

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-345432  
(P2005-345432A)

(43) 公開日 平成17年12月15日(2005.12.15)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 21/35	GO 1 N 21/35	Z
GO 1 N 21/27	GO 1 N 21/27	Z

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2004-168795 (P2004-168795)	(71) 出願人	504219447 五十嵐 俊成 北海道上川郡比布町南1線5号 北海道立 上川農業試験場内
(22) 出願日	平成16年6月7日(2004.6.7)	(71) 出願人	504219160 ブラン・ルーベ株式会社 東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモビル8F
		(74) 代理人	100095267 弁理士 小島 高城郎
		(74) 代理人	100069176 弁理士 川成 靖夫
		(74) 代理人	100124176 弁理士 河合 典子

最終頁に続く

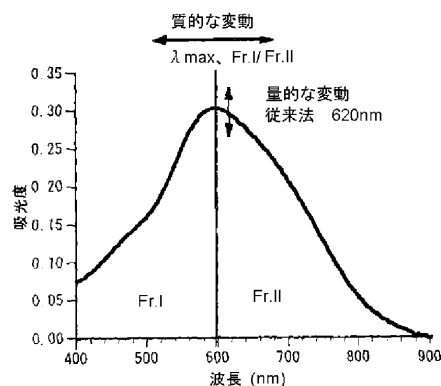
(54) 【発明の名称】 ヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法

(57) 【要約】

【課題】 澱粉における硬さや粘り等の物理的特性及び食味を、簡易、高速かつ精確に推定するためのヨウ素吸収マルチスペクトル方法を提供する。

【解決手段】 連続流れ分析器と、マルチスペクトル分光光度計を接続することによりヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を設け、澱粉または澱粉含有穀類粉を当該測定装置に適用し、第1のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得ると共に当該測定装置以外の手段で該澱粉または澱粉含有穀類粉の物理的特性及び食味を測定し、双方の相関関係データを導出保存した後、未知の澱粉または澱粉含有穀類粉について第2のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを取得し、相関関係データに適用して物理的特性及び食味を推定する。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

澱粉または澱粉含有穀類を糊化させた溶液をヨウ素と反応させてヨウ素澱粉複合体を生成するための連続流れ分析器と、多波長同時測定可能なマルチスペクトル分光光度計を接続することによりヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を設ける第 1 工程と、

ヨウ素吸収マルチスペクトルデータと澱粉の物理的特性及び食味との相関関係を予め取得すべく、澱粉または澱粉含有穀類粉を前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る第 2 工程と、

前記澱粉または澱粉含有穀類粉を用いて、前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置以外の手段で該澱粉または澱粉含有穀類粉の物理的特性及び食味を測定する第 3 工程と、

前記第 2 工程で得た前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータと、前記第 3 工程で得た前記物理的特性及び食味との相関関係データを導出し、得られた該相関関係データを保存する第 4 工程と、

物理的特性及び食味が未知である澱粉または澱粉含有穀類粉を、前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第 2 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る第 5 工程と、

前記第 5 工程で得た第 2 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを、前記第 4 工程で保存された前記相関関係データに適用することにより、未知の物理的特性及び食味を推定する第 6 工程とを有することを特徴とする

ヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

## 【請求項 2】

前記相関関係データにおける前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータが、

(i)最大吸収波長  $\max$ 、

(ii)吸光度の積算値、

(iii)二波長吸光度の差または

(iv)所定の波長で区分された 2 つの波長範囲における吸光度の積算値の比

のいずれかであり、かつ

前記物理的特性及び食味が、

(i)アミロース含有率、

(ii)登熟温度、

(iii)熱糊化特性または

(iv)アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比

のいずれかであることを特徴とする

請求項 1 に記載のヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

## 【請求項 3】

前記相関関係データが、前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、アミロース含有率を重回帰分析して求めた重回帰推定式であることを特徴とする

請求項 1 に記載のヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

## 【請求項 4】

前記相関関係データが、少なくとも前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの最大吸収波長  $\max$  及び吸光度の積算値を説明変数とし、熱糊化特性を重回帰分析して求めた重回帰推定式であることを特徴とする

請求項 1 に記載のヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

## 【請求項 5】

前記相関関係データが、前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値を重回帰分析して求めた重回帰推定

10

20

30

40

50

式であることを特徴とする

請求項 1 に記載のヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

【請求項 6】

前記相関関係データが、前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値を PLS 回帰分析して求めた PLS 回帰推定式であることを特徴とする

請求項 1 に記載のヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヨウ素澱粉複合体の分光分析を用いた澱粉の物理的特性及び食味の推定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、良好な食味を有する澱粉、特に米の澱粉評価方法には種々の方法が用いられており、例えば、硬さや粘り等の物理的特性については物理的手段（例えば、粘度を測定するラビッドビスコアライザ等）により評価され、食味については人による食味官能試により評価されていた。

20

【0003】

さらに、米の澱粉には、一般にアミロースとアミロペクチンの 2 種類が含まれるが、これらの比率が食味と大きく関係することが知られている。従って、米の澱粉のアミロース含有率を測定することによって米の食味を推定することも広く行われている。例えば特許文献 1 及び 2 では、米粒に対して直接近赤外分光分析を適用し、その透過スペクトルデータからアミロース含有率等を算出している。

【0004】

別の手法として、澱粉を糊化し、ヨウ素を添加してヨウ素澱粉反応によりヨウ素澱粉複合体を生成させ、分光光度計によりヨウ素吸収マルチスペクトルを測定することによりアミロース含有率を算出する、従来のヨウ素吸収マルチスペクトル法がある。

30

【0005】

以下、従来のヨウ素吸収マルチスペクトル法について説明する。

図 20 は、米に含まれる 2 種類の澱粉であるアミロースとアミロペクチンの構造の違いを模式的に示した図である。右のアミロースは、グルコースが  $\alpha$ -1,4 結合で結合した基本的に直鎖構造をもち、分岐もあるが少ない。

【0006】

一方、左のアミロペクチンは、 $\alpha$ -1,4 で結合したグルコース鎖に別の糖鎖が  $\alpha$ -1,6 結合で結合した基本的に分岐構造をもつため、グルコース単位鎖が房状に集まったクラスター構造を形成する。図 20 では、クラスターを跨ぐ鎖を B で、他のクラスターと結合していない単位鎖を A で示している。尚、跨るクラスター数の多い B2 及び B3 をアミロペクチンの長鎖画分と称する。

