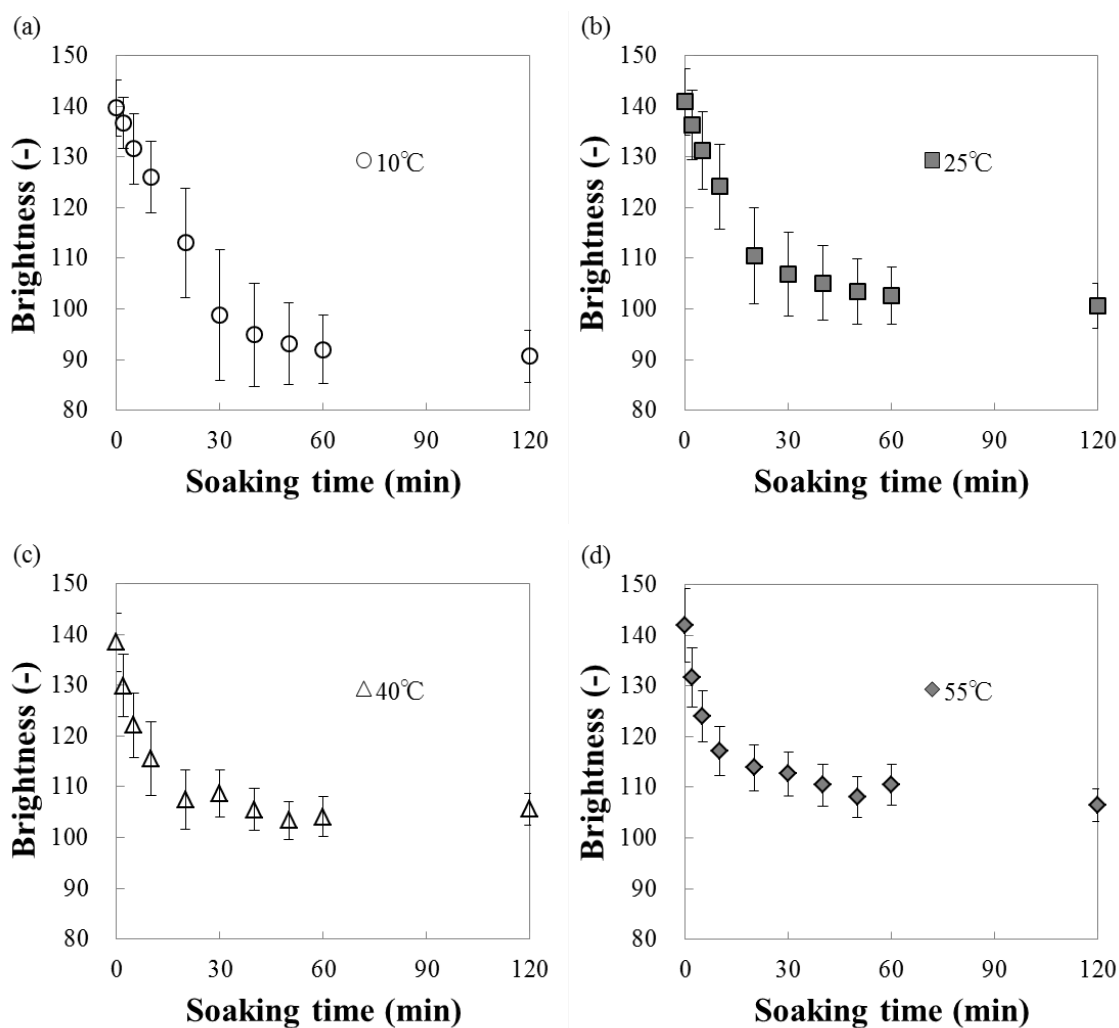


Fig. 2-7. Mean brightness changes of the rice grains during soaking at (a) 10 °C(○), (b) 25 °C(■), (c) 40 °C(△), and (d) 55 °C(◆). (n= 8).

### 画像解析による投影面積増加の評価

各浸漬温度における米粒投影面積増加率の変化を Figure 2-8 に示す。輝度の結果と同様に、浸漬初期は高温ほど急激に投影面積が増加し、平衡状態に早く到達した。浸漬直後から 10 分間の投影面積増加速度は 10 °C から順に  $0.44 \pm 0.13$ ,  $0.75 \pm 0.14$ ,  $1.03 \pm 0.15$ ,  $0.90 \pm 0.07$  (%/分) となり、10 °C と 25 °C、40 °C もしくは 55 °C の間にそれぞれ有意な差が得られ ( $p < 0.05$ )、40 °C と 55 °C の間には差の傾向が得られた ( $p < 0.1$ )。輝度の場合と同様に、平衡状態に至るまでの間はサンプル間には差の傾向が得られた ( $p < 0.1$ )。平衡状態に至るまでの間はサンプル間には差の傾向が得られた ( $p < 0.1$ )。輝度の場合と同様に、平衡状態に至るまでの間はサンプル間には差の傾向が得られた ( $p < 0.1$ )。平衡状態では各温度で投影面積増加率に有意な差が得られた ( $p < 0.05$ )。120 分時点 (平衡状態) の投影面積膨張率は、10 °C から順に  $118.0 \pm 2.1$ ,  $115.9 \pm 1.3$ ,  $113.5 \pm 1.3$ ,  $112.1 \pm 0.7$  となり、低温ほど膨張するという結果が得られた。

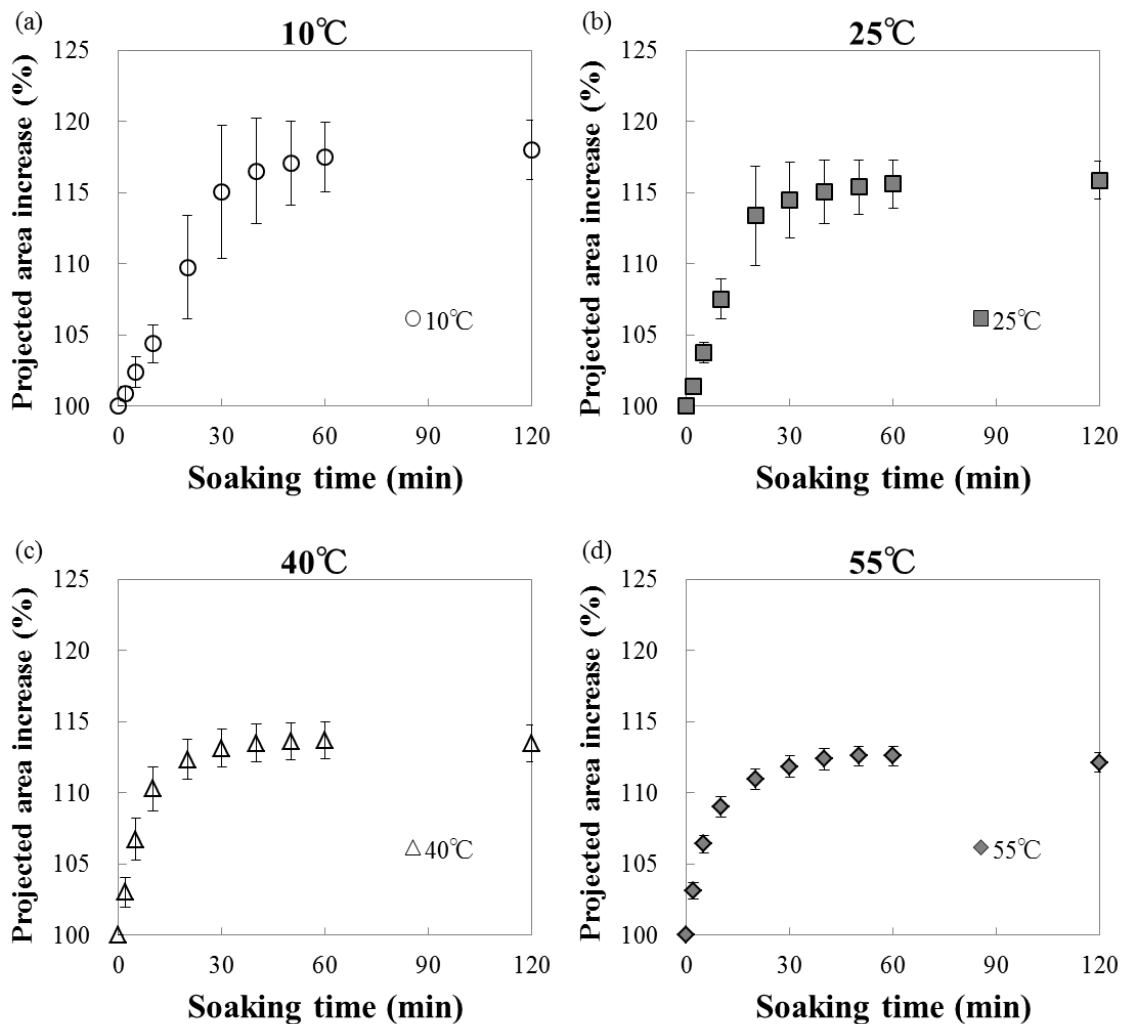


Fig. 2-8. Projected area increases of the rice grains during soaking at (a) 10 °C(○), (b) 25 °C(■), (c) 40 °C(△), and (d) 55 °C(◆). (n= 8).

浸漬初期の投影面積増加率の変化を1分ごとにプロットしたのが Figure 2-9 であるが、10 °C では浸漬後 10~20 分の間にグラフの変曲点があることが分かる。米粒によってクラックの発生タイミングが異なるため、Figure 2-9 は平均化された結果であるが、それぞれの米粒の投影面積変化と画像を比較すると、クラックが生じるのと同じタイミングで投影面積が変化しており、クラックにより面積増加が急増していることを示している。他の浸漬温度では直線的に増加した後に徐々に増加幅が減少する連続的な変化をしていることから、10 °C と他の温度では吸水による形状変化が異なることが示唆される。

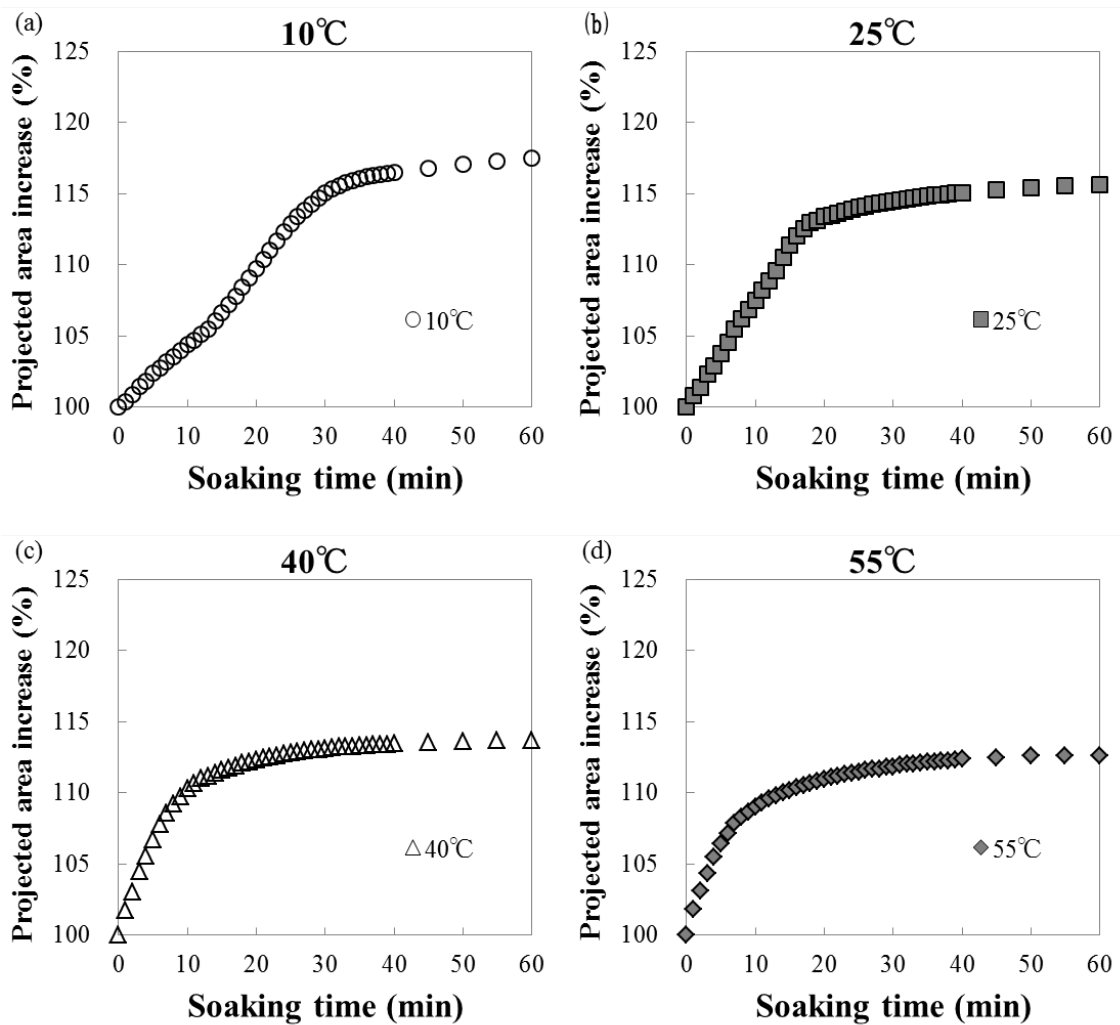


Fig. 2-9. Projected area increases of the rice grains during soaking at (a) 10 °C(○), (b) 25 °C(■), (c) 40 °C(△), and (d) 55 °C(◆). (n= 8).

## 水分率

各温度での吸水率の経時変化を Figure 2-10 に示す。高温ほど吸水速度が早く、40℃と 55℃はほぼ同じであった。浸漬直後から 10 分間の吸水速度は 10 °C から順に  $0.60 \pm 0.10$ ,  $0.86 \pm 0.03$ ,  $1.14 \pm 0.10$ ,  $1.17 \pm 0.01$  (%/分) となり、10 °C と 25 °C、40 °C もしくは 55 °C の間にそれぞれ有意な差が得られた ( $p < 0.05$ )、40 °C と 55 °C ではほぼ同じであった。120 分時点 (平衡状態) の吸水率は、10 °C から順に  $32.2 \pm 0.3$ ,  $31.3 \pm 0.1$ ,  $31.2 \pm 0.4$ ,  $31.4 \pm 0.3$  となり、10 °C では他の温度より有意に吸水率が高かった ( $p < 0.05$ ) が、25 °C~ 55 °C の間ではほぼ同じだった。

10 °C 浸漬の吸水率が高い結果については同様の報告は多く、Genkawa ら (2011) は“生理的な理由”を可能性として挙げており、Sakamoto ら (2015) は“高温では吸水入口が膨潤し、内部に浸透しにくい”が原因と推察している。本実験の結果では、低温浸漬ではクラックからの吸水が支配的であり、胚芽跡に限らず至る所から浸透するため、内部まで吸水される一方で、高温浸漬では吸水経路は胚芽跡からが支配的であったことから、吸水に伴い米粒が膨張し、吸水経路のすき間が狭くなることで、内部まで吸水しにくく、吸水量が少なくなったと考えられる。

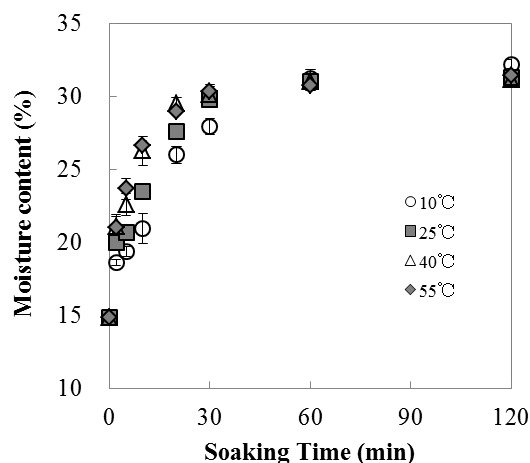


Fig. 2-10. Moisture content changes of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n= 4).

### 2.3.3. 計算

#### 平均輝度

2.3.2 で示した平均輝度の実測値を Eqs. 2-4 の左辺に代入し、左辺と右辺の最小二乗法平均誤差 (RMSE) が最小になるように右辺のパラメータを変化させた。得られた平衡輝度  $M_e$  および速度定数  $k$ 、その際の RMSE を Table 2-1 に示す。平衡輝度  $M_e$  は低温浸漬ほど低くなり、黒くなることを示していた。速度定数  $k$  は浸漬温度が高くなるほど大きく、黒くなるのが速くなった。各温度間の変化幅は 25 °C と 40 °C の間が最大で、40 °C と 55 °C の間が最小であった。RMSE は高温ほ

ど小さく、精度良くフィッティングできていることが分かった。計算値と実測値を比較すると、平衡輝度および平均輝度変化速度ともに相関決定係数が 0.99 と非常に相関が高かったが、10 °C では平衡輝度  $M_e$  と 120 分時点の平均輝度実測値との差が無視できない程度に存在していた。実測値と計算値をグラフで示したものが Figure 2-11 である。10 °C 以外では実測値と計算曲線がよく一致しているのに対し、10 °C ではそれらの乖離が大きかったことから計算値が実験結果をよく反映できていないことが示唆された。また、Figure 2-11 (b)の浸漬後 30 分までのグラフを見ると、低温ほど実測値と計算値の乖離があった。低温での乖離を小さくする、つまり RMSE を低減するに

Table 2-1. Calculated mean brightness of the rice grains at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature. Measured mean brightness value at 120 minutes and mean brightness change speed at initial period.

		10 °C	25 °C	40 °C	55 °C
計算値	平衡輝度 $M_e$ (-)	82.8	99.2	104.5	109.1
	速度定数 $k$ (1/h)	1.5	2.5	5.3	6.2
	RMSE (-)	0.10	0.07	0.04	0.05
実測値	120 分平均輝度 (-)	90.7	100.7	105.6	106.5
	0-5 分平均輝度変化 (/分)	-1.6	-1.9	-3.3	-3.6
	0-10 分平均輝度変化 (/分)	-1.4	-1.7	-2.3	-2.5

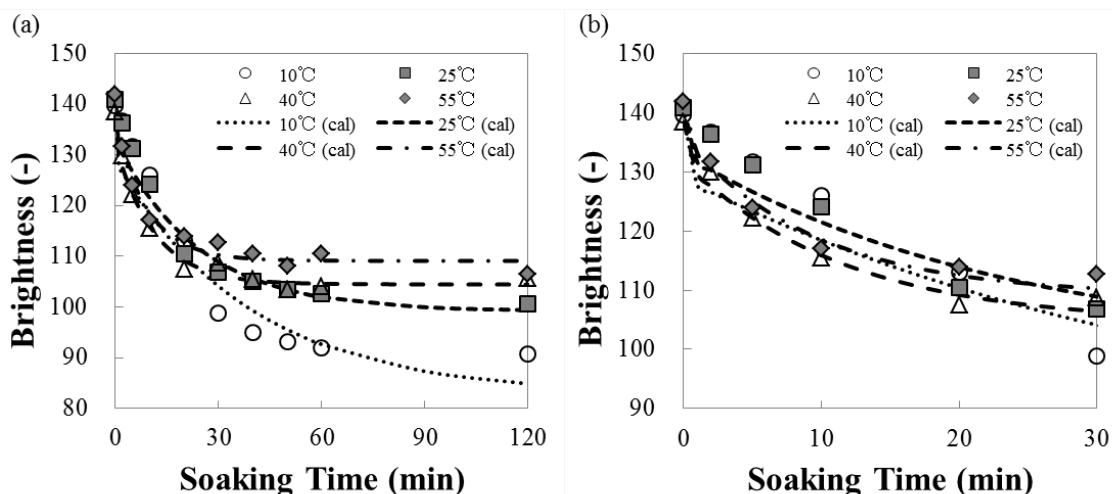


Fig. 2-11. Mean brightness changes of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n = 8). The lines are the calculated values at each temperature. Those graphs showed the measured and calculated values of (a) entire period, (b) initial period.

