

ビスコグラフによる変性ハイアミロースコーンスターチの分析

高橋 優作*, 家田 繭子*, 渡辺 惣汰*, 鈴木 洋介*, 八木 潤*

Analysis of modified high-amylose corn starch by viscograph

TAKAHASHI Yusaku*, IEDA Mayuko*, WATANABE Sota*, SUZUKI Yosuke* and YAGI Jun*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba, 277-0882 Japan

Since there is a large difference in the tariff rates between unmodified starches and modified starches in Japan, identifying the type of starch is important. Viscosity of high-amylose corn starch (HACS) changes little by heating due to its high amylose content. Consequently, HACS cannot normally be identified by measurement using a viscograph, a common method to identify starches. In this study, whether HACS could be identified by measurement with a viscograph using high concentration samples was investigated. Viscosity of HACS could be increased by using a high concentration sample, and its viscogram showed a clear curve of viscosity. Moreover, comparison of the viscogram of unmodified HACS with other synthesized modified HACS was carried out and a difference in the change of viscosity between samples was observed. These results suggest that by preparing high concentration samples, whether HACS has been modified or not can be confirmed by measurement with a viscograph.

1. 緒 言

でん粉は変性や誘導体化の有無により関税分類が異なり、未変性でん粉は関税率表第 11.08 項、誘導体を含む変性でん粉は同表第 35.05 項に分類される。両者には大きな税率格差があるため、これらを判別することは適切な徴税の観点から大変重要である。

でん粉には育種改良されたトウモロコシから製造されるハイアミロースコーンスターチ（以下「HACS」と略記する。）と呼ばれる種類のものが存在する。この種類のでん粉は名前のとおり、でん粉の構成成分であるアミロースとアミロペクチンのうち、アミロースの割合が通常のコーンスターチと比べて高い。この構成成分の割合の違いから HACS は糊化温度が高く粘性が低い¹⁾ほか、沈降性が確認される²⁾等、通常のコーンスターチとは異なる特性を持つことが知られている。また、HACS は通常のでん粉に比べて難消化性でん粉（いわゆるレジスタントスターチ）の含有割合が高いため、食物として摂取した後の血糖上昇抑制、腸内環境の改善、脂質代謝の改善の効果が報告されており、健康素材として注目が集まっている³⁾。

でん粉の分析は税関分析法 No.403 に定められている方法に基づいて実施しており、その中の一つとして回転式粘度計（以下「ビスコグラフ」という）による測定がある。ビスコグラフはでん粉懸濁液の加熱に伴う粘度変化を記録してグラフ化する装置であり、変性の有無により粘弾性の違いが生じることから、ビスコグラフの測定結果を変性の有無及び種類を判別するための判断材料とし

て利用できる。しかしながら、HACS は糊化温度が高く糊化しにくいことから一般的な測定条件では粘度が上昇せず⁴⁾、粘度変化が確認できないため、ビスコグラフを利用した変性の有無の判別が困難である。山盛らは NMR または熱分解 GC/MS により HACS の誘導体化の有無を確認できる方法を報告しているが⁵⁾、装置の配備の有無や、熱分解 GC/MS を用いた方法では水を加えて測定を行っているため機器汚染の可能性がある等の問題がある。

一方、税関分析においては、ビスコグラフによる測定を行う際の試料濃度は通常 6～8 % 程度であるが、試料濃度を高濃度の 15 % で測定し、粘度変化が確認されている報告がある⁶⁾。このことから試料濃度を高くすることで粘度が上がり、HACS でもビスコグラフによる測定で変性の有無を判別できる可能性が考えられる。そこで、本研究では、まず高濃度条件で HACS のビスコグラフによる測定を行い、粘度変化が確認できるか検証し、さらに HACS を原料としてアセチル化 HACS、湿熱処理 HACS、リン酸架橋 HACS 及びモノでん粉リン酸エステル化 HACS を合成し、同条件でビスコグラフによる測定を行い、変性の有無を判別できないか検討したので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