40

【0007】

従来知られている、好ましい炊飯米の物理的特性及び食味（軟らかく、粘りがあり、嗜好性が高い）と、米澱粉の成分割合及び構造との関係は次の通りである。

- ・アミロース含有率が少ないこと。
- ・アミロペクチンの長鎖画分 B2+B3 の割合が高いこと。
- ・アミロペクチン単位鎖 A の平均長が短いこと。

【0008】

澱粉をヨウ素 - ヨウ化カリウム溶液で染色した場合、アミロースはグルコース 6 個で一巡するらせん構造の中にヨウ素をポリヨウ素イオンとして取り込むことによりヨウ素澱粉

50

複合体を形成して青色を呈する。一方、アミロペクチンは、ヨウ素イオンとの複合体をほとんど形成せず、茶色を呈する。これを利用してヨウ素吸収マルチスペクトル測定からアミロース含有率を求めることができる。

【特許文献 1】特開平 8 - 29335 号公報

【特許文献 2】特開 2000 - 283917 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

従来、澱粉に関する物理的特性及び食味の推定方法には、次のような問題点がある。

1) ヨウ素澱粉反応を利用したヨウ素吸収マルチスペクトル測定を分光光度計で行う場合、サンプル調製が複雑で測定に時間が掛かるため、サンプル数が多いとヨウ素と澱粉の結合の条件が不均一となり、精確な測定ができない。従って、従来は、ヨウ素吸収マルチスペクトルの特定波長(例えば620nm)の吸光度からアミロース含有率のみを測定していた。しかしながら、前述の通り米澱粉の場合、その物理的特性及び食味には単にアミロース含有率のみでなく、アミロペクチンの構造の違いも関係するため、アミロース含有率のみでは的確な推定ができない。このようなアミロペクチンの構造の違いを適切に評価する方法は確立されていない。

2) 人による澱粉の食味評価は、感覚の個人差が大きく客観性に欠ける。

3) 澱粉の硬さや粘り等の物理的特性の測定では、澱粉を糊化させた試料を測定するため、所定のサンプル量が必要であり、少量では測定できないばかりでなく、測定時間も掛かる。

【0010】

以上の問題点に鑑み、本発明は、米澱粉等の澱粉における硬さや粘り等の物理的特性及び食味を、簡易、高速かつ精確に推定するためのヨウ素吸収マルチスペクトル方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

以上の目的を達成すべく、本発明は、以下の構成を提供する。

(1) 請求項 1 に係る発明は、ヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法であって、次の各工程を有する。

(a) 澱粉または澱粉含有穀類を糊化させた溶液をヨウ素と反応させてヨウ素澱粉複合体を生成するための連続流れ分析器と、多波長同時測定可能なマルチスペクトル分光光度計を接続することによりヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を設ける第 1 工程

(b) ヨウ素吸収マルチスペクトルデータと澱粉の物理的特性及び食味との相関関係を予め取得すべく、澱粉または澱粉含有穀類粉を前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る第 2 工程

(c) 前記澱粉または澱粉含有穀類粉を用いて、前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置以外の手段で該澱粉または澱粉含有穀類粉の物理的特性及び食味を測定する第 3 工程

(d) 前記第 2 工程で得た前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータと、前記第 3 工程で得た前記物理的特性及び食味との相関関係データを導出し、得られた該相関関係データを保存する第 4 工程

(e) 物理的特性及び食味が未知である澱粉または澱粉含有穀類粉を、前記ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第 2 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る第 5 工程

(f) 前記第 5 工程で得た第 2 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを、前記第 4 工程で保存された前記相関関係データに適用することにより、未知の物理的特性及び食味を推定する第 6 工程

【0012】

(2) 請求項 2 に係る発明は、請求項 1 の方法において、前記相関関係データにおける前記第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータが、

- (i)最大吸収波長 max、
- (ii)吸光度の積算値、
- (iii)二波長吸光度の差または
- (iv)所定の波長で区分された2つの波長範囲における吸光度の積算値の比

のいずれかであり、かつ

前記物理的特性及び食味が、

- (i)アミロース含有率、
- (ii)登熟温度、
- (iii)熱糊化特性または
- (iv)アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比

のいずれかであることを特徴とする。

10

#### 【0013】

(3)請求項3に係る発明は、請求項1の方法において、前記相関関係データが、前記第1のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、アミロース含有率を重回帰分析して求めた重回帰推定式であることを特徴とする。

#### 【0014】

(4)請求項4に係る発明は、請求項1の方法において、前記相関関係データが、少なくとも前記第1のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの最大吸収波長 max及び吸光度の積算値を説明変数とし、熱糊化特性を重回帰分析して求めた重回帰推定式であることを特徴とする。

20

#### 【0015】

(5)請求項5に係る発明は、請求項1の方法において、前記相関関係データが、前記第1のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値を重回帰分析して求めた重回帰推定式であることを特徴とする。

#### 【0016】

(6)請求項6に係る発明は、請求項1の方法において、前記相関関係データが、前記第1のヨウ素吸収マルチスペクトルデータの多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値をPLS回帰分析して求めたPLS回帰推定式であることを特徴とする。

#### 【発明の効果】

#### 【0017】

本発明によるヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法は、連続流れ分析器をマルチスペクトル分光光度計に接続したヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を用いることにより、連続流れ分析により反応時間を一定とした条件においてヨウ素と反応させてヨウ素澱粉複合体を得ることができ、直ちに光を照射してヨウ素吸収マルチスペクトルデータを多波長同時に得ることができる。

30

#### 【0018】

従って、サンプル調製及び測定を短時間で行うことができ、ヨウ素と澱粉の結合条件が均一となる上、少量の澱粉または澱粉含有穀類であっても測定可能である。本発明によれば、精確かつ迅速なヨウ素吸収マルチスペクトル測定が実現できる。

#### 【0019】

また、ヨウ素吸収マルチスペクトルの特性のうち、従来の単波長での吸光度以外に、最大吸収波長 max、複数波長または多波長での吸光度の積算値、あるいは所定波長範囲の吸光度積算値同士の比など、澱粉の分子構造等の質的要因との相関関係を有するスペクトル特性を利用することにより、未知の澱粉の物理的特性及び食味を的確かつ客観的に推定することが可能となった。

