ブラベンダービスコグラフ測定の迅速化と 多数試料への応用

渡辺英夫*・二口浩一**

Rapid Method of Brabender Viscograph and its Application to Analysis of a Large Number of Samples

Hideo WATANABE* and Koichi FUTAKUCHI**

**(Former) West Africa Rice Development Association (WARDA)*

*** West Africa Rice Development Association (WARDA), 01 BP 2551, Bouake 01,
Cote d'Ivoire*

It is possible to establish a rapid method of Brabender viscometry by reducing the reaction time for gelatinization. A rapid method was examined by increasing the heating and cooling speed of the suspension and evaluated by the application to a large number of samples for its practical use. (1) Increase of heating and cooling speed to 3°C/min in the rapid method reduced the measuring time of the existing method by half to 47 minutes and made possible to analyze 8 samples a day. (2) Reproducibility in standard deviation of the rapid method was 7.6 BU which was more accurate than the existing method. High significant correlation between the two methods was observed for each parameter. (3) Each method needs to be performed independently due to the large difference in the analytical data in several parameters between the two methods. (4) The correlations between the viscosity parameters are often different among the rice species. Therefore, every viscosity parameter in the cooled condition is required to be directly analyzed for its evaluation. From these data, it was indicated that the rapid method can be used for the evaluation of the viscosity characteristics of a large number of samples with adequate accuracy using existing Brabender viscometers.

(Received Jun. 1, 2000 ; Accepted Sep. 19, 2000)

稲の育種、米の流通管理等の分野において、消費者嗜好への適合性、食味、栄養性等の観点から、多数試料の品質分析を必要とする場合が多い。西アフリカ稲開発協会 (WARDA) においても、新品種の選抜、普及のため、限られた分析機材の中で、多数の育成ラインについて各種品質特性値の測定が求められている。一方、米品質については、食感が炊飯米の最も重要な要素の一つであることから、ブラベンダービスコグラフ (以下、本文中ではビスコグラフと略す。) の各特性値が、炊飯米の粘り、軟らかさの理化学的な指標として広く利用されてき

た¹⁾。しかし、現行のビスコグラフ測定法 (以下、慣行法と略す。) では、1.5°C/min という低速での加熱・冷却、10 分間の最高温度での保持時間が設定されており、一点の測定に 84 分と約 1 時間半近く要するため²⁾³⁾、測定の迅速化が求められている。

稲津¹⁾ は、迅速化のため、ビスコグラムでは、高温時特性値 (最高粘度、最低粘度およびブレイクダウン) が、その後の冷却時特性値 (最終粘度およびセットバック) との間に高い相関があることを利用して、前半の 3 項目だけで粘度特性を把握する方法を考案している。この方

* 前西アフリカ稲開発協会勤務 (〒161-0032 東京都新宿区中落合 1-18-6-1102)

** 西アフリカ稲開発協会 West Africa Rice Development Association (WARDA), (01 BP 2551, Bouake 01, Cote d'Ivoire)

法では、既存のビスコグラフによる炊飯米の老化性の指標に相当する最終粘度、セットバック等の特性値を実測できない。この他、少量の試料を迅速に測定する方法として、ラビッド ビスコアナライザー (RVA) が広く使用されている^{5)~7)}。

RVA による測定では、糊化時間が約 7 分であり⁶⁾、澱粉そのものは短時間の加熱で糊化⁸⁾することから、ビスコグラフにおいて澱粉の糊化および冷却時間の短縮により、測定を迅速化し得る可能性がある。本研究では、通常のビスコグラフを用い、慣行法における加熱・冷却の速度を速めることにより測定を迅速化する方法 (以下、迅速法という。) について試験を行った。また、迅速法を多数試料に応用した場合の利点等についても併せて考察した。

