

エクストルージョン・クッキングが  
脂質の消化・吸収性に与える影響と  
その制御に関する研究

2015 年 3 月

伊東利博

エクストルージョン・クッキングが  
脂質の消化・吸収性に与える影響と  
その制御に関する研究

筑波大学大学院  
生命環境科学研究科

博士(農学)学位論文

伊東利博

# 目次

概要 .....	1
略号 .....	4
図表一覧 .....	6
第1章 緒論 .....	9
1-1 日本の健康問題と機能性食品の必要性 .....	10
1-1-1 日本人の栄養状態 .....	10
1-1-2 油脂の栄養学的な位置づけ .....	12
1-2 トリアシルグリセロールの消化吸収 .....	14
1-2-1 トリアシルグリセロールの消化吸収機構 .....	14
1-2-2 トリアシルグリセロールの消化吸収制御 .....	19
1-3 物理的处理による食品の消化吸収制御 .....	22
1-3-1 食品に対する物理的处理に関する研究 .....	22
1-3-2 物理的处理による油脂の消化吸収制御の可能性 .....	22
1-4 エクストルージョンによる食品加工 .....	24
1-4-1 食品分野におけるエクストルージョン・クッキングの利用 .....	24
1-4-2 エクストルーダーの構造 .....	26
1-4-3 高カロリー・低タンパク質食品の開発 .....	28
1-5 本研究の目的 .....	31
第2章 摩砕処理による <i>Curcuma longa</i> からの MCT を用いた curcuminoids 抽出 .....	32
2-1 緒言 .....	33
2-2 実験方法 .....	35
2-2-1 実験材料 .....	35
2-2-2 Curcumin 溶解性試験 .....	35
2-2-3 Curcuminoids 測定 .....	36
2-2-4 Curcuminoids 抽出試験 .....	36
2-3 結果と考察 .....	39
2-3-1 Curcumin 溶解性試験 .....	39
2-3-2 Curcuminoids 抽出試験 .....	41
2-3-3 MCT 画分の清澄化 .....	43
2-3-4 MCT 画分の curcuminoids 含有量と回収率 .....	45
2-3-5 Curcuminoids 含有 MCT の食品原料としての可能性 .....	48

### 第3章 エクストルージョン・クッキング条件が澱粉および

澱粉・大豆油混合物の物性に与える影響の解析 .....	50
3-1 緒言 .....	51
3-2 実験方法 .....	52
3-2-1 実験材料 .....	52
3-2-2 エクストルージョン・クッキング処理 .....	54
3-2-3 走査型電子顕微鏡観察 .....	58
3-2-4 糊化度測定 .....	58
3-2-5 保水力測定 .....	59
3-2-6 冷水溶解性測定 .....	59
3-2-7 統計解析 .....	60
3-3 結果と考察 .....	62
3-3-1 糊化度測定法における油脂の影響 .....	62
3-3-2 コーンスターチの糊化温度 .....	64
3-3-3 油脂種が押出試料に与える影響 .....	67
3-3-4 処理物の構造 .....	69
3-3-5 糊化度 .....	71
3-3-6 保水力 .....	78
3-3-7 冷水溶解性 .....	83
3-3-8 各特性間の相関性 .....	88
3-3-9 消化性との関連 .....	90
第4章 エクストルージョン・クッキング処理試料の消化吸収性に関する検討 .....	91
4-1 緒言 .....	92
4-2 実験方法 .....	93
4-2-1 エクストルージョン処理試料の調製 .....	93
4-2-2 実験飼料 .....	95
4-2-3 実験動物 .....	96
4-2-4 糞中脂質濃度測定 .....	96
4-2-5 血液生化学検査 .....	97
4-2-6 肝臓脂質測定 .....	97
4-2-7 mRNA 発現量測定 .....	98
4-2-8 酵素活性試験 .....	98
4-2-9 データ解析 .....	99
4-3 結果と考察 .....	100
4-3-1 エクストルージョン処理試料の物性 .....	100

4-3-2	糞中脂質への影響.....	104
4-3-3	血清脂質、血糖、肝臓脂質濃度、組織重量等に及ぼす影響.....	110
4-3-4	mRNA 発現量および酵素活性に及ぼす影響 .....	114
4-3-5	エクストルージョン条件と消化吸収 .....	118
第 5 章	総括と今後の展望 .....	120
5-1	総括.....	121
5-2	今後の展望.....	123
参考文献	.....	126
謝辞	.....	132

## 概要

生活習慣病発症者が増加し続けている現代において、オーダーメイド栄養学の重要性が高まっている。しかし、単純に栄養素の増減に着目した食事は、「おいしさ」を損ないかねない。そのため例えば、油脂の消化吸収を制御する方法が検討されてきた。それは主に、油脂の本体であるトリアシルグリセロールの分子種を化学的に変化させる方法がとられてきた。

本研究では、従来の化学的加工ではなく、物理的加工により油脂の消化・吸収を制御する可能性について検討した。具体的には油脂を澱粉と混合し、エクストルージョン・クッキング加工法で処理した場合の油脂の吸収について、検討した。

まず油脂と澱粉の混合物をエクストルージョン・クッキングした際の押出物の物性と処理条件の検討を行った。試料はコーンスターチのみ(その処理物を EXS とする)、および大豆油とコーンスターチの混合物(その処理物を EXO とする)とし、その配合比率は 13.1 : 86.9 とした。処理温度は一定とし、原料投入口に近い順に 50, 60、95、90℃とした。可変条件を供給水分量とスクリュースpeedとした。供給水分量は 20、50、70%の3段階、スクリュースpeedは 50、100、200rpm の3段階とし、全ての組み合わせ、つまり 9 通りの条件で処理を行った。処理物の評価は糊化度、保水性、冷水溶解性について行い、処理条件の影響について応答曲面法を用い、2 因子 2 次モデルを推定モデルとして検討を行った。

糊化度について EXS のモデル式にはまずスクリュースpeedの一次作用が認められた。物理的にはスクリュースpeedの上昇により、澱粉と水の混練効率が上昇し、より水和することで糊化が促進されたと考えられ、現象を良く説明していると考えられる。また相互作用が負の効果を持つことをモデル式は示した。最低水分量かつ最高スクリュースpeedの時にデキストリン化によって高い糊化度を示し、その影響が最高水分最高速度の時の糊化度よりも高いために、相対的に両者最高条件の時に糊化度が低下するようなモデル式が得られたと考えた。EXO のモデル式には EXS と同様にスクリュースpeed

の一次効果と相互作用が有意な作用であることが認められた。さらに EXS ではなかった添加水分の一次効果が認められた。EXO ではあらかじめ混合された油脂が澱粉と水の水和を阻害していると考えられ、低水分ではその阻害効果が相対的に大きい、高水分では油脂自体が水に分散されるなどして阻害効果が減少することを示していると考えた。

保水性は EXS と EXO とともに、供給水分量の一次および二次作用が正に、スクリー速度との相互作用が負に影響していた。添加水分の一次効果は水分上昇により糊化が促進された結果、澱粉の結晶部が融解、膨潤することで保水力が上昇するということを示す結果である。添加水分の 2 次効果は、デキストリン化によっても保水力が上昇することを示す結果である。相互作用は水分量が最大時は澱粉のマクロ構造を壊さないような最低速度にすることが保水力上昇に有利であり、逆に最低水分の時は最高回転でデキストリン化を促進した方が保水力向上に寄与するということを示す結果である。

冷水溶解性については、EXS では、供給水分量、スクリー速度ともに正の二次効果と負の相互作用が認められた。最高水分の時は糊化が、最低水分の時はデキストリン化が促進され、結果アミロースや水溶性低分子が生成された結果 WSI が上昇することを示す結果である。

相互作用は、最低水分の時は最高回転でデキストリン化を促進する方が溶解性向上に寄与することを示している。しかし、水分最大時の影響や SS の二次効果が正に働くという点については、実際のデータと矛盾したため、式の調整として有意な項に取り上げられてきた可能性があると考えられた。EXO では供給水分量の一次作用と相互作用が負に働くモデルが推定された。水分が減少することでデキストリン化が生じ、WSI を上昇させるという点では EXS と同様だが、油脂の水和阻害効果により、デキストリン化の影響が大きく、糊化の影響が相殺されたために、EXS の様に二次効果ではなく、一次効果としてモデル式に採用されたと考えた。

次に押出物の消化性および生理学的影響を検討するため、動物への摂食試験を行っ

た。実験動物として 3 週齢 SD ラットを用い、1 群 8 匹(対照群のみ 9 匹)、自由摂食、自由飲水、12 時間毎の明暗サイクルで 4 週間飼育を行った。試料は AIN-93G をベースとし、油脂を 8%とした。EXS 群には澱粉部をすべて EXS に置換した飼料、EXO 群は澱粉部と油脂部をすべて EXO に置換した飼料とした。EXS と EXO の処理条件は、上記と同様の条件で供給水分量 50%・スクリー速度 100rpm とした。この時の糊化度はそれぞれ 73.4%と 74.0%だった。対照群は澱粉部を通常通り未糊化澱粉と糊化澱粉としたが、その比率は全体の糊化度が 74%となるように調整し、3 群の糊化度を同程度とした。

糞量および糞中の総脂質に 3 群間に有意差はなかったが、中性脂肪において EXO 群が他の 2 群より有意に高値を示した。つまり、エクストルージョン処理により、油脂の消化吸収量が低下することを示唆する結果を得た。しかし体重増加量、肝臓重量、白色脂肪細胞重量(睪丸周囲、腎周囲、腸間膜)、血清中の中性脂肪、遊離脂肪酸などに 3 群間で有意差はなかった。

脂質代謝関連遺伝子群の転写因子である PPAR の発現量について調査したところ、PPAR $\alpha$ について EXS 群と EXO 群が Control 群に対し有意に減少していた。そこで肝臓粗抽出物の酵素活性について検討した結果、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼなどの酵素活性に 3 群間で有意差はなかったが、ATP-クエン酸リアーゼの活性に関し EXS 群が有意に低値を示した。

以上、本研究では油脂と澱粉の混合物をエクストルージョン・クッキングする際の処理条件と生産物の物性の関係を明らかにし、生産物の物性制御のための基礎的な知見を得た。さらにエクストルージョン生産物の消化吸収について検討を行い、油脂と澱粉の混合物をエクストルージョン処理することにより油脂の消化吸収量が低下することを見出し、物理的な処理による油脂の消化吸収制御の可能性を見出した。本研究により、今後エクストルージョン処理により物性と消化吸収を同時に制御された食品の開発へつながる知見を得た。



## 略号

BMI : Body mass index 肥満度指数

QOL : Quality of life 生活の質

FA : Fatty acid 脂肪酸

TG : Triacylglycerol トリアシルグリセロール 中性脂肪

DG : Diacylglycerol ジアシルグリセロール

MG : Monoacylglycerol モノアシルグリセロール

PC : Phosphatidylcholine ホスファチジルコリン

MCT : Medium Chain Triacylglycerol 中鎖脂肪酸トリアシルグリセロール

HPLC : High performance liquid chromatography 高速液体クロマトグラフィー

UV : Ultra Violette 紫外線

L/D : length per diameter 軸直径比

FM : Feed Moisture 添加水分量

SS : Screw speed スクリュー速度

DG : Degree of gelatinization 糊化度

WAI : Water absorption index 保水力

WSI : Water solubility index 冷水溶解性

BAP :  $\beta$ -amylase – pullulanase  $\beta$ -アミラーゼ-プルラナーゼ

DSC : differential scanning calorimetry 示差走査熱量測定

EXS : Extruded corn starch without oil 澱粉単独エクストルージョン処理試料

EXO : Extruded corn starch with soy oil 大豆油混合エクストルージョン処理試料

EX : Extrusion-cooking エクストルージョン・クッキング

FD : Freeze-dry 凍結乾燥

SEM : scanning electron microscope 走査型電子顕微鏡

Adj-R<sup>2</sup> : Adjusted R-square 自由度調整済み決定係数

EEO : Ether-extractable oil エーテル抽出性油脂

HDL : High density lipoprotein 高密度リポ蛋白質

mRNA : messenger RNA 伝令リボ核酸

PPAR $\alpha$  : Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  subtype

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\alpha$  サブタイプ

PPAR $\gamma$  : Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  subtype

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\gamma$  サブタイプ

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid エチレンジアミン四酢酸

FAS : Fatty acid synthase 脂肪酸合成酵素

ACL : ATP-citrate lyase ATP-クエン酸リアーゼ

G6PD : Glucose 6-phosphate dehydrogenase グルコース-6-リン酸脱水酵素

6-PGD : 6-Phosphogluconate dehydrogenase 6-ホスホグルコン酸脱水酵素

ME : Malic enzyme リンゴ酸酵素

PK : Pyruvate kinase ピルビン酸キナーゼ

ACO : Acyl-CoA oxidase アシル CoA オキシダーゼ

CPT : Carnitine palmitoyltransferase カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ

ECH : Enoyl-CoA hydratase エノイル CoA 脱水酵素

3-HAD : 3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase 3-ヒドロキシアシル CoA 脱水酵素

3-KCT : 3-Keotacyl-CoA thiolase 3-ケトアシル CoA チオラーゼ

2,4-DCR : 2,4-Dienoyl-CoA reductase 2,4-ジエノイル CoA 還元酵素

SM : Starch mix コーンスターチの混合物

cgBW : 100g body weight 体重 100g

WAT : White adipose tissue 白色脂肪組織

O/W : Oil in water 水中油型

W/O : Water in oil 油中水型

## 図表一覧

Fig. 1-1. The population trends of Japan

Fig. 1-2. The structure of triacylglycerol

Fig. 1-3. The definition of oil and fat

Fig. 1-4. The digestion and absorption model of TG

Fig. 1-5. The structure of Caprenin and Salatrim

Fig. 1-6. The function and inner events of the extruder

Fig. 1-7. The diagram of the extruder

Fig. 2-1. Chemical structure of major curcuminoids in turmeric

Fig. 2-2. Processing flow and material balance in extraction of curcuminoids from  
turmeric

Fig. 2-3. Solubility of curcumin in edible oils

Fig. 2-4. Particle size distribution in the solid fractions

Fig. 2-5. Pictures of ground and pressed sample (difference of transparency of  
MCT fraction)

Fig. 2-6. Concentration of curcuminoids in material turmeric and liquid parts  
obtained by grinding and pressing of turmeric in MCTs

Fig. 2-7. Recovery rate of curcuminoids from turmeric to MCT fraction obtained by  
grinding and pressing of turmeric in MCTs

Fig. 3-1. The appearance of the extruder

Fig. 3-2. The appearance of the screw and the location of thermal control regions  
(C2, C3, C4 and C5)

Fig. 3-3. The DSC curves of the starch with and without soy oil

Fig. 3-4. The SEM images of EXS and EXO

Fig. 3-5. The response surfaces estimated the regression equation for DG

Fig. 3-6. Motor current value of the screw shaft

Fig. 3-7. The response surfaces estimated the regression equation for WAI

Fig. 3-8. The response surfaces estimated the regression equation for WSI

Fig. 4-1. The difference of the feces appearance

Fig. 4-2. The difference of the milled feces appearance

Fig. 4-3. The amount of transcription of PPARs

Table 1-1. The composition of rice (g/100g)

Table 3-1. Chemical composition of corn starch (Y-4P) (%)

Table 3-2. Screw profile used for extrusion experiments

Table 3-3. Code levels for the experiment (response surface) design

Table 3-4. The effect of de-fat treatment on the measurement of DG

Table 3-5. DSC profile of starch with and without soy oil

Table 3-6. DG of the extrudated starch with each oil or fat

Table 3-7. Significant coefficients of regression equation for DG

Table 3-8. DG under each condition

Table 3-9. Significant coefficients of regression equation for WAI

Table 3-10. WAI under each condition

Table 3-11. Significant coefficients of regression equation for WSI

Table 3-12. WSI under each condition

Table 3-13. Correlation matrix of extrudate characteristics

Table 4-1. Composition of the experimental diets (%)

Table 4-2. Physical property of the starch source of diets

Table 4-3. The amount of lipids in the feces

Table 4-4. Serum lipids and glucose

Table 4-5. The amount of lipids in the liver

Table 4-6. Weight of each measured items

Table 4-7. The activity of the enzymes

# 第 1 章

## 緒論

## 1-1 日本の健康問題と機能性食品の必要性

### 1-1-1 日本人の栄養状態

少子化と高齢化が同時に進行した結果、ついにわが国は 2005～2007 年をピークに人口減少時代に突入した（Fig.1-1. 総務省統計局調査）。今後さらに高齢者割合が増加しながら、生産年齢人口は減少していくと考えられている。結果、税収や健康保険料が減少していく中で、医療費の削減は国家的な課題となっている。平均寿命とともに健康寿命も延びてはいるのだが、一方で糖尿病や肥満といった生活習慣病罹患者およびその予備軍の増加・若年化が進んでいる。

しかし、一方では若年女性を中心に BMI が 18 以下のやせの割合が増加しており、摂取エネルギーが戦前以下というレベルまで落ち込んでいるグループも一定数存在している（2012 年国民健康・栄養調査）。また糖尿病性腎症患者のようにタンパク質摂取が厳しく制限されているような人口群や加齢により摂取量が低下している高齢者においては低エネルギー状態が発生している。そのため、エネルギー密度の高い食品の開発は重要な課題の一つである。

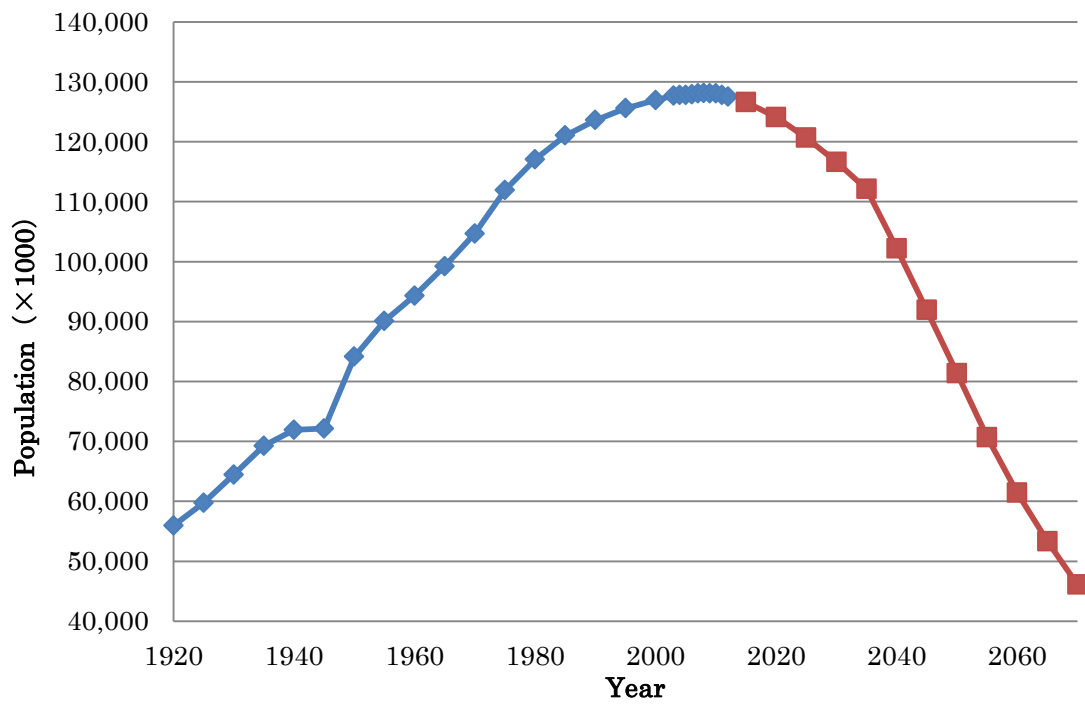


Fig. 1-1. The population trends of Japan

Excerpt from the population estimates by Statistic Bureau, Ministry of Internal Affairs and Communications. Blue, definitive value; red, estimate



### 1-1-2 油脂の栄養学的な位置づけ

脂質は他の主要栄養素である炭水化物、タンパク質に比べ、約 2 倍の単位カロリーを持つ、エネルギー密度の高い栄養素である。したがって、カロリー摂取という意味では非常に効率の良い栄養素である。母乳に固形分中 25%にもなる油脂が含まれていることからそのことがよくわかる。急激な成長を維持するため、表面積が多く熱放出量が相対的に高いにもかかわらず高体温を維持するために多くのカロリーを必要とする乳児が少ない哺乳量（摂取量）で効率的にエネルギー摂取できるようになっている。一方で高齢者では摂食量の低下に加えて、消化能力の低下により高脂肪食品を避ける傾向があり、結果的に摂取エネルギー不足状態を呈するケースが多く観察されている。このように適切なエネルギー摂取のためには、脂質の摂取量が重要であり、例えば「日本人の食事摂取基準」（2010 年）では、脂肪エネルギー比率が設定されている。

学童期から前期高齢者においては、そのエネルギー密度の高さから過剰摂取によるカロリー過多になりやすく、肥満や糖尿病という生活習慣病の発症に関連付けられ、その摂食量の低減のために様々な検討が行われている。

脂質摂取量の調整による摂取エネルギー管理が多くの臨床現場で実施されているが、その成否は被指導者のモチベーションによるところが大きく、成功率は高くない。それは油脂が食品のおいしさにとって重要な役割を果たしているからである。

ラットでの研究によれば、糖と同様に油脂にはそれ自体にヤミツキとなる特性があると報告されている（Yoneda *et al.*, 2007）。つまり油脂はそれ自体が「おいしい」食品だということである。さらに油脂が存在することで食品の味が向上し、コクを感じるようになる。つまりその脂肪を除去した食品、低脂肪食品や無脂肪食品はコクがなく、物足りない味とを感じる。そうしたいわゆる「おいしくない」食品を日常的に摂

取し続けることは **QOL** 大幅に低下させる。そこで食品中の油脂含有量、つまり摂取量を変化させることなく、油脂の消化吸収量を制御する方法が検討されてきた。

それは油脂の消化吸収経路の特徴を活かし、油脂を化学的な改質による方法である。次の 1 - 2 では油脂の消化吸収経路について概観し、化学的な方法による油脂の消化吸収制御について述べる。

## 1-2 トリアシルグリセロールの消化吸収

### 1-2-1 トリアシルグリセロールの消化吸収機構

油脂とは狭義にはグリセリロール 1 分子と脂肪酸 (Fatty acid, FA) 3 分子がエステル結合した、トリアシルグリセロール (Triacylglycerol, TG) のことである (Fig. 1-2.)。しかし一般に油脂という場合には、TG を主体として、その加水分解物であるジアシルグリセロール (Diacylglycerol, DG)、モノアシルグリセロール (Monoacylglycerol, MG) をはじめ、フォスファチジルコリン (Phosphatidylcholine, PC) などのリン脂質や脂溶性ビタミンなどの微量成分を含んだものを指す (Fig. 1-3.)。この定義はほぼ脂質と同義である。さらに脂肪はほぼ油脂と同等の意味で用いられるが、厳密には常温で固体状のものを指す。本論文でも油脂を後者の意味で用いるが、その吸収など分子的な考察の場合には TG のみを指すことがある。

