アミラーゼ処理によるデンプンの溶解率に基づく アンの崩壊粒子及び損傷粒子の定量法[†]

釘 宮 正 往*・平 田 健**

A Method for Determination of Ruptured and Damaged Granules in Ann Samples Based on the Solubilized Starch Content by α -Amylase Treatment

(A Enzymatic Method for Determination of Ruptured
and Damaged Granules in Ann Samples Part II)

Masayuki KUGIMIYA* and Takeshi HIRATA**

* Hiroshima Women's University, 1-1-71, Ujina-higashi,
Minami-ku, Hiroshima-shi, 734

** Hiroshima Prefectural Food Technological Research Center,
12-70, Hijiya-honmachi, Minami-ku,
Hiroshima-shi, 730

A method for determining ruptured and damaged granules in Ann samples was examined on the basis of the solubilized starch content by α -amylase treatment. Samples containing all kinds of Ann granules, namely ruptured, damaged and intact granules, and those containing both damaged and intact granules which were referred to as samples without ruptured granules, were prepared from each Adzuki Ann of commercial Japanese-style confections and bean-jam buns, and from commercial dried Adzuki Anns. When the solubilized starch contents by the enzyme treatment were A and B% for the sample containing all kinds of granules and for that without ruptured granules, respectively, the proportion of ruptured granules (RG%) in an Ann sample was estimated from the equation, $RG = 100(A - B)/(100 - B)$. Nearly all the starches in damaged granules were found to be solubilized by the double treatment with the enzyme. When the solubilized starch content by the double treatment of a sample without ruptured granules was C%, the proportion of damaged granules (DG%) in the Ann sample was estimated from the equation, $DG = C(100 - A)/(100 - B)$. It was found that the proportions of ruptured and damaged granules in the twenty Ann samples analyzed varied from sample to sample and the average composition of the samples was 61.7% intact, 31.3% damaged and 6.9% ruptured granules.

(Received Feb. 16, 1987)

前報¹⁾で、アンの崩壊粒子及び損傷粒子の定量法を検討するための第一段階として、アズキ乾燥アンを用いて、崩壊粒子に由来するデンプン量を α -アミラーゼ処理に

よるデンプンの溶解率から測定する方法を明らかにした。仮に、アンが完全粒子と崩壊粒子から成るものであれば、このデンプンの溶解率からアンの崩壊粒子含量を推定す

[†] アンの崩壊粒子及び損傷粒子の定量法 (第2報) (前報, 文献1))

* 広島女子大学家政学部 (〒734 広島市南区宇品東1-1-71)

** 広島県立食品工業技術センター (〒730 広島市南区比治山本町12-70)

ることができる。しかし、市販の菓子等から取り出したアンについて調べた結果、完全粒子と崩壊粒子のほかに損傷粒子が存在することが推定された。そこで、市販の菓子、アンパンから取り出したアン及び市販の乾燥アンの合計 20 点のアン試料を用いて、崩壊粒子及び損傷粒子の定量法を検討し、それぞれの推定値を明らかにした。

本研究では、アンは主として完全粒子、崩壊粒子及び損傷粒子の 3 種類から構成されていると仮定し、また、これらの粒子は次のような性状を有すると仮定した。すなわち、完全粒子はデンプンがタンパク質、細胞壁などによって完全におおわれていて、酵素との接触が不十分であるために、酵素処理によってデンプンがほとんど溶解しないもので、また、水さらしの操作によって流出しないものである。崩壊粒子は細胞壁の崩壊によって、すべてのデンプンが露出し、酵素との接触が容易になり、酵素処理によってほとんどのデンプンが溶解するもので、また、アン粒子の形態をほとんど失っていて、水さらしによって容易に流出するものである。損傷粒子は細胞壁の一部が損傷しているために、酵素と接触できる一部のデンプンだけが酵素処理によって溶解するが、このデンプンが溶解した後、酵素処理をくり返し行くと、残りのデンプンも溶解するようになるものである。また、損傷粒子は粒子の形態を有し、完全粒子と同様に、水さらしによって流出しないものである。なお、完全粒子と崩壊粒子については、前報¹⁾で用いたアズキ乾燥アンとその摩砕物がそれぞれのモデルとなっており、損傷粒子は本報で示すように市販の菓子等に用いられているアンにその存在が推定されたものである。

