

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-161992  
(P2004-161992A)

(43) 公開日 平成16年6月10日(2004.6.10)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

C08B 30/00

A23L 1/10

C08B 30/06

C08B 30/12

F 1

C08B 30/00

A23L 1/10

C08B 30/06

C08B 30/12

テーマコード(参考)

4 B 02 3

4 C 09 0

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L 外国語出願 (全 40 頁)

(21) 出願番号 特願2003-136018 (P2003-136018)  
 (22) 出願日 平成15年5月14日 (2003.5.14)  
 (31) 優先権主張番号 10/145302  
 (32) 優先日 平成14年5月14日 (2002.5.14)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 590000824  
 ナショナル スターチ アンド ケミカル  
 インベストメント ホールディング コ  
 ーポレイション  
 アメリカ合衆国, デラウェア 19720  
 , ニューキャッスル, ユニケマ ブルバ  
 ード 1000  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敏  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次  
 (74) 代理人 100108110  
 弁理士 日野 あけみ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】遅消化性澱粉製品

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】栄養サプリメントを含めた可食製品で利用できる遅消化性澱粉の製造方法の提供。

【解決手段】低アミロース澱粉を、特にイソアミラーゼにより少なくとも90%を枝切りする工程、当該枝切りされたデンプンを結晶化させる工程、及び高度に結晶化された枝切りされたデンプンを乾燥させる工程からなる結晶状の線状 - グルカンを含む組成物の製造方法。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

低アミロース澱粉から調製される結晶状の線状 - グルカンを含む澱粉組成物であって：

a ) 少なくとも約 20 % の遅消化性澱粉；

b ) 約 60 % 未満の急速消化性澱粉；

c ) DSC によって測定される融点温度、Tp、が約 70 以上；及び

d ) DSC によって測定されるエンタルピー、H、が少なくとも約 25 J/g；

であり、該組成物が少なくとも約 90 % 枝切りされていることを特徴とする澱粉組成物。

**【請求項 2】**

少なくとも約 50 % が 2 時間以内の消化で消化されることを特徴とする請求項 1 に記載の 10 澱粉組成物。

**【請求項 3】**

本質的に結晶状の線状 - グルカンから成る、請求項 1 または 2 のいずれかに記載の澱粉組成物。

**【請求項 4】**

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の澱粉組成物を製造する方法であって：

a ) 低アミロース澱粉を枝切りする工程、ただし澱粉は少なくとも約 90 % 枝切りされる；

b ) 枝切りされた澱粉を結晶化させる工程；及び

c ) 高度に結晶化した枝切りされた澱粉を乾燥させる工程；

を含む方法。

**【請求項 5】**

該澱粉組成物はイソアミラーゼを用いて枝切りされていることを特徴とする請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

該澱粉は少なくとも約 95 % 枝切りされていることを特徴とする請求項 4 または 5 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 7】**

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の澱粉組成物を含む可食製品。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、低アミロース澱粉を酵素によって枝切りして、得られた線状の短鎖を高度な結晶形態に結晶化させることによって製造される遅消化性澱粉に関する。

**【0002】****【従来の技術】**

澱粉は、典型的なアメリカ人の食事における主要なエネルギー源である。精製された澱粉はたいていの場合調理された状態で食され、この形態では一般に高い血糖指数 (glycemic index) を有し、速やかに実質的に消化される。精製された澱粉の中には小腸における酵素による加水分解に抵抗して、大腸に到達してそこにいる微生物によって利用されるまでは実質的に分解されないものもある（耐性澱粉）。

**【0003】**

遅消化性澱粉、すなわち、消費する人にグルコースを長時間にわたって供給する澱粉の必要性が認識されている。遅消化性澱粉は、食品としても薬剤用途でも有用である。

このような遅消化性澱粉は、糖尿病患者とその予備軍にとって、薬膳や食事のサプリメントを含めた食品に使用するのに優れた炭水化物である。このような遅消化性澱粉は、また、グルコース応答を緩やかにしたい、または食品の消費で持続的なエネルギー放出を達成したいと思う健康人にとっても有用である。

**【0004】**

研究文献は、長時間にわたるグルコース放出の結果として、遅消化性澱粉が健康にある役 50

割を果たすことを明らかにしている。研究は、健康に関連した利益として、長時間にわたる満腹感の増加（すなわち、体重管理における利用）、持続的なエネルギー放出（すなわち、トレイニングを含めたアスレチック能力の増進）及び集中力と記憶の向上、を示唆している。

【0005】

このような遅消化性澱粉は薬剤としても、例えば糖尿病になるリスクを減らすために有用であろう。さらに、遅消化性澱粉は、高血糖症、インスリン抵抗性、高インスリン症、脂肪異常血症及びフィブリン溶解機能障害、の治療に有用である可能性がある。さらにまた、肥満の治療にも有用である可能性がある。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】  
驚くべきことに、遅消化性澱粉が低アミロース含有澱粉を酵素で枝切りすることによって調製できることが見出された。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本特許は、低アミロース澱粉を酵素によって枝切りし、得られた線状短鎖を高度な結晶形態に結晶化させることによって製造される遅消化性澱粉に関する。遅消化性澱粉は、低血糖指数を有し、持続的なエネルギー放出をもたらす。

【0008】

本明細書で用いる場合、急速消化性澱粉という用語は、20分以内の消化で消化される澱粉またはその部分を意味する。

本明細書で用いる場合、耐性澱粉という用語は、エングリスト他が記載しているように（Englyst 他 「European Journal of Clinical Nutrition」 1992, 46, S33-S50）、小腸で消化されない澱粉、またはその断片、を意味する。

【0009】

本明細書で用いる場合、遅消化性澱粉という用語は、急速消化性澱粉でもなく、エングリスト他が記載しているような（Englyst 他 「European Journal of Clinical Nutrition」 1992, 46, S33-S50）耐性澱粉でもない澱粉、またはその断片、を意味する。

本明細書で用いる場合、短鎖アミロースという用語は、-1, 4-D-グルコシド結合によって連結された約5～65個の無水グルコース単位を含む線状ポリマーを意味する。

【0010】

十分にまたは完全に枝切りされた澱粉という用語は、本明細書で用いる場合、理論的には100質量パーセントの短鎖アミロースからなるものを意味し、実際には、高度に枝切りされてそれ以上の酵素活動によっても短鎖アミロースのパーセントに測定可能な変化が生じないものを意味する。

【0011】

血糖指数とは、本明細書で用いる場合、テスト食品の50gの炭水化物部分の血中グルコース応答カーブの下の面積増加と同じ被験者がとった基準食品の同じ量の炭水化物に対する応答のパーセントで表したものを意味する。普通、炭水化物としては利用できるものを用い、白パンまたはグルコースが基準食品として用いられる。ヒトの栄養における炭水化物、「FAO Food and Nutrition Paper, Rome」14-18、1997年4月参照。

【0012】

本特許は、低アミロース澱粉を酵素によって枝切りし、得られた線状短鎖を高度な結晶形態に結晶化させることによって製造される遅消化性澱粉に関する。遅消化性澱粉は、低血糖指数を有し、持続的なエネルギー放出をもたらす。

【0013】

本明細書で用いる場合、澱粉とは、何らかの天然の源から得られるすべての澱粉を含み、

10

20

30

40

50

そのいずれもがここで用いるのに適する。天然の澱粉とは、本明細書で用いる場合、自然に見出されるようなものである。標準的な育種法、例えば交雑育種、転座、逆転、転換、その他の遺伝子または染色体工学の方法によって得られた植物からの澱粉も、その変種も含めて適当である。さらに、公知の標準的な突然変異育種法で生まれた人工的な突然変異や変種からの植物から得られる上記の一般的な構成の澱粉も本発明で適当である。

## 【0014】

澱粉の典型的な源は、シリアル、塊茎、根、豆及び果実である。天然の源としては、コーンのワキシー品種（トウモロコシ）、豆、ジャガイモ、甘藷、バナナ、オオムギ、コムギ、コメ、オートムギ、サゴ、アマランス、タピオカ（キヤッサバ）、クズウコン、カンナ及びモロコシがあるが、特にトウモロコシ、ジャガイモ、キヤッサバ及びコメである。本明細書で用いる場合、「ワキシー」または「低アミロース」とは、約10質量パーセント以下のアミロースしか含まない澱粉を意味する。本発明で特に適当なものは約5質量パーセント以下のアミロースしか含まない澱粉である。

## 【0015】

澱粉は、当業者には公知の方法によって酵素で枝切りされる。適当な酵素はイソアミラーゼ及び所望の量の枝切りを達成できるその他のエンド-1,6-D-グルカノヒドロラーゼである。

用いる酵素の量は酵素の源及び活性と用いるベース物質に依存する。普通、酵素は澱粉に対して質量で約0.05～約2.0%という量で、特に約0.2～約0.5%という量で用いられる。