40

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0020】

以下、図面に示した実施例を参照しつつ、本発明によるヨウ素吸収マルチスペクトルによる澱粉の物理的及び食味の推定方法を説明する。

- (1)本発明のヨウ素吸収マルチスペクトル測定の特徴概要

50

図1は、米粉のヨウ素吸収マルチスペクトルの一例を示す図である。従来のヨウ素吸収マルチスペクトル法では、予めアミロース含有率の判明しているサンプルについて特定波長（例えば620nm）での吸光度を測定しておき、アミロース含有率の不明なサンプルについて当該波長での吸光度を測定し、予め測定しておいた吸光度を対比することによりアミロース含有率を求めていた。すなわち、図示のように、特定波長における吸光度の量的な変動のみによってアミロース含有率を推定していた。

#### 【0021】

これに対し、本発明では、特定波長の吸光度のみではなく、スペクトルの最大吸収波長（ $\lambda_{max}$ ）及びピーク面積（ $Fr.I/Fr.II$ 等）という質的な変動を指標とすることにより、アミロース含有率のみでなく、アミロペクチンの分子構造を含むその他の物理的特性及び食味までも推定することを実現した。尚、「物理的特性及び食味」の用語は、本明細書では「物理的特性」と「食味」に厳密に区別することなく、統合的な意味で用いることとする。

#### 【0022】

##### (2) ヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置

図2は、本発明に用いたヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置の一例を概略的かつ模式的に示した構成図である。測定装置は、試料を高速かつ自動的に作製する連続流れ分析器（Auto Analyzer II, ブラン・ルーベ社製）に対し、マルチスペクトル分光光度計（Monolithic Miniature Spectrometer, ドイツZEISS社製）を接続した構成である。図示しないが、マルチスペクトル分光光度計により測定されたスペクトルデータを適宜のコンピュータに入力し、当該コンピュータに導入されている解析用ソフトウェアを用いてスペクトルデータに対する種々の解析を行う。また、当該コンピュータは、測定されたスペクトルデータ及び解析結果を保存するための補助記憶装置等を具備する。

#### 【0023】

連続流れ分析器は、澱粉または澱粉含有穀類粉（例えば米粉）をサンプラーに投入するだけで自動的に、種々の試薬との混合攪拌、加熱、サンプリング、メスアップ、ヨウ素の添加等を行うことにより澱粉等を糊化させた溶液すなわち測定用サンプルを調製し、フローセルへと送出する。このような連続流れ分析器により、反応時間を一定とした条件において澱粉をヨウ素と反応させ、ヨウ素澱粉複合体を得ることができる。

#### 【0024】

マルチスペクトル分光光度計は、310~1100nm（有効波長400~900nm）の吸光度を瞬時に測定できる。連続流れ分析器により簡易で高速のサンプル調製が可能となり、マルチスペクトル分光光度計により高速測定が可能となった。斯かる測定装置を用いて、1時間に20点のヨウ素吸収マルチスペクトルの測定を行った。サンプル及び試薬の調製方法については、本明細書末尾に参考のために付記する。

#### 【0025】

##### (3) 最大吸収波長 $\lambda_{max}$ からのアミロペクチン/アミロース成分比の推定

図3は、数種の米における、アミロペクチンとアミロースの成分比とヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$  との関係を示すグラフである。

#### 【0026】

測定においては、先ず、各米について、Schochのブタノール法の改良法でアミロースとアミロペクチンに分別調製し、アミロースとアミロペクチンの合計濃度が0.2mg/mlとなるように、かつ両者の濃度が0.04mg/ml間隔で6段階の異なる成分比となるようにサンプルを調製した。次に、各サンプルについてヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$  を測定した。

#### 【0027】

図3のグラフに示す通り、最大吸収波長  $\lambda_{max}$  が579~594nmの範囲で、アミロペクチン濃度が高い程、最大吸収波長  $\lambda_{max}$  が短くなった。この結果は、米の種類には依存しない。このことは、ヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$  を測定することにより、澱粉中のアミロペクチン/アミロース成分比が推定できることを示している。すなわち、予め最大吸収波長  $\lambda_{max}$  とアミロペクチン/アミロース成分比との関係が判明していれば

10

20

30

40

50

ば、アミロペクチン/アミロース成分比が未知のサンプルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$ を測定することによりアミロペクチン/アミロース成分比を推定できる。前述の通り、分子構造上、アミロペクチンはアミロースよりも鎖状部分が短いために、アミロペクチン濃度が高い程最大吸収波長  $\lambda_{max}$ が短くなったと考えられる。アミロペクチンとアミロースの成分比が、澱粉の物理的特性及び食味に関係することは前述の通りである。

【0028】

尚、図3の測定とは別に、アミロース分子量を変化させたサンプルについて最大吸収波長  $\lambda_{max}$ を測定した。この結果、米のアミロース分子量(約162,000)の範囲では、アミロース分子量は最大吸収波長  $\lambda_{max}$ に対して影響がないことを確認した(図4の表参照)。これにより、最大吸収波長  $\lambda_{max}$ の変化は、アミロースとアミロペクチンの成分比によるものであることが裏付けられた。

10

【0029】

(4) 吸光度からのアミロース含有率の検量線の作成及びアミロース含有率の推定

図5は、数種の米において、ヨウ素吸収マルチスペクトルの測定結果から4種の方法で推定されるアミロース含有率の検量線を示すグラフである。

【0030】

検量線を作成するために実際のアミロース含有率が判明しているサンプルを調製し、ヨウ素吸収マルチスペクトルを測定した。実際のアミロース含有率が判明しているサンプルは、前述のように各米についてアミロースとアミロペクチンを分別調製し、所定の成分比でアミロースとアミロペクチンを混合したものを用いた。実際のアミロース含有率の判明しているサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルを測定し、次の4つの方法により検量線を得た。

20

- (i)従来法の単一波長(620nm)における吸光度から作成
- (ii)400nm~900nmの吸光度の積算値(400nm-900nm)から作成
- (iii)522nmと778nmの二波長吸光度の差(522nm-778nm)から作成
- (iv)595、713、716nmの3波長での吸光度から重回帰式を用いて作成

【0031】

図5の結果から、上記(i)単一波長と(ii)積算値では、品種によるずれがあり標準誤差もやや大きかったのに対して、(iii)二波長では標準誤差が少なく、(iv)重回帰式では最も標準誤差が少なかった。

30

【0032】

この結果は、本発明によりヨウ素吸収マルチスペクトルを測定し、上記の(iii)二波長または(iii)重回帰式の手法で検量線を作成すれば、精度よくアミロース含有率を推定できることを示している。

【0033】

(5) ヨウ素吸収マルチスペクトルからの登熟温度の推定

図6は、数種の米について、登熟温度と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの種々のピーク面積及び最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 、並びに、別途物理的手段により測定した物理的特性との関係を示した表である。

