

β -アミラーゼ・プルラナーゼおよび α -グルコシダーゼを用いた デンプンの糊化度測定法 (BAP-AG 法)[†]

Method for Determining the Degree of Gelatinization of Starch Dispersion Using Enzyme System Consisting of β -Amylase, Pullulanase and α -Glucosidase

星 祐二*

Yuji HOSHI

A mixture of β -amylase and pullulanase was added to a corn starch dispersion, and the resulting maltose was converted to glucose by α -glucosidase (BAP-AG method). After conversion, the gelatinization degree was evaluated by quantifying the generated glucose using a commercially available glucose quantification kit (*Glucose CII-Test Wako*). As a result, it was considered that the optimal reaction conditions were six units of β -amylase and pullulanase, respectively, with a reaction time of 60 minutes at 37°C, and four units of α -glucosidase with a reaction time of 120 minutes at 37°C.

Compared to the conventional gelatinization measurement method using glucoamylase (GA method), the BAP-AG method, although slightly more cumbersome in procedure, yielded gelatinization degrees closer to the theoretical values and showed higher reproducibility.

The gelatinization degree of rice cooked as usual and stored for three days in a refrigerator (5°C) or a freezer (−18°C) was measured using the BAP-AG method. It was found that the gelatinization degree decreased to around 52% when stored in the refrigerator, whereas freezing did not significantly progress retrogradation. It was confirmed that the BAP-AG method could be utilized for the practical measurement of gelatinization degree in starchy foods.

Key words: β -amylase, pullulanase, α -glucosidase, degree of gelatinization

β -アミラーゼ、プルラナーゼ、 α -グルコシダーゼ、糊化度

1. 緒言

飯やパンのようなデンプン質食品のおいしさには、デンプンの糊化が大きく影響している。生のデンプンはミセル構造を持つため消化が悪いが、生デンプンに水を加えて加熱するとミセルが崩壊して糊状となり、食味がよく、消化のよい状態になる。これをデンプンの「糊化」という¹⁾。一方、放置したパンが硬くなるのは、デンプンの一部が再度ミセルを形成して沈殿を生じたり、ゲル化したりするからである。これをデンプンの「老化」という。デンプンが老化すると食味が悪く、消化性も悪い状態となる²⁾。そのため、デンプンの糊化の程度を測定することは、デンプン質食品の「おいしさ」の目安となる²⁾。

上述のように、デンプン質食品のおいしさには、デンプンの糊化の程度が大きく影響しており、デンプン質食品の嗜好性を客観的に評価する方法として、物理的糊化度評価方法や化学的糊化度測定法がある。物理的糊化度評価方法として、X線回析法/固体高分解核磁気共鳴法/フリース変換赤外分光法³⁾、示差走査熱量法/ヨウ素電流滴定法/偏光顕微鏡法/粘度測定法などがよく用いられて

いる⁴⁾。一方、化学的糊化度評価方法として、ジアスターゼ法⁵⁾およびこれを改良したグルコアミラーゼを用いた測定法 (GA 法)⁶⁾や β -アミラーゼとプルラナーゼを組み合わせた方法 (BAP 法) がよく用いられている⁷⁾。GA 法は、糊化デンプンから生成したグルコース量を測定するものであり、市販のグルコース定量キットを用いれば生成したグルコースの定量は簡便であるという利点があるが、官能的に味の劣化が認識されても糊化度に反映されない傾向があるとされている⁷⁾。一方、BAP 法にはデンプンの老化を鋭敏に識別できる利点があるが⁷⁾、生成したマルトースの定量に重金属やヒ素を使うなど環境や安全面の問題が多かった⁸⁾。

著者は、不凍タンパク質添加すし飯の糊化度測定を起点として、BAP 法により生成したマルトースを α -グルコシダーゼを用いてグルコースに変換後、生成したグルコース量を測定するデンプン糊化度評価法 (BAP-AG 法) を開発した⁹⁻¹¹⁾。その後、従来からよく用いられてきている GA 法の最適測定条件も含め、引き続き BAP-AG 法によるデンプン糊化度測定法について検討を重ね¹²⁾、今回、BAP-AG 法がデンプン質食品の糊化度測定に利用可能で

*宮城学院女子大学生活科学部食品栄養学科

[†]2024 年 10 月 17 日受付, 2024 年 11 月 27 日受理

あり、GA 法よりも測定精度に優れることを確認したので報告する。

II. 試料類および実験方法

1. 試料と試薬

1) トウモロコシデンプン

トウモロコシデンプンは、富士フィルム和光純薬株式会社製のものを使用した。

2) グルコアミラーゼ

グルコアミラーゼ (5,000 units/vial) は、富士フィルム和光純薬社製のものを使用した。凍結乾燥グルコアミラーゼ 1 バイアルに対して、0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 6) 1 mL を加えて溶解し、5,000 units/mL 濃度のグルコアミラーゼ溶液を調製した。調製した酵素液は、さらに 0.1 M 酢酸緩衝液で希釈し、100 units/20 μ L にした。希釈したグルコアミラーゼ溶液は、1.5 mL 容のマイクロチューブに 20 μ L ずつ分取し、凍結保存した。

