

HPAEC-PADにより得られた炊飯米のアミロペクチン鎖長分布と食味評価との関係

高津 地志*1, 福本 由紀*2, 藤田 明子*1, 渡邊 義之*3, 野村 正人*4

Relationship between Distribution of Amylopectin Chain-length in Cooked Rice Analyzed by HPAEC-PAD and Tasting Evaluation

Kunimoto TAKATSU*1, Yuki FUKUMOTO*2, Akiko FUJITA*1, Yoshiyuki WATANABE*3, and Masato NOMURA*4

The distribution of amylopectin chain-length in cooked rice, whose cultivars were Koshihikari, Hitomebore, Hinohikari, Yumepirika and Kirara397, was analyzed by high performance anion exchange chromatography with a pulsed amperometric detector. In addition, tasting evaluation for cooked rice was carried out by a series of analytical equipment. The relationships between the chain-length distribution and the tasting value were examined for five rice cultivars. The relative amount of amylopectin chain in Koshihikari rice grains was the largest and the stickiness of Koshihikari rice grains was the highest. It was indicated that the chain-length distribution would affect stickiness and firmness of cooked rice.

Keywords: Amylopectin, Chain-length Distribution, Cooked Rice, High Performance Anion Exchange Chromatography, Pulsed Amperometric Detection, Tasting Evaluation

1. はじめに

世界三大穀物の一つとされる米は、主にアジア圏を中心に主食とされ、その大半がアジアを中心とした国々で作られている。世界の米の年間生産量は約4億8000万トン（精米ベース）となっており、日本の年間生産量は世界第11位の7600千トンである（2017年アメリカ農務省調べ）。日本の主食も米であるが、食生活の変化により米の消費のピークは昭和37年から一貫して減少傾向

にある。昭和37年の一人当たりの消費量は118kgであったが、平成28年度には54kgで半分以下にまで減少している。それに伴い、主食用米の全国ベースでの需要量は毎年約8万トンずつの減少傾向にある。

このような中、近年食味への関心の高まりを背景においしい米を作るために品種改良が行われてきた。一般的に米の食味評価は、外観、香り、味、粘りおよび硬さの項目で評価される。特に硬さ、粘りおよび糊化特性など

原稿受付 2018年4月28日

*1 株式会社サタケ 食味研究室（〒739-8602 東広島市西条西本町2-30）

E-mail g-syokumi@satake-japan.co.jp

*2 近畿大学 工学部 化学生命工学科（〒739-2116 東広島市高屋うめの辺1番）

*3 近畿大学 大学院システム工学研究科 システム工学専攻 教授、工学部 化学生命工学科 教授、次世代基盤技術研究所 教授（〒739-2116 東広島市高屋うめの辺1番）

E-mail wysyk@hiro.kindai.ac.jp

*4 近畿大学 大学院システム工学研究科 システム工学専攻 教授、工学部 化学生命工学科 教授（〒739-2116 東広島市高屋うめの辺1番）

E-mail nomura@hiro.kindai.ac.jp

連絡先：渡邊義之（研究代表者）

の物理化学的性状は、食味の総合評価の70%を占めているといわれている⁽¹⁾。米の粘りは澱粉に由来しており、米の全成分のうち約70%以上が澱粉で構成されている。一般的なかみの澱粉は、直鎖状構造のため粘性への寄与の小さいアミロースが約2割、分岐構造を有するために高い粘性に寄与するアミロペクチンが約8割で構成されていることが知られている⁽²⁾。これらの成分比率が食味に影響を与えているとされる。中でもアミロペクチンは米澱粉の約8割を占めるため、その構造が僅かに変化するだけでも、澱粉の物性は大きく変化し、そして米の粘りや軟らかさなどに大きな影響を与えることになる⁽³⁾。

