

でんぷんの糊化進行におよぼす静電的相互作用の寄与

佐藤 之紀

県立広島大学生命環境学部

概要 海洋深層水を食品に添加して、付加価値を向上させる試みが多くなされているものの、共存する他成分やそれらの成分の変動などで再現性ある結果が得られていない。また、本当に海洋深層水を添加して食品の性質が変化するかという素朴な疑問にも正確に回答できない状態にある。そこで、海洋深層水の食品への添加効果を単純モデル化して、 SiO_2 ナノ粒子の食品への添加がでんぷんの糊化進行に影響するのか否かを探った。

海洋深層水成分のうち多量成分であるシリカ含量に注目し、直径7 nmのシリカナノ粒子を小麦粉焼成品モデル調製の過程で、mixture 内へ添加した。その後、mixture を焼成し、申請者らが提案しているでんぷんの簡易な糊化進行度測定法を改良した方法にしたがってシリカナノ粒子の添加効果を追跡した。本助成金による研究では、まずこれまでの糊化進行度測定法をより簡易に行うための検討を加え、膨潤度測定の際の上清可溶性成分の定量値を無視して計算しても最終的な膨潤度には影響しないこと、糊化進行度追跡法としての η 測定のサンプルの少量化を行っても従来の結果と関連のある値を得ることができることを明らかにした。

一方、シリカナノ粒子を mixture に添加後調製したモデル小麦粉焼成品は、静電的相互作用としての電気伝導度測定から、蒸留水を用いた場合に比べて、120 mg/ml 相当量の SiO_2 添加群では5倍、1,200 mg/ml 相当量の SiO_2 添加群では10倍の静電的相互作用存在下にあると判定されたものの、焼成されたモデル小麦粉焼成品の糊化進行度は η の測定項目以外では差がなかった。 η の測定では120 mg/ml 相当量の SiO_2 添加群に有意に高い η であることが示されたが、添加濃度相当量を10倍上げて1,200 mg/ml 相当量の SiO_2 を添加すると逆に η の平均値に有意差はなくなった。有意差が出た120 mg/ml 相当量 SiO_2 添加群においても、水に浸漬直後に高い η を示す場合と浸漬につれて η が上昇する場合など SiO_2 添加による粒子の性質の多様性が示唆されたものの、添加されたナノ粒子の静電的相互作用が、何らかの形ででんぷん粒子間の相互作用へ影響を示唆するが、そこに共存する高分子や他種の低分子の状態変化の寄与もあり、でんぷんの糊化へ直接的に影響するとの結論には至らなかった。

1. 研究目的

海洋深層水の起源は、表層水である。しかし、太陽光が届かない深層に位置している海水のため、表層に位置していた時の有機物の分解物が存在するが、生物の活動は深層ではほとんどおこなわれていない。したがって、海洋深層水の特徴は、主に富栄養性と清浄性にあると考えられている。海洋の海洋深層水を水産練り製品や清酒製造に用いて海洋深層水の添加効果がすでに調べられており、それらの結果からほぼナトリウムイオンの効果として結論付けて構わないと思われるデータが存在しているが、

ごく一般に存在する海水の成分以外に海洋深層水の添加効果を求める傾向にあり、その結果により海洋深層水の食品への添加効果の機構解明は一層複雑になっている。海洋深層水を添加する側の食品素材にも、潜在的に多様な成分が含まれており、食塩以外の食品はすべて生物由来であることから季節変動による食品素材の多様性も加わり、一定した結論が得られていないのが現状である。結果として、海洋深層水塩の持つミネラルバランスによる効果などと結論付けられている場合もあるが、その意味を理解するのが困難である。

しかし、最近、でんぷんのガラス状態を反映する β 緩和が、シリカのナノ粒子により影響される (Gun'ko *et al.* 2008) ことが報告された。それを契機として、マイクロなレベルでのシリカーでんぷん相互作用を水の動態を指標として追跡可能であることが示されたが、マクロなレベルでシリカがでんぷんの糊化に影響を与えているかを検討することが、海洋深層水の食品への利用を視野に入れつつ、学術的根拠に基づいた海洋深層水成分と食品間の相互作用の機構解明の糸口になると判断された。一方で、申請者らの研究グループは簡易的な小麦粉焼成品のでんぷん糊化の進行度測定法 (Sato *et al.* 2010) をごく最近公表したことが相まって、ミネラルと糊化の関係を明らかにする研究の準備は整っていることも、本申請に至った経緯の中にある。未だ不透明な点が多い海洋深層水の食品への添加効果を、シリカの効果として学術的に明確にできるか否かを明らかにするため、実験を行った。

