

令和 3 年 8 月 19 日現在

機関番号：33101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00829

研究課題名(和文) ヨード呈色多波長走査分析による米の澱粉特性及び食味特性の新規評価方法の開発

研究課題名(英文) Development of evaluation method of characteristics and eating qualities based on the iodine absorption curve of rice starch

研究代表者

中村 澄子(Nakamura, Sumiko)

新潟薬科大学・応用生命科学部・特任准教授

研究者番号：30534739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：玄米には約3%の脂質が含まれ、米油の機能性として、抗酸化性、免疫賦活機能などが報告されている。脂肪酸には、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸等がある。本研究では、わが国の各種ジャポニカ米30品種の脂肪酸組成の比較を行うとともに、各試料米をアミロペクチンの重合度で分類し、糊化特性値およびヨード呈色多波長分析による各種指標との関係について検討し、脂質・澱粉複合体形成における脂質を包接する澱粉分子と各脂肪酸との関連を検討した。その結果、アミロペクチン長鎖割合(Fb3:DP 37)の低い品種は、リノール酸と $\gamma$ -リノレン酸含量が高く、糊化開始温度、consistencyが低い傾向が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アミロースの存在形態は、遊離状態、ラセンに脂質を内包したアミロース脂質複合体、アミロース脂質複合体がさらに高次構造をとったものなどが知られている。 $\gamma$ -リノレン酸(18:3)は良食味指標の $\max/A_{\max}$ と正の相関、アミロペクチン長鎖のFb3DP 37(%)、アミロース含量、 $\max$ 、 $A_{\max}$ 、RS含量と相関の高いNew  $\max$ とは負の相関を示し、明らかにリノール酸(18:2)に比べ相関が高かった為、脂質-澱粉複合体の形成に、脂肪酸の二重結合の数と位置および澱粉のアミロースおよびアミロペクチンの重合度が関連していることが推定された。

研究成果の概要(英文)：Although lipids are less abundant than carbohydrates and proteins in rice, they are important because they contribute to the nutritional, sensory, and functional qualities of rice. In a previous study, we developed novel estimation formulae for starch properties based on the iodine absorption curve or the pasting properties. We found that cultivars with high amylopectin long chains showed a high Pt, and a higher degree of unsaturated fatty acid USF (20:0, 20:1, 22:0 and 24:0) and rice with low amylopectin long chains showed a high linoleic and linolenic acid content, while their Pt and Cons showed low values. We developed novel estimation formulae for oleic and linoleic acid contents based on pasting properties and these equations showed determination coefficients of 0.75, and 0.68 for calibration and 0.65, and 0.76 for the validation. These formulae would be useful to select the promising rice cultivars in terms of bio-functionality, such as prevention of lifestyle diseases.

研究分野：食品科学

キーワード：オレイン酸 リノール酸  $\gamma$ -リノレン酸 アミロペクチン長鎖重合度 consistency 耐老化性 デンプンの膨潤抑制 アミロース脂質複合体

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

米の食味(炊飯米の食感と味)には、様々な要因が関与し、良食味米育種では、アミロース含量とタンパク質含量が選抜指標とされてきた。アミロペクチンについては、重要性が示唆されていたものの高度な技術と多大な労力と費用を必要とするために、アミロペクチンに着目した選抜は行われていない。しかし、アミロペクチンはイネ胚乳澱粉の約80%以上を占める主成分であり、簡便な測定方法が必要とされている。また、超長鎖(super-long chains, SLC)を多く含む変異米は、炊飯後でも難消化性澱粉を多く含み、糖尿病予防という機能性の面からも有望視されている。見かけのアミロース含量(AAC)にはアミロペクチン SLC が含まれる。ヨード呈色によるデンプンの解析に関し、これまでに、(1)アミロースとヨウ素の複合体量を単一波長(620nm)の吸光値による測定(Juliano, B.O.(1971): Cereal Sci.Today,16, 334-338.) (2)アミロペクチンの影響を受けない、770nm による吸光値による測定(白石真貴夫(1994): 大分県農技センター報.24,91-134.) (3)2波長測定法によるアミロースとアミロペクチン含量の定量法(山下純隆ら(1994): 福岡農総試報.A-13,13-16.) (4)ヨウ素吸収曲線と酵素-クロマト法との回帰分析による測定法(井ノ内直良ら(1996): 応用糖質科学,43, 1-5) (5)マルチチャンネル検出器を備えた新オートアナライザーの開発(五十嵐俊成ら(2009): 応用糖質科学,43,1-5.)などが報告されているが、SLCの影響、吸光度の低さ、等吸収点波長自体の年次変動、操作の煩雑さ、推定精度などの点で問題があり、さらなる技術開発が必要とされている。