は、計算式を改良し、浸漬初期の変化および平衡状態を正確に表現できるようにすることが必要であると考え、原因の追究および改善方法の検討を行なった。

### 計算式の両辺比較

2.2.6 で述べたとおり、本計算は Murata ら (1996) の下記 Eqs. 2-3 の右辺第一項のみで近似した Eqs. 2-4 で実施した。

$$\frac{M_e - M}{M_e - M_0} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{8}{(2n-1)^2 \pi^2} \exp\{-(2n-1)^2 kt\} \quad (2-3)$$

$$\frac{M_e - M}{M_e - M_0} = \frac{8}{\pi^2} \exp(-kt) \quad (2-4)$$

Figure 2-12 (a) は Eqs. 2-4 の左辺に実験値および RMSE が最小となる平衡輝度  $M_e$  を代入して得られた左辺の計算結果の経時変化を示したグラフで、Figure 2-12 (b) は RMSE が最小となる速度定数  $k$  の値を代入して得られた右辺の計算結果である。高温では左辺と右辺が似た傾向を示していたが、低温では、浸漬初期 (10 分以前)、浸漬中期 (10 分~30 分)、浸漬後期 (30 分以降) でそれぞれ異なる傾向が見られた。浸漬初期では左辺 > 右辺となっており、特に 2 分時点での減少が大きく、両辺の値は大きく乖離していた。浸漬中期では、左辺は 10 分~30 分の間に変曲点を持つ逆 S 字カーブになるのに対し、右辺ではなだらかに減少する傾向が見られた。浸漬後期では、両辺ともに大まかには似た傾向であった。

浸漬初期の値がずれる理由の一つに、Eqs. 2-4 の式は Eqs. 2-3 の時間が長い場合に第二項以降は無視できるという仮定のもと成立しているため、浸漬初期ではうまくフィッティングできていない可能性が考えられる。そのため、次に Eqs. 2-3 の第五項まで ( $n=5$ ) を用いて再度計算した。

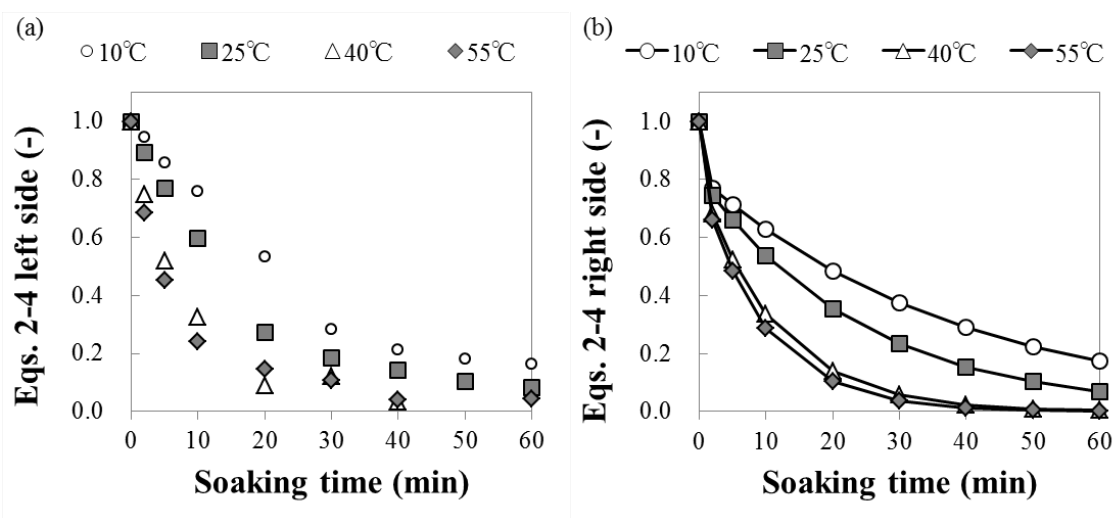


Fig. 2-12. Calculated values of Eqs. 2-4 (a) left side, (b) right side. 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆).



### 第五項までの計算

浸漬初期における計算値の改善のため、Eqs. 2-3 の第五項まで ( $n=5$ ) 計算した結果、平衡輝度  $M_e$  や速度定数  $k$  の値は  $10^\circ\text{C}$  のみ大きく変化した (Table 2-2)。RMSE は減少したが、平衡輝度  $M_e$  はさらに実測値から乖離し、速度定数  $k$  は減少した。なお、第五項以降も計算したが、結果にほとんど影響を与えなかった。実測値と計算値を比較した Figure 2-13 (a) は、浸漬後期は Figure 2-11 の結果と違いはほとんどなかったが、Figure 2-13 (b) に示すように浸漬初期では  $10^\circ\text{C}$  や  $25^\circ\text{C}$  で第一項だけの場合よりも計算値と実測値の差が小さくなっており、浸漬初期の変化を表すには第五項までの計算が必要であると考えられる。

Table 2-2. Calculated mean brightness of the rice grains at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature.

	$10^\circ\text{C}$	$25^\circ\text{C}$	$40^\circ\text{C}$	$55^\circ\text{C}$
平衡輝度 $M_e$ (-)	78.3	98.7	104.5	109.1
速度定数 $k$ (1/h)	1.3	2.4	5.3	6.3
RMSE (-)	0.08	0.06	0.04	0.04

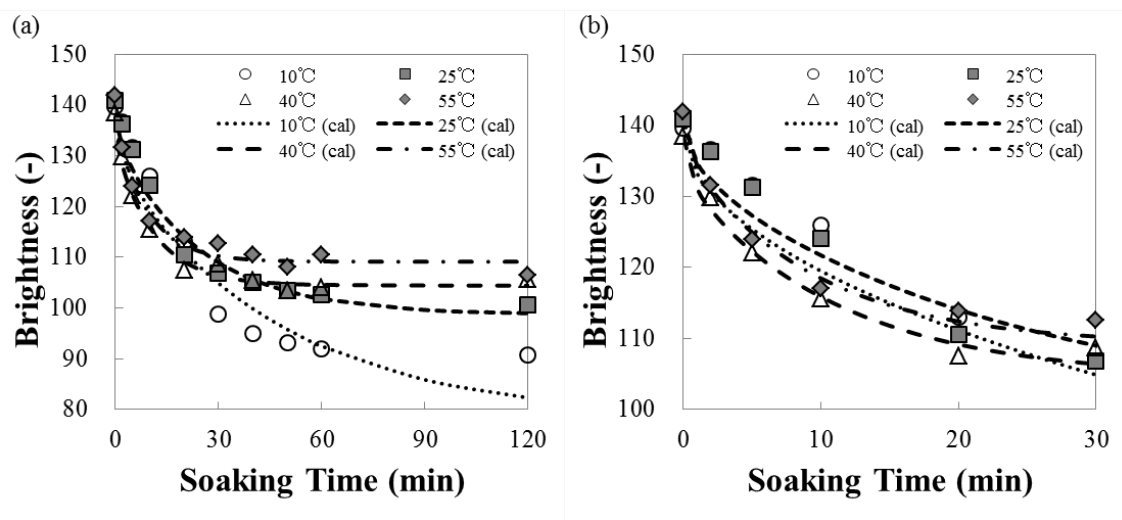


Fig. 2-13. Mean brightness changes of the rice grains during soaking at  $10^\circ\text{C}$  ( $\circ$ ),  $25^\circ\text{C}$  ( $\blacksquare$ ),  $40^\circ\text{C}$  ( $\triangle$ ), and  $55^\circ\text{C}$  ( $\blacklozenge$ ). ( $n=8$ ). The lines were the calculated values from Eqs. 2-3 ( $n=5$ ) at each temperature. Those graphs showed the measured and calculated values of (a) entire period, (b) initial period.

第五項まで計算した影響を詳細に調べるため、Eqs. 2-3 右辺の第一項だけ計算した場合 (図中の実線) と第五項までの計算した場合の値 (図中の破線) を比較したのが Figure 2-14 である。浸漬

初期の比較では、高温浸漬では両者に差はないものの、低温浸漬では2分、5分時点で10℃および25℃ともに第五項まで計算した方が計算値は大きく増加し、25℃では10分時点で両者の差がほとんどなくなった。一方で、10℃は10分時点でも差が大きく、60分時点までその差が継続した。Eqs. 2-3では、速度定数 $k$ の値が大きいほど、浸漬時間が長くなるほど第二項以降の影響が小さくなるため、このような結果が得られたと考えられる。しかし、10℃に関しては長時間浸漬しても実測値と計算値の差が小さくなっていなかった。例えば10℃の速度定数 $k$ は25℃の約半分のため、20分時点で誤差が解消されるべきにもかかわらず、20分以降も第二項以降の影響が出ていた。そのため、10℃の変化はEqs. 2-3の拡散方程式による吸水だけでは表現できず、定性評価で見たようにクラックを考慮した吸水も考慮する必要があることが示唆された。

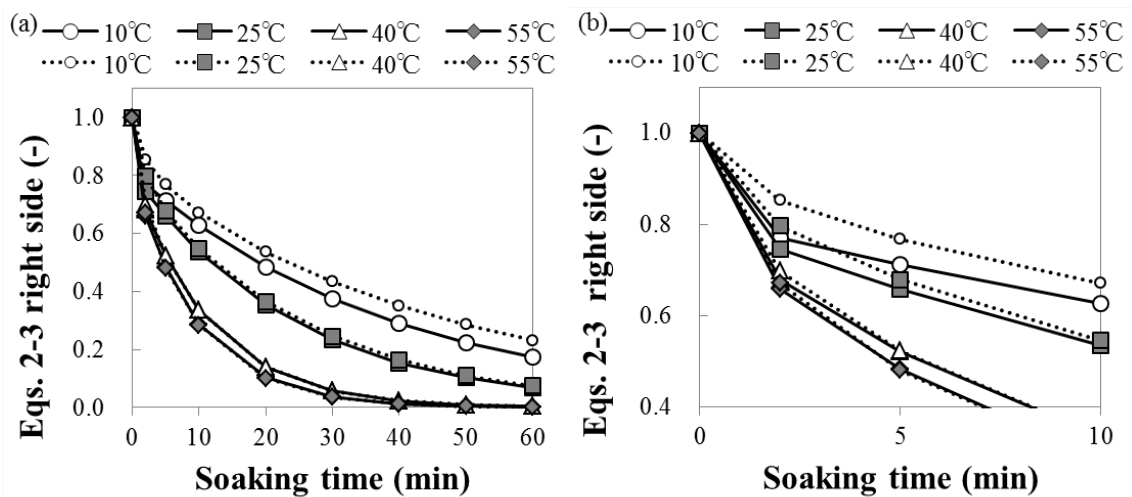


Fig. 2-14. Changes of Eqs. 2-3 right side during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). Solid lines were calculated from Eqs. 2-4 and dot lines were calculated from Eqs. 2-3 (n=5). Those graphs showed the measured and calculated values of (a) entire period, (b) initial period.

### 浸漬初期の結果を除いた計算

そこで、10℃浸漬では、30分までの浸漬初期および中期とそれ以降の浸漬後期では異なる吸水過程であると仮定し、20分もしくは30分以降のデータのみで再度フィッティングを行なった。その結果、Table 2-3に示すようにRMSEは非常に小さくなり、平衡輝度 $M_e$ も30分以降のデータを利用した場合は実測値とほぼ一致した。速度定数 $k$ については初期浸漬の値を用いていないため、参考にならないと考えられる。また、Figure 2-15に全実測値と20分以降の実測値を用いて得られた計算値のグラフ (Figure 2-15 (a))と30分以降の実測値を用いて得られた計算値のグラフ (Figure 2-15 (b))を示すが、全領域において実測値と計算値がよく一致していることが分かる。つ

まり、浸漬後期においては、どの温度でも拡散方程式に則った変化、つまり拡散現象で水が浸透していることが示唆された。

Table 2-3. Calculated mean brightness of the rice grains at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature. The values were calculated from Eqs.2-3 without the measured value after 20 minutes or 30 minutes.

		10 °C	25 °C	40 °C	55 °C
20 分以降の データ利用	平衡輝度 $M_e$ (-)	87.8	101.4	104.7	108.0
	速度定数 $k$ (1/h)	2.3	3.6	5.7	4.1
	RMSE (-)	0.05	0.01	0.04	0.04
30 分以降の データ利用	平衡輝度 $M_e$ (-)	90.4	101.0	104.0	107.2
	速度定数 $k$ (1/h)	3.2	3.2	4.1	3.2
	RMSE (-)	0.00	0.01	0.03	0.03

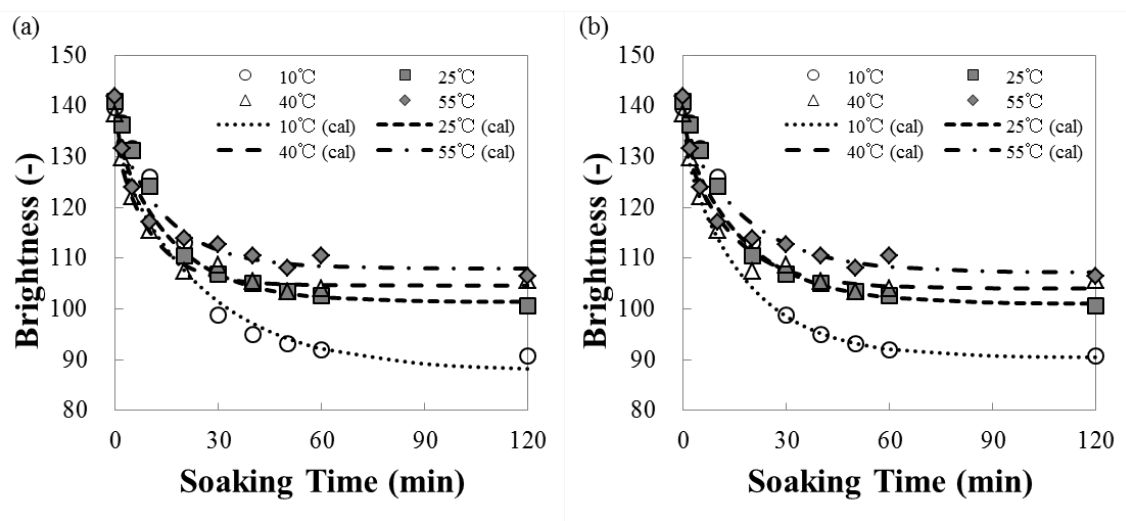


Fig. 2-15 Mean brightness changes of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n= 8). The lines showed the calculated values at each temperature. The values were calculated from Eqs.2-3 without the measured value before (a) 20 minutes, (b) 30 minutes.

以上の結果より、高温浸漬などクラックからの吸水が支配的でない浸漬条件では、Eqs. 2-3 の式が有効であること、また、浸漬初期では変化速度が遅い場合は Eqs. 2-3 の第二項以降も計算する必要があること、クラックからの吸水が支配的な場合は、クラックを考慮した吸水モデルが必要であることが見出された。

## 投影面積

投影面積増加率を  $M$  として、輝度の場合と同様に Eqs. 2-3 第五項までの計算を行なった結果および実測値を Table 2-4 に示す。平衡投影面積増加率  $M_e$  は低温浸漬ほど高くなり、膨張度合いが大きくなった。一方で速度定数  $k$  は 40 °C までは浸漬温度が高くなるほど大きく、膨張速度が速くなっていったが、40 °C と 55 °C では同程度となった。この傾向は実測値の 0-10 分平均投影面積増加率と非常に似た傾向であった。RMSE は高温ほど小さくなった。Figure 2-16 に各浸漬時間での投影面積増加率の実測値および計算曲線を示すが、全領域で 40 °C と 50 °C では値がよく合致していることが分かる。一方で、10 °C と 25 °C は浸漬初期～中期で実測値との乖離があり、10 °C

Table 2-4. Calculated projected area increases of the rice grains at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature.

		10 °C	25 °C	40 °C	55 °C
計算値	平衡投影面積増加率 $M_e$ (-)	122.0	117.0	113.7	112.5
	速度定数 $k$ (1/h)	1.3	2.8	5.9	5.8
	RMSE (-)	0.09	0.07	0.04	0.03
実測値	120 分投影面積増加率 (%)	118.0	115.9	113.5	112.1
	0-5 分平均投影面積増加率 (%/分)	0.5	0.8	1.0	1.3
	0-10 分平均投影面積増加率 (%/分)	0.4	0.8	1.0	0.9

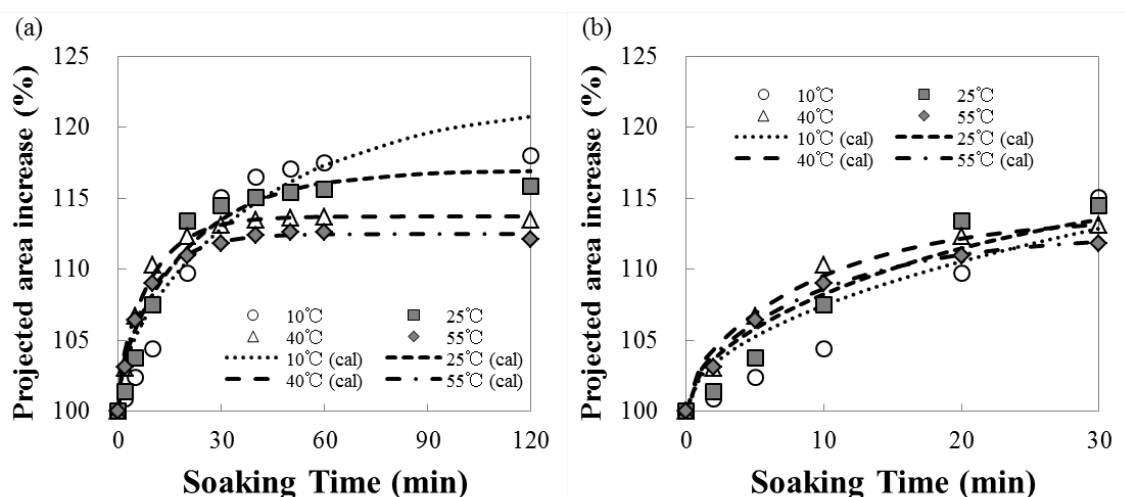


Fig. 2-16. Projected area increases of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n= 8). The lines were the calculated values from Eqs. 2-3 (n= 5) at each temperature. Those graphs showed the measured and calculated values of (a) entire period and (b) initial period.

の場合は平衡値も大きくずれていた。輝度の場合よりも実測値と計算値の差は小さいものの、低温浸漬では変化速度が遅いこと、ひび割れなどにより吸水プロセスに急激な変化が生じることなどにより無視できない程度の差が生じていると考えられる。特に後者については、Figure 2-17 (a) に示すように、Eqs. 2-3 の左辺の値は低温浸漬時には逆 S 字の変化を示すのに対し、Figure 2-17 (b) で示す右辺の値は 0 に向かって徐々に減少するのみであり、右辺の式では吸水時の膨張変化を表せていないことが分かる。

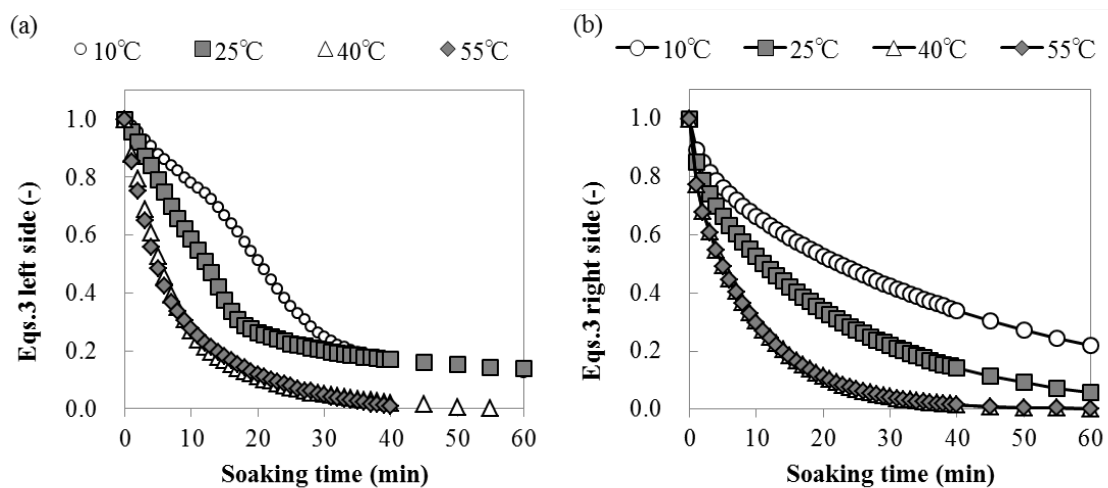


Fig. 2-17. Calculated values of Eqs. 2-4 (a) left side, (b) right side. 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆).

