小豆の子葉組織内デンプンの糊化

藤村知子*・釘宮正往*

Gelatinization of Starches inside Cotyledon Tissues of Adzuki Bean

Tomoko FUJIMURA* and Masayuki KUGIMIYA*

* Department of Food and Nutrition, Hiroshima Women's University,
1-1-17, Ujina-higashi, Minami-ku, Hiroshima 734

Cotyledon tissues of adzuki bean (*Vigna angularis*) were prepared by soaking cotyledons in water at 20°C for 22 h and then cutting into about 1.5 mm cubes. Heating the tissues up to 95°C in excess water resulted in nearly complete loss of birefringence of starches inside tissues. The heating, however, caused neither the softening of tissues nor the separation of cotyledon cells. These results indicated that the structure of tissues remained almost intact after heating up to 95°C. The gelatinization of starches inside tissues was studied by differential scanning calorimetry (DSC). DSC thermogram of tissues showed an endothermic transition with peak temperature at about 74°C which trailed a shoulder up to about 100°C. While the DSC curve of tissues was similar to that of cotyledon cells, the onset (To), peak (Tp) and conclusion (Tc) temperatures of endotherm were higher than those for cells by 2~4°C. The transition enthalpy (cal/g starch) obtained for the tissues was almost the same as those for isolated starches and starches inside cotyledon cells. To, Tp and Tc for ground beans were higher than those for isolated starches by about 2~3°C. The temperatures for isolated starches and cotyledon cells were shifted to higher temperatures by about 1~4°C by adding water extracts of adzuki beans. From these results, it was concluded that the gelatinization of tissues was suppressed compared with those of isolated starches and starches inside cells. It was assumed that the higher temperature transition for the tissues might reflect the gelatinization, melting of crystallites, of starches in limited supply of water. The suppression of gelatinization might be attributed to not only the physical strength of cell walls but also the structure of tissues and water-soluble substances.

(Received Feb. 14, 1994)

豆類の子葉組織やイモ類のズイ組織の中に含まれるデンプン（組織内デンプン）の糊化は、これらの食品の調理・加工技術および調理・加工品の品質と密接に関係すると考えられる¹⁾²⁾。単離したデンプンの糊化については詳細な研究がなされているが¹⁾²⁾、組織内デンプンの糊化についての研究は少ない。すでに偏光十字消失割合からみたライマメの子葉組織内デンプンの糊化温度範囲が単離デンプンと比較して高温側にシフトし³⁾、また、示差熱分析 (DTA) による熱的性質からみた馬鈴薯、甘藷等のイモ類の組織内デンプンの糊化温度が高温側にシフトするとの報告⁴⁾はあるが、その糊化抑制の要因につ

いては検討がなされていない。

著者らは豆類の子葉細胞内に存在するデンプン（細胞内デンプン）の糊化の機構を明らかにするために、小豆およびソラ豆を用いて、デンプンを糊化することなく子葉細胞を分離し、それを用いて細胞内デンプンの糊化について検討を行った。その結果、小豆、ソラ豆いずれの場合にも細胞内デンプンの糊化は単離デンプンに比べて抑制されることが明らかとなった^{5)~7)}。この糊化抑制には、細胞壁の強靱さによって水の供給が妨げられることが大きく関与しているのではないかということが示唆された⁶⁾⁷⁾。

* 広島女子大学 (〒734 広島市南区字品東 1-1-71)

多数の細胞が細胞間物質（ペクチン質）によって接着し、成り立っている組織の中では、デンプンの糊化は細胞内デンプンの糊化と同様に、細胞壁の強靱さの影響を受けると同時に、その他の組織内に含まれる様々な成分や細胞の集合体としての組織構造の影響を受けると考えられる。本研究では、小豆を用いて子葉組織内デンプンの糊化について、組織内デンプンの糊化と単離デンプン、細胞内デンプンの糊化との比較から検討を行った。また組織内デンプンの糊化に対する水抽出物の影響についてDSCにより検討した。

実 験 方 法

1. 試料

市販の平成2年度北海道産大納言小豆を用いた。単離デンプンおよび子葉細胞は既報⁵⁾の方法にしたがって調製した。

2. 子葉組織の調製

小豆は、その10倍量の水に20℃で22時間浸漬した後、種皮および胚軸部を取り除き、子葉を一边が約1.5 mmの立方体（約7 mg）となるように切断した。子葉組織切片を水洗いすることによって、切断面から露出したデンプン粒を取り除き、これを子葉組織試料とした。デンプン含量は、子葉組織をテフロンホモジナイザーを用いてホモジナイズした後、既報⁶⁾と同様の方法で求めた。

