

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：25406

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15772

研究課題名（和文）澱粉の老化に伴うゲル構造および結晶構造の形成が老化澱粉の物性に及ぼす影響

研究課題名（英文）Effect of gel and crystal structures of retrograded starch on textural properties of gelatinized starch

研究代表者

石橋 ちなみ (Ishibashi, Chinami)

県立広島大学・地域創生学部・助教

研究者番号：80823418

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、澱粉の老化による物理的な構造形成機構と物性変化との関連性を明らかにすることを目的とした。澱粉濃度15%、30%のゲルは、いずれも4 月の保存により老化した。テクスチャーにおいては、保存により澱粉30%は脆くて硬い物性になった一方、澱粉15%では物性の顕著な変化は認められなかった。これは、澱粉15%では、老化澱粉量が少ないため構造構築に至らず、老化しても物性に反映されなかったと推察された。以上より、澱粉の老化がゲルの物性に及ぼす影響は、澱粉濃度によって異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

澱粉の老化は、糊化した澱粉の保存により硬さ、脆さといった物性が変化する現象である。このことから、老化によって生じる物性変化を把握し、老化を制御することが重要である。本研究は、保存により澱粉30%は脆くて硬い物性へと変化する一方、澱粉15%では物性の顕著な変化は認められず、物性変化の程度は澱粉濃度によって大きく異なることを見出した。本研究は、澱粉加工品における保存による経時的な物性変化の要因解明あるいは物性制御のための基礎的知見として役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：We have investigated the relationship between the formation of physical structure and changes in texture during retrogradation of starch. Gels containing 15% or 30% starch retrograded during storage at 4 °C. Textural evaluation showed that 30% starch gel became harder and brittle, while 15% starch gel was almost the same during storage. It was suggested that 15% starch gel could not construct the physical structure because of the small amount of retrograded starch. These results revealed that the effects of retrogradation on textural properties of gelatinized starch were different depending on the concentrations of starch.

研究分野：食品加工学，調理科学

キーワード：澱粉 老化 ゲル 結晶 物性 構造 アミロース アミロペクチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

澱粉は、加熱による糊化により食味・食感、消化性の適した状態となった後、冷蔵、保存時に生じる老化によって硬く、消化性の悪い状態となる。老化した澱粉は一般的に好まれないが、老化による硬化や粘着性の減少といった特性を生かした製品（シリアル、乾燥マッシュポテト等）もある（Karim et al., Food Chem., 2000）。故に、老化は単に抑制させる現象ではなく、老化によって生じる物性変化（硬さ、凝集性、弾力性等）を把握し、老化を制御することが必要な現象である。

老化とは、ゲル構造（ネットワーク、凝集体）や結晶構造の形成といった一連の物理的な構造変化を指す（Hoover et al., Food Res. Int., 2010）。半世紀にわたる澱粉の老化に関する知見をまとめたレビュー（Wang et al., Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2015）は、老化現象の理解が極めて困難とされる要因を指摘しており、老化による一連の物理的な構造変化（ゲル構造、結晶構造の形成）に伴い、物性が複雑に変化していくこと、老化に影響を及ぼす要因は多岐に渡り（澱粉濃度、保存温度など）、それらが老化澱粉の結晶構造に影響すること（Shamai et al., Biomacromolecules, 2004, Osella et al., Starch, 2005）、老化澱粉の測定は、老化による一連の物理的な構造変化の異なる過程を測定している（例：X線回折測定...老化澱粉の結晶多形評価、動的粘弾性装置...老化澱粉のゲル構造評価）ため、測定の結果が一致しないことによると述べている。

以上のことから、膨大な数の老化澱粉の研究が行われているにもかかわらず、老化による一連の物理的な構造変化（ゲル構造や結晶構造の形成）と物性との関連性を系統的に明らかにした研究はみられない。

### 2. 研究の目的

本研究で明らかにする学術的「問い」は、澱粉の老化過程において、老化澱粉のゲル構造や結晶構造はどのように構築されていき、老化に伴う物性変化に影響を及ぼしているのか、老化に影響を及ぼす要因（澱粉濃度、保存温度）は老化澱粉のゲル構造および結晶構造に対してどのように影響し、老化に伴う物性変化に影響するのか、である。そこで本研究では、老化に影響を及ぼす要因（澱粉濃度、保存温度）を踏まえ、老化による物理的な構造形成機構（ゲル構造、結晶構造）と物性変化との関連性を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 澱粉ゲルの調製