### 2. 研究の目的

従来、ヨード呈色反応は、定波長測定で、澱粉のアミロース含量測定に用いられてきた。最近、アミロペクチンの鎖長分布や難消化性澱粉等の測定も重要となってきたが、測定には、多段階酵素処理やクロマト解析による煩雑な測定が必要であり、簡易測定方法が必要とされている。本研究では、ヨード呈色を多波長走査分析して新規パラメーターを見だし、その多変量解析により、澱粉微細構造の簡易分析法を開発することを第一の目的とする。また、米粉を試料とするヨード呈色多波長解析により、澱粉微細構造に加えて、脂質の影響もとらえ、米の新古判定や酵素活性解析への適用も図ることを第二の目的とする。さらに、最終的には、糊化特性等の他の分析も加え、ヨード呈色多波長走査分析法を中心とする、簡易で高精度の米食味評価技術を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1)ヨード呈色多波長走査分析における真のアミロース含量およびアミロペクチン微細構造の推定精度の向上、(2)ヨード呈色走査分析における同一亜種内での難消化性澱粉含量の推定精度の向上、(3)米の食味に影響する酵素の探索および選定、(4)ヨード呈色走査分析による米の食味(物性値等)の推定、(5)ヨード呈色走査分析による米の脂肪酸度定量法の開発、(6)ヨード呈色走査分析に脂肪酸度及び各種酵素活性を加えることによる総合的食味評価方法の開発、(7)未知試料による各推定式の適用性の確認。

### 4. 研究成果

IR24、IR28、夢十色、戦掟-2、赤米-1、赤米-2、唐干、唐法師の各試料の澱粉の調整を行い、キャピラリー電気泳動法によりアミロペクチンの鎖長分布を測定した。AACはIR24(22.3%)、IR28(30.9%)、夢十色(34.3%)、戦掟-2(25.2%)、赤米-1(30.8%)、赤米-2(29.2%)、唐干(30.5%)、唐法師(31.4%)を示し、SLCは、IR24(2.3%)、IR28(14.1%)、夢十色(15.5%)、戦掟-2(2.7%)、赤米-1(7.0%)、赤米-2(8.2%)、唐干(7.9%)、唐法師(8.2%)を示した為、真のアミロース含量はIR24(20.0%)、IR28(16.8%)、夢十色(18.9%)、戦掟-2(22.5%)、赤米-1(23.8%)、赤米-2(21.0%)、唐干(22.6%)、唐法師(23.2%)を示した。以上の結果より、超硬質米のSLCの推定式 $SLC = 0.6070 \times AAC - 7.474$ の作成が可能となった( $R^2 = 0.97$ )。中国産ジャポニ米32品種と国産コシヒカリ3種、秋田県産米3品種を用い、ヨード呈色多波長走査分析、RS含量、物性値、および $\alpha$ -アミラーゼ活性の測定を行った。中国産米のAAC、 $\alpha$ -max、A $\alpha$ -maxおよびFb3(DP37)の各値は、国産米よりやや高い値を示し、中国産米はSLC含量が多いと推定された。以上の結果、物性値(噛み応え)の推定をヨード呈色多波長走査分析により用い作成した。噛み応え $= 456.446 \times A\alpha\text{-max} + 0.049 \times \alpha\text{-max}/A\alpha\text{-max} - 202.583$ ( $R^2 = 0.64$ )。未知試料の検定では( $R^2 = 0.57$ )を示し、有望な物性値の推定式の作成が可能となった。また、脂肪酸度の推定式を作成した。脂肪酸度 $= 2.15 \times \alpha\text{-max}/A\alpha\text{-max} + 111.25 \times AAC - 5202.78$ 。

