



Title	水分が異なる粉の凍結温度および凍結傷害
Author(s)	川村, 周三; 小河, 健伸; 藤川, 清三 他
Citation	低温生物工学会誌, 49(2), 97-102 https://doi.org/10.20585/cryobolcryotechnol.49.2_97
Issue Date	2003
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71304
Rights	© 2003 低温生物工学会 ., © 2003 Japanese Society of Cryobiology and Cryotechnology
Type	journal article
File Information	49_KJ00001038967.pdf



低温生物工学会誌 [Cryobiology and Cryotechnology], Vol. 49, No. 2, 97~102, 2003

[原著論文]

水分が異なる粳の凍結温度および凍結傷害

北海道大学大学院農学研究科

川村 周三, 小河 健伸, 藤川 清三, 竹倉 憲弘, 伊藤 和彦

Freezing Temperature and Freezing Injury of Rough Rice Grains with Various Levels of Moisture Content

Shuso KAWAMURA, Takenobu OGAWA, Seizo FUJIKAWA,
Kazuhiro TAKEKURA and Kazuhiko ITOH

*Graduate School of Agricultural Science, Hokkaido University,
Kita 9 Nishi 9, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan*

Freezing temperature and incidence of freezing injury of rough rice grains with 11 moisture content levels in the range of 15.1% to 26.5% were determined in this study. Differential scanning calorimetry (DSC) was used to measure the freezing temperature of rice. Rice grains with a moisture content of less than 20.8% on average did not freeze even at a temperature of -55°C . Rice grains with a moisture content of 22.1% on average froze at about -35°C . Incidence of freezing injury of rice grains was determined by the germination rate because grains that suffered freezing injury did not germinate. Rice grains with a moisture content of less than 17.8% on average germinated after being stored at -80°C for 11 days. Thus, no grain with a moisture content of less than 17.8% froze even at a temperature of -80°C . Rice for long-term storage is always dried until the moisture content becomes around 16%. Thus, there is no need for concern about freezing and freezing injury of rice stored in farm silos under natural conditions in winter in Hokkaido. (Received August 30, 2003; Accepted October 14, 2003)

緒 言

低温生物学の分野では、植物種子を遺伝資源として保存するために種子の氷点下での長期貯蔵が研究されている¹⁾。植物種子の中でもとくにイネは乾燥と低温に耐える能力が高く、十分に乾燥された粳は氷点下で保存可能であるとされている。実際に遺伝資源の保存を目的として液体窒素によるイネ種子の保存も行われている。

食糧としての米の貯蔵においては、低温で貯蔵することにより呼吸や酵素活性など生化学的変化の速度を低下させるとともに害虫の発生や微生物の増殖を抑制できるため、米を高品質に保つことが可能であることが明らかになっている²⁻⁷⁾。そこで我が国では、貯蔵中の玄米の温度を 15°C 以下に保つ貯蔵法を低温貯蔵と定義し、常温貯蔵（貯蔵中の米の温度を制御しない）より高品質保持が可能であるとして、これが実用化されている。全国各地にある米の低温貯蔵倉庫の貯蔵能力は年々増加し、2001年3月には合計で約660万tとなり、国内で消費される米の約60%を貯蔵可能となっている。

一方、川村等^{8,9)}は玄米を -15°C で貯蔵する基礎

[Key words : Rough rice, Moisture content, Freezing temperature, Freezing injury, Super-low-temperature storage; 粳, 水分, 凍結温度, 凍結傷害, 超低温貯蔵]

(22)

試験を行い、氷点下での米の貯蔵が低温貯蔵よりさらに高い品質（良い食味）を保持できることを明らかにした。そこで川村等は、氷点下での米の貯蔵を超低温貯蔵と呼んでいる。この基礎試験において、 -15°C で貯蔵した水分16%程度の玄米の発芽率および酵素活性の測定結果から米の生命力が氷点下で失われていないことが確認された。しかし、米の水分と凍結温度や凍結傷害との関係については明らかになっていない。また、瀬能等¹⁰⁾が発芽率の測定から米の凍結の有無を検討しているが、凍結温度を明らかにするには至っていない。