2. 研究方法

2.1 モデル菓子の調製

市販の小麦粉(薄力粉)100 g(日本製粉)、バター40 g(食塩不使用、雪印乳業)、砂糖30 g(日本精糖)、水40 gをこねてミクスチャーを調製し、焼成温度 180°Cで焼成時間を20分間としてモデル食品を調製した。焼成したモデル食品を乳鉢ですりつぶし、クロロホルム:メタノール=2:1(V:V)で脱脂処理を4時間行い、脱脂後の粉末を乳鉢で破砕して、ふるい(500 μm)を通過した粉末をモデル菓子脱脂粉末とした。

実験群には、水40 gの代わりに120 mg/100 g相当量になるように懸濁させた SiO_2 (Sigma)懸濁水40 gを用いた。 SiO_2 ナノ粒子の大きさは、直径7 nmのものを用いた。

2.2 糊化進行度の測定

2.2.1 膨潤度

モデル菓子脱脂粉末2.0 gに蒸留水40.0 mlを加え、保持温度40°Cの水中で120分間保持し、遠心分離機で350 x g 20分間遠心分離を行い、上清と沈殿物を分離した。分離した上清と沈殿物をそれぞれ精秤し、上清中に可溶化した成分を除去した下式により膨潤度を算出した (Sato *et al.*, 2010)。

膨潤度(-) = 沈殿物の質量(g) / [モデル菓子脱脂粉末質量(g) - 上清中の可溶成分(g)]

上清中の可溶成分:ソモギー・ネルソン法により、還元糖と銅試薬の反応で生じた酸化銅を硫酸酸性下でモリブデン酸塩と反応させ、モリブデンプルーを660 nmの吸光度を測定した。検量線には、D-グルコース水溶液を用いた。

2.2.2 アミロース溶出率

100~1,000倍希釈した上清5.0 mlに I_2 溶液(0.2% I, 2.0% KI)1.0 mlを加え、分光光度計(日立ハイテック, U-2001)で660 nmの吸光度を測定した (Sato *et al.*, 2010)。アミロース溶出率は、式(1)により算出した。

$$\text{アミロース溶出率(\%)} = \frac{[660 \text{ nm 吸光度} \times \text{希釈倍率}] \times 100}{[(95^\circ\text{Cで} 30 \text{ 分加熱した完全糊化試料)の} 660 \text{ nm 吸光度} \times \text{希釈倍率}]}$$
 (1)

2.2.3 粘度(η)

2.2 gのモデル菓子脱脂粉末を50 mL遠沈管に取り、40°Cの蒸留水20 gを添加後、試験管ミキサーで1分間ミックスした。その後、二重円筒状回転粘度計(本助成金により購入)により、40°Cでずり速度4.89 s^{-1} でローターを連続的に回転させながら2時間インキューベートした後に測定した。

2.3 統計処理

One-way ANOVAによるTukeyのHSD(honestly significant difference)法による検定により、有意差基準 $p=0.05$ で検定した。

3. 研究結果と考察

でんぷんのほとんどは、水に不溶である (Aparicio *et al.*, 2009)が、水を吸って膨潤する (Aguerre *et al.*, 1989)。その後、低分子のアミロースが周りの水へ放出されるようになり、でんぷんは水和する。それらの糊化の進行度判定に、でんぷんの膨潤度、アミロース溶出率、 η をそれぞれ用いている (Sato *et al.*, 2010)。本研究助成による研究では、でんぷんの膨潤度を調べる際の算出式の簡略化を行うとともに、糊化進行度の判定方法としての η 測定に関しても試料の少量化をはかることからアプローチし、最終的には、 SiO_2 ナノ粒子を添加して調製された小麦粉焼成品の糊化進行度を追跡した。