## 【0016】

酵素活性の最適パラメータは用いる酵素によって異なる。酵素の劣化の速度は当業者には公知の因子、すなわち、酵素のタイプと濃度、基質の濃度、pH、温度、阻害因子の有無並びに修飾されているなら、修飾の度合いとタイプなどに依存する。これらのパラメータを調整して澱粉基質の消化速度を最適化することができる。

## 【0017】

酵素による枝切りの前に、澱粉は当業者に公知の方法によって糊化することができる。当業者に公知の方法としては、例えば、米国特許第4,465,702号、5,037,929号、5,131,953号、及び5,149,799号に開示されている方法がある。また、「Starch: Chemistry and Technology, Vol. III - Industrial Aspects, Chapter XXI I - "Production and Use of Pregelatinized Starch" R. L. Whistler 及び E. F. Paschal 編、Academic Press, New York 1967 参照。糊化の方法は澱粉分子を顆粒構造から抜けて酵素が澱粉分子を容易に一様に分解することを可能にする。

## 【0018】

一般に、酵素処理は処理しようとする基質の澱粉によるが、約10～約40%という澱粉固形分レベルで水中または緩衝スラリー中で行われる。本発明においては、約15～35%という澱粉固形分レベルが特に有用であり、約18～30%という澱粉固形分レベルがさらに特に有用である。あるいはまた、この方法は固体支持体に固定された酵素を用いることもできる。

## 【0019】

普通、酵素による消化は、その後に澱粉組成物の乾燥が望ましい場合、それを容易にするために反応速度を低下させることなく可能な最高の固形分含有率で行われる。高い固形分含有率では、攪拌が困難になったり無効になったりし、澱粉分散物が扱いにくくなるので反応速度が低下する。

## 【0020】

スラリーのpHと温度は酵素の加水分解を効果的にするように調整しなければならない。これらのパラメータは、用いる酵素に依存し、当業者には公知である。一般に、約25～

約 7 0 という温度が、特に約 5 0 ~ 約 6 0 という温度が、用いられる。一般に、p H は約 3 . 0 ~ 約 6 . 0 に、特に約 3 . 5 ~ 約 4 . 5 に、当業者に公知の方法によって調整される。

#### 【 0 0 2 1 】

遅消化性澱粉が得られるまで酵素反応は続けられる。一般に、酵素反応には約 1 ~ 2 4 時間、特に約 4 ~ 1 2 時間かかる。反応時間は、用いる澱粉のタイプ、用いる酵素のタイプと量並びに固体分パーセント、p H、及び温度などの反応パラメータに依存する。

#### 【 0 0 2 2 】

加水分解の量は、当業者に公知の方法によって - 1 , 6 - D - グルカノヒドロラーゼから放出される還元基の濃度を測定して決定することができる。反応の終点を決定するには、粘度の変化、ヨウ素反応、または分子量の変化を測定するなど他の方法を用いることもできる。澱粉が完全に枝切りされると、測定されている測定値はもはや変化しなくなる。得られる澱粉は、少なくとも約 9 0 %、特に少なくとも約 9 5 %、さらに特に少なくとも約 9 8 %、最も特に少なくとも約 9 9 %、枝切りされなければならない。枝切りされた澱粉は普通、 - 1 , 6 - D - グルコシド結合（リンク）が約 0 . 2 % 未満、特に約 0 . 1 % 未満になる。

#### 【 0 0 2 3 】

所望により、酵素は当業者に公知の方法によって、例えば熱、酸、または塩基不活性化によって、不活性化（変性）することもできる。例えば、酸による不活性化は、p H を少なくとも 3 0 分間 3 . 0 より低く調整することによって遂行できる。熱による不活性化は、温度を約 8 0 ~ 9 0 に上げてその温度に少なくとも約 2 0 分間維持して酵素を完全に不活性化することによって遂行できる。

#### 【 0 0 2 4 】

さらに、酵素による加水分解の前または後に、澱粉を修飾することができる。このような修飾としては、物理的、酵素によるまたは化学的な修飾が可能である。物理的修飾は、剪断や熱的阻害によるもの、例えば米国特許第 5 , 7 2 5 , 6 7 6 号に記載されている方法によるもの、がある。

#### 【 0 0 2 5 】

化学的修飾は、架橋、アセチル化と有機エステル化、ヒドロキシアルキル化、リン酸化と無機エステル化、カチオン、アニオン、非イオン及び双性イオン修飾、並びにコハク酸化などがあるが、それだけに限定されない。このような修飾は、例えば、「Modifie d Starches: Properties and Use」Wurzburg 編, CRC Press, Inc., Florida (1986) などによって当業者には公知である。

#### 【 0 0 2 6 】

澱粉は、酸化、酸加水分解、酵素加水分解、熱及び／または酸デキストリン化によって調製される流動性または低粘性変性澱粉を含むように変換させることができる。これらの方法は当業者には周知である。

本発明で使用するのに適した性質を有する澱粉基質は、当業者に公知の方法で精製して多糖類に特有の、または加工の間に生じた匂いや色を澱粉から除去することができる。澱粉を処理するのに適当な精製方法は、E P 5 5 4 8 1 8 号 (Kasicca 他) で代表される一群の特許に開示されている。アルカリ洗浄法も有用であり、U . S . 4 , 4 7 7 , 4 8 0 号 (Seidel) 及び 5 , 1 8 7 , 2 7 2 号 (Berthalan 他) で代表される一群の特許に記載されている。枝切りされた澱粉はこの方法によって精製することもできる。

#### 【 0 0 2 7 】

得られた溶液は、普通、意図された最終用途に応じて所望の p H に調整される。一般に、p H は、約 3 . 0 ~ 約 6 . 0 に、特に約 3 . 5 ~ 約 4 . 5 に、当業者に公知の方法で調整される。さらに、澱粉分散物から析出した短鎖アミロースは再分散させることができる。枝切りされた澱粉組成物の精製が望ましい場合、反応不純物及び副産物を透析、濾過、遠

10

20

30

40

50

心分離、その他当業者に公知の方法によって除去して、澱粉組成物を単離し濃縮することができる。例えば、分解された澱粉は当業者に公知の方法で洗浄してオリゴサッカライドなどの可溶性の低分子量成分を除去して高度に結晶状の澱粉にすることができる。

【0028】

枝切りされた澱粉は、当業者に公知の方法で、例えば澱粉を静置して老化させることによって、結晶化される。次に、澱粉は、当業者に公知の方法で、特に濾過または乾燥、例えば噴霧乾燥、凍結乾燥、フラッシュ乾燥または空気乾燥によって、さらに特に濾過またはフラッシュ乾燥によって、回収される。本発明にとって重要な高度の結晶性を実現するために、普通は老化と乾燥を制御することによって、結晶化を制御することが重要である。さらに、乾燥やその他の結晶化後的方法が結晶を実質的に破壊しないということが重要である。

【0029】

得られた澱粉は、枝切りされた澱粉からの高度に結晶化した短鎖アミロースの形をしており、ゆっくりと消化できる澱粉としてユニークな機能を有する。この澱粉は、以下で記述する手順によってDSCで測定される融点、 $T_p$ 、が少なくとも約70℃、特に少なくとも約80℃、さらに特に少なくとも約90℃、であり、以下で記述する手順によってDSCで測定されるエンタルピー、 $H$ 、が少なくとも約25J/g、特に少なくとも約30J/g、であることを特徴とする。これらのDSC値は、製品の高度に結晶化した性質を示している。

【0030】

枝切りされた澱粉はさらに、デキストロース当量 (D E, d e x t r o s e e q u i v a l e n t) が少なくとも約5.0、さらに特に少なくとも約6.0、であることを特徴とする。しかし、処理条件を変えることによって、特に低分子量の加水分解生成物を除去することによって、もっと低いデキストロース当量 (例えば少なくとも約4.0のD E) を達成することもできる。本明細書で用いる場合、デキストロース当量とは加水分解生成物の還元能を意味する。各澱粉分子は1つの還元端を有する。したがって、D Eは分子量に逆比例する。無水D-グルコースのD Eは100と定義され、加水分解されない澱粉のD Eは本質的にゼロである。

【0031】

得られた枝切りされた澱粉は、持続的に消化され、特に少なくとも2時間にわたって、さらに特に少なくとも4時間にわたって消化されるが、経口摂取の約6時間後までには顕著に消化されるという意味で遅消化性である。特に、以下で述べる消化手順によって測定して、消費後の最初の20分間では約60%未満、さらに特に約50%未満、最も特に約30%未満が消化され、少なくとも約20%、特に少なくとも約30%が消費から20分後から2時間後までの間に消化される。さらに、消費の後の2時間以内に、少なくとも約50%、特に少なくとも約60%が消化される。澱粉の消化は普通、2時間を超えても続く。

【0032】

澱粉は生の状態で消費されてもよいが、普通、高または低水分条件で加工された後で消費される。したがって、本発明は、消費される状態において遅消化性という利点を有する澱粉も含む。そのような状態は以下の実施例で記述される方法によってモデル化される。