3) β -アミラーゼ

β -アミラーゼ (0.6 units/mg) は、富士フィルム和光純薬株式会社製のものを使用した。

4) プルナラーゼ

プルナラーゼ (3,000 units/mL) は、天野エンザイム株式会社から供与していただいた。

5) α -グルコシダーゼ

α -グルコシダーゼ (400 units/vial) は、オリエンタル酵母株式会社製のものを使用した。バイアルに 0.1 M 緩衝液を 1 mL 加えて溶解後 (0.4 units/ μ L)、1.5 mL 容のマイクロチューブに 50 μ L ずつ分取し、冷凍保存した。

6) グルコース定量キット

グルコース CII テストワコー (富士フィルム和光純薬株式会社) を使用した。

7) その他

その他の試薬類は、すべて富士フィルム和光純薬株式会社製の特級を使用した。

2. トウモロコシデンプン分散液の調製

1) 部分糊化トウモロコシデンプン粉末試料の調製

トウモロコシデンプン 10 g を純水 100 mL に懸濁後、湯浴上で 70°C、30 分間加温した。加温後、トウモロコシデンプン分散液 100 mL に対して、エタノール 200 mL を加えて攪拌・放置した。放置後、上清を除去し、新たにエタノール 200 mL を加えて攪拌した。攪拌後、ブフナロートを用いて、水流ポンプで吸引しながらアセトン (200 mL) による脱水・乾燥処理を行った。これを以降、「部分糊化トウモロコシデンプン粉末試料」とした。

2) 部分糊化トウモロコシデンプン分散液の調製

上記部分糊化トウモロコシデンプン粉末試料 100 mg をガラスホモジナイザーに移し、純水 10 mL を加えてよく播潰後、5 mL を取り出し、50 mL に希釈した。これ

を以降、「部分糊化トウモロコシデンプン分散液」とした。

3) 完全糊化トウモロコシデンプン分散液の調製

上記部分糊化トウモロコシデンプン粉末試料 100 mg をガラスホモジナイザーに移し、純水 10 mL を加えてよく播潰後、5 mL を取り出し、10 M 水酸化ナトリウム水溶液 0.5 mL を加えて 37°C、30 分間加温した。加温後、2 M 酢酸緩衝液 2.5 mL を加えて中和し、50 mL に希釈した。これを以降、「完全糊化トウモロコシデンプン分散液」とした。

3. α -グルコシダーゼの反応条件

1) グルコース生成におよぼすマルトース濃度の影響

3~25 μ M のマルトース溶液 1 mL に、 α -グルコシダーゼ溶液 (0.4 units/ μ L) を 7.5 μ L 加え、37°C、90 分間酵素分解を行った。反応後、60°C、10 分間放置し、 α -グルコシダーゼを失活させた。失活後、各濃度のマルトース反応液から 20 μ L ずつ分取し、グルコース CII テストワコーを用いて、生成したグルコース量を添付文書に従って測定した。

2) グルコース回収率におよぼす α -グルコシダーゼ量と反応時間の影響

12.5 μ M マルトース溶液 1 mL に α -グルコシダーゼを 2~10 ユニット加え、37°C で酵素分解を行い、30 分ごとに各ユニット数の α -グルコシダーゼ反応液から 50 μ L を分取した。180 分間に渡って経時的に分取した反応液は、60°C、10 分間放置し、 α -グルコシダーゼを失活させた。失活後、反応液から 20 μ L ずつ分取し、グルコース CII テストワコーを用いて生成したグルコース量を測定した。

4. β -アミラーゼ・プルラナーゼ酵素量と反応時間の検討

完全糊化トウモロコシデンプン分散液 4 mL に、所定のユニット数を含む β -アミラーゼ・プルラナーゼ溶液を 10 μ L 加え、37°C で酵素分解を行い、30 分ごとに反応液から 0.5 mL を分取した (180 分間)。その後、95°C、10 分間放置し、 β -アミラーゼ・プルラナーゼを失活させた。この失活試料液 0.5 mL に α -グルコシダーゼ溶液 5 μ L (2 ユニット) を加えて、37°C、120 分間酵素分解を行った。反応後、60°C、10 分間放置し、 α -グルコシダーゼを失活させた。この α -グルコシダーゼ失活溶液から 20 μ L を分取し、グルコース CII テストワコーを用いて生成したグルコース量を測定した。

