

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16263

研究課題名(和文)冷蔵米飯の表面劣化メカニズムの解明

研究課題名(英文)The mechanism underlying reduction in gloss of cooked rice during refrigerated storage

研究代表者

勝野 那嘉子(KATSUNO, Nakako)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：20743892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：炊飯直後の米の表面は滑らかで光沢があるが、冷蔵保存するとその光沢は失われる。本研究は、冷蔵保存中の炊飯米表面の構造変化を定量的に捉え、光沢が減少するメカニズムを明らかにすることを目的とした。SEM画像の解析から、冷蔵保存中の炊飯米表面には数百nmの大きさの凹凸が生じていた。SEM画像からフラクタル次元を算出することで、表面構造の変化を定量的に評価でき、その変化は光沢と相関があった。XRD測定から、冷蔵保存開始初期から澱粉の再結晶化が進行し、さらにSAX測定から、冷蔵保存時間の経過に伴い凝集体が形成され、成長していくことが示唆された。このことが表面形状の変化に影響していると推定された。

研究成果の概要(英文)：Through observations of the surface morphology, the present study investigated the mechanism underlying the reduction in the gloss of cooked rice during refrigerated storage. After 12 h of storage, the gloss of the cooked rice had decreased by approximately 64%. From SEM observations, hills and valleys several hundred nanometers in height or depth had gradually formed on the surface of the cooked rice during this 12-h period of storage, which affected the gloss of the surface. The fractal dimension of the SEM image was calculated and found to decrease during storage. The 17° peak area of XRD and the scattering intensity of SAX of the cooked rice increased during storage. These results suggest that the reduction in the gloss of cooked rice during refrigerated storage was caused by the appearance of hills and valleys on the cooked rice grains because starch had aggregated in the vicinity of the surface.

研究分野：食品加工学

キーワード：炊飯米 表面構造 光沢度 澱粉の老化 凝集挙動

1. 研究開始当初の背景

コンビニエンスストアのおにぎりに代表されるように加工済み米飯食品の需要は大きい。炊飯米食品を冷蔵保存すると澱粉の老化が急速に進み食味および外観が悪くなるのは良く知られている。冷蔵保存(18 以下)すると腐敗は抑えられるが、食味の劣化が生じるため、流通している炊飯米食品は保存料などの添加物をもちいることで冷蔵より高い温度で流通、保存されている。

炊飯米のおいしさは光沢、粘り、色、香り、味などが重要であり、古くから研究されている¹⁾。炊飯米の表層は、光沢、粘りに重要な役割を果たしており、主に炊飯時に米表面に溶出したアミロース、アミロペクチンからなる²⁾。

冷蔵保存による炊飯米の劣化、すなわち、光沢減少や粘りの低下などの現象は、澱粉の老化によって引き起こされると考えられている³⁾。

一般的に、光沢には、表面の光の反射が関係しており、その反射は、deffuse lobe, specular spike, specular lobe の3成分から成る⁴⁾。光沢値が高い表面は、specular spikeの成分が多いが、deffuse lobeの成分が増えると光沢値が低下する。表面の粗さは、これらの成分に影響を与えていることは知られており、表面の粗さが光の波長より小さい場合において、表面の粗さが大きくなるほど光沢が低下する⁵⁾。炊飯米表面の光沢の低下についても、可視光より小さなスケールでの表面構造の変化が寄与していることが予想される。

すでに炊飯米表面の光沢の違いには表面構造が寄与することが報告されているが¹⁾、定量的な表面構造の変化や光沢に影響するスケールでの表面構造の変化は捉えられていない。

2. 研究の目的

炊飯米表面近傍において、表層成分である澱粉の再結晶化による凝集体形成が、表面形状に影響を与え、表面形状が複雑化することで光沢が失われることが予想される。そこで、本研究では、冷蔵保存中の炊飯米の表面形状変化を定量的に捉えることで、表面形状の変化が、冷蔵保存中の炊飯米の光沢変化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

冷蔵保存時の表面形状変化はフラクタル次元および粗さを用いて数値化することを試みた。

また、冷蔵保存時の澱粉の再結晶化やそれより大きなスケールでの凝集挙動を明らかにすることにより、澱粉の老化が、冷蔵保存中の炊飯米の表面構造変化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 試料

