

# 小豆の子葉細胞内デンプンの老化とその評価方法

伊藤(藤村) 知子\*

## 1. 緒言

現在、日本人は、総エネルギーの約50%をデンプンによって摂取しているが<sup>1)</sup>、生のデンプンは消化酵素の作用をほとんど受けないため、通常は加熱糊化した状態で摂取することが多い。

デンプンの糊化とは、以下に示す一連の現象を示している。過剰の水の存在下でデンプンを加熱すると、アミロペクチンの隣接外部鎖間で形成する二重らせん構造のような比較的 short range で認められる規則構造、およびデンプン粒内の結晶領域と非晶領域の規則的な配向(おそらく層状構造, growth ring)のような比較的 long range で認められる規則構造が崩壊し<sup>2,3)</sup>、デンプン粒が水和・膨潤して、分子の一部が溶解する。この一連の変化が起こることによって、デンプンの粒構造は崩壊し、ゲル化する<sup>4)</sup>。このようなデンプンの糊化は、デンプンの種類、その系における水分量、共存物質などによって影響を受けることが明らかにされている<sup>5-7)</sup>。

糊化したデンプンを放置すると、デンプン分子が再び凝集し、部分的に密な集合状態に移行して配向し、比較的小さな領域で結晶性を回復する。この現象が、老化( $\beta$ 化)である。老化したデンプンの状態は生の状態とは異なるが、老化デンプンは再加熱することにより再び糊化することが明らかにされている<sup>8)</sup>。デンプンの老化状態はデンプンゲルの物性を左右するため、食品の嗜好性に大きな影響を与え、これを制御することは品質保持との関連において重要な課題である<sup>9)</sup>。

これまでのデンプンの老化に関する研究により、老化にはアミロース含量やアミロペクチンの平均鎖長、また、糊化する際の水分、温度などに由来する糊化状態や共存物質、および糊化後の保存温度などが関与することが明らかにされている。デンプンの老化を測定する方法として、従来から粘度などの物性変化、被消

化性の測定やX線回折などの手法が用いられてきたが、近年、示差走査熱量測定(DSC)によって、再糊化の際の熱的挙動の変化としてとらえる試みがなされてきた<sup>9-11)</sup>。しかし、これらの研究は、そのほとんどが植物性食品から単離したデンプン(単離デンプン)について行われたものである。

実際には、我々が日常的にデンプンを摂取する場合の形態は以下のように2種類に大別される。すなわち、穀類、イモ類などの植物性食品から分離・精製された成分抽出素材としてのデンプンを調理・加工する場合と、植物性食品をそのまま調理し、組織状食品(米飯や煮豆など)または細胞状食品(あんやマッシュポテトなど)を摂取する場合、すなわち食品の組織や細胞の中に存在している状態のデンプンを摂取する場合である。前者の成分抽出素材としてのデンプンの糊化および老化特性については、前述のように、これまでに多くの研究者によって明らかにされてきた。しかし、後者の組織状食品および細胞状食品に関しては、日常的にそれらを摂取する機会が非常に多いにもかかわらず、それらに含まれる組織内デンプンや細胞内デンプンの糊化や老化についての研究は少く、特に老化については未知の部分が多い。

筆者らはこれまでに、豆類の細胞内デンプンの糊化について、偏光十字消失割合、膨潤力および溶解度の測定、フォトペーストグラフィー、DSCなど糊化を測定する様々な手法を用いて評価を行ってきた<sup>12,13)</sup>。その結果、豆類の細胞内デンプンの糊化は単離デンプンと比較して抑制されており、それは細胞壁の強靱さのために、細胞内デンプンの糊化に必要な水の供給が制限されるためであることを明らかにした。また、細胞の周囲に十分量の水が存在した場合でも、豆類の細胞内デンプンが糊化する際の細胞内の水分は約60%であることが明らかとなった<sup>14)</sup>。しかし、このように特殊な状態で糊化する細胞内デンプンが細胞内で老化するかどうか、またその程度は単離デンプンと比較してどうであるのか、などについては全く不明である。