5. グルコアミラーゼ酵素量と反応時間の検討

1) グルコアミラーゼ溶液の調製

「II. 試料類および実験方法 1. 試料と試薬類 2) グルコアミラーゼ」記載の分注マイクロチューブ (100 units/

20 μL) から 10 μL を取り、別のマイクロチューブに入れた。次に、0.1 M 酢酸緩衝液を 40 μL 加え、1 units/μL のグルコアミラーゼ液を調製した。

2) 酵素反応

完全糊化トウモロコシデンプン分散液 4 mL に所定量のグルコアミラーゼを加えた後、37℃で放置した（180 分間）。30 分ごとに 100 μL を分取し、95℃、10 分間加熱して反応を止め、生成したグルコース量をグルコース CII テストワコーを用いて測定した。

6. GA 法と BAP-AG 法による糊化度測定精度の比較

1) 生デンプン分散液の調製

トウモロコシデンプン 0.1 g をガラスホモジナイザーに入れ、純水 10 mL を加えて搗潰した。搗潰後、5 mL を取り出し、50 mL に希釈し、これを「生デンプン分散液」とした。

2) 生デンプン分散液と完全糊化デンプン分散液の混合

生デンプン分散液と完全糊化デンプン分散液を Table 1 のように混合し、所定量の糊化デンプンを含む分散液を調製した。

3) 酵素反応

上記 2) で調製した糊化度の異なるデンプン分散液から 4 mL を分取し、所定量のグルコアミラーゼまたは β-アミラーゼ・プルナーゼおよび α-グルコシダーゼを加え、生成したグルコース量を測定した。グルコースの定量は、グルコース CII テストワコーを用いて行い、糊化度は以下の式から求めた。

糊化度

$$= \frac{\text{部分糊化トウモロコシデンプン分散液の吸光度}}{\text{完全糊化トウモロコシデンプン分散液の吸光度}} \times 100$$

7. 炊飯米の糊化度におよぼす保存温度の影響

通常の方法で炊飯した飯（「ひとめぼれ」）100 g を 5℃ または -18℃ で 3 日間保存した。5℃ で保存した飯 100 g に水を等量加えて乳鉢ですり潰し、粥状にした。-18℃ で冷凍保存した飯は、室温で解凍後、5℃ で保存した飯と同様にして粥状にした。

粥状となった米飯に等量のエタノールを加え、放置後上清を除去した。同様の操作を繰り返し、水分を除去後、ブフナロートで減圧ろ過しながら、アセトンを用いて乾燥処理を行った。得られた乾燥粉末試料は室温で保存し、糊化度測定用の炊飯米試料は、「II. 試料類および実験方法 2. トウモロコシデンプン分散液の調製」と同様にして調製し、糊化度は BAP-AG 法により求めた。

III. 結果と考察

1. α-グルコシダーゼによるグルコース生成におよぼすマルトース濃度の影響

α-グルコシダーゼにより、マルトースが加水分解され、

Table 1. Composition of dispersion mixed with raw starch and fully gelatinized corn starch.

Assumed gelatinization degree of starch dispersion (%)	Raw starch dispersion (mL)	Fully gelatinized starch dispersion (mL)
0	5	0
20	4	1
40	3	2
60	2	3
80	1	4
100	0	5

Corn starch (0.1 g) was transferred into a glass homogenizer, to which 10 mL of water was added. The contents were ground and diluted with water to a 10-fold dilution. Hereinafter, this dispersion was referred to as “raw starch dispersion”.

Corn starch (10 g) was transferred into an Erlenmeyer flask, to which 100 mL of water was added. The suspension was kept at 70℃ for 30 min, followed by addition of 200 mL of ethanol. The mixture was stirred and allowed to stand for a while. After removing the supernatant, 200 mL of ethanol was newly added to the residue and mixed. Subsequently, the supernatant was removed and the residue was transferred to a Büchner funnel. 200 mL of acetone was poured into the funnel, and dehydration and drying were carried out, while suctioning with an aspirator. The obtained powder was henceforth referred to as “partially gelatinized corn starch powder”.

The partially gelatinized corn starch powder (0.1 g) was transferred into a glass homogenizer, to which 10 mL of water was added, and the mixture was ground. After grinding, the obtained dispersion was diluted 10 times with water, and referred to as “partially gelatinized corn starch dispersion”.

The partially gelatinized corn starch powder (0.1 g) was transferred into a glass homogenizer, to which 10 mL of water was added, and the mixture was ground. After grinding, 0.5 mL of 10 M sodium hydroxide solution was added to 5 mL of the mixture and allowed to stand at 37℃ for 30 min. Subsequently, it was neutralized with 2.5 mL of 2 M acetic acid solution. The neutralized dispersion was diluted with water to a 10-fold, and referred to as “fully gelatinized corn starch dispersion”.