実験には、JA ぎふから購入した精米済み

の岐阜県産のコシヒカリを用いた。

(2) 炊飯および保存試験

米：水 = 1:1.4 の比率で炊飯した。炊飯器は東芝保温釜(RC-10RMD)を使用し、炊飯モードで炊飯した。炊き立て状態のものを室温まで冷まし、これを冷蔵保存前の試料とした。放冷後は、5 で冷蔵保存し、6~72 時間冷蔵保存したのもも試料とした。冷蔵保存の際には、炊飯米をラップで包み、密封容器に入れて保存した。

(3) 炊飯食味計による外観評価

外観評価には、炊飯食味計 STA 1A (SATAKE 製)を使用した⁶⁾。外観値は、反射、透過光のセンサー値を用いて、炊飯米の輝きの度合いすなわち光沢を評価したものである。評価は10点満点であり、外観の評価の高いもの、すなわち光沢の強いものほど高い値となる。

炊飯米 8 g (±0.1 g) をリングに詰め、プレス台で 10 秒間圧縮した。リングを裏返して、再びプレス台で 10 秒間圧縮した。測定用セルを本体にセットし測定した後、リングを裏返して再び測定した。各保存時間の試料についてそれぞれ 6 回測定した。

(4) 炊飯米表面の観察

(4-1) 共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) による観察

炊飯米を液体窒素に浸漬したのちに、2 日間凍結乾燥させものを観察試料とした。

観察には CLSM (カールツァイス製、LSM710, DIC モード) を用いた。2.00 μm 間隔で試料のスタック画像を撮影した。励起波長は 405 nm, 吸収波長は 495 nm, レーザーは Ar を用いた。凍結乾燥した試料はスライドガラス上に接着剤で固定させた。各保存時間で 10 サンプルずつ観察画像を得た後、スタック画像を 3 次元化した(カールツァイス製 ZEN2009)。

(4-2) CLSM 画像からの表面形状プロフィールの抽出およびフラクタル次元の算出

得られたスタック画像を 3 次元化し、トポロジー化した。(カールツァイス製、LSM700, 3D トポロジー)。傷のある部分など、明らかに何らかの影響を受けていると思われる部分を除いて、任意で位置を選び、その位置の表面形状プロフィールを得た。得られたプロフィールを画像として保存し、ImageJ を用いてボックスカウント法により線フラクタルの次元を求めた。

(4-3) 走査型電子顕微鏡 (SEM) による表面微細構造の観察

微細構造の観察には、SEM (HITACHI 製、S-4800) を用いた。凍結乾燥した炊飯米試料をオスミウムコーティング(メイワフォーシス製、ネオオスミウムコーター)した。加速電圧 1.0 kv, 倍率 10000 倍で炊飯米表面の微細構造を観察した。

(4-4) SEM 画像の画像解析およびフラクタル次元の算出

画像処理方法については Wu らの方法を参考にした⁷⁾。得られた SEM 画像は ImageJ を用いて画像処理を行った。元の SEM 画像をハイパスフィルター処理し、低周波成分を除去した。ハイパスフィルターを行う際には、フーリエ変換を使用し、エッジを抽出したのち、二値化した。得られた画像からボックスカウント法を用いてフラクタル次元を求めた。

(5) X 線回折 (XRD) による澱粉の再結晶化評価

(5-1) 炊飯米全体の XRD 測定

5 で冷蔵保存した炊飯米を液体窒素に浸漬し、2 日間凍結乾燥した。その後、粉碎機で粉碎した試料を 3 日間 NaCl 飽和塩溶液を入れた 25 のデシケーター内で調湿したものを測定した。

測定には、全自動多目的 X 線回折装置 (ブルカー・エイエックス製, D8ADVANCE) を使用した。調湿した試料を試料ホルダーに充填し、ガラス版で表面が平らになるように押し固めた。試料ホルダーを X 線回折装置に設置し、測定角度 $10^{\circ} \sim 30^{\circ}$ の条件で測定した。