さらに、得られたゆっくり消化される澱粉は、高血糖指数の澱粉に典型的な血糖レベルの大きな急激な上昇を生ぜず、ベースラインの上でもっとゆるやかな、長時間にわたって続く上昇を生ずる。遅消化性の部分が調理及び/またはその他の典型的な食品加工条件によって実質的に減少しないという意味で、これはまた寛容な方法である。

【0033】

この澱粉は、いろいろな可食製品に用いられる；例えば、シリアル、バー (bar)、ピザ、パスタ、注ぐドレッシングやふりかけるドレッシングなどのドレッシング；フルーツ及びクリーム詰め物などのパイの詰め物；ホワイトソースやチーズソースなどの乳製品ソースを含むソース；グレービー；ライト・シロップ；プリン；カスタード；ヨーグルト；

10

20

30

40

50

サワークリーム；乳製品飲料を含む飲料；グレーズ；クラッカー、パン、マフィン、ベーグル、ビスケット、クッキー、パイ、クラスト、ケーキなどの焼き菓子類；香辛料、菓子類とガム並びにスープなどに用いられるがそれだけに限定されない。

【0034】

可食製品はまた、栄養食品及び飲料、例えばダイエットのサプリメント、糖尿病患者用食品、持続的なエネルギー放出のための食品、例えばスポーツドリンク、栄養バー やエネルギー・バーなども含む。

本発明の澱粉は、その機能を発揮するために望ましいまたは必要ないかなる量で添加することもできる。一般に、この澱粉は、質量で約0.01%～約100%という量で、特に約1%～約50%という量で添加することができる。この澱粉は、他のどんな澱粉とも同様の仕方で、普通は直接製品に混合するかまたはゾルの形で加えることによって、食品または飲料に添加することができる。

【0035】

【実施の形態】

以下の実施の形態は、本発明をさらに詳しく例示するためのものであり、いかなる意味でもそれを限定するものと考えてはならない。

実施の形態1 結晶状の線状 - ゲルカンを含む低アミロース澱粉から調整される澱粉組成物であって：

- a) 少なくとも約20%の遅消化性澱粉；
- b) 約60%未満の急速消化性澱粉；
- c) DSCで測定された融点が約70以上；及び
- d) DSCで測定されたエンタルピーが約25J/g以上；

であり、該組成物が少なくとも約90%枝切りされていることを特徴とする澱粉組成物。

【0036】

実施の形態2 少なくとも約50%が2時間以内の消化で消化されることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態3 少なくとも約60%が2時間以内の消化で消化されることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態4 澱粉組成物は、トウモロコシ、ポテト、キャッサバ及びコメからなる群から選択される低アミロース澱粉から調製されることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

【0037】

実施の形態5 融点温度が約80以上であることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態6 融点温度が約90以上であることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態7 エンタルピーが少なくとも約30J/gであることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

【0038】

実施の形態8 少なくとも約30%が遅消化性澱粉であることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態9 本質的に結晶の線状 - ゲルカンからなることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態10 この組成物が少なくとも約4.0というデキストロース当量を有することを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

【0039】

実施の形態11 この組成物が少なくとも約5.0というデキストロース当量を有することを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態12 この澱粉が少なくとも約95%枝切りされていることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

10

20

30

40

50

## 【0040】

実施の形態13 この澱粉が少なくとも約98%枝切りされていることを特徴とする実施の形態1に記載の澱粉組成物。

実施の形態14 実施の形態1に記載の澱粉組成物を作る方法であって：

a) 低アミロース澱粉を枝切りする工程、ただしこの澱粉は少なくとも約90%枝切りされる；

b) 枝切りされた澱粉を結晶化させる工程；及び

c) 高度に結晶化した枝切りされた澱粉を乾燥させる工程；

を含む方法。

## 【0041】

実施の形態15 この澱粉組成物がイソアミラーゼを用いて枝切りされることを特徴とする実施の形態14に記載の方法。

実施の形態16 この澱粉組成物が完全に枝切りされることを特徴とする実施の形態14に記載の方法。

実施の形態17 この澱粉が少なくとも約95%枝切りされることを特徴とする実施の形態14に記載の方法。

## 【0042】

実施の形態18 この澱粉が少なくとも約98%枝切りされることを特徴とする実施の形態14に記載の方法。

実施の形態19 実施の形態1に記載の澱粉組成物を含む可食製品。

実施の形態20 この製品が栄養食品である実施の形態19に記載の製品。

実施の形態21 この澱粉組成物がトウモロコシ、ポテト、キャッサバ及びコメからなる群から選択される低アミロース澱粉から調製されることを特徴とする実施の形態1～3のいずれかに記載の澱粉組成物。

## 【0043】

実施の形態22 融点温度が約80以上であることを特徴とする実施の形態1～4または21のいずれかに記載の澱粉組成物。

実施の形態23 融点温度が約90以上であることを特徴とする実施の形態22に記載の澱粉組成物。

実施の形態24 エンタルピーが少なくとも約30J/gであることを特徴とする実施の形態1～6または21～23のいずれかに記載の澱粉組成物。

## 【0044】

実施の形態25 少なくとも約30%が遅消化性澱粉であることを特徴とする実施の形態1～7または21～24のいずれかに記載の澱粉組成物。

実施の形態26 本質的に結晶の線状-グルカンからなることを特徴とする実施の形態1～8または21～25のいずれかに記載の澱粉組成物。

実施の形態27 この組成物が少なくとも約4.0というデキストロース当量を有することを特徴とする実施の形態1～9または21～26のいずれかに記載の澱粉組成物。

## 【0045】

実施の形態28 この組成物が少なくとも約5.0というデキストロース当量を有することを特徴とする実施の形態27に記載の澱粉組成物。

実施の形態29 この澱粉が少なくとも約95%枝切りされていることを特徴とする実施の形態1～11または21～28のいずれかに記載の澱粉組成物。

## 【0046】

実施の形態30 この澱粉が少なくとも約98%枝切りされていることを特徴とする実施の形態29に記載の澱粉組成物。

実施の形態31 実施の形態1～13または21～30のいずれかに記載の澱粉組成物を作る方法であって：

a) 低アミロース澱粉を枝切りする工程、ただしこの澱粉は少なくとも約90%枝切りされる；

10

20

30

40

50

b ) 枝切りされた澱粉を結晶化させる工程；及び  
c ) 高度に結晶化した枝切りされた澱粉を乾燥させる工程；  
を含む方法。

【0047】

実施の形態32 この澱粉組成物がイソアミラーゼを用いて枝切りされることを特徴とする実施の形態31に記載の方法。

実施の形態33 この澱粉組成物が完全に枝切りされることを特徴とする実施の形態14、15、31または32のいずれかに記載の方法。

実施の形態34 この澱粉が少なくとも約95%枝切りされることを特徴とする実施の形態14、15、31または32のいずれかに記載の方法。

10

【0048】

実施の形態35 この澱粉が少なくとも約98%枝切りされることを特徴とする実施の形態14、15、31または32のいずれかに記載の方法。

実施の形態37 この製品が栄養食品である実施の形態19または36に記載の製品。

【0049】

【実施例】

以下の実施例は、本発明をさらに詳しく例示し説明するためのものであり、いかなる意味でも本発明を制限するものと考えてはならない。用いられるパーセントはすべて質量/質量に基づいている。以下の試験手順がすべての実施例で用いられる。

示差走査熱量測定 - 示差走査熱量測定は、Perkin-Elmer DSC-7 (Norwalk, CT, USA) で行われた。この計器はインジウムで校正された。約10 mg の澱粉サンプルが1 : 3という澱粉：水比で調製され、5 から 160 まで 10 / 分で昇温される。空のステンレス鋼のさらが基準として用いられている。

20

【0050】

鎖長と直線性 - 枝切りされた澱粉サンプルがNMRによって分析され、平均鎖長及び -1,4 対 -1,6 リンケージ比が決定された。NMRサンプルは、5 ~ 6 mg の澱粉を 2.5 mL の D<sub>2</sub>O / TSP (プロピオン酸ナトリウム・トリメチル・シリル) に懸濁し、懸濁物を約1時間圧力調理して作成された。得られた透明溶液を 5 mm の NMRチューブに移し、NMRスペクトルが得られるまで水蒸気浴で高温に保たれた。このサンプル取扱い手順によって、結晶状の澱粉試料が確実に溶液内にとどまっていることを保証した。プロトンNMRスペクトルは、90 で Bruker DPX-400 分光計で 400 MHz で得られた。

30

【0051】

問題となる共鳴についての化学シフト・アサインメント (90 で TSP に対する) は次の通りであった。 -1,4 鎖中間リンケージは化学シフトが 5.38 ppm であり、 -1,6 鎖中間 (分枝点) は 4.96 ppm、 - 形態の還元性末端グループは 5.23 ppm、そして - 形態の還元性末端基は 4.65 ppm、であった。