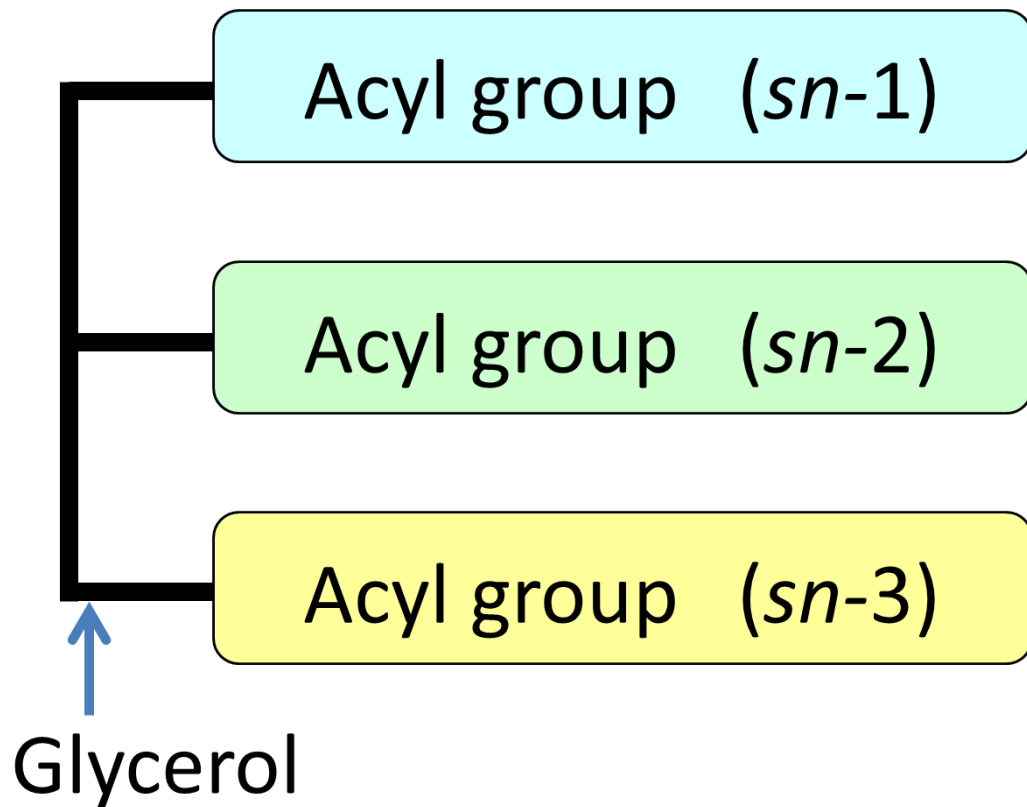


Fig. 1-2. The structure of triacylglycerol

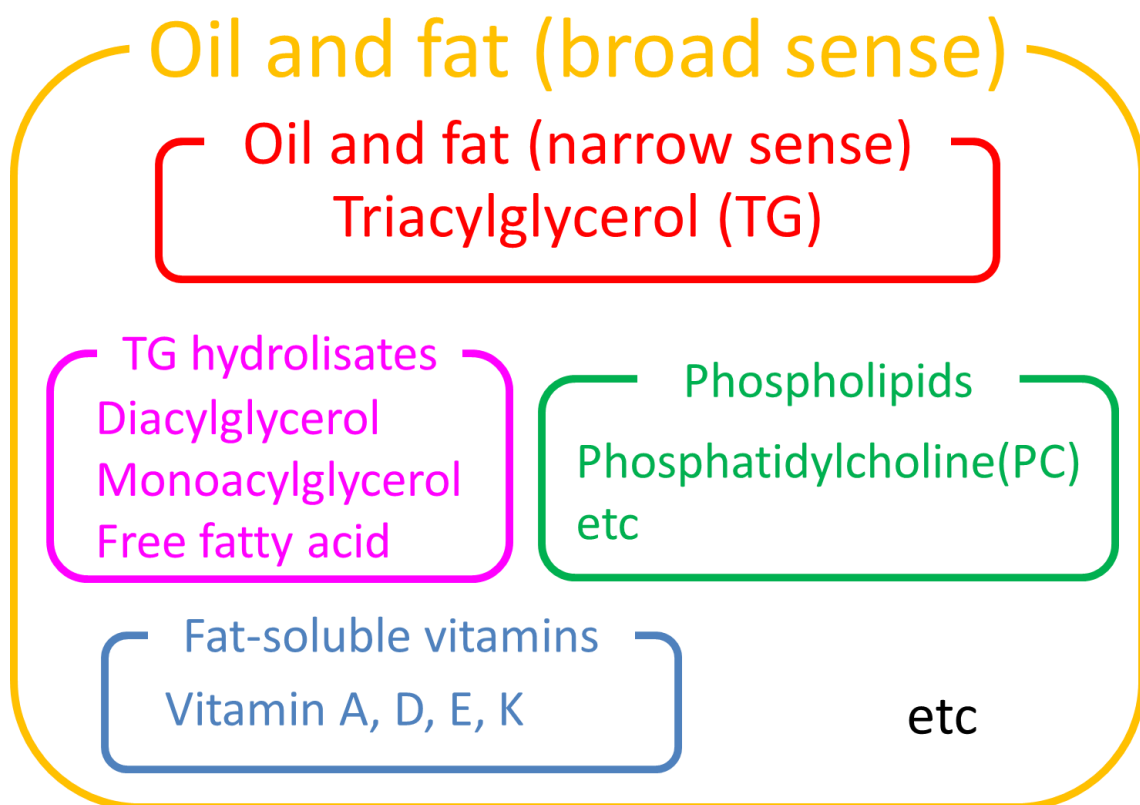


Fig. 1-3. The definition of oil and fat

TG の吸収機構を簡単に説明すると下記の通りである (Fig. 1-4.)。摂取された TG は咀嚼中に舌リパーゼの作用を受け、一部が口腔内で加水分解される。大部分の TG は胃に運ばれ、そこで舌リパーゼと胃リパーゼにより、主に *sn*-3 位のアシル基が加水分解される。この胃での消化量は全体の 20~30%に上ると報告されている (Said *et al.*, 1988)。

未分解の TG と分解産物である DG と FA は小腸へと運ばれる。胆汁酸や分解産物の DG や FA、および共存するリン脂質等によりエマルションが形成され、そのエマルション表面において胰リパーゼによりさらなる加水分解が進む。水リパーゼは *sn*-1,3 位特異性があり、主に 2-MG と FA が生成される。こうして生成された 2-MG と FA は胆汁酸ミセルの状態で刷子縁膜に運ばれ、受動拡散または刷子縁膜上に発現している脂肪酸結合タンパクによるトランスポーターの働きにより、小腸上皮細胞に吸収される。

その後、小腸上皮細胞にて、TG へと再合成され、カイロミクロンに取り込まれ、リンパ管へと輸送され、体循環に入る。

ここで注目すべきは、油脂の加水分解酵素である、舌、胃、胰リパーゼいずれもが位置特異性を持つということである。また長鎖脂肪酸、特にヘキサデカン酸（パルミチン酸）は 2-MG の状態では吸収されるが、FA の状態では吸収率が低く、共存するカルシウムやマグネシウムと不溶性の塩を形成すると考えられている。つまり、TG の消化吸収性はアシル基の種類や結合位置、すなわち分子種によって支配されている。

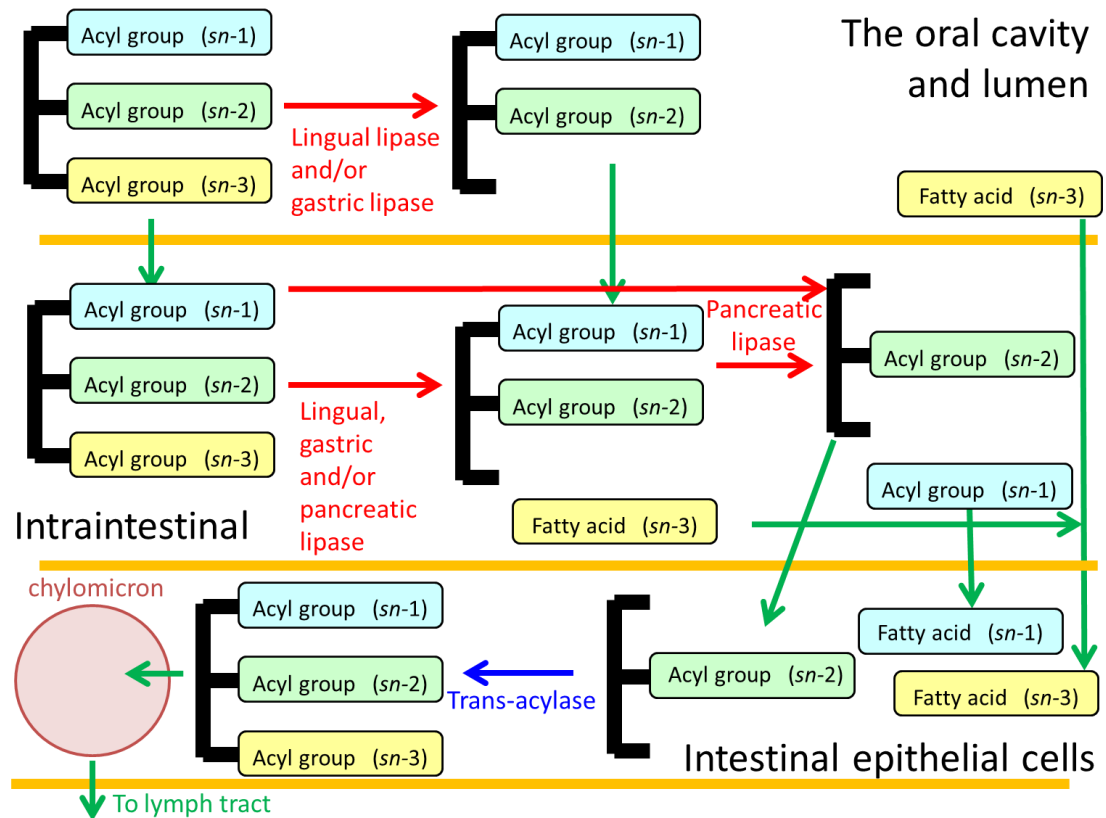


Fig. 1-4. The digestion and absorption model of TG

## 1-2-2 トリアシルグリセロールの消化吸収制御

1-2-1 で述べた TG の消化吸収特性を利用し、それを制御しようと開発されたものが、特定の TG 分子種を主体とした構造脂質と呼ばれる油脂である。

例えば吸収性の高めるために、飽和脂肪酸の  $\beta$  位結合率向上や中鎖脂肪酸の利用という手法が用いられてきた。母乳脂肪のパルミチン酸のうち、*sn*-2 位に結合して比率 ( $\beta$  パルミトイル率) は約 70%と言われており、母乳脂肪の高吸収性をもたらしていると考えられている。しかし、食用油脂として工業的に使用される油脂の中で、同等の  $\beta$  パルミトイル率を示すものはラード (豚脂) のみである。したがって調製粉乳の  $\beta$  パルミトイル率は一般に低く、脂肪の吸収性は母乳に劣ることが推察される。母乳脂肪の高吸収性に近づけるため、国内ではラードが用いられている製品も販売されているが、脂肪酸組成も母乳に近づける必要があるため、使用油脂をラード単一にすることは出来ないため、他の使用油脂由来のパルミチン酸によって  $\beta$  パルミトイル率の低下は免れなかった。またイスラム教徒が多い地域では宗教上の観点からラードが使用できない。こうした問題点を解決するため、植物油脂をエステル交換と分別を繰り返し、パルミチン酸を含めた飽和脂肪酸の吸収性が高い油脂として Betapole™ が開発された。

炭素数が 8~10 (炭素数が 12 の脂肪酸も含める場合もある) の脂肪酸を中鎖脂肪酸と呼び、この中鎖脂肪酸からなる TG のことを MCT (Medium Chain Triacylglycerol ; 中鎖脂肪酸トリアシルグリセロール) と呼ぶ。MCT はリパーゼによる加水分解を受けやすく、舌リパーゼ、胃リパーゼによっても容易に分解を受けるといわれている。こうして分解生成された中鎖脂肪酸、モノまたはジアシルグリセロールは容易に吸収され、他の長鎖脂肪酸とは異なり、門脈経路で肝臓に輸送されることが知られている。この中鎖脂肪酸を含む TG は中鎖脂肪酸以外の結合脂肪酸の吸収



も向上させることが報告されてきた。Ikeda ら（1991）らは *sn*-2 位にリノール酸、*sn*-1,3 位にオクタン酸（カプリル酸）が結合した TG はトリリノリルグリセロールよりも *sn*-2 位のリノール酸の吸収が高いことを報告している。

一方で低吸収性の油脂も開発されている。その例が Caprenin<sup>TM</sup> と Salatrium<sup>TM</sup> である（Fig. 1-5. 遠藤、1996）。ともに長鎖飽和脂肪酸と中鎖または短鎖脂肪酸の混合 TG からなる。上記の通り、*sn*-1,3 位に結合した長鎖脂肪酸はほとんど吸収されないため、吸収量は単純に考えて通常の油脂の 3 分の 2 となる。2 製品の実際のカロリーは 5 kcal/g と約 2 分の 1 となっているが、これは長鎖脂肪酸よりもカロリーの低い短中鎖脂肪酸を使用していることも影響していると考えられる。

これらの構造脂質を用いた TG の消化吸収制御は化学的な処理による制御手法といえる。では物理的な処理によって、油脂の消化吸収は制御できないのだろうか。

次の 1-4 では食品の物理的処理の例を挙げながら、その可能性について述べる。

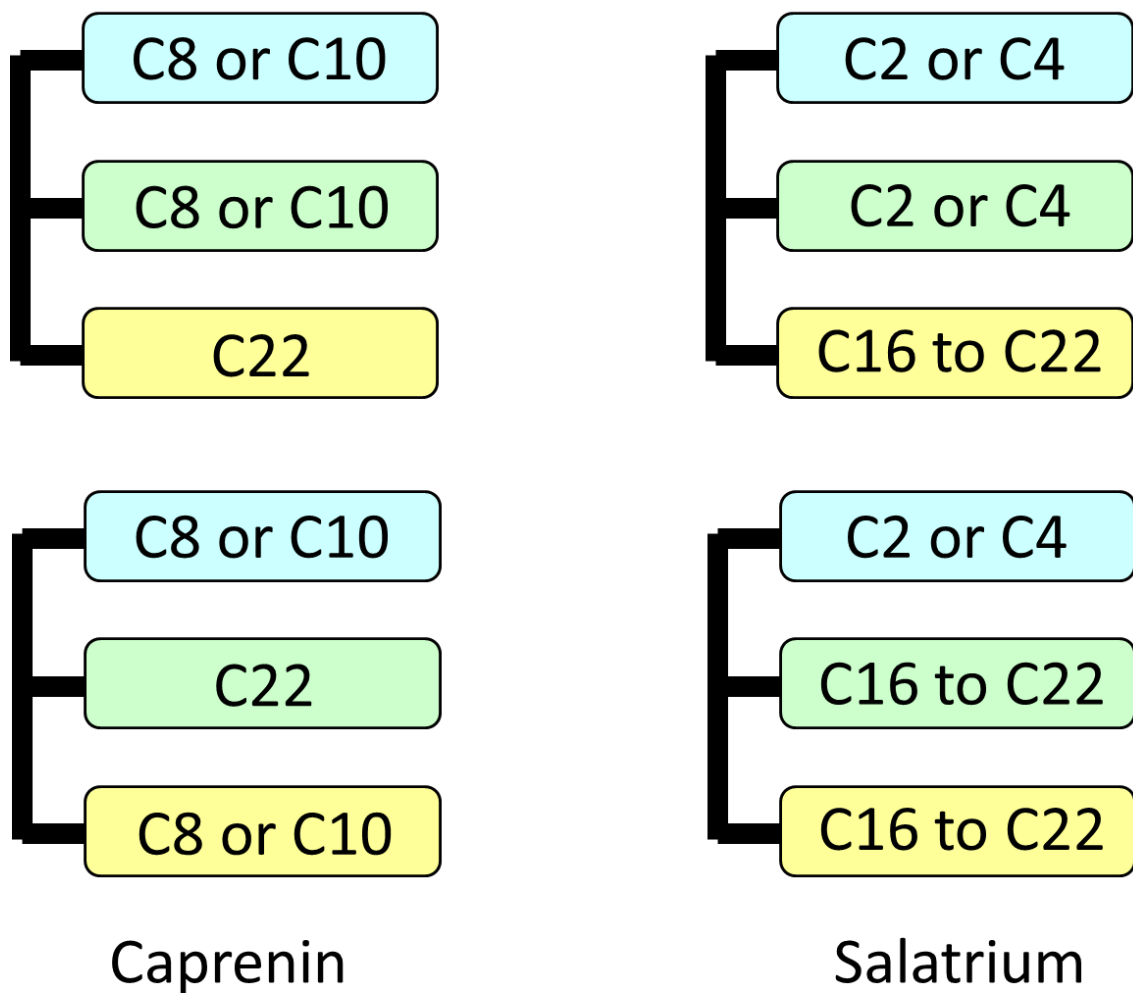


Fig. 1-5. The structure of Caprenin and Salatrium

C8, caprylic acid; C10, capric acid; C22, behenic acid; C2, acetic acid; C4, butyric acid; C16, palmitic acid

### 1-3 物理的処理による食品の消化吸収制御

#### 1-3-1 食品に対する物理的処理に関する研究

油脂以外の主要栄養素、つまり炭水化物とタンパク質に関しては、物理的な処理と消化吸収性について多くの研究がおこなわれてきた。

He ら (2013) や Vilela ら (2006) はホエイタンパク質を加圧処理することでゲル化し、さらにそのゲル化タンパク質は未加圧処理の水溶液よりも *in vitro* 消化試験において消化性が高いことを報告している。

炭水化物、特に澱粉に関しては糊化や老化そのものが物理的な処理の結果であり、それによって消化性が異なることは広く知られている。また湿熱処理という糊化度にはそれほど影響を与えないが、澱粉の結晶性に影響を与える処理によっても酵素受容性に変化が生じることが報告されている (荻原ら、1992)。

一方、油脂の消化吸収に関しては物理的な処理による変化に関してほとんど報告がない。それは油脂がタンパク質や澱粉に比べて比較的低分子であること、またタンパク質の変性や澱粉の糊化のように不可逆的な構造変化が生じないことが一因であると考えられる。

#### 1-3-2 物理的処理による油脂の消化吸収制御の可能性

TG は一般に複数の結晶多形を有しており、温度履歴、攪拌の有無、他の TG との存在比によって特定の結晶多形を取り、その多形の違いによって融点や粘度に差異を生じ、結果的に消化性が異なる可能性はある。しかしそれは一度融解してしまうと、元の結晶多形の差異は融液の状態に影響は与えない。すなわち、油脂単独ではどのよ

うな処理を加えて結晶多形を制御しても、加熱によって処理の効果が消去されてしまう。したがって油脂を単独で物理的に処理しても、それが分子的な分解を伴うものでなければ、消化吸収性が変化する可能性は低い。

食品成分は単独で摂取されることはほとんどなく、その消化吸収は他の共存成分によって影響を受けている。例えば上述の TG の消化吸収に関して、*sn*-1,3 位に結合した長鎖飽和脂肪酸は吸収されにくいと述べたが、その理由の一つは共存するカルシウムやマグネシウムと不溶性の塩を形成するからである。つまり、一緒に摂取する食品のカルシウムやマグネシウム含量が少なければ吸収率が上昇する (Lee *et al.*, 2008)。

また我々が最初に口にする母乳がそうであるように、食品の多くは乳化物であるが、この乳化という処理は物理的な処理と考えることができる。この乳化状態が油脂の消化に影響を与えるということが報告されている。Amand ら (1999) は同配合の乳化液において、乳化粒径の小さい微細乳化液の方が粗乳化液よりも油脂の消化速度が速いことを報告した。また武藤ら (2011) は乳化を形成、安定させている界面活性剤 (乳化剤) の種類によって、油脂の吸収速度が異なり、大豆レシチン、合成乳化剤と比較して、卵黄レシチンによる乳化液が油脂の吸収速度が速いことを報告した。

これらの例のように、油脂の消化吸収は単に TG の分子種によって一義的に決定されるものではない。他の共存成分の有無、およびその存在状態によって影響を受ける。物理的な処理は共存成分の存在状態を変化させることができる。したがって、物理的な処理によって油脂の吸収を制御することは十分可能であると考ええる。

## 1-4 エクストルージョンによる食品加工

### 1-4-1 食品分野におけるエクストルージョン・クッキングの利用

エクストルージョン・クッキング（EX）とはエクストルーダーと呼ばれる機器による加工処理のことである。エクストルーダーはスクリューによる物質搬送部を持つ機器のことを指し、この材料搬送部は多くの場合温度制御が可能である。スクリューやダイの形状を変更することで内部に投入された試料に対して移送、圧縮、破碎、混合、混練、溶融、脱気等の処理を安定的に行うことができる（Fig.1-6.）。プラスチック加工など高分子工学の分野では主要な製造機械として用いられている。

食品工業においても、1930 年代に 1 軸エクストルーダーがパスタ類の製造に用いられるようになり、1940 年代にはシリアル、1950 年代には乾燥ペットフードへと応用される範囲が徐々に広がっていった。1970 年に Atkinson が植物タンパク質の組織化に関する特許を発表して以来、盛んに研究がなされてきた。同時期に 2 軸エクストルーダーが食品用に改良されてきた。

前述の通り、エクストルーダーはスクリューの構成を変えることによって様々な加工を連続的かつ大量に処理することができる。したがって従来、複数の機械を用いて、多段階の工程を踏んで製造されていた製品を、1 台で 1 工程として製造可能になる点が利点の一つである。特に 2 軸エクストルーダーは投入できる原材料の性状の制約が少なく、また単位時間当たりの処理量は投入量によって制御可能であるため、管理しやすい点も大きな利点である。

日本では 1984 年に始まった農林水産省の補助事業「食品産業エクストルージョンクッキング技術研究組合」に多くの機械メーカー、食品メーカーが参加し、急速にエクストルーダーの利用が始まった。