そこで本研究では、籾の水分と凍結温度および凍結傷害との関係を明らかにすることを目的に、水分が異なる籾を調製して示差走査熱量分析により凍結温度を測定した。また、籾の水分と冷却温度を変えて冷却した後の発芽率を測定することにより、凍結傷害の有無を調べた。さらに、冷却後の米を電子顕微鏡で観察し、写真を撮影することにより、凍結痕跡の有無を確認した。

材料および方法

1. 供試試料

供試試料は、1998年北海道雨竜産「ほしのゆめ」と1999年北海道雨竜産「きらら397」の籾である。

2. 水分測定

水分測定は農業機械学会の標準法である炉乾法を用いた。水分測定では、約 $10 \pm 1\text{ g}$ （およそ300～400粒）の籾をアルミニウム製秤量缶に採取し、精度 0.1 mg の天秤で質量を測定し、これを $135 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の熱風循環式オープン（タバイエスベック製 PV-110）で24時間乾燥した後、放冷して質量を測定した。乾燥前後の試料の質量減少を水分と見なし、湿量基準水分（wet basis: w.b.）として表した。この水分測定法を 135°C 法と呼ぶ。この方法により測定した水分値は、およそ300～400粒の籾の平均水分を示す。

また 135°C 法とは別に、籾1粒毎の水分のばらつきを調べるために、単粒水分計（静岡製機製 CTR-800）を使用して籾の水分を測定した。単粒水分計は金属製ロール電極で籾を1粒毎に圧扁し、その電気抵抗を測定して水分値を算出する。以下本論文で

は、特記のない水分値は 135°C 法により測定した水分値である。

3. 水分調製

収穫直後の籾水分はほしのゆめが24.2%，きらら397が26.5%であった。この籾を循環型熱風乾燥機（山本製作所NCD-50XII）を使用し、熱風温度を 50°C 前後に設定して乾燥させた。乾燥途中で籾を適宜に採取した。採取後の籾を、とうみ（大屋丹蔵製作所製大屋式坪刈試験用小型唐箕B2）により未熟籾やしいなの選別除去を行い、これを試料とした。このようにして調製した試料の水分は、ほしのゆめでは15.1%，18.7%，22.1%，24.2%であり、きらら397では15.7%，16.8%，17.8%，19.5%，20.8%，23.1%，26.5%であった。

4. 凍結温度測定

籾の凍結温度測定のために示差走査熱量測定（Differential Scanning Calorimetry : DSC）を行った。供試測定装置は、熱分析装置（マック・サイエンス製 DSC-3100）であり、籾1粒を試料として凍結温度を測定した。

測定は、はじめに冷却速度を決定するための予備測定を行った。きらら397の水分26.5%の籾を $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、 $0.2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、 $0.4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、 $1.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、 $2.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の5段階の速度で冷却し、冷却速度が凍結温度に与える影響を調べ、冷却速度を決定した。つづいて、ほしのゆめの水分18.7%，22.1%，24.2%の籾ときらら397の水分20.8%，23.1%，26.5%の籾を使用し、本測定を行った。同一水分の籾の反復測定は5または6粒とした。また、供試した測定装置の性能から、冷却下限温度は -55°C とした。

5. 凍結傷害測定

植物種子の凍結傷害の有無を確認するには、発芽率の測定が一般的に用いられる。すなわち、氷点下まで冷却した種子を常温に戻して発芽率を測定し、その際発芽しなかった種子は冷却により胚芽が凍結し、氷結晶がミトコンドリアなどの細胞内器官や細胞膜を破壊し、凍結傷害を受けたと判断される。したがって、本研究では籾の水分と冷却温度を変えて冷却し、冷却後の発芽率を測定することにより凍結傷害の有無を調べた。