登熟温度の違いは、人工気象箱内で次の3段階での栽培条件によるものである。

40

- (i)高温(29/25°C:昼/夜)
- (ii)中温(25/21°C:昼/夜)
- (iii)低温(21/17°C:昼/夜)

本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルより得た種々のピーク面積は、次の通りである。

- (i)400nm~900nmの吸光度の積算値(400nm-900nm)
- (ii)400nm~600nmの吸光度の積算値(Fr.I: 400nm-600nm)
- (iii)600nm~900nmの吸光度の積算値(Fr.II: 600nm-900nm)
- (iv)Fr.IとFr.IIの比率(Fr.I/Fr.II)

物理的手段は、ラピッドビスコアライザ(RVA)であり、測定した物理的特性は、最高粘度、最低粘度、最終粘度及びブレークダウンである。

50

参考のため、従来方法の625nmの吸光度から測定した見かけのアミロース含有率も示している。

#### 【0034】

図6の表において、ヨウ素吸収マルチスペクトルのピーク面積と、各米の登熟温度とを対比すると、いずれの品種・系統とも登熟温度が高い程ピーク面積が小さく、登熟温度が低い程ピーク面積が大きくなっている。従って、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルのピーク面積から、登熟温度を推定することが可能であることがわかる。すなわち、予めピーク面積と登熟温度との関係が判明していれば、登熟温度が未知のサンプルのピーク面積を測定することにより、登熟温度を推定することができる。図7は、「きらら397(うるち)」と「彩(ダル)」のそれぞれについて各登熟温度のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルを示したグラフである。

10

#### 【0035】

図8は、数種の米について、登熟温度と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルのその他の各特性との関係を示したグラフである。図8(a)は、登熟温度と400nm~900nmの吸光度の積算値(400nm-900nm)との関係、図8(b)は、登熟温度と522nmと778nmの二波長吸光度の差(522nm-778nm)との関係、そして図8(c)は、登熟温度と最大吸収波長 maxとの関係を示している。これらは、いずれも負の相関関係がある。従って、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性から、登熟温度を推定することが可能である。すなわち、予めヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と登熟温度との関係が判明していれば、登熟温度が未知のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性を測定することにより、登熟温度を推定することができる。

20

#### 【0036】

##### (6) ヨウ素吸収マルチスペクトルからの熱糊化特性の推定

従来、熱糊化特性は、ラピッドビスコアライザ(RVA)により最高粘度やブレイクダウン等を測定することにより評価されている。ラピッドビスコアライザによる熱糊化特性の測定は、時間がかかる上に多量のサンプルが必要である。ここで、再び図6の表を参照すると、ラピッドビスコアライザで測定された最高粘度及びブレイクダウンは、登熟温度が高い程高く、登熟温度が低い程低い(図9のグラフ参照)。すなわち、米の登熟温度は熱糊化特性と相関関係がある。さらに、上記のように本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と、登熟温度との間にも相関関係がある。従って、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と、熱糊化特性との間にも相関関係があることが予想される。

30

#### 【0037】

図10は、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と熱糊化特性との関係を重回帰分析を用いて推定した結果を示す表である。説明変数として次の3つを用いて推定式を作成した。

(i) ヨウ素吸収マルチスペクトルから推定したアミロース含有率、

(ii) 最大吸収波長 max、

(iii) 400nm~900nmの吸光度の積算値(400nm-900nm)

比較のために、従来法のヨウ素吸収マルチスペクトルの単一波長から求めたアミロース含有率のみを用いた推定式も作成した。

40

#### 【0038】

図10の表から、従来法のアミロース含有率のみで推定するよりも3つの説明変数から推定する場合の法が、いずれの項目においても推定精度が向上しており、特に、最低粘度、最終粘度の推定が著しく向上することが判明した。従って、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルから推定されたアミロース含有率と、最大吸収波長 maxと、400nm~900nmの吸光度の積算値(400nm-900nm)を説明変数として重回帰分析することにより、熱糊化特性を高い精度で推定することが可能となる。すなわち、予め重回帰分析を行って推定式を得ておけば、熱糊化特性が未知のサンプルについて本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルを測定することによりその熱糊化特性を推定することができる。ラピッドビスコアライザで測定するよりも短時間で少量のサンプルで推定できる。

50



## 【0039】

(7) ヨウ素吸収マルチスペクトルからのその他の物理的特性及び食味の推定

図6に戻って、澱粉の物理的特性及び食味に関するさらに簡便な指標を得るため、図6の表中のFr.IとFr.IIの比率(Fr.I/Fr.II比)に着目する。前述のように、アミロペクチンが多い食味の良好なものは最大吸収波長 $\lambda_{max}$ が短い。図6の表を参照すると、最大吸収波長 $\lambda_{max}$ が短いものは、同時にFr.I/Fr.II比が大きくなることわかる。従って、Fr.I/Fr.II比からも、アミロース含有率、登熟温度、熱糊化特性等が推定できると予想される。Fr.I/Fr.II比を用いることの利点は、2つの波長範囲に区分する境界の波長を適切に設定すれば既知の基準が必要ないことである。

## 【0040】

図11は、図6の表からFr.I/Fr.II比と米粉のアミロース含有率の関係をプロットしたグラフである。Fr.I/Fr.II比とアミロース含有率の関係は負の双曲線が適合し、Fr.I/Fr.II比が大きいかほどアミロース含有率は緩やかに低下した。このことから、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルを測定しFr.I/Fr.II比を算出すれば、アミロース含有率を推定できることわかる。すなわち、予めヨウ素吸収マルチスペクトルのFr.I/Fr.II比とアミロース含有率の関係が判明していれば、アミロース含有率が未知のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルからFr.I/Fr.II比を算出することにより、アミロース含有率を推定することができる。

## 【0041】

(8) ヨウ素吸収マルチスペクトルからの老化性の推定

従来、澱粉の物理的特性の一つである老化性(澱粉が糊化後硬くなる性質)は、RVAにより、冷却後の最終粘度と糊化後の最低粘度を測定し、その差であるセットバックを算出することにより評価されている。図12は、澱粉のRVA測定による熱糊化曲線を示すグラフである。熱糊化曲線は澱粉の糊化と老化を示し、加熱時の糊化性と冷却時の老化性を測定できる。図12中には、澱粉の熱糊化特性と食味との関係の概要も示されている。前述の通り、RVAによる熱糊化特性の測定は、時間がかかる上に多量のサンプルが必要である。