3.1 小麦粉焼成品の糊化進行度の追跡方法の検討

3. 1. 1 膨潤度測定時の上清中の可溶性成分量

でんぷんが低分子化し、グルコースまでに至ると上清中の可溶性成分として検出される。また、小麦粉内にすでにグルコースが含まれる可能性もある。しかし、モデル菓子脱脂粉末 2 g 中には、わずかに 14-20 mg しか上清中の可溶性成分は存在していなかったことから、1% 以下にしか相当しないことが示された。この量は、焼成時間を変化させてもほとんど同じレベル (10-20 mg/2 g-defatted powder) であり、試薬の小麦でんぷん (Wako) を用いた場合には 1 mg 以下のレベルであったことから、膨潤度の算出式を以下の式に近似できることが示された。

$$\text{膨潤度 (-)} = \frac{\text{沈殿物の質量 (g)}}{\text{モデル菓子脱脂粉末質量 (g)}} \quad (2)$$

3. 1. 2 η 測定での試料の少量化

回転粘度計で算出した η が糊化度の進行度の指標の一つとして示されている (Sato *et al.*, 2010)。本研究助成金によって、従来の糊化進行度測定のための η 測定法には脱脂試料 20 g を必要としていた (肥後と和田, 2008; Sato *et al.*, 2010) が、ここではその必要量を減じる試みを行った。ここで考案する装置の概要と従来法 (Sato *et al.*, 2010) での装置の比較などを、Table 1 に示す。今回の試料少量化を試みた方法では測定に必要な試料の量が従来の方法の約 1/10 となり、測定の前処理も簡便になった。しかし、双方の測定装置ともに、試料は液体 (40°C の水) と固体 (脱脂した小麦粉焼成品粉末) の混合物であるから、液体

としての η の理論解析はできないものの、ブルックフィールドの RVDV-I の二重円筒法による回転粘度計を用いたことにより、ずり速度の理論値を算出することができるようになり、ずり速度は経験値でしか求められない円盤形のスピンドルを用いた従来法よりは理論的な解析方法に少し近づくと考えられた。一方、最も物理理論の解析に適しているコーンプレート型粘度計は、ここで用いる固-液混合系へ適用することはできないため、ここで提示した少量化の方法が、最も固-液混合系では理論解析しやすい系であると考えられる。

Figure 1 で、文献で示されている市販の菓子を用いて、試料の少量化を試みた測定装置で求めた η を文献値 (Sato *et al.*, 2010) と比較した。脱脂クッキーや脱脂クラッカーをそれぞれ 500 μm 以下の直径にまですりつぶし、それぞれ水を加えて、その系の η 変化を 40°C で追跡した。脱脂クラッカーの粉末に 40°C の水を加えると、脱脂クラッカーはすぐに膨潤し、 η が上昇した。図には示さないが、脱脂クラッカーに水を加えて 3 分間後には、 η は 30 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ であり、クッキーに水を加えた系とほとんど同じレベルの η を示していたが、水に浸漬後 10 分間以内に 200 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ にまで上昇した。

文献 (Sato *et al.*, 2010) に示す η 測定法では、脱脂クラッカーを 40°C の水に浸漬させてから 2 時間後の η を測定値としている。これは、糊化にはほとんど影響を与えずに膨潤させるのに適した温度であり、インキュベーション時間の 2 時間の設定もほぼ η に大きな変化がみられにくくなる時間を設定している。今回試みた少量サンプルでの改

Table 1. New development of viscosity measurement for monitoring gelatinization process of starch products

	New development	Reference (Sato <i>et al.</i> , 2010)
Viscometer	Rotational viscometer RVDV-I (Brookfield, Boston, USA)	Rotational viscometer TV-20H (Toki Sangyo, Tokyo, Japan)
Shape of spindle	Cylinder type	Disc type
Shear rate (s^{-1})	4.89	5.3
Sample weight (g)	2.2	20
Pretreatment	Simple process using only a test tube mixer	Several process
η of Cookie-a in water ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)	58.7 \pm 9.4	30
η of Cracker-b in water ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)	218.1 \pm 16.0	450

良法で算出された η を文献で示された値と比較したところ、双方の η はオーダーレベルで一致していた。このことから、本研究助成金による糊化進行度測定のための η 測定の方法は、簡易的であり理論解析上も従来の方法に比べて正の効果があると思われた。