きらら397の水分15.7%，16.8%，17.8%，19.5%，

20.8%, 23.1%, 26.5%の籾50 g ずつを2重のポリエチレン製袋に入れて密封し、 -80°C 、 -40°C 、 -30°C 、 -20°C 、 -10°C 、 0°C に設定した冷却器内に11日間静置した。冷却中の冷却器内温度を30分間隔で温湿度計（タバイエスベック製サーモレコーダーRS-10）に記録した。実測した冷却器内の冷却中の平均温度は、「 -40°C 」が -40.0°C 、「 -30°C 」が -30.0°C 、「 -20°C 」が -19.1°C 、「 -10°C 」が -9.3°C 、「 0°C 」が 2.5°C であった。なお、「 -80°C 」の冷却器の温度は実測できなかった。

冷却後に器内から籾を取り出し、ポリエチレン袋に入れたまま室温で2～3時間静置して常温に戻した。その後、熱風循環式オーブン（タバイエスベック製PV-211）を用いて、熱風温度を $40\sim 45^{\circ}\text{C}$ として水分が16%程度となるように籾を乾燥させた。乾燥後の籾は、ロール式籾摺機（サタケ製籾摺試験機THU35A）で籾摺し、玄米にした。

発芽率は、食糧庁の標準計測方法に準じて測定した。すなわち、玄米の整粒100粒をシャーレに置床し、1.0% (w/w) の過酸化水素水を米粒が浸る程度に入れた。過酸化水素水が玄米表面全体に接触するように十分攪拌し、シャーレの蓋をして 20°C に設定した恒温器内に静置した。原則として毎日置床した時刻と同時刻に米粒を観察し、発芽した粒を取り除きその粒数を測定した。置床後7日以内に発芽した粒数割合を発芽率とした。測定は3反復とした。なお、過酸化水素水を用いたのは、米の休眠を打破するためである。

米が凍結しない環境に数ヵ月から数年間保存した場合にも米の発芽率が低下する場合がある。これは保存中に米自身が呼吸により消耗し、その発芽力を失うものである。本研究では籾の保存期間が11日間と短いため、この間の発芽率の低下は胚芽の凍結に起因すると判断した。

6. 電子顕微鏡による観察

ほしのゆめの水分24.2%の籾を用い、手で籾殻を除去し玄米とした。玄米を2重のポリエチレン製袋に入れて密封し、 -40°C の冷却器に入れて緩慢に冷却した。冷却後、液体窒素で冷却したフロン22に浸漬し凍結固定した。フロン22の温度は -150°C であり、この時の冷却速度はおよそ $10,000^{\circ}\text{C}/\text{min}$ と

なり、試料を急速に凍結固定できる。対照として同じ水分の玄米をフロン22に直接浸漬し、急速に凍結固定した。このとき対照とした玄米は急速に凍結されるため、玄米中に形成される氷結晶は極微小となる。この極微少な氷結晶は玄米の生命力を損なうものではない¹¹⁾。フロン22で凍結固定した試料を切断、エッチング、蒸着した後に、細胞内外で凍結を起こした痕跡（細胞内外の氷結晶が昇華して形成される空隙）の有無を走査型電子顕微鏡で観察し撮影した。

結果および考察

1. 凍結温度

図1に水分26.5%の籾の示差走査熱量曲線の一例を示した。図中の凍結開始温度を凍結温度とした。籾1粒は、籾殻、糠層（果種皮と糊粉層）、胚乳および胚芽などの各部位により水分が異なり、籾殻が最も低く、次いで糠層、胚乳、胚芽と順次水分が高いと思われる。したがって籾1粒を凍結した場合、各部位により凍結温度が異なる可能性がある。しかしながら、本研究におけるDSCでは凍結ピークは一つしか確認できなかった。これは、籾1粒の質量の70～75%を占める胚乳の凍結潜熱の放出が大きなピークとして現れ、他の部位の凍結潜熱の放出が小さく、ピークとして確認できなかったと考える。

図2に冷却速度を決定するための予備測定の結果を示した。これは水分26.5%の籾の凍結温度である。一般に冷却速度が早いほど過冷却現象が起こりやすく凍結温度が低くなる。しかしながら、図2の結果