実 験 方 法

1. 試料

(1) アン

市販の菓子、アンパンから取り出したアンを乾燥試料として、また、市販の乾燥アンはそのまま試料として用いた。アンはいずれもアズキを主原料として製造されたと考えられるもので、菓子等の製品は昭和 58、59 年に広島市内で購入したものである。製造会社の異なる製品 20 点のアン試料を No. 1~20 と区別し、このうち No. 1~4 はもみじまんじゅう、No. 5~7 はまんじゅう、No. 8~10 は最中、No. 11~13 は二重焼き、No. 14~17 はアンパンのアン試料、No. 18~20 は乾燥アンである。なお、北海道産アズキから調製したアズキ乾燥アン²⁾も用いた。

(2) アン試料の調製

菓子、アンパンから取り出したアン約 10 g に 80% メタノール 300 ml を加え、試薬さじでアンを軽く押しつぶして懸濁した。皮などを除くために懸濁液は 60 メッシュの篩を通した。次に、ガラスフィルター (No. 3) を用いて沈殿物を集め、これに 80% メタノールを加えて、ろ液にフェノール硫酸法³⁾によって糖が検出されなくなるまで十分に洗浄した。得られた沈殿物は室温で一晩風乾した後、乳鉢・乳棒でかたまりを軽く押しつぶして、60 メッシュの篩を通し、アン試料として用いた。

(3) 崩壊粒子除去試料の調製

菓子、アンパンから取り出したアン及び乾燥アンから、崩壊粒子を傾瀉法で除いた試料は次の方法で調製した。すなわち、アン約 10 g に水を約 300 ml 加えて、アン試料の調製の場合と同様にして、懸濁液を 60 メッシュの篩を通した。この懸濁液を軽くかき混ぜて数分間静置し、沈降速度の遅い崩壊粒子 (デンプン、凝固タンパク質、細胞壁断片等) を含む上澄み液を傾瀉して捨てた。上澄み液が透明になるまで、沈殿物に水を約 300 ml 加えて、攪拌、静置、傾瀉の操作をくり返し行った。得られた沈殿物は、アン試料の調製の場合と同様に、80% メタノールで十分に洗浄し、風乾し、60 メッシュの篩を通した。これを崩壊粒子除去試料として用いた。

2. α -アミラーゼ処理によるデンプンの溶解率の測定

アン試料及び崩壊粒子除去試料の酵素処理によるデンプンの溶解率の測定は前報の方法¹⁾により行った。なお、崩壊粒子除去試料を用いて、 α -アミラーゼを作用させた後、加熱、冷却した反応液に再び α -アミラーゼ溶液 1 ml (1 単位) を加えて 30 分間反応させ、加熱、冷却して、デンプンの溶解率を測定した。この溶解率を 2 回の酵素処理による溶解率とし、また、同様にして 3 回の酵素処理による溶解率も測定した。ただし、これらの溶解率を算出するときの塩酸処理による溶解デンプン量は、1 回の塩酸処理を行ったものに添加酵素液量に相当する量の水を加えて測定した。

実験結果及び考察

1. アン試料及び崩壊粒子除去試料の α -アミラーゼによるデンプンの溶解率

アン粒子が崩壊して生ずる主要成分、すなわちデンプン、凝固タンパク質、細胞壁はほとんどが水不溶性で、また、これらの成分の水懸濁状態での沈降速度は未崩壊粒子のそれに比べて著しく小さいと考えられる。未崩壊

Table 1 Solubilization of starch by the enzyme treatment and granule compositions of Ann samples

