澱粉老化の初期過程に及ぼす脂質の影響

日比 喜子*, 久下 喬**

(昭和 62 年 5 月 6 日受理)

Effects of Fatty Substances on the Early Process of Retrogradation of Starch

Yoshiko HIBI* and Takashi KUGE**

* *Department of Food and Nutrition, Shiga Prefectural Junior College
(Hattusaka-cho, Hikone 522, Japan)*** *Department of Agricultural Chemistry, Kyoto Prefectural University
(Shimogamo, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan)*

In the early process of retrogradation of cooked rice, the amount of the water-soluble fraction and the degree of gelatinization firstly increased, and thereafter continuously decreased. The presence of a few helical complexes of starch and fatty substances was indicated by the V type of X-ray diffraction pattern. A crystalline structure was recovered after disappearance of the helical complexes. In this study, the effects of fatty substances and the degree of gelatinization after heating on the above mentioned phenomenon were examined. The results were as follows.

1) The phenomenon was seen in the cases of retrogradation of rice, rice regenerated with fatty acid and rice starch, but not for defatted rice and defatted rice starch. The B type of X-ray diffraction pattern reappeared earlier for defatted samples than for non-defatted ones.

2) Even for non-defatted samples, when the degree of gelatinization was sufficiently high, the phenomenon was not observed, and when the degree was low, it was observed at a different stage, depending on the degree of gelatinization. The B type of X-ray diffraction pattern reappeared earlier for the samples showing low degrees of gelatinization than for ones showing high degrees.

3) During the retrogradation, the amount of the water-soluble fraction increased and then decreased with time, molecules with molecular weights of less than 10^6 being remarkably water-insoluble.

先に米飯の老化時の性状について検討したところ、老化の比較的初期に、水可溶性画分および糊化度が一度上昇してから低下するという現象がみられた。また、X線回折法によって結晶構造の変化を調べると、加熱後のV図形でみられる澱粉・脂質のらせん状複合体形成を示す回折線が弱まった後、老化による結晶性(B図形)の回復がみられた¹⁾。

澱粉の老化時には、アミロースのらせん状複合体がい

ったるときはぐれて伸長構造をとり、その後に凝集が起こる考えられている^{2,3)}。ここでは、米飯の老化初期にみられた上述の現象がこのような機構により起こるものかどうかを検討するため、米、脱脂米、脂肪酸添加脱脂米、米澱粉および脱脂米澱粉を用いて、脂質および加熱後の糊化度の老化に及ぼす影響について実験を行った。

実験方法

1. 試料

米：滋賀県産の標準価格米。

脱脂米：米に約5倍容の85%メタノール溶液を加え、

* 滋賀県立短期大学食物学科 (522 彦根市八坂町 1900)

** 京都府立大学農学部農芸化学科 (606 京都市左京区下鴨半木町 1)

72 時間加熱還流した。溶剤の蒸発分は、適宜、補充した。脱脂後の米をエーテルで2回洗浄した後、乾燥させた。85%メタノール抽出物は1.27% (w/w) であった。

脂肪酸添加脱脂米：脱脂米に、米のおもな脂肪酸三つを添加した。添加脂質の組成割合は文献⁴⁻⁶⁾を参考に算出した平均値である。添加方法は、メタノール 750 ml に、パルミチン酸 20 g、オレイン酸 33 g、リノール酸 43 g を溶解させ、そこに脱脂米 200 g を入れて5時間加熱還流した。次に米をエーテルで2回洗浄した後、乾燥させた⁷⁾。脂肪酸吸着量は2.25% (w/w) であった。

米澱粉：島田化学工業株式会社より供与。

脱脂米澱粉：脱脂米と同様の方法で、還流時間は30時間である。85%メタノール抽出物は0.65% (w/w) であった。

2. 老化試料の調製

米飯：米、脱脂米、脂肪酸添加脱脂米、それぞれ200 g を洗米し、1.6 倍の水を加えて30分間浸漬した後、自動電気釜 (0.7 l 炊き用) で炊飯した。消火後、15分間むらした。