## 【0042】

一方、図6を再び参照すると、米の登熟温度とセットバック(最終粘度と最低粘度の差)の間には、品種による程度の違いはあるが相関関係があることがわかる。前述のように、登熟温度は本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルから推定できるので、セットバックもまた本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルから推定できることが予想される。本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルからセットバックを推定できれば、澱粉の老化性すなわち食味をRVA測定よりも簡易に推定することができる。

## 【0043】

そこで、Fr.I/Fr.II比とセットバックの関係を調べた。図13は、その結果を示す図である。セットバックはFr.I/Fr.II比が1.5以下では増加するが、1.5以上ではほぼ一定であった。従って、Fr.I/Fr.II比が1.5以下の範囲では、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルを測定しFr.I/Fr.II比を算出すれば、セットバックを推定できることが分かる。すなわち、予めヨウ素吸収マルチスペクトルのFr.I/Fr.II比(但し1.5以下の範囲)とセットバックの関係が判明していれば、セットバックが未知のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルからFr.I/Fr.II比を算出することにより、セットバックを推定することができる。

## 【0044】

(9) ヨウ素吸収マルチスペクトルからのアミロペクチン分子構造の推定

上記のFr.I/Fr.II比とセットバックの関係の測定結果から、Fr.I/Fr.II比が1.5の点を境界としてセットバックの特性が変化していることが判明した。そこで、Fr.I/Fr.II比が1.5の点を境界として澱粉の性質(分子構造)が異なるか否かを次の方法で調べた。

## 【0045】

Fr.I/Fr.II比1.5以上と1.5未満のグループに分けて、ヨウ素吸収マルチスペクトル

10

20

30

40

50

ルで得られたアミロース含有率（但し、従来法の単一波長による）、最大吸収波長  $\lambda_{max}$  及びFr.I/Fr.II比の各スペクトル特性と、RVA測定で得られた最高粘度、ブレイクダウン及びセットバックの各熱糊化特性との相関係数及び偏相関係数を求めた。結果を、図14の表に示す。この結果、最高粘度、ブレイクダウン及びセットバックの各熱糊化特性は、Fr.I/Fr.II比が1.5以上では、質的要因（分子構造に関連）である最大吸収波長  $\lambda_{max}$  及びFr.I/Fr.II比との相関が高いことが判明した。一方、Fr.I/Fr.II比が1.5未満では、量的要因であるアミロース含有率との相関が高いことが判明した。このことから、Fr.I/Fr.II比が1.5以上と1.5未満では、澱粉の性質すなわち分子構造が異なると考えられた。

#### 【0046】

澱粉の分子構造の違いは、アミロペクチンの単位鎖長に最も関係する。図15は、登熟温度の異なる米について、HPLCによりアミロペクチンの単位鎖長分布を測定した結果を示すグラフである。実線は、モル分布で蛍光検出器により検出した各単位鎖の「数」を表す。破線は、重量分布で示差屈折計により検出した。各グラフ中、左上から右下へ延びる斜線は、DPすなわちグルコース重合度であり、単位鎖の「長さ」を示す。アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比(A+B1)/(B2+B3)は、登熟温度が低いほど高かった。このように、登熟温度とアミロペクチン単位鎖長との間には相関関係がある。登熟温度は、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルから推定できるから、同様にアミロペクチン単位鎖長も推定できることが予想される。

#### 【0047】

図16は、アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比(A+B1)/(B2+B3)と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 及びFr.I/Fr.II比との相関関係を示したグラフである。尚、左側が「数」の比であり、右側が「重量」の比である。従って、Fr.I/Fr.II比が1.5以下の範囲では、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルを測定して得られた最大吸収波長  $\lambda_{max}$ またはFr.I/Fr.II比から、アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比(A+B1)/(B2+B3)を推定できることが分かる。すなわち、予めヨウ素吸収マルチスペクトルのFr.I/Fr.II比（但し1.5以下の範囲）とアミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比の関係が判明していれば、アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比が未知のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルから最大吸収波長  $\lambda_{max}$ またはFr.I/Fr.II比を得ることにより、アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比を推定することができる。

#### 【0048】

HPLCによるアミロペクチンの単位鎖長分布の測定は、1点あたり160分かかり、過剰な蛍光試薬の排出後、検出器が安定して次の試料が分析できるまで3時間かかる。一方、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトル法では、簡便迅速にアミロペクチンの分子構造を推定できる。

#### 【0049】

##### (10) ヨウ素吸収マルチスペクトルからの食味の推定

本発明のヨウ素吸収マルチスペクトル法は、多波長を同時に測定できるため、これらの多波長におけるデータを用いて、食味官能検査による総合評価値を推定することができる。推定にあたっては、ステップワイズ法による重回帰分析を採用した。この重回帰分析では、15波長を用いて推定式を作成した。図17(a)にその結果を示す。尚、図17(b)は、比較のために、タンパク質含有率のデータを用いて同様に総合評価値の推定を行った結果を示す。

#### 【0050】

本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの多波長データを用いた重回帰分析の推定式は、次の通りである。

総合評価値 = (-0.03171954849074798) + -35.11872228174695 \* ("366.7039") + (-2.563404831524068 \* ("376.6099") + 161.1635839800837 \* ("379.9129")) + (-121.8108959344967 \* ("383.2163") + 0.04593526835721207 \* ("498.9658") + (-542.8841377486121 \* ("930.6408") + 321.7367120366576 \* ("933.8698")) + (111.842103108938 \*

10

20

30

40

50

( "937.0985" ) + 186.0518608594787 \* ( "998.3862" ) + ( 120.9869247776386 \* ( "1017.727" ) + - 321.9274153153178 \* ( "1024.174" ) ) + ( 284.0440154967643 \* ( "1033.844" ) + 87.26897029079954 \* ( "1046.738" ) + ( - 160.7140838438775 \* ( "1059.635" ) + - 104.7467113931784 \* ( "10821214" ) ) ) )

本発明によりヨウ素吸収マルチスペクトルを測定し、上記重回帰分析の推定式にデータを適用することにより、食味官能検査による総合評価値を推定できる。

#### 【 0 0 5 1 】

次に、図 1 8 は、重回帰分析に替えて P L S 回帰分析を採用して、食味官能検査による総合評価値の推定を行った結果を示すグラフである。P L S 回帰分析では、重回帰分析における多重共線性の問題を回避できる。P L S 回帰分析では、 $R^2 = 0.533$ の推定式が得られた。従って、本発明によりヨウ素吸収マルチスペクトルを測定し、P L S 回帰分析の推定式にデータを適用することにより、食味官能検査による総合評価値を推定できる。