Ann sample No.	Starch solubilized(%)*			SPE (%)	Granule composition(%)		
	A	B	C		RG	DG	IG
1	21.5	16.6	34.5	15.6	5.9	32.5	61.6
2	11.4	9.4	26.4	9.2	2.2	25.8	72.0
3	19.6	17.8	45.9	17.4	2.2	44.9	52.9
4	19.3	9.2	25.2	8.2	11.1	22.4	66.5
5	8.8	9.2	21.8	9.2	— 0.4	21.9	78.5
6	17.3	14.5	34.4	14.0	3.3	33.3	63.4
7	40.5	32.3	62.5	28.4	12.1	54.9	33.0
8	21.7	14.2	31.1	13.0	8.7	28.4	62.9
9	43.2	40.3	70.1	38.3	4.9	66.7	28.4
10	17.0	11.7	28.8	11.0	6.0	27.1	66.9
11	11.0	6.4	19.9	6.1	4.9	18.9	76.2
12	18.7	13.5	35.1	12.7	6.0	33.0	61.0
13	21.7	8.7	17.9	7.5	14.2	15.4	70.4
14	11.8	5.8	14.3	5.4	6.4	13.4	80.2
15	19.6	14.2	29.6	13.3	6.3	27.7	66.0
16	23.9	12.9	26.5	11.3	12.6	23.2	64.2
17	22.6	14.6	34.2	13.2	9.4	31.0	59.6
18	23.1	16.0	49.3	14.6	8.5	45.1	46.4
19	12.0	6.3	29.9	5.9	6.1	28.1	65.8
20	16.0	8.8	36.1	8.1	7.9	33.2	58.9

A : Starch solubilized by the enzyme treatment of an Ann sample containing all kinds of granules

B : Starch solubilized by the enzyme treatment of an Ann sample without ruptured granules

C : Starch solubilized by the double enzyme treatment of an Ann sample without ruptured granules

SPE : Starch partially exposed on the total starch basis

RG : Ruptured granules

DG : Damaged granules

IG : Intact granules

* Mean of triplicate determinations

粒子の中には、沈降速度の小さい細かい粒子も存在するが、このような粒子の含量は比較的少ないと考えられる。

以上の考えに基づいて、市販の菓子等からアン試料及び崩壊粒子除去試料を調製し、酵素処理によるデンプンの溶解率を測定した (Table 1)。その結果、アン試料 No. 1~20 の溶解率 (A) は、8.8~43.2% の範囲内にあって、平均 $20.0 \pm 8.4\%$ (± の値は標準偏差値、以下同様) であった。崩壊粒子除去試料の溶解率 (B) は、5.8~40.3% の範囲内にあって、平均 $14.1 \pm 8.2\%$ であった。これらの結果から、アン試料中のデンプンの溶解率には、崩壊粒子のほかは損傷粒子に由来するデンプンも寄与しているものと考えられる。従って、アン試料中

のデンプンの溶解率のみからは崩壊粒子含量を求めることはできない。

A 値と B 値の関係をみると、両者の間には厳密な比例関係はなかった。このことは、A 値が崩壊粒子及び損傷粒子のデンプンの存在状態を、また、B 値が損傷粒子のデンプンの存在状態をそれぞれ反映していると考えられることから当然のことである。

2. 崩壊粒子の定量法

アン試料及び崩壊粒子除去試料の酵素処理によるデンプンの溶解率から、次の仮定に基づいて、アン試料の崩壊粒子の含量を算出する方法を検討した。すなわち、(1) アン試料は完全粒子、損傷粒子及び崩壊粒子からなり、こ