3. 粉碎小豆の調製

既報⁵⁾の方法にしたがって、種皮を除かずに超高速粉砕機（（株）三田村理研工業製）を用いて粉碎したものを粉碎小豆とし、崩壊組織のモデルとした。顕微鏡観察を行ったところ、ほとんどの細胞が崩壊していた。

4. 小豆水抽出物の調製

粉碎小豆20 gに水200 mlを加え、25℃で1時間攪拌して水溶性成分の抽出を行った。抽出後、遠心分離（3 000 rpm, 30分）により不溶物を取り除き、上澄み液を凍結乾燥して水抽出物とした。水抽出物の収量は無水物換算で約24.5%であり、そのタンパク質含量はトリクロル酢酸法⁸⁾により測定したところ26.6%であった。

5. 小豆の粉碎種皮の調製

小豆の粉碎種皮（乾燥物）は藤原らの方法⁹⁾で調製した。収量は無水物換算で小豆の約12.7%であった。

6. 示差走査熱量測定（DSC）

DSCは既報⁶⁾に示した方法にしたがって行い、特性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 ）、エンタルピー（ ΔH ）を測定した。小豆組織お

よび粉碎小豆については、それぞれ約7 mgの試料に水45 μ lを加えてDSCに供した。また、水抽出物の影響については、水抽出物の収量および粉碎小豆のデンプン含量⁴⁾を考慮して、単離デンプン約5 mgもしくは子葉細胞約7 mgに水抽出物約1.9 mgを加え、さらに水50 μ lを加えて銀製容器に密封し、DSCに供した。粉碎種皮の影響については、同様に単離デンプン約5 mgもしくは子葉細胞約7 mgに粉碎種皮約1 mgを加え、さらに水約50 μ lを加えてDSCに供した。

7. 子葉組織の加熱による軟化の判定

子葉組織試料に十分量の水を加えて95℃に達するまでDSCの場合と同じ昇温速度（約1℃/分）で加熱した。60℃から5℃昇温するごとに組織を取り出し、スライドガラス上でミクロスパーテルを用いて軽く押しつぶして、軟化の判定を行うと同時に細胞の分離状態を顕微鏡で観察した。併せて偏光十字の消失割合を測定した⁵⁾。

実 験 結 果

1. 子葉組織の加熱による軟化

子葉組織を十分量の水の存在下で加熱したところ、偏光十字は65℃から消失し始め90℃で約96%消失した（Fig. 1）。これは、加熱条件は異なるが、細胞内デンプンの場合の偏光十字消失割合⁵⁾とほぼ同じであった。しかしながら、95℃まで加熱しても組織を押しつぶすのに力を要し、押しつぶしたものの顕微鏡観察を行ったところ細胞壁が壊れ、デンプンが細胞外に流出していた。これらのことから、95℃での加熱ではデンプンは糊化するが組織の軟化は起こらず、組織構造がほぼ完全に残存していることが明らかとなった。

2. 子葉組織のDSC

子葉組織のDSCを行い、DSC曲線の一例をFig. 2に、また特性値をTable 1に示した。なお、単離デンプンおよび子葉細胞のDSC曲線および特性値⁶⁾を比較のためにFig. 2およびTable 1に再掲した。子葉組織は T_p が約74℃で、約84℃をショルダー（またはピーク、明確な区別はできなかった）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。この曲線の形および特性値を単離デンプンおよび子葉細胞の場合と比較すると、ショルダーまたはピークが高温側にシフトしたことを除いて曲線の形は子葉細胞の場合と極めて類似しており、また ΔH はデンプン含量を補正すると単離デンプンおよび子葉細胞（細胞内デンプン）の場合とほとんど同じであった。したがって、子葉組織のDSC曲線は組織内デンプンの糊化を反映したものと考えられる。細胞内デ

Fig. 1 Effect of heating temperature on loss of birefringence of starches inside tissues

The tissues were heated in excess water at heating rate of 1°C/min. A piece of tissue was taken out at a desired temperature and subjected to the measurement of loss of birefringence after cooling.