これまで米のアミロペクチン研究は、精白米を用いた例が主であり、炊飯後の米のアミロペクチンについての研究事例は多くない。しかし、米の食味評価は炊飯米を対象に行われるものであるため、炊飯米中のアミロペクチンの分子構造に関する知見が求められている。そこで本研究では、5品種の新米を炊飯後、パルスドアンペロメトリー検出器を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー(HPAEC-PAD)にて、米粒に含まれるアミロペクチンの鎖長分布を測定した⁽⁴⁾。さらに米の食味計測機器を用いて定量的に評価された食味値とアミロペクチン鎖長分布との関係性について検討した。

2. 実験方法

2.1 材料および試薬

平成29年に収穫された北海道産きらら397、北海道産ゆめぴりか、宮城県産ひとめぼれ、新潟県産コシヒカリおよび広島県産ヒノヒカリの5品種を米試料とした。なお、米試料はテスト精米機(MC-250型、㈱サタケ製)に適用して精米された。特級エタノールは関東化学㈱から、特級1-ブタノールはキシダ化学㈱から、特級チモールは東京化成工業㈱から、特級アセトン、特級ジエチルエーテル、特級酢酸、特級酢酸ナトリウム、特級ジメチルスルホキシド(DMSO)および特級水酸化ナトリウムは和光純薬工業㈱から、それぞれ購入し使用した。

2.2 米の炊飯

米試料450gに水道水を一定の速度で流水させながら洗米器(DK-SA26、象印マホービン㈱)を用いて10回かき混ぜ、水を捨てる操作を5回繰り返した。その後、水道水630mLを加え、炊飯器(SR-HS104、パナソニック㈱)にて炊飯した。加水量は質量比で米の1.40倍とし、浸漬時間と蒸らし時間をそれぞれ30分間とした。

2.3 米澱粉の調製

炊飯後、30分間蒸らした米をペーパータオルの上に置

き30分間空気雰囲気下で静置させた。その後、5gの炊飯米をビーカーに量り取った。0.2% (w/w) 水酸化ナトリウム水溶液を150 mL加え、ラボスターラーを用いて3時間攪拌を行い、21時間静置した。上澄み液を除去した後、多量の蒸留水を加えて攪拌する操作を、炊飯米溶液のpHが7.0になるまで繰り返した。6,500 rpmで5分間の遠心分離を行い、沈殿物を凍結乾燥した。

2.4 アミロペクチンの調製

上記2.3で得られた乾燥物0.5gとDMSO15mLをナスフラスコ中で混合し、スターラーで約24時間ゆっくり攪拌して試料の粒構造を破壊させながら分散および溶解させた。この溶液に1-ブタノール25 mLを素早く注ぎ24時間静置した。生じた沈殿物をさらに1-ブタノールで数回洗浄してDMSOを除いた。沈殿物に蒸留水50 mLを加え、オイルバス中で100°Cに保ちながら窒素気流下で2時間加熱還流を行った。その後、60°C以下まで冷却させチモール50 mgを加えて均一に混ぜ、室温中に3日間静置させアミロース-チモール複合体を得た。遠心分離(6,500 rpm, 5分間)を行い、得られた上澄み液をアミロペクチン画分とした。凍結乾燥によりこの画分の約1/3量に濃縮し、2倍量のジエチルエーテルを加え洗浄した。水槽部分をファルコンチューブに採取後、それに2~3倍量のエタノールを加えて再び遠心分離(6,500 rpm, 5分間)した。得られた沈殿物について、再度エタノールを用いて洗浄を行い、アセトンで脱水させてアミロペクチンを得た。

アミロペクチン100 mgに蒸留水20 mL加え、70°Cの恒温水槽にインキュベートして加熱糊化させた。その後、酢酸緩衝液(pH 4.5)20 mLおよびイソアミラーゼ(755 U)を加え、45°Cで15時間の酵素反応を行った。反応後、100°Cの加熱により酵素を失活させた。凍結乾燥後、200 mgをエッペンチューブに量り取り、1 mL蒸留水を加えた。100°Cで10分間して糊化した後、メンブレンフィルターでろ過し、これを分析試料とした。