(5-2) 部位別の XRD 測定

凍結乾燥させた炊飯米を試料とした。中心部分の評価ができるように、表面を両側から紙やすり (6-P400) で米粒が割れないように削った。最終的な厚みは 1.15 mm であった (図 1)。

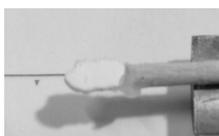


図 1 部位別 XRD 測定試料

部位別の XRD 測定は、あいちシンクロトロン光センターのビームライン BL5S2 で行った。検出器はイメージングプレート (IP), X 線波長は 1 \AA , 測定角度は $4.3 \sim 50^{\circ}$, 測定時間は 5 分で測定した。測定スポット径を $100 \mu\text{m}$ 程度まで絞り、米粒一粒において、米の中心部分、表面近傍、中心と表面の間中部の 3 点を測定した。

(6) 小角 X 線散乱 (SAX) 測定

蒸留水で膨潤させたアミロペクチン, アミロースおよび米粉を石英キャピラリー (2 mm) に充填し、沸騰湯浴中で 1 時間加熱することで糊化させた。その後、5 冷蔵庫で 6 時間から 72 時間保存した。糊化直後のサンプルと冷蔵保存サンプルについて小角 X 線散乱測定 (あいちシンクロトロン光センター,

BL5S3) を行った。測定時間は 5 分間, カメラ長は 4 m , 検出器は R-AXIS で測定した。

(7) 極小角 X 線散乱 (USAX) 測定

試料は, (6) と同じものを用いた。糊化直後と 5 で冷蔵保存したサンプルを極小角 X 線散乱測定に供試した。極小角 X 線散乱測定は, Spring-8 の BL19B2 (課題番号 2017B1781) で行った。カメラ長は 41.627 m , 測定 q レンジは $0.005 \sim 0.2 \text{ nm}^{-1}$, 検出器は PILATUS2M で行った。

4. 研究成果

(1) 炊飯食味計による外観評価

冷蔵保存した米飯の炊飯食味計の外観評価値を図 2 に示す。冷蔵保存開始から 12 時間までの間に外観評価値は 64 % 低下した。48 時間以降には、外観評価値が 0.2 となり、それ以上低下することはなかった。外観評価値は、光沢の程度が寄与していることから、炊飯米の光沢の低下は保存初期の段階に生じると考えられる。

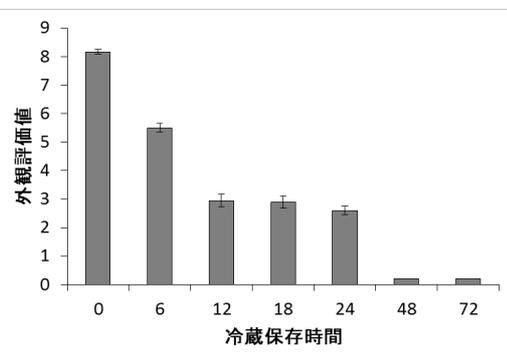


図 2 冷蔵保存炊飯米の外観評価値

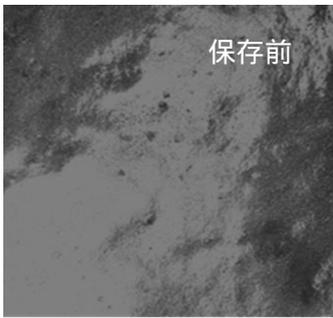
(2) 炊飯米表面の観察

(2-1) CLSM による観察

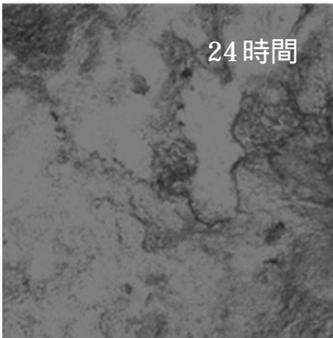
炊飯米を 0~72 時間冷蔵保存し、凍結乾燥した試料の表面を CLSM で観察した (図 3)。冷蔵保存前から冷蔵保存 18 時間まで表面の凹凸構造に変化は認められなかったが、24 時間経過時に、表面の凹凸構造が大きくなる傾向が認められた。しかし、それ以上の表面構造の変化は認められなかった。