\* 本学生活学科食生活専攻講師(食品学)

本研究の目的は、小豆の子葉細胞内デンプンの老化の機構を解明する手がかりとして、まず、その評価方法としての DSC の可能性について検討することである。

## 2. 方法

### (1) 小豆子葉細胞および単離デンプンの調製

市販の大納言小豆（平成2年度北海道産）を用いて、既報<sup>12)</sup>にしたがって、子葉細胞および単離デンプンを調製した。子葉細胞のデンプン含量および水分含量は74.1%および4.7%であり、単離デンプンの場合はそれぞれ92.8%および7.2%であった。また、調製した子葉細胞中の完全細胞、損傷細胞および崩壊細胞の割合は、それぞれ90.7±3.4%、3.4±3.2%および5.9±4.3%で、そのほとんどが完全細胞であり、加熱糊化の際に細胞が破裂してデンプンの流出が起こる可能性は少ないと考えられる。

### (2) 示差走査熱量測定

示差走査熱量測定（DSC）は以下に述べる方法で行った。すなわち、小豆の子葉細胞もしくは単離デンプンを、デンプン量が約4～6 mg になるように精秤し、水約45 μl を加えて銀製密封容器に密閉して、セイコー電子工業(株)製示差走査熱量計（DSC-10）を用いて、昇温速度1℃/分で行った。対照として、水約45 μl を銀製容器に密封したものを用いた。測定温度範囲は約20～130℃であった。

DSC 曲線の特徴値として糊化の開始温度( $T_o$ )、ピーク温度( $T_p$ )、終了温度( $T_c$ )を Fig. 1 に示した方法で求めた。また、糊化のエンタルピー( $\Delta H$ )はピーク面積より算出し(cal/g 無水物)、試料のデンプン含量により補正を行った(cal/g starch)。

### (3) 老化割合の測定

老化割合は以下の方法により測定した。

すなわち、(2)で示したように、試料を銀製密封容器に封入して DSC を行った後（これを 1st run とする）、測定後の銀製密封容器を開封することなくデシケーターに入れ、4℃で保存

した。一定期間保存した後、再度水を対照として DSC を行った (2nd run)。DSC の昇温速度、測定温度範囲は 1st run の場合と同じであり、DSC 特性値として、 $T_o$ 、 $T_p$ 、 $T_c$  および  $\Delta H$  を 1st run の場合と同様の方法で求めた。1st run および 2nd run の際の  $\Delta H$  (cal/g starch) から、以下の式により老化割合を算出した。

$$\text{老化割合(\%)} = (\text{2nd run の } \Delta H / \text{1st run の } \Delta H) \times 100$$

## 3. 結果

### (1) 子葉細胞および単離デンプンの DSC (1st run)

子葉細胞および単離デンプンの DSC (1st run) を行い、DSC 曲線の一例およびその特性値を Fig. 1 と Table 1 に示した。単離デンプンは  $T_p$  が約71℃である単一の吸熱曲線を示したが、子葉細胞は  $T_p$  が約70℃であり、78℃付近をショルダーとする高温部に大きくテーリングした吸熱曲線を示した。糊化温度範囲 ( $T_o$  と  $T_c$  の差) は単離デンプンが約17℃であるのに対し、子葉細胞の場合は約34℃であった。子葉細胞の DSC 曲線に見られる高温部のテーリングは低水分下でのデンプンの結晶の融解に基づく糊化を反映したものであると考えられる<sup>13)</sup>。なお、デンプン含量を補正した両者の糊化のエンタルピーはほぼ一致した