本研究では以下のメーカーの異なる 2 つの HACS を用いた。

HACS①

HACS②

2.1.2 試薬

酢酸ビニル, リン酸二水素ナトリウム二水和物, 炭酸ナトリウム, 60%過塩素酸, 2,4-ジアミノフェノール二塩酸塩, 亜硫酸水素ナトリウム, リン酸二水素カリウム

: 和光純薬工業製

リン酸水素二ナトリウム十二水和物, 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液, 七モリブデン酸六アンモニウム四水和物, メタノール

: 富士フイルム和光純薬工業製

トリメタリン酸ナトリウム: MP Biomedicals, inc. 製

400 g/L 水酸化ナトリウム溶液, 硝酸 1.38

: 関東化学工業製

0.25 mol/L 塩酸

: 林純薬工業製

2.2 分析装置及び条件

2.2.1 オートクレーブ

装置: TOMY LBS-325 (トミー工業製)

加熱温度: 120 °C

加熱時間: 180 分

2.2.2 ロータリーエバポレータ

装置: IKA RV 10 (IKA-werk GmbH & Co.KG 製)

加熱温度: 160 °C

減圧条件: 80 mbar

2.2.3 回転式粘度計 (ビスコグラフ)

装置: Viscograph-E (Brabender GmbH & Co.KG 製)

測定フィルター及び容器: ピン型

試料採取量 (ドライベース): 67.5 g

水分量: 450 mL

回転数: 150 rpm

測定レンジ: 700 cmg

温度プロファイル: 30 °C で 5 分間保持後, 30 °C から 92.5 °C まで 1.5 °C /min で昇温. 92.5 °C で 45 分間保持した後, 92.5 °C から 30 °C まで 1.5 °C /min で降温した.

2.2.4 示差走査熱量計

装置: Thermo plus EVO2 DSC8231 (理学電気工業製)

測定温度: 室温 ~ 100 °C

昇温速度: 10 °C /min

容器: アルミニウム製簡易密封容器

2.2.5 X 線回折装置

装置: Ultima IV (株式会社リガク製)

回折角: 3 ~ 30 °

掃引速度: 2 °/min

2.2.6 pH メーター

装置: SevenEasy (METTLER TOLEDO 製)

2.3 実験方法

2.3.1 アセチル化 HACS の合成

1000 mL のビーカーに未処理の HACS① 200 g を採取し, 600 mL の水を加えた. この懸濁液を水酸化ナトリウム溶液で pH10.5 ~ 11.5 に調製後, 酢酸ビニル 33 mL を加え, 37 °C で 1 時間攪拌しながら反応させた後, pH6 ~ 7 であることを確認した. その後大量の水で精製し, 室温で風乾した.

2.3.2 湿熱処理 HACS の合成

1000 mL ビーカーに未処理の HACS① 100 g を入れ, 水分量が 25 % となるように蒸留水を添加してかき混ぜた後, 水分の分布が均一になるようにポリエチレン製の袋に詰め一晩放置させた. 試料を三角フラスコに移してゴム栓で密栓し, 2.2.1 に記載の条件で湿熱処理した. 湿熱処理後, 大量の水で精製し室温で風乾した.

2.3.3 リン酸架橋 HACS の合成

蒸留水 360 mL にトリメタリン酸ナトリウム 4 g, 炭酸ナトリウム 6 g を溶解し未処理の HACS① 200 g を懸濁した. pH が約 10.2 であることを確認し 50 °C で 6 時間攪拌しながら反応させた後, pH7.0 に調製した. その後, 大量の水で精製し室温で風乾した.

2.3.4 モノでん粉リン酸エステル化 HACS の合成

蒸留水 240 mL に第一リン酸ナトリウム二水和物 114 g, 第二リン酸ナトリウム十二水和物 224 g を溶解後, 水酸化ナトリウム溶液で pH6.4 に調製した. これに未処理の HACS ①200 g を懸濁させ 30 分攪拌した後減圧濾過し, 55 °C で乾燥させ水分を 10 % 以下にした. これを 2.2.2 に記載の条件でロータリーエバポレータを用い反応させた. その後 50 % メタノールで洗浄した後室温で風乾した.