澱粉サンプルの平均鎖長は、還元性末端基の鎖中間の共鳴に対する比から計算された。

-1,6 鎖中間 (分枝点) のパーセントは -1,6 リンケージ対 -1,4 リンケージの量から計算された。

40

【0052】

デキストロース当量 (DE) - 方法中のDE測定のために、フェーリング体積滴定法が用いられた。500 mL のエルレンマイヤーフラスコを脱イオン水 (D. I.) で洗浄した。次に 50 mL の D. I. 水を加えた。フェーリング液 A と B を各 5 mL 加え、2 滴のメチレンブルーと 2 つの沸騰チップを次に加えた。屈折計を用いて反応固体物を決定した後、2 ~ 4 パーセントの澱粉固体物を含む澱粉溶液が、D. I. 水を用いて反応溶液をビーカーで希釈することによって調製された。次の工程に進む前に、固体物を屈折計によってチェックして溶液が正しく調製されたことを確認した。澱粉溶液を入れたビーカーの質量を測って、質量を記録した。調製されたフェーリング液を入れたエルレンマイヤーフラスコに 15 グラムの澱粉溶液を加えた。ホットプレート上で 2 分間攪拌しながら煮

50

沸すると、通常、青みがかった色が現れた。ピペットを用いて、ビーカーから澱粉溶液を、青みがかった色が消えてはっきりした赤みがかった酸化銅が生ずるまで少しづつ加えた。プラスチックのピペットで澱粉溶液を絶えず攪拌して溶液を一様に保った。赤みがかった終点に達したら、澱粉溶液を入れたビーカーを再び秤量して、消費された澱粉の質量を決定した。D. E. の計算は次の式で示される：

【0053】

【数1】

[フェーリング因子×100]

$$D. E. = \frac{[(\text{必要とした澱粉溶液のグラム数}) \times (\text{澱粉溶液の濃度})]}{10}$$

【0054】

消化シミュレーション - (Englyst 他 「European Journal of Clinical Nutrition」 1992, 46: S33-S50) - 食品サンプルを咀嚼するような具合に碎き/刻む。粉末澱粉サンプルを篩いにかけて粒径250ミクロン以下にする。500~600 mg ± 0.1 mg のサンプルを秤量してサンプル・チューブに加える。各チューブに10 ml のペプシン(0.5%)、グアーガム(0.5%)及びHCl(0.05 M)溶液を加える。

【0055】

プランク及びグルコース標準チューブを用意する。プランクは20 ml の緩衝液で、0.25 M の酢酸ナトリウムと0.02% の塩化カルシウムを含む。グルコース標準は10 ml の酢酸ナトリウム緩衝液(上述)と10 ml の50 mg/ml グルコース溶液を混合して調製される。標準は、重複して用意される。

酵素ミックスは、18 g のブタのパンクレアチン(Sigma P-7545)を120 ml の脱イオン水に加え、よく混合し、3000 g で10分間遠心分離して調製される。上澄みを集め、48 mg の乾燥インベルターゼ(invertase)(Sigma I-4504)と0.5 ml のAMG 400 (Novo Nordisk)を加える。

【0056】

サンプル・チューブを37 °C で30分間予備培養し、浴から出して10 ml の酢酸ナトリウム緩衝液を(振動させたときにサンプルの物理的な分解を助けるため)ガラス玉/マーブルと一緒に加える。

5 ml の酵素ミックスをサンプル、プランク及び標準に加える。チューブを37 °C の水槽中で約180回/分の頻度で水平に振動させる。時刻「ゼロ」は第1のチューブに酵素ミックスを最初に加えた時点を表す。

【0057】

20分及び120分後、0.5 ml のアリコートを培養中のサンプルから取り出して、20 ml の66% のエタノール(反応を停止させるため)が入った別のチューブに入れる。1時間後、アリコートを3000 g で10分間遠心分離する。

各チューブのグルコース濃度をグルコース・オキシダーゼ/ペルオキシダーゼ法(Megazyme グルコース分析手順GLC9/96)を用いて測定する。これは熱量測定方法である。この実験を用いた以前の文献で開示されているようにHPLCを用いてグルコースを検出することもできる。

【0058】

澱粉消化の度合いは、グルコース標準に対して、換算因子0.9を用いてグルコース濃度を計算することによって決定される。結果は、20分後及び120分後の「消化された澱

10

20

30

40

50

粉の%」(乾燥質量ベース)として与えられる。SDS(遅消化性澱粉)は、120分後の値マイナス20分後の値である。

すべてのサンプル分析バッチには調理されないコーンスターチの基準サンプルが含まれる。コーンスターチの消化値%の受容される範囲は次の通りである。

【0059】

【表1】

サンプル	S20	S120	SDS
コーンスターチ <sup>1</sup>	17.5 ± 2.5	80 ± 5	約62.5

10

<sup>1</sup> Melogel(登録商標)スターチ、National Starch and Chemical Company, Bridgewater, NJ, USA, から商業的に入手できる。

【0060】

調理モデル - 商業的な食品加工方法を模倣するために、高水分と低水分という2つの一般的なモデルが用いられる。高水分食品モデルは、20%固形分で水の中の澱粉を用い、90の水蒸気浴で5分間調理する。次にこの調理したものをドライアイス/アセトン浴で凍結し、凍結乾燥し、碎き、消化をテストする。低水分食品モデルは、固形分50%で水の中の澱粉を用い、ペーストをオーブン中で190で約20分間焼く。サンプルはその後、碎き、篩いにかけて250ミクロン以下の粒径にした。

20

【0061】

実施例1 - 未調理消化研究のためのイソアミラーゼを用いた結晶状澱粉の調製  
A. 4 kgのワキシートウモロコシ澱粉を10.8リットルの水でスラリーにして3:1の水:塩酸を用いてpHを4.0に調整した。この澱粉を、154.4~157.2(310~315°F)のフルスチームでバック圧力5.52 × 10<sup>5</sup> Pa(80 psi)でジェット調理して澱粉に完全に火を通した(cook out)。調理された澱粉が55に冷えた後で澱粉の質量に対して0.2%のイソアミラーゼ(林原(株)、日本から商業的に入手できる)を加えた。サンプルのD.E.(デキストロース当量)が6.0に達したときに枝切り反応を停止させた。この時点で55でpHを2.0に30分間調整して酵素を変性させた。次に、pHを再び6.0に調整した後に澱粉溶液を室温に冷却して放置して室温で一晩(16時間)結晶化させた。結晶化した生成物を入口温度210、出口温度116で噴霧乾燥して回収した。

30

【0062】

B. 227 kg (500 lb)の酸変換ワキシートウモロコシ澱粉を680 kg (1500 lb)の水でスラリーにして3:1の水:塩酸を用いてpHを4.0に調整した。この澱粉を、水蒸気でバッチ調理した。調理された澱粉温度を55に維持した後に、絶えず攪拌しながら0.2%イソアミラーゼを加えた。

40

反応が8時間進行した後、55でpHを2.0に30分間低下させて酵素を変性させた。次に、pHを再び6.0に再調整した後に澱粉溶液を室温に冷却して放置して室温で濾過される可溶分が増えなくなるまで結晶化させた。結晶化した生成物は脱水してフラッシュ乾燥させた。得られた枝切りされた澱粉のデキストロース当量は7.0である。

【0063】

C. 実施例1Aの方法を繰り返したが、異なる点は基質の澱粉が酸変換ワキシートウモロコシであり、反応は一晩(16時間)進行したということである。結晶化の後、生成物は入口温度210、出口温度116で噴霧乾燥された。

D. 実施例1Aの方法を繰り返したが、異なる点は枝切り反応をサンプルのD.E.が5.3に達したときに停止させたことである。この時点で55でpHを2.0に30

50

分間調整して酵素を変性させた。次に、pHを再び6.0に調整した後に澱粉溶液を室温に冷却して放置して室温で一晩(16時間)結晶化させた。結晶化した生成物は濾過して空気乾燥させた。

## 【0064】

実施例1のサンプルのDSCと消化の結果、ならびに計算されたSDS含有量を表1に示す。

## 【0065】

## 【表2】

10

表1. DSCと消化結果

サンプル	20分	120分	SDS	DSC			
				T <sub>0</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH (J/g)
1A	49.6	73.2	23.6	44.6	80.6	95.7	28.3
1B	22.7	48.6	25.9	47.2	96.2	127.7	32.0
1C	42.4	65.0	22.6	47.3	76.1	93.4	25.9
1D	25.0	50.3	25.3	53.8	77.0	89.9	28.3

20

サンプルはすべて20%を超えるSDSを含んでいた。

## 【0066】

実施例2-調理消化研究のためのイソアミラーゼを用いた結晶状澱粉の調製

A. 4 kgのワキシートウモロコシ澱粉を12リットルの水でスラリーにした。このサンプルをジェット調理し55℃に冷却して、3:1水:HClを加えてpHを4.0に調整した。この時点で、澱粉質量に対して0.2%のイソアミラーゼを加えて枝切り反応をスタートさせた。5時間の反応の後、サンプルのpHを3%NaOHを用いて6.0に上げて85℃で20分間加熱して酵素を殺した。次にサンプルを室温まで冷却して、その温度で一晩結晶化させた。サンプルは濾過と空気乾燥によって回収された。得られた枝切りされた澱粉はデキストロース当量が6.7であった。