実験方法

1. 実験材料

加熱・冷却温度、最高温度における保持時間の影響およびビスコグラフの反復測定における測定の安定性を調べるため、実験材料として WARDA で標準栽培した Bouake-189 を用いた (Table 1 および Table 2)。次に、慣行法と迅速法による測定値の比較を行うため、アミロース含量、ビスコグラム特性、来歴の異なる米 10 点を選択した (Table 3)。更に、多数試料分析に対する迅速法の有効性を調べるため、WARDA におけるアフリカ稲 (*O. glaberrima*: グラベリマと略す)・アジア稲 (*O. sativa*: サティバと略す) 雑種後代の実用品種育成に関する栽培試験から入手した精米試料 (グラベリマ: 157 点, サティバ: 11 点, 雑種後代: 179 点, 計 347 点) を入手し分析を行った (Table 4 および Fig. 1)。

2. ビスコグラフ迅速測定

各試料の精選精米を、1 m/m スクリーンを取り付けた Udy Cyclone Mill により粉碎し、ビスコグラフ用の試料を調製した。水分 13.5%, 50 g 相当の粉碎試料を 450 ml の蒸留水に懸濁し、ビスコグラフの測定に供した。慣行法では²⁾³⁾、30℃ から 95℃ まで 1.5℃/min で加熱し、95℃ で 10 分間保持、その後同一速度で 50℃ まで冷却した。一方、迅速法では、加熱・冷却温度を 1.5℃/min, 2.0℃/min, 3.0℃/min (実験に使用したビスコグラフの最大機能)、また保持時間を 5 分, 10 分, 20 分に設定し、最適条件を検討した。

ビスコグラムでは、糊化温度 (Gt)、最高温度 (Pt)、最高粘度 (PT)、最低粘度 (MN)、ブレイクダウン (BD)、最終粘度 (FV) およびセットバック (SB) の

7 項目を測定した。なお、本文および表では、括弧内の略号を用いた。

3. アミロース含量の測定

第 2 項の粉末試料を用い、JULIANO⁹⁾が開発したヨード比色定量法を基本に、オートアナライザーを用いた簡易測定法¹⁰⁾により測定した。

実験結果

1. 加熱・冷却温度および保持時間の影響

加熱・冷却温度を 1.5℃/min, 2.0℃/min および 3.0℃/min, 保持時間を 10 分に設定して各試料 3 回反復測定し、温度の影響を調べた (Table 1)。加熱・冷却温度が高いほど、PT が低かったが、MN の数値にはほとんど差が見られなかった。このため、BD は、高温ほど低い値となった。逆に、FV, SB では、高温ほど高い値を示した。繰返し測定における測定値の変動は、高温のほうがやや小さかった。これらの測定結果から、加熱・冷却温度を 3.0℃/min に高めても、数値の水準は変化するが測定上問題は生じないことがわかった。

次に、加熱・冷却温度を 3.0℃/min とし、保持時間を 5 分, 10 分および 20 分に設定してその影響を調べた。10 分と 20 分では、各項目共ほぼ類似した数値となっていた。しかし、5 分における MN は、676 BU であり、10 分・20 分における MN 約 450 BU に比べ著しく高い値であった。このため、BD は、40 BU と、10 分・20 分の時の BD 約 260 BU に比べ極めて低い値となった。これは、ピークタイム後 5 分では、粘度が急速に低下している最中であるため、MV は高い値を示したものと考えられる。BD の 40 BU は、基の測定値となる PT, MN の測定誤差が 0~20 BU 程度であることを考えると、特性値の水準としては低すぎる。このことから、保持時間 5 分は短かすぎると考えられる。

これらの測定結果から、迅速法の加熱・冷却温度を 3.0℃/min, 保持時間を 10 分として、以下に慣行法との

Table 1 Effect of heating speed on viscosity parameters

Heating speed Cooling speed (°C/min ⁻¹)	Viscosity parameters				
	PT (BU)	MN (BU)	BD (BU)	FV (BU)	SB (BU)
1.5	863	465	398	878	15
2.0	788	463	325	918	130
3.0	728	464	264	960	232