2.3.5 滴定法による DS 値の測定

2.3.1 で合成したアセチル化 HACS の DS 値を税関分析法 No.403 に記載の滴定法により測定した. ただし飽和点の確認には pH メーターを用いた.

2.3.6 示差走査熱量測定

大量の水で精製した未変性の HACS①及び 2.3.2 で合成した湿熱処理 HACS に水分率が 50 % となるように事前に蒸留水を添加し, 2.2.4 に記載の条件で示差走査熱量測定を行った.

2.3.7 X 線回折

大量の水で精製した未変性の HACS①及び 2.3.2 で合成した湿熱処理 HACS について 2.2.5 に記載の条件で X 線回折を行った.

2.3.8 アレン法によるリンの定量

大量の水で精製した未変性の HACS①, 2.3.3 で合成したリン酸架橋 HACS 及び 2.3.4 で合成したモノでん粉リン酸エステル化 HACS のリン含有量を税関分析法 No.403 に記載のアレン法により測定した. なお, 採取重量を税関分析法では 1 g と記載されているが, 分解に時間がかかるため, 0.1 ~ 0.2 g とした.

2.3.9 ビスコグラフによる測定

各試料について 2.2.3 に記載の条件でビスコグラフにより加熱に対する粘度変化を測定した. なお, 税関分析法で最高温度到達後の保持時間を 15 分としているところを 45 分間へと変更したほか, 降温条件については, 最高温度保持後, 降温速度 1.5 °C /min で 30 °C まで降温とした. また, 税関における通常の試料採取量

(ドライベース) は、30 g であるところ、高濃度条件で実施するため 67.5 g とした。

3. 結果及び考察

3.1 DS 値及びリン含有量の測定

HACS を原料としたアセチル化 HACS の DS 値、及びモノでん粉リン酸エステル化 HACS とリン酸架橋 HACS のリン含有量を Table に示す。アセチル化 HACS については DS 値が 0.01 以上となり、国内分類例規第 35.05 項のアセチル化でん粉の分類についての基準⁷⁾を満たしていることが確認できた。

また、モノでん粉リン酸エステル化 HACS については未変性 HACS よりも高いリン含有量を示した。一方で、リン酸架橋 HACS については未変性 HACS との間でリン含有量に大きな差異は見られなかった。しかしながら、架橋構造はわずかな増加でもでん粉の粘弾性に变化を及ぼすことが知られており⁸⁾、今回参考としたリン酸架橋でん粉の合成方法⁹⁾もリン含有量が低いものであることから、今回合成したリン酸架橋でん粉のリン含有量で十分にリン酸架橋化されていると考えられる。

Table D.S. value and phosphorus content of modified HACSs used in this study

D.S. value of cetyled HACS	0.0106
Phosphorus content of phosphorus monoesterified HACS	2.447 %
Phosphorus content of cross-linked starch phosphated HACS	0.035 %
Phosphorus content of unmodified HACS	0.032 %

*D.S.=Degrees of Substitution

3.2 湿熱処理 HACS の X 線回折及び示差走査熱量測定

湿熱処理 HACS の X 線回折を行った結果を Fig.1、示差走査熱

量測定を行った結果を Fig.2 に示す。

石崎らは回折角 23 °付近で未変性 HACS は 2 本のピークを示すのに対して湿熱処理 HACS はピークが 1 本化することを報告しており¹⁰⁾、今回合成した湿熱処理 HACS でも同様のピーク形状の変化が確認できた。

また、示差走査熱量測定においても水分率を 50 %にすることで 70 °C~90 °C にかけて未変性 HACS は吸熱ピークを示すのに対して湿熱処理 HACS は吸熱ピークを示さないことが知られており¹⁰⁾、こちらも同様のピーク形状の変化が確認された。以上の結果から湿熱処理されていることが確認された。

3.3 ビスコグラフによる測定

HACS①について、ビスコグラフにより測定した結果を Fig.3 に示す。

未変性 HACS については最高温度保持時点から粘度の上昇が確認され、さらに降温段階では著しい粘度の上昇が見られた。この結果から高濃度条件にすることで HACS でもビスコグラフによる測定で粘度変化を確認できることが分かった。