2.5 HPAEC-PADを用いた分析

金電極を用いたパルスドアンペロメトリー検出器を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー(ISC-5000、サーモフィsherサイエンティックス㈱)にてアミロペクチン鎖長分布を測定した。カラム温度は常温とし、送液流量は1.0 mL/minとした。グラジエント溶出操作では、溶離液Aに100 mM水酸化ナトリウム水溶液、溶離液Bに100 mM水酸化ナトリウム/500 mM酢酸ナトリウム水溶液および溶離液Cには超純水を用いた。溶出開始時はA : B : C = 60 : 40 : 0 (v/v/v)、開始2分後にA : B : C = 50 : 50 : 0 (v/v/v)、40分後にA : B : C = 20 : 80 : 0 (v/v/v)となるようにグラジエント溶出を実施した。

2.6 食味評価

米の食味評価には、炊飯食味計 (STA1B, サタケ株), 硬さ・粘り計 (RHS1A, サタケ株) およびシンセンサ (RFDM1A, サタケ株) で構成される食味鑑定団を用いた。炊飯食味計による測定では、炊飯後の米粒を 20 分間送風機にて降温した後、室温に 100 分間静置したものを試料とした。8.0 g の試料をステンレス製リングに詰め、測定用セル内で測定を行った。測定回数は、1 試料につき表面 1 回と裏面 1 回の計 2 回とし、この操作を 3 回繰り返した。硬さ・粘り計を用いた測定には、炊飯食味計で用いた試料を続けて使用した。測定回数は 1 試料につき 1 回行い、この操作を 5 回繰り返した。シンセンサでの測定においては、精白米 2.0 g に RFDM 用処理試薬を 10.0 g 加えて 1 分間インキュベートした。その後、遠心分離 (6,200 rpm, 1 分間) を行い、上澄み液を試料とし鮮度判定を行った。測定回数は 1 試料につき 1 回行った。以上の測定により得られた外観、硬さ、粘りおよび鮮度の評価値を 10 点満点とし、総合評価である食味鑑定値が

100 点満点で示された。

3. 結果および考察

3.1 アミロペクチン鎖長分布

5 品種の炊飯米から得られたアミロペクチンの鎖長分布を図 1 に示す。HPAEC-PAD を用いて六糖であるマルトヘキサオース 1 ppm を基準とした検出値の比を縦軸に取り、横軸には重合度 6 以上の糖鎖が順に示された。いずれの品種においても、重合度が増えるにつれて糖鎖の検出値も増加し、重合度 9 から 12 の範囲で検出値がピークを示した。それ以上の重合度では、徐々に検出値が減少していった。新潟県産コシヒカリは他の 4 品種に比べ、有意に糖鎖数が多いことが示された。得られるアミロペクチン量の違いによることが考えられるが、相対的な鎖長分布が他と大きく異なることがわかった。各重合度における糖鎖数は、概ねコシヒカリ、ひとめぼれ、ヒノヒカリ、ゆめぴりか、きらら 397 の順であった。