生成するグルコース量（1 mol のマルトースが完全に加水分解すると 2 mol のグルコースが生成）におよぼすマルトースの物質量の影響を検討し、結果を Fig. 1 に示した。

3 ユニットの α-グルコシダーゼを所定濃度のマルトース溶液 1 mL に加え、37℃で 90 分間反応させた。反応後、60℃で 10 分間放置して、α-グルコシダーゼを失活させ、反応液中に生成したグルコースの物質量をグルコース CII テストワコーを用いて求めた。なお、グラフの横・縦軸に記載されているマルトースおよびグルコースの物質量は、反応液 1 mL に含まれる物質量で、定量値を理論グルコース量（μmol）で除した値を回収率とした。

グラフのように、マルトース物質量が増加すると回収率が低下し、マルトース 25 μmol の時には、回収率は

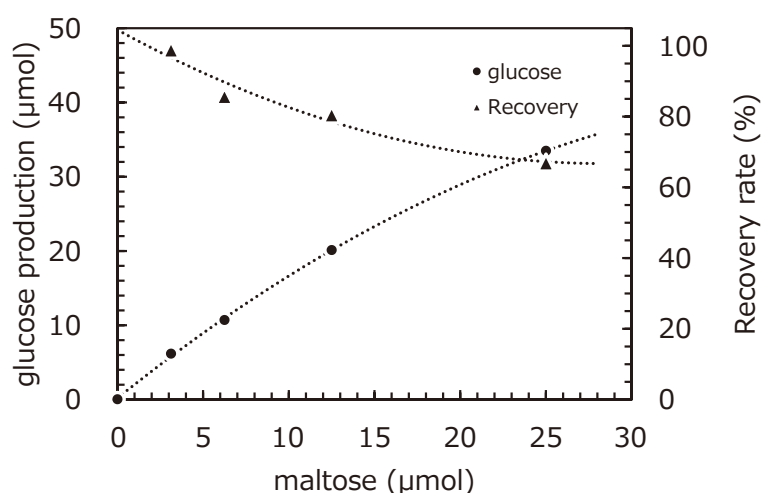


Fig. 1. Effect of the amount of maltose on the glucose converted by α -glucosidase and recovery rate.

Three units of α -glucosidase was added to 1 mL of maltose solution and the reaction mixture was kept at 37°C for 90 min. After incubation, the mixture was allowed to stand at 60°C for 10 min to stop the reaction, and the amount of glucose generated from maltose was determined using the “Glucose CII-Test Wako (FUJIFILM Wako Chemicals)” according to the product manual.

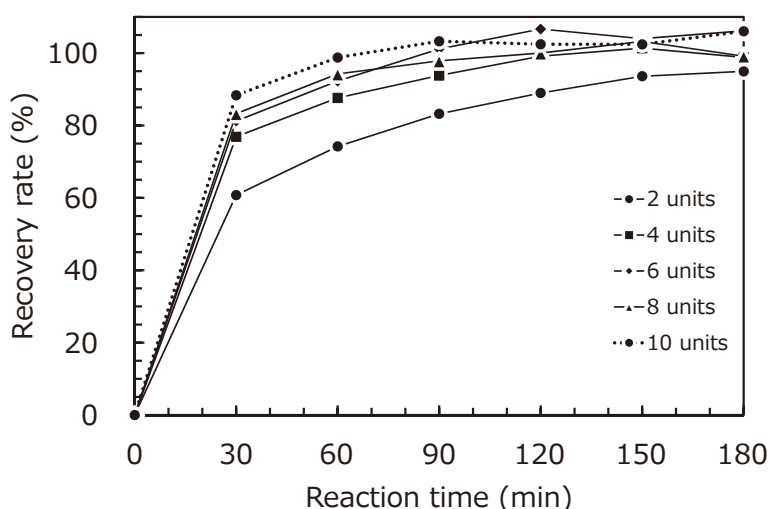


Fig. 2. Effect of reaction time on the recovery rate of glucose generated from maltose by α -glucosidase.

Maltose solution (0.0125 M) was reacted with various units of α -glucosidase at 37°C for 180 min. A 0.05 mL aliquots were removed from the reaction mixture every 30 min and kept at 60°C for 10 min to stop the reaction. The amount of glucose converted from the maltose by α -glucosidase was determined as depicted in Fig. 1.