## 【0067】

B. 実施例2Aの方法を繰り返したが、異なる点はサンプルを40℃まで冷却して40℃で一晩結晶化させたことである。

実施例2のサンプル2Aと2B及び実施例1のサンプル1Cと1Dの消化研究は、澱粉を高水分(HM)または低水分(LM)調理モデルで調理した後で行われた。表2は、これらのサンプルの消化結果、及び計算したSDS含有量をまとめている。生のサンプルのDSC結果も含まれている。

## 【0068】

## 【表3】

30

40

表2 調理されたサンプルの消化結果及び生の材料のDSC

サン プル	調理	20分	120分	SDS	DSC			
					T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH (J/g)
2A	HM	31.0	65.0	34.0	55.8	87.1	99.7	33.2
2B	HM	36.0	65.0	29.0	82.9	112.1	129.4	35.0
1C	LM	39.8	69.2	29.4	47.3	76.1	93.4	25.9
1D	LM	31.1	66.7	35.6	53.8	77.0	89.9	28.3

10

この実施例のすべてのサンプルは 20 % よりも高い SDS 含有量を示した。

## 【0069】

実施例 3 - 枝切りされた澱粉を含む食品

以下の調合及び方法によってクラッカーが作られた。

## 【0070】

【表4】

20

以下の調合及び方法によってクラッカーが作られた。

成分	サンプル3A 量 (w/w%)	サンプル3B 量 (w/w%)	サンプル3C 量 (w/w%)
ケーキ粉	45.3	14.4	14.4
澱粉 実施例1D	0.0	0.0	39.0
ワキシートウモロコシ澱粉	0.0	39.0	0.0
砂糖	12.0	3.9	3.9
ベーキング・ソーダ	0.71	0.71	0.71
リン酸カルシウム	0.71	0.71	0.71
塩	0.44	0.44	0.44
麦芽オオムギ粉	0.57	0.57	0.57
ショートニング	6.56	6.56	6.56
高果糖コーンシロップ	1.7	1.7	1.7
炭酸水素アンモニウム	1.11	1.11	1.11
水	30.6	30.6	30.6

30

40

乾燥成分は約 1 分間混ぜ合わされた。次に、ショートニング、コーンシロップ、そして水が加えられ、混合物は捏ねられてパン生地にされた。このパン生地を延ばして、切ってほぼ 50.8 mm (2 インチ) 四方で厚さが 6.35 mm (0.25 インチ) のクラッカーにした。このクラッカーを 15 分間 204.4 (400 °F) で焼いた。

クラッカーを咀嚼するようにすりつぶして、消化性をテストした。結果を表3に示す。

## 【0071】

【表5】

50

表3

サンプル	20分	120分	SDS
3A	77.0	91.3	14.3
3B	72.5	89.0	16.5
3C	49.6	75.5	25.9

## 【 0 0 7 2 】

表3 から見られるように、遅消化性澱粉を用いて焼かれたクラッカーは遅い消化性を保持する。

## フロントページの続き

(74)代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72)発明者 ヨン - チェン シ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 08844, ヒルズボロー, テルヒュン レーン 133

(72)発明者 シャオユアン クイ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 08502, ベル ミード, ハットフィールド コート 4

(72)発明者 アン エム. ピルケット

アメリカ合衆国, ニュージャージー 08876, サマービル, ブルックサイド アベニュー 11  
, アパートメント 7エー

(72)発明者 マイケル ジー. サッチャー

アメリカ合衆国, ニュージャージー 08807, ブリッジウォーター, コロンビア ドライブ  
8, アパートメント 2エー

F ターム(参考) 4B023 LG10 LK20 LP20

4C090 AA01 AA04 AA08 BA13 BB02 BB32 BD23 CA42 DA27

## 【外国語明細書】

## 1. Title of Invention

**Slowly Digestible Starch Product**

## 2. Detailed Description of the Invention

[Technical Field of the Invention]

The present invention relates to a slowly digestible starch product prepared by enzymatically debranching low amylose starches and allowing the resultant linear short chains to crystallize to a highly crystalline form.

[Prior Art]

Starch is a major source of energy in the typical American diet. Refined starches are mostly eaten cooked, and in this form generally have a high glycemic index, being quickly and substantially digested. Some refined starches resist enzymatic hydrolysis in the small intestine, such that the starch is not substantially broken down until it reaches the large intestine where it is utilized by resident microorganisms (resistant starch).

A need has been recognized for a slowly digestible starch, one which provides the consumer with glucose over an extended time period. Such slowly digestible starch would thus be useful for both food and drug applications.

Such slowly digestible starch would be an excellent carbohydrate for use in foods, including medical foods and dietary supplements, for both diabetic and prediabetic individuals. Such slowly digestible starch would also be useful for healthy individuals wishing to moderate their glucose response or achieve sustained energy release via consumption in foods.

Research literature indicates a role for slowly digestible starches in health, as a result of glucose release over an extended time period. Research suggests health-related benefits may include increased satiety for longer time periods (i.e. for use in weight management), sustained energy release (i.e. for enhancing athletic performance including training), and improvements in concentration maintenance and memory.

Such slowly digestible starches could also be useful as drugs, e.g. for reducing the risk of developing diabetes. Further, the slowly digestible starches may be useful for the treatment of hyperglycemia, insulin resistance, hyperinsulinemia, dyslipidemia, and dysfibrinolysis. It may also be useful for treating obesity.

[Problems to be Solved by the Invention]

Surprisingly, it has now been discovered that a slowly digestible starch may be prepared by enzymatically debranching low amylose containing starches.

[Means for Solving the problems]

This patent pertains to a slowly digestible starch product prepared by debranching low amylose starches and allowing the resultant linear short chains to crystallize to a highly crystalline form. The slowly digestible starches provide sustained energy release with a low Glycemic Index.

As used herein, the term rapidly digestible starch is intended to mean a starch or portions thereof which are digested within 20 minutes of digestion.

As used herein, the term resistant starch is intended to mean a starch, or the fraction thereof, which is not digested in the small intestines, as described by Englyst et al, 1992 (Englyst et al, European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46,S33-S50).

As used herein, the term slowly digestible starch is intended to mean a starch, or the fraction thereof, which is neither rapidly digestible starch or resistant starch, as described by Englyst et al, 1992 (Englyst et al, European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46,S33-S50).

As used herein, the term short chain amylose refers to linear polymers containing from about 5 to 65 anhydroglucose units linked by alpha-1,4-D-glucoside bonds.

Fully or completely debranched starch, as used herein, is intended to mean that which theoretically comprises 100%, by weight, of short chain

amylose and, in practice, that which is so highly debranched that further enzyme activity produces no measurable change in the percentage of short chain amylose.

Glycemic Index, as used herein, is intended to mean the incremental area under the blood glucose response curve of a 50g carbohydrate portion of a test food expressed as a percent of the response to the same amount of carbohydrate from a standard food taken by the same subject. Typically, carbohydrate is on an available basis and either white bread or glucose is used as the standard food. See Carbohydrates in human nutrition, FAO Food and Nutrition Paper 66, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome, 14-18 April 1997.

#### ~~DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION~~

This patent pertains to a slowly digestible starch product prepared by enzymatically debranching low amylose starches and allowing the resultant linear short chains to crystallize to a highly crystalline form. The slowly digestible starches provide sustained energy release with a low Glycemic Index.

Starch, as used herein, is intended to include all starches derived from any native source, any of which may be suitable for use herein. A native starch as used herein, is one as it is found in nature. Also suitable are starches derived from a plant obtained by standard breeding techniques including crossbreeding, translocation, inversion, transformation or any other method of gene or chromosome engineering to include variations thereof. In addition, starch derived from a plant grown from artificial mutations and variations of the above generic composition, which may be produced by known standard methods of mutation breeding, are also suitable herein.

Typical sources for the starches are cereals, tubers, roots, legumes and fruits. The native source can be a waxy variety of corn (maize), pea, potato, sweet potato, banana, barley, wheat, rice, oat, sago, amaranth, tapioca (cassava), arrowroot, canna, and sorghum particularly maize, potato, cassava, and rice. As used herein, the term "waxy" or "low amylose" is intended to include a starch containing no more than about 10% by weight amylose. Particularly suitable in the invention are those starches which contain no more than about 5% amylose by weight.

The starch is enzymatically debranched using techniques known in the art. Suitable enzymes are isoamylase and other endo-alpha-1,6-D-glucanohydrolases which are capable of achieving the desired amount of debranching.

The amount of enzyme used is dependent upon the enzyme source and activity and base material used. Typically, the enzyme is used in an amount of from about 0.05 to about 2.0%, particularly from about 0.2 to about 0.5%, by weight of the starch.

The optimum parameters for enzyme activity will vary depending upon the enzyme used. The rate of enzyme degradation depends upon factors known in the art, including the enzyme type and concentration, substrate concentration, pH, temperature, the presence or absence of inhibitors, and the degree and type of modification if any. These parameters may be adjusted to optimize the digestion rate of the starch base.