### 浸漬初期の結果を除いた計算

輝度の場合と同様に、10 °C 浸漬では、30 分までの浸漬初期および中期とそれ以降の浸漬後期では異なる吸水過程であると仮定し、20 分もしくは 30 分以降のデータのみで再度フィッティングを行なった。その結果、Table 2-5 に示すように RMSE は非常に小さくなり、平衡投影面積増加率  $M_e$  も 30 分以降のデータを利用した場合は実測値とほぼ一致した。速度定数  $k$  については 10 °C と 25 °C では使用するデータによって値が大きく増加していた。その結果、Figure 2-18 のように 30 分以降の実測値から算出した平衡投影面積増加率  $M_e$  および速度定数  $k$  から求めた曲線は、10 °C では初期の 10 分間の実測値と計算値の乖離が見られたものの、30 分以降においてはどの浸漬温度でもよく一致した。十分にクラックが入った後は低温浸漬でも米粒表面全面から水が浸透するため、乾燥の逆過程である Eqs. 2-3 でフィッティング可能性が推測される。

Table 2-5. Calculated mean brightness of the rice grains at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature. The values were calculated from Eqs.2-3 without the measured value after 20 minutes or 30 minutes.

		10 °C	25 °C	40 °C	55 °C
20 分以降の データ利用	平衡投影面積増加率 $M_e$ (-)	119.1	115.7	113.6	112.5
	速度定数 $k$ (1/h)	2.3	4.9	6.5	5.8
	RMSE (-)	0.052	0.008	0.006	0.013
30 分以降の データ利用	平衡投影面積増加率 $M_e$ (-)	118.1	115.8	113.6	112.5
	速度定数 $k$ (1/h)	3.2	4.5	6.4	6.0
	RMSE (-)	0.004	0.004	0.006	0.014

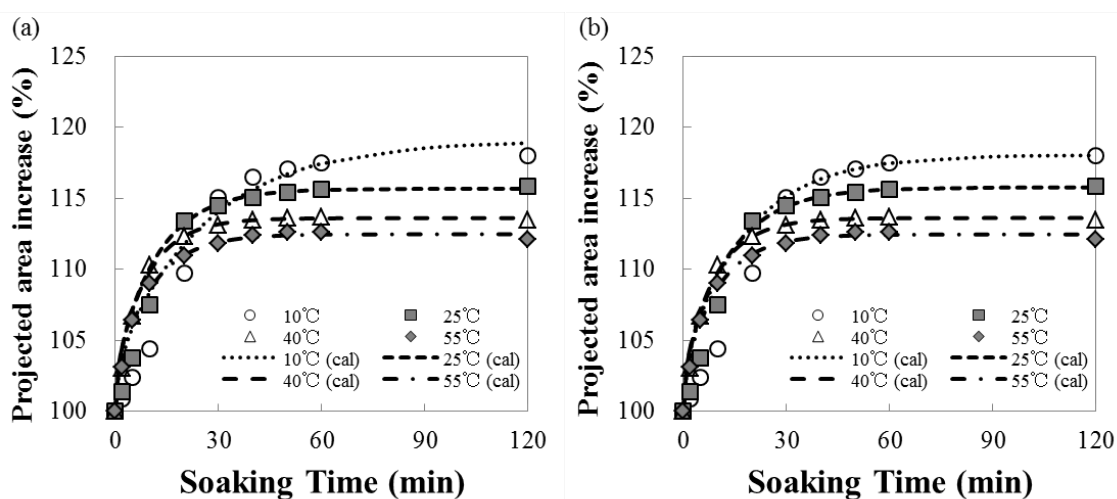


Fig. 2-18 Projected area increases of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n= 8). The lines showed the calculated values at each temperature. The values were calculated from Eqs.2-3 without the measured value before (a) 20 minutes, (b) 30 minutes.

初期については、実測値の方が計算値よりも低く、吸水が抑制されていることが示唆される。佐藤ら (2011)は吸水モデルに胚芽除去跡から米粒内部中心部に伸びる中心線を追加することで、実際に近い水分分布が得られたと報告しており、Figure 2-4 からも 40 °C は背腹両面から吸水されているのに対し、10 °C は腹側から吸水されていることから、クラックが生じるまでの吸水モデルを構築することが今後の課題である。

## 水分率

水分率を  $M$  として、他と同様に Eqs. 2-3 第五項までの計算を行なった結果を Table 2-6 および Figure 2-19 中に示した。平衡水分率  $M_e$  は低温浸漬ほど高くなり、より吸水することを示した。一方で速度定数  $k$  は浸漬温度が高くなるほど大きく、吸水が速くなることを示した。RMSE は高温ほど小さく、10 °C も他の指標より精度良くフィッティングできていることが分かった。Figure 2-17 に各浸漬時間での水分率の実測値および計算曲線を示すが、高温浸漬もしくは長時間浸漬（30 分以降）では良くフィッティングできていることが分かる。一方で、水分率に関しても 10 °C では浸漬初期～中期で実測値との乖離があった。

Table 2-6. Calculated moisture content of the soaked rice at equilibrium state ( $M_e$ ) and diffusivity parameter  $k$  and RMSE for each temperature.

		10 °C	25 °C	40 °C	55 °C
計算値	平衡水分率 $M_e$ (-)	33.0	31.6	31.1	30.9
	速度定数 $k$ (1/h)	2.0	3.5	6.1	6.8
	RMSE (-)	0.04	0.03	0.03	0.02
実測値	120分水分率 (%)	32.2	31.3	31.2	31.4
	0-5分水分増加率( % /分)	0.9	1.2	1.5	1.8
	0-10分水分増加率( % /分)	0.6	0.9	1.1	1.2

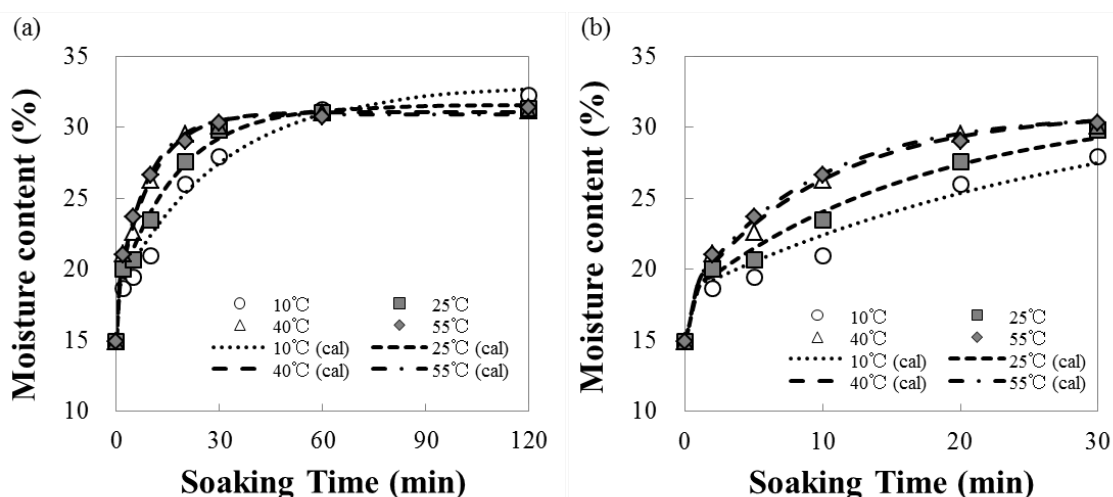


Fig. 2-19. Moisture content changes of the rice grains during soaking at 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). (n = 4). The lines are the calculated values at each temperature. Those graphs showed the measured and calculated values for (a) entire period and (b) initial period.

3つの指標のフィッティングによる結果から、高温ではどの指標も実験値とよく一致しているのに対し、低温では水分率以外の指標は若干合致率が低下した。これは、低温で生じるクラックが見かけ面積の増加やクラック部分の輝度の増加を招いているためだと推察され、クラックの影響を考慮した計算式を用いることで、より実験値に近づく可能性が考えられる。

### 2.3.4. 各指標間の相関分析

Figure 2-20 に全浸漬温度、時間における水分率と平均輝度もしくは投影面積増加率のグラフを示す。前者については、水分率増加に従い平均輝度が減少する傾向が見られ、相関決定係数も 0.97 と非常に高い値が得られた。後者については、水分率増加に従い投影面積が増加する傾向がみられ、こちらも相関決定係数が 0.99 と非常に高い相関が得られた。3次元の情報を反映した平均輝度だけでなく、2次元の情報である投影面積でも高い相関が得られた理由として、長門ら (1963) が報告したようにジャポニカ米では米粒厚み方向の澱粉構造が密で硬いため、吸水による膨張変化が小さいことが原因の一つだと推測される。

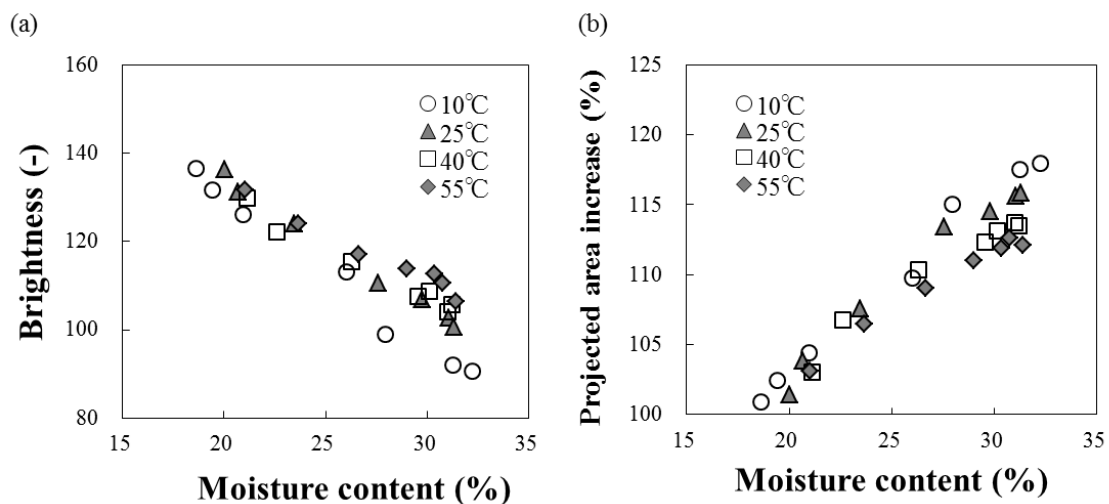


Fig. 2-20. Correlations between moisture content and (a) mean brightness, (b) projected area increase. 10 °C (○), 25 °C (■), 40 °C (△), and 55 °C (◆). The correlation coefficients were (a) 0.98 (10 °C), 0.99 (25 °C), 0.98 (40 °C), 0.97 (55 °C), and (b) 0.98 (10 °C), 0.98 (25 °C), 0.97 (40 °C), 0.98 (55 °C).



## 2.4. 結言

米粒の炊飯前の浸漬工程における浸漬米の吸水状態を簡易に評価するため、偏光画像の画像処理により任意の時間での吸水状態を可視化・定量化する技術を開発した。

本技術を用いて、10℃~55℃の浸漬水温が異なる浸漬米の吸水状態を評価した結果、浸漬温度によって吸水経路や水分分布が異なることが分かった。10℃や25℃といった低温浸漬では、浸漬中に生じるクラックにより急激に吸水が進行し、40℃や55℃といった高温浸漬では、胚芽除去後や周囲からの吸水が支配的であることが分かった。同様の条件でMRIによる吸水経路の検証を行ったところ、同様の結果が得られた。

画像解析では米粒の平均輝度と投影面積増加率の二つの指標で吸水状態の定量評価を行なった。クラックが生じた際に投影面積増加率の傾きが変わるなど、上記で述べたような定性的な変化を反映できており、また、従来水分率計を使用した吸水率評価の結果と非常に高い相関を示すことが分かった。これらの結果から、浸漬米の吸水経路、分布、量を評価する上で偏光画像による吸水状態評価が有効であることが示された。

## 2.5. 参考文献

- Albarracin, M., Gonzalez, R. J., Drago, S. R. (2013). Effect of soaking process on nutrient bio-accessibility and phytic acid content of brown rice cultivar. *LWT- Food Science and Technology*, 53, 76-80.
- Bello, M., Tolaba, M.P., Aguerre, R.J., Suarez, C. (2010). Modeling water uptake in a cereal grain during soaking. *Journal of Food Engineering*, 97, 95–100.
- Genkawa, T., Tanaka, F., Hamanaka, D., Uchino, T. (2011). Incidence of open crack formation in short-grain polished rice during soaking in water at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 103, 457-463.
- Horigane, A.K., Takahashi, H., Maruyama, S., Ohtsubo, K. and Yoshida, M. (2006). Water penetration into rice grains during soaking observed by gradient echo magnetic resonance imaging. *Journal of Cereal Science*. 44, 307-316.
- Horigane, K. A., Suzuki, K., & Yoshida, M. (2013). Moisture distribution of soaked rice grains observed by magnetic resonance imaging and physicochemical properties of cooked rice grains. *Journal of Cereal Science*, 57, 47-55.
- Ishida, N., Naito, S., Kano, H. (2004). Loss of moisture from harvested rice seeds on MRI. *Magnetic Resonance Imaging*, 22, 871-875.
- Kainuma, Y. (2000). Effect of Soaking Rice in Hot Water on the Textural Properties of Cooked Rice Stored at a Low Temperature. *Journal of Home Economics of Japan*, 51, 129-135.
- Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., Rafiee S., Khomeiri M. (2007). Study of hydration kinetics and density changes of rice (Tarom Mahali) during hydrothermal processing. *Journal of Food Engineering*, 79 (4), 1383-1390.
- Lestienne, I., Icard- Verniere, C. Mouquet, C., Picq, C., Treche, S. (2005). Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. *Food Chemistry*, 89, 421-425.
- Liang, J., Han, B., Nout, M. J., Hamer, R. J. (2009). Effect of soaking and phytase treatment on phytic acid, calcium, iron and zinc in rice fractions. *Food Chemistry*, 115, 789-794.
- Miah, M. A. K., Haque, A., Douglass, M. P., Clarke, B. (2002a). Parboiling of rice. Part I: Effect of hot soaking time on quality of milled rice. *International Journal of Food Science & technology*, 37, 527–537.
- Miah, K., Haque, A., Douglass, M. P., Clarke, B. (2002b). Parboiling of rice. Part II: Effect of hot soaking time on the degree of starch gelatinization. *International Journal of Food Science & technology*, 37, 539–545.

- Mohoric, A., Vegeldt, F., Gerkema, F., Jager, A. D., Duynhoven, J. V., Dalen, G. V. (2004). Magnetic resonance imaging of single rice kernels during cooking. *Journal of Magnetic Resonance*, 171, 157-162.
- Murata, S., Tanaka, F., Tokunaga, J. (1996). Study on Sorption of Grain Kernels While Soaking in Water. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery*, 58, 19-24.
- Nagato, K. (1962). On the Hardness of Rice Endosperm. *Japanese Journal of Crop Science*, 31, 102-107.
- Nagato, K., Kono, Y. (1963). On the Grain Texture of Rice. *Japanese Journal of Crop Science*, 32, 181-189.
- Perez, H. J., Tanaka, T., & Uchino, T. (2011). Comparative 3D simulation on water absorption and hygroscopic swelling in japonica rice grains under various isothermal soaking conditions. *Food Research International*, 44, 2615-2623.
- Sakamoto, K., Morii, S., Ueda, M. (2015). Differences in Water Absorption of Rice When Soaked in Warm and Cold Water. *Journal of Cookery Science*, 48, 193-199.
- Sato, H., Tanaka, F., Uchino, T., Perez, J., Genkawa, T. (2011). Determination of Moisture Diffusion Coefficient Based on Three- Dimensional Rice Grain Model. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery*, 73, 313-320.
- Tagawa, A., Muramatsu, Y., Nagasuna, T., Yano, A., Iimoto, M., & Murata, S. (2003). Water absorption characteristics of wheat and barley during soaking. *Transactions of ASAE*, 46(2), 361–366.
- Takeuchi, S., Fukuoka, M., Gomi, Y., Maeda, M., Watanabe, H. (1997). An application of magnetic resonance imaging to the real time measurement of the change of moisture profile in a rice grain during boiling. *Journal of Food Engineering*, 33, 181–192.
- Takeuchi, S., Maeda, M., Gomi, Y., Fukuoka, M., Watanabe, H. (1997). The change of moisture distribution in a rice grain during boiling as observed by NMR imaging. *Journal of Food Engineering*, 33, 281–297.
- Thakur, A. K., Gupta, A. K. (2006). Water absorption characteristics of paddy, brown rice and husk during soaking. *Journal of Food Engineering*, 75, 252-257.
- Tomita, H., Sakamoto, K., Henderson, J., Takemori, T. (2015). Soaking Time-Related Changes in Microstructures and Texture of Cooked Rice. *Journal of Cookery Science of Japan*, 48, 18-25.
- Vijayakumari, K., Pugalenti, M., Vadivel, V. (2007). Effect of soaking and hydrothermal processing methods on the levels of antinutrients and in vitro protein digestibility of *Bauhinia purpurea* L. seeds. *Food Chemistry*, 103, 968-975.

### 3. 浸漬条件の異なる炊飯米の微細構造とテクスチャーの関係性評価

#### 3.1. 緒言

炊飯において米の生澱粉は水分と熱により消化しやすい糊化澱粉に変わる。その変化の割合を示す糊化度は、米飯の炊け具合を示す上でよく用いられている指標である (Schoch ら (1942, 1956), Hizukuri ら (1960)、Takahashi ら (1981)、Matsunaga ら (1985))。近年の炊飯技術の進歩により糊化度の高い米飯を炊くことが容易になってきた一方で、よりおいしいご飯を追及する試みは継続されており、わずかな食感の違いを得るため、糊化後の澱粉粒の構造変化を理解することは、米飯の食感や老化を制御する上でさらに重要になってきた。

澱粉粒の糊化による構造変化については、Katz ら (1930)は X 線回折と偏光観察による糊化時の結晶構造ならびに複屈折性の消失を、Hizukuri ら (1960)は X 線回折と粘性評価による結晶構造消失に伴う粘性の増加を、三浦 (2003)は熱分析による吸熱反応と水分の関係性などの研究がなされてきた。これらの手法は澱粉の糊化特性を比較評価する上では貴重な情報が得られるが、実際に炊飯した米飯の糊化状態の情報を得るには適していない。そこで、近年は光学顕微鏡や電子顕微鏡などによる米飯の微細構造の直接評価も行われるようになってきた (Watoson ら (1977)、Ikeda ら (1996)、Takahashi ら (1997, 2000, 2001)、Ogawa ら (1999)、Matsuda ら (2001)、Yadav ら (2007))。Ogawa ら (1999)は顕微鏡観察の際の試料の前処理によって得られる観察像が異なると述べており、観察像の取扱いに注意は必要だが、Takahashi ら (2001)は一定の条件下で前処理した試料を走査型電子顕微鏡(SEM)で澱粉粒の構造変化を直接観察した結果、良食味米と低食味米では炊飯後の澱粉粒の微細構造が異なることを報告している。しかし、食感と澱粉粒の微細構造との関係は明確には述べられていないため、本研究では炊飯前の浸漬条件を変えて食感が異なる米飯を作成し、SEM による構造観察とテクスチャー測定により両者の関係性の評価を行なった。

#### 3.2. 実験方法

##### 3.2.1. サンプル

試料米は2013年度産丹波産コシヒカリの精白米を使用し、浸漬温度を10℃、浸漬時間を0分、20分、60分、120分の4種類の条件で浸漬した (Table 3-1)。浸漬温度を10℃に設定したのは、低温浸漬では水の浸透速度が遅いので、浸透時間により、段階的に異なる吸水状態が得られるためである。

炊飯には、大阪ガス製ガスコンロ 110-R754 および、炊飯専用鍋 111-R001 を用いた。米 300 g をボウルに入れ、その中に浄水器に通した水道水 (以降、浄水とする) をいっぱい溜めて攪拌後換水して合計3回洗米した後、20回米粒をすり合わせるように研ぎ、さらに水を溜めて2回洗

Table 3-1. Experimental conditions.