さらに合成した各種の変性 HACS についても同様の条件で測定を行い、その結果を未変性のものと比較した。アセチル化 HACS については未変性 HACS よりも全体的に粘度が上昇した。税関分析法に記載の HACS ではない未変性コーンスターチとアセチル化コーンスターチのビスコグラフによる測定結果を比較すると、アセチル化したものは全体的な粘度が高くなっており¹¹⁾、今回の HACS でもこれと類似した結果となった。

湿熱処理 HACS については粘度の上昇がほとんど見られなかったが、この理由として小林らは通常のコーンスターチを湿熱処理することで粘度の上昇が抑制されることを報告しており⁴⁾、HACS でも湿熱処理が同様に作用したものと推測される。

さらに、リン酸架橋 HACS についてはこちらも粘度の上昇がほとんど確認されなかった。この原因として架橋構造の増加によりでん粉の膨潤が抑制され、粘度が低下した¹²⁾ためと推測される。以上の通り、HACS をアセチル化した際には粘度の上昇、湿熱

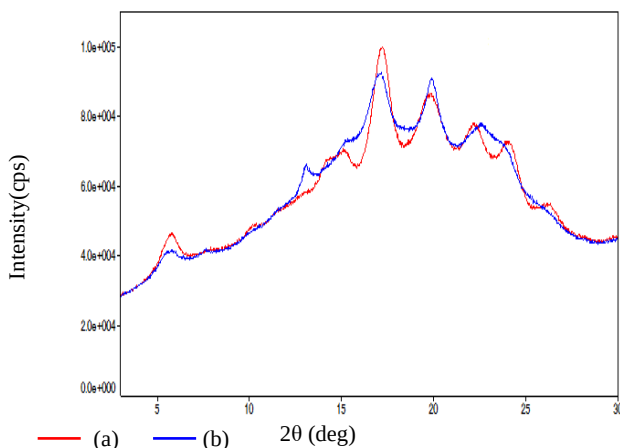


Fig.1 XRD patterns of unmodified HACS and heat-moisture-treated HACS
(a): unmodified HACS, (b): heat-moisture-treated HACS

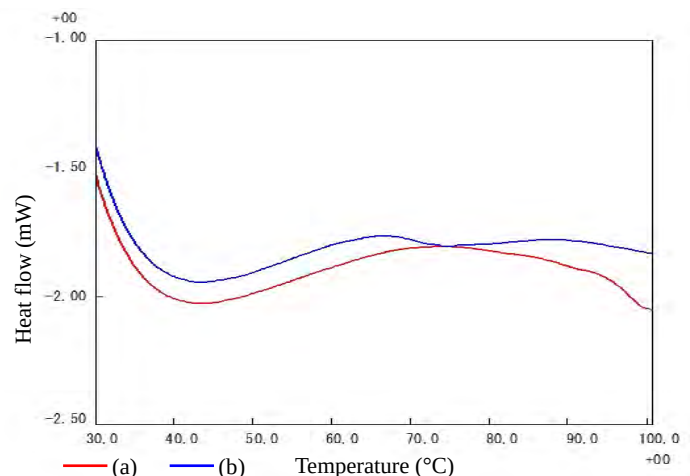


Fig.2 DSC curve of unmodified HACS and heat-moisture-treated HACS
(a): unmodified HACS, (b): heat-moisture-treated HACS