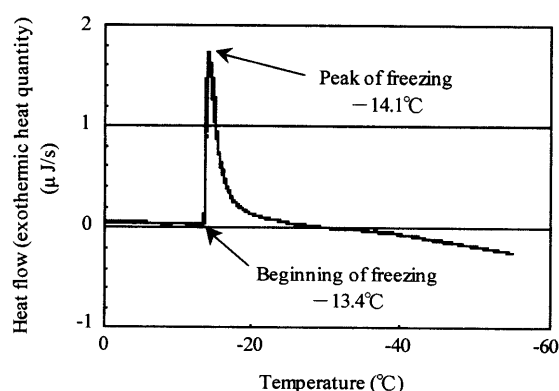


Fig. 1. A DSC cooling thermogram of rough rice with a moisture content of 26.5%.

(24)

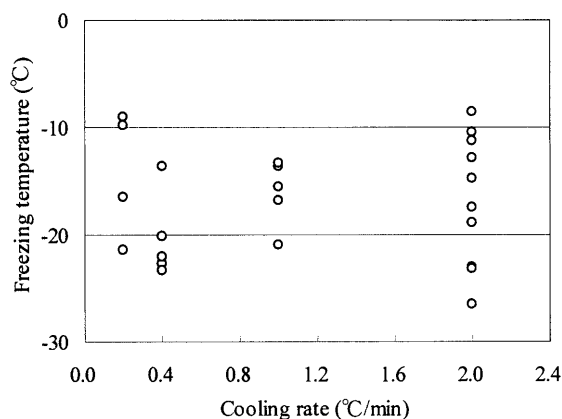


Fig. 2. Freezing temperatures of rough rice grains at various cooling rates measured by DSC (moisture content: 26.5%).

から、同一水分の粳であっても粳の凍結温度には大きなばらつきがあり、冷却速度が凍結温度に与える一定の傾向は認められなかった。予備測定では、135℃法で測定した平均水分が26.5%の粳を供試した。この平均水分が26.5%の粳500粒を単粒水分計で測定すると、1粒毎の水分は最高40.0%、最低22.4%、標準偏差4.3%とばらつきが大きかった。すなわち、冷却速度が凍結温度に与える影響よりも粳の単粒水分のばらつきが凍結温度に与える影響の方が大きかったと考えられる。そこで、本測定では測定時間を短縮して反復回数を増やすために冷却速度を2.0℃/minとして測定を行った。

図3に粳の水分と凍結温度との関係を示した。なお本試験では、ほしのゆめときらら397の2品種を供試しているが、品種が凍結温度に与える影響は少ないと判断し、2品種のデータを合わせて図に示した。水分18.7%と20.8%の粳は、-55℃まで冷却し

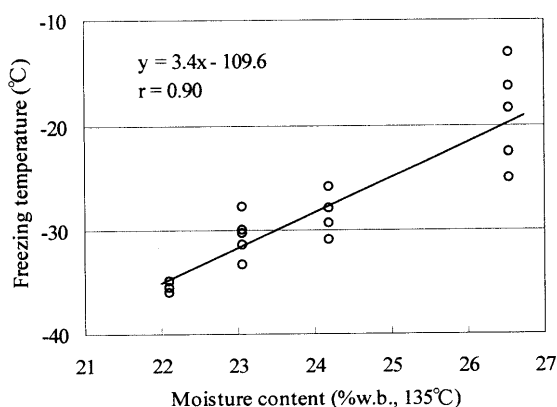


Fig. 3. Freezing temperatures of rough rice grains with various levels of moisture content.