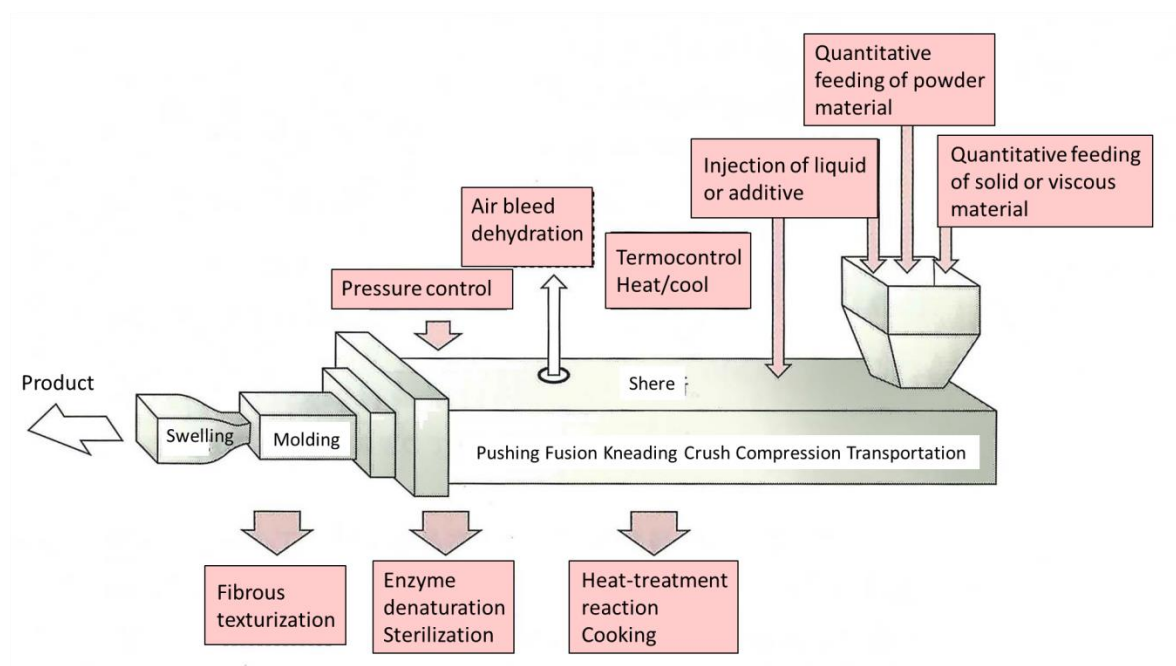


Fig. 1-6. The function and inner events of the extruder

#### 1-4-2 エクストルーダーの構造

エクストルーダーの模式図を Fig. 1-7.に示した。フィーダーとは原料を供給する装置を指し、多くは1軸スクリューによって原料を運搬している。エクストルージョン処理はバレル内腔およびスクリュー表面と原料との相互作用によってなされるものであるため、安定した処理を行うには原料が安定した流量で供給されることが必要である。したがってフィーダーには安定的に原料供給する能力が求められる。

バレルとは原料の処理部分であり、温度制御のための加熱・冷却装置を備えている。制御区間は複数に区切られているのが一般的である。

スクリューは EX 処理の仕様を決定づける部分である。スクリューの構成部品はユニット化されており、任意の構成を組むことができる。また2軸であれば、同方向または異方向回転のどちらを選択するかによって処理結果は異なる。同方向回転は混練効率、スクリュー自浄効率に優れ、異方向回転は材料運搬能力に優れている。

ダイは EX 処理物（押出物と呼称）の射出口部を指す。ダイの形状により内部圧力や射出後の形状が影響を受けるため、処理内容、製品形態に適したダイの選択が必要となる。

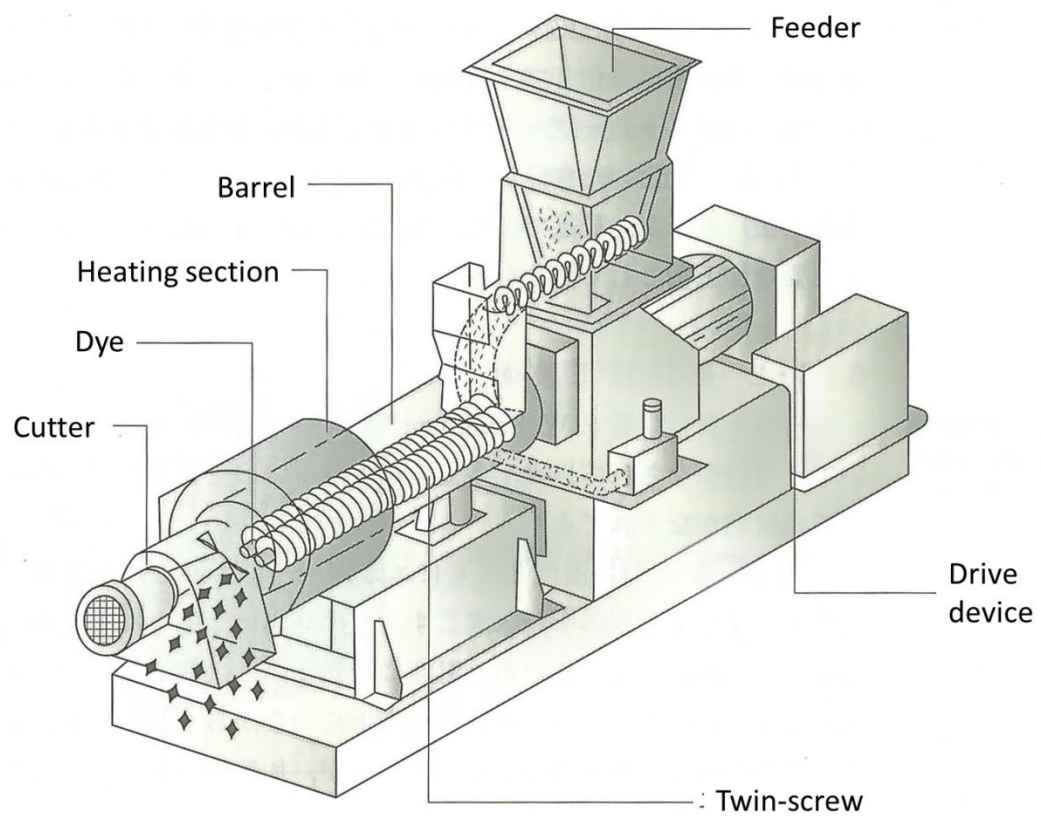


Fig. 1-7. The diagram of the extruder



### 1-4-3 高カロリー・低タンパク質食品の開発

腎臓病は、血中の尿素窒素、クレアチニン、尿素などが高濃度になり病状が進行する。またフェニルケトン尿症は、体内のフェニルアラニンが蓄積され、精神遅滞や原発性甲状腺機能低下症などを生じる。しかしフェニルアラニンは必須アミノ酸であり極端な摂取制限は出来ない。

こうした疾病患者には低タンパク質食による食事療法が一般的に行われている。しかし、日本人の主食である米の組成は Table 1-1.の通り（五訂増補食品成分表 2005 年度版より抜粋）、相当量のタンパク質が含まれているため、健常人と同様に米を摂取することは出来ないため、タンパク質を低減させた米加工食品・疑似米食品が多く開発されてきた。例えば米を乳酸発酵や酵素処理を施し、蛋白質を除去した食品である（江川、宍戸、1993, 高橋、1993）。しかしながら、これらの方法はミネラル・ビタミン類、米本来の旨味成分等の食感成分まで失ってしまう欠点があった。また、低タンパク質化により、カロリー不足が生じるため、こうした加工食品に油脂を食前に追加配合しているが、油っぽく、食味及び食感の美味しさは大きく損なわれている。

Table 1-1. The composition of rice (g/100g)

Water	Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash
15.5	6.1	0.9	77.1	0.4

Excerpt from “Standard tables food composition in Japan  
fifth revised and enlarged edition - 2005 -“

上記の低タンパク質食に係る課題を解決した、つまり高カロリーかつ食感、呈味の優れた低タンパク質食品の開発にエクストルーダーを使用した例がある（五十部ら、2006）。

MCT や魚油など必要に応じた脂肪酸組成を持つ油脂もしくはその乳化液とあらかじめ EX 処理し、糊化させた  $\alpha$  化澱粉の混合物と、搗精などによりタンパク質を削減した米粉をエクストルーダーにより混合・成形処理し製造する。この押出物は射出時のダイの形状やカッティング方法を調整することにより、米粒状やうどん状の形に成形することができ、この押出物を炊飯や茹でることによって、通常の米飯やうどんと同等の食味が得られる。

この例のように、EX は短時間で高温・高圧化で、混合・混練できるという優れた特性を有し、米やうどんといった食品を製造することが可能である。さらには食品素材の製造も可能である。

上記の研究においては、食味の改善効果は確認しているが、この手法により製造した食品の物性に関する評価や、消化吸収特性に関する検討は行われていない。したがって、当該食品が真に高カロリー食品となっているかの検証はなされていない。

## 1-5 本研究の目的

本論文では油脂を主要な素材として他の食品素材とともに、物理的な処理を加えることによる影響について検討した。

第2章では油脂として MCT を、食品素材としてウコンを取り上げ、摩砕という物理的処理による curcuminoids 抽出について報告する。この章では油脂を抽出溶媒として捉え、摩砕処理をすることで機能成分を抽出することが可能であり、新たな抽出方法となりうる可能性を示すことを目的とした。食品の物理的な処理について、新規の考え方を提示するものであり、油脂に抽出成分の機能性を付与する方法を示すものである。

第3章では澱粉単独および澱粉と油脂の混合物を EX 処理し、処理物の物性を評価した。この章では EX 処理条件（供給水分量、スクリュウ回転速度）と処理試料の特性（糊化度、吸水性、溶解性）との関係性を明らかにすることを目的とした。処理条件と物性の関係性を明らかにすることは、EX 処理によって、食品製造を行う上で、重要な課題であり知見となるものである。

第4章では第3章で作成した EX 処理試料によるラット摂食試験を行い、血液化学的検査、酵素活性等への影響を検証した。この章では消化吸收動態や生理的效果について調査することを目的とした。本章は物理的な処理による油脂の消化吸收制御、および食品への機能性付与の可能性について言及するものである。

第5章では以上の結果を総合的に考察し、本研究の今後の展開について述べた。

本研究により物理的な食品加工により、油脂の消化吸收を制御すること、また食品に機能性を付与することが出来る可能性を示すことを目的とした。

## 第 2 章

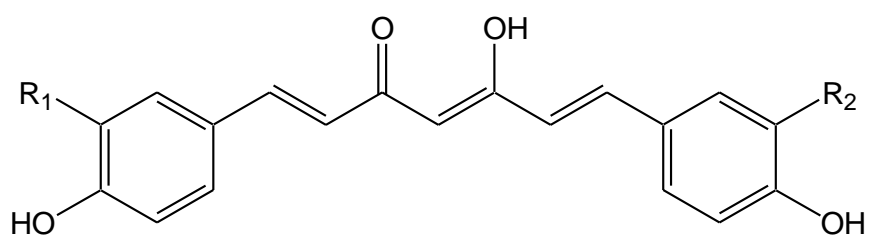
摩砕処理による *Curcuma longa* からの  
MCT を用いた curcuminoids 抽出

## 2-1 緒言

ウコン (*Curcuma longa*) はショウガ科の多年草で、その根茎には多量の curcuminoids (クルクミン類) が含まれている。

Curcuminoids は curcumin、demehoxycurcumin、bis-demehoxycurcumin などを含む疎水性の黄色色素である (Fig. 2-1., Masuda *et al.*, 1993)。抗酸化機能など多岐にわたる生理作用が報告されている (Asai and Miyazawa, 2001) が、最近は二日酔い抑制効果が注目され、飲料等に頻用されている。通常、curcuminoids はエタノールのような有機溶剤を用いてウコンから抽出されているが、溶剤除去などの工程数が多く、溶剤を用いない抽出法の開発が望まれていた。

そこで本章では食用油脂を用いた curcuminoids 抽出について検討を行った。食用油脂を抽出溶媒に用いることによって、溶剤除去の必要性がなくなり、コスト削減と利便性向上が期待できる。



Curcumin:  $R_1, R_2 = \text{OCH}_3$

Demethoxycurcumin:  $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$

Bis-demethoxycurcumin:  $R_1, R_2 = \text{H}$

Fig. 2-1. Chemical structure of major curcuminoids in turmeric

## 2-2 実験方法

### 2-2-1 実験材料

実験に用いたウコンは熱帯ウコンと呼ばれる品種で、2011 年 2 月に沖縄で収穫されたものを使用した。ウコン根茎の水分量は 81 %で、実験に使用するまでは 5 °Cで保管した。

使用した食用油脂はパナセート 810、パナセート 800（いずれも日油提供）、ナタネ油、大豆油、コーン油、オリーブ油（いずれも市販品）。パナセート 810、パナセート 800 はヤシ油由来の中鎖脂肪酸トリアシルグリセロール（MCT）である。カプリル酸（炭素数 8）とカプリン酸（炭素数 10）がパナセート 810 は 85:15、パナセート 800 は 100:0 の比率で構成されている。

Curcumin、demehoxycurcumin、bis-demehoxycurcumin の標準品は和光純薬製品を用いた。

### 2-2-2 Curcumin 溶解性試験

食用油脂への curcuminoids 溶解性試験として、過剰量の curcumin を 2-2-1 に示した食用油脂 2 g に添加し、50°Cまで加温しながらよく混合し、分散させた。25°Cまで冷却後、5078×g で遠心し、その上精を curcumin 飽和油とした。各 curcumin 飽和油の 25°C・423 nm（curcumin の最大吸収波長）における吸光度を測定し、溶解している curcumin を測定した。



### 2-2-3 Curcuminoids 測定

Curcuminoids の定量には HPLC を使用した。使用した HPLC システムは CBM-20A (システムコントローラー)、LC-20AD (送液ポンプ)、SIL-20A (オートサンプラー)、CTO-20A (カラムオーブン)、SPD-20A (UV-VIS 検出器) (すべて島津製作所)。使用カラムは VP-ODS ( $\phi 2 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ 、島津 GLC)。移動相は 0.1% (v/v) トリフルオロ酢酸・水/アセトニトリル (60:40、v/v) 混合溶媒のアイソクラティックとし、流量は 1.0 ml/min に設定した。カラムオーブン温度は 40 °C、UV の検出波長は 420 nm とした。試料をメタノールにて 10 倍希釈し、PTFE フィルター (孔径 0.5  $\mu\text{m}$ ) によりフィルトレーション後、HPLC に供した。Curcumin、demehoxycurcumin、bis-demehoxycurcumin それぞれの保持時間は 11.2、9.7、8.5 分であった。

### 2-2-4 Curcuminoids 抽出試験

抽出のプロトコルを Fig. 2-2. に示した。ウコン根茎をフードカッター (FC-27D、愛豊鉄鋼) で 2 分間処理し、5 mm 以下の小片にした。このウコン根茎 2400 g を同量のパナセート 810 と混合し、摩砕機 (Super Masscolloider MKZA 10-15、増幸産業) に供した。砥石は GC10-120 を使用した。研削処理速度は平均 30~40 g/s、砥石のクリアランスは 1 mm、下砥石の回転数は 2000rpm とした。

摩砕処理は 3 回繰り返した。各摩砕処理試料はろ布に包み、プレス機 (KT23-100、サン精機) にて、30 MPa でろ過し、固体部 (各摩砕処理試料ごとに S1、S2、S3 とした) と液体部 (同様に L1、L2、L3) に分離した。それぞれ重量測定し、固液比率を算出した。

各固体部は 10 倍量のエタノールで洗浄し、油脂を除去した後、風乾した。風乾固体部をステンレス製のふるい（目開き 2.0、1.0、0.5、0.25 mm）にかけ、5 つに分画した（2.0 mm 以上、1.0～2.0 mm、0.5～1.0 mm、0.25～0.5 mm、0.25 mm 以下）。各画分の重量を測定し、粒度分布を算出した。

各液体部は 5078×g で遠心後、50℃に加温し、清澄化した。この沈殿部と清澄上精部をそれぞれ沈殿部（それぞれ）P1、P2、P3 と MCT 画分（それぞれ MF1、MF2、MF3）とした。

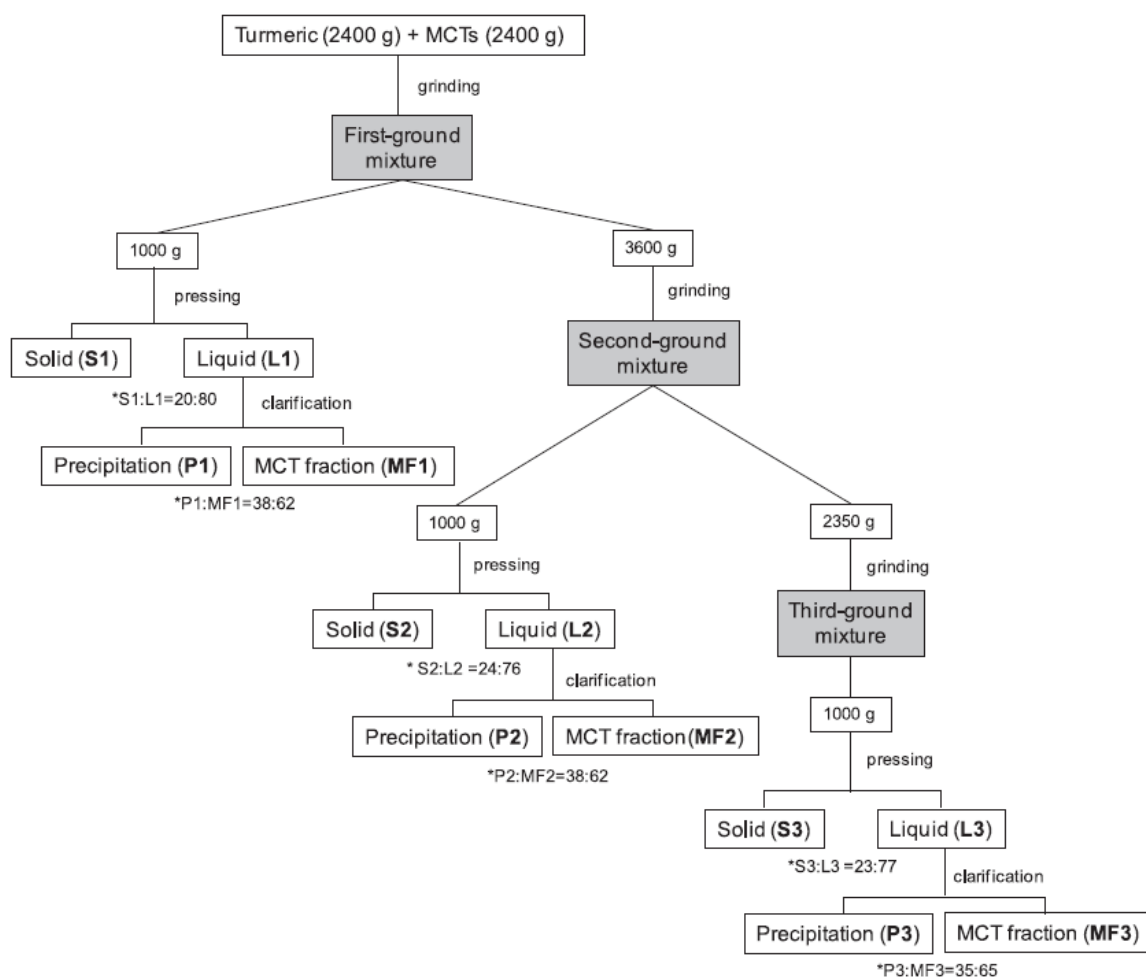


Fig. 2-2. Processing flow and material balance in extraction of curcuminoids from turmeric

\*Solid-liquid separation ratio after pressing. Yield of oil fractions are calculated values.

## 2-3 結果と考察

### 2-3-1 Curcumin 溶解性試験

Curcumin の食用油脂溶解性試験の結果を Fig. 2-3.に示した。MCT2 種が植物油脂 4 種に対して有意に高い溶解性を示した。MCT は構成脂肪酸の炭素鎖長が一般的な食用植物油脂よりも短いため、極性が高く、この高極性が curcumin と相互作用を生じやすかったためだと考えられる。この結果を受け、以下の抽出試験では MCT を用いることとし、より食用として汎用されているパナセート 810 を使用した。

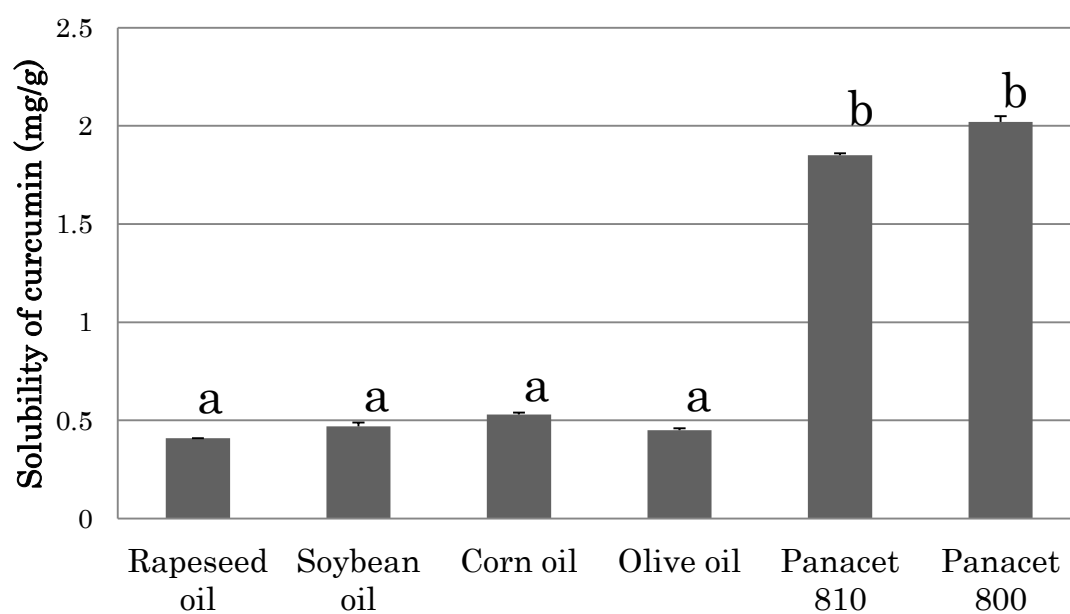


Fig. 2-3. Solubility of curcumin in edible oils

Panacet 810 consist of 85 % caprylic acid and 15 % capric acid. Panacet 800 consist caprylic acid. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.01$  (Tukey's multiple comparison test) .