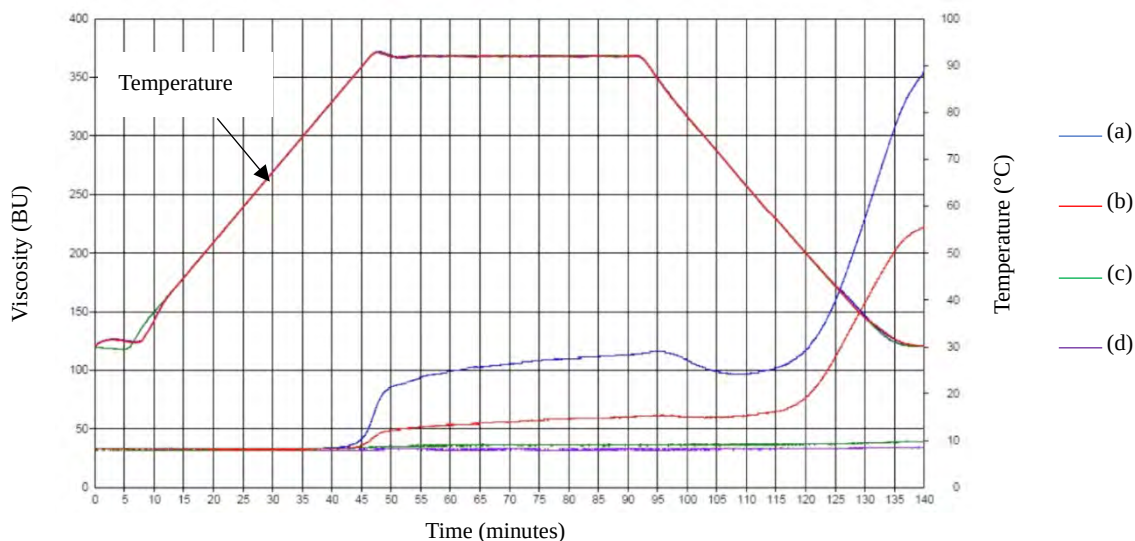


Fig.3 Viscogram of unmodified HACS and other modified HACS

(a): acetylated HACS, (b): unmodified HACS, (c): cross-linked starch phosphated HACS (d): heat-moisture-treated HACS

BU: Brabender Unit

処理した際には粘度の低下, リン酸架橋化した際には粘度の低下が確認され, これらの粘度変化は前述の通り通常のコーンスターチに各種の変性処理を施した際に見られる粘度変化と類似している. このことから, HACS においても高濃度条件でのビスコグラフによる測定結果から変性の有無を判別できる可能性が示唆された.

なお, モノでん粉リン酸エステル化 HACS については試料採取量 (ドライベース) 67.5 g の濃度で検液を調製したところ, 粘性が非常に高く, 装置の測定上限値を超えたため測定を行わなかった.

3.4 別銘柄の HACS についてのビスコグラフによる測定

上記の実験に用いた HACS①の他にメーカーの異なる HACS②についても未変性 HACS のビスコグラフによる測定を行った. 当該 HACS については試料採取量 (ドライベース) (a) 67.5 g で粘度の上昇が確認できず, さらに試料採取量 (ドライベース) を (b) 135 g にしても粘度がほとんど上昇せず, 粘度変化が確認できなかった (Fig.4). HACS にはアミロースの含有量に幅があることが知られており⁸⁾, 今回用いた 2 つの銘柄の HACS のアミロース含有量は不明であるが, HACS②はアミロース含有量が HACS①より高かったため, 今回調製した濃度では粘度が上昇しなかった可能性が考えられる. したがって, アミロースの含有量が高い銘柄によっては試料濃度を高めても粘度が十分に上昇しない可能性がある.