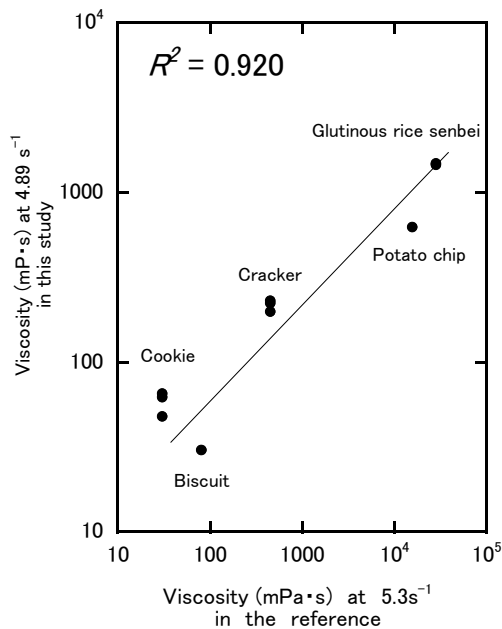


Figure 1. Comparison of viscosity measured by a new -improved method with that in the reference

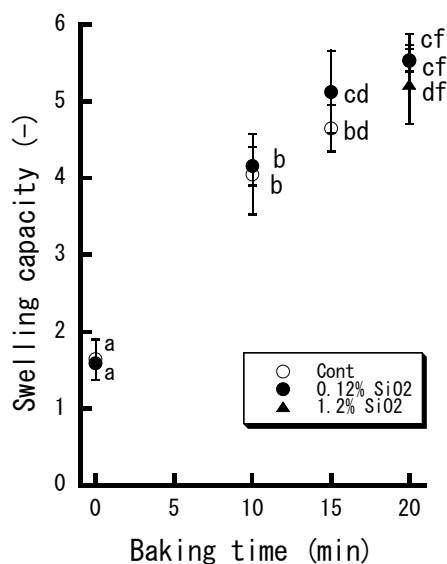


Figure 2. Effect of SiO₂ nanoparticles in mixture on swelling capacity of the defatted baked starch products in water as a function of baking time

3. 2 SiO₂ パーテクルを添加して調製された小麦粉焼成品の糊化進行度

3. 2. 1 膨潤度

でんぷん粒子の膨潤度を **Figure 2** に示す。焼成時間が長くなると、膨潤度は上昇し、180°Cでの焼成 20 分間で最大を示した。可食可能な小麦粉焼成品となる焼成時間は 10-20 分間であり、この時間未満であった場合には生の状態であり、逆に焼成時間が長すぎると焦げてしまって可食性を失っていた。

そこに、SiO₂ が添加された水を用いた mixture を焼成したところ、膨潤度には影響が現れなかった。SiO₂ を添加した濃度相当量を 10 倍に上げて、120 mg/100 ml 相当量から、1,200 mg/100 ml 相当量に変化させても膨潤度には差がみられなかった。

3. 2. 2 アミロース溶出率

でんぷん粒子からのアミロース溶出率を **Figure 3** に示す。でんぷん中のヨード結合率は、でんぷん 100 g あたりアミロースでは 19-20 g であり、アミロペクチンではほぼ 0 である(竹田と檜作, 1974)。この知見に基づいて、ヨード呈色を行って糊化進行度を比較している。統計処理の結果から、特に焼成時間 10 分後にアミロース溶出率が上昇しているわけではないことが示された。それを考慮に入ると、アミロース溶出率は少なくとも焼成時間 10 分間で最

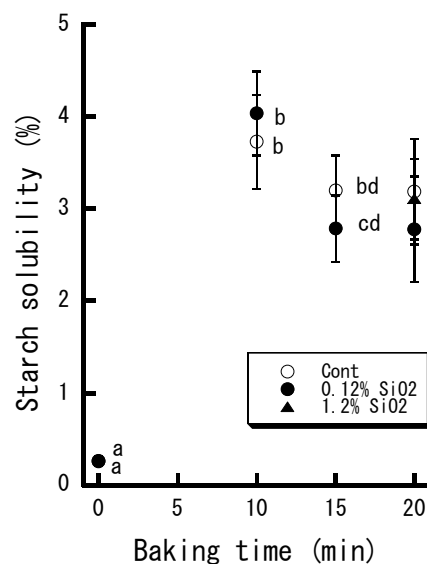


Figure 3. Effect of SiO₂ nanoparticles in mixture on starch solubility of the defatted baked starch products in water