澱粉糊：米澱粉、脱脂米澱粉で糊液を作成した。(1) それぞれ50 g を水 250 ml に懸濁させ沸騰湯浴 (95°C) 上で、または、(2) それぞれ1 g を水 50 ml に懸濁させ85°C湯浴上で、攪拌しながら、所定時間、加熱した。

このようにして作成した米飯および澱粉糊を密封した後、5°C に保った。

3. 脱水粉末試料の作成

5°C 保存の米飯および澱粉糊 (1) の一部を所定時間ごとに取り出し、約3倍容のエタノールを加え乳鉢で磨砕しながら脱水し、減圧下で過す。この操作を3回繰り返した後、エーテル洗浄を2回行った。このようにして作成した粉末試料をデシケーター中に保存して、測定に供した。

4. 水可溶性画分の測定

脱水粉末試料 20 mg を水 20 ml に懸濁させ、3000 rpm で15分間遠心分離した。その上澄液の全糖量をフェノール・硫酸法で測定して、水可溶化量とした。

5. 糊化度の測定

脱水粉末試料を用いて、BAP 法⁸⁾により糊化度を測定した。

6. X線回折

ガイガーフレックス RAD-1 A (理学電機製) を使用して、X線回折を行った。分析条件は、X線源：Cu-K_α 線 (ニッケルフィルター使用)、電圧：35 kV、電流：20 mA、発散スリット：1°、制限スリット：1°、受光スリ

ット：0.15 mm、ゴニオメータの走査速度：2°/min、時定数：1 sec、チャート速度：1 cm/min である。脱水粉末試料は、R. H. 75% で調湿して用いた。

7. 分子量分布の測定

5°C 保存の澱粉糊 (2) の一部を所定時間ごとに取り出し、遠心分離 (4000 rpm, 30 分) した。その上澄液の全糖量を測定し、また、溶出成分の分子量分布を調べるため、ゲル透過クロマトグラフィー分析 (GPC) を行った。

分析条件は、カラム：2.5×62 cm、ゲル：セファロース CL-2B、試料注入量：3 ml、溶離液：0.05 M 水酸化ナトリウム溶液、流速 15 ml/hr であり、各分画の全糖量をフェノール・硫酸法で測定し水可溶化量とした。分子量と溶出量の関係は、酵素合成アミロース⁹⁾ を使って算出したものである。

結果と考察

1. 米飯の老化に及ぼす脂質の影響

米、脱脂米、脂肪酸添加脱脂米、それぞれの飯を冷蔵して、水可溶性画分および糊化度の変化をみた (Fig. 1)。

米飯では冷蔵後、水可溶性画分および糊化度が一度上

Fig. 1. Effect of fatty substances on the retrogradation. Changes in the amount of the water-soluble fraction and the degree of gelatinization during the storage of cooked rice.

●, non-defatted rice; □, defatted rice; ○, rice regenerated with fatty acid.

Fig. 2. Effect of fatty substances on the retrogradation. Changes in the X-ray diffraction pattern during the storage of cooked rices.

A, non-defatted rice; B, defatted rice; C, rice regenerated with fatty acid. (1), uncooked rice; (2)~(8), cooked rices; storage periods (hr): (2), 0; (3), 1; (4), 3; (5), 5; (6), 24; (7), 48 and (8), 144.

昇し、3時間で極大値を示した後、低下した。脱脂米飯では米飯に比べて加熱後の水可溶性画分は多くなり、糊化度は上昇した。冷蔵後の水可溶性画分および糊化度の変化は、どちらも時間と共に低下し、米飯でみられた現象は生じなかった。脂肪酸添加脱脂米飯では、米飯でみられた現象が再現された。