No.	Soaking Temperature (°C)	Soaking time (min)	Rice (g)	Water (g)
1			0	
2	10		20	
3			60	300
4			120	480

米した。洗米した米 300 g を炊飯専用鍋に入れ、浄水を加えて米とあわせて 780 g となるように加水し、10 °C の恒温水槽中で吸水させた。この加水量は炊飯鍋の 2 合の目盛り線の水量に合うよう決定した。Figure 3-1 に炊飯中の鍋底（黒線）及び鍋内中心部の米（灰色線）の温度変化を示す。炊飯開始後 20 分で消火し、10 分間蒸らした。

炊飯完了後すぐに鍋内の米飯を釜肌近辺や上部表面を除いてバットに入れ、乾燥を防ぐため固く絞った濡れ布巾を上からかぶせて放冷した。室温で 15 分間蒸気が出なくなるまで放冷した試料を理化学分析に用いた。

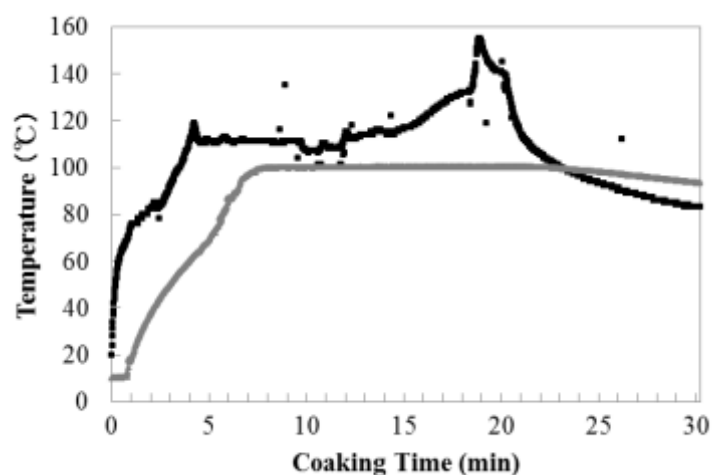


Fig. 3-1. Temperature change of the pod (black line) and rice (gray line) during cooking.

### 3.2.2. 水分率

浸漬による米の水分率の変化を見るため、5 g の米を入れた試験管に水を 30 ml 入れ、浸漬直後および浸漬 20 分、60 分、120 分後に米を取り出し、茶こしで水を切った後にキムワイプで余分な水分を除去した。その後、水分率計（島津製作所製 MOC63u）で 135 °C で 3 時間乾燥させた際の乾燥前後の重量変化を測定し、Eqs. 3-1 より湿量基準水分率  $M$  を得た。また、炊飯直後の米飯の

水分率は、米飯を 5 g 採取してラップに取り、ペースト状に潰した後に浸漬米と同条件で水分率を評価した。浸漬米の水分率測定は 4 回、炊飯米の水分率測定は 8 回実施した。

$$M = \frac{W_w - W_d}{W_w} \times 100 \quad (3-1)$$

$M$  : 湿量基準水分率 (%),  $W$  : 重量 (g)、添え字の  $w$  は乾燥前、 $d$  は乾燥後の重量を表す。

### 3.2.3. 糊化度

糊化度の評価には様々な物理的・化学的手法が用いられているが、X 線回折や濁度法に比べて澱粉の糊化の状態を反映しやすいと報告されている酵素を用いた分解性評価 (Toyama ら (1966)、Kainuma ら (1981)、Matsunaga ら (1986)、Okamoto ら (1986)) を本研究では採用した。米飯を脱水処理後、目開き 150  $\mu\text{m}$  の篩を通して得られた 1.25 g の粉末を、Okamoto ら (1986) の手法に基づきグルコアミラーゼで酵素分解し、グルコース量を定量して糊化度を算出した。測定は、日本食品分析センターに依頼した。

### 3.2.4. SEM 観察

本研究では Takahashi ら (2000) や Matsuda ら (2001) の手法にもとづいた SEM 観察を実施した。すなわち、液体窒素を減圧・解放を繰り返して固液混合状態にしたスラッシュ窒素に炊飯直後の米飯を浸漬し、氷結晶の生成をできる限り抑制しながら米飯を急速に冷却・凍結させた。その後、直ちに -40  $^{\circ}\text{C}$  に保持した真空凍結乾燥機 (日立製 ES-2030) にて約 18 時間乾燥脱水を行ない、帯電防止用にオスmiumを蒸着した。その後、ナイフで断面を作成し、走査型電子顕微鏡 (SEM) (日本電子製 JSM-7400F) を使用して加速電圧 5 kV で観察した。

また、SEM 画像から得られる多孔質を形成する孔のサイズとテクスチャーとの相関を調べるため、Matlab を用いて Otsu ら (1979) の方法で画像を二値化し、個々の孔の面積を抽出後、各米飯の平均面積を計算した。画像は、浸漬条件間で多孔質構造が連続的に変化している表層部内側 5,000 倍のものをを用いた。120 分浸漬を除いて、画像の範囲 (20  $\mu\text{m}$   $\times$  25  $\mu\text{m}$ ) をそのまま二値化した場合、孔と周囲の明暗が一定でないために、全ての孔を認識することができなかった。そのため、画像を 225 分割し、それぞれの画像で二値化して個々の面積を抽出後、全体の平均面積を算出した。

### 3.2.5. テクスチャー

炊飯直後の米飯について、クリープメータ（山電製 RE2-2-3005B）を用いて、一粒法により破断エネルギーを破断強度試験で、弾性率及び粘性率をクリープ試験で測定した。破断強度試験は、飯粒一粒をくさび形プランジャ（接触面積 2.0 mm<sup>2</sup>）を使用し、圧縮速度 1.0 mm/sec、測定歪率 100 %、0.02 sec 毎に圧力及び歪率の変化を測定した。また、クリープ試験は飯粒一粒をくさび形プランジャを使用し、0.2 N の圧力を飯粒に 60 sec 印加時及び除圧後 60 sec の変位を、0.12 sec 毎に圧力および歪率の変化を測定した。試験はそれぞれ炊飯完了後 40 分以内に行い、1 回の試験で各 10 粒測定し、計 6 回実施した。

### 3.2.6. 統計処理

浸漬米の水分率、炊飯後の米飯の水分率、糊化度、破断エネルギー、弾性率、粘性率の関係性を解析するため、SPSS 15.0 for Windows を用いて一元配置分散分析を行い、Tukey の方法により群間の検定を行った。有意水準は 5%未満とした。

### 3.3. 実験結果と考察

#### 3.3.1. 物性評価

##### 水分率

Figure 3-2 に 10 °C 浸漬後の米の水分率の変化を示す。浸漬後 20 分までの間に水分率は大きく増加し、それ以降はわずかに増加した。浸漬時間が短い方から順に、0 分は吸水不足、20 分は急速に吸水している状態、60 分は十分に吸水して平衡状態に達した状態、120 分は平衡状態に達してからも浸漬し続けた状態の 4 つの吸水状態が得られた。次に、Table 3-2 に各浸漬条件での炊飯後の米飯の水分率を示す。浸漬することで、浸漬なしに比べて水分率は高くなったが、0 分と 120 分の米飯間以外に有意差はなかった。なお、いずれの米飯も食したところ芯は残っていなかったが、浸漬なしの米飯は他のものと食感が異なっていた。

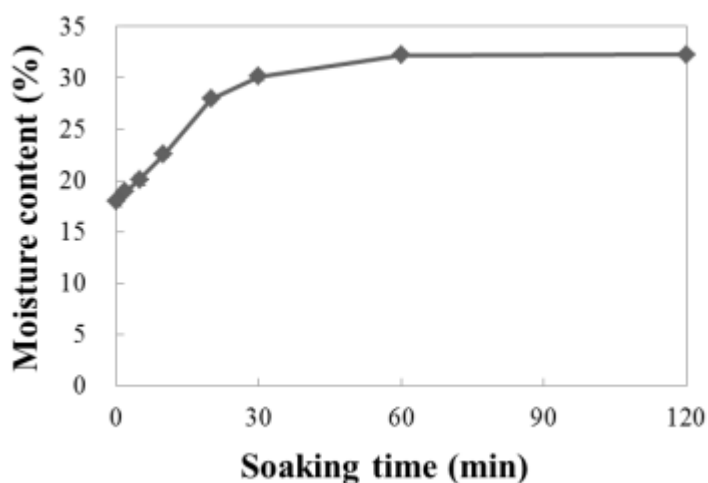


Fig. 3-2. Moisture content changes of the rice grains during soaking at 10 °C. (n= 4)

Table 3-2. Moisture content of the soaked and cooked rice with different soaking time.

Moisture content (%)	Soaking time (min)			
	0	20	60	120
Soaked rice	18.0± 0.5	27.9± 0.3	32.2± 0.2	32.3± 0.3
Cooked rice	63.9± 0.7	64.8± 1.6	64.6± 2.1	64.7± 1.2

##### 糊化度

Table 3-3 に糊化度の測定結果を示す。それぞれ 90 %程度の糊化度を示しており、どの浸漬条件でも十分糊化されていることが分かった。しかし、どの米飯の間にも有意差はなく、糊化度と水分率の間の相関も得られなかった。



Table 3-3. Gelatinization ratio of the cooked rice with different time soaking.

Gelatinization ratio (%)	Soaking time (min)			
	0	20	60	120
Cooked rice	91.8± 4.5	93.6± 3.9	89.0± 6.5	90.0± 6.1

### 3.3.2. 構造観察

#### SEM 観察

Figure 3-3 に本試験で用いた精白米の精米する前の玄米の SEM 画像を示す。(a)は米粒の断面画像 (40 倍)、(b)は断面表層付近の拡大画像 (1,000 倍)、(c)は米粒を割らないで表面から観察した画像 (300 倍) である。断面画像(a)からは中心部から放射線状に広がる胚乳細胞が明確に認められ、米表面に近づくほど明確な胚乳細胞が観察されにくくなっていることが分かる。断面表層部分の拡大画像(b)からは、最表層の 2~ 3  $\mu\text{m}$  程の厚みの糠層、その内側に 10  $\mu\text{m}$  程度の糊粉層があることが分かる。また、表面観察画像(c)からは、玄米糠層の繊維状構造が見てとれる。

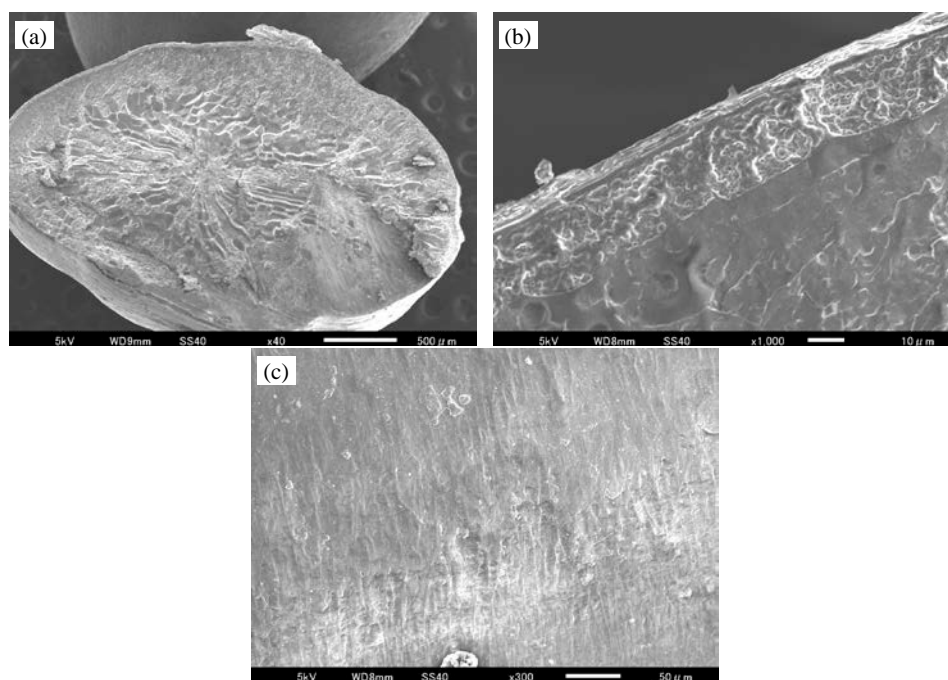


Fig. 3-3. SEM images of the brown rice from cross section view (a), (b) and surface view (c). (a)×40, (b)×1,000, (c)×300.

Figure 3-4 に本試験で用いた精白米の SEM 画像を示す。(a)は米粒の断面画像 (40 倍)、(b)は断面表層付近の拡大画像 (1,000 倍)、(c)は米粒を割らないで表面から観察した画像 (300 倍) である。断面画像(a)からは玄米の画像と同様に、中心部から放射線状に広がる胚乳細胞が明確

に認められ、米表面に近づくほど明確な胚乳細胞が観察されにくくなっていることが分かる。断面表層部分の拡大画像(b)からは、精米によって糠層および糊粉層が削られ、胚乳細胞や澱粉粒が外部に対してむき出しになっていることが分かる。また、表面観察画像(c)からは、精米後の精白米には若干のハニカム構造や精米時の削りかすが見てとれる。

Figure 3-5 が 10 °C60 分浸漬後の SEM 画像である。(a)は米粒の断面画像 (40 倍)、(b)は断面

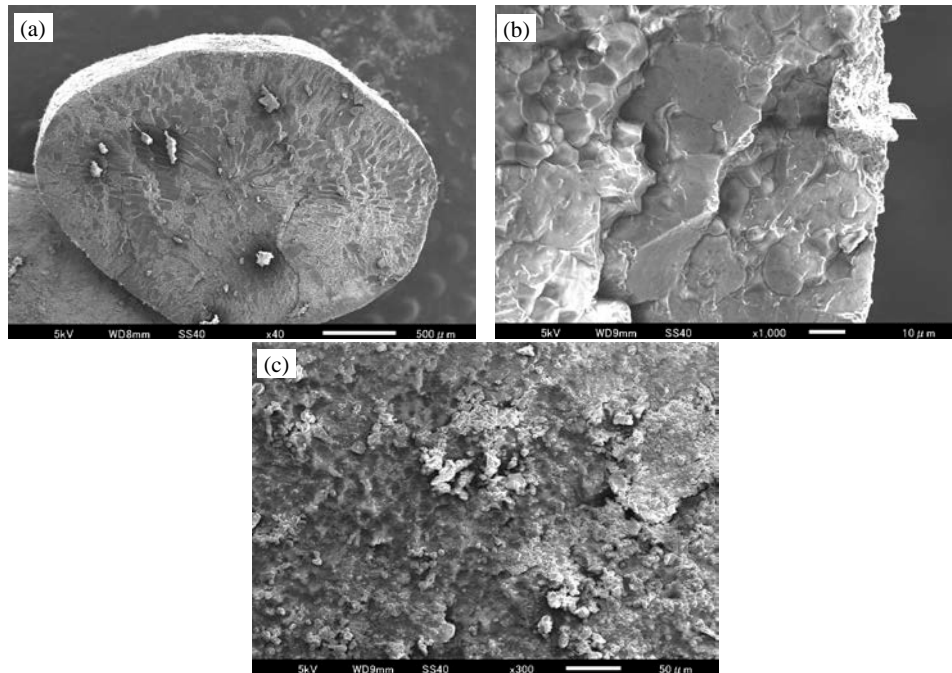


Fig. 3-4. SEM images of the polished rice from cross section view (a), (b) and surface view (c). (a)×40, (b)×1,000, (c)×300.

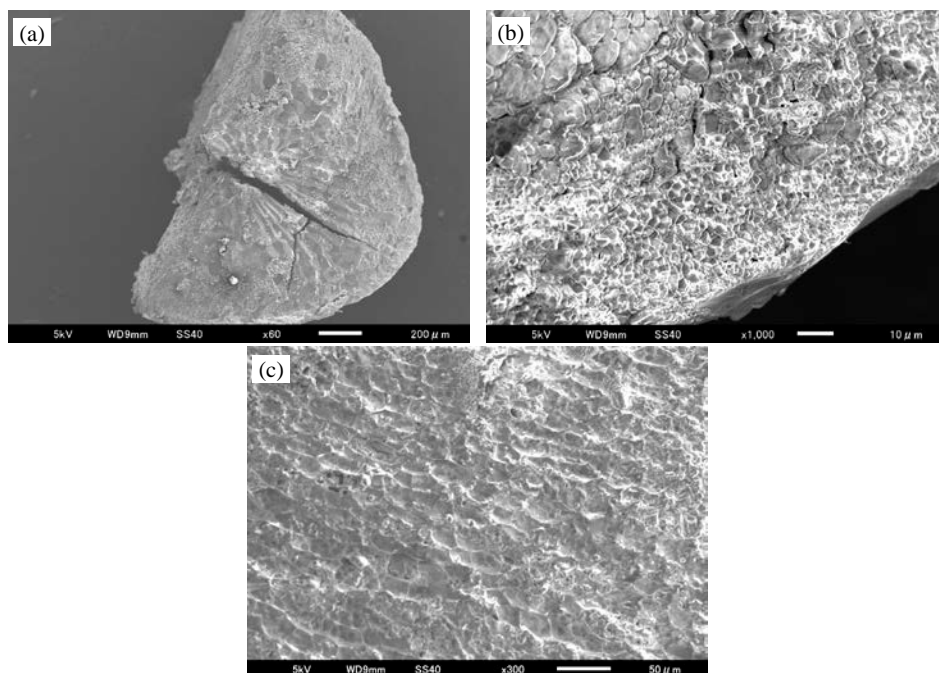


Fig. 3-5. SEM images of the soaked rice from cross section view (a), (b) and surface view (c). (a)×40, (b)×1,000, (c)×300.

面表層付近の拡大画像（1,000倍）、(c)は米粒を割らないで表面から観察した画像（300倍）である。浸漬米はもろいため、きれいな断面を作成することが難しく、ひび割れが生じてしまうが、それ以外の部分では、断面画像(a)の最外層の部分に30~50 $\mu\text{m}$ 程のうっすらとした層ができていることが分かる。拡大画像(b)では、澱粉粒の膨潤が見られ、粒間に隙間が生じていた。また、単粒で存在している澱粉も多くみられることから、最外層におもに澱粉単粒からなる保水層ができていると推測される。また、表面画像(c)では、洗米、浸漬することで表面から澱粉粒や糊粉層の残存物が除去され、20~40 $\mu\text{m}$ 程の大きさの細胞壁がよく見て取れるようになった。なお、洗米の程度によって、上記残留物の除去具合が変わり、これらはアミノ酸の基となるタンパク質を多く含んでいるため、洗米操作の影響を調べる上で構造観察を行なうことは重要である。

浸漬米の断面中心部をさらに詳細に観察したのが Fig. 3-6 である。300倍画像(d)では、50~100 $\mu\text{m}$ 程の胚乳細胞が凹凸を持って密に詰まっているのが分かる。1,000倍画像(e)では胚乳細胞の中に10 $\mu\text{m}$ ほどの細胞小器官（アミロプラスト）が詰まっているが、胚乳細胞間やアミロプラスト間に吸水によると思われる隙間が生じていることが見てとれた。また、5,000倍画像(f)からはアミロプラスト内に1~2 $\mu\text{m}$ ほどの澱粉粒が存在していることが分かる。これらの構造が糊化によってどのような変化を生じるのかを観察した。

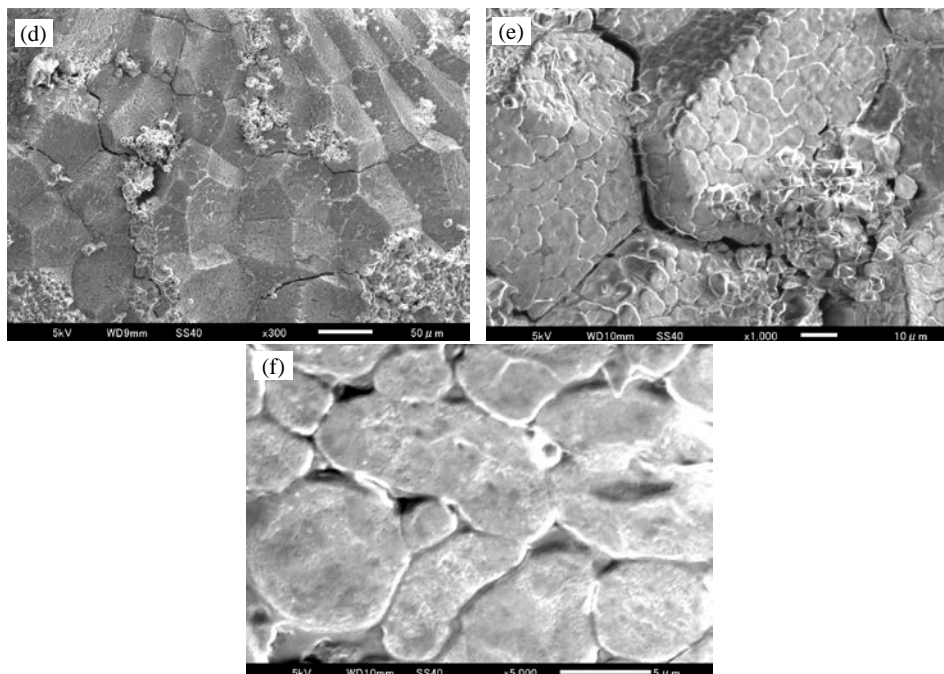


Fig. 3-6. SEM images of the soaked rice cross section at the inner layer. (d) $\times$ 300, (e) $\times$ 1,000 and (f) $\times$ 5,000.