の試料の酵素処理によるデンプンの溶解率は崩壊粒子に由来するすべてのデンプンと損傷粒子に由来する一部のデンプンに基づく、(2) 崩壊粒子除去試料は完全粒子と損傷粒子からなり、この試料のデンプンの溶解率は損傷粒子に由来する一部のデンプンに基づく、(3) デンプンとデンプン以外の成分との重量比は3種類の粒子で変わらない、と仮定する。アン試料及び崩壊粒子除去試料のデンプンの溶解率をそれぞれA、B% とし、また、アン試料中の総デンプン量に対する、崩壊粒子に由来するデンプン量及び損傷粒子に由来する一部のデンプン量の比率をそれぞれRG、SPE% とすると、次式が成立する。

$$A = RG + SPE \quad (1)$$

$$SPE / (100 - A) = B / (100 - B) \quad (2)$$

式(1)、(2)より式(3)が成立する。

$$RG = 100 (A - B) / (100 - B) \quad (3)$$

前述の仮定より、RG は崩壊粒子に由来するデンプン量の比率であると同時に、アン試料を構成している3種類の粒子の中で占める崩壊粒子量の割合となる。従って、式(3)より、アン試料の崩壊粒子含量（厳密には推定値）を求めることができる。

この方法に従って、市販の菓子等のアン試料の崩壊粒子含量を算出した結果、Table 1 に示したように、試料によって違いはあるものの、0~14.2% の範囲内であって、平均 $6.9 \pm 3.6\%$ と比較的低含量であった。

3. 損傷粒子の定量法

崩壊粒子除去試料の酵素処理によるデンプンの溶解率は、主として損傷粒子中の一部のデンプン、すなわち、粒子表面の損傷によって酵素との接触が容易になった一部のデンプンに由来すると考えられる。このような損傷粒子では、1回の酵素処理によって一部のデンプンが溶解した後、酵素処理をくり返し行くと、残りのすべてのデンプンも溶解するようにとなると考えられる。

そこで、3点のアン（試料 No. 3, 9, 14）の崩壊粒子除去試料及びアズキ乾燥アンを用いて、酵素処理をくり返し行い、処理回数とデンプンの溶解率との関係を調べた。その結果、1, 2, 3回の酵素処理によるデンプンの溶解率は、それぞれ、試料 No. 3 では17.8, 45.9, 57.6%, 試料 No. 9 では40.3, 70.1, 82.7%, 試料 No. 14 では5.8, 14.3, 17.7%, アズキ乾燥アンでは3.1, 9.5, 7.1%であった。これらの結果から、アズキ乾燥アン以外の試料では、酵素処理の回数の増加に伴って溶解率も増加したものの、1回目の溶解率に対する2回目の溶解率の増加率（73~157%）は、2回目に対する3回目の溶解率の増加率（17~25%）に比較して著し

く大きいことがわかった。また、アズキ乾燥アンでは、2回目の溶解率は1回目の溶解率に比べて増加したものの、3回目の溶解率は2回目の溶解率とほとんど変わらなかった。従って、損傷粒子のデンプンの大部分は2回の酵素処理によって溶解するものと推定される。

以上の結果及び考察に基づいて、損傷粒子中の大部分のデンプンは2回の酵素処理によって溶解するものと仮定し、アン試料の損傷粒子含量を求める方法を検討した。2回の酵素処理によるデンプンの溶解率をC% とし、アン試料中の総デンプン量に対する、損傷粒子のデンプン量の比率をDG% とすると、式(4)が成立し、式(1)、

$$DG / SPE = C / B \quad (4)$$

(3)、(4)より、式(5)が成立する。

$$DG = C (100 - A) / (100 - B) \quad (5)$$

DG 値は損傷粒子のデンプンの割合であると同時に、アン試料を構成する3種類の粒子の中で占める損傷粒子量の割合にもなる。従って、式(5)より、アン試料の損傷粒子含量（厳密には推定値）を求めることができる。

市販の菓子等から調製した崩壊粒子除去試料について測定したC値をTable 1 に示した。C値はいずれの試料でもB値より大きく、14.3~70.1% の広い範囲にわたっており、平均値は $33.6 \pm 13.6\%$ であった。前記の方法に従って算出した損傷粒子含量もTable 1 に示した。損傷粒子含量は試料によって異なり、13.4~66.7% の広い範囲内であって、平均 $31.3 \pm 12.7\%$ であった。