大に達しており、その後 20 分間まで焼成を延長させてもアミロース溶出率はそれ以上上昇しないことが示唆された。膨潤度の場合にはわずかではあるが焼成時間が延長されると上昇している傾向が示されたことから、でんぷん膨潤度とアミロース溶出率との間にはわずかな傾向の違いがみられることになる。しかし、いずれにしても焼成時間 20 分間近くでは、焼成時間ともなう双方のパラメータの変化は着実に少なくなっていた。

3. 2. 3 η

Figure 4 に、120 mg/100 mL 相当量の SiO_2 を添加して調製した小麦粉焼成品の脱脂粉末を 40°C の水に加えて、その系の保存時間ごとの η 変化を比較した。系内には、脱脂小麦粉焼成品を構成している固形物が多く、固液混合液の状態となっている。したがって、測定された η も数百 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ のバラツキがみられたものの、 SiO_2 を添加して調製

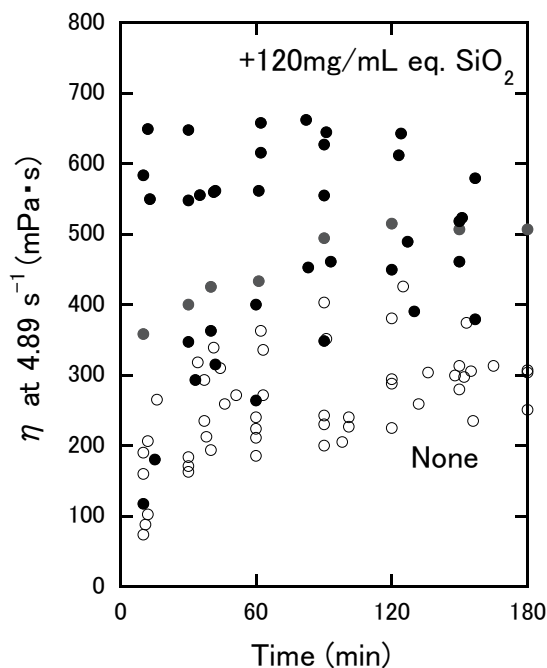


Figure 4. Effects of SiO_2 nanoparticles added into mixture on their viscosity of baked product in water

した場合には、無添加群と比べて高い η を示す傾向にあった。また、120 mg/100 mL 相当量 SiO_2 添加群は、水添加直後には η の分布に大きな幅があり、調製されたでんぷん粒子の性質に多様性がみられた。すなわち、水添加直後に高い η (500-700 $\text{mPa}\cdot\text{s}$) を示すが、浸漬時間が長くなっても η はほとんど変化しない粒子と、水へ浸漬させた直後は無添加群とほとんど同程度 (<400 $\text{mPa}\cdot\text{s}$) であるが浸漬時間が長くなるにつれ η が高くなる粒子が混在していた。いずれの粒子も文献 (Sato *et al.*, 2010) に示された浸漬 2 時間後には η のバラツキは小さくなった。

そこで、40°C の水へ浸漬 2 時間後の η を粘度として、 SiO_2 を mixture へ添加した効果を整理すると、Table 2 の結果が得られた。すなわち、 SiO_2 添加濃度依存性はみられず、120 mg/ml 相当量の SiO_2 の場合には高い η が認められたが、さらに SiO_2 添加量を 10 倍増やして mixture を形成させてそれを焼成して調製したモデル小麦粉焼成品の脱脂粉末を試料として用いた場合には、逆に η は下がってしまい、無添加群とほぼ同じレベルの η になった。

このことは、 SiO_2 ナノ粒子を mixture へ添加した場合、糊化度への効果として、糊化を進行させる可能性が出てきたと考えられるが、極めてわずかな効果であり、 η を比較する場合、対数で比較するのでそれらの差はもっと低くなる。しかし、120 mg/ml 相当量の SiO_2 ナノ粒子を添加した場合に高い η が認められたことは、ナノ粒子を添加した効果として有用な結果を示していると考えられる。一方で、膨潤度やアミロース溶出率に変化がなかったことから、糊化に関わる変化というよりもでんぷん粒子間の静電的な相互作用による物理的な状態変化にわずかな変化がみられたと結論づける方が適切であると考えられる。

4. 今後の課題

本研究により、でんぷんの簡易な糊化進行度測定法における膨潤度測定の計算式上、上清中の可溶性成分量

Table 2. Change in viscosity of the defatted baked starch products in water (n=5)