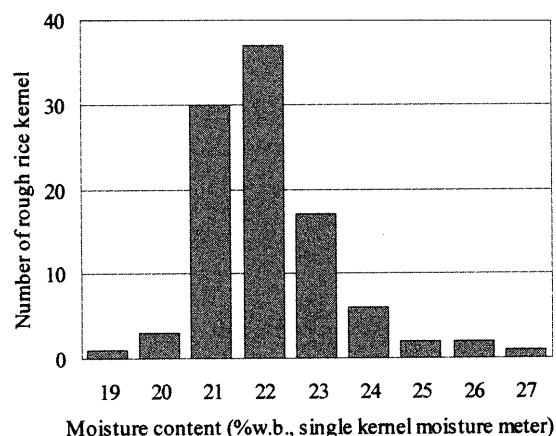


Fig. 4. Moisture distribution of single rough rice kernels (mean moisture content: 22.1%).

ても DSC で凍結を確認できなかった。水分22.1%、23.1%、24.2%、26.5%の粳は凍結が認められ、水分が高いほど凍結温度が高いことが明らかとなった。水分22.1%の粳は約-35℃で凍結した。同じ水分の粳でも凍結温度に幅が認められ、例えば、水分26.5%の粳の凍結温度は-13.1～-25.0℃の範囲であった。

水分23.1%、24.2%、26.5%の粳は反復測定した5～6粒すべてが凍結した。しかし、水分22.1%の粳は測定した6粒のうち3粒が凍結し、残りの3粒が-55℃まで冷却しても凍結しなかった。図4に、平均水分が22.1%の粳100粒を単粒水分計を用いて測定した際の単粒水分分布(1%毎)を示した。この図に示すように、供試した平均水分22.1%の粳の単粒水分にはばらつきがあり、最高が26.8%、最低が19.2%、標準偏差が1.2%であった。すなわち、水分22.1%の粳は、135℃法で測定した300～400粒の平均水分は22.1%であるが、1粒毎の水分のばらつきがあるため、凍結温度を測定した6粒のうち水分の高い3粒が凍結し、水分が低い3粒が凍結しなかったと考える。

2. 凍結傷害

冷却前の発芽率は、いずれの水分の試料も97%以上であった。図5に粳水分と冷却後の発芽率との関係を示した。水分15.7%、16.8%、17.8%の粳の発芽率は、冷却温度に関わらず94%以上であった。すなわち、水分17.8%以下の粳は-80℃に冷却しても凍結傷害が発生しないことが確認された。一方、水分が23.1%と26.5%の粳を-30℃以下に冷却すると、

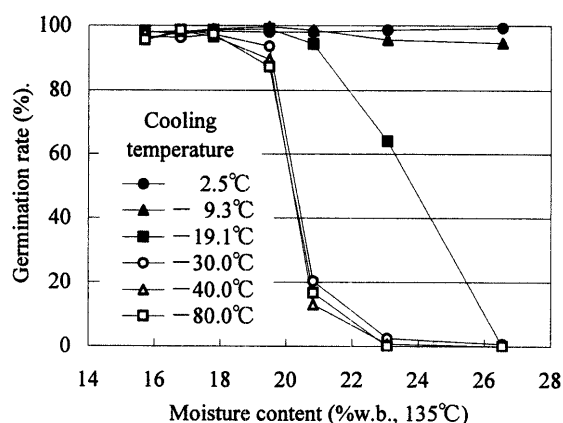


Fig. 5. Germination rates (incidence of freezing injury) of rice grains with various levels of moisture content after cooling treatments.

発芽率はほぼ0%であった。すなわち、水分23.1%以上の粳は -30°C 以下では凍結傷害が発生することが確認された。

水分が23.1%の粳を -19.1°C で冷却すると発芽率は64.7%であった。既述したように、 135°C 法で測定した粳の水分は300~400粒の平均水分であり、この粳の単粒水分にはばらつきがある。すなわち、平均水分が23.1%の粳を -19.1°C で冷却した場合、一部の水分の高い粳に凍結傷害が発生し、一部の水分の低い粳には凍結傷害が発生しなかったことをこの発芽率が示していると考える。