次にX線回折図をみると (Fig. 2), 加熱前はどの試料米も共にA図形であった。米飯では加熱後のV図形において、澱粉と脂質とのらせん状複合体形成を示す回折線がみられた。これが冷蔵時間の経過と共に徐々に弱まり、24時間後から老化による結晶性の回復がみられ、144時間後にはB図形へと変化した。この結晶性の回復のみられる時間は、水可溶性画分および糊化度が極大に達した時間より遅かった。脱脂米飯では、加熱後は非晶形のV図形に変化した。複合体形成を示す回折線が少しみられるが、米に残存している脂質あるいは試料脱水時のアルコールの影響と思われる。冷蔵5時間後から結晶性の回復がみられ、144時間後にはB図形へと変化した。脂肪酸添加脱脂米飯では加熱後のV図形において、再び澱粉・脂肪酸のらせん状複合体形成を示す回折線がみられた。老化による結晶性の回復は冷蔵48時間後に初めて

認められるようになり、144時間後もまだ複合体形成を示す回折線が残っていた。吸着された脂肪酸量(2.25%)は元の米からメタノールで抽出された量(1.27%)より多いため、複合体形成量も多くなっているからであると思われる。

脂質は老化に種々の影響を及ぼしている¹⁰⁻¹²⁾。本実験の結果では、老化試料の溶解性や酵素消化性は、未脱脂のもののほうが脱脂したものより低下していた (Fig. 1)。しかし結晶性 (B図形) の回復は、脂質の存在によって遅くなることが認められた (Fig. 2)。

以上の結果から、米飯の老化初期にみられた水可溶性画分および糊化度が一度上昇してから低下するという現象に、脂質が関与していることが確かめられた。X線回折図の変化 (Fig. 2) でみられたように、脂質が存在すると澱粉とらせん状複合体を形成し、老化時には非晶形を経過する。すなわち、老化過程では、らせん状複合体がいったんときほぐれた後に、凝集が起こるものと考えられる。糊化澱粉では、ときほぐれた分子とらせん状複合体とが共存しており、複合体はときほぐれた分子に比べて水に溶けにくく、酵素作用も受けにくい¹³⁾。したがって、米飯の老化初期に、水可溶性画分および糊化度がい

Fig. 3. Effect of the degree of gelatinization after heating on the retrogradation. Changes in the amount of the water-soluble fraction and the degree of gelatinization during the storage of cooked rices.

□, soft cooked rice with 2.0-fold water; ●, normal cooked rice with 1.6-fold water; △, hard cooked rice with 1.2-fold water.

ったん上昇するものであろう。一方、脱脂されると澱粉は複合体を形成していないので、老化時にはすぐに凝集が始まる。それゆえ、米飯でみられた現象は生じないし、また、結晶性の回復は未脱脂のものより早い時期にみられるものと思われる。

2. 米飯の老化に及ぼす糊化度の影響

糊化過程でらせん状複合体が十分にときほぐれていたら、上で述べた脱脂米飯と同様の結果になると考えられる。そこで、加熱後の糊化度の影響について検討した。

前述の現象のみられた米飯は、米重量の1.6倍量の加水で炊飯したものである（普通飯とする）。このほかに、2.0倍、または1.2倍量の加水で軟飯（水分66.2%）、硬飯（水分54.0%）を作成し、普通飯（水分61.3%）と比較した。それぞれの飯の冷蔵後の水可溶性画分および糊化度の変化をFig. 3に示す。

軟飯のように、加熱後の水可溶性画分が多く糊化度が高いと、これらは冷蔵によって、時間と共に一様に低下した。これに対して、普通飯や硬飯のように、加熱後の水可溶性画分が少なく糊化度が低いと、冷蔵後、時間的に遅速はあるが、これらがいったん上昇するという過程

Fig. 4. Effect of the degree of gelatinization after heating on the retrogradation. Changes in the X-ray diffraction pattern during the storage of cooked rices.

A, hard cooked rice with 1.2-fold water; B, soft cooked rice with 2.0-fold water. Storage periods (hr): (1), 0; (2), 1; (3), 3; (4), 5; (5), 24; (6), 48 and (7), 144.