澱粉は小麦澱粉（ナカライテスク（株））を用いた。小麦澱粉のアミロース含量は  $25.8 \pm 0.4\%$  であった（アミロース/アミロペクチン測定キット（メガザイム社）を用いて測定）。

澱粉ゲルの調製は、まず、小麦澱粉の濃度が 15, 30, 50% (w/w) となるように水を加え、室温（25℃）で一晩静置した。その後、60℃のウォーターバス中で澱粉-水混合物を攪拌（スリーワンモータ, 200rpm, 8分間）して予備糊化を行った後、ガラス容器（18.5×18.5cm）に流し入れ、30分間蒸し加熱を行って澱粉を糊化させた。加熱後、25℃で60分間放冷した後の試料を保存0時間とし、4℃あるいは25℃のインキュベーターで3時間、8時間、1日、3日、5日、7日間保存した。調製した澱粉ゲルは、縦18.5cm、横18.5cm、厚さ約2mmのシート状のゲルであり、調製方法の違いによる影響をなくするため、偏光顕微鏡観察を除き、すべての測定においてシート状のゲルを用いた。

#### (2) 示差走査熱量測定（DSC）

示差走査熱量計 DSC7000X（（株）日立ハイテクサイエンス）を用いて、澱粉の老化による結晶構造の有無を確認した。試料はシート状のゲルを凍結乾燥後、粉末化したものを用いた。測定はDSC アルミパンに粉末化試料 1mg と水 8mg を加え、一晩静置後、20℃から90℃の昇温加熱（昇温速度 5℃/min）により行った。

#### (3) 動的粘弾性測定

動的粘弾性測定装置 RS6000（HAAKE Rheowin）を用いて、貯蔵弾性率  $G'$ 、損失弾性率  $G''$  の応力依存測定、周波数依存測定を行い、澱粉濃度や保存温度、保存時間による構造の違いを調べた。試料には、シート状のゲルを円形状（ $\phi$  37mm）にくり抜いたものを用いた。測定には平行プレート（ $\phi$  35mm）を用い、ギャップはシート状のゲルの厚み（約2mm）となるよう調整した。各測定はプレートに試料をセットした後、ウェイトングタイム 2分で行った。測定は、応力依存測定（応力 10~1000Pa, 周波数 1Hz, 測定温度 25℃）、周波数依存測定（周波数 0.1~10Hz, 応力 100Pa, 測定温度 25℃）で行った。

#### (4) テクスチャー測定

テクスチャー測定では、テクスチャーアナライザーEZ（（株）島津）を用いて、保存に伴う澱粉ゲルの物性変化を調べた。試料は澱粉 15%, 30%のゲルとし、シート状のゲルを正方形（5.7×5.7mm）にくり抜いたものを用いた。穴の開いた円柱状の台（穴の直径 25mm, 円柱の直径 35mm）に試料を乗せ、針状プランジャーを用いてストローク 15mm, ストロークスピード 50mm/min の貫

通試験を行った。破断曲線の最大値を最大応力、最大応力時における移動距離を破断歪として求めた。有意差検定は、一元配置分散分析の後、多重比較はTurkeyのHSD検定を行った。有意水準は $p < 0.05$ とした。

#### (5) 偏光顕微鏡観察

偏光顕微鏡 BX53LED(オリンパス(株))を用いて、澱粉の結晶化および融解挙動を観察した。小麦澱粉 75mg と蒸留水 500mg を混合した懸濁液 15 $\mu$ L を 2 枚のカバーガラス(24 $\times$ 24mm の角型、直径 22mm の丸型)で挟み、顕微鏡用ペルチェ式冷却加熱ステージ(Linkam Scientific Instruments社)上で温度を制御した。温度条件は、25 から 80 まで 5 /min で昇温し、1 分間保持した後、4 まで 5 /min で冷却した。その後、ステージ上で 4 で 3 日間保存した後、2 /min で 90 まで昇温した。4 の保存中および保存後の昇温過程における澱粉の結晶化および融解挙動を顕微鏡用デジタルカメラ DP22(オリンパス(株))で撮影した。