ジャポニカ米を用いて、ヨード呈色多波長走査分析に糊化特性、脂肪酸組成、タンパク質組成の比率およびタンパク含量を加えることにより、米の食味評価の検討を行った。ジャポニカ米30品種の脂肪酸組成は、オレイン酸(36.6%)、リノール酸(35.3%)、パルミチン酸(22.0%)、ステアリン酸(2.0%)、 $\gamma$ -リノレン酸(1.3%)を示し、オレイン酸は、リノール酸、 $\gamma$ -リノレン酸、パルミチン酸と負の相関を示し、ベヘン酸、リグノセリン酸、アラキジン酸、エイコセイ酸と正の相関を示した。アミロペクチン鎖長重合度Fb3 DP37(%)が高い品種は、糊化開始温度が高く、Fb3DP37が低い品種は、リノール酸と $\gamma$ -リノレン酸含量が高く、糊化開始温度、consistencyが低い傾向が示された。リノール酸、オレイン酸含量の推定式を説明変数に糊化特性値を用い、重回帰分析を行った結果、 $R^2 = 0.68$ ,  $R^2 = 0.75$ を示し、未知試料の検定で $R^2 = 0.76$ ,  $R^2 = 0.65$ を示し、有望な検量線の作成が可能となった。また、米の食味と米タンパク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

質の関連について検討するため、アミロースやアミロペクチン、米飯物性値、糊化特性値等とプロラミンの比率との関連について、黒龍江省産の27品種、日本産12品種のジャポニカ米について比較検討した。アミロースの分子量と相関の高い max の値は、物性値の全体の硬さと高い正の相関を示し、プロラミン 13kDa の比率およびトータルプロラミン比率 (16kDa+13kDa+10kDa) が AAC (見かけのアミロース含量) max、A max、Fb3、物性値の硬さと正、糊化開始温度、max/A max と高い負の相関を示した。プロラミン 13kDa の比率と物性値の硬さの推定式を A max と max を用い作成し未知試料の検定で R<sup>2</sup>=0.68 を各々示し、有望な推定式の作成が可能となった。

米の各デンプン分解酵素は局在性があり、 $\alpha$ -グルコシダーゼは外層・内層ともに分布し、中でも胚乳中心部に多く含まれ、 $\alpha$ -アミラーゼは胚乳外層部に多く存在することが報告されている本研究では、ジャポニカ米のブランド米27試料における食味に影響をおよぼす米に内在する各酵素 ( $\alpha$ -アミラーゼ、 $\beta$ -アミラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ) とデンプン特性 (アミロース含量、アミロペクチン SLC、Fb<sub>3</sub>) および遊離糖 (麦芽糖、ショ糖、D-グルコース) と理化学特性値 (糊化特性、物性値) との関連を検討した。2018年産ブランド米27試料の食味に関連するとされる遊離糖 (麦芽糖、ショ糖、D-グルコース) を分析した結果、アミロース含量、max と有意に負の相関を示した。この結果、 $\alpha$ -アミラーゼ活性、 $\beta$ -アミラーゼ活性がアミロース含量と有意に負の相関を示すためと推定された。食味に関連する遊離糖ショ糖含量を目的変数に、説明変数にヨード呈色の各ファクターを用い、重回帰分析を行った結果、R=0.76 の有望なショ糖含量の推定式をヨウ素呈色で作成することが可能となった。 $\alpha$ -アミラーゼ活性は、最低粘度、Setback、最終粘度、Consistency と有意に高い負の相関を示し、アミロペクチン Fb<sub>1+2+3</sub>(DP 13)とも有意に高い負の相関を示した。 $\beta$ -アミラーゼ活性は、最低粘度、最終粘度と有意に負の相関を示し、 $\alpha$ -グルコシダーゼ活性は、最高粘度、最低粘度と有意に正の相関を示した。また、糖含量と糊化特性値には、有意な相関は示されなかった。物性値の表層の硬さ(H1)は、 $\alpha$ -アミラーゼ活性、麦芽糖、D-グルコース含量と有意に負の相関を示した。また、表層の粘り(S1)は  $\alpha$ -グルコシダーゼ活性で有意に負の相関を示した。全体の粘り(S2)はショ糖と遊離糖総量で有意に負の相関を示した。