比較を行った。

2. 測定時間

慣行法と迅速法の測定時間を比較すると、加熱時間は 44 分から 22 分へ、冷却時間は 29 分から 15 分へ、保持時間を除いた合計時間は 72 分から 37 分へ各々短縮された。迅速法による特性値の測定時間は、慣行法の約半分であり効率的であった。また、1 日約 8 点の試料を測定できることから、現有のビスコグラフによる多数試料の分析に有効である。

3. ビスコグラフの測定精度

(1) 慣行法と迅速法の測定値の差および再現性

Table 2 に示したとおり、慣行法と迅速法との差 [迅速法の値-慣行法の値] は、PT: -103 BU, MN: 23 BU, BD: -126 BU, FV: 121 BU および SB: 225 BU であった。いずれの項目でも MN を除いて、粘度は、食感の硬い方向へ偏っていた。また、Gt および Pt もわずかながら高温の方向へ変化していた。

繰返し測定における測定値の再現性を標準偏差および変動係数 (CV%) でみると、大部分の項目において迅速法の標準偏差が小さく、より高い再現性を示す結果が得られた。また、PT, MN, BD および FV の変動係数の平均は、慣行法では 2.81%、迅速法では 1.45% であり、迅速法は、高い再現性を示した。これは、粗蛋白の簡易測定と同等以上の精度であった¹¹⁾。これらの結果は、迅速法では、慣行法の半分近い測定時間で、わずかながらより良い精度でビスコグラム測定が可能であることを示している。

一方、二つの方法の差は、元の測定値に比べて小さな値ではないため、慣行法、迅速法の各測定値は、区別して扱う必要がある。

(2) 慣行法と迅速法の相関性

10 試料、5 項目を慣行法および迅速法の二つの方法で 2 連測定し、その平均値を比較した。試料来歴、ビスコグ

ラム特性の異なるものを選んだため、各項目共、大きな変動幅を示した。

Table 3 に示したとおり、慣行法と迅速法の間には、5 項目共高い有意な相関が認められ、また、回帰係数はいずれも 1 に近かった。迅速法は、ビスコグラフの測定に適用できることが確認された。

4. 多数試料分析への適用

WARDA では、グラベリマ、サティバの交配による雑種後代が対雑草・干ばつ抵抗性等栽培上の優れた特性を有する他、高蛋白性等品質面で有用な性質を持つことから、その普及を推進している。グラベリマは、高アミロース含量を示し、その雑種後代においても固い食感を示すものが多い。この育種試験では、多数の試料についてビスコグラム特性を測定する必要があることから、これら試料の分析に迅速法を適用してみた。

(1) 相関の有意水準

ビスコグラム 5 項目、40 組の相関マトリックスを Table 4 に示した。項目により相関の水準は異なるが、各項目相互に有意な相関を示すものが多かった。また、アミロース含量と各項目との間にも高い有意な相関が見

Table 3 Correlation between the standard method and the rapid method

Parameter	Regression equation	Correlation coefficient : r
PT	$y = 0.849x + 46.59$	0.931***
MN	$y = 1.048x - 0.317$	0.994***
BD	$y = 0.730x - 12.03$	0.880***
FV	$y = 1.054x + 34.45$	0.999***
SB	$y = 1.019x + 162.03$	0.987***

Triple asterisks (***) indicate that the correlation was highly significant ($P < 0.001$).

Table 2 Difference in Brabender viscogram parameters between the standard method and the rapid method

Item	Heating speed (°C min ⁻¹)	Gt		Pt		PT		MN		BD		FV		SB		Average
		(°C)	(Sd)	(°C)	(Sd)	(BU)	(Sd)	(BU)	(Sd)	(BU)	(Sd)	(BU)	(Sd)	(BU)	(Sd)	(Sd) (BU)
Existing method	1.5	71.6	0.68	90.3	0.58	831	24	441	10	390	14	839	21	8	8	15.4
Rapid method	3.0	72.8	0.75	91.1	0.39	728	10	464	4	264	7	960	9	232	8	7.6
Difference	—	1.2	0.07	0.8	-0.19	-103	-14	23	-6	-126	-7	121	-12	224	0	-7.8