(2-2) CLSM 画像からの表面形状プロフィールの抽出およびフラクタル次元の算出

各保存時間の CLSM 画像から 3D の表面形状を構築し、表面形状プロフィールを抜き出した。そのプロフィール線についてフラクタル次元をボックスカウント法で求めた。その結果、各保存時間におけるフラクタル次元は 1.2 から 1.3 の間であり、有意差は認められなかった。



保存前

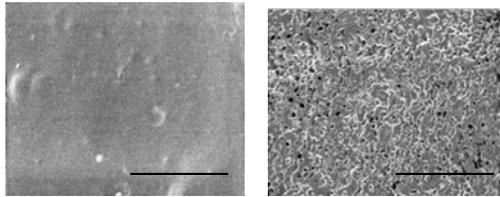


24 時間

図3 CLSMによる表面形状の観察
上：冷蔵保存前，下：冷蔵保存 24 時間後
画像 1 辺が 850 μm

(2 - 3) SEM による表面微細構造の観察

CLSM による表面形状の観察から，さらに微細な領域の構造変化を捉える必要があったため，SEM を用いてさらに微細な領域の表面形状を観察した。SEM 画像を図 4 に示す。SEM 観察から，保存前と 6 時間保存の試料間では構造の変化はわずかであったが，6 時間から 12 時間の間に表面に凹凸構造が形成され始め，12 時間から 24 時間にかけて明瞭な凹凸構造が形成された。その凹凸の大きさは数百 nm 程度であった。



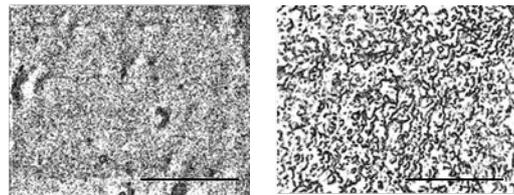
保存前 保存 24 時間

図4 冷蔵前後の炊飯米表面の SEM 観察画像
スケールバーは 5 μm を示す。

(2 - 4) SEM 画像解析およびフラクタル次元の算出

SEM 観察により，冷蔵保存中の表面微細構造の変化が捉えられたことから，SEM 観察画像を用いて表面構造の変化の数値化を試みた。低周波成分を除去し，二値化した画像を図 5 に示す。この画像を用いて，フラクタル次元を算出したところ，保存開始から 12 時間はフラクタル次元が減少し，その後，12 ~ 24 時間の間は有意な変化は認められず，24 ~ 72 時間にかけて再び減少した。保存前のフラクタル次元は 1.88 であり，72 時間のフラクタル次元は 1.63 であった。この画像処理

では，表面にある構造のエッジを抽出し，そのエッジのパターンからフラクタル次元を算出していることから，表面が平滑である冷蔵保存前は，平面を示す 2 に近く，その後，明瞭なエッジが現れたことにより，フラクタル次元が減少したと考えられる。フラクタル次元を算出することで，表面構造の変化を定量的に捉えることができた。さらに，フラクタル次元の減少と光沢度の減少の間には正の相関が認められた。



保存前 保存 24 時間

図5 画像処理後の画像
スケールバーは 5 μm を示す。

(3) X 線回折による澱粉の再結晶化評価

(3 - 1) 炊飯米全体の澱粉再結晶化評価

冷蔵保存した炊飯米の X 線回折図を図 6 に示す。保存期間が長くなるにつれて， 17° 付近にピークが出現しており，冷蔵保存により澱粉の再結晶化が進行していた。冷蔵保存開始から 6 時間後でも， 17° ピークの増強が確認され，冷蔵保存開始後すぐに再結晶化が進んでいたものと考えられた。

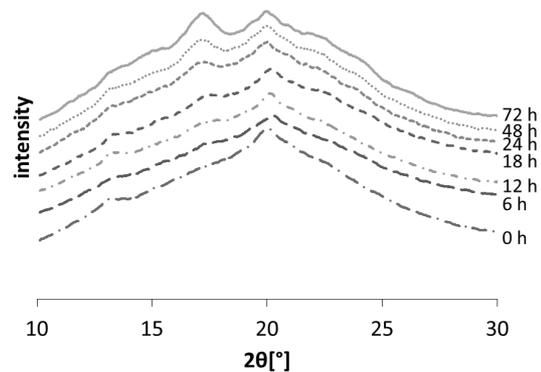


図6 冷蔵保存した炊飯米の X 線回折図

(3 - 2) 部位別澱粉再結晶化評価

部位別に XRD 測定を行ったが，部位による有意差はなかった。また，部位別の測定では，冷蔵保存 24 時間の間に 10.9° ($d = 1.5\text{\AA}$ では 17° に相当) のピークが増強し，それ以降の有意なピーク面積の増加は認められなかった。