がみられた。

X線回折図をみると (Fig. 4), 加熱後の硬飯では糊化不十分のため（ただし、飯としての食用は可）、また、軟飯では糊化十分のため、どちらもらせん状複合体形成を示す回折線は、普通飯のX線回折図 (Fig. 2) と比べて、わずかであった。老化による結晶性の回復は、硬飯では普通飯とほぼ等しく冷蔵24時間後から、軟飯では48時間後から始まり、144時間後にはどちらもB図形へと変化した。

加熱後の糊化が十分なほど老化しにくいことはよく知られていることである^{14,15)}が、本実験の結果からは、さらに、加熱後の糊化度によって老化過程が異なることが示された。すなわち、糊化不十分のため分子の分散が十分に行われずらせん状複合体が存在すると、老化時にはこれがいったんときほぐれるという過程を経なければならないと思われる。また、結晶性の回復は、糊化不十分の場合のほうが速かった。

3. 澱粉糊の老化

米澱粉糊および脱脂米澱粉糊を、加熱時間を変えて作成し、冷蔵した。それぞれの水可溶性画分および糊化度の経時変化をFig. 5に示す。

Fig. 5. Changes in the amount of the water-soluble fraction and the degree of gelatinization during the storage of rice starch pastes.

A, non-defatted rice starch; B, defatted rice starch. Rice starch (50 g) was suspended in 250 ml of water and then heated at 95°C for 5 (Δ), 10 ($\blacktriangle$), 15 ($\circ$) and 30 ($\bullet$) min.

加熱時間が長くなると、加熱後の水可溶性画分は多く糊化度も高くなった。これは、脱脂の有無にかかわらず、同様の結果であった。水可溶性画分は、脱脂した場合に、は非常に増加した。

水可溶性画分および糊化度の冷蔵後の変化は、未脱脂澱粉では、30分加熱の場合には時間と共に低下した。5分、10分、15分加熱の場合には、時間的に遅速はあるが、これらがいったん上昇するという過程のあることが示された。一方、脱脂した澱粉では加熱時間による違いはみられず、いずれの加熱時間においても、水可溶性画分および糊化度は冷蔵時間と共に低下した。

米飯においてみられた問題としている現象は、澱粉でのモデル系において再現された。すなわち、糊化過程で澱粉のらせん状複合体がときほぐれていたり、脱脂されてらせん状複合体を形成していない場合には、老化過程で水可溶性画分および糊化度がいったん上がるという現象はみられず、らせん状複合体の存在がこの現象に関与していることがわかった。

水可溶性画分および糊化度が冷蔵後すぐに上昇するか、あるいは、低下している途中で上昇するという違いは、次のように考えられる。

加熱後の糊化度が低く、糊化時にらせん状複合体が十分崩壊せずに残っている場合は、らせん状複合体がときほぐれる速度よりも凝集の速度のほうが速いものと考え

Table 1. Amounts of water-soluble fractions of rice starch pastes.

Sample	Heating time (min)	Storage period (hr)	Water-soluble fraction (%)
Non-defatted rice starch	5	0 ^{b)}	4.56 $\pm$ 0.14 ^{a)}
		30	10.43 $\pm$ 0.26
	30	1	10.55 $\pm$ 0.39
		3	10.09 $\pm$ 0.59
		5 ^{b)}	12.16 $\pm$ 0.31
		24	8.81 $\pm$ 0.51
		144 ^{b)}	8.58 $\pm$ 0.32
Defatted rice starch	5	0 ^{b)}	17.24 $\pm$ 0.61
	30	0 ^{b)}	31.91 $\pm$ 0.54

Rice starch (1 g) was suspended in 50 ml of water and then heated at 85°C.

^{a)} Mean $\pm$ SD (four samples).

^{b)} Further analyzed by GPC.

られる¹⁴⁾。このような状態のときには、冷蔵後すぐに水可溶性画分および糊化度が低下しはじめ、その後、凝集物が少なくなってくると、らせん状複合体がときほぐれる速度のほうが速くなって、水可溶性画分および糊化度が上昇するものと思われる。

Fig. 6. Effects of fatty substances and heating time on the GPC elution patterns of the water-soluble fractions of rice starch pastes.