Figure 3-7 に炊飯後の米飯の断面画像の代表例と観察位置（①~③）を示す。①の断面表層

部画像（ $\times 500$ ， $\times 5,000$ ）をそれぞれ Fig. 3-8 と Fig. 3-9 に、②の表層部内側画像（ $\times 5,000$ ）を Fig. 3-10 に、断面中心部画像を（ $\times 500$ ， $\times 5,000$ ）をそれぞれ Fig. 3-11 と Fig. 3-12 に示す。

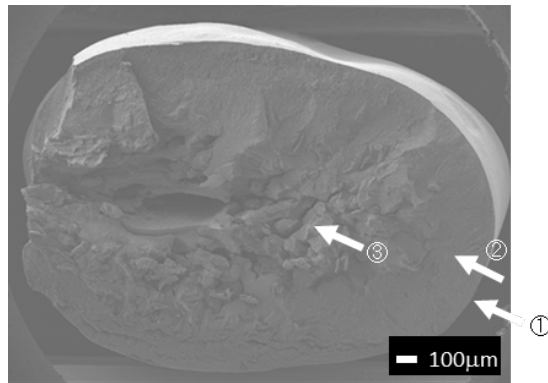


Fig. 3-7. SEM images of the cooked rice cross section ( $\times 30$ ). White arrows indicate the detail observation points.

断面表層部では、Fig. 3-8 (c), (d)中の矢印で示した表層の緻密な構造（緻密層）と内部の多孔質構造で構成されており、0分浸漬では $50\sim 100\ \mu\text{m}$ の胚乳細胞及び $5\sim 10\ \mu\text{m}$ のアミロプラスト構造が多数残存していた（Fig. 3-8 (a)矢印）。20分以降ではアミロプラスト構造は観察されず、大部分で均一なサイズの孔を有する多孔質構造が確認できた（Fig. 3-8 (b)~ (d)）。

緻密層の厚さは Fig. 3-9 中に矢印で示したとおり、0分から60分ではおおよそ $1\sim 2\ \mu\text{m}$ と大きな違いはないが（Fig. 3-9 (a)~ (c)）、120分では約 $5\ \mu\text{m}$ と厚みが大きく増加した（Fig. 3-9 (d)）。120分で緻密層が厚くなった原因として、Maruyama ら（1992）は浸漬過程での溶出澱粉量が浸漬時間とともに増加すると報告しており、本研究では60分から120分の間に多量の溶出澱粉が生じた可能性が考えられる。

Fig. 3-9 の多孔質構造の孔の大きさ（直径）は、0分はおおよそ $0.5\ \mu\text{m}$ 以下であるのに対し、20分は $0.5\sim 1\ \mu\text{m}$ 、60分では $1\sim 2\ \mu\text{m}$ 、120分では $1\sim 5\ \mu\text{m}$ と浸漬に伴って大きくなった（Fig. 3-10 (a)~ (d)）。Ogawa ら（1999）は凍結乾燥法で試料作製した場合、凍結速度によって多孔質構造の大きさが変わることから、多孔質構造は凍結時に生じる氷結晶由来だと報告している。また、Takahashi ら（2001）は、微細骨格構造（多孔質構造）の大きさは、澱粉粒内のアミロペクチン分子の水分子の取り込み量に依存すると報告しており、本結果では0~60分の含水率が異なるため、その差が反映されていると考えられる。一方で、60分と120分では含水率が同じにもかかわらず、多孔質構造に大きな違いが生じていることから、澱粉粒内外での水分子の分布などに質的な違いがあることが示唆される。

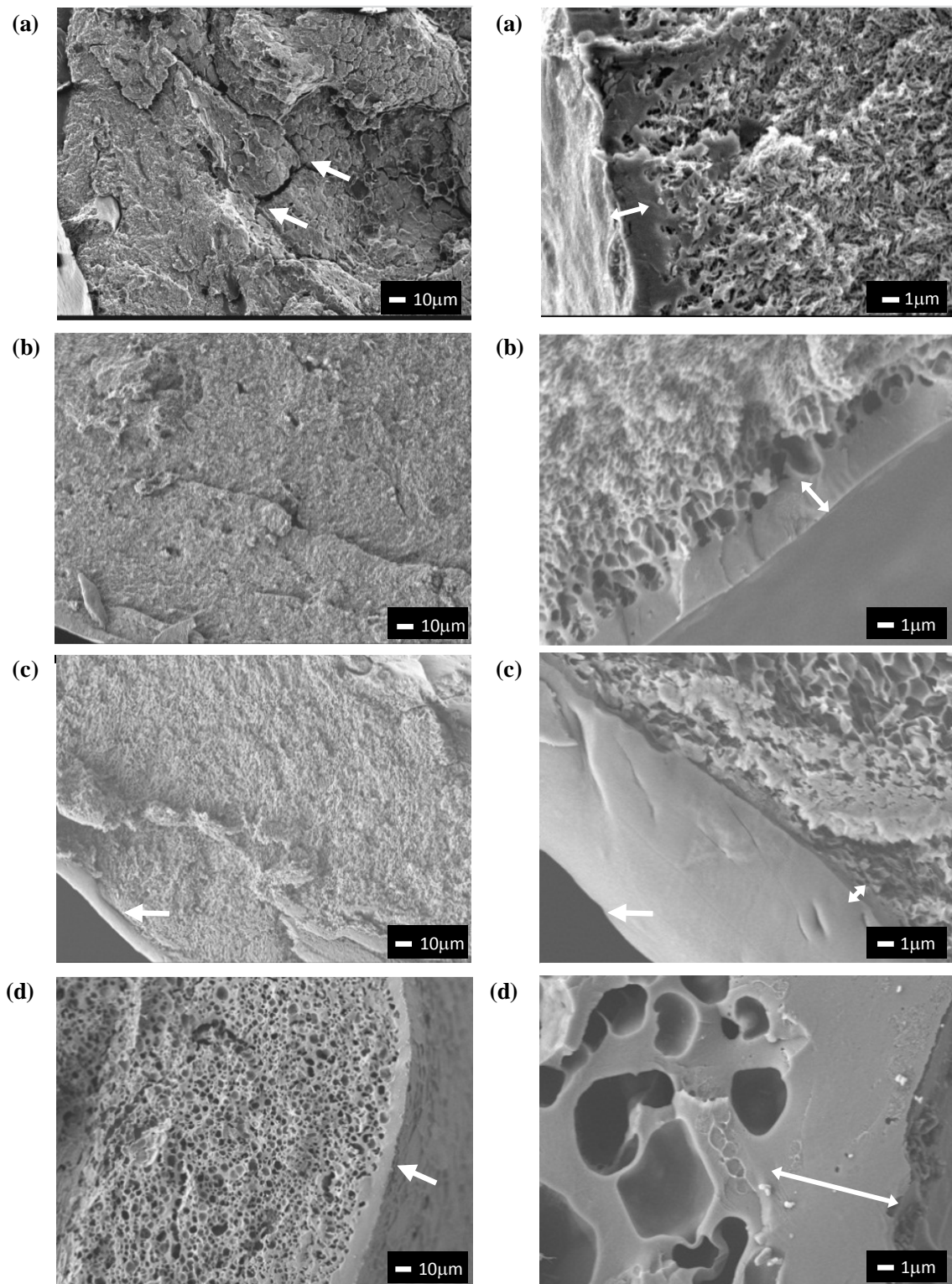


Fig. 3-8. SEM images of the cooked rice cross section with different soaking time ( $\times 500$ ). (a) 0 min., (b) 20 min., (c) 60 min., (d) 120 min.. White arrows indicate endosperm cell ((a)) and surface dense layer ((c), (d)).

Fig. 3-9. SEM images of the cooked rice cross section at the outer layer (①) with different soaking time ( $\times 5,000$ ). (a) 0 min., (b) 20 min., (c) 60 min., (d) 120 min.. Double white arrows indicate the thickness of the dense layer.



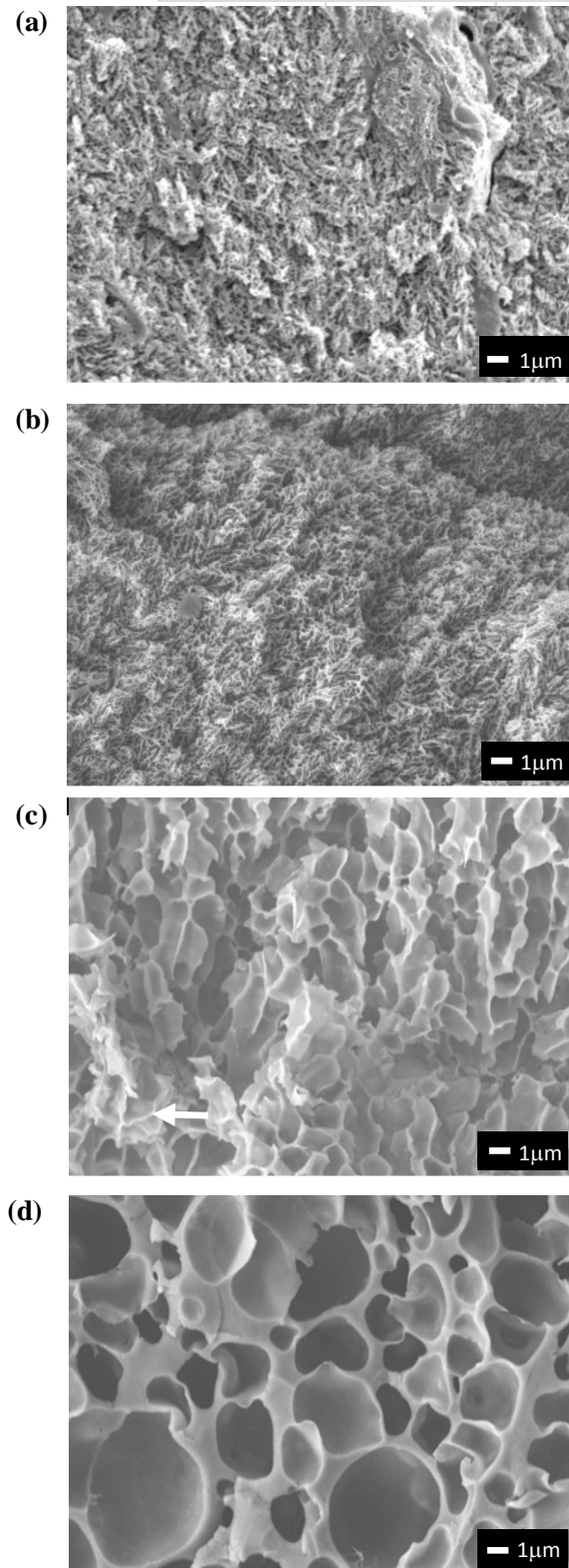


Fig. 3-10. SEM images of the cooked rice cross section at the inner layer (②) with different soaking time ( $\times 5,000$ ). (a) 0 min., (b) 20 min., (c) 60 min., (d) 120 min..

Fig. 3-11 の断面中心部では、0分は胚乳細胞の境界が明瞭であり (Fig. 3-11(a))、20分と60分でも胚乳細胞は確認できたが (Fig. 3-11(b), (c))、浸漬時間とともに輪郭が不明瞭になっていき、120分ではほぼ輪郭がなくなり、多孔質構造になっていた (Fig. 3-11(d))。また、Fig. 3-12では、20分の時点ではアミロプラスト構造が多数残存していたが (Fig. 3-12(a), (b))、60分以降では表層部内側と同様に均一な多孔質構造が確認できるようになった (Fig. 3-12(c), (d))。中心部は表層部よりも全体的に構造変化が遅れており、これは Takahashi ら (2001)の結果と一致する。よって、浸漬なしで炊飯した場合は澱粉が十分に糊化できずアミロプラスト単位での初期構造が残り、浸漬時間が短く吸水が不十分な条件下 (20分浸漬) では、最表面ではアミロプラスト構造はなくなり全体的に糊化が進行して均一な多孔質構造になったものの、内部ではまだアミロプラスト構造が確認されており、糊化が不十分であることが分かった。吸水が平衡状態に達した60分浸漬では全体的に均一に糊化されており、平衡状態に達してからも浸漬し続けた120分浸漬では、糊化がさらに進行して多孔質構造が大きくなる一方で澱粉の流出も生じることで最表面に分厚い緻密構造ができることが分かった。このように糊化度や水分率では大きな違いがない場合でも、米粒の構造には大きな違いが表れることが分かった。Ikeda ら (1996)は、良食味米と低食味米の多孔質構造の違いが澱粉の水和に寄与する水の量によると推察しており、本研究の多孔質構造が形成される原因も水和に寄与する水の量の差である可能性が高いと考えられる。20分~120分では浸漬米の吸水量はほぼ同等であるため、米粒内の水分分布や澱粉と結合する水分の状態といった吸水状態の質的な違いが、多孔質構造に差が生じた原因と考えられ、今後の検証が必要である。

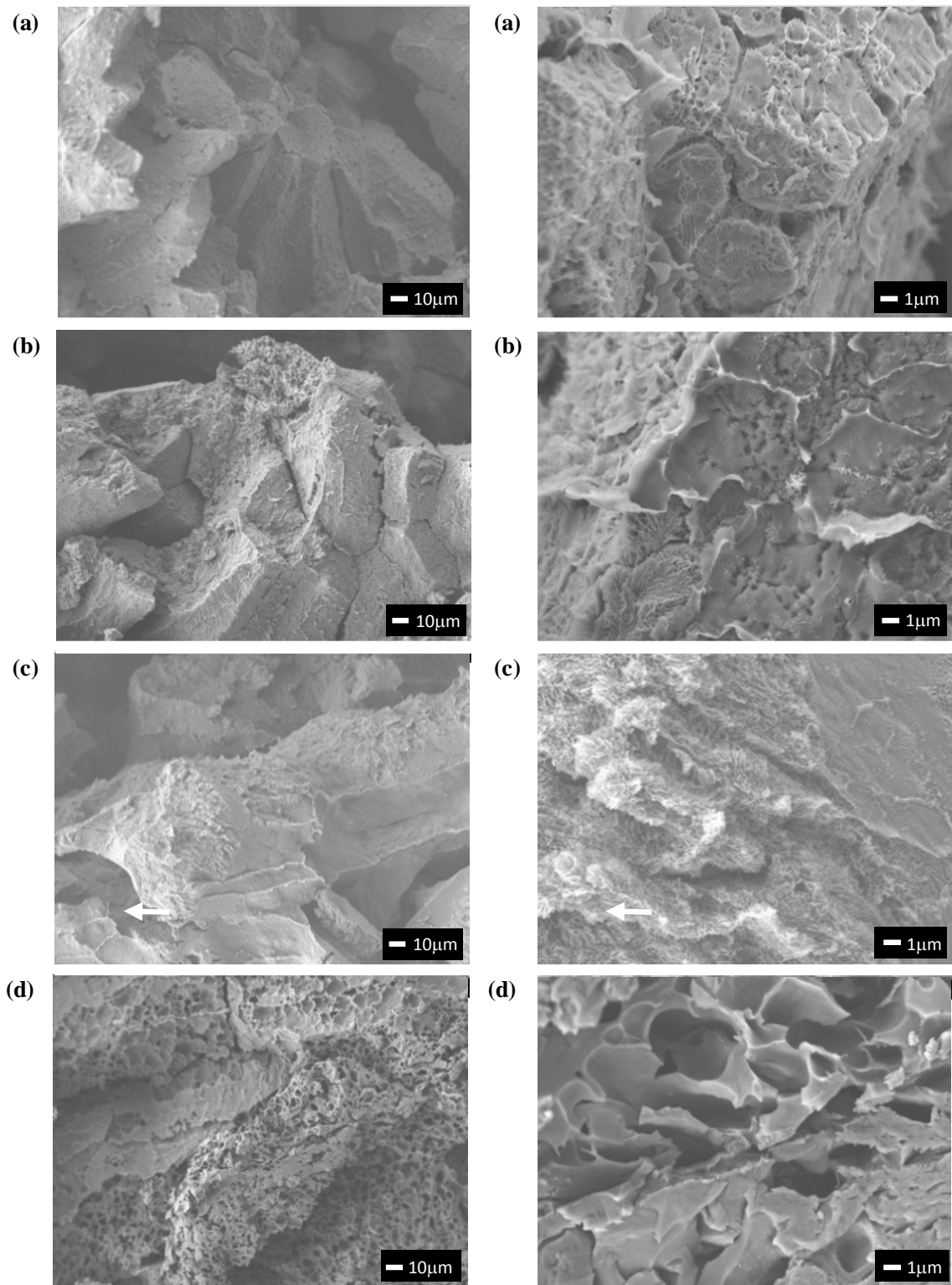


Fig. 3-11. SEM images of the cooked rice cross section at the center (③) with different soaking time( $\times 500$ ). (a)0 min., (b)20 min., (c)60 min., (d)120min..

Fig. 3-12. SEM images of the cooked rice cross section at the center (③) with different soaking time( $\times 5,000$ ). (a)0 min., (b)20 min., (c)60 min., (d)120min..



## 孔面積

浸漬による米粒断面最表面の構造の違いを定量的に評価するため、Figure 3-10 の多孔質構造の平均孔面積及び平均孔直径を画像解析により算出した。Figure 3-13 に解析前後の多孔質構造を示す。赤線で示した多孔質構造のサイズは浸漬時間とともに増大した (Table 3-4)。0 分では、アミロプラスト構造も確認されており、浸漬前の澱粉形状を維持しているためか平均面積は小さく、60 分以降で急激に増加した。上述のような糊化度に反映できない糊化後の澱粉構造の変化を、構造解析により定量的に捉えられる可能性が示唆された。多孔質構造の広がり、0 分では表面から約 100  $\mu\text{m}$ 、20 分と 60 分は 200  $\mu\text{m}$  以上、120 分では中心まで広がっていた。

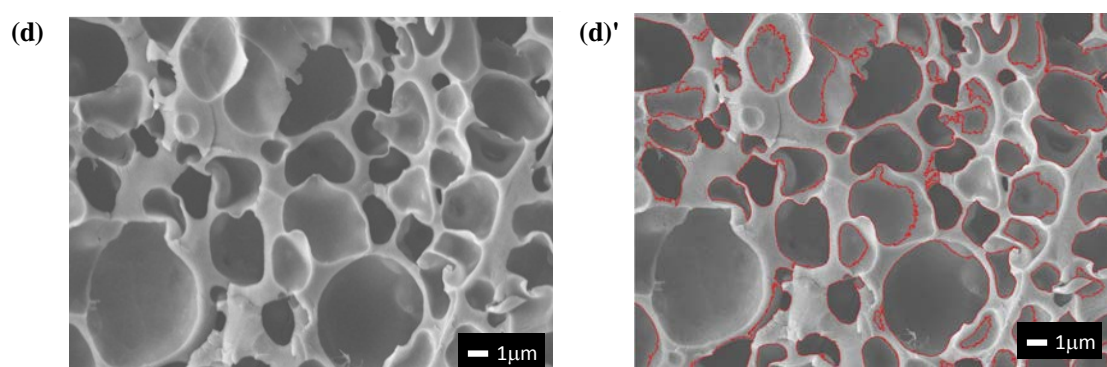


Fig. 3-13. SEM images of the cooked rice cross section at the inner layer (②) of 120min. soaked rice (d). Image analysis of porous structure (d)'. Red lines mean the edge of the each porous structure.

