高水分食品への応用を目指した米粉の分散性の評価と乳化能の検証

松宮健太郎^{1*}, 奥野勇樹¹, 松村康生

京都大学大学院農学研究科品質評価学分野

Evaluation of Dispersion Properties and Emulsifying Ability of Rice Flour for Use in High Water Content Food Products

Kentaro Matsumiya^{1*}, Yuki Okuno¹ and Yasuki Matsumura

Laboratory of Quality Analysis and Assessment, Graduate School of Agriculture,
Kyoto University, Gokasho, Uji, Kyoto 611-0011

In order to utilize rice flour in food systems with high water content, rice flour was dispersed into water to prepare a rice flour suspension and emulsion. Stability of the suspension was significantly increased by heating processes in combination with homogenization processes. The improved stability was probably due to finely dispersed rice flour particles ($\sim 10\ \mu\text{m}$) and gelatinized starch granules. Since oil droplets with a size of several micrometers disperse in an aqueous phase of many real food emulsions, rice flour is expected to be utilized as a fat replacer mimicking oil droplets. Emulsions were prepared dispersing soybean oil into a rice flour suspension. The emulsion was relatively stable to oil droplet coalescence for 7 days. Starch and proteins such as 10–16 kDa prolamin adsorbed to oil droplet surfaces to stabilize the emulsion. These results suggest that rice flour is expected to be utilized as a natural emulsifier in the food industry. (Received Mar. 24, 2013; Accepted Jul. 24, 2013)

Keywords : Rice flour, suspension, emulsion, gelatinization of starch, rice protein

キーワード : 米粉, サスペンション, エマルション, 澱粉の糊化, 米タンパク質

米の1人あたりの消費量は、昭和37年度をピークに、以降一貫して減少を続けており、消費者の米離れが進んでいる¹⁾。米の消費形態は主に粒食によるものであるが、粒食としての米の消費拡大には限界があり、現在では米の消費拡大を促すために、粉食利用が盛んに進められている。粉食利用の例としては、米粉を使用したパン・麺類など、小麦粉代替物としての利用が主である²⁾³⁾。その一方で、サスペンションやエマルションのように、水分が多く含まれる分散系食品への応用はそれほど注目されてこなかった。

我々のこれまでの研究では、国産米を直径10 μm 程度の粒子にまで微細化することで、米粉微粒子を長時間安定した状態で浮遊させる米粉サスペンションを調製することができた⁴⁾。その一方で、澱粉系食品素材は水分存在下で加熱を行うことで一般的に糊化が生じ、粘度の上昇やサスペンションの透明化が起こる。また、冷却後には澱粉粒子の再結晶化による老化が生じ、糊化澱粉と比べ、透明度の低下、あるいは酵素や修飾剤に対する反応性の減少などが起こ

る。殺菌などの加熱工程が必要となる加工食品においては、これらの物理的・化学的な変化が生じることにより、食品の品質が変化する可能性がある。我々の予備的な検討結果からは、粘度や外観に対する糊化・老化の影響は顕著には現れないことが示唆されているが⁴⁾、詳細な調査が必要である。

パン・麺類等への添加目的で市販されている米粉の粒子径は一般的に数百 μm であるため、上記研究のようなサスペンションを簡便に作成することは困難である。このような市販の米粉をこれまでよりも簡単に微細化することができれば、米粉サスペンションの実際の食品への利用価値は高まると考えられる。米粉の主成分である澱粉粒は水に対する比重が1.5程度であり、米粉サスペンション中の粒子は時間の経過とともに沈殿する⁵⁾。一般的にコロイド分散系は粒子が小さくなることで、分散安定性が向上することからも⁶⁾、微細化することは好ましい。

本研究では、食品加工工程に必要な不可欠な加熱処理によって、米粉サスペンションの分散安定性がどのように変化するのか、あるいは澱粉がどのような糊化挙動を示すのかを詳細に調べる。また、食品の製造現場で汎用的に使用されるホモジナイザーによって、水中に分散された通常粉砕

〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄京都大学大学院農学研究科品質評価学分野

¹⁾ 共同筆頭著者：両著者は本研究に等しく貢献した。

* 連絡先 (Corresponding author), matsumiya@kais.kyoto-u.ac.jp

の米粉に強力なせん断力を加え、油滴粒子の大きさと同等になるまで米粉を微細化することができるのかを検討する。

以上の項目に加え、我々は予備的な検討の結果から、米粉サスペンションに油脂を乳化する能力があることを見出した。食品添加物である乳化剤は消費者に敬遠される傾向があるため、天然物から乳化機能素材を獲得しようとする試みが近年盛んに行われている。米粉では、その澱粉に植物油とクエン酸を加え、加熱水蒸気処理をすることにより、乳化能を付与することに成功した例があるが⁷⁾、未修飾の米粉の乳化能に関する詳細な研究はない。本研究では、米粉の乳化能および米粉で調製したエマルションの安定性について評価を行うとともに、乳化に寄与する成分を解析する。また、米粉サスペンションと同様に加熱がエマルションの安定性に与える影響を確認する。