67%に減少し、基質であるマルトースに対して適量の α -グルコシダーゼを加える必要のあることが確認できた。そこで次に、測定に用いる α -グルコシダーゼの量と反応時間の影響について検討することとした。

12.5 μ Mのマルトース溶液に、2~10ユニットの α -グルコシダーゼを加え、37°Cで180分間反応させた。30分ごとに、各ユニット数の α -グルコシダーゼを含む反応液から50 μ Lを分取し、60°Cで10分間加温して α -グルコシダーゼを失活させた。失活後、生成グルコース量を測定し、回収率を求め、結果をFig. 2に示した。 α -グルコ

シダーゼが2ユニットの場合、反応時間150分以降、回収率は一定となる傾向を示したが、回収率自体は95%程度であった。4ユニット以上の α -グルコシダーゼを用いた場合、反応時間90分以降、回収率が一定を示し、180分後にはほぼ100%の回収率を示した。以上から、BAP-AG法における α -グルコシダーゼ量は4ユニット以上、反応時間は120分とした。

2. β -アミラーゼ・プルラーゼ酵素量と反応時間の検討

BAP-AG法の第一段階であるデンプン消化に用いる β -

アミラーゼとプルラナーゼの酵素量と反応時間について検討した。

最初に、プルラナーゼのユニット数を6に固定し、β-アミラーゼのユニット数をパラメーターとして、反応時間の影響を検討し、結果をFig. 3に示した。β-アミラーゼユニット数が0.6の場合、グルコース生成量が反応時間120分にかけて増加し、それ以降一定となったが、生成グルコース量は他のユニット数に比べて低かった。β-アミラーゼが3ユニット以上存在すれば、30分以降、グルコースの生成量は、ほぼ一定となり、また、生成量も、β-アミラーゼのユニット数にかかわらず、ほぼ同じ値を示した。

次に、β-アミラーゼのユニット数を6に固定し、プルラナーゼのユニット数をパラメーターとして、反応時間の影響を検討し、結果をFig. 4に示した。プルラナーゼの場合、β-アミラーゼとは異なり、プルラナーゼユニット数にかかわらずグルコース生成量はほぼ一定となったが、プルラナーゼの使用量はβ-アミラーゼに揃えて6ユニットとした。以上より、BAP-AG法の第一段階の酵素反応条件として、β-アミラーゼおよびプルラナーゼ量とともに6ユニット、反応時間は60分とした。

3. グルコアミラーゼ酵素量と反応時間の検討

デンプンの糊化度測定として、従来から一般的であるグルコアミラーゼを用いた方法（GA法）とBAP-AG法との比較を行うために、グルコアミラーゼのユニット数

をパラメーターとして、グルコース生成におよぼす反応時間の影響について検討することとした。結果をFig. 5に示した。グラフ縦軸のグルコース生成量は、「II. 試料類および実験方法 5. グルコアミラーゼ最適酵素量と反応時間の検討 2) 酵素反応」に記載した反応液4 mL中に存在するグルコースの物質質量(μmol)である。

グルコアミラーゼのユニット数が2の場合は、180分後にもグルコースの生成が増加し続ける傾向があり、酵素量としては不足していると考えられた。4ユニットの場合は、反応時間90分以降、6ユニットの場合は60分以降でグルコース生成量がほぼ一定値に達し、8および10ユニットでは反応時間30分以降で一定となり、4～10ユニットでは生成するグルコースの物質質量もほぼ同値であった。以上より、グルコアミラーゼによる反応条件としては、グルコアミラーゼ量10ユニット、反応時間は60分とした。

4. GA法とBAP-AG法による糊化度測定精度の比較

Table 1に示したようにして、生トウモロコシデンプン分散液に所定量の完全糊化トウモロコシデンプン分散液を混合して調製したトウモロコシデンプン混合液の糊化度を、GAおよびBAP-AG法で測定し、その結果をTable 2およびFig. 6に示した。

完全糊化トウモロコシデンプンが含まれていない生トウモロコシデンプン分散液の糊化度は、BAP-AG法は6.2%であったのに対し、GA法では19.0%と高かった。

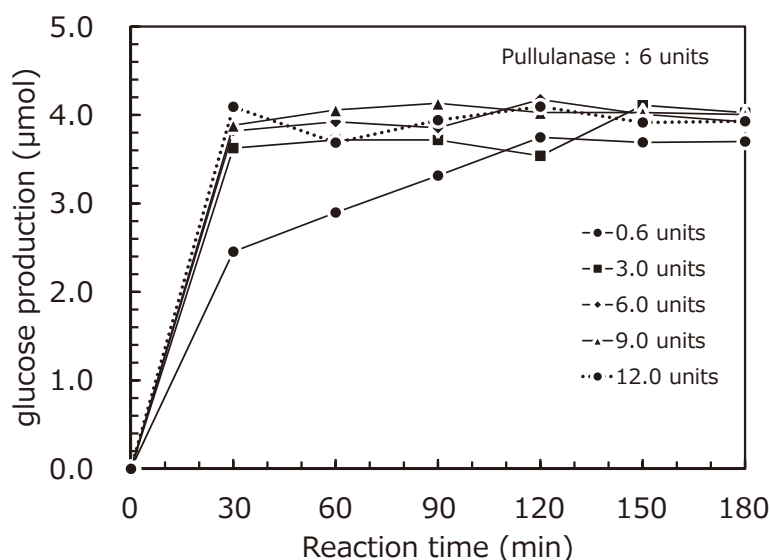


Fig. 3. Effect of reaction time on the amount of glucose produced from fully gelatinized corn starch by β-amylase.