10

#### 【 0 0 5 2 】

( 1 1 ) ヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法のまとめ

図 1 9 は、本発明によるヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法の概略フロー図である。以下、ステップ順に説明する。

#### 【 0 0 5 3 】

・ステップ S 1 : 本発明に用いるヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を準備する。連続流れ分析器は、従来単波長でのヨウ素吸収スペクトル測定に用いていたものであり、本発明では測定用試料であるヨウ素澱粉複合体を生成するために用いる。具体的には、連続流れ分析器では、澱粉または澱粉含有穀類を糊化させた溶液をヨウ素と反応させてヨウ素澱粉複合体を生成する。この連続流れ分析器に対し、多波長同時測定可能なマルチスペクトル分光光度計を接続することによりヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置を構築する。マルチスペクトル分光光度計は、ヨウ素澱粉複合体に対し光を照射し、その透過光を分光しスペクトルデータを出力する。出力されたスペクトルデータは、コンピュータにより処理される。

20

#### 【 0 0 5 4 】

・ステップ S 2 : ヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と、澱粉の物理的特性及び食味との相関関係を予め取得するために、澱粉または澱粉含有穀類粉をヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る。

30

#### 【 0 0 5 5 】

・ステップ S 3 : ステップ S 2 で用いた澱粉または澱粉含有穀類粉を用いて、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトル以外の手段で物理的特性及び食味を測定する。例えば、次の通りである。

( i ) Schoch のブタノール法の改良法でアミロースとアミロペクチンに分別調製し、アミロース含有率またはアミロース / アミロペクチン成分比を測定する。

( ii ) 登熟温度を測定する。これは米の収穫前に測定されるデータであり、厳密には、「澱粉の物理的特性及び食味」自体といえないが、便宜上、本発明では「澱粉の物理的特性及び食味」に含める。

40

( iii ) ラピッドビスコアナライザ ( RVA ) により、熱糊化特性 ( 最高粘度、最低粘度、最終粘度、ブレイクダウン、セットバック ) を測定する。

( iv ) 高性能サイズ排除クロマトグラフィー ( HPLC ) によりアミロペクチンの単位鎖長分布 (  $(A+B1)/(B2+B3)$  等 ) を測定する。

( v ) 人による食味官能検査を行い、総合評価値を得る。

#### 【 0 0 5 6 】

・ステップ S 4 : ステップ S 2 で得た第 1 のヨウ素吸収マルチスペクトルデータとステップ S 3 で得た物理的特性及び食味との相関関係データを導出し、得られた相関関係データを保存する。例えば、次のような相関関係データである。

( i ) 最大吸収波長  $\lambda_{max}$  と、アミロース含有率またはアミロペクチン / アミロース成分

50

比との相関関係。

(ii)吸光度の積算値または二波長吸光度の差と、アミロース含有率との相関関係。

または、多波長での吸光度を説明変数とし、アミロース含有率を重回帰分析して求めた重回帰推定式。

尚、吸光度の積算値の範囲、二波長の選択、多波長の選択については、適宜設定する。

(iii)吸光度の積算値( )と、登熟温度との相関関係。

または、所定の波長で区分された2つの波長範囲における吸光度の積算値の比(例えば、Fr.IとFr.II比)と、登熟温度との相関関係。尚、所定の区分波長については、適宜設定する。

(iv)アミロース含有率、最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 及び吸光度の積算値( )を説明変数とし、各熱糊化特性を重回帰分析して求めた重回帰推定式。尚、アミロース含有率は、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルから推定したものをを用いることができる。 10

(v)Fr.I/Fr.II比と、アミロース含有率、登熟温度または熱糊化特性との相関関係。

(vi)Fr.I/Fr.II比と、セットバックとの相関関係。

(vii)最大吸収波長  $\lambda_{max}$ またはFr.I/Fr.II比と、アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比(A+B1)/(B2+B3)との相関関係。

(viii)多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値を重回帰分析して求めた重回帰推定式。

(ix)多波長での吸光度を説明変数とし、食味官能検査による総合評価値をPLS回帰分析して求めたPLS回帰推定式。 20

#### 【0057】

・ステップS5：物理的特性及び食味が未知である澱粉または澱粉含有穀類粉をヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置に適用し、第2のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを得る。

#### 【0058】

・ステップS6：第2のヨウ素吸収マルチスペクトルデータを、ステップS4で保存された相関関係データに適用することにより、未知の物理的特性及び食味を推定する。

#### 【0059】

(12)本測定におけるサンプル及び試薬の調製方法

・米粉：100mg 30

・試薬：

(i)50% TritonX-100

TritonX-100(SIGMA製) 50ml

エタノール(q.s) 100ml

TritonX-100を50mlをとり、それにエタノールを加え100mlにメスアップし、転倒混和して完全に混合する。

(ii)洗浄水(Triton水)

純水 1000ml

50% TritonX-100 1ml

純水1000mlに50%TritonX-100を1ml添加混合する。 40

(iii)1mol/l NaOH

NaOH 40g

純水(q.s) 1000ml

NaOH 40gを純水に溶解した後、1000mlにメスアップする。

(iv)0.25mol/l NaOH

NaOH 10g

純水(q.s) 1000ml

50% TritonX-100 3ml

NaOH 10gを純水に溶解した後、1000mlにメスアップし、50%TritonX-100を3ml添加混合する。 50

## 【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1】米粉のヨウ素吸収マルチスペクトルの一例を示す図である。

【図2】本発明に用いたヨウ素吸収マルチスペクトル測定装置の一例を概略的かつ模式的に示した構成図である。

【図3】数種の米における、アミロペクチンとアミロースの成分比とヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$ との関係を示すグラフである。【図4】アミロース分子量の最大吸収波長  $\lambda_{max}$ への影響を調べた結果の表である。

【図5】数種の米において、ヨウ素吸収マルチスペクトルの測定結果から4種の方法で推定されるアミロース含有率の検量線を示すグラフである。

10

【図6】数種の米について、登熟温度と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの種々のピーク面積及び最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 、並びに、別途物理的手段により測定した物理的特性との関係を示した表である。