実験方法

1. 試料およびサンプル調製

米粉は市販の玄米粉・精白米粉を購入した（遠藤農園、平成 23 年宮城県産「ササニシギ」）。米粉は玄米もしくは精白米を 10~20 メッシュレベルに粗く粉碎した（ひかり号 A1-MS、國光社）後、40 メッシュと 60 メッシュレベルまで粉碎する（やまびこ号 L-S 型、國光社）ことで調製されたものである。米粉サスペンションは、米粉を純水に 1% (w/w) 分散させて調製した。ホモジナイズ処理は、高速ブレンダー（ヒスコトロン NS-51、日音医理科器械製作所）を用いて、20 000 rpm で 3 分間攪拌した後、高圧ホモジナイザー（Panda Plus 2000 型、Niro Soavi 社）を圧力 400 bar [40 Mpa]（一段目：400 bar [40 Mpa]、二段目：0 bar [0 Mpa]）に設定して 2 回通すことで行った。加熱処理は、コントロールとして 25℃ を設定して、60℃ および 95℃ で 30 分間ウォーターバスで温浴させることにより行った。加熱工程において、サンプルは定期的に攪拌した。加熱処理終了後、サンプルは室温（25℃）になるまで放冷した。以上、2 種類の米粉（玄米と精白米）に対して、ホモジナイズ処理の有無および加熱処理条件（25℃、60℃、95℃）を組み合わせでサンプルを調製し、以降の分析に供した。

エマルションの調製では、純水に 1% (w/w) の濃度になるように米粉を分散させた米粉サスペンションに 1~40% (w/w) の大豆油を添加した後、ホモジナイズ処理を行った。ホモジナイズ処理は、上記と同様に高速ブレンダーを用いて、20 000 rpm で 3 分間攪拌した後、高圧ホモジナイザーを圧力 400 bar [40 Mpa]（一段目：350 bar [35 Mpa]、二段目：50 bar [5 Mpa]）に設定し、2 回通すことで行った。加熱処理は調製されたエマルションに対し、上記と同様に行った。

2. 米粉サスペンションの安定性評価

米粉サスペンションは一度転倒混和した後室温で静置し、一定時間ごとに外観を写真により記録して、沈降挙動

を観察した。また、米粉サスペンションを、最終米粉濃度が 0.04% (w/w) となるように希釈した後、波長 660 nm で経時的に濁度を測定した（UV-2550、島津製作所）。

3. エマルションの乳化容量の検討と安定性評価

米粉サスペンションの乳化容量、すなわち、どの程度の油が含有されるかの検討は、1. で調製した様々な大豆油濃度のエマルション（米粉含有量 1% (w/w) 固定）に対して、外観観察および後述の光学顕微鏡観察（BX-53、オリンパス）、粒度分布測定を行うことにより検討した。エマルションは一度転倒混和した後室温で静置し、一定時間ごとに外観を写真により記録して、沈降・クリーミングおよび相分離挙動を観察した。

4. 粒度分布測定

米粉サスペンションおよびエマルションの粒度分布測定は、レーザー回折式粒度分布測定装置（SALD-2200、島津製作所）を用いて行った。屈折率は 1.55-0.20*i* に設定した。粒度分布は体積基準と面積基準により算出した。

5. 顕微鏡観察

米粉サスペンション中の米粉の結晶化状態は偏光顕微鏡（BX-53、オリンパス）を用いて観察した。また、米粉サスペンションで調製したエマルションは、Nile Red 0.01% (w/w) で染色した大豆油を用いて、共焦点レーザー顕微鏡（FLUOVIEW FV300、オリンパス）により観察を行った。

6. エマルション中の油滴表面に吸着した物質の解析

米粉中の乳化に寄与する成分を調べるため、Dickinson & Tanai (1992)⁸⁾ および Euston ら (1995)⁹⁾ の方法を利用して、油滴表面に吸着した物質を分離した。調製したエマルションを遠心管に入れ、36 447 g で 30 分間、4℃ で遠心処理（CR20G Ⅲ、日立工機）し、クリーム層と水相、沈澱に分離した。水相をシリンジで集め、0.22 μm のフィルター（加圧式フィルターユニット、ミリポア）で上述の操作時に再分散した油滴を除去した後、凍結乾燥させた物質を油滴非吸着物質とした。遠心管内に残ったクリーム層と沈澱のうち、沈澱を取り除いた後、油滴表面の洗浄のため元の容量と同程度の純水を加え、手で振盪してクリーム状の油脂を十分に分散させた。再分散したエマルションに、同様の操作を二回繰り返し、得られたクリーム層を別のサンプルチューブに移し、凍結乾燥させた。凍結乾燥させたクリーム層を 4℃ のアセトンと室温のジエチルエーテルで脱脂し、風乾させることで油滴吸着物質を得た。

油滴吸着物質は純水に溶解し、フェノール硫酸法¹²⁾ もしくはヨウ素澱粉反応により、油滴吸着物質中の含糖率の定量と澱粉の有無の確認を行った。

これとは別に、油滴吸着物質を 4% (w/v) SDS を含む 200 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解し、Lowry ら (1951)¹⁰⁾ の方法により、タンパク質の定量を行った。あるいは、125 mM Tris-HCl 緩衝液 (0-5% (v/v) 2-メルカプトエタノー

Fig. 1 Time-dependent changes in appearance of polished-rice flour suspensions

Polished-rice flour was dispersed into deionized water to prepare a suspension followed by high-speed and high-pressure homogenization processes and various heat-treatments, and then subjected to visual observations.