The starch is gelatinized using techniques known in the art before enzyme debranching. Techniques known in the art include those disclosed for example in U.S. Patent Nos. 4,465,702, 5,037,929, 5,131,953, and 5,149,799. Also see, Chapter XXII- "Production and Use of Pregelatinized Starch", Starch: Chemistry and Technology, Vol. III- Industrial Aspects, R.L. Whistler and E.F. Paschall, Editors, Academic Press, New York 1967. The gelatinization process unfolds the starch molecules from the granular

structure, thereby permitting the enzyme to more easily and uniformly degrade the starch molecules.

Generally the enzyme treatment is carried out in an aqueous or buffered slurry at a starch solids level of about 10 to about 40%, depending upon the base starch being treated. A solids level of from about 15 to 35% is particularly useful, from about 18 to 30% more particularly useful, in the instant invention. In the alternative, the process may utilize an enzyme immobilized on a solid support.

Typically, enzyme digestion is carried out at the highest solids content feasible without reducing reaction rates in order to facilitate any desired subsequent drying of the starch composition. Reaction rates may be reduced by high solids content as agitation becomes difficult or ineffective and the starch dispersion becomes more difficult to handle.

The pH and temperature of the slurry should be adjusted to provide effective enzyme hydrolysis. These parameters are dependent upon the enzyme to be used and are known in the art. In general, a temperature of about 25 to about 70°C is used, particularly from about 50 to about 60°C. In general, the pH is adjusted to about 3.0 to about 6.0, particularly from about 3.5 to about 4.5, using techniques known in the art.

The enzyme reaction is continued until a slowly digestible starch is achieved. In general, the enzyme reaction will take from about 1 to about 24 hours, particularly about 4 to about 12 hours. The time of the reaction is dependent upon the type of starch used, the type and amount of enzyme used, and the reaction parameters of solids percent, pH, and temperature.

The amount of hydrolysis may be monitored and defined by measuring the concentration of reducing groups which are freed by alpha-1,6-D-glucanohydrolase activity by methods well known in the art. Other techniques such as monitoring the change in viscosity, iodine reaction, or the change in molecular weight may be used to define the reaction end

point. When the starch is completely debranched, the monitored measurement will no longer change. The resultant starch must be at least about 90%, particularly at least about 95%, more particularly at least about 98%, most particularly at least about 99% debranched. The debranched starch will typically have less than about 0.2%, particularly less than about 0.1% alpha-1,6-D-glucosidic bonds (linkages).

Optionally, the enzyme may be deactivated (denatured) by any technique known in the art such as heat, acid or base deactivation. For example, acid deactivation may be accomplished by adjusting the pH to lower than 3.0 for at least 30 minutes or heat deactivation may be accomplished by raising the temperature to from about 80 to about 90°C and maintaining it at that temperature for at least about 20 minutes to fully deactivate the enzyme.

The starch may also be further modified, either before or after the enzymatic hydrolysis. Such modification may be physical, enzyme, or chemical modification. Physical modification includes by shearing or thermal-inhibition, for example by the process described in U.S. Patent No. 5,725,676.

Chemical modification includes without limitation, crosslinking, acetylation and organic esterification, hydroxyalkylation, phosphorylation and inorganic esterification, cationic, anionic, nonionic, and zwitterionic modifications, and succination. Such modifications are known in the art, for example in Modified Starches: Properties and Uses, Ed. Wurzburg, CRC Press, Inc., Florida (1986).

The starches may be converted, and is intended to include fluidity or thin-boiling starches prepared by oxidation, acid hydrolysis, enzyme hydrolysis, heat and or acid dextrinization. These processes are well known in the art.

Any base starch having suitable properties for use herein may be purified by any method known in the art to remove starch off flavors and

colors that are native to the polysaccharide or created during processing. Suitable purification processes for treating starches are disclosed in the family of patents represented by EP 554 818 (Kasica, et al.). Alkali washing techniques are also useful and described in the family of patents represented by U.S. 4,477,480 (Seidel) and 5,187,272 (Bertalan et al.). The debranched starch may also be purified using this method.

The resultant solution is typically adjusted to the desired pH according to its intended end use. In general, the pH is adjusted to from about 3.0 to about 6.0, particularly from about 3.5 to about 4.5, using techniques known in the art. Further, any short chain amylose which precipitated out of the starch dispersion may be redispersed. If purification of the debranched starch composition is desired, reaction impurities and by-products may be removed by dialysis, filtration, centrifugation or any other method known in the art for isolating and concentrating starch compositions. For example, the degraded starch may be washed using techniques known in the art to remove soluble low molecular weight fractions, such as oligosaccharides, resulting in more highly crystalline starch.

The debranched starch is allowed to crystallize by methods known in the art, for example by allowing the starch to stand and retrograde. The starch is then recovered using methods known in the art, particularly by filtration or by drying, including spray drying, freeze drying, flash drying or air drying, more particularly by filtration or flash drying. It is important to control the crystallization, typically by controlling retrogradation and drying, in order to obtain the high degree of crystallinity essential to the present invention. It is further important that the method of drying and other post-crystallization processes do not substantially destroy the crystals.

The resultant starch is in the form of highly crystalline short chain amylose from the debranched starch and is uniquely functional as a slowly digestible starch. The starch is characterized by a melting point temperature,  $T_p$ , as measured by DSC using the procedure described infra,

of at least about 70°C, particularly at least about 80°C; more particularly at least about 90°C, and an enthalpy,  $\Delta H$ , as measured by DSC using the procedure described infra, of at least about 25J/g, particularly at least about 30 J/g. Such DSC values are indicative of the highly crystalline nature of the product.

The debranched starch is further characterized by a dextrose equivalent (DE) of at least about 5.0, more particularly of at least 6.0. However, a lower dextrose equivalent (e.g. a DE of at least about 4.0) may be achieved by altering the processing conditions, particularly by removing the low molecular weight hydrolysis products. Dextrose equivalent, as used herein, is intended to mean the reducing power of the hydrolysate. Each starch molecule has one reducing end; therefore DE is inversely related to molecular weight. The DE of anhydrous D-glucose is defined as 100 and the DE of unhydrolyzed starch is virtually zero.

The resultant debranched starch is slowly digestible in that it has sustained digestion, particularly over at least a two hour time period, more particularly over at least a four hour time period, yet is significantly digested by about 6 hours after ingestion. In particular, less than about 60%, more particularly less than about 50%, most particularly less than about 30%, is digested in the first twenty minutes following consumption and at least about 20%, particularly at least about 30%, is digested between 20 minutes and two hours following consumption, as measured using the digestion procedure described infra. In addition, at least about 50%, particularly at least about 60%, is digested within two hours following consumption. Starch digestion typically continues beyond two hours.

Starch may be consumed in its raw state, but is typically consumed after processing under high or low moisture conditions. Therefore, the invention is intended to include those starches which have the advantage

of being slowly digested in the state in which it is consumed. Such state is modeled by the methods described in the examples, *infra*.

Further, the resultant slowly digestible starch does not produce a large rapid increase in blood glucose levels typical of high glycemic index starches, but instead provides a more moderate increase above the baseline which is sustained for a longer time period. It is also process tolerant in that the slowly digestible portion does not substantially decrease upon cooking and/or other typical food processing conditions.

The starch may be used in a variety of edible products including, but not limited to: cereal, bars, pizza, pasta, dressings, including pourable dressings and spoonable dressings; pie fillings, including fruit and cream fillings; sauces, including white sauces and dairy-based sauces such as cheese sauces; gravies; lite syrups; puddings; custards; yogurts; sour creams; beverages, including dairy-based beverages; glazes; baked goods, including crackers, breads, muffins, bagels, biscuits, cookies, pie crusts, and cakes; condiments, confectioneries and gums, and soups.

Edible products also is intended to include nutritional foods and beverages, including dietary supplements, diabetic products, products for sustained energy release such as sports drinks, nutritional bars and energy bars.

The present starch may be added in any amount desired or necessary to obtain the functionality of the composition. In general, the starch may be added in an amount of from about 0.01% to about 100%, particularly from about 1 to about 50%, by weight of the composition. The starch may be added to the food or beverage in the same manner as any other starch, typically by mixing directly into the product or adding it in the form of a sol.

#### (Embodiments)

The following embodiments are presented to further exemplify the present invention and should not be taken as limiting in any regard.

*Embodiment 1* A starch composition prepared from low amylose starch comprising crystalline linear  $\alpha$ -glucans characterized by:

- a) at least about 20% slowly digestible starch;
  - b) less than about 60% rapidly digestible starch;
  - c) a melting point temperature,  $T_p$  as measured by DSC, of at least about 70°C; and
  - d) an enthalpy,  $\Delta H$  as measured by DSC, of at least about 25J/g,
- wherein the composition is at least about 90% debranched.

*Embodiment 2.* The starch composition of embodiment 1, wherein at least about 50% is digested within two hours of digestion.