### 4. 研究成果

#### (1) 示差走査熱量測定(DSC)

4 保存では、澱粉 15%は保存 5 日後、澱粉 30%は保存 1 日後、澱粉 50%は保存 3 時間後に吸熱ピークが認められた。25 保存では、澱粉 15%、30%は保存 7 日後までに吸熱ピークは認められなかったものの、澱粉 50%では保存 3 時間後に吸熱ピークが出現した。吸熱ピークは 49~54 の範囲で認められ、小麦澱粉(生)の糊化温度(61 )よりも低い温度であったことから、老化澱粉の再糊化に由来するピークと推察された。また、吸熱ピークの出現について、澱粉 15%、30%では 4 保存のみ、澱粉 50%では 4、25 保存のいずれも保存間もない 3 時間後に認められたことから、澱粉 50%で最も老化が進行することがわかった。

#### (2) 動的粘弾性測定

応力依存測定の結果、4 保存の澱粉 15%では、保存 3 日後から弾性要素を示す  $G'$ 、粘性要素を示す  $G''$  がわずかに上昇した。また、応力を変化させても  $G'$ 、 $G''$  の値がほぼ変化しない線形領域については、 $G'$  は変化がなかった一方、 $G''$  はわずかに狭くなっていた。4 保存の澱粉 30%、50%では、保存 3 時間後から、 $G'$ 、 $G''$  がいずれも上昇し、線形領域も狭くなった。25 保存では、澱粉 15%、30%はいずれも変化しなかった一方、澱粉 50%は保存 3 時間後から  $G'$ 、 $G''$  の上昇が認められ、線形領域も狭くなった。

周波数依存測定の結果、4 保存の澱粉 30%、50%では、保存により  $G''$  の傾きが緩やかとなった。これは、保存に伴いより安定な構造のゲルへと変化したことを意味しており、澱粉の老化によるものと推察された。一方、4 保存の澱粉 15%では、保存による  $G'$ 、 $G''$  の傾きに変化は認められなかった。すなわち、4 保存の澱粉 15%では老化するものの、内部構造に影響していないと推察された。25 保存では、澱粉 15%、30%はいずれも変化はなく、澱粉 50%では保存により  $G'$ 、 $G''$  が上昇した。

#### (3) テクスチャー測定

4 保存の澱粉 30%では、保存 3 日目までは保存時間の経過とともに破断歪および最大応力はともに低下した。本測定では、穴の開いた円柱状の台に試料を乗せた状態で貫通試験を行っている。したがって、最大応力が低下した結果は、破断歪が減少し、より早い時間で破断が生じたことによると考えられた。保存 3 日目以降は、破断歪は変化しなかった一方、最大応力は急激に増加した。すなわち、澱粉 30%の 4 保存では、保存 3 日目までは破断歪の変化が大きく、脆い物性になる一方、3 日目以降は最大応力が急激に上昇し、脆さに加えて、硬い物性になると推察された。一方、4 保存の澱粉 15%、25 保存の澱粉 15%、30%では、保存 7 日間を通して大きな変化はなく、保存に伴う物性の顕著な変化は認められなかった。

#### (4) 偏光顕微鏡観察

DSC では、澱粉 15%は 4 保存の 5 日後、澱粉 30%は 4 保存の 1 日後に吸熱ピークが確認された。一方、澱粉 50%は 4、25 保存いずれも保存 3 時間後には吸熱ピークが認められ、澱粉 50%では老化の進行が早いことが示唆された。この結果について、澱粉 50%では、未糊化である結晶性の澱粉が残存しており、これらの澱粉が再結晶化(老化)を促進しているのではないかと推察した。この仮説を検証するため、偏光顕微鏡下において、未糊化の澱粉がわずかに観察される温度条件(80 1分間)で加熱した後、冷却・保存することで、未糊化である結晶性の澱粉から再結晶化が生じるかを調べた。

4 の冷却直後(保存 0 時間)では、白い点としてわずかに像が観察され、未糊化の澱粉と考えられた。その後、3 時間、8 時間、1 日、3 日と保存時間が進むにつれて、白い点として観察された未糊化の澱粉結晶から結晶が成長していく様子が観察された。昇温過程においては、昇温 40 から 50 の間に結晶は消失していき、昇温 60 で結晶はほぼ消失した。結晶が消失した温度帯は、DSC で吸熱ピークが確認された温度帯(49~54 )とおおむね一致していたことから、4 保存中に成長した結晶は老化澱粉に由来するものと考えられた。澱粉 50%の DSC では小麦澱粉の糊化に由来するピークは確認されなかったものの、DSC では検出されない量の未糊化の澱粉が残存しており、これらが核となって澱粉の再結晶化(老化)を促進したと推察された。