(4) SAX および USAX による澱粉凝集挙動の解析

糊化後のアミロペクチンを長時間冷蔵保存した際の SAX および USAX の散乱強度変化を図 7 に示す。どちらも時間の経過に伴い，

散乱強度が増加した。SAX において、冷蔵保存後のサンプルには、 q が 0.3 付近にブロードな極大が出現したのち、冷蔵保存時間の経過に伴いそのピークが低角側へとシフトしていた。USAX では、冷蔵保存時間の経過に伴い、 q が 0.02 付近にブロードな極大が出現したのち、冷蔵保存時間の経過に伴いそのピークが低角側へとシフトしていた。これらの結果から、アミロペクチンゲルの冷蔵保存において、保存時間の経過とともに凝集体が形成され、その大きさが成長していくことが示唆された。米粉においても類似の傾向が認められており、炊飯米表層において、保存中に凝集体が形成され、表面形状の変化につながったものと考えられる。

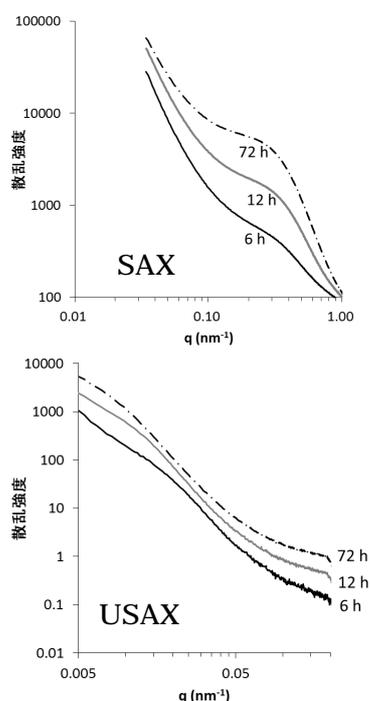


図 7 アミロペクチンゲルの冷蔵保存による SAX および USAX の散乱強度変化

<引用文献>

- 1) 笹原健夫, 勝山栄, 角田重三郎, 育種学雑誌, 30, 1980, 58-64.
- 2) 池田ひろ, 日本家政学会誌, 52, 2001, 401-409.
- 3) 高木正之助, 張麗, 川井聖文, 森田尚文, 松本幸雄, 澱粉科学, 36, 1989, 239-244.
- 4) Shree K.Nayar, Katsushi Ikeuchi, Takeo Kanade, IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence, 13, 1991, 611-634.
- 5) 小原美良, 瀧川順庸, 東健司, 軽金属, 60, 2010, 259-263.
- 6) 三上隆司, 柏村崇, 土屋義信, 西尾尚道, 日本食品科学工学会誌, 47, 2000, 787-792.
- 7) Yue Wu, Qinlu Lin, Zhengxing Chen, Wei Wu, Huaxi Xiao, Journal of Food Engineering, 109, 2012, 182-187.

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

勝野那嘉子, 小松浩也, 西津貴久. 冷蔵保存における炊飯米の光沢と表面微細構造の関係. 日本食品科学工学会第 63 回大会 2016 年 8 月

〔その他〕

ホームページ等

Spring8 利用課題実験報告書 (課題番号: 2017B1781, 課題名: 極小角 X 線散乱測定による冷蔵米飯の表面劣化メカニズムの解明) <https://user.spring8.or.jp/apps/experimentreport/detail/22938/ja>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝野 那嘉子 (KATSUNO, Nakako)

岐阜大学 応用生物科学部 助教

研究者番号: 20743892

(2) 研究協力者

西津 貴久 (NISHIZU, Takahisa)