*Embodiment 3.* The starch composition of embodiment 1, wherein at least about 60% is digested within two hours of digestion.

*Embodiment 4.* The starch composition of embodiment 1, whereby the starch composition is prepared from a low amylose starch selected from the group consisting of maize, potato, cassava, and rice.

*Embodiment 5.* The starch composition of embodiment 1, wherein the melting point temperature is at least about 80°C.

*Embodiment 6.* The starch composition of embodiment 1, wherein the melting point temperature is at least about 90°C.

*Embodiment 7.* The starch composition of embodiment 1, wherein the enthalpy is at least about 30 J/g.

*Embodiment 8.* The starch composition of embodiment 1, characterized by at least about 30% slowly digestible starch.

*Embodiment 9.* The starch composition of embodiment 1 consisting essentially of crystalline linear  $\alpha$ -glucans.

*Embodiment 10.* The starch composition of embodiment 1, wherein the composition has a dextrose equivalent of at least about 4.0.

*Embodiment 11.* The starch composition of embodiment 1, wherein the composition has a dextrose equivalent of at least about 5.0.

*Embodiment 12.* The starch composition of embodiment 1, wherein the starch is debranched at least about 95%.

*Embodiment 13.* The starch composition of embodiment 1, wherein the starch is debranched at least about 98%.

*Embodiment 14.* A process of making the starch composition of embodiment 1 comprising:

- a) debranching a low amylose starch, wherein the starch is debranched at least about 90%;
- b) allowing the debranched starch to crystallize; and
- c) drying the highly crystallized debranched starch.

*Embodiment 15.* The process of embodiment 14, wherein the starch composition is debranched using isoamylase.

*Embodiment 16.* The process of embodiment 14 wherein the starch composition is completely debranched.

*Embodiment 17.* The process of embodiment 14, wherein the starch is debranched at least about 95%.

*Embodiment 18.* The process of embodiment 14, wherein the starch is debranched at least about 98%.

*Embodiment 19.* An edible product comprising the starch composition of embodiment 1.

*Embodiment 20.* The product of embodiment 19, wherein the product is a nutritional food.

*Embodiment 21.* The starch composition of any one of embodiments 1-3, whereby the starch composition is prepared from a low amylose starch selected from the group consisting of maize, potato, cassava, and rice.

*Embodiment 22.* The starch composition of any one of embodiments 1-4 or 21, wherein the melting point temperature is at least about 80°C.

*Embodiment 23.* The starch composition of embodiment 22, wherein the melting point temperature is at least about 90°C.

*Embodiment 24.* The starch composition of any one of claims 1-6 or 21-23, wherein the enthalpy is at least about 30 J/g.

*Embodiment 25.* The starch composition of any one of embodiments 1-7 or 21-24, characterized by at least about 30% slowly digestible starch.

*Embodiment 26.* The starch composition of any one of embodiments 1-8 or 21-25 consisting essentially of crystalline linear  $\alpha$ -glucans.

*Embodiment 27.* The starch composition of any one of embodiments 1-9 or 21-26, wherein the composition has a dextrose equivalent of at least about 4.0.

*Embodiment 28.* The starch composition of embodiment 27, wherein the composition has a dextrose equivalent of at least about 5.0.

*Embodiment 29.* The starch composition of any one of embodiments 1-11 or 21-28, wherein the starch is debranched at least about 95%.

*Embodiment 30.* The starch composition of embodiment 29, wherein the starch is debranched at least about 98%.

*Embodiment 31.* A process of making the starch composition of any one of embodiments 1-13 or 21-30 comprising:

- a) debranching a low amylose starch, wherein the starch is debranched at least about 90%;
- b) allowing the debranched starch to crystallize; and
- c) drying the highly crystallized debranched starch.

*Embodiment 32.* The process of embodiment 31, wherein the starch composition is debranched using isoamylase.

*Embodiment 33.* The process of any one of embodiments 14, 15, 31 or 32 wherein the starch composition is completely debranched.

*Embodiment 34.* The process of any one of embodiments 14, 15, 31 or 32, wherein the starch is debranched at least about 95%.

*Embodiment 35.* The process of any one of embodiments 14, 15, 31 or 32, wherein the starch is debranched at least about 98%.

*Embodiment 36.* An edible product comprising the starch composition of any one of embodiments 1-13 or 21-30.

*Embodiment 37.* The product of embodiment 19 or 36, wherein the product is a nutritional food.

[Examples]

The following examples are presented to further illustrate and explain the present invention and should not be taken as limiting in any regard. All percents used are on a weight/weight basis.

The following test procedures are used throughout the examples:

Differential scanning calorimetry – Differential scanning calorimetry measurements were performed in a Perkin-Elmer DSC-7 (Norwalk, CT, USA). The instrument was calibrated with indium. Samples of approximately 10mg starch at a starch:water ratio of 1:3 are prepared and heated at 10°C/min from 5°C to 160°C. An empty stainless steel pan is used as a reference.

Chain Length and Linearity - The debranched starch samples were analyzed using NMR to determine the average chain length and alpha-1,4 to alpha-1,6 linkage ratios. The NMR samples were prepared by suspending 5-6 mg of the starch in 2.5 mL of D<sub>2</sub>O/TSP (sodium trimethylsilyl propionate) and pressure cooking the suspensions for approximately 1 hour. The resulting clear solutions were transferred to 5mm NMR tubes and kept hot on a steam bath until the NMR spectra were acquired. This procedure for the handling of the samples insured that the crystalline starch material remained in solution. The proton NMR spectra were acquired at 90°C on a Bruker DPX-400 spectrometer at 400 MHz.

The chemical shift assignments (relative to TSP at 90°C) for the resonance of interest were as follows. The alpha-1,4 mid-chain linkages had a chemical shift of 5.38 ppm, the alpha-1,6 mid-chain (branch points) at 4.96 ppm, the alpha-form of the reducing end groups at 5.23 ppm, and the beta-form of the reducing end groups at 4.65 ppm.

The average chain length for the starch samples was calculated from the ratio of the reducing end groups to the mid-chain resonance. The

percentage of alpha-1,6 linkages (branch points) were calculated from the amount of alpha-1,6 linkages versus alpha-1,4 linkages.

Dextrose Equivalent (DE) - For in-process DE measurement, the Fehling

Volumetric Titration Method was used. A 500 ml Erlenmeyer flask was rinsed with deionized (D.I.) water. 50 ml of D.I. water was then added. The addition of 5 ml each of Fehling Solutions A and B, and 2 drops of methylene blue with two boiling chips followed. After determination of the reaction solids using a refractometer, a starch solution containing 2-4 percent starch solids was prepared using D.I. water by diluting the reaction solution in a beaker. Before proceeding to the next step, the solids were checked by a refractometer to make sure the solution was prepared correctly. The beaker with starch solution was weighed and the weight recorded. 15 grams of the starch solution was added into the Erlenmeyer flask with prepared Fehlings solution. After they were boiled under agitation for 2 minutes on a hot plate, a bluish tint normally appeared. Starch solution from the beaker was added using a pipette gradually until the bluish tint disappeared and a distinctive reddish cuprous oxide formed. The starch solution was continuously stirred with a plastic pipette to keep the solution uniform. When the reddish endpoint was reached, the beaker containing the starch solution was weighed again to determine the weight of starch consumed. The calculation of D.E. can be seen from the following equation:

$$D.E. = \frac{[Fehling\ factor \times 100]}{[(\text{grams required from starch solution}) \times (\text{conc. of starch solution})]}$$

Simulated Digestion - (Englyst et al, European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46, S33-S50) - Food samples are ground/minced as if masticated. Powder starch samples are screened to a particle size of 250 microns or

less. A 500-600 mg  $\pm$  0.1 mg of sample is weighed and added to the sample tube. 10 ml of a pepsin (0.5%), guar gum (0.5%), and HCl (0.05 M) solution is added to each tube.

Blank and glucose standard tubes are prepared. The blank is 20 ml of a buffer containing 0.25 M sodium acetate and 0.02% calcium chloride. Glucose standards are prepared by mixing 10 ml sodium acetate buffer (described above) and 10ml of 50 mg/ml glucose solution. Standards are prepared in duplicate.

The enzyme mix is prepared by adding 18 g of porcine pancreatin (Sigma P-7545) to 120 ml of deionized water, mixing well, then centrifuging at 3000g for 10 minutes. The supernatant is collected and 48mg of dry invertase (Sigma I-4504) and 0.5 ml AMG 400 (Novo Nordisk) are added.

The sample tubes are pre-incubated at 37°C for 30 min, then removed from the bath and 10 ml of sodium acetate buffer is added along with glass balls/marbles (to aid in physical breakdown of the sample during shaking).

5 ml of the enzyme mixture is added to the samples, blank, and standards. The tubes are shaken horizontally in a 37°C waterbath at approximately 180 strokes/min. Time "zero" represents the first addition of the enzyme mixture to the first tube.