ル, 20% (w/v) グリセロール, 0.05% (w/v) BPB, pH6.8) に溶解し, SDS-PAGE 法¹¹⁾ により, タンパク質の組成分析を行った。

7. データ処理および統計解析

測定および観察はすべて再現性を確認するために3回実験を行い, 結果ではその平均値と標準偏差, もしくは代表的な画像や数値を示した。統計処理は Microsoft Excel ver. 2010 を用いて行った。

実験結果および考察

結果については, 玄米と精白米でほとんど差が見られなかったことから, 精白米の結果を中心に議論する。

1. 米粉サスペンション

(1) 加熱処理とホモジナイズ処理が分散安定性に与える影響

図1に調製後の各精白米粉サスペンションの外観を示す。ホモジナイズ処理がない場合, 転倒混和直後はどの加熱処理区も均等に白濁しているが, 時間の経過とともに米粉が沈殿し, 180分後には加熱処理による安定性の違いが明確に観察された。30分後と180分後の外観からは, 加熱処理の温度が高いほど米粉の沈降速度が遅くなり, 米粉サスペンションの分散安定性が向上することがわかった。ホモジナイズ処理を加えることにより, 米粉サスペンションの分散安定性は上昇した。すなわち, ホモジナイズ処理をしない場合には, 180分後に25°Cおよび60°Cで明確に観察された沈殿が明瞭に観察されず, 加熱処理区間での違いが

見られなくなった。しかし, 1日以上経過すると, 95°Cで加熱した米粉サスペンションは調製後3日を経過した後でも比較的均質に分散していたのに対し, 25°Cの非加熱サンプルと60°Cで加熱したサンプルでは沈殿の生成が認められたことから, ホモジナイズ処理をした場合も, ホモジナイズ処理をしない場合と同様の傾向がみられ, 加熱処理温度を上昇させることで米粉の沈降速度が遅くなり, 分散安定性が向上することが示された。以上のことから, 加熱処理をすることで経時的な米粉の沈降速度は遅くなり, ホモジナイズ処理を組み合わせることで分散安定性がさらに向上することが明らかになった。

これらの結果を定量的に評価するために, 均質に分散した各精白米粉サスペンションの濁度を経時的に測定した(図2)。各グラフの横軸は静置後の経過時間を示し, 縦軸は転倒混和直後のサンプルの吸光度を1.0とした相対濁度である。ホモジナイズ処理がない場合, どの加熱処理区においても, 相対濁度の低下がみられた。目視では明確に区別はつかなかったが, 30分間という比較的短い静置時間の中では, 60°Cで加熱処理した米粉サスペンションの粒子がもっとも沈降しにくいことが明らかになった。これは主に澱粉の糊化の程度が異なることに起因すると考えられたので, この点について次項以降の粒度分布測定と顕微鏡観察により検討を加えることとした。一方, ホモジナイズ処理がある場合, どの加熱処理区においても, 相対濁度は30分間ではほとんど変化しなかった。このことから, ホモジナイズ処理を加えることで, 米粉の分散安定性が向上すること

Fig. 2 Time-dependent changes in turbidity of polished-rice flour suspensions

Fig. 3 Particle size distribution of polished-rice flour suspensions

Particle size was measured by a laser-diffraction particle size analyzer using a refractive index of 1.55–0.20 *i*.

がわかった。これは先ほどの目視観察の結果と一致する。

これまでの結果から、米粉サスペンションの分散安定性は加熱処理およびホモジナイズ処理によって向上することが明らかになった。一般的にサスペンション中のコロイド粒子の沈降速度に影響を与える因子としては、次の二点があげられる。すなわち、一つは粒子の大きさであり、もう一つはコロイド粒子と分散媒の密度差である。粒子の大きさが小さいほど、あるいは粒子と分散媒の密度差が小さいほど沈降速度は遅くなり、分散安定性は向上する¹³⁾。次項では、この二点に着目して解析を行った。

(2) 加熱処理とホモジナイズ処理による粒子径および糊化挙動の変化

図3はサスペンション中の米粉粒子の大きさを測定した結果であり、さまざまな加熱処理条件およびホモジナイズ処理の有無における精白米粉サスペンションの粒度分布である。ホモジナイズ処理がない場合、25°Cの非加熱サンプルと95°Cで加熱処理をした米粉サスペンションは単峰性の粒度分布を示し、100 μm 付近に粒度分布のピークがみられた。その一方で、60°Cで加熱処理をした米粉サスペンションは二峰性の粒度分布を示し、10 μm 付近にも粒度分布のピークがみられた。米の澱粉粒の大きさは平均直径が5 μm であることが知られているため¹⁴⁾、60°Cという加熱処