	Control	+120 mg/ml SiO_2	+1,200 mg/ml SiO_2
Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	0.2	1.1	3.2
Viscosity ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)	294 ^a ±70	612 ^b ±247	391 ^a ±96

の算出を無視できることが判明したので、式(2)を用いた迅速な膨潤度測定が可能になった。また、糊化進行にもなう η の追跡にも試料の少量化が実現したことから、以前よりも簡易な η 測定も可能になる。それらの糊化進行度の追跡法の進歩と同時に SiO₂ ナノ粒子の mixture への添加効果を、小麦粉焼成品の糊化進行度に求めたところ、120 mg/ml 相当量の SiO₂ ナノ粒子を小麦粉焼成品調製の mixture へ添加した場合、膨潤度やアミロース溶出率にはほとんど影響しなかったが、一定比率の水を加えて測定する η を増加させる傾向にあった。

今後は、静電的相互作用の影響を受けやすいとされている馬鈴薯でんぷん(Nutting, 1952)への影響を生でんぷんの状態で検討するなどの課題が残されており、SiO₂ ナノ粒子の添加によるでんぷんの糊化度への影響の有無を明らかにしていく必要がある。

文 献

- Aparicio, C., Resa, P., Elvira, L., Molina-García, A.D., Martino M, Sanz P.D. Assessment of starch gelatinization by ultrasonic and calorimetric techniques. *J Food Eng*, **94**, 295-299 (2009).
- Aguerre, R.J., Suarez, C., Viollaz, P.E. Swelling and pore structure in starchy materials. *J Food Eng*, **9**, 71-80 (1989).
- Gun'ko, V.M., Pissis, P., Spanoudaki, A., Turova, A.A., Turov, V.V., Zarko, V.I., Goncharuk, E.V., Interfacial phenomena in starch/fumed silica at varied hydration levels, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **320**, 247-259 (2008).
- 肥後温子、和田淑子、加工小麦デンプンがクッキー様焼成品のテクスチャー特性に及ぼす影響, 日本食品科学工学会誌, **55**, 224-232 (2008).
- Nutting, G.C. Effect of electrolytes on the viscosity of potato starch pastes, *J Colloid Sci*, **7**, 128-139 (1952).
- Sato, Y., Wada, Y., Higo, A. Analysis of water layers and the extent of gelatinization for commercial starch products. *J Food Eng*, **100**, 201-207 (2010).
- 竹田千重乃、檜作進、各種でんぷんの熱糊化の特徴, 農化, **48**, 663-669 (1974).

Involvement of Electrostatic Effects in the Gelatinization of Starch

Yukinori Sato

Faculty of Life and Environmental Sciences, Prefectural University of Hiroshima

Summary

A number of trials have been carried out in an effort to improve foods by adding deep sea water. However, few reproducible results have been obtained due to the existence of, and variation in, other components. Moreover, it is unclear whether or not the addition of deep sea water actually influences food properties. Thus, we attempted to create a simple model to test the effects of deep sea water on the properties of baked starch-containing foods. We focused on silica components, due to their being key components of deep sea water. SiO₂ nanoparticles with a diameter of 7 nm were added to the mixture during the baking of starch products.

After baking, levels of gelatinization were measured using a new improved method, which was developed by modifying a previous method. It resulted in soluble substances being ignored during the calculation of their concentrations in supernatants. The electrostatic interaction induced by adding SiO₂ nanoparticles was measured for permittivity, and was found to be 0.2 $\mu\text{Si}/\text{cm}$ for distilled water, 5-fold higher for a 120 mg/ml equivalent SiO₂ group, and 10-fold higher for a 1200 mg/ml eq. SiO₂ group. In spite of these differences in permittivity, the gelatinization parameters were found to be the same as in distilled water, with the exception of the η values. With regard to the η values for defatted baked starch products in water, a significant difference was detected between mixtures containing distilled water and 120 mg/ml eq. SiO₂ nanoparticles. However, increasing the amount of SiO₂ nanoparticles in the mixture to 1200 mg/ml eq. SiO₂ had no significant effect on the value of η . Several changes in η as a function of incubation time were observed for starch and SiO₂ in water, including in the 120 mg/ml eq. SiO₂ group.

We conclude that, irrespective of the effect of SiO₂ nanoparticles on electric interactions, the presence of other substances in defatted baked starch products may interfere with the direct electric effects on starch gelatinization.