### 2-3-2 Curcuminoids 抽出試験

摩砕処理において、ウコン-MCT 混合物による負荷はほとんど生じず、摩砕機の抵抗電流値は試料導入前後で 13 A のまま、一定であった。また試料温度は摩砕処理前後でそれぞれ 23℃と 25℃であった。

摩砕処理試料の固液比率は各回とも約 20:80 であった (Fig. 2-2.)。固体部の粒度分布は Fig. 2-4.の通りで、摩砕回数が増えるごとに 0.5 mm 以下の割合が増加し、2 mm 以上の割合が減少する傾向がみられた。0.5 mm～2 mm の割合は摩砕処理回数を通じて約 60%でほぼ一定であった。

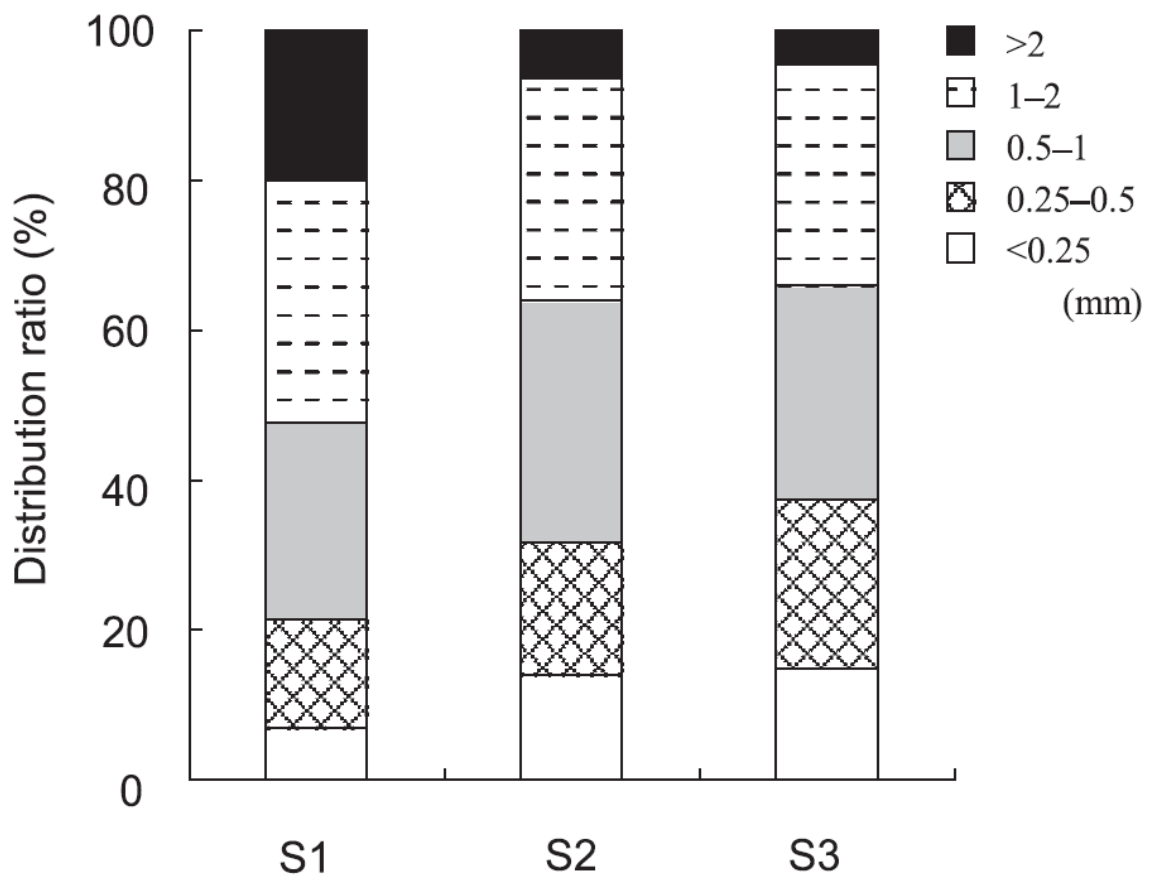


Fig. 2-4. Particle size distribution in the solid fractions

S1-3 are corresponding to Fig. 2-2..

### 2-3-3 MCT 画分の清澄化

液体部の清澄化の様子を Fig. 2-5.に示した。圧抽直後の各液体部は固体粒子や水分が分散しているため、混濁していた。遠心により透明度は高まったが、未だ濁りが確認され、50℃で5分加温後にほぼ透明となった。MCT 画分の外観に摩砕処理回数による差異は観察されなかった。清澄化後の MCT 画分の透明度は室温で3か月保管後にも維持された。したがって、単純な curcuminoids や他成分の溶解度だけではなく、加温によって解消されるある物質の凝集状態などによって、加温前の MCT 画分の濁りが生じたと考えられる。遠心前に加温した液体部は透明にはならなかった。



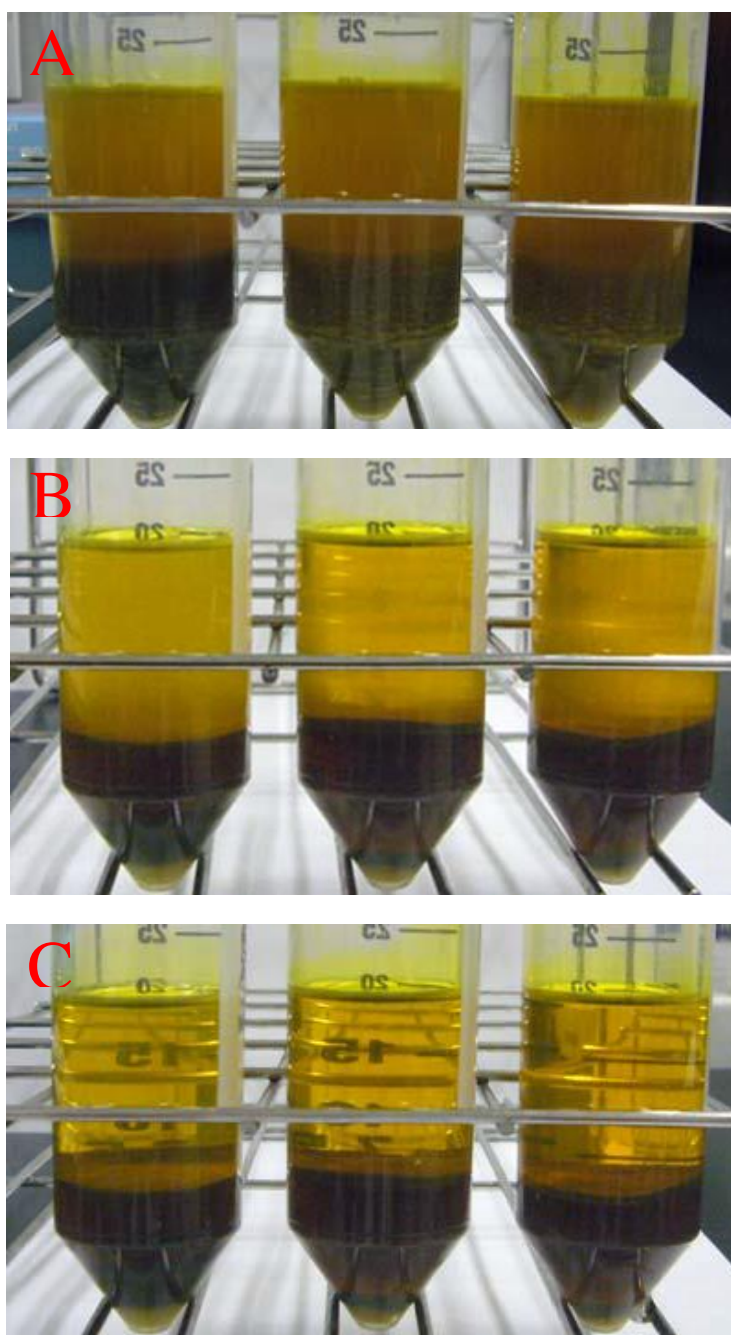


Fig. 2-5. Pictures of ground and pressed sample (difference of transparency of MCT fraction)

A, L1-3 (corresponding to Fig. 2-2.), after leaving for 3 hours; B, After centrifuging of A; C, After warming at 50°C for 5min of B. Three tubes of each picture are of 1, 2 and 3-time-grinding, from left to right.

#### 2-3-4 MCT 画分の curcuminoids 含有量と回収率

MCT 画分の curcuminoids 含量を Fig. 2-6.に示した。MF2 と MF3 の curcumin 含量は curcumin を MCT に溶解させたときと同等の値を示しており、MF2 と MF3 の curcuminoids 濃度はほぼ飽和状態であると考えられる。Curcuminoids の回収率は摩砕処理 1 回目が 6~10%、2, 3 回目が 9~15% であった (Fig. 2-7.)。1 回目と比較して、2, 3 回目の回収率が高くなった原因は、ウコン片が微小化し、抽出効率が上昇したことであると考えられる。したがって、この抽出システムにおける最適な摩砕処理回数は 2 回であった。各 Curcuminoids の回収率は curcumin、dimethoxycurcumin、bis-dimethoxycurcumin の順に高く、各 curcuminoids の MCT への溶解性を反映していると考えられる。したがって、使用する MCT 量に伴い、curcuminoids の収量は増加すると考えられるが、ハンドリング性、エネルギーコスト、作業コストなどの側面も含めて、抽出システムの最適化をする必要がある。摩砕処理に関しては今回の MCT : ウコン片が 1:1 が適しており、単価は MCT の方が高い。

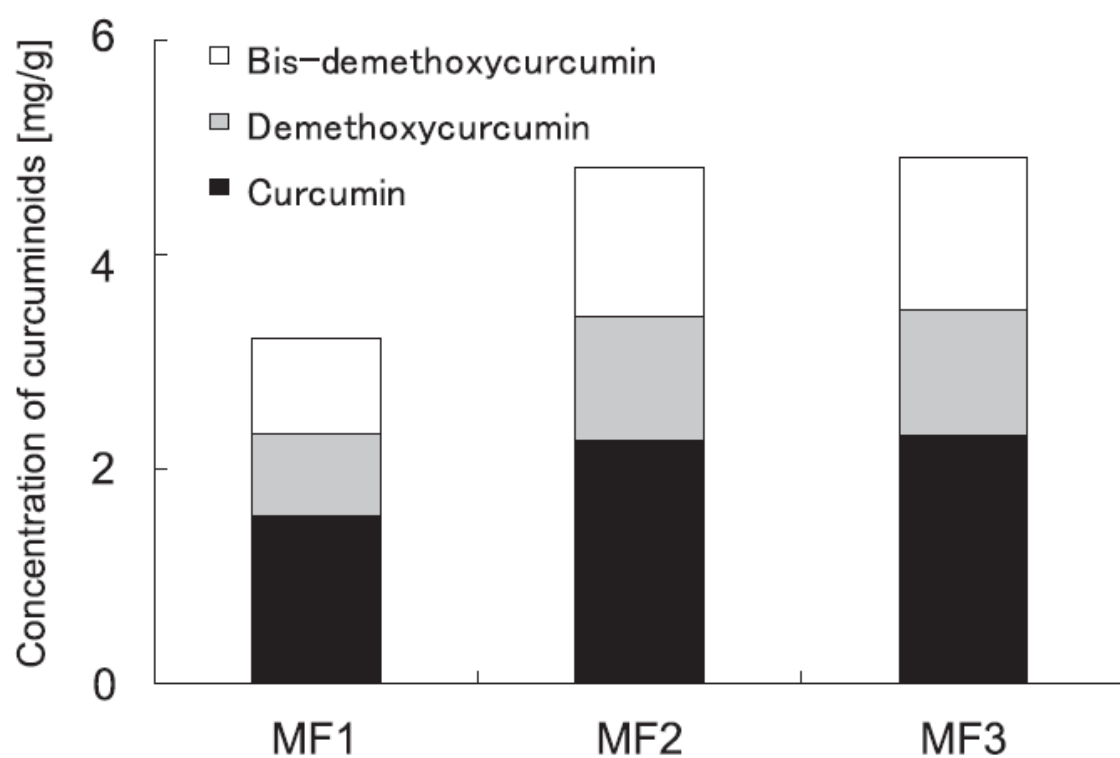


Fig. 2-6. Concentration of curcuminoids in material turmeric and liquid parts obtained by grinding and pressing of turmeric in MCTs

MF1–3 are corresponding to Fig. 2-2..

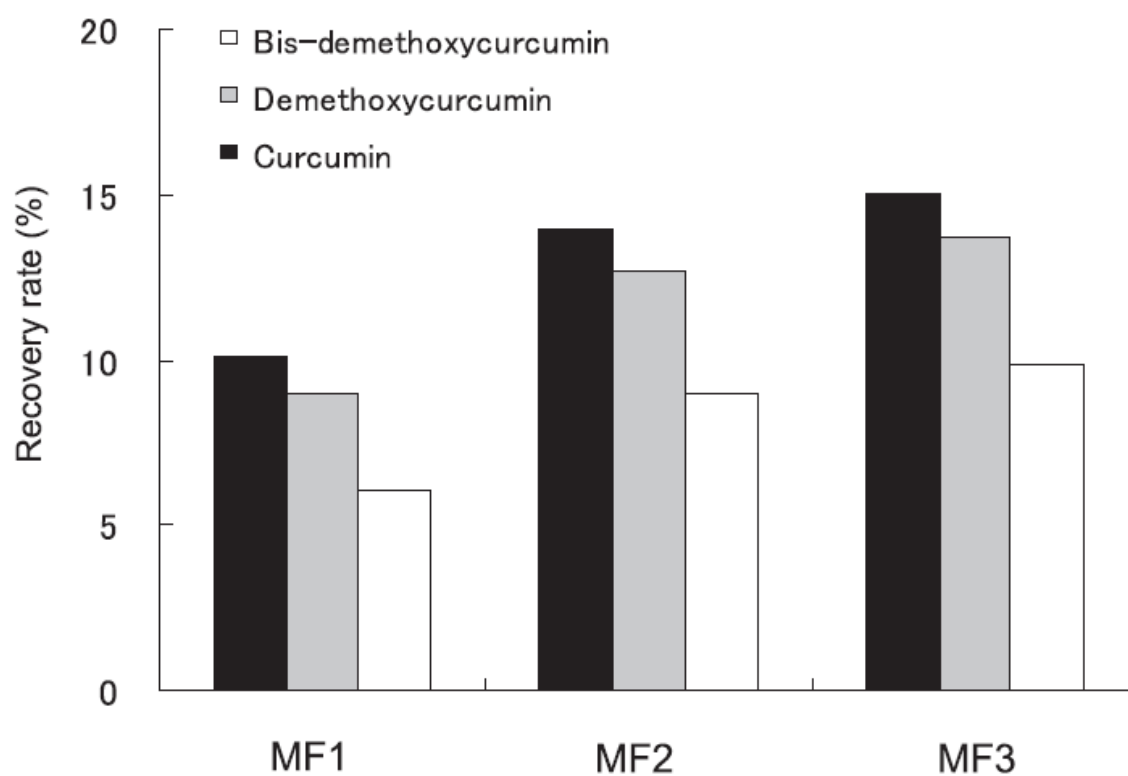


Fig. 2-7. Recovery rate of curcuminoids from turmeric to MCT fraction obtained by grinding and pressing of turmeric in MCTs

MF1–3 are corresponding to Fig.2-2..

### 2-3-5 Curcuminoids 含有 MCT の食品原料としての可能性

大城（2002）が乾燥ウコンからジアシルグリセロール主体油脂を抽出溶媒に用いた curcuminoids 抽出について、また杉浦と渡邊（2007）がスパイスやナッツ類から MCT を抽出溶媒に用いたフレーバー抽出について報告している。これら先行研究と比較して、今回の抽出試験は、未加工原料を使用し、室温下で直接 MCT で抽出するという点で新規性があり、生産コストも大幅に低減された方法である。

従来の分散剤と安定剤を用いて製造された curcuminoids 分散液と比較して、MCT 画分は curcuminoids の溶解液であるため、食品中での高い安定性を有すると考えられる点が優れている。MCT 画分を水性食品に添加した場合でも、乳化によって curcuminoids は安定化されているであろう。Yan ら（2012）は油脂とリン酸バッファーによるナノエマルジョンを用いて、かんきつ類に含まれる疎水性の生理活性物質であるポリメトキシフラボン類のデリバリーシステムを構築し、乳化液中におけるポリメトキシフラボン類の高い安定性を報告している。一方で、Pfeiffer ら（2003）は 1%ジメチルスルホキシド・リン酸バッファー中に分散させた curcuminoids が速やかに分解されることを報告している。本抽出試験により作成された MCT 画分は液状シーズニングやスープ類、畜肉製品、水産製品など多種多様な食品への応用が期待される。

脂溶性ビタミンは単独で摂取した場合と比較し、油脂とともに摂取した場合の方が、高い吸収率を示す。これは油脂が脂溶性ビタミンのキャリアとなり、胆汁酸ミセルの中に脂溶性ビタミンを誘導し、より小腸上皮細胞との接触機会を上昇させるためだと考えられている。同様に、curcuminoids も疎水性の物質であり、同様の吸収促進効果が得られる可能性がある。

本抽出試験を通して、食品原料を一つの混合材料として考えることによって、

ある物理的処理による加工を施し、物性を変化させることでその食品の、もしくは食品中の成分の消化吸収を制御できるのではないかという考えに到り、次の第3章および第4章の研究に着手した。

### 第 3 章

エクストルージョン・クッキング条件が澱粉および  
澱粉・大豆油混合物の物性に与える影響の解析

### 3-1 緒言

1-4-3 で述べたように、油脂と澱粉主体原料を EX することによって、米やうどんに似た形状を持つ食品を製造することができ、かつ通常の米飯やうどんと同等の食味を持たせることが可能である。

1-4-3 ではあらかじめ部分糊化させた  $\alpha$  化澱粉と油脂を混合し、この  $\alpha$  化澱粉に油脂を包含させたうえで、米粉と水無添加条件で EX 処理した。本章では、未処理澱粉と油脂をあらかじめ混合し、水添加条件で EX 処理を実施した。これにより澱粉の糊化度や物性をエクストルーダーで制御し、澱粉の消化性を調節することで、澱粉骨格の中に油脂をより強固に包含させ、油脂の消化吸收を遅延、または抑制することができるのではないかと考えたからである。

本章では、上記仮説に基づき、肥満患者など主な対象とした、低カロリーでありながら、油脂の持つおいしさを損なわない食品の開発の基礎研究として、原料を澱粉と油脂の 2 成分に限定し、EX 処理条件と押出試料の物性の関連について明らかにすることを目的として検討を行なった。



## 3-2 実験方法

### 3-2-1 実験材料

澱粉はコーンスターチ（Y-4P 日本コーンスターチ）、ワキシーコーンスターチ（日本コーンスターチ）を使用した。その成分組成は Table 3-1. の通り。油脂は大豆油、ヤシ油、パーム油（いずれも日油）を使用した。

澱粉単独もしくは澱粉と油脂の混合物を EX 処理した。澱粉単独の場合は直接エクストルーダーに投入した。澱粉と油脂の混合物はあらかじめ澱粉と油脂を 86.9 : 13.1 の比率で配合し、縦型ミキサー（関東混合器工業株式会社）にて混合した試料をエクストルーダーに投入した。

以下、澱粉単独試料を EX 処理した試料を EXS (Extruded corn starch without oil)、大豆油混合澱粉試料を EXO (Extruded corn starch with soy oil) と呼称する。ヤシ油、パーム油と混合した試料については略称を用いない。

Table 3-1. Chemical composition of corn starch (Y-4P) (%)

Ash	Fat	Protein	Moisture	Fiber
0.5	0.03	0.3	12.0	0.5

Reported by Japan Corn Starch Co., Ltd..

### 3-2-2 エクストルージョン・クッキング処理

エクストルーダーは TEX30FC-18 5PW-V（日本製鋼所、Fig. 3-1.）を用いた。軸直径は 30 mm で、L/D は 18.5 で、ダイは射出口が単一でその口径が 4 mm のものを使用した。エクストルーダーには独立した 4 つの温度制御域があり、試料投入口に近い方から C2、C3、C4、C5 と呼称し、それぞれの温度は 50°C、60°C、95°C、90°C に設定した。添加水分量（Feed Moisture, FM）は処理試料中 20、50、70% とした。またスクリー速度（Screw speed, SS）は 50、100、200 rpm とし、FM が 70% のときのみ、50 rpm を 75 rpm に変更した（50 rpm では安定的に試料を送ることができなかった）。スクリーの構成は Fig. 3-2. および Table 3-2. の通り。

試料の投入はフィーダーを用い、水分の供給はチューブポンプを使用した。処理量は 2 kg/h で行った。

エクストルージョン処理した試料はジップロック®（旭化成）に入れ、密閉後すぐに氷冷した。その後、凍結乾燥し、ミルにて粉碎後、目開き 0.25 mm のふるいを通過した試料をその後の実験に使用した。



Fig. 3-1. The appearance of the extruder

Table 3-2. Screw profile used for extrusion experiments

Type of screw element	Length (mm)	Pitch (mm)	Direction	Total length (mm)
Full flight screw	30	30	Forward	150
	30	20	Forward	150
	30	15	Forward	30
Kneading disc*	7.5	-	-	30
Full flight screw	30	15	Forward	30
Kneading disc	7.5	7.5	-	30
Full flight screw	30	15	Forward	30
Full flight screw**	15	15	Reverse	15

\*: Four disks are fused together with a right angle.

\* \*: This screw has a slit allowing continuous material flow.