【図7】「きらら397(うるち)」と「彩(ダル)」のそれぞれについて各登熟温度のサンプルのヨウ素吸収マルチスペクトルを示したグラフである。

【図8】数種の米について、登熟温度と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルのその他の各特性との関係を示したグラフである。

【図9】数種の米について、登熟温度と、最高粘度及びブレイクダウンとの関係を示したグラフである。

【図10】本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの各特性と熱糊化特性との関係を重回帰分析を用いて推定した結果を示す表である。

20

【図11】図6の表からFr.I/Fr.II比と米粉のアミロース含有率の関係をプロットしたグラフである。

【図12】澱粉のRVA測定による熱糊化曲線を示すグラフである。

【図13】Fr.I/Fr.II比とセットバックの関係を調べた結果を示す図である。

【図14】アミロース含有率(但し、従来法の単一波長による)、最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 及びFr.I/Fr.II比の各スペクトル特性と、RVA測定で得られた最高粘度、ブレイクダウン及びセットバックの各熱糊化特性との相関係数及び偏相関係数を求めた結果を示す表である。

【図15】登熟温度の異なる米について、HPLCによりアミロペクチンの単位鎖長分布を測定した結果を示すグラフである。

30

【図16】アミロペクチン単位鎖の短鎖と長鎖の比  $(A+B1)/(B2+B3)$ と、本発明のヨウ素吸収マルチスペクトルの最大吸収波長  $\lambda_{max}$ 及びFr.I/Fr.II比との相関関係を示したグラフである。

【図17】(a)は、15波長を用いた総合評価値の重回帰分析の結果を示すグラフである。(b)は、比較のために、タンパク質含有率のデータを用いて同様に推定を行った結果を示すグラフである。

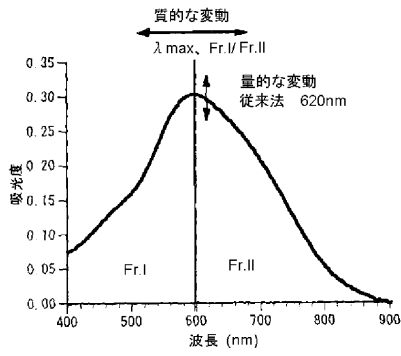
【図18】重回帰分析に替えてPLS回帰分析を採用して、食味官能検査による総合評価値の推定を行った結果を示すグラフである。

【図19】本発明によるヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法の概略フロー図である。

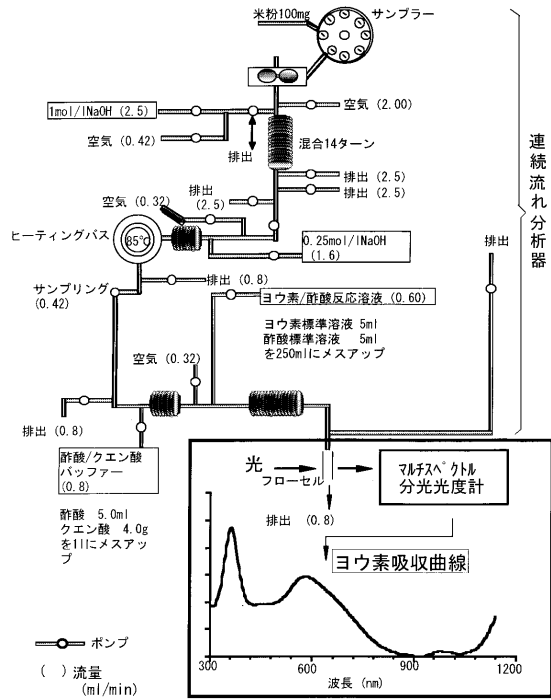
40

【図20】本発明によるヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法の概略的フロー図である。

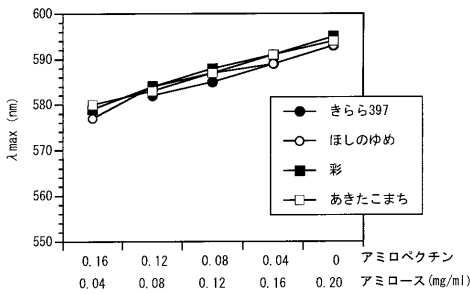
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



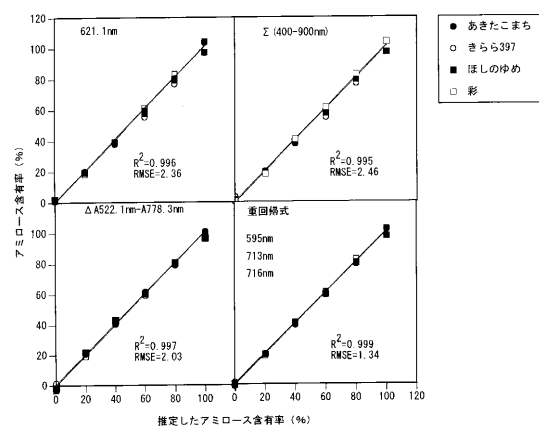
【 図 4 】

λ maxに及ぼすアミロースの分子量の影響

	分子量 M. W.	DPn*	λ max (nm)
AS-30	22,680	140	580
AS-70	69,660	430	597
AS-110	84,240	520	598
AS-320	372,600	2300	598
AS-1000	712,800	4400	597