DSCにおいて、水分20.8%の試料を -55°C まで冷却しても凍結温度は確認されなかった。しかし、水分20.8%の試料を -30°C に冷却した場合、その発芽率は20%に低下し、凍結傷害が確認された。既述したように粳の凍結傷害（発芽能力の喪失）は、胚芽が凍結し氷結晶により細胞内器官や細胞膜が破壊されることにより発生する。DSCでは粳1粒の質量の70~75%を占める胚乳の凍結温度を測定している。一方、胚芽は胚乳より水分が高く、そのため凍結温度も胚乳より高いと思われる。しかし、胚芽は粳1粒の質量の1~2%程度であるため、DSCでは胚芽の凍結による潜熱放出の確認ができず、胚芽のみの凍結温度は確認できなかった。 -55°C まで冷却しても凍結温度が確認できなかった水分20.8%の粳を -30°C に冷却した際に発芽率の低下が認められたのは、胚芽の凍結温度が胚乳よりも高いことに起因している。

粳の中の水には自由水と結合水とがある。結合水は不凍水であり、自由水が主として凍結すると考えられる。本試験の結果から、粳は水分が18~19%以上で結合水と自由水が混在し、18~19%以下では結合水が主となり、したがって凍結は起こらず凍結傷害も発生しないと考えられる。粳と小麦の示差熱分析を行った石川等¹²⁾は、水分が19%以下では粳や小麦の種子の中には凍結する可能性のある水は無いと報告している。

3. 凍結痕跡

図6に、 -40°C で緩慢冷却した水分24.2%の玄米の胚芽部分を含む断面の電子顕微鏡写真を示した。写真では糠層、胚乳、胚芽が観察できる。冷却中に凍結した部位は、氷結晶が昇華して形成される空隙が残るため写真では凹凸のある粗い部分として観察される。一方、凍結しなかった部位は滑らかな断面として観察される。図6の写真では右端の胚芽と左下の胚乳の一部に凍結痕跡が観察され、胚乳の大部分は滑らかな断面であり凍結は観察されなかった。

胚芽を拡大した写真を図7に示した。胚芽では氷結晶により破壊された細胞膜の構造や空隙が多く観察された。一方、胚芽周辺部の胚乳では凍結痕跡は認められなかった。以上のように、水分24.2%の粳は -40°C で緩慢冷却すると凍結することが観察された。

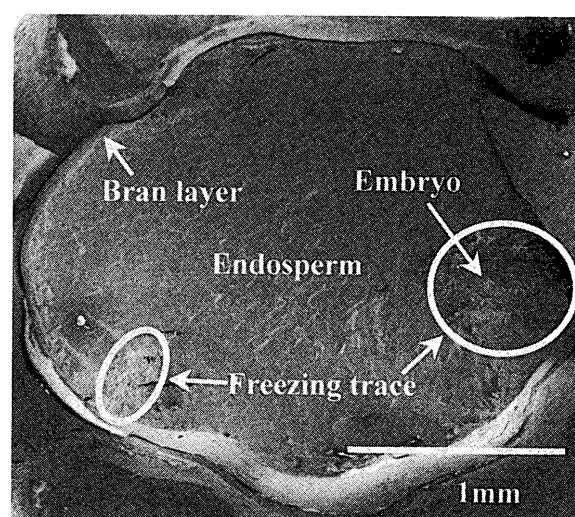


Fig. 6. Cross section of a rice kernel cooled at -40°C observed under a SEM (moisture content: 24.2%).

4. 粳の水分と凍結温度および凍結傷害

DSCでは、水分18.7%と20.8%の粳は -55°C まで

(26)

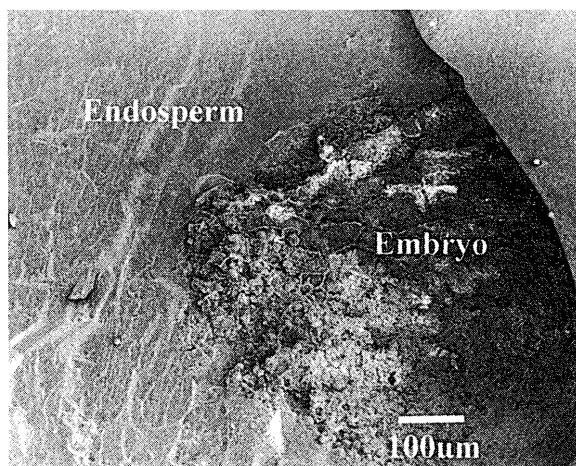


Fig. 7. Freezing trace of embryo of the rice kernel cooled at -40°C (moisture content: 24.2%).