B値とSPE値を比較すると、SPE値は5.4~38.3% の範囲内であって、平均値は $13.1 \pm 7.6\%$ となり、この値はB値の平均値（ $14.1 \pm 8.2\%$ ）とほとんど差がなかった。これはRG値が小、つまり崩壊粒子が少なかったためである。

次に、B値とC値の関係及びSPE値とDG値の関係をみると、概して、B値が大きいものはC値も大きく、また、SPE値が大きいものはDG値も大きかった。このことから、C値を測定してDG値を算出する代わりに、B値またはSPE値を損傷粒子含量の目安になる値として利用できるのではないかと考えられる。

アン試料中には崩壊粒子に由来するデンプン以外に、損傷粒子に由来する糊化流出デンプンも存在するのではないかと考えられる。本方法では、このようなデンプンもすべて崩壊粒子に由来するものと見なすことから、真の値に比べて崩壊粒子量を多く、また、損傷粒子量を少なく見積もることになる。しかし、製アン工程によっては（例えば加熱工程）、デンプンが糊化流出し始めると、損傷粒子中の残りの大部分のデンプンも糊化流出するこ

とが考えられる。従って、このような粒子は崩壊粒子と見なしでも良いのではないかと考えられる。

なお、アン試料の完全粒子量の割合 IG% は式 (6) より求めることができる。この方法により算出した完全

$$IG = 100 - (RG + DG) \quad (6)$$

粒子含量も Table 1 に示した。この値は平均 61.7 ± 12.9% であった。

4. 市販の菓子・アンパンのアン及び乾燥アンのアン粒子の構成

Table 1 から、実験に供したすべてのアンのアン粒子の構成についてみると、平均的な構成は、崩壊粒子が 6.9% と最も少なく、損傷粒子が 31.3% とやや多く、完全粒子が 61.7% と最も多かった。また、アン相互間でみると、各試料間での違いは認められるものの、アンのグループ間、すなわち、特定の菓子用のアン、アンパン用のアン、乾燥アンの間で特に顕著な違いは認められなかった。

市販の製品中に崩壊粒子が存在する理由として、製アン時の水さらし工程で水洗いが不十分であった、あるいは練りアン工程で生じたなどが推察される。

アン粒子の崩壊や損傷の機構について、また、アン粒子の構成とアンの品質、製造技術、原料豆の品種などとの関係について明らかにすることが今後の重要な課題となる。

要 約

アンは 3 種類のアン粒子、すなわち、完全粒子、損傷粒子及び崩壊粒子から構成されていると仮定し、アン粒

子の α -アミラーゼ処理によるデンプンの溶解率に基づいて、アン中の崩壊粒子及び損傷粒子の定量方法を検討した。その結果、3 種類のアン粒子を含むアン試料と崩壊粒子以外の粒子を含む崩壊粒子除去試料の α -アミラーゼ処理によるデンプンの溶解率をそれぞれ A, B% とすると、アン試料中の崩壊粒子の割合 RG% は式 (1)

$$RG = 100 (A - B) / (100 - B) \quad (1)$$

により推定することができる。また、崩壊粒子除去試料の 2 回の α -アミラーゼ処理によって損傷粒子中のほとんどのデンプンは溶解すると考えられたことから、その時の溶解率を C% とすると、アン試料中の損傷粒子の割合 DG% は式 (2) により推定することができる。市販

$$DG = C (100 - A) / (100 - B) \quad (2)$$

の菓子及びアンパンのアン、並びに乾燥アンから調製した合計 20 点のアン試料を上記の方法で分析した結果、アン粒子の平均的構成は完全粒子 61.7%, 損傷粒子 31.3%, 崩壊粒子 6.9% であった。

本研究の概要は本学会第 32 回大会 (1985 年 3 月) において発表した。

文 献

- 1) 釘宮正往・平田 健: 日食工誌, **34**, 581 (1987).
- 2) 小川 健・安部章蔵・釘宮正往: 日食工誌, **30**, 323 (1983).
- 3) DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. and SMITH, F.: *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956).

(昭和 62 年 2 月 16 日受理)