A specified number of units of β-amylase were added to 4 mL of fully gelatinized corn starch dispersion and kept at 37°C for 180 min. Every 30 min, 0.5 mL aliquots were taken out and heated at 95°C for 10 min to stop the reaction.

Subsequently, 2 units of α-glucosidase were added to this solution and allowed to react at 37°C for 120 min. After standing, the mixture was stood at 60°C for 10 min to stop the reaction, and the amount of glucose converted from maltose by α-glucosidase was determined as depicted in Fig. 1. In this experiment, the number of pullulanase units was set to 6.

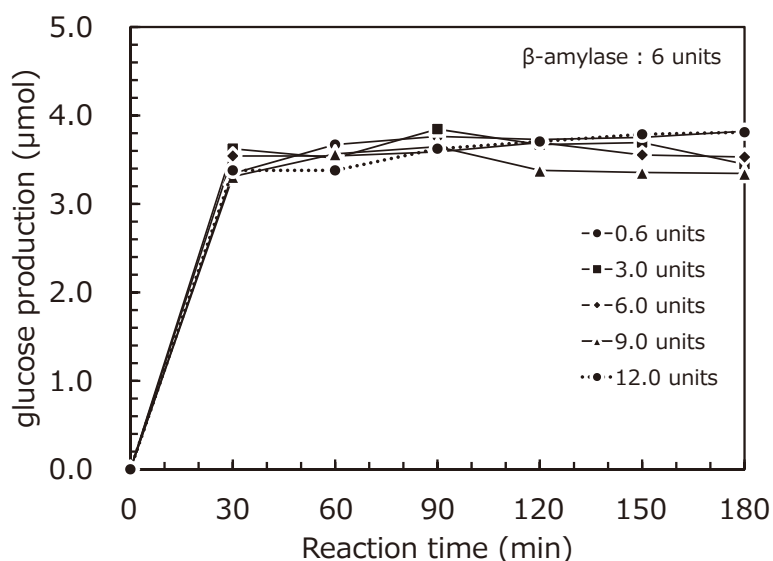


Fig. 4. Effect of reaction time on the amount of glucose produced from fully gelatinized corn starch by pullulanase.

A specified number of units of pullulanase were added to 4 mL of fully gelatinized corn starch dispersion and kept at 37°C for 180 min. Every 30 min, 0.5 mL aliquots were taken out and heated at 95°C for 10 min to stop the reaction. Subsequently, 2 units of α -glucosidase were added to this solution and allowed to react at 37°C for 120 min. After standing, the mixture was stood at 60°C for 10 min to stop the reaction, and the amount of glucose converted from maltose by α -glucosidase was determined as depicted in Fig. 1. In this experiment, the number of β -amylase units was set to 6.

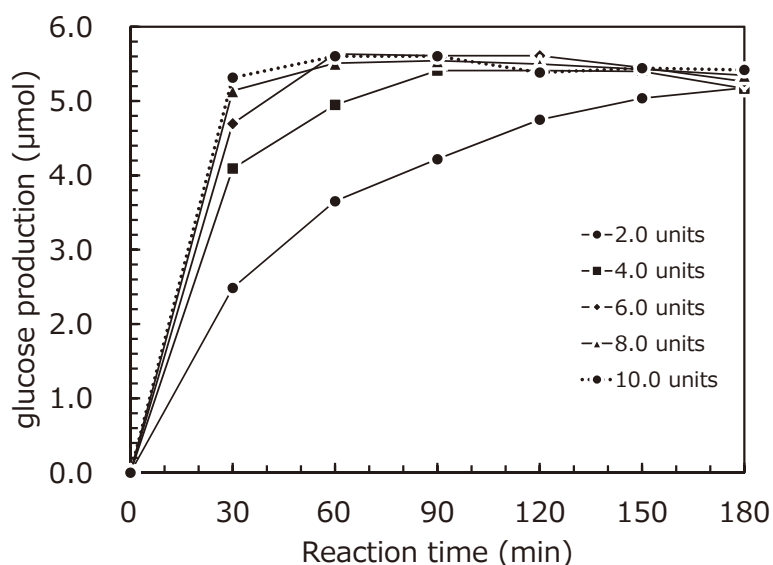


Fig. 5. Effect of reaction time on the amount of glucose produced from fully gelatinized corn starch by glucoamylase (GA method).