冷却しても凍結温度が測定できず、凍結温度が測定できたのは水分22.1%以上の粃であった。発芽率の測定により、水分17.8%以下の粃は -80°C においても凍結傷害が発生しないことが明らかになった。また、水分19.5%以上の粃は温度が低いと凍結傷害が発生し、発芽率が低下することがわかった。しかし、水分26.5%のような高水分の粃でも、 -10°C 以上では凍結せず凍結傷害は発生しないことが明らかになった。

収穫時の粃の水分は天候や収穫時期に左右され、北海道ではおよそ25~30%程度である。粃1粒毎の水分のばらつきは収穫直後に最も大きく、その平均水分に対して標準偏差で5%程度のばらつきがある。収穫後の粃はただちに乾燥され、貯蔵を行う際の粃水分は16%程度である。粃1粒毎の水分のばらつきは乾燥が進むに伴い減少し、貯蔵を開始する際の標準偏差は1%程度となり、貯蔵中にはさらに水分のばらつきは減少する。したがって、平均水分が16%程度の貯蔵中の粃の中に、単粒水分で19%以上の粃が混在する可能性は低い。

一方、北海道の外気温度の最低記録は、1902年1月25日に旭川市で記録された -41.0°C である¹³⁾。以上のことから、実用的な粃の貯蔵において、自然条件下では粃が凍結し凍結傷害を起こす可能性はないことが明らかとなった。

摘 要

水分の異なる粃を調製し、凍結温度と凍結傷害を調べた。その結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) 示差走査熱量分析により凍結温度を測定した結果、水分が20.8%以下の粃は -55°C まで冷却しても凍結しなかった。水分が22.1%の粃は約 -35°C で凍結した。
- 2) 冷却後の発芽率測定により、水分17.8%以下の粃は -80°C においても発芽率の低下が認められず、凍結傷害を起こさないことが明らかになった。
- 3) 実用的に粃を貯蔵する際の水分は16%程度であるため、北海道の自然条件下で粃が凍結し凍結傷害が発生する恐れはないことが確認された。

謝 辞

本研究を行うにあたり、北海道大学低温科学研究所低温基礎科学部門、ならびに北海道大学農学研究科木質資源化学研究室に多大なる指導と協力をいただいた。ここに記して謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 小崎：「凍結保存—動物・植物・微生物—」酒井編，初版，朝倉，東京，p.156 (1987)。
- 2) 谷，竹生，岩崎：栄養食糧，**16**，436 (1964)。
- 3) 竹生，岩崎，堀内，谷：栄養食糧，**18**，204 (1965)。
- 4) 吉倉，沢，中川，藤井：兵庫県立農試報告，**18**，47 (1970)。
- 5) 鈴木，松本：家政学雑誌，**22**，288 (1971)。
- 6) 山沢，吉崎，前川：農業施設，**1**，25 (1971)。
- 7) 鶴田：化学と生物，**29**，167 (1991)。
- 8) 川村：農機北支報，**36**，67 (1996)。
- 9) Kawamura, S., M. Natsuga, S. Kouno and K. Itoh : Proc of Int Conf on Agric Eng & Technol, Dhaka, Bangladesh, **3**, 820 (1997)。
- 10) 瀬野，佐原，山口，小原：農業施設，**5**，9 (1975)。
- 11) 朝比奈：冷凍，**47**，197 (1972)。
- 12) Ishikawa, M., A. Sakai: Low Temp. Sci. Ser. B, **36**，39 (1978)。
- 13) 海部：「理科年表」国立天文台編，平成15年版，丸善，東京，p.192 (2003)。