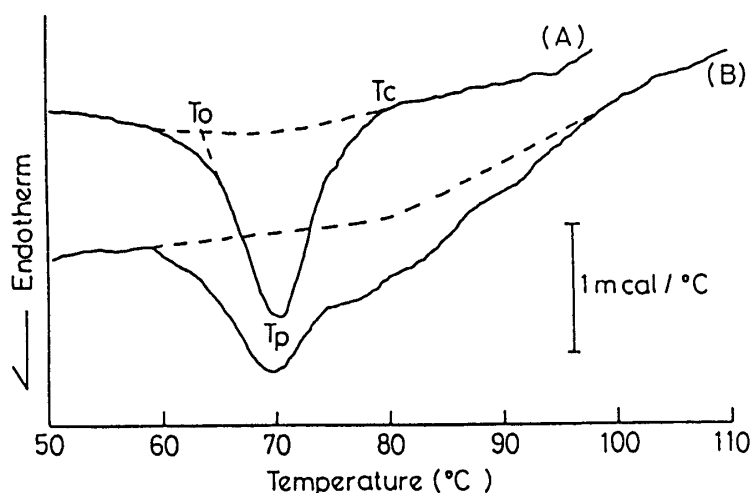


Fig. 1 DSC thermograms of isolated starches(A) and cotyledon cells(B) before storage at 4°C.

A;4.49mg of isolated starches with 48.65mg of water.

B;8.66mg of cotyledon cells with 48.70mg of water.

Table 1 DSC characteristics of isolated starches and cotyledon cells of adzuki bean before storage at 4°C (1st run).

	Endothermic transition(°C)			$\Delta H^d$
	To <sup>a)</sup>	Tp <sup>b)</sup>	Tc <sup>c)</sup>	
Isolated starches	63.7±0.5	70.5±0.7	81.0±0.6	2.8±0.2
Cotyledon Cells	63.5±1.3	69.8±0.5	97.8±1.7	2.0±0.2 (2.7±0.3) <sup>e)</sup>

DSC characteristics are expressed as mean and standard deviation for triplicates.

- a) Onset temperature
- b) Peak temperature
- c) Conclusion temperature
- d) cal/g anhydride
- e)  $\Delta H$ ; cal/g starch

ことから、これらの吸熱反応はデンプンの糊化を反映したものであると考えられた。

## (2) 保存後の DSC (2nd run)

1st run を行った後、銀製密封容器を2週間保存し、再び DSC を行った。保存温度は、最もデンプンの老化が起こりやすいと考えられる 4°C<sup>8)</sup> とした。

図示していないが DSC 曲線の形について見てみると、単離デンプンの場合は 1st run と比較してブロードな単一のピークを示した。子葉細胞は、1st run では高温部に大きくテーリングしたピークであったのに対し、2nd run の場合は非常にブロードで単一のピークを示した。糊化温度範囲 (To と Tp の差) は、単離デンプンの場合約 19°C、子葉細胞では約 14°C であった。

2nd run の DSC 曲線の特性値を Table 2 に示した。単離デンプンと子葉細胞の Tp は、2nd run の場合もほぼ同じ温度であった。しかし、2nd run の場合の Tp は 1st run の場合に比べて、単離デンプン、細胞内デンプンとも約 10°C 低温側にシフトしていた。老化デンプンの再糊化温度が低温側にシフトする現象は、コメデンプン、モチトウモロコシデンプンの単離デンプンでも起こることが報告されている<sup>8,10)</sup>。これらのことから、単離デンプンの 2nd run の DSC 曲線に見られたピークは、デンプンが老化し、再糊化したことによるものであると考えられた。また、子葉細胞の 2nd run の DSC 曲線で観察されたピークは、

Table 2 DSC characteristics of isolated starches and cotyledon cells of adzuki bean after storage at 4°C for 14 days (2nd run).

	Endothermic transition(°C)			$\Delta H^d$
	To <sup>a)</sup>	Tp <sup>b)</sup>	Tc <sup>c)</sup>	
Isolated starches	50.3±0.7	58.6±0.8	69.6±0.8	1.3±0.1
Cotyledon Cells	52.5±0.4	58.3±1.3	67.7±1.7	0.3±0.1 (0.4±0.1) <sup>e)</sup>

Reaction mixtures after 1st run were stored at 4°C for 14 days. DSC characteristics are expressed as mean and standard deviation for triplicates.