(1), non-defatted rice starch, heated for 5 min; (2), non-defatted rice starch, heated for 30 min; (3), defatted rice starch, heated for 5 min; (4), defatted rice starch, heated for 30 min. Rice starch (1 g) was suspended in 50 ml of water and then heated at 85°C. Elution conditions: column, Sepharose CL-2B; eluent, 0.05 M NaOH solution; flow rate, 15 ml/hr; temp., room temp.; elution volume of one fraction, 3 ml. These profiles were normalized as to the amount of the total carbohydrate solubilized. The molecular weight scale was calibrated using enzymatically synthesized amyloses.⁹⁾

なお、未脱脂澱粉では、加熱時間の長い30分加熱の試料がもっとも糊化度の低下が速く (Fig. 5A)、一般に言われていること^{14,15)}とは逆の結果であった。その理由はここでは明かでないが、脱脂澱粉では30分加熱の場合にこのような結果はみられない (Fig. 5B) ので、ここにも脂質の影響が考えられる。

4. 分子量分布

次に、水可溶性画分の分子量分布を調べた。この試料は、3の実験で使用した澱粉糊より薄い糊で、遠心分離後の上澄液である。まず冷蔵後の水可溶性画分を Table 1 に示した。これらの中から六つの試料 (米澱粉糊: 加熱時間5分で冷蔵時間0時間, 加熱時間30分で冷蔵時間0, 5, 144時間, 脱脂米澱粉糊: 加熱時間5, 30分で冷蔵時間0時間) について、GPC 分析を行った。その結果のピーク面積は、それぞれの水可溶化量に対応させたものである。

Fig. 6 に、米澱粉および脱脂米澱粉で加熱時間を変えて作成した試料の GPC 分析の結果を示した。加熱時間

が長くなると、脱脂の有無にかかわらず、水可溶性画分は多くなった。低分子量 (10^5)* のところは加熱時間が5分でもかなり溶出しており、加熱時間が30分と長くなると、高分子量 (10^7 以上) のところの溶出が多くなった。脱脂した場合には、とくに 10^7 以上と $2 \sim 3 \times 10^5$ くらいのところが多く溶出された。また、未脱脂澱粉では30分加熱試料でもあまり水可溶性画分が多くなく、脱脂澱粉で5分加熱試料より水可溶性画分が少なかった。この結果から、澱粉と脂質との複合体の分解には、かなり高温^{16~18)}、長時間が必要であると思われる。

Fig. 7 に、米澱粉で30分加熱した試料を冷蔵したときの変化を示した。冷蔵5時間後には、0時間よりも水可溶性画分は増加した。分子量分布をみると、 10^5 以下のところの水可溶性画分の増加は比較的少ないが、どの

* 図に示した分子量スケールは、合成アミロースを試料とした場合のものであり、溶出画分の分子量とは必ずしも一致しないが、便宜上、スケール上の値を以下使用する。

Fig. 7. Effect of storage on the GPC elution patterns of the water-soluble fractions of rice starch pastes.

Non-defatted rice starch, heated at 85°C for 30 min; storage periods (hr): (1), 0; (2), 5 and (3), 144. Elution conditions: the same as in Fig. 6.

分子量域においてもほぼ一様に増加した。144時間後では、 10^7 以上のところは5時間後と比べて変化が少なかったが、 10^6 以下になるほど水可溶性画分の減少度は大きかった。

アミロースの老化は $10^4 \sim 10^5$ くらいの分子量のところがもっとも速い^{19,20)}と言われるが、今回の米澱粉糊のGPC分析の結果においても、見掛け分子量 10^5 のところの水可溶性画分の低下は大きかった。一方、高分子量域では、水可溶性画分は冷蔵144時間後も、5時間後とほとんど変わらなかった。存在するらせん状複合体がいったんときほぐれたとしても、高分子になるほど凝集の速度が遅くなることが指摘されている¹⁹⁾ことから、水可溶性画分の低下が遅いものと考えられる。

以上、糊化された澱粉が冷却されると、脂質が存在する場合らせん状複合体がいったん生成した後ときほぐれるという過程を経過し、ついで崩壊した分子鎖の凝集によって老化が進むものと考えられる。米飯の老化は、このような機構によって進んで行くものと思われる。