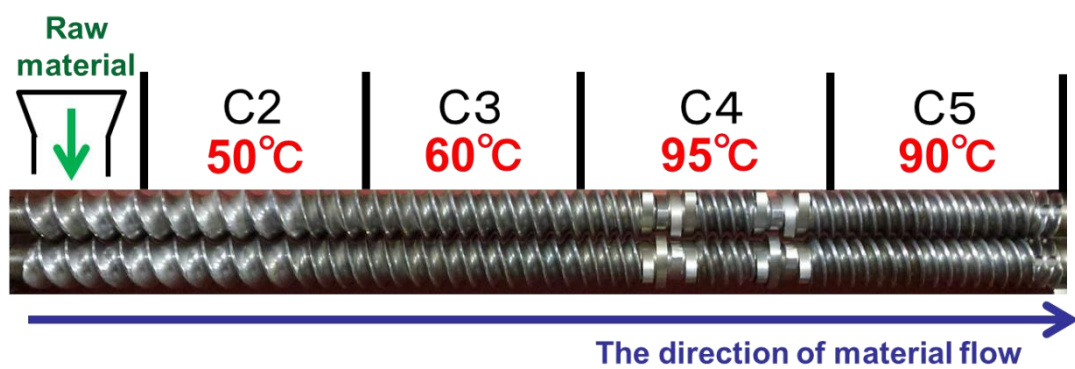


Fig. 3-2. The appearance of the screw and the location of thermal control regions (C2, C3,C4 and C5)

### 3-2-3 走査型電子顕微鏡観察

走査型電子顕微鏡（SEM）観察は S-3000N（日立ハイテクノロジーズ）を用い、100 倍にて観察した。試料は事前にイオンスパッタリング装置 JFC-1100（日本電子）により金蒸着を行った。

### 3-2-4 糊化度測定

糊化度（Degree of gelatinization, DG）測定は  $\beta$ -アミラーゼ-プルラナーゼ法（BAP 法）（貝沼ら、1981）に従った。具体的には試料を 0.1 g 正確に測りとり、蒸留水を 10 ml 加え、ガラスホモジナイザーで 20 回均質化した。その分散液 2 ml と緩衝液とで 25 ml に定容した。この希釈液を 4 ml 量りとり、酵素水溶液を 1 ml 加え、40℃で 30 分間反応させた。反応終了後、直ちに沸騰水で 5 分間処理して、酵素反応を停止させた。この反応液の還元糖量を Somogi-Nelson 法にて測定した。また同時に分散液 2 ml に 10 mol/l 水酸化ナトリウム水溶液 0.2 ml 加え、65℃で 5 分処理し、水冷後 2 mol/l 酢酸 1 ml で中和し、緩衝液で 25 ml 定容した。この希釈液を同様に酵素水溶液および失活酵素水溶液で反応させ、それぞれ還元糖量を測定した。

上記のように測定した還元糖量の値を用いて、Eq. 1.より DG を算出した。

$$DG (\%) = \frac{(Rs - Rb)}{(Ra - Rb)} \times 100 \quad \dots\dots\dots \text{Eq. 1.}$$

Rs ; 試料希釈液の還元糖量

Ra ; 水酸化ナトリウム処理した試料希釈液の還元糖量

Rb ; 失活酵素液で反応させた水酸化ナトリウム処理試料の還元糖量

緩衝液は 0.8 mol/l 酢酸緩衝液 (pH 6.0) を用いた。酵素水溶液は  $\beta$ -アミラーゼ 5.1 mg とプルラナーゼ 51 mg を上記緩衝液 30 ml に加え、10 分間振とう後、1500 g で 5 分間遠心した上精を用いた。また失活酵素水溶液はこの酵素水溶液を沸騰水で 10 分処理した後、遠心分離した上精を用いた。

### 3-2-5 保水力測定

保水力 (Water absorption index, WAI) の測定は Fukami ら (2010) の方法に従った。試料を正確に 0.25 g 測り、目盛付 25 ml チューブに入れた。そこに蒸留水 (20°C) を 10 ml 加え、ポリトロンホモジナイザー Model K (PT 10-35) (セントラル貿易 (株)) にシャフト PTA10S を接続し、30 秒間処理した。16 時間後に沈殿部の体積を読み取り、Eq. 2. に従い保水力を算出した。

$$\text{WAI (ml/g)} = \frac{\text{沈殿物体積 (ml)}}{\text{試料重量 (g)}} \times 100 \quad \cdots \text{Eq. 2.}$$

### 3-2-6 冷水溶解性測定

冷水溶解性 (Water solubility index, WSI) の測定も Fukami ら (2010) の方法に従った。試料を正確に 1.0 g 測り、50 ml チューブに入れた。そこに蒸留水 (20°C) を 25 ml 加え、ポリトロンホモジナイザー Model K (PT 10-35) (セントラル貿易 (株)) にシャフト PTA10S を接続し、17500 rpm で 1 分間処理した。5000×g で 20 分間遠心し、上精を凍結乾燥した。凍結乾燥後の上精の重量を測り、Eq. 3. に従い冷水溶解性を算出した。



$$\text{WSI (\%)} = \frac{\text{上精の乾燥重量 (g)}}{\text{試料重量 (g)}} \times 100 \quad \cdots \cdots \text{Eq. 3.}$$

### 3-2-7 統計解析

統計解析は Eq. 4. の 2 次式をモデル式として RSMaker for Excel (轟、2009) と Excel を用いて行った。またモデル化する際にエクストルージョン条件を Table 3-3. の通り、コード化した。

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{22} x_2^2 \quad \cdots \cdots \text{Eq. 4.}$$

ここで  $x_1$  は FM (添加水分量)、 $x_2$  は SS (スクリー速度) である。

Table 3-3. Code levels for the experiment (response surface) design

Variables	Levels					
	-1.5	-1	-0.5	0	1	2
Feed moisture (%)	20	-	-	50	70	-
Screw speed (rpm)	-	50	75	100	-	200

### 3-3 結果と考察

#### 3-3-1 糊化度測定法における油脂の影響

処理物中の油脂が BAP 法による DG 測定に与える影響を検討した。エクストルージョン条件は FM50%、SS110 rpm で行った。油脂は大豆油を使用した。押出物の凍結乾燥粉碎試料を、クロロホルム-メタノール (2:1、w/w) 混合溶媒に分散し、30 分間超音波処理した試料を脱脂処理サンプルとした。

試料の DG は EXS、EXO ともにほぼ同等の値を示し (Table 3-4.)、油脂の有無、また脱脂処理によって測定値に影響はほとんどないことを確認した。したがって以下の DG 測定においては脱脂処理を行わず、BAP 法にて測定することとした。

Table 3-4. The effect of de-fat treatment on the measurement of DG

Sample	Treatment	DG (%)
EXS	Untreat	76.4
	De-fat	73.6
EXO	Untreat	64.5
	De-fat	63.6

### 3-3-2 コーンスターチの糊化温度

本試験に使用したコーンスターチの糊化挙動を把握するため、未処理試料、エクストルージョン処理直後の試料、凍結乾燥後の試料の DSC 測定を行った。この時のエクストルージョン条件は FM50%、SS110 rpm とした。

各試料の DSC 曲線は Fig. 3-3.の通り。未処理の試料では糊化を示す大きなピークが確認された。このピークの開始温度、ピークトップ温度ともに、澱粉単独試料に比べ、油脂添加試料では 1.6℃高く、終点温度は 2.6℃高かった (Table 3-5.)。この未処理試料をエクストルージョン処理することによって、油脂添加の有無によらず、ピークは消失した。つまり、エクストルージョン処理によって、完全糊化したと考えられた。さらに凍結乾燥処理した試料では 50℃付近と 100℃超付近に 2 つのピークが観察された。50℃付近のブロードなピークは老化によるピークだと考えられた。このピークに関しては、油脂添加によってピークトップ温度はほとんど上昇しなかったが、開始温度と終点温度は澱粉単独試料よりも高値を示した。100℃超のピークはアミロース-脂質複合体の融解によるピークだと考えられた。澱粉単独試料でもこのピークが観察されたのは、内部脂質と複合体を形成したためであると考えられた。

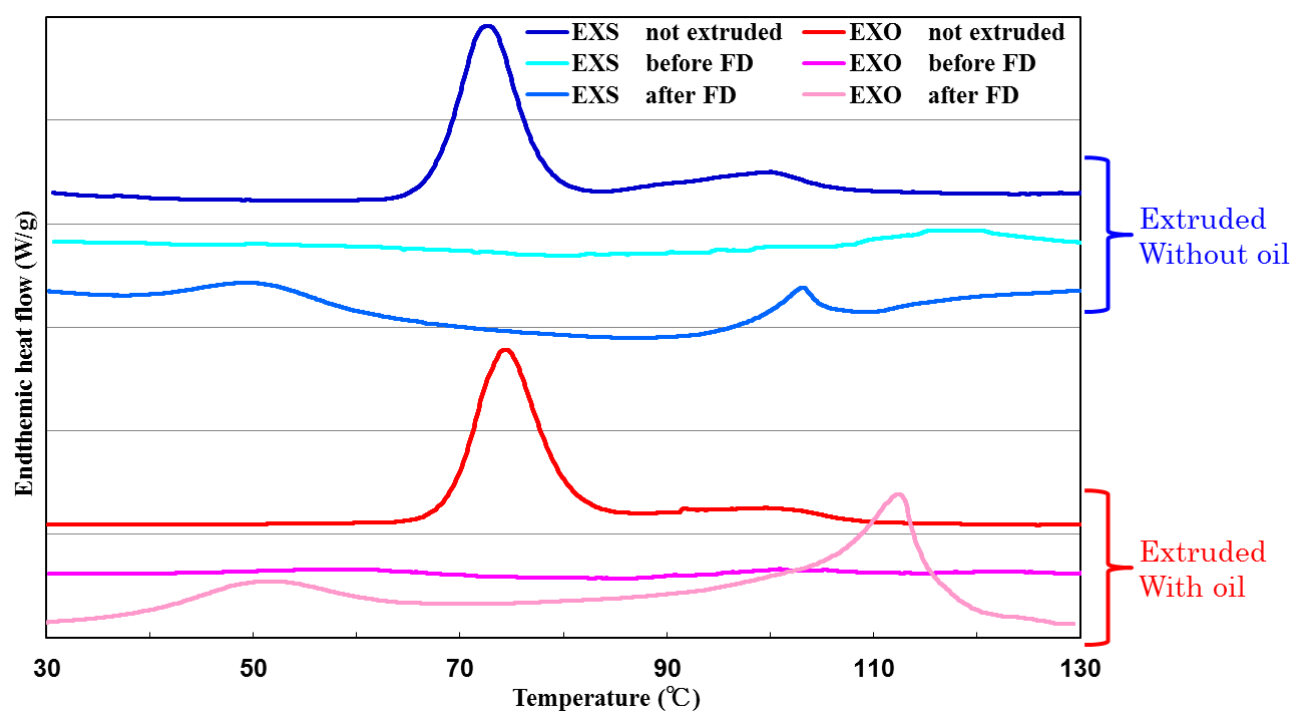


Fig. 3-3. The DSC curves of the starch with and without soy oil  
FD ; freeze-dry

Table 3-5. DSC profile of starch with and without soy oil

Sample	Treatment	Onset (°C)	Peak-top (°C)	offset (°C)	$\Delta H$ (J/g)
EXS	Not extruded	67.4	72.7	78.0	13.3
	Before FD	-	-	-	-
	After FD	38.8	50.6	61.9	4.5
EXO	Not extruded	69.0	74.3	80.6	14.4
	Before FD	-	-	-	-
	After FD	39.4	50.7	64.0	5.9

$\Delta H$  ; the variation of enthalpy, FD ; freeze-dry

### 3-3-3 油脂種が押出試料に与える影響

使用する油脂の種類が EX 処理試料の物性に与える影響を検討するため、大豆油、パーム油、ヤシ油とコーンスターチを混合し、FM20%、SS110 rpm でエクストルージョン処理を実施した。

各サンプルの DG は Table 3-6.に示した。ヤシ油と混合した試料の DG が最も高く、次いで EXS、パーム油と混合した試料、EXO の順に DG が高かった。油脂種により DG が変化した原因は不明であるが、脂肪酸組成や融点の違いが澱粉と水の相互作用に与える影響に違いを生んだと考えられる。以下の実験では、取り扱いの容易さから常温で液状である大豆油を用いることとした。



Table 3-6. DG of the extrudated starch with each oil or fat

Sample	DG (%)
No oil	90.0
Soy oil	72.1
Palm oil	87.9
Coconut oil	92.3

#### 3-3-4 処理物の構造

FM50%・SS 100rpm で EX 処理した試料を SEM にて観察した (Fig. 3-4.)。EXS と EXO を比較すると、EXO において空隙が多く観察され、この空隙部の多くには油脂が存在したと推察した。

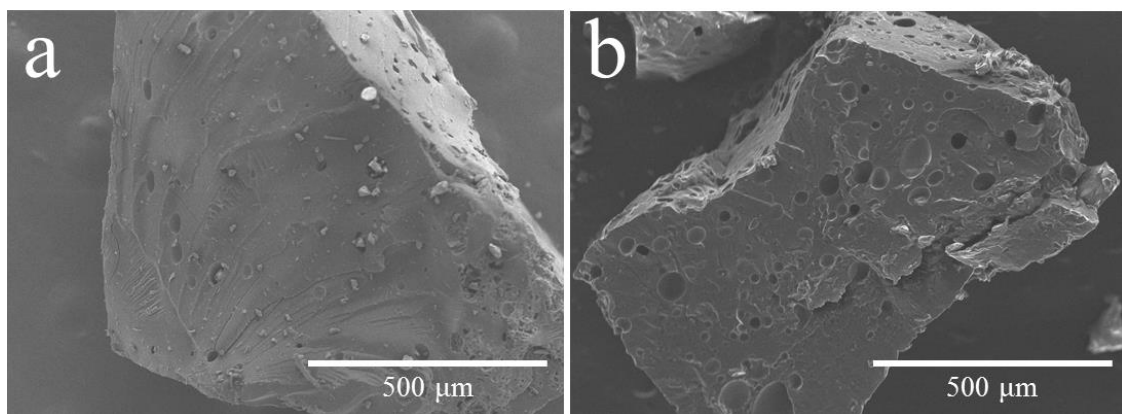


Fig. 3-4. The SEM images of EXS and EXO

a, EXS; b, EXO (Magnification=100). Both EXS and EXO were extruded in the condition of 50 % feed moisture and 100 rpm screw speed.

### 3-3-5 糊化度

DG の応答曲面モデルは Table 3-7.の通り。EXS のモデル式の自由度修正済み決定係数 ( $\text{Adj-R}^2$ ) は 0.778 で、モデル式の  $p$  値は 0.005 であった。 $p < 0.05$  で有意となった偏回帰係数は SS の一次効果と FM と SS の相互作用であった。一方、EXO のモデル式に関しては、 $\text{Adj-R}^2$  が 0.942、 $p$  値が 0.001 未満であった。有意な偏回帰係数は EXS と同様に SS の一次効果と FM と SS の相互作用と加えて、FM の一次効果であった (Table 3-7.)。

上記の通り、推定モデル式が示す、DG に影響を与える因子は EXS と EXO で異なっているが、両モデル式から導かれる最大糊化条件、および最小糊化条件は同一であった (Fig. 3-5.)。どちらも最大糊化条件は FM が最小の 20% かつ SS は最大の 200 rpm、最小糊化条件は FM が 20% かつ SS が 50 rpm と推定された。実際の最大、最小糊化条件も予測条件と一致していた (Table 3-8.)。

最小 FM かつ最小 SS 条件において、最小 DG となったことは妥当な結果である。Donovan (1979) らは、澱粉を加熱処理により完全糊化するためには澱粉の数倍量の水分を必要とすると報告している。つまり完全糊化に必要な水分量以下では、水分量と DG は比例すると考えられるため、最小糊化条件は最小 FM のときであると推察できる。また澱粉粒の内部まで水分が浸透し、水分が均一に分散することが DG 上昇につながる。SS が早くなるほど、水分を分散させる力が高まり、また澱粉と水の会合機会を上昇させることになると考えられる。したがって SS が低下すれば DG は下がるはずである。モデル式が最小糊化条件を最小 FM かつ最小 SS であると予測していることは本実験においても上記の現象が生じていることを支持している。また実際の最小糊化が同条件で実現されたことは、偶然ではなく、上記の現象により導かれた結果であるといえる。

Table 3-7. Significant coefficients of regression equation for DG

sample	model						Adj-R <sup>2</sup>	<i>p</i>
	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_{11}$	$\beta_{12}$	$\beta_{22}$		
EXS	71.17	-	5.06	-	-2.65	-	0.778	0.005
EXO	73.15	5.77	5.59	-	-6.54	-	0.942	<0.001

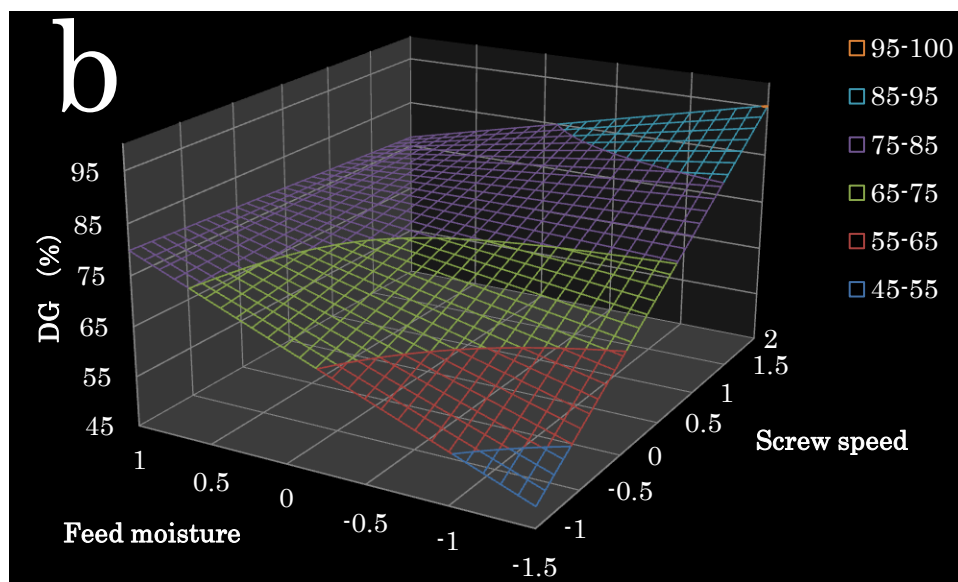
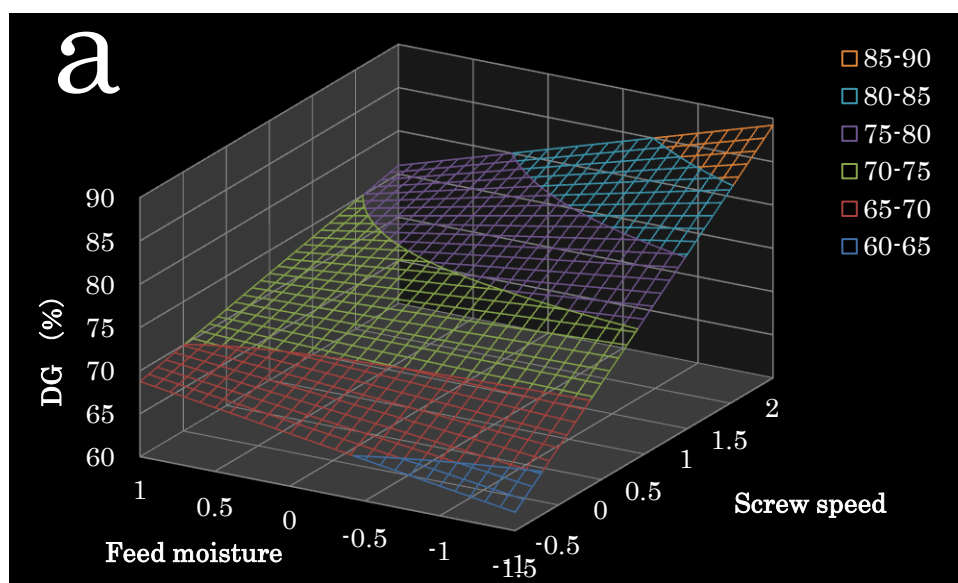


Fig. 3-5. The response surfaces estimated the regression equation for DG  
a, EXS; b, EXO

Table 3-8. DG under each condition

FM	SS	DG (%)	
		EXS	EXO
-1.5	-1	55.2	47.6
-1.5	0	77.2	66.0
-1.5	2	86.2	96.9
0	-1	69.1	69.8
0	0	71.4	71.4
0	2	81.6	79.5
1	-0.5	68.8	78.1
1	0	72.2	79.6
1	2	76.4	80.3

一方で、最大糊化条件は最小 FM かつ最大 SS であるが、これは前段で述べたことと一部矛盾しているように見える。前述の仮説が正しければ、最大糊化は最大 FM かつ最大 SS で達成されるはずだからである。本実験において最小 FM で DG が最大となった理由は、この条件で澱粉の分解、特にデキストリン化が生じたためである。デキストリン化と糊化は別の現象である。したがってデキストリン化が生じて、本来であれば DG に変化はない。しかし、それは糊化を直接的に正しく測定できた場合である。本実験では DG は BAP 法にて測定した。この方法は未糊化澱粉と糊化澱粉の酵素感受性の差異を利用した測定方法である。酵素により試料を加水分解し、得られた還元糖、正しくはマルトースの量を測定する。同時に試料をアルカリ処理で強制的に完全糊化して、同様にマルトース量を測定する。両者のマルトース量の比から DG を求めるのが BAP 法である。デキストリン化した場合、未糊化澱粉に比べ酵素感受性が上昇し、酵素により容易に加水分解され、マルトースを生じるが、BAP 法では糊化澱粉から生じたマルトースとデキストリンから生じたマルトースを区別することはできない。したがって試料中の糊化澱粉量とデキストリン量をまとめて糊化澱粉量、すなわち DG となる。

低 FM、高 SS 条件下で澱粉がデキストリン化するという報告は数多くなされている (Gomes and Aguilera, 1983 and 1984, Colonna, 1984)。本実験の FM20%、SS200 rpm の条件では、先行研究と同様にデキストリン化が生じたものと考えられる。SS50 rpm では剪断力が足りず、デキストリン化が進行しなかったため、DG が低く抑えられたままであったと考えられる。

EXS と EXO の最小 DG および最大 DG を比較すると、モデル式からの推定値、実測値ともに、最小 DG は EXO の方が低値を示し、最大 DG は EXO の方が高値を示した。

この 2 つの結果はともに油脂による澱粉の水分吸収阻害効果が大きな原因で



あると考えられる。つまり澱粉表面および内部に存在する油脂が局所的に水分と澱粉の会合を阻害することで、実質的に澱粉単独のときよりも水分不足の状態になっていたと考えられる。結果、低 SS では DG 低下を招いたと考えられる。

また低 SS ではさらに油脂によるシェアの低下も DG 低下の原因の一つになっていると考えられる。澱粉表面を覆う油脂やエクストルーダーのバレル表面に付着した油脂により、バレルと試料の摩擦力は低下したと考えられる。実際にスクリーンの抵抗電流値は油脂添加試料では未添加試料と比較して、低下していた (Fig. 3-6.)。したがって、EXO では剪断力による水分の分散が抑制され、DG の抑制効果がさらに強くなり、同条件の EXS に比べて、DG が低下したと推察される。

一方、高 SS では、抵抗電流値の差は小さくなっていた。デキストリン化は剪断力に比例して進行すると考えられるが、FM20%、SS 200rpm の今回の条件では油脂の存在による剪断力低下の影響は小さく、水分吸収阻害効果の影響が大きかったため、EXO のデキストリン化がより進行したと考えられる。結果、DG は EXO が高値を示したのである。

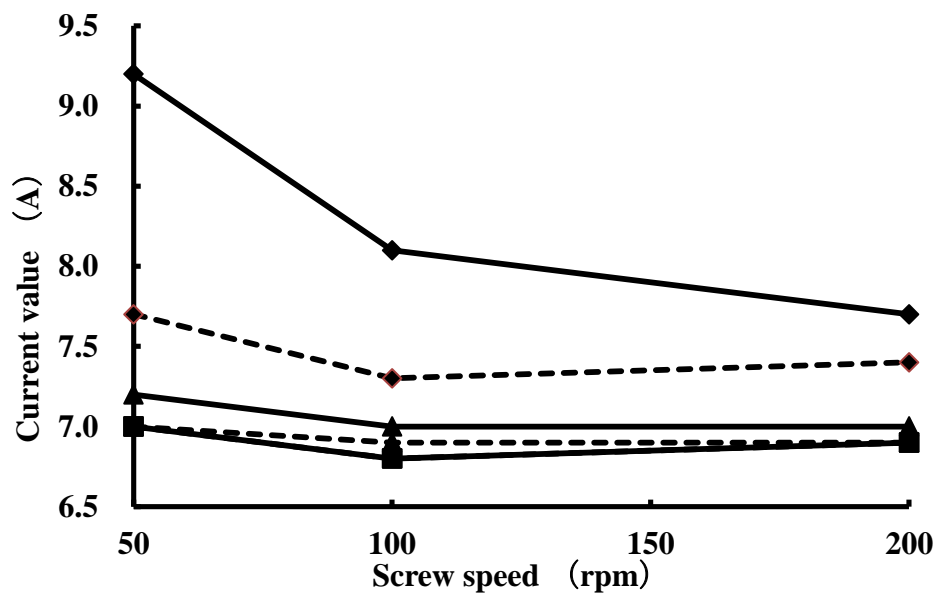


Fig. 3-6. Motor current value of the screw shaft

The solid lines show the starch extrudates, and the dotted lines show the oil-added extrudates. The markers show the feed moisture condition:  $\blacklozenge$ , FM20%;  $\blacktriangle$ , FM50%;  $\blacksquare$ , FM70%.