A specified number of units of glucoamylase were added to 4 mL of fully gelatinized corn starch dispersion and kept at 37°C for 180 min. Every 30 min, 0.1 mL aliquots were taken out and heated at 95°C for 10 min to stop the reaction. The measurement of amount of generated glucose was carried out using the “Glucose CII-Test Wako (FUJIFILM Wako Chemicals)”.

また、完全糊化トウモロコシデンプン分散液混合割合が20～60%の分散液試料についても、BAP-AG法の方が理論値に近い値を示した。これらは、グルコアミラーゼの方が未糊化デンプンへの反応性が高いため、官能的に

老化が認識されても、GA法の結果に反映されない一因とも考えられた。

両方法による標準偏差は、GA法では2.2～6.8%、BAP-AG法では0.7～1.8%と、BAP-AG法の方がばらつ

Table 2. Gelatinization degrees of dispersions containing a specified amount of fully gelatinized starch.

Fully gelatinized corn starch dispersion (%)	GA method*		BAP-AG method*	
	average	standard deviation	average	standard deviation
0	19.0	3.3	6.2	1.3
20	31.3	3.1	26.3	0.7
40	47.3	2.2	45.4	1.3
60	67.7	6.0	64.7	1.8
80	85.4	6.8	84.5	1.7
100	100.0	—	100.0	—

* $n=2$

Mixtures of the raw corn starch dispersion and fully gelatinized corn starch dispersion were prepared to obtain the dispersions containing a specified amount of fully gelatinized starch as shown in Table 1. The gelatinization degree of each dispersion was measured using the GA and the BAP-AG method, respectively. The degree of gelatinization was calculated from the following formula:

$$\text{Gelatinization degree (\%)} = \frac{\text{absorbance of partially gelatinized starch dispersion}}{\text{absorbance of fully gelatinized starch dispersion}} \times 100$$

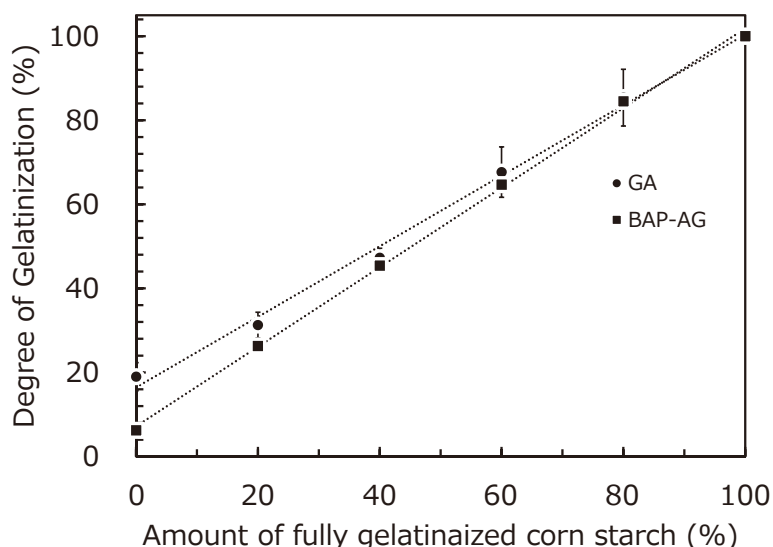


Fig. 6. Relationship between the degree of gelatinization and the amount of fully gelatinized corn starch, determined by enzymatic methods (GA and BAP-AG method).

きが少なく、GA 法に比較して、BAP-AG 法は測定手順が若干煩瑣とはいえ、精度の高い測定法と考えられた。

5. 炊飯米の糊化度におよぼす保存温度の影響

常法に従って炊飯後、冷蔵（5℃）または冷凍（-18℃）保存した飯の糊化度の測定結果を Table 3 に示した。冷蔵保存した場合の糊化度は 52.4% に低下したのに対し、冷凍保存後でも 97.6% の糊化度を保ち、冷凍保存の方が、デンプンの老化抑制に効果的であること、BAP-AG 法は実際の食品の糊化度測定に利用できることが確かめられた。

IV. 要約

β -アミラーゼ・プルラーナーゼ混液をトウモロコシデンプン

ン分散液に加え、生成したマルトースを α -グルコシダーゼによりグルコースに変換した。変換後、市販のグルコース定量キット（グルコース CII テストワコー）を用いて生成グルコースを定量することで糊化度を評価する方法（BAP-AG 法）について検討した。その結果、 β -アミラーゼとプルラーナーゼのユニット数は 6、反応時間は 37℃ で 60 分、 α -グルコシダーゼは 4 ユニット、反応時間は 37℃ で 120 分間が最適反応条件であると考えられた。

従来からよく用いられているグルコアミラーゼによる糊化度測定法（GA 法）に比べ、BAP-AG 法は、手順が若干煩瑣ではあるが、理論値に近い糊化度が得られ、さらに再現性も高いことが明らかとなった。

BAP-AG 法を用いて 3 日間冷蔵または冷凍保存した炊

Table 3. Gelatinization degree of cooked rice (*Hitomebore*) stored in refrigerator or freezer for 3 days.