Table 4 Matrix of correlation coefficients among viscosity parameters

Items	Species	Correlation coefficient				
		PT	MN	BD	FV	SB
MN	<i>O. glaberrima</i>	0.909***	1			
	I. progenies	0.503***	1			
	<i>O. sativa</i>	0.832***	1			
	3 species	0.726***	1			
BD	<i>O. glaberrima</i>	0.664***	0.291***	1		
	I. progenies	0.879***	0.029	1		
	<i>O. sativa</i>	0.983***	0.718**	1		
	3 species	0.960***	0.506***	1		
FV	<i>O. glaberrima</i>	0.702***	0.700***	0.354***	1	
	I. progenies	-0.419***	0.420***	-0.716***	1	
	<i>O. sativa</i>	-0.423	0.046	-0.546*	1	
	3 species	-0.257***	0.297***	-0.443***	1	
SB	<i>O. glaberrima</i>	-0.096	0.000	-0.220**	0.641***	1
	I. progenies	-0.747***	0.086	-0.911***	0.917***	1
	<i>O. sativa</i>	-0.908***	-0.571*	-0.953***	0.764**	1
	3 species	-0.843***	-0.343***	-0.919***	0.736***	1
Amylose content	<i>O. glaberrima</i>	0.227**	0.161*	0.230**	0.094	-0.113
	I. progenies	-0.688***	-0.030	-0.779***	0.714***	0.826***
	<i>O. sativa</i>	-0.800**	-0.435	-0.862***	0.818**	0.949***
	3 species	-0.565***	-0.184**	-0.635***	0.669***	0.768***

Single asterisks (*), double asterisks (**) and triple asterisks (***) indicate the significance levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively.

られた。これらは、慣行法でも認められる現象であり、両方法間の高い相関に加え、迅速法が広く適用できることを示している。

しかし、高い相関 ($P < 0.001$) を示したものは、40 組の相関のうち 72.5%、加熱時項目 (PT, MN, BD) と冷却時項目 (FV, SB) との相関では 66.7% に過ぎなかった。また、有意な相関を示さなかったものは、前者では 15.0%、後者では 20.8% に達した。特に加熱時項目と冷却時項目との相関の水準が低くなる場合があり、冷却時項目を実測する必要があることを示している。

(2) グラベリマ、サティバ及び雑種後代間の相違

各特性値間の相関において、PT-FV、BD-FV の例のごとく、グラベリマと雑種後代でその正負の異なるものが幾つか見られた。また、SB と PT との種別相関においては、Fig. 1 に示したとおり、雑種後代、サティバでは PT と高い相関が見られたにもかかわらず、グラベリマでは、高い SB で低い PT の範囲に分布し、両者の間に相関は見られなかった。また、グラベリマでは、

SB-MN 間でも全く相関がなく、SB-BD 間でも低い相関に留まった。これらのことから、グラベリマでは、雑種後代、サティバと異なり、特性値間の相関が低くなる場合があり、前項同様、冷却時項目を実測する必要があると認められた。

考 察

迅速法は、全項目の測定に約 47 分と慣行法の約半分の時間で慣行法に優るとも劣らない精度で測定することができた。この迅速法により 1 日 8 点測定でき、多試料の測定に適することがわかった。

この実験で加熱速度を 1 分あたり 3℃ とした理由は、WARDA が保有するビスコグラフ現有機種 of の最大機能に設定したことによる。この方法でも、加熱に 22 分要し、同じ粉体試料を用いて測定する RVA の 7 分に比べるとはるかに長時間加熱していることから、加熱・冷却時間を更に短縮できよう。また、加熱速度を上げるためには、ビスコグラフの機能そのものの改善が必要とな

Fig. 1 Correlation between peak time viscosity and setback by species.