### 3-3-6 保水力

DG 同様、保水力 (WAI) の推定モデルの偏回帰係数は Table 3-9.の通り。Adj-R<sup>2</sup>は EXS が 0.938、EXO が 0.952 で、いずれも  $p$  は 0.001 未満であった。有意となった因子も両者同一で、FM の一次および二次効果と FM と SS の相互作用の 3 項であった。DG とは異なり、SS よりも FM の影響が大きいことを示している。

FM に関して二次効果が有意となったということは、説明変数を code 化により正負両方に割り振っているため、低 FM と高 FM で同様の影響を WAI に与えているということになる。つまり、今回の結果では二次効果の偏回帰係数は正の数値であるため、高 FM でも低 FM でも同様に WAI を引き上げる効果を示すということになる。

しかし、現象として WAI が上昇はしていても、その物理的な意味・効果は高 FM と低 FM で異なっている可能性がある。3-3-5 でみたように、低 FM ではデキストリン化が、高 FM では糊化が優位だと考えられるからである。

モデル式から推定される最大の WAI を得る条件は EXS、EXO とともに最大 FM の 70%かつ最小 SS の 50rpm であった (Table 3-10.)。この条件での実験はできなかったが、EXO は実際の最大 WAI は FM70%のときで、SS は実験上、最小である 75 rpm のときであった。EXS は FM70%・SS100 rpm のときに最大となった (Table 3-8.)。

最小 WAI は EXS は FM36.7%・SS50 rpm、EXO は FM33.4%・SS50 rpm と推定され、実験点以外の条件となった (Table 3-10.)。実際の最小 WAI は EXS では FM50%・SS200 rpm、EXO では FM20%・SS50 rpm、FM50%・50 rpm、FM50%・SS200 rpm であった (Table 3-10.)。

Rayas-Duarte ら (1998) によれば、WAI は澱粉の過剰な水への分散性を示

したものであり、その分散性は糊化や断片化によって上昇すると報告されている。この説に従えば、最大 WAI は真の最大糊化条件であると考えられる最大 FM かつ最大 SS、つまり FM70%・SS200 rpm のときか、最大デキストリン化条件と推定される FM20%・SS200 rpm のときになると思われる。

しかし、上述のようにモデル式の予測条件も実験値も異なる条件で最大 WAI を得た。EXS に関しては、Fig. 3-9.の SS100 rpm と SS200 rpm の画像を比較すると SS100 rpm の方が細かい多孔性の構造となっていることがわかる。この構造の違いが水を捕捉し、保持し続ける能力に差を生み、WAI に影響を与えた可能性が考えられる。

一方、EXO に関しては、SS が 75 rpm のときと 200 rpm のときの明確な構造の違いは確認できなかった。EXO において、SS75 rpm のときに WAI が高値を示した原因としては、SS が高速になることにより、より油脂が押出試料に均一に分散され、その油脂が水の浸透・分散や吸収を阻害した可能性が考えられる。

Table 3-9. Significant coefficients of regression equation for WAI

sample	model						Adj-R <sup>2</sup>	<i>p</i>
	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_{11}$	$\beta_{12}$	$\beta_{22}$		
EXS	4.67	1.87	-	1.82	-0.55	-	0.938	<0.001
EXO	4.03	2.30	-	1.83	-0.74	-	0.952	<0.001

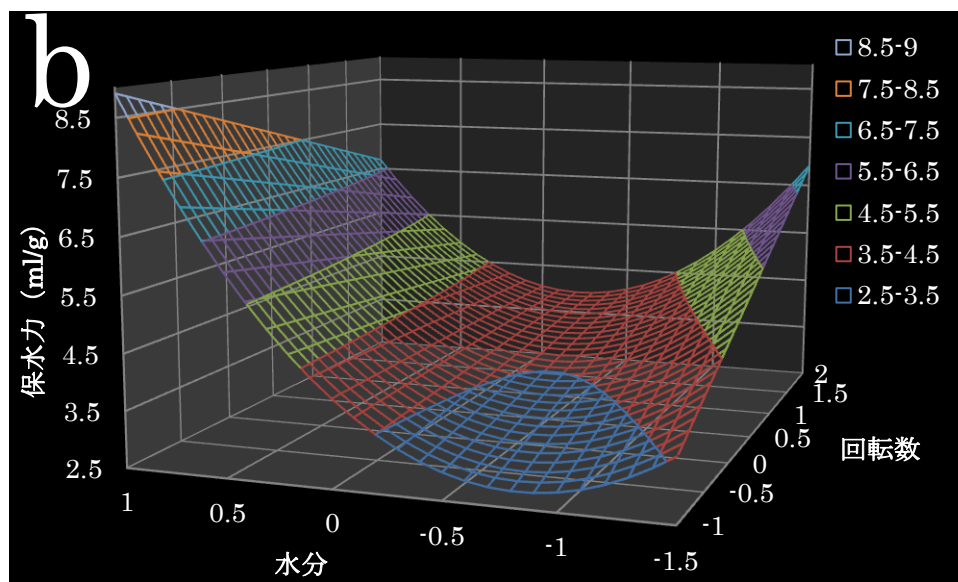
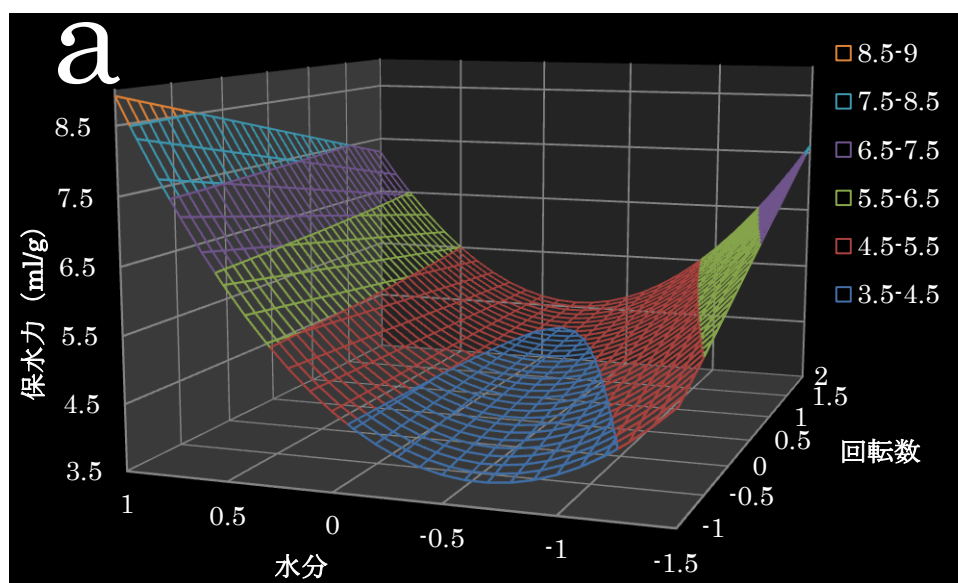


Fig. 3-7. The response surfaces estimated the regression equation for WAI  
a, EXS; b, EXO

Table 3-10. WAI under each condition

FM	SS	WAI(ml/mg)	
		EXS	EXO
-1.5	-1	4.9	4.0
-1.5	0	6.4	4.1
-1.5	2	7.5	7.1
0	-1	4.9	4.0
0	0	4.7	4.1
0	2	4.4	4.0
1	-0.5	8.2	8.9
1	0	8.9	7.7
1	2	7.1	6.8

### 3-3-7 冷水溶解性

冷水溶解性の推定モデルは Table 3-11.の通り。EXS に関しては、FM と SS の相互作用と両者の二次効果、EXO は FM の一次効果と相互作用が有意となった。Adj-R<sup>2</sup> と *p* 値はそれぞれ EXS が 0.878 と 0.003、EXO が 0.698 と 0.012 であった。

EXS に関しては FM も SS も二次効果が正の偏回帰係数を示し、WAI と同様に各変数が小さいときにも大きいときにも同様に WSI を上昇させる影響を与えていることを示した。また相互作用が負の偏回帰係数であることから、FM と SS がともに実験範囲の中心点よりも小さくなる、または大きくなる時に WSI が低下する傾向が見られたことを示した。これは同時に中心点より互いが逆方向に移動したときに、WSI は低下することも示した結果でもある。

EXO に関しては、Adj-R<sup>2</sup> が 0.698 と、これまで得られたモデルの中で最も低い Adj-R<sup>2</sup> を示した。

モデル式が示す最大 WSI となる条件は EXS、EXO とともに最小 FM20%かつ最大 SS200 rpm であった。一方、最小 WSI は EXS が FM50%・SS100 rpm、EXO が FM70%・SS200 rpm であった (Fig. 3-8.および Table 3-12.)。

予測最大 WSI 条件は EXS と EXO とともに同一条件であり、実測値もその通りの条件であった。この条件は 3-3-5 における DG の最大条件とも同一である。これは前述した「本実験において、最小 FM・最大 SS 条件で得られた DG は真の糊化を示したのではなく、デキストリン化を示唆するものである」という主張を裏付けるものである。

WSI は水溶性多糖類の量を測定したものであり、しばしば澱粉の分解度を示す指標として用いられる (Ding *et al.*, 2005)。つまり水溶性となったデキストリン量を示したものである。このデキストリン量には、糊化した際に澱粉粒か



ら放出される短鎖のアミロースも含まれるが、その影響は小さいと考えられる。Gomez ら（1983）は EX 処理したコーンスターチの WSI に関して、未糊化澱粉量、糊化澱粉量およびデキストリン化澱粉量を説明変数とした重回帰分析を行い、糊化澱粉とデキストリン化澱粉の偏回帰係数をそれぞれ 0.09473 と 0.71193 と報告している。

したがって最小 FM・最大 SS 条件で最大 WSI となるということは、この条件が最もデキストリン化が進行したということを示している。もし、この条件での DG が真の糊化度を示していると仮定すると、この最小 FM・最大 SS 条件における WSI と最大 FM・最大 SS 条件における WSI とが近い値になるはずである。なぜならば最大 FM・最大 SS 条件は最も「真の」糊化が生じると考えられる条件であり、実際に最大 FM・最大 SS 条件下の DG は最小 FM・最大 SS 条件の DG よりもわずかに小さい値であった。しかし、実際には上記の 2 つの条件下での WSI には大きな開きがあった。EXS では FM20%・SS200rpm、EXO では FM20%の SS100 rpm と 200 rpm のときが他の条件に比べて大幅に高い WSI を示した。

予測最小条件は DG の最小条件とは異なり、また実験値の最小条件とも異なっていた。

Table 3-11. Significant coefficients of regression equation for WSI

sample	model						Adj-R <sup>2</sup>	<i>p</i>
	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_{11}$	$\beta_{12}$	$\beta_{22}$		
EXS	0.61	-	-	1.97	-2.42	0.90	0.878	0.003
EXO	11.92	-4.36	-	-	-3.24	-	0.698	0.012

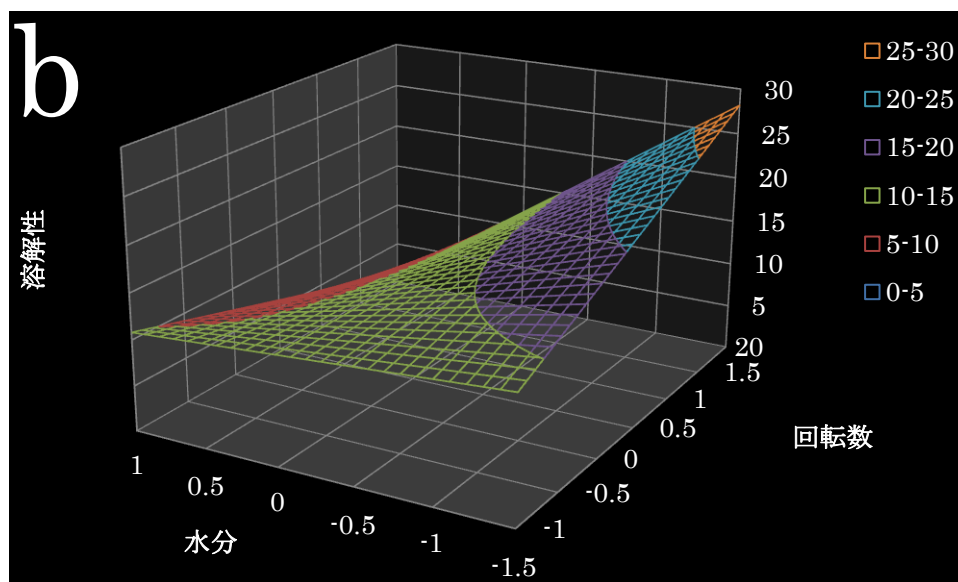
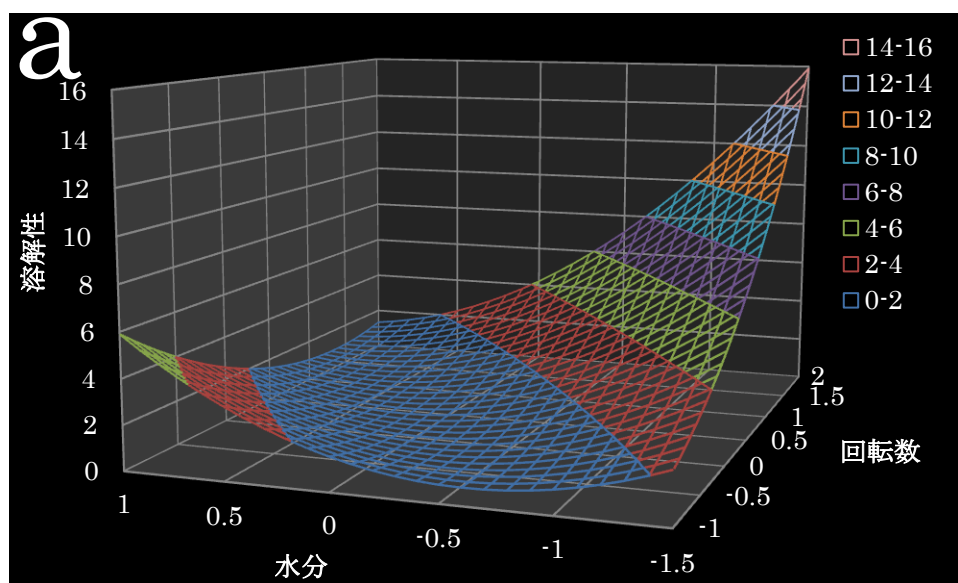


Fig. 3-8. The response surfaces estimated the regression equation for WSI  
a, EXS; b, EXO

Table 3-12. WSI under each condition

FM	SS	WSI (%)	
		EXS	EXO
-1.5	-1	2.2	9.2
-1.5	0	5.1	23.1
-1.5	2	16.8	31.2
0	-1	2.5	8.6
0	0	2.5	10.0
0	2	2.4	9.0
1	-0.5	1.9	7.7
1	0	1.9	6.5
1	2	2.2	8.5

### 3-3-8 各特性間の相関性

上記の押出試料の特性、DG、WAI、WSI は互いに相関があると考えられる。この3つの特性は澱粉の分子的な修飾の程度を測定したものであるからである。Gomez と Aguilera (1983) とは、EX 処理した DG と WSI がよく相関する ( $r=0.963$ ) と報告した。Altan ら (2009) も大麦の EX 処理試料において、同様に相関する ( $r=0.788$ ) と報告している。また、Badrie と Mellowes (1991) は WSI と WAI が負の相関 ( $r=-0.80$ ) を持つことを報告した。

本研究では EXS の DG と WSI に有意な ( $p=0.045$ ) 相関が観察された (Table 3-13.)。DG と WSI に有意な相関の存在は、Gomez (1983) らが報告したように、EX 処理した澱粉試料において、DG は糊化の指標というよりは分解した澱粉量の指標であるという考えを支持していると考えられる。

Table 3-13. Correlation matrix of extrudate characteristics

		DG	WAI	WSI
EXS	DG	1.000	-	-
	WAI	0.215	1.000	-
	WSI	0.594*	0.219	1.000
EXO	DG	1.000	-	-
	WAI	0.582	1.000	-
	WSI	0.392	-0.003	1.000

\*, Significant at  $p < 0.05$

### 3-3-9 消化性との関連

EX 処理試料の消化性を考える上で、試料が糊化しているのか、デキストリン化しているのかは重要な問題である。もし糊化澱粉量が優勢な試料であれば、糊化澱粉は消化酵素により分解されるため、糊化澱粉が形成する骨格は徐々に破壊されていく。結果、その骨格に内包されていた油脂はゆっくりと放出され、ゆっくりと、または不完全に吸収されると考えられる。一方でデキストリン化した澱粉が大半を占める EX 処理試料では、試料の骨格を作るデキストリンが消化酵素による分解を受ける前に溶解してしまい、油脂の吸収速度には大きな影響を与えない可能性がある。

上記の仮説が正しければ、糊化澱粉優勢試料によって油脂の吸収を抑えることや、デキストリン優勢試料を用いて、油っぽい味はしないが、油脂含有量が高く、その吸収性も通常の食品と劣らない食品、もしくは食品原料が作成可能である。

そこで、次章では EX 処理試料の吸収性や生理的な影響を確認するための動物試験を行うこととした。

## 第 4 章

### エクストルージョン・クッキング処理試料の 消化吸収性に関する検討



#### 4-1 緒言

第 3 章では EX 処理条件と、処理した澱粉および澱粉 - 大豆油混合物試料の物性との関連について検討した。その中で DG という澱粉の消化率を決定づける因子だけではなく、WSI という澱粉が作るゲル構造の分解速度を決定づける、もしくはその指標となる物性値の制御が可能であることを見出した。澱粉ゲルの分解速度が制御できるということは、すなわち澱粉ゲルに包含されている物質、それは本論文では油脂ということになるが、その放出速度を制御することができる可能性を示している。そこで本章は第 3 章で作成した EX 処理試料中の油脂の消化吸収について、ラットを用いた動物試験によって検証を行った。

本章の目的はエクストルージョン・クッキングによる油脂の消化吸収制御、もしくは処理試料への生理的機能性付与の可能性を示すことである。

## 4-2 実験方法

### 4-2-1 エクストルージョン処理試料の調製

EX 処理試料に用いた澱粉および油脂は第 2 章と同様のものを用いた。第 2 章の結果より EXS と EXO がほぼ同等の DG を持つこと、未糊化澱粉・デキストリン化澱粉が優勢ではないことの 2 点を基準として EX 条件を FM50%・SS100 rpm とした。

エクストルージョン処理後すぐに $-20^{\circ}\text{C}$ で冷凍し、凍結乾燥後ミルにて粉碎した。目開き 0.25 mm のアルミメッシュを通過した画分をその後の実験及び飼料に用いた。

未処理コーンスターチ、下記の対照区 (Control 群) の試料に用いた糊化处理コーンスターチ (商品名 ; コーンアルファ Y、三和澱粉社) 、および EX 処理試料の DG および WSI は 3-2-4 および 3-2-6 と同様に測定した。

エーテル抽出性油脂 (ether-extractable oil, EEO) 回収率は、未処理コーンスターチ、糊化处理コーンスターチ、EXS にそれぞれ大豆油を添加した試料 (添加量は澱粉と大豆油の比が EXO と同様の 86.9 : 13.1 (w/w) となるようにした) 、および EXO について測定を行った。具体的には 20 倍量のジエチルエーテル (和光純薬) に分散させた試料を 10 分間超音波処理し、そのジエチルエーテル画分を硫酸ナトリウム (和光純薬) にて脱水ろ過して回収した。この作業を 3 回繰り返し、得られたジエチルエーテル画分を減圧留去し、得られた油脂量を試料に添加した油脂重量で除して算出した。

Table 4-1. Composition of the experimental diets (%)

	AIN-93G	Control	EXS	EXO
Cornstarch	39.7486	11.57	-	-
Gelatinized cornstarch	13.2	40.38	-	-
EXS	-	-	51.95	-
EXO	-	-	-	59.95
Soy oil	7.0	8.0	8.0	0.0
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0
Sucrose	10.0	10.0	10.0	10.0
Powdered cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0
AIN-93 Vitamin mixture	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-93G Mineral mixture	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Cystine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline Bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
t-Buthylhydroquinone	0.0014	-	-	-

#### 4-2-2 実験飼料

飼料は AIN-93G をベースとし、油脂は 8%とした。AIN-93G の標準配合は油脂 7%だが、余剰分の 1%は澱粉を 1%減量することで調整した。また第 3 ブチルヒドロキノンは無添加とし、その 0.0014%は澱粉を増量することで調整した (Table 4-1.)。

対照飼料の澱粉部は EX 処理試料に用いた未処理コーンスターチと糊化处理コーンスターチを混合し、DG が EXS、EXO と同等となるように調整した。具体的には飼料中に未処理コーンスターチを 11.57%、糊化澱粉を 40.38%使用した (Table 4-1.)。EXS 群の澱粉はすべて EXS を使用し、EXO 群の澱粉と油脂分はすべて EXO を使用した。

飼料は各原料を縦型ミキサーにて低速で 20 分混合し、アルミパックに詰め、使用時までは冷蔵保管した。

#### 4-2-3 実験動物

4 週齢の Sprague-Dawley 雄性ラット（チャールズ・リバー）を明暗サイクル（点 7:00、消灯 19:00）、室温（22–24℃）、湿度（55–65%）が一定の飼育室にて、ステンレス製の個別飼育ゲージを使用し、市販の標準飼料（Type NMF; オリエンタル酵母）で 5 日間予備飼育した。

平均体重が同等となるように各群に分け（Control 群は 9 匹、EXS 群と EXO 群は各 8 匹）、各試験試料にて 21 日間飼育し、体重、摂食量を記録した。飼育方期間中は自由摂食、自由飲水とした。飼育終了前 3 日間の糞便を採取し、–30℃にて保管し、その後の分析に用いた。飼育期間終了後、非絶食にてイソフルラン麻酔下で開腹し、腹部大動脈より採血し脱血死させた後、肝臓、精巣周囲白色脂肪組織、腎周囲白色脂肪組織、腸間膜白色脂肪組織を採取した。各組織は生理食塩水ですすぎ、濾紙で水分を除いた後、重量を測定した。肝臓は重量測定後、一部を切り取り、酵素活性測定および mRNA の発現量測定のために用い、残りの肝臓組織は–80℃で保存した。遠心分離により血液から血清を分取し、–30℃にて保管した。

動物実験は食品総合研究所動物実験委員会の承認を得て、農研機構動物実験実施規程および食品総合研究所実施要領に従い実施した。

#### 4-2-4 糞中脂質濃度測定

糞は飼育期間の最後 3 日間に収集し、凍結乾燥後重量測定を行った。重量計測した後、糞中の総脂質量を測定した（Kaplan *et al.*, 1998）。具体的には凍結乾燥した糞をミルで粉碎し、粉碎物 0.5 g に 0.5 ml の水を加えた。メタノール 5 ml とクロロホルム 10 ml を順に加え、60℃の水槽で 1 時間振とう後、遠心分離