Storage condition	Gelatinization degree* (%)
refrigerated at 5°C	52.4±3.4
frozen at -18°C	97.6±3.0

* Average ± standard deviation ($n=2$)

One hundred grams of rice cooked as usual were stored for 3 days at 5°C or -18°C. After storage, the cooked rice was mixed with 100 mL of water and ground with a pestle and mortar until it reached a congee-like consistency.

Subsequently, 200 mL of ethanol was added to the congee-like rice and left to stand, after which the supernatant was removed. This process was repeated several times, and after removing moisture, aliquots of acetone were added to the sample and dried while vacuum filtering with a Büchner funnel. The obtained dried powder was stored at room temperature.

Samples for measuring the degree of gelatinization by the BAP-AG method were prepared in the same manner as in the procedure described in the explanatory of Table 1.

飯米の糊化度を測定したところ、冷蔵保存では糊化度が 52% 程度に低下するのに対し、冷凍保存ではほとんど老化は進行しておらず、BAP-AG 法は実際のデンプン質食品の糊化度測定にも活用できることが確かめられた。

V. 謝辞

本研究の実施にあたり、実験に協力いただいた本学芸学部食品栄養学科卒業生の赤間葉奈子氏、吉田香奈氏、川村祐生氏、高橋堇氏、村越玲美氏、菅井桃子氏、ならびに本学生活科学部食品栄養学科卒業生の菊地南氏、沼田彩花氏、濱田溪氏、田中真美子氏、及川紗依氏、近江優香氏に感謝いたします。

また、プルラナーゼを提供していただきました天野エンザイム株式会社様に御礼申し上げます。

VI. 利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

VII. 引用文献

- 山城 寛, 澱粉老化を遅らせろ. 生物工学会誌, **100**, 565 (2022)
- 松永暁子, 貝沼圭二, 澱粉質食品の老化に関する研究 (第 1 報) 米飯の老化について. 家政学雑誌, **32**, 653-659 (1981)
- 寺澤洋子, 宮澤光博, 河野澄夫, 前川孝昭, 糊化・老化小麦デンプンの赤外吸収スペクトルの解析. 日本食品科学工学会誌, **50**, 162-166 (2003)
- 三浦芳助, 熱分析によるデンプンの糊化・老化特性の解析. 広島女学院大学論集, **53**, 79-87 (2003)
- 渡辺長男, 長谷幸, 食品中の澱粉 α 化度簡易測定法について (第 1 報) 菓子類の澱粉 α 化度測定法の検討. 澱粉工業学会誌, **5**, 110-115 (1958)
- 外山忠男, 檜作進, 二国二郎, グルコアミラーゼによる澱粉の α 化度の測定法について. 澱粉工業学会誌, **13**, 69-75 (1966)
- 貝沼圭二, 松永暁子, 板川正秀, 小林昭一, β -アミラーゼ-プルラナーゼ (BAP) 系を用いた澱粉の糊化度, 老化度の新測定法. 澱粉科学, **28**, 235-240 (1981)
- 北村進一, 中屋慎, 糖の定量法. 生物工学, **90**, 790-793 (2012)
- 赤間葉奈子, 吉田香奈, 川村祐生, 新たなデンプン糊化度測定法の検討と不凍タンパク質添加すし飯の糊化度について. 2017 年度宮城学院女子大学学芸学部食品栄養学科卒業論文 (指導教員: 星 祐二)
- 高橋堇, 村越玲美, 菅井桃子, β -アミラーゼ・プルラナーゼ・ α -グルコシダーゼを用いたデンプン糊化度測定法について. 2018 年度宮城学院女子大学学芸学部食品栄養学科卒業論文 (指導教員: 星 祐二)
- 菊地南, 沼田彩花, 濱田溪, β -アミラーゼ, プルラナーゼおよび α -グルコシダーゼを用いた糊化度測定法について. 2019 年度宮城学院女子大学生活科学部食品栄養学科卒業論文 (指導教員: 星 祐二)
- 及川紗依, 近江優香, GA 法による最適糊化度測定条件の検討, および BAP-AG 法との糊化度測定値比較. 2021 年度宮城学院女子大学生活科学部食品栄養学科卒業論文 (指導教員: 星 祐二)