要 約

米飯の老化の比較的初期に、水可溶性画分および糊化度がいったん上昇してから低下するという現象がみられた。X線回折図では、加熱後のV図形において澱粉・脂質のらせん状複合体形成を示す回折線が弱まった後、結晶性(B図形)の回復がみられた。ここでは、これらの現象に対する脂質および加熱後の糊化度の影響を検討し、次の結果を得た。

1) 米、脂肪酸添加脱脂米、米澱粉では、老化時に上

述の現象がみられた。脱脂米、脱脂米澱粉では、らせん状複合体が形成されていないために上述の現象はみられなかった。結晶性(B図形)の回復は、脱脂されたほうが速かった。

2) 未脱脂の試料においても糊化十分なときには、らせん状複合体がときほぐれているために上述の現象は起こらなかった。また、糊化不十分のときは、糊化の程度によって、上述の現象のみられる時間は異なっていた。結晶性(B図形)の回復は、糊化不十分のときのほうが速かった。

3) 老化時の水可溶性画分の分子量分布を調べるため、GPC分析を行った。老化時には、どの分子量域においてもいったん水可溶性画分が増加した。高分子量域ではその後の変化は少なかったが、見掛け分子量 10^6 以下のところでは、減少度が大きかった。

本実験を行うにあたり、プルナーゼを榊林原生物化学研究所長辻阪好夫博士から、また、米澱粉を島田化学工業㈱からご供与いただきました。厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 日比喜子, 小林喜美枝, 北村進一, 久下 喬: 家政誌, **37**, 743-749 (1986).
- 2) E. F. PASCHALL and J. F. FOSTER: *J. Polym. Sci.*, **9**, 74-84 (1952).
- 3) 久下 喬: ニューフードインダストリー, **19**, 33-47 (1977).
- 4) K. YASUMATSU and S. MORITAKA: *Agric. Biol.*

- Chem.*, **28**, 257-264 (1964).
- 5) 吉沢 淑, 石川雄章, 野白喜久雄: 農化, **47**, 713-717 (1973).
 - 6) 桐洵壽子, 久保田紀久枝: 農化, **51**, 621-624 (1977).
 - 7) 古川三郎, 大場健吉, 藤井徹也: 澱粉工誌, **13**, 75-81 (1966).
 - 8) 貝沼圭二, 松永曉子, 板川正秀, 小林昭一: 澱粉科学, **28**, 235-240 (1980).
 - 9) S. KITAMURA, G. YUNOKAWA, S. MITSUIE and T. KUGE: *Polym. J.*, **14**, 93-99 (1982).
 - 10) 渡辺幸雄, 金光晴代, 太田富貴雄, 綾野雄幸: 千葉大学園芸学部学術報告, **27**, 1-7 (1980).
 - 11) 丸山悦子, 樋口裕子, 寺田佳子, 梶田武俊: 家政誌, **31**, 568-573 (1980).
 - 12) 名倉育子, 丸山悦子, 梶田武俊: 調理科学, **14**, 192-197 (1981).
 - 13) 二國二郎, 高岡研一, 不破英次: 農化, **26**, 218-222 (1952).
 - 14) A. J. KALB and C. STERLING: *J. Food Sci.*, **26**, 587-592 (1961).
 - 15) 檜作 進, 伊藤恵子, 前田 巖, 二國二郎: 澱粉科学, **19**, 70-75 (1972).
 - 16) J. W. DONOVAN, K. LORENZ and K. KULP: *Cereal Chem.*, **60**, 381-387 (1983).
 - 17) C. G. BILIADERIS: *Carbohydr. Polym.*, **6**, 269-288 (1986).
 - 18) A.-C. ELIASSON: *Carbohydr. Polym.*, **6**, 463-476 (1986).
 - 19) R. L. WHISTLER and C. JOHNSON: *Cereal Chem.*, **25**, 418-424 (1948).
 - 20) B. P. PFANNEMÜLLER, H. MYERHÖFER and R. C. SCHULZ: *Biopolymers*, **10**, 243-261 (1971).