#### (5) まとめ

澱粉ゲルの老化と澱粉濃度・保存温度との関係(澱粉濃度 15%, 30%, 50% / 4, 25 保存)  
DSC より, 澱粉 15%は 4 保存の 5 日後, 澱粉 30%は 4 保存の 1 日後, 澱粉 50%は 4 および 25 保存の 3 時間後に老化澱粉の再糊化に由来する吸熱ピークが確認された。一方, 澱粉 15%, 30%の 25 保存では吸熱ピークは出現しなかった。このことから, 澱粉濃度が高いほど老化が早いこと, また, 最も高濃度である澱粉 50%では保存温度にかかわらず, 保存間もない 3 時間後に老化することが明らかとなった。偏光顕微鏡観察では, 保存時に未糊化の澱粉が存在している条件下では, 保存に伴い, 未糊化の澱粉結晶から結晶が成長していく様子が観察された。DSC と偏光顕微鏡観察の測定条件は異なるものの, 澱粉 50%で老化が最も進行したことは, 保存時に未糊化の澱粉が残存しており, これらが核となって澱粉の再結晶化(老化)を促進したと推察された。

老化に伴う澱粉ゲルの物性・構造変化と澱粉濃度との関係(澱粉濃度 15%, 30% / 4 保存)  
DSC では, 澱粉 15%では 5 日後, 澱粉 30%では 1 日後に老化澱粉の再糊化に由来する吸熱ピークが出現した。一方, 動的粘弾性測定では, その変化よりも前に,  $G'$ ,  $G''$  の上昇や線形領域の変化が認められた。澱粉の老化は, アミロースの老化が先に生じ, その後アミロペクチンが老化すると言われている。従って, 動的粘弾性測定で確認された変化は, アミロペクチンの老化よりも早い段階で生じる, アミロースの老化によるものと考えられた。また, テクスチャー測定では, 澱粉 30%は保存 3 日目までは脆く, それ以降は硬さが顕著に増加しており, 保存過程で物性が変化していた。一方, 澱粉 15%では澱粉 30%とは異なり, 保存に伴う物性の顕著な変化は認められなかった。

いずれの濃度においても, 4 保存の DSC, 動的粘弾性測定で変化が認められたことから, 澱粉 15%, 30%のいずれも, 保存の初期段階でアミロースの老化, その後にアミロペクチンの老化が起きたと考えられた。一方, テクスチャー測定で澱粉濃度の違いによる差が認められたことは, 内部構造の違いが影響したと考えられた。すなわち, 澱粉 30%では, アミロースの老化(凝集)によってゲル構造を形成したことで「脆い」物性となり, その後アミロペクチンの老化(再結晶化)によって結晶構造を形成したことで「硬い」物性になったと推察された。一方, 澱粉濃度の低い 15%では老化澱粉量が少ないため, 構造構築に至らず, 老化しても物性に反映されなかったと考えられた。以上より, 澱粉の老化がゲルの物性に及ぼす影響は, 澱粉濃度によって異なることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 石橋ちなみ, 本同宏成, 上野聡	4. 巻 69
2. 論文標題 放射光マイクロビームX線回折法による乳化剤結晶に対する油脂の結晶化様式の解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 235-245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/nskkk.69.235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bayes-Garcia, L., Yoshikawa, S., Aguilar-Jimenez, M., Ishibashi, C., Ueno, S., Calvet, T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Heterogeneous nucleation effects of talc particles on polymorphic crystallization of cocoa butter	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 213-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.cgd.1c00859	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石橋ちなみ, 上野聡, 谷本昌太, 杉山寿美
2. 発表標題 濃度の異なる澱粉ゲルの物性に老化澱粉の結晶化過程が与える影響
3. 学会等名 日本調理科学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石橋ちなみ
2. 発表標題 食品油脂の結晶核形成および結晶多形転移の制御について
3. 学会等名 第46回油脂物性研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 石橋ちなみ, 本同宏成, 上野聡	4. 発行年 2020年
2. 出版社 テクノシステム	5. 総ページ数 618
3. 書名 脂質・脂肪酸関連物質の使いこなし方ー素材開発・機能創生・応用技術ー(監修:石井淑夫): 第3章第8節 乳化剤を用いたテンプレート効果による油脂結晶化の制御	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------