る。

迅速法では、MNを除き各要因の測定値は、食感の硬い方向へ変化していた。この原因の一つとして、加熱時間が短縮されたことによる α -アミラーゼ作用の抑制が考えられる。澱粉本来の特性を知るには、 α -アミラーゼの作用を受けない状態での測定が望ましい。この点、加熱速度の大きい迅速法は、慣行法より α -アミラーゼの作用を受けにくく、澱粉の特性測定に向いているといえよう。

ビスコグラムの相関マトリックスにおいて、グラベリマでは、雑種後代、サティバと異なり、加熱時特性値と冷却時特性値との相関が低くなる例が見られた。冷却時特性値は食感の判定に重要であり、正確な実測を要するものと考えられる。

稲の育種において、新形質米、高・低蛋白米の育成等特定品質の改良を目的とした選抜が今後一層増加すると予想される。いずれの場合においても多数の育成ラインの迅速な品質判定が必要となる。この迅速法は、これら手法の一つとして、現行のビスコグラフを用いた粘度測定に広く使用できよう。

要 約

米の粉体試料は加熱により急速に糊化することから、澱粉糊化時間を短縮することにより、ビスコグラフによる粘度測定を迅速化し得る可能性がある。この試験では、既存の機器を用いた迅速な測定方法について実験を行うと共に、多数試料の分析に対するその有効性を考察した。

1. 加熱・冷却を毎分3℃に設定することにより、測定時間を1点あたり47分と慣行法の約半分に短縮し、1日約8点の試料を測定することができた。

2. 迅速法による測定の再現性は、変動係数で1~2%であり、慣行法と同等以上のものが得られた。また、各特性値共、慣行法の数値と高い相関が見られ、十分に代替できることがわかった。

3. 迅速法による測定値は、食感の硬い方向へ変化しており、また項目により慣行法との数値の差が大きいため、各々別々の方法による測定、比較が必要である。

4. ビスコグラム特性値相互の相関関係は、米の種類により異なる場合があり、冷却時要素の評価にはこれらを実測する必要がある。

これらの結果から、迅速法では、現有のビスコグラフを用いて慣行法と同等以上の精度で粘度測定が可能であり、多数試料の分析に適用できるものと考えられる。

この研究の実施にあたり貴重な御指導を頂いた東京大学石井龍一教授に深く感謝申し上げます。また、本論文の記述にあたり、有益な御意見を頂いた農林水産省食品総合研究所大坪研一室長に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 竹生新次郎・渡辺正造・杉本貞三・真部尚武・酒井藤敏・谷口嘉廣：澱粉科学, **32**, 51 (1985).
- 2) 岩崎哲也：2. 米の品質, 2. 3 米の物理化学的性質, 竹生新治郎監修, 石谷孝佑・大坪研一編, 米の科学 (朝倉書店, 東京) **48**, (1995).
- 3) WARDA / ADRAO : GQL : 5-m-1 Brabender standard method, WARDA/ADRAO : GQL, Laboratory Manual for Rice Grain Quality Analysis. (WARDA/ADRAO, Bouaké), (1999).
- 4) 稲津 脩：北海道立農業試験場報告, **66**, 1 (1988).
- 5) 渡辺英夫・鈴木 修：日食工誌, **38**, 44 (1991).
- 6) AACC : Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th ed., (St. Paul MN, USA). 61-02 (1995).
- 7) 豊島英親・岡留博司・大坪研一・須藤 充・堀末登・稲津 脩・成塚彰久・相崎万裕美・大川俊彦・井ノ内直良・不破英次：食科工, **44**, 579 (1997).
- 8) 畑江敬子：XI. 炊飯, 細川 明監修, 米のポストハーベスト技術, (食糧庁, 東京), 513 (1995).
- 9) JULIANO, B.O. : *Cereal Science Today*, **16**, 334 (1971).
- 10) WARDA/ADRAO : GQL : 4-b-4 Routine analysis using Autoanalyzer : Amylose content, WARDA/ADRAO : GQL, Laboratory Manual for Rice Grain Quality Analysis. (WARDA/ADRAO, Bouaké), (1999).
- 11) 大能俊久・熊谷正則・堀 一之：食科工, **47**, 37 (2000).

(平成 12 年 6 月 1 日受付, 平成 12 年 9 月 19 日受理)