理条件のみで、効率よく澱粉粒がそのサイズを保ったままで、米粉中から水中へと分散されたと考えられる。また、このような小さい粒子が存在することにより、60°Cの加熱処理区において、他の加熱処理区よりも米粉サスペンションの安定性が高くなった可能性がある(図2)。

ホモジナイズ処理がある場合、すべての加熱処理区において概ね単峰性の粒度分布が観察された。25°Cおよび60°C、95°Cの温度条件における粒度分布のピークは10 μm 付近にみられたが、加熱温度が高いほど粒子が大きくなる傾向があった。このことから、加熱処理温度が高いほど澱粉の糊化が進み、粒子の膨潤が起りやすくなっていたと考えられる。逆にいうと、60°Cにおける澱粉粒の膨潤の程度が、95°Cにおけるそれよりも低いことが影響していたともいえる。また、膨潤の程度が大きいということは、澱粉粒がそれだけ多くの水を含んでいることを示す。このことから、加熱温度が高いほど澱粉粒と水の密度差が低くなり、前項で議論したような分散安定性の差が生じたと考えられる。その一方で、ホモジナイズ処理により、どの加熱処理条件でも米粉サスペンションの粒子は比較的小さくなった。このことが、図1と図2で示したような分散安定性の向上、すなわちホモジナイズ処理によって大幅に分散安定性が向上したことにつながったと考えられる。

Fig. 4 Polarized light microscopic images of heat-treated polished-rice flour suspensions
Heat-treated polished-rice flour suspensions were observed using a polarizing microscope.

今回の結果より、ホモジナイズ処理を加えることで、米粉サスペンションの粒度分布が粒子の小さくなる方向へ大きく変化し、10 μm 程度の粒子が多くなったことから、食品の製造現場で汎用的に使用されるホモジナイザーによって、米粉に強力なせん断力を加えることで、油滴粒子の大きさと同等になるまで米粉を微細化できることがわかった。これまで米粉を10 μm 程度まで微細化する場合、ハンマーミルやジェットミルなどの大型乾式機械を使用することが必要であったが¹⁵⁾、本研究のように水分が大量に存在するような系、すなわち系全体が水に近い流動性を示するような濃度で米粉を利用する場合は、汎用性の高い湿式機械も十分利用可能であることが示された。使用する米粉の吸水性等の性質にもよるだろうが、我々の検討した範囲では、米粉の濃度が30% (w/w) 程度以下であれば、米粉サスペンションに十分な流動性が確認された。その一方で、高圧ホモジナイザーの処理上の制約から、我々の今回の検討では、水分が95% (w/w) 以上あることが望ましいことも明らかになった。

次に、米粉サスペンション粒子の糊化挙動と澱粉粒の構造に着目して、通常の明視野と偏光視野で顕微鏡観察を行った。米粉を構成する澱粉粒は、結晶構造の光学的異方性により、偏光下で観察すると複屈折由来の偏光十字が観察される¹⁶⁾。この原理を利用して、偏光十字の消失の程度から米粉サスペンション中の粒子の糊化挙動を確認した。

図4は、さまざまな加熱処理条件およびホモジナイズ処理の有無を組み合わせで調製した米粉サスペンション中の粒子を、顕微鏡により観察した結果である。ホモジナイズ処理がない場合、偏光視野では25°Cの非加熱区で澱粉粒の偏光十字が容易に確認されたため、澱粉が糊化していないことがわかった。60°Cおよび95°Cの加熱処理条件では、澱粉粒の偏光十字がほとんど消失し、米粉が糊化していることがわかった。

一般的に米澱粉は61.0~77.5°C前後で糊化することが知られている¹⁷⁾が、本研究ではそれよりも低い60°Cの加熱処理条件で糊化が観察された。我々のこれまでの研究で、米の粉碎時に澱粉粒が損傷を受け、吸水量が上昇することが明らかになっている¹⁸⁾。これにより、澱粉の水和、すなわち糊化が促進され、60°Cでも糊化が観察されたのではないかと考えられる。また、今回用いた系では、水が澱粉粒の周囲に豊富に存在していることから、澱粉粒の水和が相対的に起こりやすい環境にあったこと、あるいは加熱時に攪拌を加えていたこともその一因であると推察される。

糊化によって澱粉粒が膨潤すると、分散媒である水との密度差が小さくなり、このことが図1と図2で示すような加熱による米粉サスペンションの分散安定性向上に寄与したと考えられる。写真では示さないが、明視野で観察したところ、95°Cの加熱処理条件では、澱粉粒が糊化により崩壊して、分散媒である水との境界が明瞭に観察できる米粉