した。上精を新しい容器に移した。残渣は再度、同様の方法で再抽出を行った。得られた上精に総体積の 25%となるように塩化カリウム水溶液 (8.8 g/l) を加え、振とう混合後、遠心分離した。下層を回収し、溶媒を乾固し重量測定し、試料量から総脂質量を算出した。

糞中総胆汁酸量は Eaton らの方法に従った (Eaton *et al.*, 1976)。総脂質の抽出法と同様に粉碎した糞をエタノール用いて 3 回抽出した。その際の温度は 60°C とし、抽出時間は各回 1 時間とした。測定は 3 $\alpha$ -ヒドロキシステロイド脱水酵素を用いて行った。

糞中の中性脂肪およびコレステロールは、胆汁酸測定と同様の方法で熱エタノールにより得た脂質抽出物を用いて和光純薬の測定キットで測定した。

#### 4-2-5 血液生化学検査

血清脂質および血糖の測定には和光純薬 (株) の測定キットを使用した。トリアシルグリセロール濃度は TG E-テストワコー、総コレステロール (total-C) 濃度はコレステロール E-テストワコー、high density lipoprotein コレステロール (HDL-C) 濃度は HDL-コレステロール E-テストワコー、リン脂質濃度はリン脂質 E-テストワコー、遊離脂肪酸濃度は NEFAC-テストワコー、血糖値はグルコース CII-テストワコーにより測定した。

#### 4-2-6 肝臓脂質測定

肝臓脂質は Folch 法により総脂質を抽出し (Folch *et al.*, 1957)、中性脂肪とリン脂質は比色法 (Fletcher *et al.*, 1968)

#### 4-2-7 mRNA 発現量測定

肝臓より mRNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にてペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\alpha$  サブタイプ (PPAR $\alpha$ ) 及び  $\gamma$  サブタイプ (PPAR $\gamma$ ) の発現量を測定した。リアルタイム PCR は Premix Ex Taq™ を (Applied Biosystems) 用いた。またプライマー/プローブセットは Rn\_00820748\_g1 (ribosomal proteinL32)、Rn\_00566193\_a1 (PPAR $\alpha$ )、Rn\_00440945\_a1 (PPAR $\gamma$ ) (いずれも TaqMan® Gene Expression Assays、Applied Biosystems) を使用した。

発現量は ribosomal proteinL32 の発現量に対する PPAR $\alpha$  または PPAR $\gamma$  を算出し、コントロール群を 100 としたときの相対値として表した。

#### 4-2-8 酵素活性試験

肝臓粗抽出物の酵素活性試験は次の通りに行った (Takahashi and Ide, 2008)。ラットを解剖し、肝臓を取り出してすぐに 1.5 g 測りとり、緩衝液を 10ml 加え、氷中でホモジナイズした。緩衝液は 1mM の EDTA および 3mM の Tris 塩酸を加えたスクロース緩衝液 (pH 7.2) を使用した。ホモジナイズ後、200000×g で 30 分間、4℃に保ちながら遠心分離を行った。この上清を用いて、脂肪酸合成酵素 (Fatty acid synthase ; FAS)、ATP-クエン酸リアーゼ (ATP-citrate lyase ; ACL)、グルコース-6-リン酸脱水酵素 (glucose 6-phosphate dehydrogenase ; G6PD)、6-ホスホグルコン酸脱水酵素 (6-phosphogluconate dehydrogenase ; 6-PGD)、リンゴ酸酵素 (malic enzyme ; ME)、ピルビン酸キナーゼ (pyruvate kinase ; PK) の活性測定を分光光度法にて行った。また遠心分離しないホモジナイズ分散液を試料として、アシル CoA オキシダーゼ (acyl-CoA oxidase ; ACO)、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ

(carnitine palmitoyltransferase ; CPT)、エノイル CoA 脱水酵素 (enoyl-CoA hydratase ; ECH)、3-ヒドロキシアシル CoA 脱水酵素 (3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase ; 3-HAD)、3-ケトアシル CoA チオラーゼ (3-keotacyl-CoA thiolase ; 3-KCT)、2,4-ジエノイル CoA 還元酵素 (2,4-Dienoyl-CoA reductase ; 2,4-DCR) の活性を測定した。

#### 4-2-9 データ解析

有意差検定は一元配置分散分析および Tukey-Kramer 法により行い、有意水準は 0.05 とした。データは平均値±標準偏差で記載した。



### 4-3 結果と考察

#### 4-3-1 エクストルージョン処理試料の物性

本章の EX 試料は新たに調整した。EXS と EXO の DG はそれぞれ 73.4% と 74.0% であった (Table 4-2.)。第 3 章での DG は EXS、EXO とともに 71.4% であり (Table 3-8.)、ほぼ同等の DG を持つ試料を作成できたと考えた。

また WSI は EXS が 2.5%、EXO が 10.4% であった (Table 4-2.)。第 3 章ではそれぞれ 2.5% と 10.0% であり (Table 3-12.)、WSI についても第 3 章とほぼ同等であり、EX 処理により、再現性の高い試料の調整ができることが改めて示された。Control 群に使用した、エクストルージョン処理をしていないコーンスターチの混合物 (Starch mix, SM) の WSI は未処理コーンスターチと糊化処理コーンスターチの測定値と混合比から求めた計算値であるが、EXO よりも約 5 倍高い 52.0% であった (Table 4-2.)。SM に用いた糊化処理コーンスターチは加熱による澱粉粒の崩壊と、ドラムドライによる急激な加熱乾燥により、澱粉の結晶構造が完全に消失し、高い WSI を示したと考えられる。一方、EX 処理した試料 (EXS、EXO) の WSI が SM より低くなった原因はエクストルーダーによる混練や圧力によって、圧縮された状態になったためであると考えられる。また EXS よりも EXO の WSI が高かったのは油脂が澱粉の水和を阻害したことで、EX 処理時の澱粉の低分子化が促進されたためであると考えられる。したがって、EX 処理試料は水溶性部分の溶出が少なく、通常糊化澱粉よりも密度の高い、強固な骨格を形成していることが示唆され、消化管内で油脂を長時間保持し、油脂の吸収を遅延させるのではないかと考えられた。

Table 4-2. Physical property of the starch source of diets

Sample	DG (%)	WSI (%)	EEO (%)
Cornstarch	1.4	0.2	94.0
Gelatinized starch	94.8	66.8	91.8
SM	74.0	51.8	92.5
EXS	73.4	2.5	92.2
EXO	74.0	10.4	64.2

SM, starch mix (the mixture of corn starch and gelatinized starch in the ratio of 22.3 : 77.7 for the control group);

再度、EXS および EXO の SEM 画像 (Fig. 3-4.) を示したが、EXS と比べ、EXO には空隙が多く観察され、この空隙部には油脂が存在していると推察される。つまり澱粉ゲル内部に油脂が油滴として存在していると考えられる。

実際に EXO の EEO 回収率は 64.2%程度であるのに対し (Table 4-2.)、EXS および SM と大豆油の混合物からの回収率はともに約 92%であった。したがって EXO において、EX 処理によって澱粉骨格の中に包含された大豆油は有機溶媒であるジエチルエーテルにも容易に放出されないことが確認された。この結果から油脂の吸収率を低下させる効果があると期待された。

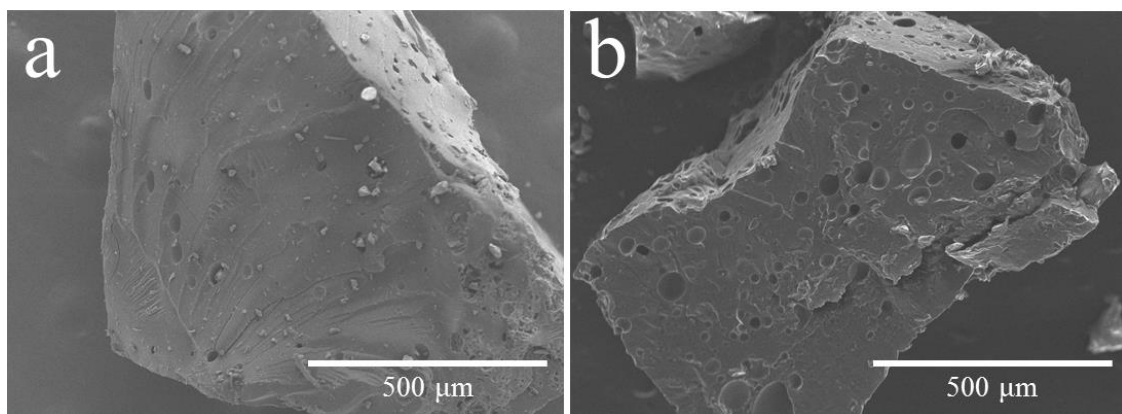


Fig. 3-4. The SEM images of EXS and EXO (reprint)

a, EXS; b, EXO (Magnification=100). Both EXS and EXO were extruded in the condition of 50 % feed moisture and 100 rpm screw speed.

#### 4-3-2 糞中脂質への影響

ラットの糞の乾燥重量および糞中の総脂質量は食餌群間で有意差はなかったが、糞中の中性脂肪は糞乾燥物の単位重量当たりおよび 3 日間の総排泄量ともに Control 群と比較して EXO 群で有意に高かった (Table 4-3.)。すなわち、澱粉と油脂の混合物の EX 処理により油脂が澱粉骨格に包含されるため、EXO 群の油脂吸収率が低下するとの仮説を支持する結果を得た。

Control 群と EXO 群の DG は揃えているため、この結果は DG の影響、つまり澱粉の消化率の影響ではないと考えられる。Holm ら (1988) は DSC の融解熱量から算出した DG と *in vitro* での消化率およびラットの血漿グルコースとの相関係数がそれぞれ 0.96 と 0.88 であったと報告した。この論文においてはグルコアミラーゼ分解法 (Chiang and Johnson, 1977) による DG 測定も行っており、DSC 法とグルコアミラーゼ法の DG の相関係数は 0.99 である。したがって、グルコアミラーゼ法による DG と *in vitro* での消化率およびラットの血漿グルコースとの相関係数に高いことが推察される (筆者の計算ではそれぞれ 0.96 と 0.91)。この論文の糊化方法は単純な加熱糊化であり、糊化方法が異なる場合にもこの結果を単純に適用することは出来ないと考えられる。しかし、本研究においてはラット各個体の最終摂食時間と解剖時間までの間隔にばらつきはあっただろうが、血清グルコースの値に有意差はなかったことから、各飼料の澱粉部の最終的な消化率には差がなかったと考えられる。したがって糞中中性脂肪量に対する DG の影響は無視できると考えた。

また Control 群と EXS 群の糞中中性脂肪に有意差が検出されず、EXS 群と EXO 群に有意差が確認されたため、油脂の吸収抑制効果は澱粉単独で EX 処理した後に油脂を添加するという方法では得られないことが確認できた。EX 処理による澱粉の構造による効果だけではなく、澱粉骨格中の油脂の存在位置、存

在状態の影響であると考えられる。

4-3-1 で確認したように、エクストルージョン処理試料はドラムドライ法で作成した糊化澱粉よりも強固な骨格を有し、また EXO においては、ジエチルエーテルによっても抽出されないほどに、澱粉ゲルの中に油脂が油滴として包含されていた。そのため澱粉ゲルが消化され、内部の油脂の消化管へ放出されるまでの時間が SM, EXS と比べ、EXO においては長かったために、油脂の吸収が抑制され、糞中に排泄されたと推察した。

Table 4-3. The amount of lipids in the feces

Component	Control	EXS	EXO
Total Lipids (mg/g)	50.5 ± 7.3	53.5 ± 1.9	52.4 ± 5.8
Triacylglycerol (mg/g)	2.44 ± 0.85 <sup>a</sup>	1.94 ± 1.01 <sup>a</sup>	4.19 ± 0.95 <sup>b</sup>
Triacylglycerol (mg/3 days)	11.6 ± 4.4 <sup>a</sup>	8.7 ± 4.2 <sup>a</sup>	20.5 ± 6.4 <sup>b</sup>
Cholesterol (mg/g)	4.65 ± 0.76	4.26 ± 0.37	5.25 ± 0.88
Cholic acid (mg/g)	39.7 ± 7.9	39.3 ± 6.9	41.1 ± 10.3

Values represent the mean± S.D. for nine (control) or eight (EXS and EXO) rats. Mean values within a row with different superscripts are significantly different (P>0.05).

一方、糞中のコレステロールに 3 群間に有意差がなかったのは (Table 4-3.)、本試験で使用した大豆油にはコレステロールがほとんど含まれていなかったためと考えられる。

糞の色は Control 群と EXS、EXO 群とで異なっており、エクストルージョン処理試料摂食群の方が濃く、黒っぽい色をしていた (Fig. 4-1. および Fig. 4-2.)。糞の色はヘモグロビン分解物や排泄された胆汁酸、または腸内細菌による胆汁酸代謝物（二次胆汁酸）により変化するため（奥ら, 1998）、糞中総胆汁酸を測定したが、糞中総胆汁酸量は 3 群間に有意差がなかった (Table 4-3.)。



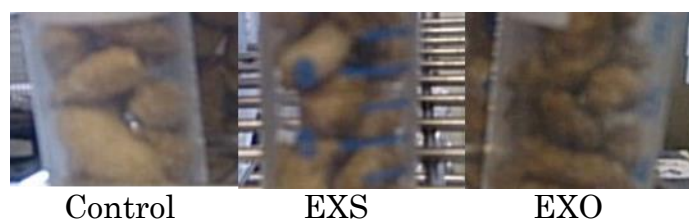


Fig. 4-1. The difference of the feces appearance

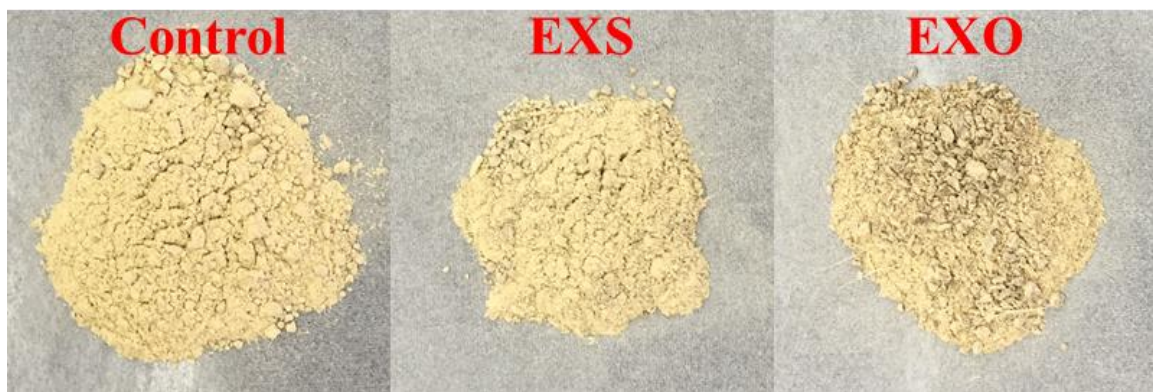


Fig. 4-2. The difference of the milled feces appearance

#### 4-3-3 血清脂質、血糖、肝臓脂質濃度、組織重量等に及ぼす影響

糞中中性脂肪の増加から、エクストルージョン処理は血清脂質にも影響を与えているのではないかと考え、血清脂質について検討を行った。しかし、血清中の中性脂肪、遊離脂肪酸、総コレステロール、HDL-コレステロール、リン脂質、グルコース (Table 4-4.) および肝臓脂質濃度 (Table 3-5.) のすべてにおいて有意差は確認されなかった。また体重、体重増加量、摂食量、睾丸周囲白色脂肪細胞重量、腎周囲白色脂肪細胞重量、腸間膜白色脂肪細胞重量、および肝臓重量にも有意差はなく (Table 4-6.)、今回確認された消化管における中性脂肪の吸収率の違いは血清脂質濃度や体脂肪量には影響を与えなかった。

Table 4-4. Serum lipids and glucose

(mmol/l)	Control	EXS	EXO
Triacylglycerol	$1.52 \pm 0.37$	$1.38 \pm 0.46$	$1.48 \pm 0.66$
Total cholesterol	$1.94 \pm 0.33$	$1.70 \pm 0.14$	$1.91 \pm 0.59$
HDL-Cholesterol	$1.38 \pm 0.27$	$1.23 \pm 0.21$	$1.38 \pm 0.39$
Phospholipid	$1.99 \pm 0.18$	$1.83 \pm 0.06$	$2.03 \pm 0.39$
Free fatty acid	$0.323 \pm 0.074$	$0.274 \pm 0.069$	$0.274 \pm 0.043$
Glucose	$10.4 \pm 1.0$	$10.6 \pm 0.9$	$10.4 \pm 0.9$

Table 4-5. The amount of lipids in the liver

(mmol/g)	Control	EXS	EXO
Triacylglycerol	$19.4 \pm 4.6$	$18.4 \pm 5.7$	$20.5 \pm 10.8$
Cholesterol	$2.39 \pm 0.42$	$2.16 \pm 0.54$	$2.16 \pm 0.54$
Phospholipids	$42.1 \pm 1.8$	$43.3 \pm 1.3$	$43.3 \pm 1.3$

Table 4-6. Weight of each measured item

	Control	EXS	EXO
Initial body weight (g)	173 ± 9	170 ± 7	172 ± 8
Final body weight (g)	354 ± 29	358 ± 14	357 ± 17
Body weight gain (g/day)	8.63 ± 1.34	8.91 ± 0.80	8.82 ± 0.86
Food consumption (g/day)	22.5 ± 1.9	22.8 ± 2.1	21.8 ± 1.3
Energy intake (kJ/day)	345 ± 29	349 ± 32	334 ± 20
Epididymal WAT (g/cgBW)	1.19 ± 0.32	1.12 ± 0.22	1.06 ± 0.19
Perirenal WAT (g/cgBW)	1.78 ± 0.35	1.74 ± 0.16	1.71 ± 0.44
Mesenteric WAT (g/cgBW)	0.90 ± 0.15	0.86 ± 0.09	0.81 ± 0.13
Liver (g/cgBW)	4.06 ± 0.39	4.02 ± 0.34	3.93 ± 0.19

cgBW, 100g body weight; WAT, white adipose tissue.

#### 4-3-4 mRNA 発現量および酵素活性に及ぼす影響

本研究に取り組む前に行った研究において、糊化处理サゴヤシ澱粉は、未処理サゴヤシ澱粉と比べて、同時に摂食させたベニバナ・オリーブ混合油の消化吸収率および血清脂質濃度を低下させることを確認した。本研究では 4-3-3 で述べた通り、EX 処理試料の血清脂質への影響は見られなかった。しかし最終的な表現型として末梢での生理的プロファイルに影響が生じていないとしても、その背景にある生理状態、ここでは脂質代謝に関連する遺伝子群に何らかの変化が生じているのではないかと考え、脂質代謝に関連する転写因子 PPAR の発現量について検討した。その結果、脂質の  $\beta$  酸化系酵素の転写因子である PPAR $\alpha$  は、EXS 群、EXO 群ともに対照群よりも有意に発現量が低下した (Fig. 4-4.)。一方、インスリン抵抗性や脂肪細胞分化に関与する PPAR $\gamma$  の発現量に違いは見られなかった (Fig. 4-3.)。

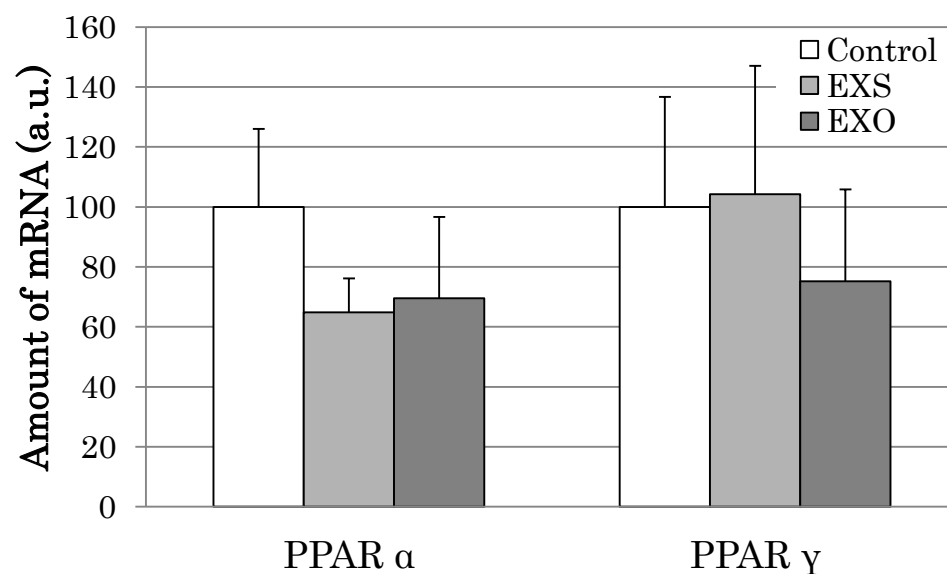


Fig. 4-3. The amount of transcription of PPARs



PPAR $\alpha$  の発現量低下が確認されたため、その制御遺伝子群の変化を確認するため、制御遺伝子群を含めた脂質代謝関連酵素群の活性測定を行った。今回酵素活性を測定した酵素の中で、PPAR $\alpha$  の制御を受けると考えられている酵素は G6PD、ME、AOX、CPT、3-HAD、3-KAT である。しかし、いずれの酵素も EXS 群、EXO 群で活性低下は観察されなかった。

これは PPAR $\alpha$  転写量低下という結果と矛盾するように見える。しかし PPAR $\alpha$  ノックアウト (KO) マウスの解析結果から、その標的遺伝子であっても、その構成的な発現には影響が出ない遺伝子が存在することが報告されている (Aoyama *et al.*, 1998)。上に挙げた 6 つの遺伝子の中で、それに該当するのは、G6PD、AOX、CPT II の 3 つである。ME は PPAR $\alpha$ KO マウスでは酵素活性低下、3-KAT はタンパク質翻訳量の低下、HAD は翻訳量の増加が報告されている。

本実験でも EXS 群の ME、EXS 群と EXO 群の 3-KAT は活性低下傾向を、EXO 群の HAD は活性上昇傾向がみられるが、Aoyama らの報告結果とは一致した結果ではなかった。Aoyama らは KO マウスを用いているが、本実験では野生型のラットであり、PPAR $\alpha$  の転写量低下が Control 群の 3 分の 1 程度であったため、酵素活性に有意差を与えるほどのインパクトがなかったと考えられる。またその結果、血清脂質や脂肪組織重量にも有意差がなかったと考えられる。

Table 4-7. The activity of the enzymes

(nmol/min/mg protein)	Control	EXS	EXO
FAS	20.8±4.3	15.6±3.7	17.9±10.1
ACL	56.3±14.5 <sup>a</sup>	39.0±9.1 <sup>b</sup>	48.1±17.1 <sup>ab</sup>
G6PD	50.2±21.2	41.1±10.2	48.5±19.9
6-PGD	58.4±9.8	49.9±6.6	57.1±13.2
ME	51.1±7.5	45.56±12.3	51.0±16.2
PK	645±52	593±54	606±95
ACOX	0.168±0.133	0.17±0.068	0.198±0.165
CPT	2.53±0.25	2.64±0.25	2.68±0.50
ECH	4561±387	4147±291	4391±373
3-HAD	54.1±5.9	51.5±11.9	60.4±32.0
3-KCT	138±24	126±21	123±22
2,4-DCR	2.93±0.57	2.86±0.40	2.73±0.50

FAS, Fatty acid synthase; ACL, ATP-citrate lyase; G6PD, glucose 6-phosphate dehydrogenase; 6-PGD, 6-phosphogluconate dehydrogenase; ME, malic enzyme; PK, pyruvate kinase; ACOX, acyl-CoA oxidase; CPT, carnitine palmitoyltransferase; ECH, enoyl-CoA hydratase; 3-HAD, 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase; 3-KCT, 3-keotacyl-CoA thiolase; 2,4-DCR, 2,4-Dienoyl-CoA reductase.