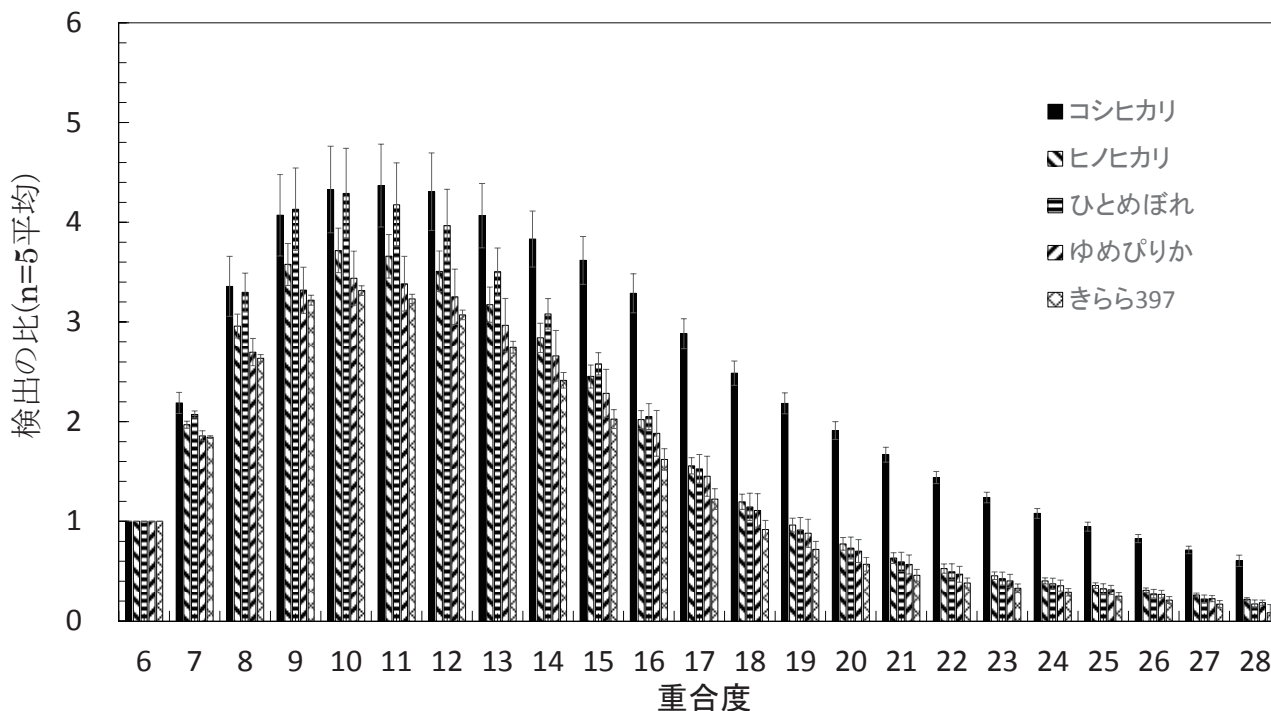


図 1. アミロペクチン鎖長分布

得られたアミロペクチンの鎖長分布を重合度 6~12, 13~20 および 21~28 の 3 区分に分け、それぞれの区間での相対的糖鎖数の和を算出した結果を表 1 に示す。いずれの品種も重合度が小さい 6~12 の区間が最も大きな糖鎖数を示した。全ての区間においてコシヒカリの糖鎖量が多かったが、重合度が大きくなるほど他の品種との差

が広がり、特に重合度 21~28 の区間では多品種との大きな分布の違いを示した。また、重合度 6~12 においては、ひとめぼれの糖鎖数が多く、コシヒカリに近い値を示した。ヒノヒカリは使用した 5 品種の中では中間的な数値を示し、ゆめぴりかおよびきらら 397 は、全区間において糖鎖数が少なかった。

表 1. アミロペクチン鎖長の相対量の比較

重合度	コシヒカリ	ヒノヒカリ	ひとめぼれ	ゆめぴりか	きらら397
6~12	23.7	20.4	22.9	19	18.3
13~20	22.4	14.2	14.8	13.2	11.7
21~28	10.4	3.9	3.6	3.5	2.7

3.2 食味評価値との関係

上述された米品種間のアミロペクチン糖鎖分布の相違が、炊飯米の食味にどのように影響するかを検証した。総合的な評価値としての食味鑑定値を図 2 に示す。食味値の高さは、コシヒカリ、ひとめぼれ、ゆめぴりか、ヒノヒカリ、きらら 397 の順であり、特にきらら 397 の値の低さが顕著であった。食味鑑定値の順位は、アミロペクチン糖鎖量のそれに似た傾向を示したが、上位のコシヒカリとひとめぼれとの食味鑑定値の差は大きくなかった。