粒子の数が減少し、膨潤した不定形の澱粉が観察された。その一方で、60℃で加熱した米粉サスペンション中には、分散媒である水との境界が明瞭な比較的小さな粒子が観察された。この結果は、粒度分布の測定において、60℃の加熱処理区ではみられた10 μ m付近のピークが、95℃の加熱処理区ではみられなかったことを説明できると考えられる(図3)。

ホモジナイズ処理がある場合は、ホモジナイズ処理がない場合と同様に、25℃の非加熱の米粉サスペンションでは澱粉粒の偏光十字が容易に確認できたが、60℃および95℃の加熱処理条件では、澱粉粒の偏光十字がほとんど確認できなかった。このことから、ホモジナイズ処理された米粉サスペンション粒子の澱粉粒も、60℃以上の加熱処理によって糊化することがわかった。ホモジナイズ処理がない場合と同じく、このような糊化の進行が図1と図2に示す米粉サスペンションの分散安定性の向上に関係していたと思われる。明視野においては、95℃の加熱処理条件では、先ほどと同様の澱粉粒の崩壊が生じており、膨潤した不定形の澱粉が観察されたが、60℃の加熱処理条件では、膨潤した澱粉粒がはっきりと観察された。また同じく明視野の観察結果から、粒子の大きさについては、25℃の非加熱のサスペンションの粒子がもっとも小さく、60℃で加熱したサンプルの粒子がややそれより大きくなる傾向を示した。95℃で加熱処理したサスペンション中では、粒子の境界が明瞭でなく、粒子の大きさを区別することはできなかった。

以上の顕微鏡観察の結果から、同様の加熱条件で処理したサンプルを比較することにより、ホモジナイズ処理によってサスペンション中の粒子の大きさは大きく変化するものの、澱粉粒の糊化挙動や構造には劇的な変化は生じていないことがわかった。高圧ホモジナイザーのような汎用性の高い湿式機械で粉碎した場合、澱粉粒の結晶化状態には大きな変化を与えずに、微細な粒子をつくり出せることが示唆される。

その一方で、写真等では示さないが、老化に着目して行った別の実験からは次のようなことが明らかになった。すなわち、ホモジナイズ処理の有無にかかわらず、60℃もしくは95℃で加熱処理したサスペンションでは、24時間冷蔵庫で保管した場合も、粒子の沈降以外に老化に起因する顕著な外観上の変化は生じず、かつ保管後に偏光視野で澱粉粒の偏光十字は確認されなかった。水分含量が比較的小さいペーストのような系では澱粉の老化が起こりやすい¹⁹⁾ことと合わせて考えると、水分が十分に存在する環境下では、澱粉粒の再結晶化が起こりにくいことが考えられる。このような知見は、米粉サスペンションを実際の加工食品に利用する際に有用であると思われる。

2. 米粉エマルション

(1) 米粉の乳化活性および加熱処理による乳化安定性の違い

Fig. 5 Particle size distribution of soybean oil emulsions prepared with polished-rice flour suspensions

Particle size was measured by a laser-diffraction particle size analyzer using a refractive index of 1.55–0.20 *i*.

我々は予備的な検討を行うなかで、米粉サスペンションに油脂を加えて均質化することにより、エマルションを調製できることを見出した。米粉そのものでエマルションを調製できるという報告はほとんどないため、乳化容量および乳化活性、乳化安定性について基礎的に解析した。米粉が1% (w/w) 含まれる米粉サスペンションにさまざまな量(1, 5, 10, 20, 40% (w/w))の油脂を加えて、乳化容量を検討した結果、玄米・精白米ともに大豆油が5% (w/w) 含有されるように調製したエマルションでは、調製直後にクリーミングや相分離はみられなかった。写真では示さないが、含有する油が10% (w/w) を超えると、調製直後から明確なクリーミングが生じ、40% (w/w) を超えると調製直後から油と水の相分離が観察された。エマルションを顕微鏡で観察した結果、含有する油が10% (w/w) を超えると、数十 μ mの粗大な油滴が多数存在していた。以上のことから、米粉には乳化能があり、1% (w/w) の米粉では5% (w/w) 程度までは安定的に油脂を保持できることがわかった。これ以降の乳化活性の評価(粒度分布測定)および乳化安定性の評価(目視観察)では、5% (w/w) の油脂を含有するエマルションについて解析を行った。また、米粉サスペンションのときと同様に、加熱処理がエマルションの特性に与える影響についても検討した。

図5は米粉サスペンションを用いて調製したエマルションにさまざまな加熱処理を加え、粒度分布を測定した結果である。すべての加熱処理条件において、エマルションの粒度分布は二峰性を示し、そのピークは1.5 μ mと10 μ m付近にあった。図4に示すホモジナイズ処理がある場合の米粉サスペンションの粒度分布と合わせて考えると、10 μ m程度の粒子は粉碎された米粉であり、1.5 μ m程度の粒子は油滴であると思われる。また、加熱処理を加えることで、両ピークの面積割合が変化し、加熱温度が高くなると大きな粒子が増加することが明らかになった。これは澱粉粒が糊化して膨潤した結果生じた変化であると考えられ

Fig. 6 Confocal microscopic images of heat-treated soybean oil emulsions prepared with polished-rice flour suspensions

Soybean oil was dyed by Nile Red and observed using a confocal laser scanning microscope at excitation and emission wavelengths of 543 nm and 615 nm, respectively.