EXS 群、EXO 群で PPAR $\alpha$  転写量が低下した理由は不明である。EXO 群に関しては、糞中中性脂肪が増加し、基質となる脂質が吸収されなかったため、PPAR $\alpha$  の転写が誘導されなかった可能性がある。一方で、Control 群と同等の油脂吸収量を示した EXS 群でも PPAR $\alpha$  転写量が低下していることから、油脂の吸収量による影響ではなく、EX 処理試料の独自の機能による可能性を示している。

PPAR $\alpha$  転写はグルココルチコイドや多価不飽和脂肪酸、絶食によって誘導され、インスリンや摂食によって抑制されることが知られている。今回の EX 試料による PPAR $\alpha$  低下作用は、澱粉の消化速度低下によるインスリン濃度低下を介している可能性があるが、血糖値にも有意差がなく、その影響は不明である。

PPAR $\alpha$  は脂質代謝、特にミトコンドリアにおける  $\beta$  酸化を活性化させるため、その転写量低下は脂肪蓄積につながり、生活習慣病予防の観点からは望ましくないと考えられる。したがって本研究で作成した EXS、EXO は生活習慣病罹患者や予備軍の人口が増加し、社会問題となっている現在の日本、および先進諸国にとっては、望ましくない食品のようにみえる。しかし、一方で PPAR $\alpha$  の持続的活性化が脂肪肝や肝臓がんを招くのではないかとの報告（田中ら、2008）がされており、単純にその是非を判断することはできないと考えられる。

#### 4-3-5 エクストルージョン条件と消化吸収

EX 処理試料の摂食量は Control 群と有意差がなかった（Table 4-6.）。したがって嗜好性について Control 食と差はないと考えられる。つまり、EX 処理試料の摂食により、摂食者の QOL の低下は生じない可能性が示された。そのうえで本研究では EXO 群で消化管における中性脂肪吸収率の低下効果は見られた。脂質代謝への影響までは確認されなかったものの、食餌中の油脂量が 8% と比較的

緩やかな高脂肪食であり、3 週間という飼育期間では各測定項目で有意差が観察されなかった可能性がある。高脂肪食、または長期間飼育の条件でも検討する必要があると考えられる。

予備研究で観察された血清脂質低下作用が本研究で確認できなかった理由の一つとして、使用した澱粉の由来植物や油脂量、飼料組成が本研究の条件と異なっていたことがあげられる。また、予備研究の結果は未糊化澱粉群と糊化澱粉群の比較において観察されたものである。この血清脂質低下作用は澱粉の糊化状態に影響されていた可能性があり、澱粉の DG を揃えた本研究では有意差が検出できなかったのかもしれない。

本実験系において未糊化澱粉のみの対照区を設定しなかった理由は、澱粉の消化率は DG によって決定されるとの前提に基づいて試験系を組み立てたからである。未糊化澱粉を用いた場合、未糊化澱粉群と糊化澱粉群との比較には澱粉の消化率による影響を考慮する必要があり、EX 処理の効果を正確に評価できなくなるのではないかと考えた。予備研究で観察された糊化澱粉の血清脂質低下作用は、未糊化澱粉群との比較した実験系での再検証を行う必要がある。

一方で EEO 回収率において、EXO が SM, EXS よりも低い値を示したことから、FTG の増加に反映される油脂吸収率だけではなく、油脂の吸収速度にも影響を与えている可能性がある。したがって、絶食後の強制単回摂食を実施し、摂食後数時間の血糖値や血清遊離脂肪酸濃度、カイトミクロン濃度等の変動を観察することで、EX 試料の吸収特性を明らかに出来ると考えている。

また、EX 処理条件を変えることで脂質の消化吸收抑制作用をさらに向上させるだけでなく、生体に有用な油脂の吸収を促進できる可能性がある。

## 第 5 章

### 総括と今後の展望

## 5-1 総括

本研究では油脂を含む食品原料に物理的な処理を施すことで、油脂の消化吸収を制御する、または食品に新たな機能性を付与する可能性を示すことを目的として検討を行った。

第 1 章では我が国の栄養状態について述べ、油脂の消化吸収制御の意義を論じた。さらに油脂の消化吸収制御について現在の知見についてまとめ、これまでの油脂の消化吸収制御の取り組み、および制御された製品について概観した。そのうえで本研究が目指した物理的な処理油脂の消化吸収を制御した食品の可能性について述べた。また物理的な処理法としてエクストルージョン・クッキングを取り上げ、その概要を示した。

第 2 章では摩砕処理による、MCT を用いたウコンからの curcuminoids 抽出法について検討した。食品の物理的な処理について、新規の考え方を提示し、油脂に抽出成分の機能性を付与する方法を示した結果である。

第 3 章では物理的な処理としてエクストルージョン・クッキングを選択し、澱粉単独試料および油脂混合試料について、その処理条件と処理試料の物性の関係式を 2 次式で表現できると仮定し、応答曲面法により解析した。エクストルージョン・クッキング条件とエクストルージョン・クッキング処理物の物性が密接に相関していることを示し、エクストルージョン・クッキング処理による食品製造における重要な知見を得ることが出来た。

第 4 章では第 3 章の結果より、澱粉単独試料と油脂混合試料が同等の糊化度を示す条件を選択し、そのエクストルージョン・クッキング処理試料の消化吸収性についてラットを用いた動物実験により調査した。結果、体重増加量や脂肪蓄積量、血清脂質プロファイルなどには有意な差は見られなかったものの、油脂混合試料群の糞中中性脂肪が対照群および澱粉単独試料群に対し、有意に

増加した。これはエクストルージョン・クッキング処理した油脂混合試料の油脂吸収抑制効果を示唆するものであり、本研究の目指した油脂の消化吸收制御が可能であることを実証した結果である。また脂質代謝酵素群の転写因子である PPAR $\alpha$  の転写量が澱粉単独試料群、油脂混合試料群ともに対照群よりも有意に減少した。この低下に伴う制御遺伝子群の活性に有意な変化は観察されなかったが、エクストルージョン・クッキング処理試料が生理機能を示すことが明らかになった。長期的な影響やその他の生理作用に対する関心を生む、今後のさらなる研究が期待される結果である。

以上、本研究では目的とした物理的な処理による油脂の消化吸收制御と機能性付与の可能性を示すことができた。

## 5-2 今後の展望

今回、エクストルージョン・クッキング処理条件に関し、処理温度は固定条件として、原料投入口に近い方から 50℃、60℃、95℃、90℃とした。エクストルージョン・クッキングにおいて温度は重要な条件因子であり、特に今回用いた澱粉において温度は糊化挙動を左右する重要な因子である。したがって本研究を基盤として実際に製品を作り上げていくためにはこの温度条件とエクストルージョン・クッキング処理物の物性に関する解析が必要となってくる。

特に今回、低添加水分量・高スクリー速度条件において、澱粉が糊化ではなくデキストリン化つまり低分子化が進んだことを示す結果が得られた。実際の食品製造を考えると、製造後の乾燥工程や保存を考えると添加水分量は少ない条件が好ましい。また澱粉の骨格内に油脂閉じ込め、油脂の放出を遅延させることを目指す場合、高いスクリー速度条件で油脂の分散性を高めることが必要であると考えられる。しかしその時に骨格となる澱粉が低分子化していた場合にはその強度が低下すると考えられる。

今回、低分子化が進んだ原因の一つには温度の影響が考えられる。今回用いたコーンスターチの糊化温度は DSC の測定から、単独で約 72℃、油脂の共存下で約 75℃だった。この糊化温度からすると、エクストルージョン処理の最高温度は 95℃と高い。実際に試料の温度は 88℃以上となり、特に低水分条件である添加水分量 20%・スクリー速度 200 rpm の条件では 100℃を超えていた。

エクストルージョン・クッキング処理においては原料に圧力がかかるため、DSC より得られた糊化温度よりも低い温度で糊化が生じると考えられる。したがって今回の実験条件よりも処理温度を下げることで、同一の添加水分量・スクリー速度条件でも低分子化を防ぎ、糊化澱粉優位な処理物が作成できると考えられる。



今回は澱粉と油脂の混合率を一定として検討を行ったが、この混合率もエクストルージョン・クッキング処理試料の物性を考える上で重要な因子である。また FM や SS といったエクストルージョン・クッキング処理条件との相互作用についてもエクストルージョン・クッキング処理試料への影響度が高いのではないかと考えられる。第 3 章でも考察した通り、油脂の存在により試料とエクストルーター内部との摩擦力が低下し、シェアの低下を招くと推察される。したがって油脂配合率がスクリー速度上昇の影響を低減させることが推測される。また今回のようにエクストルーターに投入する前に澱粉と油脂を混合した場合、油脂の増加により澱粉表面に存在する油脂量が増加することとなり澱粉と水の会合を妨げ、糊化の抑制が生じる可能性がある。逆に水分と澱粉を先に混合し、澱粉スラリーをエクストルーターに供し、そこに油脂を添加した場合には、得られる試料の物性や油脂の澱粉ゲル中での存在状態が異なると考えられる。また油脂と水分を乳化し、乳化液と澱粉をエクストルージョン・クッキング処理した場合も、本研究で得られた試料とは異なる状態になると考えられる。乳化液の乳化状態を O/W と W/O のどちらにするかが重要な点であるが、特に O/W で供した場合、すでに油脂は微細な液滴状態になっているため、澱粉ゲルの中により微細な液滴として存在することが出来、かつ澱粉の水和を阻害せず、糊化を抑制しないことが予想される。また表面の油脂量も低下するのではないかと推察される。表面油脂の低下は第 4 章の油脂混合試料のように油脂の吸収量低下をもたらすと考えられる。

スクリーの構成も重要な因子の一つである。例えば今回は材料の運搬よりも混練を目的として使用するニーダーを 2 か所、合計 2 L/D 使用したが、この使用数や設置場所によって、油脂の分散性や糊化度を制御することも可能であると考えられる。

学術的な観点からも製造の観点からも重要な点であるが、エクストルーター

内での試料の分散・分配の状態に対する解析についても興味深い。食品分野以外でエクストルーダーは高分子製造分野、つまりプラスチック製造の現場でよく使われているが、この分野ではこの試料の分散・分配に関する研究が進んでいる。こうした分野での知見を応用することで、食品成分の変化に関する洞察を進化させることができるだろう。

エクストルーダーという機械に関しても、現在は 1 軸または 2 軸が主要となっているが、最近 12 軸のスクリーからなるリングエクストルーダーと呼ばれる装置が開発され、利用が進んでいる。これは中心の円柱の周りに 12 本のスクリーが配置されたエクストルーダーである。この機械の特徴は軸が 12 本になることで、エクストルーダー内部の試料が占める体積中のスクリー同士がかみ合っている部分(インターメッシュ)の体積の割合が増加することである。その結果、試料に対する力が剪断流動よりも伸長流動が優先的になると考えられている。伸長流動が優先的になることで、熱の発生が抑え、試料構造を壊さず、試料の混練分散ができる。このリングエクストルーダーで本研究の試料を処理したときの挙動についても興味深い。

第 4 章でも述べた通り、この動物試験により押出物の生理学的な機能を精査することで、エクストルージョン処理試料の要求物性が定まり、そうした要求物性を得るためのエクストルージョン条件の検討を行うことができる。

物理的処理をした油脂含有物の消化吸収性に関する知見が蓄積され、実際の製品に応用されることが期待される。

## 参考文献

- Aoyama T., Peters M.J., Iritanii N., Nakajima T., Furihata K., Hashimoto T. Gonzalez J.F. (1998) Altered constitutive expression of fatty acid-metabolizing enzymes in mice lacking the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) *J. Biol. Chem.* **273**, 5678-5684.
- Armand M., Pasquier B., André M, Borel P., Senft M., Peyrot J., Salducci J, Portugal H, Jaussan V., Lairon D. (1999) Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract. *Am. J. Clin. Nutr.*, **70** 1096-1106.
- Asai, A. and Miyazawa, T. (2001) Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. *Nutrient Interactions and Toxicity Research Communication*, **131** 2932–2935.
- Badrie N., and Mellows W. (1991) Effect of extrusion variables on cassava extrudates. *J. Food Sci.*, **56(5)** 1334-1337.
- Chiang Y., and Johnson JA. (1977) Measurement of total and gelatinized starch by glucoamylase and toluidine reagent. *Cereal Chem.*, **54** 429-435.
- Colonna P., Doublier J., Melcion J., Monredon FD., Mercier C. (1984) Extrusion cooking and drum drying of wheat starch. I. physical and macromolecular modifications. *Cereal Chem.*, **61** 538-543.
- De Pilli T., Carbone BF., Fiore AG., Severini C. (2007) Effect of some emulsifiers on the structure of extrudates with high content of fat. *J. Food Eng.*, **79** 1351-1358.

- Ding Q., Ainsworth P., Tucker G., Marson H. (2005) The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *J. Food Eng.*, **66** 283-289.
- Donovan JW. (1979) Phase transitions of the starch–water system. *Biopolymers*, **18** 263-275.
- Eaton DL. and Klaassen CD. (1976) Effects of acute administration of taurocholic and taurochenodeoxycholic acid on biliary lipid excretion in the rat. *Exp. Biol. Med.*, **151**(1) 198-202.
- Fletcher MJ. (1968). A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin. Chim. Acta.*, **22** 393-397.
- Folch J., Lees M., Sloane, Stanley GH. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226** 497-509.
- Fukami K., Kawai K., Hatta T., Taniguchi H., Yamamoto K. (2010) Physical properties of normal and waxy corn starches treated with high hydrostatic pressure. *J. Appl. Glycosci.*, **57** 67-72.
- Gomez M. and Aguilera J. (1983) Changes in the starch fraction during Extrusion - cooking of corn. *J. Food Sci.*, **48** 378-381.
- Gomez M. and Aguilera J. (1984) A physicochemical model for extrusion of corn starch. *J. Food Sci.*, **49** 40-43.
- Holm J., Lundquist I., Bjorck I., Eliasson AC, Asp NG. (1988) Degree of starch gelatinization, digestion rate of starch in vitro, and metabolic response in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, **47** 1010-1016.

- Ide T., Oku H. Sugano M. (1982) Reciprocal responses to clofibrate in ketogenesis and triglyceride and cholesterol secretion in isolated rat liver. *Metabolism*, **10** 1065-1072.
- Ikeda I., Tomari Y., Sugano M., Watanabe S., Nagata J. (1991) Lymphatic absorption of structured glycerolipids containing medium-chain fatty acids and linoleic acid, and their effect on cholesterol absorption in rats. *Lipids*, **26(5)** 369-373.
- Ilo S. and Berghofer E. (1999) Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. *J. Food Eng.*, **39** 73-80.
- He JS., Mu TH., Wang J. (2013) A comparative *in vitro* study of the digestibility of heat- and high pressure-induced gels prepared from industrial milk whey proteins. *High Pressure Res.*, **33(2)** 328-335.
- Kaplan RJ. and Greenwood CE. (1998) Poor digestibility of fully hydrogenated soybean oil in rats: a potential benefit of hydrogenated fats and oils. *J. Nutr.*, **128(5)** 875-880.
- Lee YS., Kang EY., Park MN., Choi YY., Jeon JW., Yun SS. (2008) Effects of sn-2 palmitic acid-fortified vegetable oil and fructooligosaccharide on calcium metabolism in growing rats fed casein based diet *Nutr. Res. Prac.*, **2(1)** 3-7.
- Masuda T., Jitoe A., Isobe J., Nakatani N. Yonemori S., (1993) Anti-oxidative and anti-inflammatory curcumin-related phenolics from rhizomes of *Curcuma domestica*. *Phytochem.*, **32** 1557–1560.
- Meng X., Threinen D., Hansen M., Driedger D. (2010) Effects of extrusion conditions on system parameters and physical properties of a chickpea flour-based snack. *Food Res. Int.*, **43** 650-658.

- Pfeiffer E., Höhle S., Solyom AM., Metzler M. (2003) Studies on the stability of turmeric constituents. *J. Food Eng.*, **56** 257–259.
- Rayas-Duarte P., Majewska K., Doetkott C. (1998) Effect of extrusion process parameters on the quality of buckwheat flour mixes 1. *Cereal Chem.*, **75** 338-45.
- Vilela RM., Lands LC., Chan HM., Azadi B. and Kubow S. (2006) High hydrostatic pressure enhances whey protein digestibility to generate whey peptides that improve glutathione status in CFTR-deficient lung epithelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.*, **50(11)** 1013–1029.
- Said HM., Ong D., Redha R. (1988) Intestinal uptake of retinol in suckling rats: characteristics and ontogeny. *Pediatr Res.*, **24(4)** 481-485.
- Takahashi Y. and Ide T. (2008) Effects of soy protein and isoflavone on hepatic fatty acid synthesis and oxidation and mRNA expression of uncoupling proteins and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in adipose tissues of rats. *J. Nutr. Biochem.*, **19(10)** 682-693.
- Takenaka M., Ohkubo T., Okadome H., Sotome I., Ito T., Isobe S. (2013) Effective Extraction of Curcuminoids by Grinding Turmeric (*Curcuma longa*) with Medium-chain Triacylglycerols. *Food Sci. Technol. Res.* **19(4)** 655-659.
- Yan L., Jinkai Z., Hang X., David JM. (2012) Nanoemulsion-based delivery systems for poorly water-soluble bioactive compounds: Influence of formulation parameters on polymethoxyflavone crystallization. *Food Hydrocolloids*, **27** 517–528.
- Yoneda T., Taka Y., Okamura M., Mizushige T., Matsumura S., Manabe Y., Tsuzuki S., Inoue K., Fushiki T. (2007) Reinforcing effect for corn oil

stimulus was concentration dependent in an operant task in mice. *Life Sci.*, **81(23-24)** 1585-1592.

遠藤泰志 (1996) 構造脂質とその機能性 *日本食品科学工学会誌* **43(11)** 1163-1169.

萩原滋子、江崎君子、北村進一、久下喬 (1992) 湿熱処理澱粉粒の物性および被酵素消化性 *澱粉科学*, **39(3)** 175-182.

奥恒行、中村禎子、岡崎光子 (1998) 低分子化アルギン酸ナトリウムの排便及び便性に対する改善効果 *栄養学雑誌*, **56(2)** 89-99.

貝沼圭二、松永暁子、板川正秀、小林昭一 (1981)  $\beta$ -アミラーゼープルラナーゼ (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.

田中直樹、青山俊文 (2008)  $\alpha$  型ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR $\alpha$ ) : 脂肪肝疾患との関連 *信州医誌*, **56(6)** 347-358.

武藤彩乃、高橋弥生、西山博、木村守、増田泰伸、明石哲郎 (2011) 流動食に使用される乳化剤の違いが脂質吸収に及ぼす影響 *第14回日本病態栄養学会年次学術集会*, O-029

五十部誠一郎、張宏康、田中幸久、大久保剛 (2006) 高カロリー低蛋白質食及びその製造方法 *日本国特許公報* 特許 4664832 号

江川和徳、宍戸功一 (1993) 乳酸菌を利用した米の処理法及びその米を利用した加工食品並びに低タンパク質米飯の製造方法 *日本国特許公報* 特許 2706888 号

大城清利 (2002) ウコン含有ジアシルグリセロール溶液とその製造方法。  
*日本国特許公報* 特開 2003-137799

杉浦佳夫、渡邊暁彦 (2007) 加熱調理油性フレーバー及びその製造方法 *日*

本国特許公報 特許 4977606 号

高橋肇 (1993) 低蛋白質、低カリウム、低リン米の製造方法 日本国特許公報 特許 2557312 号

#### 引用 URL

総務省統計局(2016 年 1 月 4 日)

<http://www.stat.go.jp/data/jinsui/2.htm>

厚労省国民健康・栄養調査(2016 年 1 月 4 日)

[http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou\\_eiyou\\_chousa.html](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyou_chousa.html)

文部科学省五訂増補日本食品標準成分表

[http://www.mext.go.jp/b\\_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031802.htm](http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031802.htm)

東京工業大学大学院理工学研究科機械物理工学専攻 教授轟章ホームページ

RSMaker for Excel ダウンロードリンク

<http://todoroki.arrow.jp/ssoft/soft.html> (Dec. 21. 2009)



## 謝辞

本研究を進めるにあたり、多大なるご指導・ご配慮を頂いた筑波大学大学院生命環境科学研究科 中嶋光敏 教授に心より感謝致します。研究途中で急遽、指導教官になって頂いたにもかかわらず、丁寧にご指導いただきました。

本論文作成にあたり筑波大学大学院生命環境科学研究科 市川創作 教授、杉山純一 教授、マルコス・ネヴェス 助教には、貴重なご助言をいただきました。ここに感謝の意を表します。

また本研究を始める機会を頂き、研究開始時から現在に至るまで、親身にご指導賜り、叱咤激励頂いた日本大学生産工学部 五十部誠一郎 教授に心より深く感謝申し上げます。

また社会人博士取得の先輩として、様々な面でご指導・ご協力いただいた仙台百合女子大学人間学部 大久保剛 准教授に心より感謝申し上げます。

本研究のエクストルージョン・クッキング実験は国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所食品工学領域製造工学ユニットで実施させていただきました。実施にあたり、ご配慮・ご指導いただいた製造工学ユニット 岡留博司 ユニット長、五月女格 研究員に感謝申し上げます。

本研究の動物試験は同じく食品総合研究所食品機能研究領域栄養機能ユニットで実施いたしました。実施にあたり、ご協力・ご指導いただきました栄養機能ユニット 八巻幸二 ユニット長、高橋陽子 主任研究員に感謝申し上げます。

同じく食品総合研究所食品工学研究領域食品高圧技術ユニット 山本和貴 ユニット長、食品素材科学研究領域糖質素材ユニット 松木順子 主任研究員、食品工学研究領域先端加工技術ユニット 小林功 主任研究員、食品機能研究領域食品物性ユニット 神山かおる ユニット長、日本家政学院大学現代生活学部 竹中真紀子 准教授には実験指導や貴重なご助言を頂きました。ここに感謝の意を表します。

最後に本研究を進めるにあたり、今日までサポートをし続けてくれた妻をはじめとする家族に感謝いたします。