Table 3-4. Pore size of the cooked rice from SEM image with different time soaking.

	Soaking time (min)				
	0	20	60	120	
Pore size ( $\mu\text{m}^2$ )		0.02	0.06	1.31	4.72
Perimeter ( $\mu\text{m}$ )		0.15	0.28	1.29	2.45

### 3.3.3. テクスチャー

#### 破断試験

一粒破断法による破断強度試験では、Fig. 3-14 のような応力歪曲線が得られる。歪率が小さい範囲では米粒の表面を軽く押している状態で、ほぼ直線的に応力が増加しており、米粒を弾性体として考えることができる。その後 50~60 %付近の破断点で米粒の表層が破断され、一旦応力が低下する。その後、密な内部構造に力がかかることで、応力が増加し、歪率 100 %で完全に破断

された状態となる。歪率がそれぞれ 20%、破断点（50%前後）、80%の破断エネルギー（積算応力×接触面積）を示したのが Table 3-5 である。歪率 20%は緻密層を含めた表層付近を、歪率 80%は表層破断後の米飯内部の評価を想定している。どちらの値も浸漬無し（0 分）に比べて、浸漬することで破断エネルギーが減少し、120 分で増加に転じる傾向が見られた。破断エネルギーの減少については、浸漬によって内部まで吸水されることでより糊化が進行して軟らかくなったためであり、増加については長時間浸漬（120 分）によって生じた溶出澱粉が炊飯時に“おねば”として戻ってきた際に緻密な硬い層ができたことによるものであると考えられる。また、炊飯時に水溶性のアミロース成分が溶出しやすいことから、この緻密層は米粒の平均よりもアミロースが多く存在していると考えられ、より硬さに影響を与えていることが示唆される。20%歪時（緻密層が破断せず表面近くの多孔質層が歪んでいる）の破断エネルギーは、120 分と 20 分や 60 分との差があまり見られなかったのに対し、破断時ではその差が大きく広がっていることから緻密層の厚みが破断に影響していることが示唆される。

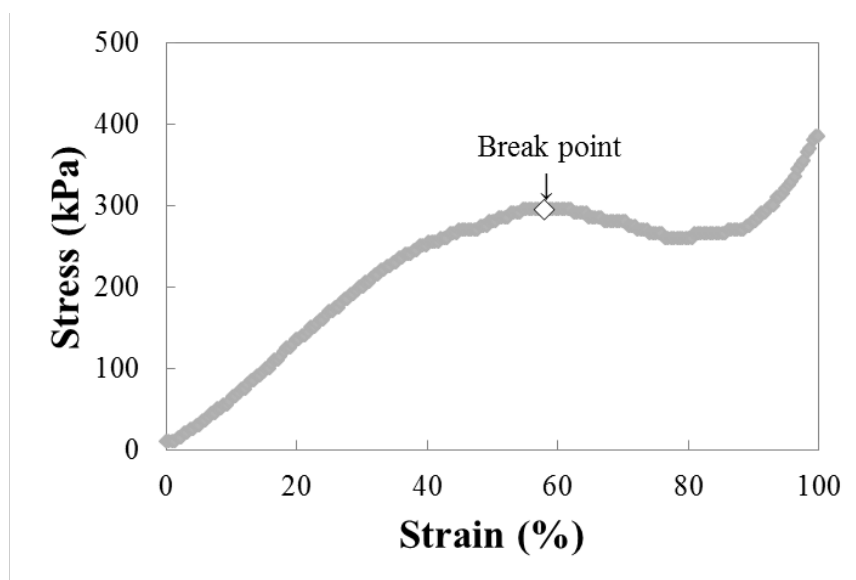


Fig. 3-14. Strain-stress curve of the cooked rice.

Table 3-5. Breaking Energy of the cooked rice with different soaking time. (n= 6)

	Strain	Soaking time (min)			
		0	20	60	120
<b>Breaking</b>	20%	13.9± 0.8	10.5± 0.9	09.9± 1.1	10.9± 1.2
<b>Energy</b>	Break Point	80.0± 12.3	67.5± 14.5	66.7± 9.1	78.1± 13.0
<b>(kPa)</b>	80%	177.9± 8.2	144.7± 16.3	146.0± 24.5	165.1± 15.8

### クリープ試験

クリープ試験では一定の圧力 (0.2 N)印加下での米粒の厚みの変位及び印加終了後の変位の時間変化から米粒表層の粘弾性を評価しており、Fig. 3-15 のような変位曲線を得ることができる。印加した 0.2 N は上記破断試験の結果では歪率が約 25 %であり、破断荷重前の弾性変形領域内の弾性率および粘性率の計測結果を Table 3-6 に示す。弾性率は浸漬時間が長いほど低下する傾向にあり、0 分と 120 分の米飯の間には有意な差が得られた。粘性率は 0 分浸漬が 60 分や 120 分よりも有意に高く、20 分浸漬よりも 60 分の方が有意に低かった。一方で、120 分では増加に転じており、緻密層の影響が考えられる。

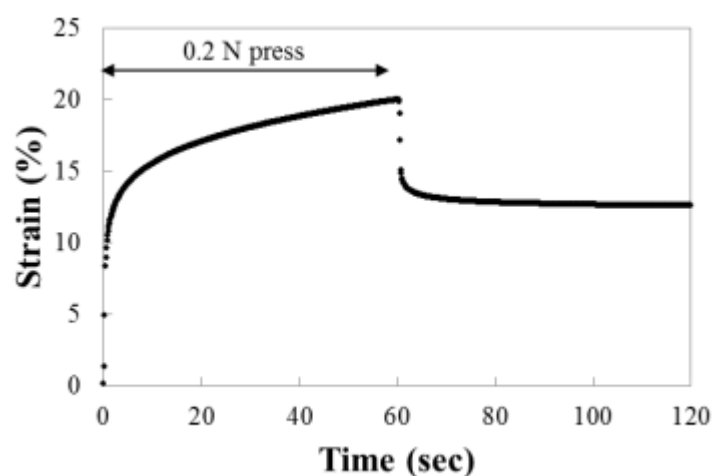


Fig. 3-14. Strain change of cooked rice during creep test. (n= 10)

Table 3-6. Breaking Energy of the cooked rice with different soaking time. (n= 6)

Strain	Soaking time (min)			
	0	20	60	120
<b>Elasticity (kPa)</b>	0.93± 0.14	0.78± 0.10	0.71± 0.03	0.70± 0.06
<b>Adhesiveness (MPa·s)</b>	229.9± 26.9	190.7± 22.3	146.0± 10.7	171.2± 37.5

#### 3.3.4. 各指標間の相関

Table 3-7 に各指標間の相関を示す。浸漬米の水分率は米飯のテクスチャーや多孔質構造の多くの項目で高い相関があり、吸水の制御が米飯の食感を制御する上で重要であることが分かる。一方で、米飯の水分率は浸漬米ほどには各指標との相関は見られなかった。加熱制御が同じ場合は加水量で米飯の水分率が決まるので、サンプル間に差がほとんど出なかったためと考えられる。テクスチャーは全体の硬さについては糊化度、多孔質構造ともにあまり相関がみられなかったが、クリープ粘弾性は多孔質構造と高い相関が得られた。また、クリープ粘弾性は表層の情報である

ため、20%破断とは非常に高い相関が得られた。

よって、浸漬米の吸水状態の違いは、炊飯後の米飯のテクスチャーにも強く影響を与え、それを評価する上で米飯の多孔質構造の評価が有効であることが示せた。ただし、今回の多孔質構造の評価はあくまで表層部分の分析であるため、中心部分の多孔質構造の評価も加えることで、全体の硬さとも相関が得られるようになる可能性があると考えられる。

Table 3-7. Correlation between water content, texture, gelatinization degree and porous structure.

	Water content		Breaking Energy		Elasticity	Stickiness	Gelatinization degree	Pore size	Pore diameter	
	Soaked rice	Cooked rice	20 % Break point	80 % Break point						
<b>Water content</b>	-	0.46	-0.95	-0.41	-0.60	-1.00	-0.95	-0.31	0.66	0.78
<b>Breaking Energy</b>										
Cooked rice			-0.48	-0.47	-0.59	-0.49	-0.21	0.64	0.40	0.33
20 %			-	0.66	0.80	0.95	0.94	0.15	-0.42	-0.55
Break point				-	0.97	0.42	0.44	-0.46	0.33	-0.23
80 %					-	0.61	0.60	-0.37	0.20	-0.01
<b>Elasticity</b>										
Stickiness						-	0.94	0.28	-0.66	-0.78
<b>Gelatinization degree</b>										
Pore size							-	0.47	-0.48	-0.65
<b>Pore diameter</b>										
									-0.36	-0.49
									-	-
									-	-

### 3.4. 結言

十分に糊化した米飯の微細構造とテクスチャーとの関係を明らかにするため、4種類の浸漬時間の異なる浸漬米を調製し、同一条件で炊飯した米飯の物性や構造を評価した。浸漬時間が長くなるに従い、浸漬米の吸水率は増加し、60分程で平衡状態に達した。また、炊飯後の米飯の水分率は、20分浸漬以降は有意差なく炊きあがっており、米飯の水分率や糊化度についても、4種類の米飯の間に有意差はなかった。一方で、弾性率などのテクスチャーは、浸漬に伴って大きく変化したことから、浸漬時間の違いがテクスチャーに反映されていることが示唆された。

SEMでの米飯の断面構造観察では、浸漬に伴い米飯の微細構造は大きく変化した。断面最表層では緻密層の厚みが120分で大きく増加し、内部ではアミロプラスト構造が消失して、多孔質構造の孔の面積が徐々に増大することが分かった。また、テクスチャーは浸漬時間が長くなるほど弾性がなくなり、破断エネルギーと粘性率も減少したが、120分で増加に転じていることから、緻密層が破断エネルギーや粘性率に関係している可能性が高いと考えられる。実際に、20%歪時（緻密層が破断せず表面近くの多孔質層が歪んでいる）の破断エネルギーは、120分と20分もしくは60分との差があまり見られなかったのに対し、破断時ではその差が大きく広がっていることから緻密層の厚みが破断に影響していることが示唆される。また、多孔質構造の孔面積や孔直径を画像解析により求め、テクスチャーとの相関を評価したところ、米の水分率や米飯の弾性率と高い相関を示すことが分かった。

以上の結果より、従来の評価手法である米飯の水分率や糊化度に差がない炊飯米において、多孔質構造や表面の緻密層の厚さなど構造観察によってその違いを明確に表すことができた。また、それが破断エネルギーや弾性率といったテクスチャーと関係性があることも示した。一方で、官能評価における食感との関係や、緻密層が弾性率や粘性率に与える影響の評価、また、微細構造の違いが生じた原因の解明が今後の課題である。

### 3.5. 参考文献

- Hizukuri, S., Fuji M., Nikuni, J. (1960). X-Ray Diffractometric Studies on Starches. (V) Relation between Viscosity Change and Micelle Structure in the Gelatinization of Starches. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 34, 178-182.
- Ikeda, H., Kimura, T., Saiki, Y., Ogawa, K., Tomoda, K., Kuchiba, N. (1996). Relation between the Physicochemical Properties and the Structures of Cooked Rice (Part 1). *Journal of Home Economics of Japan*, 47, 877-887.
- Katz, J. R., Itallie, T. B. (1930). The physical chemistry of starch and bread making. V. All varieties of starch have similar retrogradation spectra. *Z. Physik. Chem*, 150, 90-99.
- Kainuma, K., Matsunaga, A., Itagawa, M., Kobayashi, S. (1981). New Enzyme System-Beta-Amylase-Pullulanase-To Determine the Degree of Gelatinization and Retrogradation of Starch or Starch Products. *Journal of the Japanese Society of Starch Science*, 28, 235-240.
- Matsuda, T., Chonan, N., Tutiya, T. (2001). Fine structure and taste of cooked rice. *Japanese Journal of Crop Science*, 58, 259-260.
- Matsunaga, A., Ishida, N., Kainuma, K. (1985). Degree of Gelatinization of Starch during the Cooking Process of Rice. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 32, 797-803.
- Matsunaga, A. (1986). Comparative Studies on Methods to Determine the Degree of Gelatinization and Retrogradation of Starch. *Bulletin of Ibaraki Women's Junior College*, 13, 96-106.
- Maruyama, E., Sakamoto, K. (1992). A Basic Study on Cooking of Rice (Part 1). *Journal of Home Economics of Japan*, 43, 97-103.
- Miura, Y. (2003). Thermal Analysis on Gelatinization and Retrogradation of Starch. *Bulletin of Hiroshima Jogakuin University*, 53, 79-87.
- Ota, T., Matsushima, A., Nakayama, K., Akasaki, T., (2014). Possible amendment of Customs Analysis Method "Analysis method for  $\alpha$ -starch in starch products". *Central Customs Laboratory Report*, 54, 5-12.
- Otsu, N. (1979), A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms, *IEEE Transactions on Systems, MAN, AND CYBERNETICS*, SMC-9, 62-1-66.
- Okamoto, K., Miura, M., Noguchi, G. (2012). Study of a method to determine the degree of gelatinization of starch by HPLC. *Reports of the Central Customs Laboratory*, 51, 45-49.
- Ogawa, K., Kimura, T., Wada, M., Nishimura, M., Itoh, S., Yamada, M. (1999). Comparison of Sample Preparation Methods for Observing Cooked Rice by Scanning Electron Microscopy. *Journal of Home Economics of Japan*, 50, 1281-1289.

- Schoch, T. J. (1942). Fractionation of Starch by Selective Precipitation with Butanol, *JACS.*, 64, 2957-2961.
- Schoch, T. J. and Maywald, E. (1956). Microscopic examination of modified starches, *Anal Chem.*, 28, 382-2-2-87.
- Takahashi, K., Wada, K. (1981). Thermal Analysis of Food. *Science of Cookery*, 14, 152-1-161.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Okazaki, N., Chonan N. (1997). Influences of Storage Period and Condition on the Fine Structure and Taste of Cooked in Milled Rice. *Tohoku Journal of Crop Science*. 40, 59-60.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Nitta, Y. (2000). Fine structure and taste of cooked rice. *Japanese Journal of Crop Science*, 69, 38-39.
- Takahashi, K., Matsuda, T., Nitta, Y. (2001). Time-Course Changes of the Fine Structure of Rice Starch Grains during Cooking Process by Scanning Electron Microscopy. *Japanese Journal of Crop Science*, 70, 47-53.
- Toyama, T., Hizukuri, S., Nikuni, J. (1966). The measurement method of gelatinization degree of starch using Gluco-amylase enzyme. *Journal of the Technological Society of Starch*, 13, 69-75.
- Yadav, B. K., Jindal, V. K. (2007). Dimensional changes in milled rice (*Oryza sativa* L.) kernel during cooking in relation to its physicochemical properties by image analysis. *Journal of Food Engineering*, 81, 710-720.

## 4. XRD による米飯の老化定量化手法の開発

### 4.1. 緒言

澱粉の糊化や老化の評価方法についての研究は数多くなされており、Biliaderis ら (1980)や Donovan (1979)、Kugimiya ら (1980–1981)、Nakazawa ら (1984)、Wang (2015); Wootton (1979)らは DSC (differential scanning calorimetry)を、Wang ら (2015)は XRD (X-ray diffraction)を、Teo ら (1992)は NMR (nuclear magnetic resonance)を用いた糊化や老化の定量評価が特に注目されてきた。澱粉の結晶構造の評価には、XRD が最も一般的に使われており、天然の澱粉は植物起源に応じて A、B、C、V 型の 4 つの XRD パターンがあることが報告されている (Buleon ら (1946)、Katz ら (1930)、Kreger (1946)、Zobel (1988))。A 型 (コーンスターチなど穀類由来の澱粉) は $\alpha$ -グルコース分子が直鎖状に重合している螺旋構造部分の二重螺旋状態の結晶が互いのグルコース残基上の水酸基同士で直接水素結合を形成する構造をとり、B 型 (馬鈴薯など根茎・球根由来) は間に水分子一層を挟む構造、C 型 (根由来) は A 型と B 型の両者の混合した構造、V 型は螺旋構造が一重螺旋構造をとる。ほとんどの澱粉は A 型もしくは B 型の構造であり、C 型はほとんどなく、V 型はめったにない構造である。Lionetto ら (2005)、Wani ら (2012)は典型的な天然の穀物澱粉である小麦や米の構造は A 型である、と報告している。ただし、Wang ら (2015)は保管時の保管方法や水分量などによっては、老化することで A 型もしくは B 型となることもあり、特に、室温以下の環境で高水分率の状態では保管していると B 型となると報告している。

結晶化度の評価方法については 1959 年に Wakelin らが報告した手法が今でも広く用いられている。本手法では、得られた回折パターンは非晶質なハロー信号を差し引いて、結晶部分に由来する個別ピークに分離され、これらのピーク強度から結晶化度の値が得られる。この方法は澱粉の老化の評価にも活用可能である。Frost ら (2009)は、初期の結晶化度を決定し、フィルムを製造するために使用する高アミロース熱可塑性澱粉のゲル化および老化のモニタリングに用いた。しかし、この方法により結晶化度の値を得るのは非常に複雑で、かつあいまいであり、フィッティングのやり方によって結果が変わってしまう。

本研究では、炊飯米の老化程度の評価方法の構築のため、XRD を用いた。上記問題点を鑑みて、澱粉の結晶構造パターンから単離できる回折ピーク ( $2\theta = 5.5^\circ$ )を用いて、老化による再結晶化を評価した。このピークは一般的に高アミロース含有のじゃがいもやトウモロコシなどの B 型の XRD パターンで観察され (Amparo ら (2007)、Frost ら (2009))、高アミローストウモロコシ澱粉に由来するゲルソースやレジスタントスターチでも観察される (Wang ら (2015))。結晶性や老化度の評価には、crystalline fingerprint region が良く使われる。低角度ピークの分析方法はこれまでに報告がなく、室温より低い温度で高水分率の状態の米飯を用いた。米飯の水分率は  $64 \pm 1.9 \text{ wt}\%$  で炊飯後



の状態と同じになるようにした。我々の手法は、脱水や乾燥などの事前処理なしに食せる状態で老化の評価が可能であり、炊飯後一日などの短期間での老化を容易に定量評価できると考えている。この新手法を検証するため、DSC 測定を行なうとともに、*in situ* にて再糊化させ、加熱前後の XRD 測定も行なった。

## 4.2. 実験方法

### 4.2.1. サンプル

Table 4-1 に示すアミロース／アミロペクチン比の異なる 4 種類の米 (Milky Queen (以後 Milky)、Jasmine、Koshihikari (Koshi)、Yume-Jissyoku (Yume)) を試験に用いた。Yume (夢十色) は 糖尿病患者のための米で、アミロースの含有量が非常に高い米である。アミロース／アミロペクチン比は Megazyme 社の計測キットで計測した。

Table 4-1. Composition of raw rice used in this study.