る。以上のことを確かめるために、油脂に蛍光物質を溶解して作成したエマルションを用いて、共焦点レーザー顕微鏡による構造観察を行った(図6)。どの加熱処理区においても、10 μm 以下の赤く染色された小さな油滴が確認され、さきほどの粒度分布測定の結果の解釈、すなわち 10 μm 程度の粒子は粉碎された米粉であり、1.5 μm 程度の粒子は油滴であるという推察を支持する結果となった。60°Cおよび95°Cで加熱処理したエマルションでは、蛍光色素で赤く染色されていない部分がみられたが、これは油滴がフロック凝集を起こしたことを示唆している。

Fig. 7 Time-dependent changes in appearance of soy bean oil emulsions prepared with polished-rice flour suspensions

Soy bean oil emulsions prepared by polished-rice flour suspensions followed by various heat-treatments were subjected to visual observations.

図7は米粉サスペンションを用いて調製したエマルションにさまざまな加熱処理を加え、経時的にエマルションの外観を観察した結果である。調製直後は、全ての加熱処理区において、サンプルは均質に分散していた。静置1日後には、どの加熱処理区においてもクリーミングが観察されたが、清澄な水相が観察されるほどではなかった。静置7日後になると、特に25°Cの非加熱サンプルにおいてクリーミングが顕著であったが、加熱サンプルでは清澄な水相の分離は見られなかった。この水相部分を顕微鏡で観察したところ、油滴だけでなく、米粉粒子も水相の白濁に寄与していることが確認された。その一方で、一週間程度の静置期間を経ても、すべての加熱処理区で油脂の分離はみられなかった。今後クリーミングに対する安定性を改良する余地はあるものの、米粉サスペンションを用いることで合一・相分離に対しては比較的安定なエマルションを調製できたと考えられる。また、その安定性は加熱処理を加えることで向上することが見込まれる。

(2) 油滴表面に吸着した米粉成分

これまでの結果から、米粉サスペンションを用いることで比較的安定なエマルションを調製できることが明らかになった。そこで、乳化された油滴表面に吸着した物質、特に米粉の主成分である澱粉とタンパク質に着目し、解析を行った。油脂が十分に乳化される条件として、エマルション中の油脂の濃度は1% (w/w) を選択し、解釈を容易にするため加熱は行わない条件で実験を行った。

油滴吸着物質の含糖率を図8に示す。比較のため、精白米粉の含糖率も測定した。この結果から、油滴吸着物質中

Fig. 8 Sugar content of polished-rice flour and materials adsorbed to oil droplet surfaces in emulsions

Sugar content was measured by the phenol-sulfuric acid method. Flour : polished-rice flour, Surface : materials adsorbed to oil droplet surfaces.

Means $\pm$ SD ($n=3$), *** : $p < 0.001$, t -test

Fig. 9 Protein content of polished-rice flour and materials adsorbed to oil droplets surfaces in emulsions

Protein content was measured by Lowry's method.

Flour : polished-rice flour, Surface : materials adsorbed to oil droplet surfaces.

Means $\pm$ SD ($n=3$), *** : $p < 0.05$, t -test

の糖量は精白米中の糖量よりも少なく、おおむねその3分の1程度であることがわかった。このことより、澱粉やその他の多糖類はエマルションの油滴表面には吸着しにくいものの、ある程度の割合で油滴表面に存在することが示された。また、ヨウ素澱粉反応の結果、油滴吸着物質は青紫色に染まったことから、油滴吸着物質は澱粉を含有していることが明らかになった（写真掲載せず）。同様の結果が玄米粉を使用した場合にも得られた。以上のことから、米粉エマルションでは、固体粒子である澱粉が界面に吸着して乳化に寄与する Pickering 型の乳化機構が働いている可能性が示唆される²⁰⁾。

図9にエマルション中の油滴表面に吸着した物質の含タンパク質率を定量した結果を示す。油滴吸着物質は精白米と比べ、含タンパク質率が高いことが明らかになった。このことから、油滴にはタンパク質が優先的に吸着すると考えられる。粒度分布測定における油滴のピークから油滴粒子径の最頻値（面積基準）を算出し、McClements²¹⁾の示した方法により、油滴表面に吸着した単位表面積あたりのタンパク質量を推定したところ、 $1.66 \pm 0.66 \text{ mg/m}^2$ であった。この数値は、代表的なタンパク質であるカゼインナトリウムで乳化したエマルションの油滴表面のタンパク質量（ $1 \sim 3 \text{ mg/m}^2$ ）²²⁾と比較しても妥当な数字であるといえる。その一方で、油滴表面がタンパク質だけでは飽和状態になっていないとも考えられ、上述の澱粉による Pickering 型の乳化機構が補佐的に働いている可能性もある。