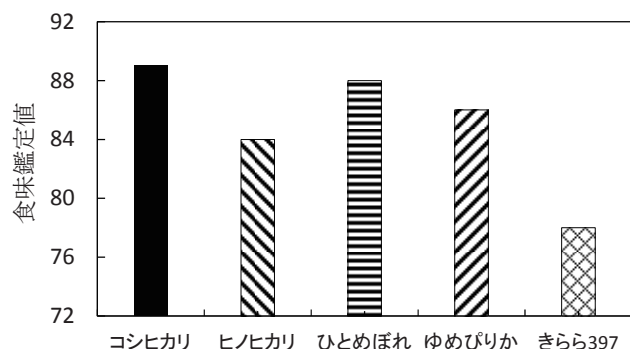


図 2. 5 品種の炊飯米の食味鑑定値の比較

次に、炊飯米の食味評価項目の中でも、特にアミロペクチン構造と関係が深いと考えられる粘りと硬さといった力学特性値の品種間比較について検討する。5 品種の炊飯米の粘り値と硬さ値との関係を図 3 に示す。コシヒカリの粘り値が、他に比べ著しく高いことが示された。一方で、きらら 397 の粘り値は低く、逆に硬さ値は最も高い値を示した。試験に用いた 5 品種について、図 1 および表 1 に示された糖鎖数と力学特性値との間に明確な傾向は認められなかったが、全体的に糖鎖数が多く粘り値の高かったコシヒカリと、比較的糖鎖数が少なく、特に重合度 13 以上の糖鎖数が少ない他の 4 品種とは、異なる力学特性プロファイルを示した。これらの結果は、炊飯米中のアミロペクチン量やその糖鎖量が、本測定における炊飯米の力学特性値に寄与することを示している。アミロペクチンの糖鎖分布と本測定における食味値との間に明確な関係性が見出せなかった原因として、アミロース量や、より重合度の高い超長鎖の糖鎖数などの影響が

考えられる。また、炊飯米やそのアミロペクチンの物性評価においても、糊化粘度や糊化熱量など様々な指標が採用されているため、評価指標の関係性についても広く検討する必要があると考えられる。

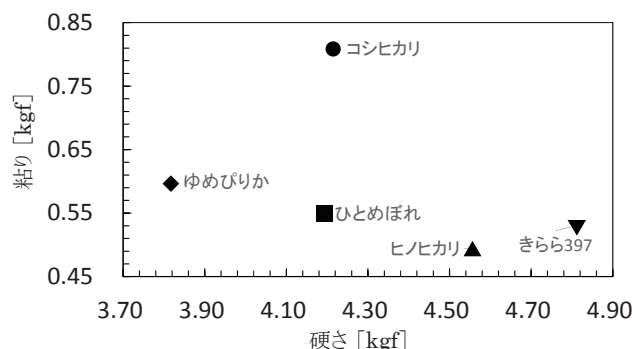


図 3. 炊飯米の粘りと硬さの関係

4. まとめ

炊飯米中のアミロペクチン鎖長分布が炊飯米粒の力学特性値に寄与することが示された。しかしながら、本測定で得られた糖鎖量分布だけでは、炊飯米の食味に寄与する因子として十分ではないことが確認された。今後は、アミロペクチン/アミロース量比や、それらの鎖長分布などの因子を加え、炊飯米中の澱粉構造と食味との関係について検討していくことが求められる。さらに、食味評価においては官能試験を導入することが望ましいだろう。

参考文献

- (1) 谷達雄ら, 栄養と食糧, 22 巻 (1969), pp.452-461
- (2) Uda Y., et al., *Recent Advances in Ginseng and Glycosides Research*, (2013), pp.137-154
- (3) Inouchi N., *J. Appl. Glycosci.*, 57 (2010), pp.13-23
- (4) 横野一歩ら, 美味技術学会誌, 15 巻 2 号 (2016), pp.15-20