	Milky-Queen (Milky)	Jasmine	Koshihikari (Koshi)	Yume-Jissyoku (Yume)
<b>Starch content (%)</b>	77.2	74.5	76.4	74.3
<b>Amylose/Amylopectin ratio</b>	4/96	10/90	13/87	23/77
<b>Amylose content (%)</b>	3.1	7.5	9.9	17.1
<b>Amylopectin content (%)</b>	74.1	67.1	66.5	57.2
<b>Moisture content (%)</b>	13.1	13.5	14.3	12.3
<b>Others (%)</b>	9.7	12.0	9.3	13.4

米 300 g をザルで 3 回洗い、浄水 500 g を加えて室温で 1 時間吸水させ、電気炊飯器 (Panasonic 製 SR-SX101) で炊飯し、炊飯後の米飯の水分率を  $64 \pm 1.9$  wt% となるように加水量を制御した。その後、水分が蒸発しないようにグローブボックス中の高湿度環境下で米飯をすり潰し、XRD の治具に正確に 1 mm の厚みになるよう埋め込んだ。計測中と保管中の水分蒸発を防ぐために治具をフィルム (Rigaku 製 Mylar 3399N010) でカバーし、XRD 計測用のサンプルとした。DSC 計測用には、大容量ステンレスセル (Perkin-Elmer 製 LVC0319-0218) に埋め込み、ステンレスの蓋をした。サンプルは 5 °C の冷蔵庫で 1, 3, 4, 5 日間、-20 °C の冷凍庫で 4 日間保管し、室温下で常温に戻した後に各計測を行なった。

#### 4.2.2. XRD

XRD 測定はシンチレーション検出器搭載の Rigaku 製 SmartLab にて行った。測定条件は X-ray source; Cu-K $\alpha$  (45 kV, 200 mA)、scan axis;  $2\theta$ - $\theta$  ( $3^\circ$ -  $33^\circ$ )、scan speed;  $1^\circ$ / min. である。

#### 4.2.3. DSC

DSC 測定は Perkin-Elmer 製 DSC-Pyris1 にて行った。室温から  $90^\circ\text{C}$  まで  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  で昇温させ、計測後に固形分測定のため乾燥オーブンで  $135^\circ\text{C}$  で 3 時間乾燥させた。

#### 4.2.4. *In-situ* XRD

再加熱による結晶構造の変化を評価するため、 $5^\circ\text{C}$  で 4 日間保管した米飯を XRD 測定器内で  $35^\circ\text{C}$  から  $75^\circ\text{C}$  まで  $10^\circ\text{C}$  ずつ上げ、各温度で 10 分間温度を維持し、その間に XRD 測定を行なった。温度は DSC 同様  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  で昇温した。Figure 4-1 に試験中の温度履歴を示す。

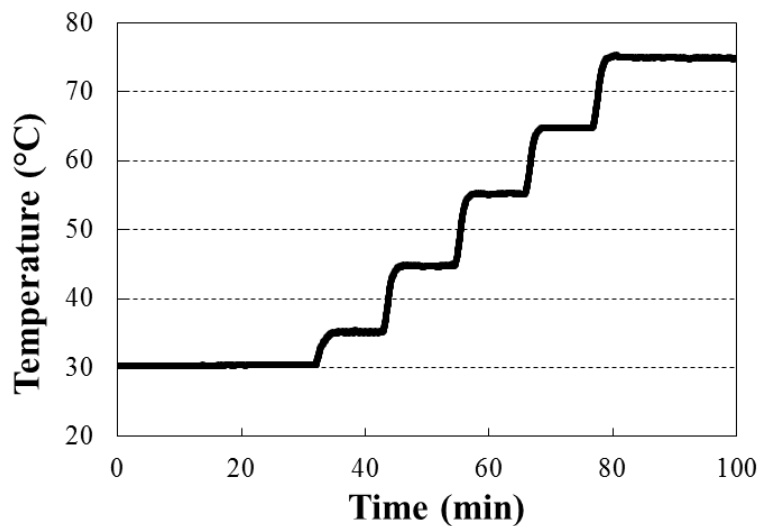


Fig. 4-1. Temporal variation of the sample temperature for *in-situ* XRD measurement.

### 4.3. 実験結果と考察

#### 4.3.1. XRD

生米の X 線回折パターンを Figure 4-2 に示すが、どれも典型的な A 型の結晶構造を示しており、 $2\theta = 15^\circ, 17^\circ, 18^\circ, 20^\circ, 23^\circ$  にピークが存在し、 $5.5^\circ$  にはピークがないことを確認した。

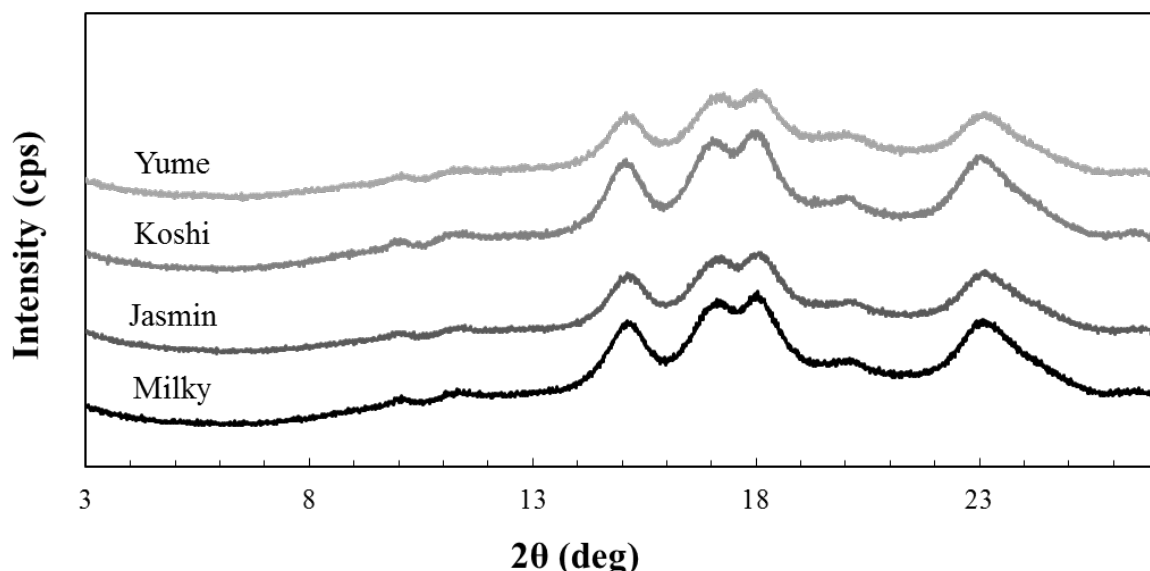


Fig. 4-2. X-ray diffractograms of raw rice.

Figure 4-3 に炊飯後の米飯の X 線回折パターンを示すが、炊飯直後の米飯（薄い点線）はどれも Figure 4-2 で見られた生米のピークが消失し、アモルファスの状態になっていることが確認できた。 $-20^\circ\text{C}$  の冷凍庫で 4 日間保管した米飯（濃い点線）は炊飯直後の X 線回折パターンからほとんど変化しておらず、アモルファスの状態のままであった。一方で  $5^\circ\text{C}$  の冷蔵庫で保管した米飯（実線。下から順に 1 日後、3 日後、4 日後、5 日後）は  $5.5^\circ$  や  $17^\circ, 20^\circ, 22^\circ$  および  $24^\circ$  にピークが出現しており、品種によってその強度や出現時期が異なっていた。X 線回折パターンから老化の度合いを評価する場合、 $17^\circ$  や  $20^\circ$  のピークを用いる例が多いが（Tsuiji ら (1983)、Yoshida ら (2010)、Nguyen ら (2014))、生澱粉と老化澱粉の双方ともこの領域に複数のピークを有しており、バックグラウンドの影響除去やピーク分離などの処理を行なう必要があるため、シングルピークとしての強度や面積を算出するのは困難が伴うことが分かる。このようなあいまいさを避けるため、単離され、かつ生澱粉ではピークのない  $5.5^\circ$  の老化ピークを用いることで老化度合いの定量的な評価を容易に行なうことが可能となる。単離されたシングルピークである  $5.5^\circ$  のピーク面積は、Table 4-2 や Figure 4-4 に示すように保存の日数が経過するほど大きくなった。

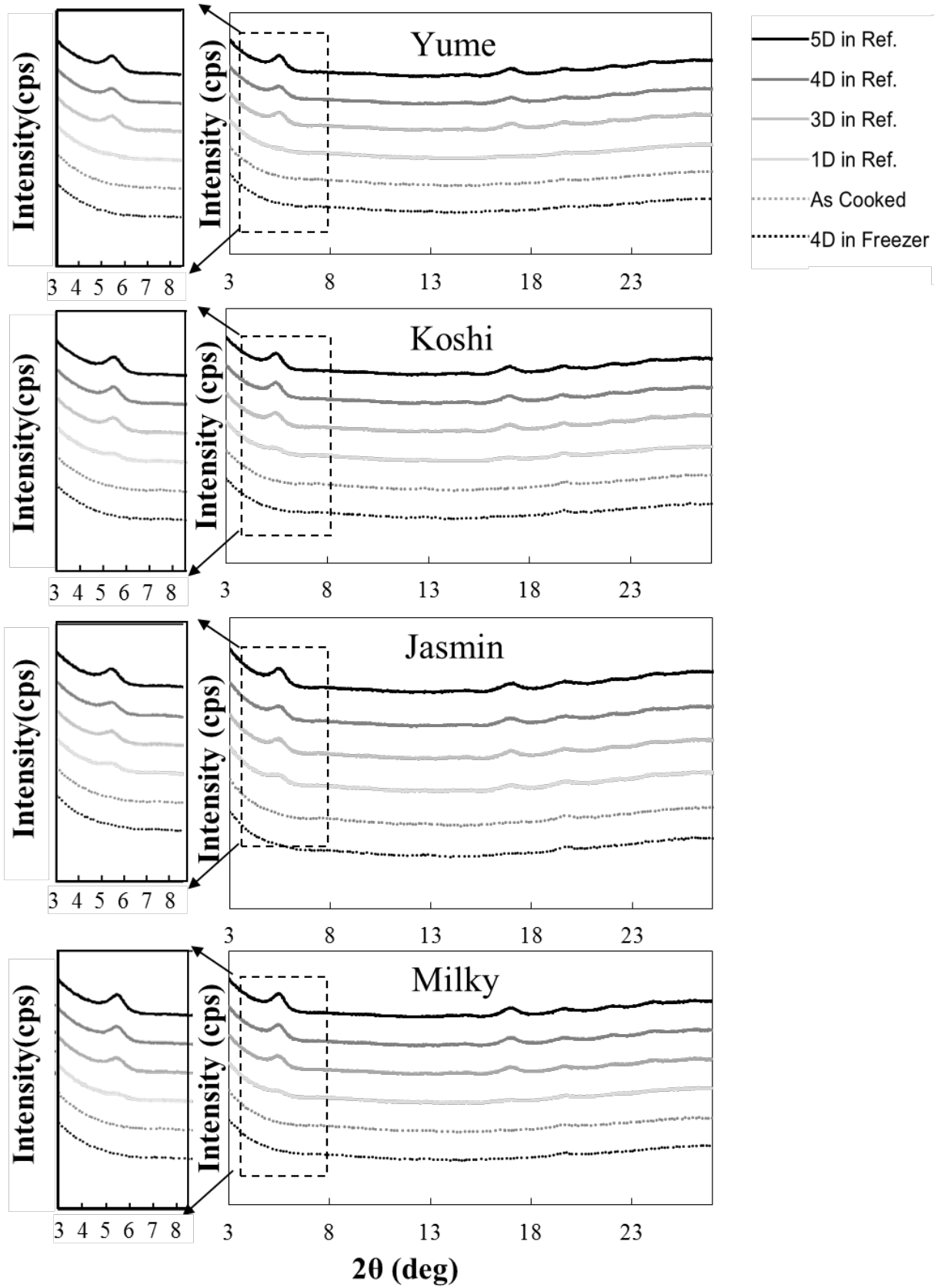


Fig. 4-3. X-ray diffractograms of as cooked rice, and cooked rice stored at different storage conditions.

Table 4-2. XRD peak area of each cooked rice.

Sample	XRD peak area at 5.5 °C (cps·deg)			
	Milky	Jasmine	Koshi	Yume
As cooked	N.D	N.D	N.D	N.D
1 Day at 5 °C	819	923	1,194	1,621
3 Days at 5 °C	2,780	2,634	2,615	2,360
4 Days at 5 °C	2,764	2,643	2,921	2,503
5 Days at 5 °C	2,918	3,126	3,138	3,545
4 Days at -20 °C	N.D	N.D	N.D	N.D

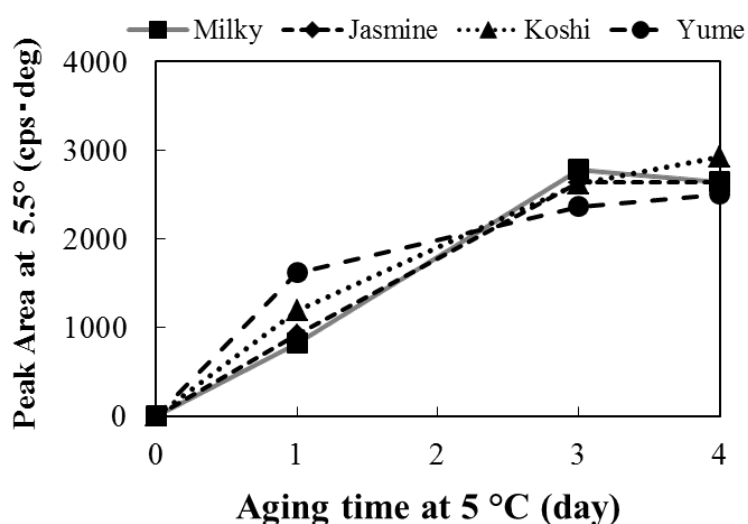


Fig. 4-5. The temporal variation of the peak area at 5.5 °.

冷蔵保管 1 日後では、アミロース量の多いサンプルほど XRD ピーク面積が大きくなり、3 日後にはそれが逆転する結果となった。また、3 日後と 4 日後ではわずかに数値が増加している程度なので、約 3 日で結晶構造上の老化が平衡状態に達することが示唆された。

各々の米に含まれるアミロース量と保存米飯の XRD ピーク面積との関係性を Figure 4-6 に示すが、1 日後はアミロース量と老化度合いは正の相関、アミロペクチン量と負の相関がみられた。一方で、3 日後もしくは 4 日後は関係性が逆転し、アミロース量と負の相関、アミロペクチン量と正の相関がみられるようになった。つまり、初期の老化度合いはアミロースの存在量に依存し、最終の老化度合いアミロペクチン量に依存することが示唆される。Suzuki (1999)はアミロースとアミロペクチンの老化速度は異なり、アミロースの方が速く老化すると報告しており、今回の結果とよく

一致する。5.5°の回折角は、1.6 nm の周期的な構造に相当し、17°の 0.5 nm 構造よりも結晶格子間隔が広いから、アモルファス化した澱粉の結晶構造が元のβ型の結晶構造に戻り始める初期の老化を観測できると考えられる。

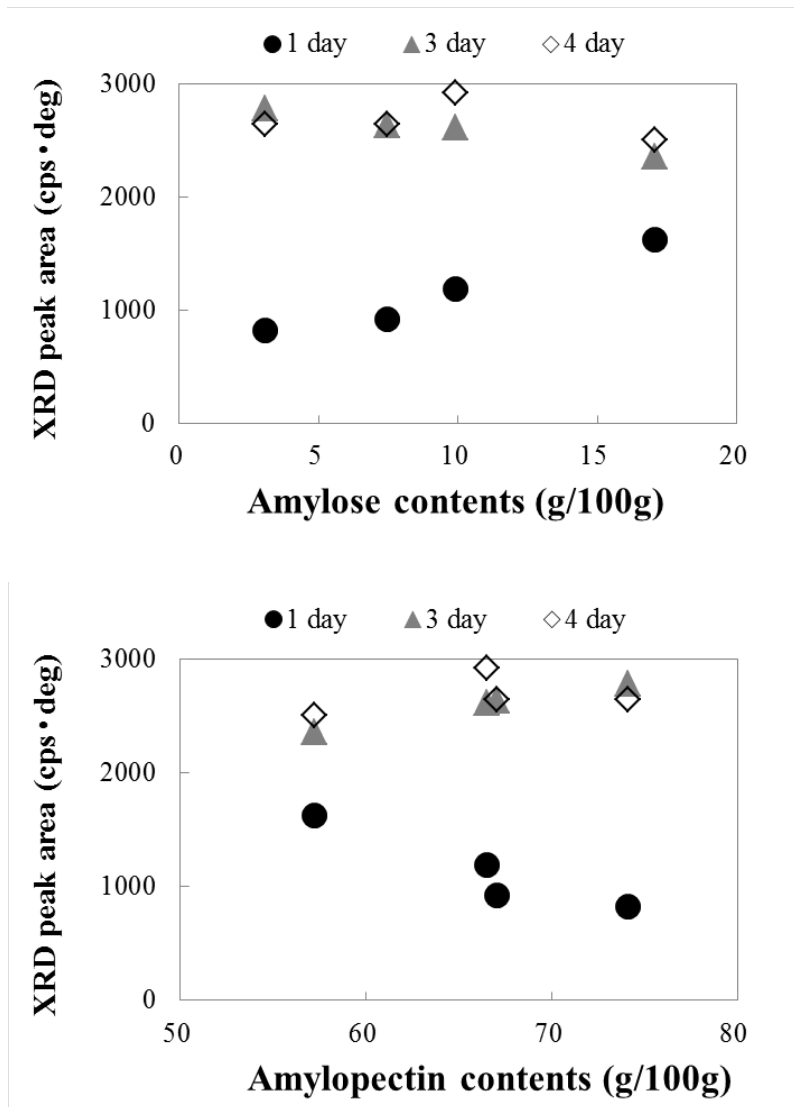


Fig. 4-6. Correlation with amylose or amylopectin content in rice after storage for 1 day, 3 days and 4 days.

#### 4.3.2. DSC

DSCによる老化由来の再糊化熱を評価した結果が Figure 4-7 および Table 4-3 である。炊飯直後の米飯では吸熱反応は見られなかったが、5 °C の冷蔵庫で 4 日間保管した米飯ではどのサンプルも 45 °C ~ 55 °C の間に老化澱粉の再糊化に伴う吸熱による山なりのピークが表れた。一方で、冷凍保存のサンプルでは吸熱ピークは表れなかったため、冷凍した場合は炊飯後の状態を維持できていると考えられる。吸熱ピークの解析により吸熱反応エンタルピー  $\Delta H$  (J/g)、ピークの開始温度、ピークトップ温度、終了温度を得た。エンタルピーは品種により大きな違いがあったが、他は大きな違

いはなかった。

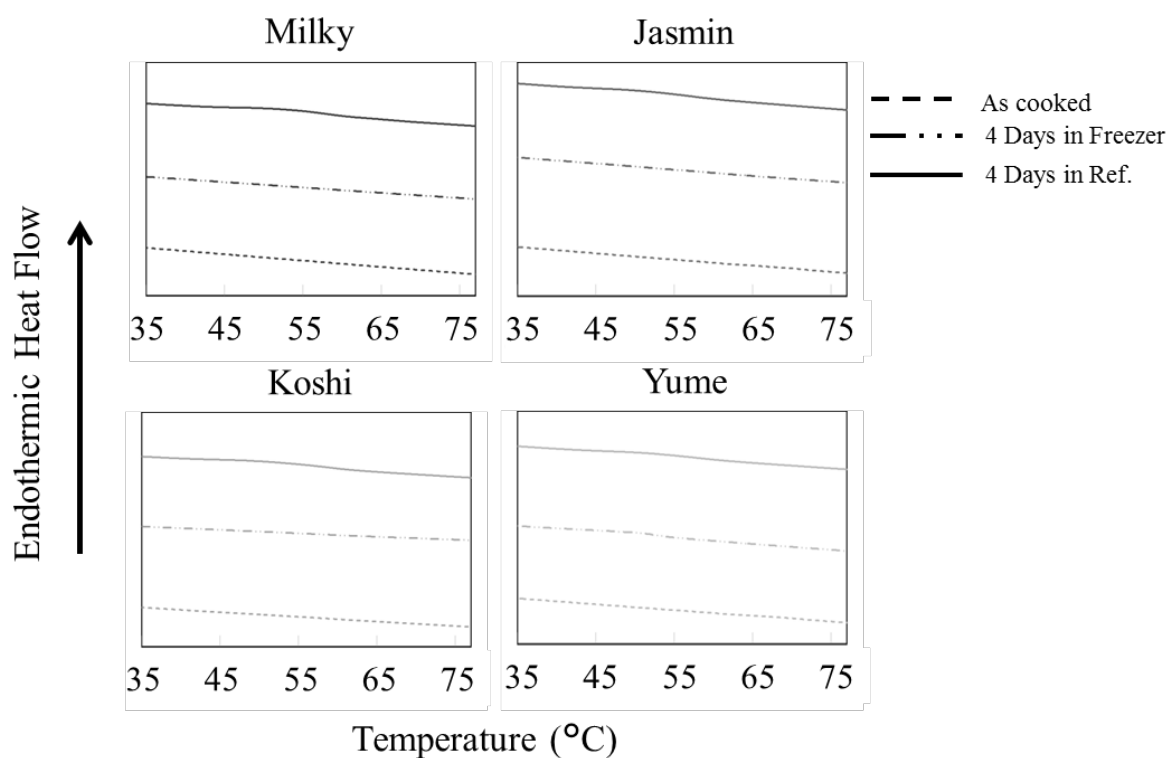


Figure 4-7. Evaluation of the retrogradation by DSC depending on the storage condition.