米の食味には、様々な要因が関与し、特に、良食味米育種では、アミロース含量とタンパク質含量が選抜指標とされてきた。アミロペクチンについては、重要性が示唆されていたものの高度な技術と機器分析による多額な費用を必要とするために、アミロペクチンに着目した選抜は行われていない。しかし、アミロペクチンはイネ胚乳澱粉の約80%以上を占める主成分であり、その分子構造の差異はアミロース以上に米の食味に影響すると考えられている。育種現場で米澱粉の構造を調べて選抜するのは困難であり、これに変わる簡便な選抜指標の策定が必要とされている。デンプンの構造は品種の遺伝的要素以外に、イネの登熟気温が影響することが明らかになっている。出穂後の気温が高いと、アミロペクチンの側鎖が長くなり、酵素により分解されにくいアミロペクチン SLC (super-long chains)が増加し、米飯物性や糊化特性などに影響を及ぼす。アミロペクチンに存在する超長鎖 SLC はアミロースと同様な反応を起こすため、見かけのアミロース含量 AAC 中にはアミロペクチン SLC が含まれる。本研究では、真の AAC 含量および SLC 含量の測定は、多大な労力を必要とする澱粉精製が必要なため、精米によるヨウ素吸収曲線の各値による澱粉による AAC、SLC 値の推定式の開発を行い、未知試料で検定し、これらの値と食味評価 (物性値、糊化特性値、官能検査) の関連を検討した。この結果、良好な結果が示された。開発した推定式 [ AAC(starch) = 0.168 × max(milled rice flour) + 84.522 × A max(milled rice flour) + 0.012 × max/A max(milled rice flour) - 126.302 ]