- a) Onset temperature
- b) Peak temperature
- c) Conclusion temperature
- d) Enthalpy of re-gelatinization; cal/g anhydride
- e) Enthalpy of re-gelatinization; cal/g starch

単離デンプンの場合よりもピークの温度範囲は狭いが、Tp はほぼ同じであることから、この場合も細胞内デンプンが老化し、再糊化したことによるものであると考えられる。

なお、老化割合は単離デンプンの場合は 42.0%、子葉細胞の場合は 14.2% であった。

以上のことから、小豆の子葉細胞内デンプンは、老化することが示唆された。老化したデンプンの再糊化温度は、最初の糊化温度よりも約 10°C 低温であった。老化の程度は DSC により測定が可能であると考えられた。

## 4. 考 察

小豆の子葉細胞内デンプンは、老化することが示唆された。しかしながら、その老化割合は単離デンプンの場合と比較して低かった。単離デンプンと細胞内デンプンの老化割合が異なる理由として、水分量の違いに由来する 1st run 終了後の糊化状態の違い、保存温度や共存物質の影響などが考えられる。

まず、1st run 終了後の糊化状態の違いについて考察を行う。単離デンプンの場合は水分 92% である高水分下で通常の糊化が起こった状態である。一方、子葉細胞の場合は、細胞の周囲には 88% の水分が存在するにもかかわらず、細胞内デンプンは約 56% の水分で糊化している。すなわち、一部の細胞内デンプンは単離デンプンと同じメカニズムで糊化しているが、一部は

低水分下で結晶の融解が生じた状態である。単離デンプンと同じメカニズムで生じた糊化デンプンは、同様に老化するのではないかと考えられるが、結晶の融解が生じた場合、老化するかどうかについては不明である。このような糊化状態の違いが単離デンプンと細胞内デンプンの老化割合の違いに影響した可能性が考えられる。

また、高水分下で糊化したデンプンと、低水分下で結晶の融解が生じたデンプンの老化が異なると仮定すれば、細胞内デンプンの老化割合を単離デンプンの場合と比較することにより、単離デンプンと同じメカニズムで糊化したデンプンの割合を推定することが可能ではないかと考えられるが、そのためにはさらなる検討が必要である。

次に、水分量と保存温度の影響について考察を行う。一般的に、水分30~60%の場合にデンプンの老化は最も起こりやすいとされているが、老化の進み方は水分量と保存温度との兼ね合いで決まることである<sup>15)</sup>。細胞内デンプンは水分56%で糊化しているので<sup>14)</sup>、水分量だけを見ると老化は起こりやすいと考えられるが、その老化割合は、単離デンプンと比較して著しく低かった。この理由として、水分量と保存温度の関係の影響が考えられる。例えば、ジャガイモデンプンの老化は、水分が50%の場合は、5℃で保存するよりも23℃で保存する方が老化の進行が早いことが報告されており<sup>16)</sup>、小麦デンプンの場合も同様の報告がある<sup>17)</sup>。その理由は、水分が少ない場合は水分子の運動が阻害されやすく、ある程度保存温度が高い方がデンプン分子が移動して再配向が進みやすいためであると考えられている<sup>16)</sup>。水分が比較的多い場合(70%)は、系の中でのデンプン分子の移動が容易であり、5℃で保存した場合でも再配向が起こりやすく、したがって結晶性が回復しやすと考えられる。本研究の細胞内デンプンの場合、1st run 終了後の保存中に生じるデンプン分子の再配向は、単離デンプンの場合と比較して水分が少なく、なおかつ保存温度が4℃と低かったために、起こりにくかったことが考えられる。例えば、保存温度を25℃程度にするなど変化させた場合、細胞内デンプンの老化割合は異なることも考えられる。