筆者らはさらに、どのようなタンパク質が乳化に寄与しているかを確認するため、乳化された油脂表面に吸着したタンパク質の組成を SDS-PAGE により分析した（図9）。非還元条件で、精白米・水相中のタンパク質と油滴表面に吸着したタンパク質の組成を比較したところ、油滴表面には特定のタンパク質が特異的に吸着していることが明らかになった。還元条件で分析を行ったところ、油滴表面に吸

着したタンパク質は、26 kDa グロブリンや 10-16 kDa プロラミンを多く含むことが示された。この結果は玄米についても同様であった（データ示さず）。一般的に米の貯蔵タンパク質は胚乳組織内の2種類の顆粒に集積することが知られているが、その中でも特にタンパク質顆粒Ⅰに主に集積されている疎水性のプロラミン²³⁾が乳化に深く関わっていることが示唆された。プロラミンは粒食時の食味や醸造時の加工特性に負の影響を与えることが知られており²⁴⁾²⁵⁾、品種育成の際にはその低減が指向されることが多い²⁶⁾²⁷⁾。しかし、本研究でプロラミンは乳化作用を有することが示されたことから、米粉を乳化系に応用していくにあたっては、必ずしもプロラミンを低減させることがよいとは限らないとも考えられる。

要 約

米粉サスペンションに加熱処理とホモジナイズ処理を加えて分散安定性を調べた結果から、両方の処理を組み合わせることでサスペンションの分散安定性が向上することがわかった。そのメカニズムについて検討したところ、分散安定性の向上は主に澱粉の糊化と粒子の微細化によるものであることが明らかになった。また、米粉サスペンションに油脂を加えて調製したエマルションを解析した結果、改良の余地はあるものの、米粉を用いて比較的安定なエマルションを調製できることがわかった。エマルションの安定化には、主に澱粉とタンパク質が寄与していることが明らかになり、特にタンパク質では、プロラミンの寄与が大きいことが示された。

今後の方向性として、次のような可能性が考えられる。すなわち、代表的な食品エマルションであるマヨネーズやホイップクリームなどにおいては、通常水中に数 μm レベルの油滴が分散した状態にある²⁸⁾。本研究で調製した米粉サスペンション、特にホモジナイズ処理したものは数 μm

Fig. 10 Composition of proteins adsorbed to oil droplet surfaces in emulsions

Adsorbed proteins were analyzed by SDS-PAGE under reduced and non-reduced conditions and then identified according to molecular markers and previous researches^{31),32)}.

Flour : polished-rice flour, Water : water phase, Surface : materials adsorbed to oil droplet surfaces, Pre-glutelin : precursor of glutelin.

の粒子からなることから、米粉サスペンションの粒子の大きさを適切に制御できれば、米粉サスペンションを油脂代替物として利用できることが期待される。澱粉性食品素材は、 α -アミラーゼの作用を受けることで口腔内において急速に分解し、油脂が口腔内で融解する際の挙動を擬態できるという報告もあり^{29),30)}、この点においても米粉サスペンションは有用性が高いと考えられる。本研究で行った米粉サスペンションによるエマルションの調製に加え、乳化系への展開の軸になる可能性がある。

本研究は、飯島藤十郎記念食品科学振興財団からの学術助成金および JSPS 科研費 25850088/25282018 の助成により行われた。ここに深く感謝申し上げる。共焦点レーザー顕微鏡観察に関するご指導をいただいた京都大学大学院農学研究科品質評価学分野の林由佳子准教授に謹んで謝意を表す。米粉の粉碎条件等をご教示いただいた遠藤農園の遠藤卓氏・則靖氏に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 農林水産省：食料需給表（平成24年度）。
- 2) 奥西智哉，米を利用したパンの老化機構の解明，食に関する助成研究調査報告書，**25**，11-14（2012）。
- 3) 當麻義人，麵の品質・食感向上技術 国産米粉麵の製造・品質改良，月刊フードケミカル，**27**，44-46（2011）。
- 4) 奥野勇樹，松宮健太郎，下間早織，岡留博司，HOSEN Md Sharif，松村康生，加熱処理が米粉微粒子の分散性とデンプン特性に与える影響，日本食品工学会第12回（2011年度）年次大会講演要旨集，p. 41，京都（2011）。
- 5) Inouchi, N. and Fuwa, H., Structure and functional properties of starch. *Foods & Food Ingredients Journal Of Japan*. No. 11, 208, 895-902（2003）。
- 6) Everett, D.H., コロイド分散系はなぜ安定か，「コロイド科学の基礎」，第1版，関集三編，（化学同人，京都），pp. 15-