Table 4-3. DSC peak analysis of each cooked rice.

Sample	index	Milky	Jasmine	Koshi	Yume
As cooked	Enthalpy $\Delta H$ (J/g)	N.D	N.D	N.D	N.D
4 Days at 5 °C	Enthalpy $\Delta H$ (J/g)	5.7	4.3	5.8	3.0
	On set temperature (°C)	35.1	35.0	35.0	37.6
	Peak top temperature (°C)	52.2	50.9	49.8	50.7
	End set temperature (°C)	61.3	60.1	61.1	59.1

#### 4.3.3. In-situ XRD 測定

5 °C の冷蔵庫で 4 日間保管した米飯の XRD 測定をはじめに行い、段階的に温度を上げて得られた X 線回折パターンが Figure 4-8 である。温度が高くなるにつれて回折ピークが減少していき、55 °C ではほぼ消失し、65 °C 以上では完全に消失していた。35 °C~55 °C にかけてピークが減少しており、DSC 測定で得られた糊化ピーク温度ともよく一致していることから、5.5 °C の回折ピークが老化により生じるものであることが確認できた。

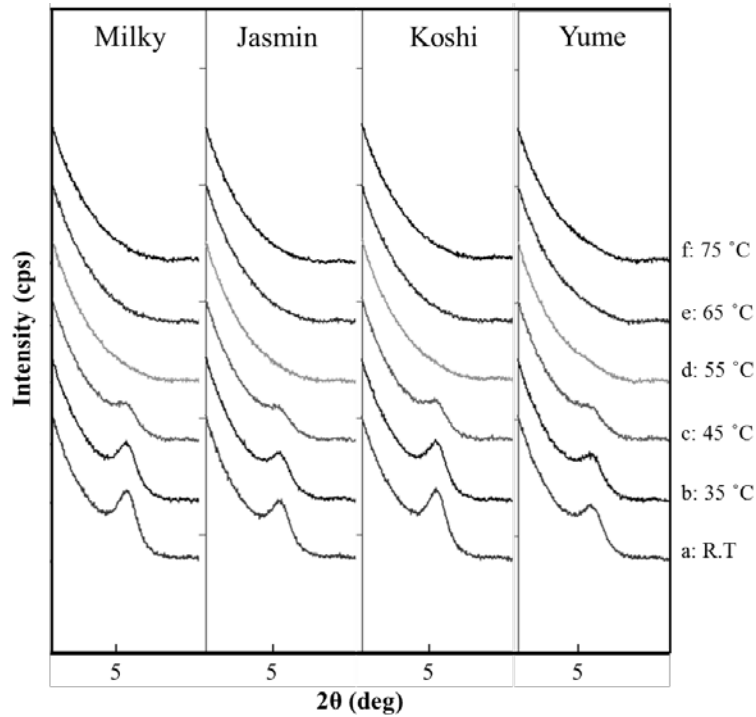


Fig. 4-8. In-situ X-ray diffractograms of retrograded samples depending on the temperature.

#### 4.3.4. 各指標間の相関

前節では定性的な観点から 5.5° の回折ピークが老化を表すものであると確認できたため、定量的な観点からも DSC と XRD の相関を評価した。十分に老化したと考えられる 5 °C の冷蔵庫で 4 日間保管した米飯の XRD ピーク面積と DSC エンタルピーの関係性は Figure 4-9 に示すように非常に高い相関があることが分かった。

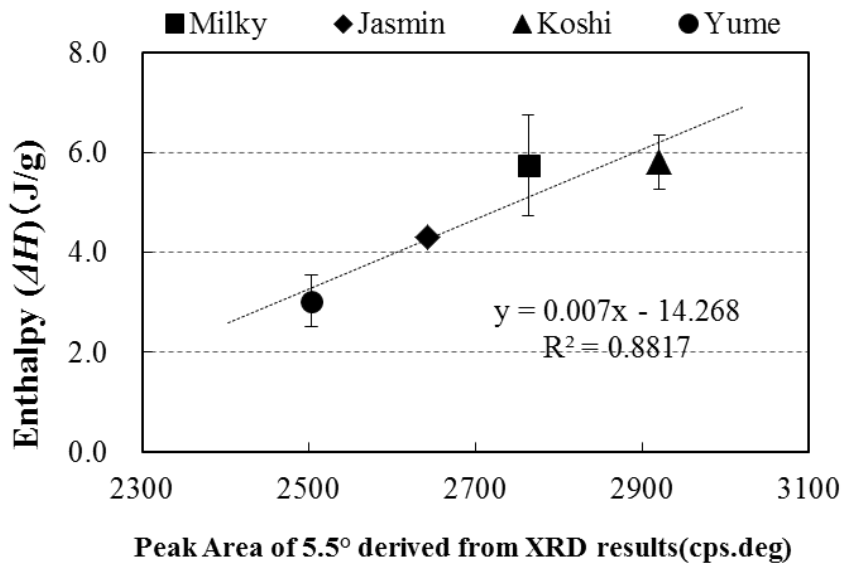


Figure 4-9. The relation between the enthalpy measured by DSC and the peak area in XRD after 4 days stored at 5 °C.



以上の結果より、本研究で着目した X 線回折角  $2\theta = 5.5^\circ$  のピークは米飯の老化を表すピークであることが確認できた。また、ピーク面積は DSC エンタルピーと非常に高い相関があり、定性・定量ともに老化度合いの分析に適していることが分かった。定量評価する上で、本ピークは生米のピークと重ならないこと、ピークが単離できることなどから、信頼性の高い老化評価手法になると考えられる。また、注目している結晶構造の間隔が広いことやサンプルへの特殊な前処理（脱水や粉末化など）を行わないことから、短期の間での評価に適していると考えられる。

#### 4.3.5. パンの老化評価

最後に、本技術を用いて小麦調理物であるパンの老化評価を行なった。市販の製パン機（Panasonic 製 GOPAN）で食パンを作成し、製パン直後および密閉容器中で  $5^\circ\text{C}$  で 1 日間または 3 日間保管した後に本手法にて XRD 測定を行なった。Figure 4-10 に示すように、製パン直後でも  $2\theta = 20^\circ$  の未糊化澱粉由来のピークが明確に残っていた。パンの調理（焼成）は米飯と異なり周囲の水分が少ない環境で、かつ比較的短時間で行うことが多く、一般の食パン焼成条件では糊化が不十分であったと考えられる。その後、保管 1 日後には  $5.5^\circ$  のピークおよび  $17^\circ \sim 24^\circ$  にピークが出現し始め、3 日後にはピークが増大していることから、糊化した澱粉の老化が進行したことが分かる。後者は未糊化澱粉のピークと重なるため、老化による結晶構造の変化を定量的に評価することは容易ではなく、 $2\theta = 5.5^\circ$  のピークを用いた老化評価が有用であることが示唆された。

また、パンに含有される小麦のみによる老化度を調べるために、通常用いられるバター、塩、砂糖の添加を省略して製パンした食パンや米粉を配合して製パンした食パンについても同様に評価したところ、冷蔵保存後に  $2\theta = 5.5^\circ$  のピーク強度が経時的に増加し、糊化澱粉の老化が進行したことが分かった。よって、本手法では小麦澱粉の老化や小麦澱粉と米澱粉の両方の老化が評価できており、米粉パンのような混合食品の老化評価にも活用可能であることが分かった。なお、添加物を除去した食パンは通常の方法で製パンされた食パンに比べて増加度合いが大きく、バター、塩、砂糖の添加は、食品の老化の進行を抑制する効果があることが分かった。

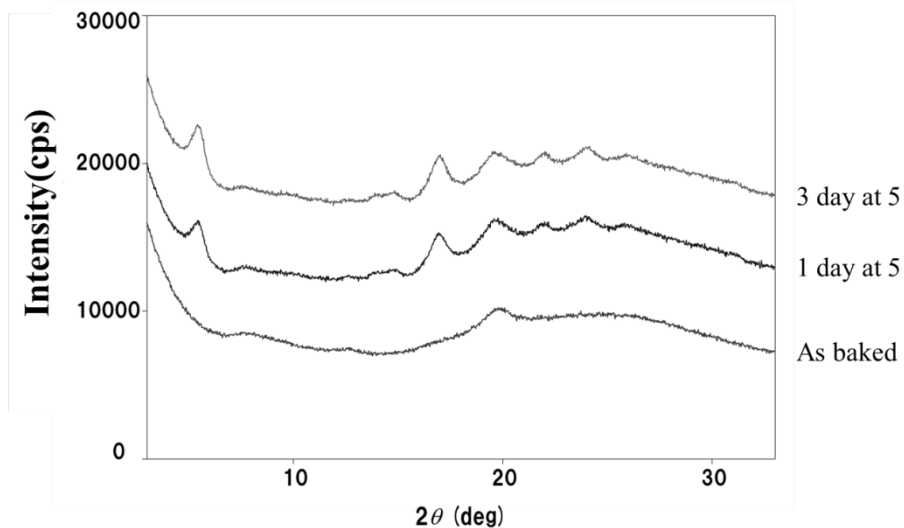


Fig 4-10. X-ray diffractograms of as baked bread, and baked bread stored at different storage conditions.

#### 4.4. 結言

我々は、X線回折による澱粉の老化度合いを評価する新たな手法の開発に成功した。本手法の特徴は、1つ目には特殊な前処理を必要としないため、まさに食そうとする大量の水を含んだ食品の評価も可能である。また、2つ目には観察する結晶構造間隔が従来よりも広いため、1日後など短期間の老化の評価にも有効である。さらに、澱粉中のアミロースの老化を評価可能であることも示唆された。3つ目の特徴として、生澱粉の回折ピークと離れた回折角で、かつシングルピークであるため、老化度合いの評価がより正確であると考えられる。最後に、本手法は米だけでなく、パンにも適用可能であり、麺やケーキ、パスタなどのデンプン食品の評価への活用も期待できる。

#### 4.5. 参考文献

- Amparo, L. R., Aung, H., and Elliot, P. G. (2007). Influence of Extrusion and Digestion on the Nanostructure of High-Amylose Maize Starch. *Biomacromolecules*, 8, 1564-1572.
- Biliaderis, C. G., Maurice, T. J., and Vose, F. R. (1980). Starch Gelatinization Phenomena Studied by Differential Scanning Calorimetry. *J. Food Sci.*, 45, 1669-1674.
- Buleon, P. Colonna, Planchot, V. and Ball, S. (1988). Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol.*, 32, 85-112.
- Donovan, J. W. (1979). Phase Transitions of the Starch-Water System. *Biopolymers*, 18, 263-275.
- Frost, K., Kaminski, D., Kirwan, G., Lascaris, E., and Shanks, R. (2009). Crystallinity and Structure of Starch using Wide Angle X-ray Scattering. *Carbohydrate Polymers*, 78, 543-548.
- Katz, J. R., Itallie, T. B. (1930). The physical chemistry of starch and bread making. V. All varieties of starch have similar retrogradation spectra. *Z. Physik. Chem*, 150, 90-99.
- Kreger, D.R. (1946). X-Ray Fibre Pattern of Part of a Single Starch Grain: Powder Photographs of Potato, Wheat and Arrowroot (Maranta) Starch. *Nature*, 158, 199-200.
- Kreger, D.R. (1951). The Configuration and Packing of the Chain Molecules of Native Starch as Derived from X-Ray Diffraction of Part of a Single Starch Grain. *Biochim. Biophys. Acta*, 6, 406-425.
- Kugimiya, M., Donovan, J. W., Wong, R. Y. (1980). Phase Transitions of Amylose-Lipid Complexes in Starches: A Calorimetric Study. *Starch*, 32, 265-270.
- Kugimiya, M. and Donovan, J. W. (1981). Calorimetric Determination of the Amylose Content of Starches Based on Formation and Melting of the Amylose-Lysolecithin Complex. *J. Food Sci.*, 46, 765-770.
- Lionetto, F., Maffezzoli, A., Ottenhof, M.A., Farhat, I. A., and Mitchell, J. R. (2005). The Retrogradation of Concentrated Wheat Starch Systems. *Starch*, 57, 16-24.
- Nakazawa, F., Noguchi, S., Takahashi, J., Takeda, M. (1984). Gelatinization and Retrogradation of Rice Starch Studied by Differential Scanning Calorimetry. *Agric. Biol. Chem.*, 48(1), 201-203.
- Nguyen T. H. L., Nishizu T., Shibata, M., Goto, K. (2014). The Effects of Starch Retrogradation on The “Melt-in-mouth” Sensory Characteristics of Bread. *Journal of the Japanese Society of Taste Technology.*, 13, 5-12.
- Sponsler, O. L. (1922). The structure of the starch grain. *Am. J. Bot.*, 9, 471-492.
- Suzuki, A. (1999). Cookery Science of Starchy Foods: The Structure and Function of Starch. *J. Appl. Glycosci.*, 46, 65-74.
- Teo, C. H., and Seow, C.C. (1992). A Pulsed of Starch NMR Method for the Study Retrogradation. *Starch*,

44, 8, 288-292.

Tsuji, S. (1983). Reexamination of the State Analysis of Cooked Rice on Staling by X-Ray Diffractometer. *Journal of Home Economics of Japan*, 34, 200-205.

Wakelin, J. H., Virgin, H. S. and Eugene, C. (1959). Development and Comparison of Two X-Ray Methods for Determining the Crystallinity of Cotton Cellulose. *J. Appl. Phys.*, 30, 1654-1662.

Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q. and Wang, S. (2015). Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 568-585.

Wani, A. A., Singh, P., Shah, A., Schweiggert-Weisz, U., Gul, K., and Wani, T. S. (2012). Rice Starch: Effect on Structural, Morphological, Thermal, and Physicochemical Properties-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 417-436.

Wootton, M., Bamunuarachchi, A. (1979). Application of Differential Scanning Calorimetry to Starch Gelatinization. II. Effect of Heating Rate and Moisture Level. *Starch*, 31, 262-264.

Yoshida, S., Fukuoka, M., Sakai, N. (2010). Evaluation of Retrogradation in Microwave Cooked Rice Using X-ray Diffraction Method. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 11, 85-90.

Zobel, H. F. (1988). Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance. *Starch/Staerke*, 40, 1-7.

Zobel, H. F. (1988). Molecules to Granules: A Comprehensive starch Review. *Starch/Staerke*, 40, 44-50.

Zobel, H. F., Young, S. N., and Rocca, L. A. (1988). Starch Gelatinization: An X-ray Diffraction Study. *Cereal Chem.*, 65(6), 443-446.

<https://secure.megazyme.com/Amylose-Amylopectin-Assay-Kit>

## 5. 総括

家庭での炊飯から、食品産業における中食・外食の米飯調理、米加工品を含めて、米を取り巻く環境が大きく変わってきている。その中であって、炊飯米やそれを貯蔵した際に問題となる老化現象、また様々な米の調理・加工において重要な要因となる米粒の浸漬・吸水プロセスについて、従来よりも簡便かつ高度な評価技術が求められている。このような背景のもと、本研究では、炊飯における澱粉の構造変化、具体的には吸水による膨張、加熱による糊化、保存中の老化による結晶構造変化を様々な構造評価手法を用いて可視化・定量化する技術の開発を行った。第一章ではこういった社会的背景および学術的背景ならびに本研究の狙いについて述べた。

第二章では、炊飯後の米飯の品質を安定化させる上で重要となる浸漬工程について、簡易な手法による浸漬米の吸水状態の可視化・定量評価を目指し、デジタルマイクロスコープの偏光システムを利用して、リアルタイムに取得した偏光画像の画像処理による吸水状態評価法の開発およびその検証について述べた。本技術を用いて、10℃~55℃の浸漬水温が異なる浸漬米の吸水状態を評価した結果、浸漬温度によって吸水経路や水分分布が異なることが示された。10℃や25℃といった低温浸漬では、浸漬中に生じるクラックにより急激に吸水が進行し、40℃や55℃といった高温浸漬では、胚芽除去後や周囲からの吸水が支配的であることが確認できた。これとは別に、核磁気共鳴画像法（Magnetic Resonance Imaging; MRI）を用いて、低温および高温の条件で、吸水過程における米一粒の2次元<sup>1</sup>H画像をリアルタイムに取得し、吸水経路の検証を行ったところ、同様の結果が得られた。

上記吸水状態評価で得られた偏光画像を解析し、米粒の平均輝度と投影面積増加率の二つの指標で吸水状態の定量評価を行なった。両指標ともに高温ほど変化速度が速く、変化量が少ないことが定量的に示された。また、米粒内にクラックが生じた際に投影面積が急激に増加するなど、定性評価で見られた変化も数値に反映されていることが確認できた。さらに、従来の赤外線水分率計を使用して測定した吸水量と非常に高い相関を示すことが分かった。これらの結果から、浸漬米の吸水経路、米粒内の水分分布、吸水量を評価する上で、偏光画像を利用した方法が有効であることが示された。

第三章では、炊飯技術の進化とともに炊飯米の食感（テクスチャー）のわずかな違いを評価することが求められてきている中で、食感の違いを微細構造観察により定量的に評価する手法の提案とその検証を行なった。はじめに、異なる食感の米飯を作成するために、炊飯前の浸漬を10℃で0分（浸漬なし）、20分、60分、120分の4条件で行い、それぞれ吸水なし、吸水途中、吸水平衡状態、吸水過多の4種類の吸水状態の浸漬米を得た。その後、同一条件で炊飯した米飯について、走査型電子顕微鏡（SEM）による微細構造観察とクリープメーターによる破断強度試験お

よびクリーブ試験で得られた米飯のテクスチャーとの関係性を調べた。その結果、これらの米飯では 20 分浸漬以降は有意差なく炊きあがっており、米飯の水分率や糊化度についても、4 種類の米飯の間に有意差はなかった。一方で、米飯のテクスチャーは、浸漬条件によって大きく異なったことから、浸漬条件の違いがテクスチャーの違いとして表れていることが示唆された。

そこで、米飯の表層や内部の微細構造を観察した結果、浸漬条件によって炊飯後の微細構造が大きく変わることが分かり、米飯表層部の緻密な層の厚みと破断エネルギー、米飯内部の多孔質構造の孔の平均面積と弾性率との間に関係性があることを見出した。浸漬時間が長くなるとともに米粒内部に水が浸透し、より糊化が進むことで多孔質構造の孔面積が大きくなり、破断エネルギーや弾性率が減少していく一方で、浸漬過多になると腹割れなどにより澱粉が流出し、米飯表層部に緻密な層が形成されることで、破断エネルギーが増加することが分かった。これらの結果から、浸漬時間を適切に制御することが食感を制御するうえで重要であること、今後、より高度化する炊飯において、食感のわずかな違いを理解し、評価するうえで米飯の微細構造評価が有効であることが示された。

第四章では、コンビニおにぎりやチルド米飯の普及に向けて重要となる、炊飯後の澱粉の老化について、X 線回折の従来とは異なるピーク ( $2\theta = 5.5^\circ$ ) を用いた評価法の提案と検証を行なった。アミロースおよびアミロペクチン含量の異なる品種の米を炊飯し、5 °C で数日間保管した際の老化度合いを本技術および熱分析法 (Differential Scanning Calorimetry; DSC) で評価した。その結果、上述のピークが老化を表わすものであること、DSC による結果とも非常に高い相関が得られたこと、生米のピークと重ならないためピーク面積を正確に求めることができることを確認した。また、上述のピークは従来よりも広い結晶構造 (1.5 nm) を観察していることから、米飯の初期の老化、特にアミロース由来の老化を評価できる可能性が示された。また、本技術は米以外にもパンや麺などにも活用可能であるため、今後新たな老化防止剤の開発や老化しにくい製造方法の研究などへの貢献が期待される。

以上述べたとおり、米の浸漬過程における吸水状態、糊化状態を反映した炊飯米の食感、さらに炊飯後の貯蔵における米飯の老化状態の新たな評価技術の開発を行なった。浸漬状態の評価技術は、米の吸水特性を簡易に把握できることで世の中に 500 種以上ある米の特性を引き出す炊飯の実現や弁当工場などでの炊飯品質の安定化、品種改良などへのフィードバックなど、農業・製造業・サービス業への活用が期待される。また、糊化状態や老化状態の評価技術は、今後ますます増加する中食や外食において、炊き立てのご飯の食味をさらに向上させるとともに、おいしさを長く維持するための炊飯・保存技術の開発や添加剤の開発に役立てていきたい。