最後に、共存物質の影響について考察を行う。デンプンの老化は共存物質の影響を受けることが知られている。一般的に糊化を促進する物質は老化を抑制する効果がある。糖類(スクロース、ソルビトールなど)、界面活性剤(モノグリセリド、シヨ糖脂肪酸エステル

など)、高分子電解質(アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース)などには老化抑制作用が認められる<sup>18)</sup>。子葉細胞中には、デンプン以外にタンパク質、脂質などが含まれているが、タンパク質は糊化抑制には関与していないと考えられている<sup>13)</sup>。また、子葉細胞を調製する際の酸・アルカリ処理により水溶性成分は失われることが考えられ<sup>12)</sup>、このことから、胞内デンプンの老化割合が単離デンプンと比較して低かったことに対する共存物質の影響はあまりないと考えられる。

以上の結果および考察より、小豆の細胞内デンプンは老化するが、その程度には系の水分量、水分量と保存温度の関係などの影響を受けることが考えられた。しかし、その老化割合を、糊化際の水分量が異なる単離デンプンと比較し、老化のメカニズムを明らかにすることは難しい。今後、水分量や保存期間、温度などを変化させて単離デンプンの老化を測定し、子葉細胞の場合と比較することによって、細胞内デンプンの老化のメカニズムについて検討する必要があると考えられる。

## 5. 要 約

小豆の子葉細胞内デンプンの老化を測定する方法として、示差走査熱量測定について検討を行った。

小豆の子葉細胞内デンプンは老化することが示唆された。また、老化の程度はDSCにより測定が可能であると考えられた。

細胞内デンプンの老化割合は、単離デンプンと比較して著しく低かった。これは、水分量の違いに由来する1st run 終了後の糊化状態の違いや保存温度の影響であると考えられた。

## 5. 文 献

- 1) 厚生省保健医療局健康増進栄養課監修：国民栄養の現状(第一出版、東京)、p. 70(1994)。
- 2) Cooke, D. and Gidley, M. J.: *Carbohydr. Res.*, **227**, 103-112 (1992)。
- 3) Gidley, M. J. and Cooke, D.: *Biochem. Soc. Trans.*, **19**, 551-555 (1991)。
- 4) Zobel, H. F.: *Starch: Chemistry and Technology*, 2nd ed., Whistler, R. L., Bemiller, J. N. and Paschall, E. F. (Academic Press, New York), p. 285-309 (1984)。

- 5) Donovan, J. W.: *Biopolymers*, **18**, 263-275 (1979).
- 6) 塩坪聰子：大阪女子学園短期大学紀要, **36**, 7-12 (1992).
- 7) Biliaderis, C. G., Maurice, T. J. and Vole, J. R.: *J. Food Sci.*, **45**, 1669-1674, 1680 (1980).
- 8) 塩坪聰子：調理科学, **24**, 157-164 (1991).
- 9) 北村進一：澱粉, **37**, 174-178 (1992).
- 10) 山崎偉三雄, 二口 誠, 小野 慎, 吉村敏明, 森田弘之, 作道栄一, 高井潤子, 島崎長一郎：日化, No. 5, 477-482 (1996).
- 11) Roulet, P., Maclnnes, W. M., Gumy, D. and Wuersch, P.: *Starch*, **42**, 99-101 (1990).
- 12) 藤村知子, 釘宮正往：日食工誌, **40**, 490-495 (1993).
- 13) 藤村知子, 釘宮正往：日食工誌, **40**, 702-707 (1993).
- 14) 藤村知子, 釘宮正往：応用糖質科学, **42**, 7-13 (1995).
- 15) 野口 駿：食品と水の科学 (幸 書房, 東京), p. 160 (1992).
- 16) 同上, p. 163
- 17) Roulet, P., Raemy, A. and Wuersch, P.: *Food Hydrocolloids*, **1**, 575-578 (1987).
- 18) 釘宮正往：食品学総論, 大鶴 勝編 (朝倉書店, 東京), p. 88-89 (1987).