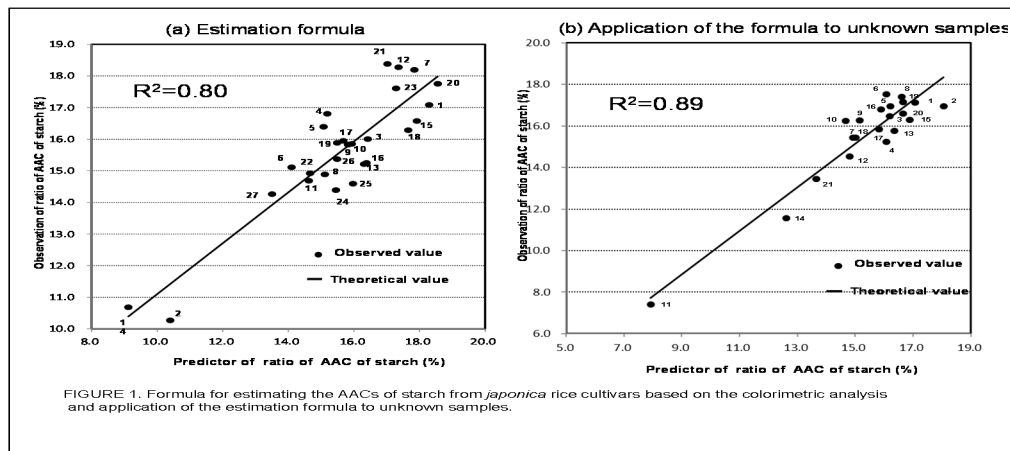


FIGURE 1. Formula for estimating the AACs of starch from japonica rice cultivars based on the colorimetric analysis and application of the estimation formula to unknown samples.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sumiko Nakamura, Junji Katsura, Yasuhiro Maruyama and Ken'ichi Ohtsubo	4. 巻 10
2. 論文標題 Evaluation of hardness and retrogradation of cooked rice based on its pasting properties using a novel RVA testing.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 1-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/foods10050987	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura S, Katsura J, Maruyama Y, and Ohtsubo K.	4. 巻 96
2. 論文標題 Relationship between fatty acid composition and starch properties of 30 japonica rice cultivars.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cereal Chemistry:	6. 最初と最後の頁 228-242
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cche.10110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Physicochemical Measurements of Japonica Rice Cultivars in Heilongjiang Province	4. 巻 83
2. 論文標題 Sumiko Nakamura <sup>1</sup> , Li Hui <sup>2</sup> , Dai Chang-jun <sup>2</sup> , Zhang Rui-ying <sup>2</sup> , Motonobu Kawano <sup>3</sup> , Ken'ichi Ohtsubo <sup>1</sup> ,	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.	6. 最初と最後の頁 9999
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2019.1576499	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sumiko Nakamura, Hisako Okumura, Masayoshi Sugawara, Wataru Noro, Noriyuki Homma and Ken'ichi Ohtsubo	4. 巻 81
2. 論文標題 Effects of different heat-moisture treatments on the physicochemical properties of brown rice flour	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2370-2385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2017.1387047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村 澄子, 井ノ内直良, 大坪研一
2. 発表標題 米澱粉のヨウ素吸収曲線に基づく「真のアミロース含量」推定式の 開発とその食味評価への適用
3. 学会等名 日本応用糖質科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 澄子, 山口寛貴, 紅谷 優, 大坪研一
2. 発表標題 良食味米における理化学特性および酵素活性
3. 学会等名 日本水稲品質・食味研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大坪研一、朝妻 聖、中村澄子
2. 発表標題 国産各種ブランド米の食味評価方法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村澄子、桂 順二、丸山恭弘、大坪研一
2. 発表標題 ジャポニカ米の脂肪酸組成と糊化特性、ヨード呈色多波長走査分析との関係
3. 学会等名 農芸化学 2018年大会3月16日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 澄子・李 輝・戴 常軍・張 瑞英・河野元信・大坪研一
2. 発表標題 黒龍江省の各種ジャポニカ米の理化学特性評価
3. 学会等名 日本水稲品質・食味研究会. 2018年11月3日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村澄子、桂 順二、丸山恭弘、大坪研一
2. 発表標題 RVAを用いた米の澱粉特性と脂肪酸組成の関連性の評価
3. 学会等名 穀物・食品分析技術シンポジウム2018. 11月29日スウェーデン大使館
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 澄子、奥村 寿子、菅原 正義、大坪 研一
2. 発表標題 各種の湿熱処理玄米の物理化学特性の評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2017年度大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村 澄子、野呂 涉、本間 紀之、奥村 寿子、菅原 正義、大坪 研一
2. 発表標題 ヨード呈色多波長走査分析およびRVA粘度測定による各種の米試料の古米化の評価
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2017年度大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大坪 研一、川上 知輝、会田 有生、稲川 拓、松江 勇次、雀 海椿、孫 雅君、河野 元信、中村 澄子
2. 発表標題 日本、韓国、中国の米の品質特性の評価
3. 学会等名 日本食品科学工学会2017年度大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	井ノ内 直良  (Inouchi Naoyoshi)  (80193621)	福山大学・生命工学部・教授   (35409)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------