- 27（1992）。
- 7) 佐藤真友子，三浦 靖，三國克彦，三輪章志，小林昭一，米粉-油脂-有機酸混合物を過熱水蒸気処理して乳化能を付与した糖質素材の理化学的特性，日本食品科学工学会第58回大会講演集，p. 104，宮城（2011）。
- 8) Dickinson, E. and Tanai, S., Protein displacement from the emulsion droplet surface by oil-soluble and water-soluble surfactants. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 179-183（1992）。
- 9) Euston, S.E., Singh, H., Munro, P.A. and Dalgleish, D.G., Competitive adsorption between sodium caseinate and oil-soluble and water-soluble surfactants in oil-in-water emulsions. *J. Food. Sci.*, **60**, 1124-1131（1995）。
- 10) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 263-275（1951）。
- 11) Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685（1970）。
- 12) Hodge, J.E. and Hofreiter, B.T., Determination of reducing sugars and carbohydrates. *Method in Carbohydrate Chemistry*, **1**, 380-394（1962）。
- 13) McClements, D. J., Context and background. In "Food Emulsions : Principles, Practice, and Techniques", second eds, Boca Raton, (CRC. Press. Co.), pp. 273-288（2005）。
- 14) 島田清之助，各種澱粉・糖質の製造とその特性および応用，「澱粉の科学」，普及版，不破英次，小巻利章，檜作 進，貝沼圭二編，（朝倉書店，東京），pp. 355-427（2010）。
- 15) Hossen, M.S., Sotome, I., Takenaka, M., Isobe, S., Nakajima, M. and Okadome, H., Starch damage and pasting properties of rice flours produced by dry jet grinding. *Cereal Chem.*, **88**, 6-11（2011）。
- 16) 桐淵滋雄，澱粉の構造および物性，「澱粉科学ハンドブック」，第1版，二國二郎，中村道徳，鈴木繁男編，（朝倉書店，東京），pp. 244-245（1977）。
- 17) Leach, H.W., Gelatinization of Starch, In "Starch : Chemistry and Technology", ed. Whistler, R.L., Paschall, E.F., (Academic Press, New York and London), pp. 289-307（1965）。
- 18) 大塚紘子，山口庄太郎，松永亜希子，山口ひとみ，松村康生，粒子サイズが異なる米粉微粒子の糊化挙動および β -ア

- ミラーゼによる老化抑制, 日本食品科学工学会第 56 回大会講演集, p. 83, 名古屋 (2009).
- 19) 下間早織, 松宮健太郎, 奥野勇樹, 南部優子, 岡留博司, Md. Sharif Hossen, 松村康生. 粒子径の異なる米粉ペーストの加熱による物性変化, 2011 年度日本農芸化学会関西支部講演会講演要旨集, p. 47, 京都.
- 20) Binks, B.P., Particles as surfactants—similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, **7**, 21–41 (2002).
- 21) McClements, D. J., Context and background. In “Food Emulsions : Principles, Practice, and Techniques”, second eds, Boca Raton, (CRC. Press. Co.), pp. 1–26 (2005).
- 22) Dalgleish, D.G., Food Emulsions : Their structure and properties. In “Food Emulsions”, fourth edition, (ed., Friberg S., Larsson, K., Sjoblom, J.), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1–44, 2003.
- 23) 奥野員敏, 良食味品種に貢献する遺伝資源とバイオテク技術, 「美味しい米 第 3 巻 21 世紀に向けた美味しい米の開発戦略」, 第 1 版, 櫛渕欽也編, (農林水産技術情報協会, 東京), pp. 137–167 (1996).
- 24) 田中國介, 米蛋白質の化学—プロテインボディの構造と分布—, 農林水産研究ジャーナル, **18**, 33–40 (1995).
- 25) 古川幸子, 米タンパク質がもたらす食味と酒造掛米適性の美味しい関係, 日本醸造協会誌, **103**, 145–149 (2008).
- 26) 奥野員敏, 久保田基成, 米のタンパク質と脂質の成分育種, 農業技術, **41**, 325–330 (1989).
- 27) 門間美千子, 齋藤昌義, 千国幸一, 斎尾恭子, 貯蔵タンパク質組成が変異した米胚乳細胞におけるプロリン蓄積型プロテインボディの微細構造, 日本食品科学工学会誌, **47**, 938–942 (2000).
- 28) 安田耕作, 福永良一郎, 松井宣也, 渡辺正男, 油脂製品, 「油脂製品の知識」, 第 1 版, 桑野知章編, (幸書房, 東京), pp. 147–299 (1993).
- 29) 松宮健太郎, 松村康生, 油脂のおいしさと脂肪代替物の利用, 日本味と匂学会誌, **16**, 69–76 (2009).
- 30) Altinga, A.C., Van de Velde F., Kanninga M.W., Burgeringa M., Mullenersb L., Seinb A. and Buwaldac P., Improved creaminess of low-fat yoghurt. *Food Hydrocolloids*, **23**, 980–987 (2009).
- 31) 芦田かなえ, タンパク質組成変異米及び胚乳白濁変異米の成分・プロテインボディ構造・加工特性に関する研究, 名古屋大学博士学位論文, <http://hdl.handle.net/2237/15890>, (2011).
- 32) Romeroa, A., Beaumalb, V., David-Briandb, E., Cordobesa, F., Guerreroa, A. and Anton, M., Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, **29**, 1–8 (2012).
- (平成 25 年 3 月 24 日受付, 平成 25 年 7 月 24 日受理)