ブンの場合⁶⁾と同様に、組織内デンプンの糊化は、低温部および高温部の二つの吸熱反応から成り、高温部で糊化が生ずることから、単離デンプンの場合と比較して抑制されると考えられる。また、単離デンプンおよび細胞内デンプンと比べて T_o は約 2~3°C, T_p は 3~4°C, T_c は単離デンプンに比べて約 19°C, 細胞内デンプンに比べて約 2°C 高温であった。したがって、組織内デンプンの糊化は、低温部と高温部のすべての温度範囲で単離デンプンおよび細胞内デンプンの場合と比較して抑制されるのではないかと考えられる。

3. 粉碎小豆の DSC

粉碎小豆の DSD の結果を Fig. 2 および Table 1 に示した。粉碎小豆の DSC 曲線は約 73°C をピークとするほぼ単一の吸熱曲線であった。ΔH はデンプン含量を補正すると子葉組織、子葉細胞、単離デンプンの ΔH とほとんど同じであった。特性値は、子葉組織の場合と比較すると T_o , T_p は約 1°C 低温で T_c は約 16°C 低温であり、単離デンプンの場合と比較すると T_o , T_p , T_c は約 2~3°C 高温であった。これらの結果から、粉碎小豆の DSC 曲線は組織が崩壊した状態でのデンプンの糊化を反映し

Fig. 2 DSC thermograms of cotyledon tissues (A) and ground beans (B) in excess water

- (A) cotyledon tissues (3.54 mg on dry basis)
- (A') cotyledon cells (8.66 mg)
- (B) ground beans (6.67 mg)
- (B') isolated starches (4.49 mg)

たものと考えられる。また、粉碎小豆の糊化は単離デンプンの糊化に類似しているものの、やや高温側で生じることから単離デンプンに比べて抑制されることが明らかとなった。

4. 単離デンプンおよび子葉細胞の DSC に及ぼす水抽出物の影響

小豆に含まれる水溶性成分が組織内デンプンの糊化に及ぼす影響について調べるために、単離デンプンおよび子葉細胞の DSC に及ぼす水抽出物の影響を検討し、その結果を Fig. 3 および Table 1 に示した。水抽出物に水を加えた場合の DSC 曲線は、図示していないが全くピークを示さなかった。水抽出物存在下での単離デンプンおよび子葉細胞の DSC 曲線は、基本的にそれぞれ単離デンプンおよび子葉細胞の DSC 曲線と類似しており、ΔH もデンプン含量を補正すると単離デンプンおよび子葉細胞の場合とほとんど同じであった。しかし、水抽出物の添加により単離デンプンの場合の T_o , T_p , T_c はそれぞれ約 1, 3, 4°C 高温となり、子葉細胞の場合も約 1~2°C 高温となった。水抽出物存在下での単離デンプンの T_o , T_p , T_c を粉碎小豆の場合と比較するとその差は±1°C であり、両者はほとんど同じであった。これらの結果から、組織内デンプンの糊化抑制には、わずか

Table 1 DSC characteristics of cotyledon tissues, ground beans, and isolated starches and cotyledon cells in the presence of water extracts or ground peels

	Endothermic transition (°C)			ΔH (cal/g anhydride)
	To ¹⁾	Tp ²⁾	Tc ³⁾	
Cotyledon tissues	66.0±2.8	73.8±1.5	99.8±1.7	1.4±0.0 (2.7±0.0) ⁴⁾
Ground beans	65.3±1.1	72.7±0.3	84.2±0.6	1.8±0.0 (2.9±0.1) ⁴⁾
Isolated starches and water extracts	64.7±0.4	73.6±0.4	85.4±1.0	2.6±0.1 (2.8±0.1) ⁴⁾
Cotyledon cells and water extracts	64.5±0.7	71.6±0.4	99.0±0.4	2.0±0.2 (2.7±0.2) ⁴⁾
Isolated starches and ground peels	64.3±0.1	71.6±0.3	82.6±0.5	2.6±0.1 (2.8±0.1) ⁴⁾
Cotyledon cells and ground peels	64.1±0.5	70.6±0.0	98.8±3.0	2.0±0.1 (2.7±0.1) ⁴⁾
Isolated starches ⁵⁾	63.7±0.5	70.5±0.7	81.0±0.6	2.8±0.2
Cotyledon cells ⁵⁾	63.5±1.3	69.8±0.5	97.8±1.7	2.0±0.2 (2.7±0.3) ⁴⁾

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

1) Onset temperature ; 2) Peak temperature ; 3) Conclusion temperature ; 4) ΔH (cal/g starch) ;

5) Quoted from reference 5).