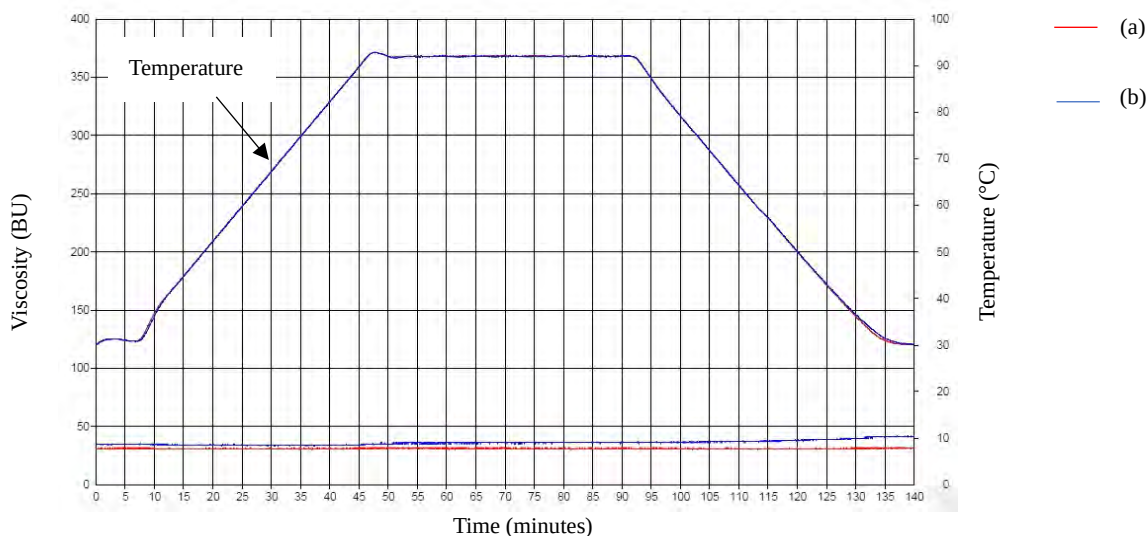


Fig.4 Viscogram of HACS②

(a): 67.5 g, (b): 135 g BU: Brabender Unit

4. 要 約

本研究では高濃度条件でビスコグラフによる測定を行うことで HACS でも粘度変化の確認が可能となり、変性の有無が判別できるか検証した。まず未変性 HACS を濃度約 15 %にしてビスコグラフによる測定を行った結果、粘度の上昇が明確に確認された。さらに、HACS からアセチル化 HACS、湿熱処理 HACS、リン酸架

橋 HACS 及びモノでん粉リン酸エステル化 HACS を合成し、同一の条件でビスコグラフによる測定を行い未変性のものと比較したところ、アセチル化 HACS は未変性 HACS よりも全体的に高い粘度を示し、湿熱処理 HACS 及びリン酸架橋 HACS は粘度の上昇がほとんど見られなかった。これらの結果から、ビスコグラフによる測定を高濃度条件にすることで、HACS の粘度変化の確認が可能となり、変性の有無を判別できる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 藤巻正生, 三浦洋, 大塚謙一, 河端俊治, 木村進 編集: “食料工業”, P.124 (1985), (恒星社厚生閣)
- 2) 田中佑樹, 熊沢勉: 関税中央分析所報, **54**, 49 (2014)
- 3) Nugent, A.P.: *Health properties of resistant starch*, Nutrition Bulletin. **30** (2005) 27-54.
- 4) 小林俊哉, 松井智史, 池田啓久, 甲田政則, 池田英貴, 勅使川原尚行: 関税中央分析所報, **58**, 23 (2019)
- 5) 山盛愛子, 片山貴之, 赤崎哲也, 朝長洋介: 関税中央分析所報, **46**, 17 (2006)
- 6) 独立行政法人農畜産物振興機構ホームページ: “コーンスターチの特性と新加工・利用技術”. (https://www.alic.go.jp/joho-d/joho08_200805-01.html)
- 7) 税関ホームページ “関税率表解説・分類例規” (<https://www.customs.go.jp/tariff/kaisetu/>)
- 8) 不破英次, 小巻利章, 檜作進, 貝沼圭二 編集: “澱粉科学の事典”, P.403 (2003) (朝倉書店)
- 9) 中村道徳, 貝沼圭二 編集: “澱粉・関連糖質実験法”, P.293 (1986) (学会出版センター)
- 10) 石崎哲章, 原山麻奈美, 小林俊哉, 池田啓久, 甲田政則, 勅使川原尚行: 関税中央分析所報, **59**, 41 (2019)
- 11) 関税中央分析所ホームページ “403 でん粉誘導体の分析法” (https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_index.htm)
- 12) 二國二郎 監修, 中村道徳, 鈴木繁男 編集: “澱粉科学ハンドブック”, P.300 (1977) (朝倉書店)