After 20 and 120 minutes, 0.5-ml aliquots are removed from the incubating samples and placed into a separate tube of 20ml 66% ethanol (to stop the reaction). After 1 hour, an aliquot is centrifuged at 3000g for 10 minutes.

The glucose concentration in each tube is measured using the glucose oxidase/peroxidase method (*Megazyme Glucose Assay Procedure GLC9/96*). This is a colorimetric procedure. HPLC may also be used to detect glucose as disclosed in previous literature using this experiment.

The degree of starch digestion is determined by calculating the glucose concentration against the glucose standards, using a conversion

factor of 0.9. Results are given as "% starch digested" (dry weight basis) after 20 and 120 minutes. SDS (slowly digestible starch) is the 120-minute value minus the 20-minute value.

Every sample analysis batch includes a reference sample of uncooked cornstarch. The accepted range of % digestion values for cornstarch are:

Sample	s20	s120	SDS
Cornstarch <sup>1</sup>	17.5 ± 2.5	80 ± 5	approx. 62.5

<sup>1</sup>Melogel<sup>®</sup> starch, commercially available from National Starch and Chemical Company, Bridgewater, NJ, USA.

Cooked models - Two general models are used to mimic commercial food processes: high moisture; and low moisture. The high moisture food model uses starch in water at 20% solids, cooked in a steam bath at 90°C for 5 minutes. This cook is then frozen in a dry ice/acetone bath, freeze-dried, ground, and tested for digestion. The low moisture food model uses starch in water at 50% solids, and bakes the paste in an oven at 190°C for approximately 20 minutes. The sample was then ground and screened to a particle size of 250 microns or less.

Example 1 – Preparation of the Crystalline Starch Using Isoamylase for Uncooked Digestion Study

A. 4 kg of waxy maize starch was slurried in 10.8 liter of water and the pH was adjusted to 4.0 using 3:1 water:hydrochloric acid. The starch was jet-cooked with full steam at 310-315°F (154.4-157.2°C) and a back-pressure of 80 psi ( $5.52 \times 10^5$  Pa) to completely cook out the starch. 0.2% isoamylase (commercially available from Hayashibara Inc., Japan) based

on the weight of the starch, was added after the cooked starch was cooled to 55°C. The debranching reaction was stopped when the sample D.E. (Dextrose Equivalent) reached 6.0. At this point, the pH was adjusted to 2.0 for 30 minutes at 55°C to denature the enzyme. The starch solution was then cooled to room temperature after the pH was re-adjusted to 6.0, and allowed to crystallize overnight (16 hours) at room temperature. The crystallized product was recovered by spray drying with an inlet temperature of 210°C and an outlet temperature of 116°C.

B. 500 lbs of acid converted waxy maize starch was slurried in 1500 lbs of water and the pH was adjusted to 4.0 using 3:1 water:hydrochloric acid. The starch was steam-batch-cooked. 0.2% isoamylase enzyme was added under constant agitation after the cooked starch temperature was maintained at 55°C.

After the reaction proceeded for 8 hours, the enzyme was denatured by lowering pH to 2.0 at 55°C for 30 minutes. The starch solution was then cooled to room temperature after pH was re-adjusted to 6.0, and allowed to crystallize at room temperature until the filtrate soluble leveled off. The crystallized product was de-watered and flash-dried. The resultant debranched starch has a dextrose equivalent of 7.0.

C. The method of Example 1A was repeated with the exception that the base starch was an acid converted waxy maize and the reaction proceeded overnight (16 hours). After the crystallization, the product was spray-dried with an inlet temperature of 210°C and an outlet temperature of 116°C.

D. The method of Example 1A was repeated with the exception that the debranching reaction was stopped when the sample D.E. reached 5.3. At this point, the pH was adjusted to 2.0 for 30 minutes at 55°C to denature the enzyme. The starch solution was then cooled to room temperature after pH was re-adjusted to 6.0, and allowed to crystallize overnight at room temperature. The crystallized product was filtered and air-dried.

DSC and digestion results as well as the calculated SDS contents for the samples in Example 1 are shown in Table 1.

**Table 1. DSC and digestion results**

Sample	20min	120min	SDS	DSC			
				To(°C)	Tp(°C)	Tc(°C)	ΔH(J/g)
1A	49.6	73.2	23.6	44.6	80.6	95.7	28.3
1B	22.7	48.6	25.9	47.2	96.2	127.7	32.0
1C	42.4	65.0	22.6	47.3	76.1	93.4	25.9
1D	25.0	50.3	25.3	53.8	77.0	89.9	28.3

The samples all contained more than 20% SDS.

Example 2 – Preparation of Isoamylase Debranched and Crystallized Samples for Cooked Digestion Study

A. 4 kg of waxy maize starch was stirred in 12 liters of water. The sample was jet-cooked and cooled to 55°C and pH was adjusted to 4.0 by adding 3:1 water:HCl. At this point, 0.2% isoamylase based on starch weight was added to start the debranching reaction. After 5 hours of reaction, the sample pH was raised to 6.0 using 3% NaOH and heated to 85°C for 20 minutes to kill the enzyme. The sample was then cooled to room temperature and crystallized overnight at that temperature. The sample was recovered by filtration and air-dried. The resultant debranched starch had a dextrose equivalent of 6.7.

B. The method of Example 2A was repeated with the exception that the sample was cooled to 40°C and crystallized at 40°C overnight.

Digestion studies of sample 2A and 2B in Example 2 and sample 1C and 1D in Example 1 were conducted following subjection of the starches to either high moisture (HM) or low moisture (LM) cook models. Table 2

summarizes digestion results as well as the calculated SDS contents for these samples. DSC results for raw samples are also included.

**Table 2. Digestion results for cooked samples and raw material DSC**

Sample	Cook	20m	120m	SDS	DSC			
					To(°C)	Tp(°C)	Tc(°C)	ΔH(J/g)
2A	HM	31.0	65.0	34.0	55.8	87.1	99.7	33.2
2B	HM	36.0	65.0	29.0	82.9	112.1	129.4	35.0
1C	LM	39.8	69.2	29.4	47.3	76.1	93.4	25.9
1D	LM	31.1	66.7	35.6	53.8	77.0	89.9	28.3

All samples in this example demonstrated higher than 20% SDS content.

**Example 3 – Food Product Containing Debranched Starch**

Crackers were made using the following formulations and methods.

Ingredient	Sample 3A Amount (%w/w)	Sample 3B Amount (%w/w)	Sample 3C Amount (%w/w)
Cake flour	45.3	14.4	14.4
Starch Example 1D	0.0	0.0	39.0
Waxy maize starch	0.0	39.0	0.0
Sugar	12.0	3.9	3.9
Baking soda	0.71	0.71	0.71
Calcium phosphate	0.71	0.71	0.71
Salt	0.44	0.44	0.44
Malted barley flour	0.57	0.57	0.57
Shortening	6.56	6.56	6.56
High fructose corn syrup	1.7	1.7	1.7
Ammonium bicarbonate	1.11	1.11	1.11
Water	30.6	30.6	30.6

The dry ingredients were mixed together for one minute. The shortening, corn syrup and water were then added and the mixture was kneaded into a dough. The dough was rolled and cut into crackers of approximately 2 inch (50.8mm) squares of 0.25 (6.35mm) inches thick. The crackers were baked for 15 minutes at 400°F (204.4°C).

The crackers were ground as if masticated and tested for digestibility. The results are shown in Table 3.

Table 3.

<u>Sample</u>	<u>20 min</u>	<u>120 min</u>	<u>SDS</u>
3A	77.0	91.3	14.3
3B	72.5	89.0	16.5
3C	49.6	75.5	25.9

As can be seen from Table 3, the cracker baked with the slowly digestible starch retained such slow digestibility.

### 3. Claims

1. A starch composition prepared from low amylose starch comprising crystalline linear  $\alpha$ -glucans characterized by:
  - a) at least about 20% slowly digestible starch;
  - b) less than about 60% rapidly digestible starch;
  - c) a melting point temperature,  $T_p$  as measured by DSC, of at least about 70°C; and
  - d) an enthalpy,  $\Delta H$  as measured by DSC, of at least about 25J/g,  
wherein the composition is at least about 90% debranched.
2. The starch composition of claim 1, wherein at least about 50% is digested within two hours of digestion.
3. The starch composition of any one of claim 1 or 2 consisting essentially of crystalline linear  $\alpha$ -glucans.
4. A process of making the starch composition of any one of claims 1- 3 comprising:
  - a) debranching a low amylose starch, wherein the starch is debranched at least about 90%;
  - b) allowing the debranched starch to crystallize; and
  - c) drying the highly crystallized debranched starch.
5. The process of claim 4, wherein the starch composition is debranched using isoamylase.

6. The process of claim 4 or 5, wherein the starch is debranched at least about 95%.

7. An edible product comprising the starch composition of any one of claims 1-3.

1. Abstract

This patent pertains to a slowly digestible starch prepared by debranching low amylose starches, particularly by isoamylase. Such slowly digestible starches are useful in edible products, including nutritional supplements.

2. Representative Drawing

None