ではあるが水溶性成分が関与するのではないかと考えられる。

5. 単離デンプンおよび子葉細胞の DSC に及ぼす粉砕種皮の影響

デンプンの糊化に及ぼす種皮の影響を調べるために粉砕種皮存在下で単離デンプンおよび子葉細胞の DSC を行い、その結果を Fig. 3 および Table 1 に示した。ΔH に対する影響はほとんど認められなかった。To, Tp, Tc は単離デンプンの場合に約 1~2°C, 子葉細胞の場合に約 1°C 高温になった。これらの結果から、種皮または種皮中の水溶性成分はデンプンの糊化に対してもわずかながらあるが抑制的に働くのではないかと考えられる。

考 察

豆は調理によって軟化し、その際細胞内デンプンは糊化する。豆の軟化は中葉の崩壊によって細胞分離が生ずることに起因するものである。ライマメの場合には約 76°C で細胞分離が起こり、次いでより高温で細胞内デンプンの糊化が生じると報告されている³⁾が、本研究の小豆の場合には、デンプンの糊化がほとんど完了する 95°C でも組織の軟化による細胞分離は認められなかった。これに加えて小豆子葉組織の DSC で得られた ΔH が単離デンプンの場合とほぼ同じであったこと、また子葉細胞の DSC 曲線に対するタンパク質の寄与が無視できたこと⁶⁾を考え合わせると、子葉組織の DSC 曲線は組織構造が維持された状態で細胞内デンプンの糊化、すなわち組織内デンプンの糊化を反映したものと考えられる。こ

の考えに基づいて組織内デンプンの糊化について若干の考察を行う。

子葉組織の DSC 曲線は、約 74°C をピークとする低温部の吸熱反応と約 84°C をショルダーまたはピークとする高温部の吸熱反応の二つの異なる糊化の機構を反映したものと考えられる。これは子葉細胞の場合⁶⁾と基本的には全く同じであった。また、To, Tp は組織構造を崩壊した粉砕小豆の場合とほぼ同じであり、高温部の吸熱反応は粉砕小豆の場合にはほとんど消失した。このことから、組織内デンプンの高温部の吸熱は細胞壁の強靱さや組織構造によるのではないかと考えられる。低水分下での高温部の吸熱反応についてはいくつかの解釈^{10)~13)}があるが、基本的には低水分下での結晶の融解を反映したものと言える。したがって、DSC 曲線に見られた高温部の吸熱反応は、細胞内デンプンの糊化と同様に細胞壁の強靱さのために水の供給が制限された状態（低水分下）で生ずる糊化（結晶の融解）に起因すると考えられる。高温部のショルダーまたはピークが子葉細胞の場合よりも高温側にシフトしたのは、子葉細胞の場合に比べて水分の供給がより制限された状態で糊化が生じることの反映しているのではないかと考えられる。この結果から、子葉組織の To, Tp, Tc が水抽出物存在下での子葉細胞の場合と比較して約 1~2°C 高温であったことを考え合わせると、組織内デンプンの糊化抑制には細胞壁の強靱さ以外に、細胞の集合体である組織構造も関与しているのではないかと推察される。

また、粉砕小豆の To, Tp および Tc が単離デンプン

Fig. 3 DSC thermograms of isolated starches and cotyledon cells in the existence of water extracts or ground peels of adzuki beans in excess water

- (A) isolated starches (4.73 mg) with water extracts (2.15 mg)
- (B) cotyledon cells (6.50 mg) with water extracts (2.01 mg)
- (C) isolated starches (4.91 mg) with ground peels (1.21 mg)
- (D) cotyledon cells (5.90 mg) with ground peels (0.91 mg)

の場合と比較して高温であったのは、崩壊した水不溶性の細胞壁や水溶性成分などの影響が考えられる。しかし、水抽出物を単離デンプンに加えて DSC を行ったところ、吸熱曲線は単離デンプンの吸熱曲線に比べて高温側へ移動し、 T_o 、 T_p および T_c は粉碎小豆の場合とほぼ同じ値となった。また、 ΔH についてもデンプン含量を補正するとほぼ同じ値であった。したがって、デンプンの糊化抑制に対しては、崩壊した水不溶性の細胞壁ではなく、水溶性成分が影響すると考えられる。これらのことから、子葉組織の DSC 曲線が子葉細胞の DSC 曲線に比べてやや高温側へ移動したのも、水溶性成分がデンプンの糊化に対して抑制的に働いたためではないかと考えられる。その一部には種皮および種皮中に含まれる水溶性成分も関与していると考えられる。なお、水抽出物中の有効因子については検討を行っていないが、ある種の塩類^{(14)~(16)}、また低分子の糖類^{(17)~(18)}など水溶性物質の添加によって DSC 曲線が高温側にシフトすることが報告されていることから、水溶性成分の関与が考えられ