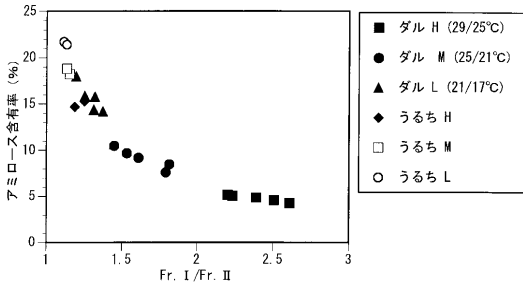
\*: 数平均重合度

【 図 5 】

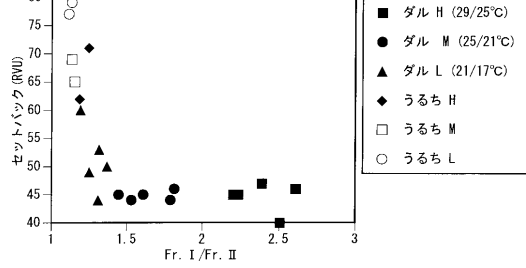




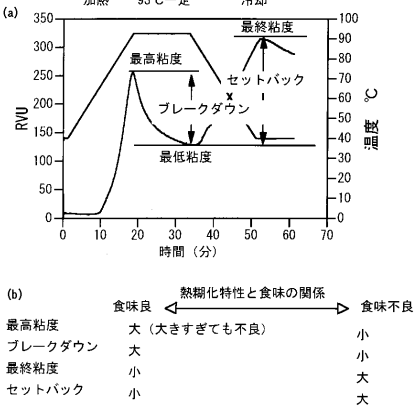
【図 1 1】



【図 1 3】



【図 1 2】



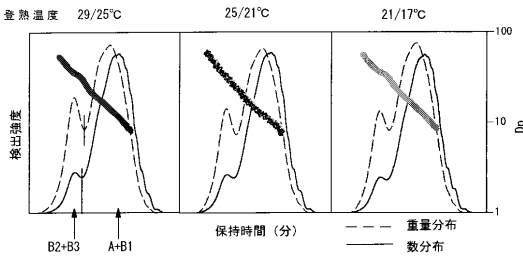
【図 1 4】

米粉の熱糊化特性とヨウ素吸収特性の相関表

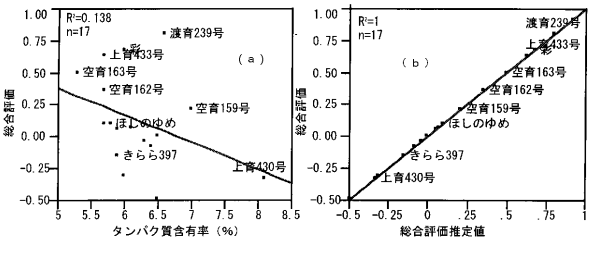
	Fr. I / Fr. II < 1.5		Fr. I / Fr. II > 1.5	
	相関係数	偏相関係数	相関係数	偏相関係数
最高粘度 <sup>a)</sup>				
アミロース含有率 <sup>a)</sup> (%)	-0.8238	-0.8442	-0.7806	0.0784
λ max (nm)	-0.5028	-0.1198	-0.8896	-0.5453
Fr. I / Fr. II	0.5722	-0.6015	0.8505	-0.2354
ブレックダウン <sup>a)</sup>				
アミロース含有率 <sup>a)</sup> (%)	-0.9079	-0.8777	-0.8072	-0.0968
λ max (nm)	-0.5922	-0.0875	-0.9039	-0.6304
Fr. I / Fr. II	0.6993	-0.5415	0.8648	-0.3801
セットバック <sup>a)</sup>				
アミロース含有率 <sup>a)</sup> (%)	0.8206	0.3075	0.0578	-0.5431
λ max (nm)	0.6979	0.0572	-0.0195	-0.7414
Fr. I / Fr. II	-0.8348	-0.3228	-0.0665	-0.7249

a) アミロース含有率はオートアナライザーで求めた。b) 熱糊化特性はRVAで測定した。

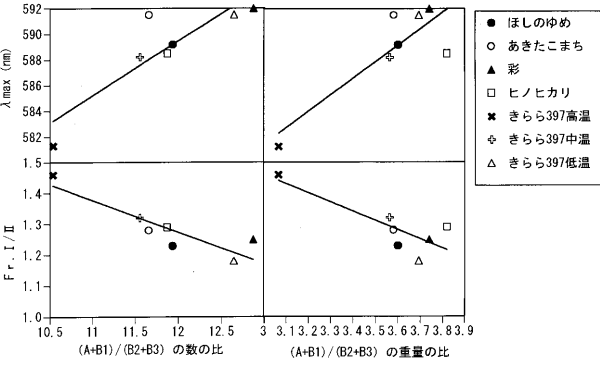
【図 1 5】



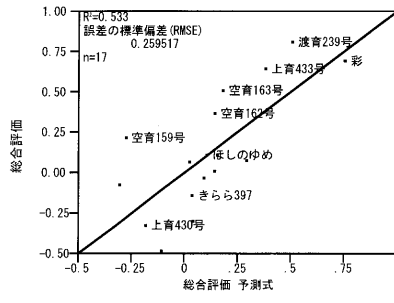
【図 1 7】



【図 1 6】

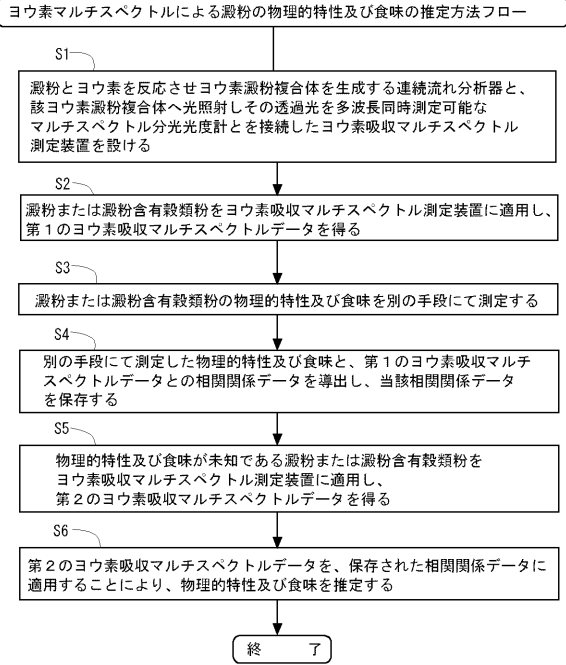


【図 1 8】

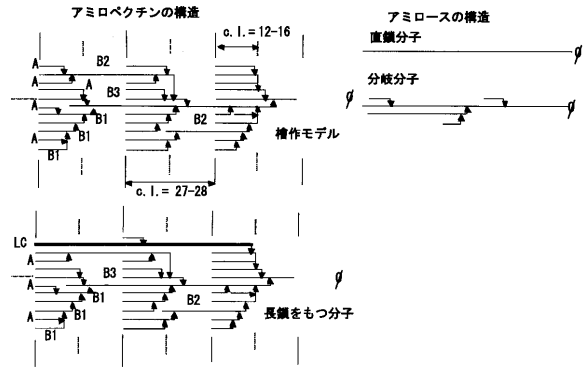




【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



---

フロントページの続き

(74)代理人 100111604

弁理士 佐藤 卓也

(72)発明者 五十嵐 俊成

北海道上川郡比布町南1線5号 北海道立上川農業試験場内

(72)発明者 上野 真吾

東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル8F ブラン・ルーベ株式会社内

Fターム(参考) 2G059 AA01 AA05 BB11 CC02 CC12 DD12 EE01 EE12 HH01 HH02

HH06 MM02 MM12