る。

以上の結果および考察から、組織内デンプンの糊化は、基本的には細胞内デンプンの場合と同様に低温部では十分な水の存在下での単離デンプンの糊化と同様の機構で生じ、高温部では細胞壁や組織構造の強靱さによって糊化に必要な水の供給が子葉細胞の場合よりもさらに制限され、低水分下における結晶の融解という形で生じると考えられる。糊化温度範囲 ($T_o \sim T_c$) は細胞内デンプンに比べてやや高温側へシフトしており、組織内デンプンの糊化抑制には細胞壁や組織構造の強靱さに加えて、水抽出成分も関与するのではないかと推察した。

要 約

一辺が約 1.5 mm の立方体に切断した子葉組織試料を十分量の水の存在下で 95°C まで加熱したところ、デンプン粒の偏光十字はほぼ完全に消失したが、組織は軟化しなかった（細胞分離は認められなかった）。この結果をふまえて、子葉組織の DSC を行い、組織内デンプンの糊化を検討した。子葉組織の DSC 曲線は、約 74°C をピークとし、約 84°C 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であった。この曲線の形および特性値を単離デンプン、子葉細胞、粉碎小豆の場合と比較した。その結果、組織内デンプンの糊化は、基本的には細胞内デンプンの糊化と同様に、低温部では十分量の水の存在下での糊化であり、高温部では水の供給が制限された状態でのデンプンの糊化（結晶の融解）であった。また、粉碎小豆の T_o 、 T_p 、 T_c が単離デンプンに比べて約 2°C 高温であったことや単離デンプンおよび細胞内デンプンの吸熱曲線が小豆から抽出した水溶性成分の添加によってわずかに（約 1~4°C）高温部へシフトしたことから、組織内デンプンの糊化抑制には、細胞壁や組織構造の強靱さ以外に水溶性成分も関与するのではないかと推察した。

文 献

- 1) 鈴木綾子：澱粉科学, **40**, 233 (1993).
- 2) 高橋禮治：食品工業, **36** (10), 26 (1993).
- 3) HAHN, D.M., JONES, F.T., AKHAVAN, I. and ROCKLAND, L.B.: *J. Food Sci.*, **42**, 1208 (1977).
- 4) 高橋浩司・白井邦郎・和田敬三・川村 亮：農化, **52**, 441 (1978).
- 5) 藤村知子・釘宮正往：日食工誌, **40**, 490 (1993).
- 6) 藤村知子・釘宮正往：日食工誌, **40**, 702 (1993).
- 7) FUJIMURA, T., LIU, X.Y. and KUGIMIYA, M.: *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, under submission.

- 8) 小原哲二郎編：食品化学実験（建帛社，東京），p. 85（1976）.
- 9) 藤原智子・梶田武俊：家政研（奈良），**34**，1（1987）.
- 10) DONOVAN, J.W. : *Biopolymers*, **18**, 263（1979）.
- 11) EVANS, I.D. and HAISMAN, D.R. : *Starch*, **34**, 224（1982）.
- 12) BELIADERIS, C.G., PAGE, C.M., MAURICE, T.J. and JULIANO, B.O. : *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 6（1986）.
- 13) WANG, S.S., CHIANG, W.C., ZHAO, B., ZHENG, X.G. and KIM, I.H. : *J. Food Sci.*, **56**, 121（1991）.
- 14) OOSTEN, B.J. : *Starch*, **42**, 327（1990）.
- 15) LIJ, C.Y. and LEE, B.L. : *Cereal Chem.*, **70**, 188（1993）.
- 16) JANE, J.L. : *Starch*, **45**, 161（1993）.
- 17) KIM, C.S. and WALKER, C.E. : *Cereal Chem.*, **69**, 212（1992）.
- 18) KIM, C.S. and WALKER, C.E. : *J. Food Sci.*, **57**, 1009（1992）.

（平成6年2月14日受理）