

ハイアミロースコーンスターチの亜臨界水処理により 調製したレジスタントスターチに関する研究

井ノ内直良

【目的】澱粉を酵素または酸による処理、または湿熱処理等の物理的方法で処理することにより、食物繊維様の生理機能が期待できるレジスタントスターチを生成できることが知られている。今回、最近注目されている亜臨界水処理をハイアミロースコーンスターチに対して行い、新たなレジスタントスターチの製造を試みたところ、70%以上の高いレジスタントスターチ含量を示した。この亜臨界水を用いて調製したレジスタントスターチの構造は明らかになっていないので、本研究ではその構造を明らかにすることを目的としている。得られた結果は、今後の新たなレジスタントスターチの製造法に対する基礎的データとなると考えられる。

【方法】昨年度は市販のワキシコーンスターチ(モチトウモロコシ澱粉;WCS)を用いて酸処理により生成されるレジスタントスターチに関する研究を行ったのに対して、今年度は実験試料として、ハイアミロースコーンスターチHS-7(class VII;J-オイルミルズ社製、ヨウ素親和力の測定より算出したアミロース含量80%、以後HCSと略す)を用い、亜臨界水処理によりレジスタントスターチの生成を以下のように行った。

HCSの20%水懸濁液22.1gを耐熱耐圧反応管に入れ密封後、よく振ってからソルトバス内に入れ、210℃で90~150秒の処理時間で亜臨界水処理を行い、直ちに30秒間水中で冷却し、さらに流水中で十分に冷却を行った。その後、反応管から内容物を遠心分離法と凍結乾燥法の2種類の方法で回収し、亜臨界水処理HCS試料を調製した。

《遠心分離法》反応管から内容物を少量の蒸留水で完全に洗い出して遠心沈殿管に移した後、蒸留水を加えて約50mLとし、3000rpmで10分間遠心分離を行った。上清を捨て、新たに蒸留水を約30mL加えて沈殿を再分散させ、遠心分離を繰り返した。上清を捨て、沈殿を40

℃に設定した減圧乾燥機内で3日間乾燥させた。その後、試料をガラスシャーレに移し、スパチュラでほぐした後、シリカゲルの入ったデシケーター内で2日間乾燥させ、試料の上部の褐色ガラス状部分を取り除いた後、乳鉢中ですり潰し、60メッシュの篩(篩目の大きさ250 μm)を通したものを調製試料とした。

《凍結乾燥法》反応管から内容物を少量の蒸留水で完全に洗い出してポリカップに移した後、蒸留水を加えて約50mL(液面の高さ1cm)とした。ポリカップにキムワイブをかぶせて-40℃で2時間冷凍した後、凍結乾燥を3日間行った。2日間シリカゲルの入ったデシケーター内で乾燥させた後、ブレンダー(Wonder Blender WB-1、大阪ケミカル(株))で5~10秒間粉砕し、調製試料とした。

【結果と考察】表1に遠心分離法および凍結乾燥法で調製した6種類ずつの各試料の亜臨界水による処理時間を示した。また、原料HCSと遠心分離法および凍結乾燥法で調製した6種類ずつの亜臨界水処理HCSの性質を調べるために、水分含量、HPLCによる溶出ピークの分子量、レジスタントスターチ(RS)含量、損傷度を測定し、その結果も表1に示した。試料の水分含量は遠心分離法で調製した試料で原料澱粉の水分含量とほぼ同じ約15%台であったのに対して、凍結乾燥法で調製した試料の水分含量は約12%台と低い値を示し、凍結乾燥法のほうがより試料が乾燥されていた。HPLCにより測定した亜臨界水処理HCSの溶出ピークの分子量は、原料HCSに比べ1桁小さくなり、処理時間の増加とともに遠心分離法、凍結乾燥法ともに分子量の減少が観察された。遠心分離法、凍結乾燥法のいずれの調製法の亜臨界水処理HCSにおいてもほぼ同様に低分子化が観察されたが、わずかに遠心分離法の試料のほうが低分子化の進行が起こっていた。亜臨界水処理によるHCSのレジスタントスターチ含量は、遠心分離法で調製したHCS(35.0~77.2%)のほうが凍結乾燥法(26.5~37.6%)に比べて明らかに高い値を示した。逆に、試料澱粉の損傷度は凍結乾燥法で調製したHCS(13.7~22.2%)のほうが遠心分離法(7.0~12.1%)に比べて明らかに高い値を示した。

表1. 亜臨界水処理時間と亜臨界水処理HCSの諸性質(1)

	処理時間 (s)	水分 (%)	ピーク 分子量	RS (%)	損傷度 (%)
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)1	90	15.3	29,100	35.0	12.1
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)2	100	15.6	21,900	46.4	10.5
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)3	110	15.3	15,000	69.1	7.9
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)4	120	15.6	11,400	71.8	7.6
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)5	130	15.6	10,300	71.3	7.2
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)6	150	15.3	9,400	77.2	7.0
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)1	90	12.8	35,200	26.5	13.8
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)2	100	12.4	21,900	30.2	22.2
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)3	110	12.2	15,000	37.6	22.2
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)4	120	12.4	12,500	34.1	17.7
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)5	130	12.3	11,400	33.9	16.9
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)6	150	12.2	8,600	28.2	13.7
原料HCS	未処理	15.1	250,200	42.0	1.3

ピーク分子量: HPLCにより測定した溶出曲線のピーク分子量、RS含量: メガザイム社製の測定キットにより測定したレジスタントスターチ含量、損傷度: メガザイム社製の測定キットにより測定した損傷度

表2に試料澱粉のヨウ素吸収曲線の青価(B.V.)と最大吸収波長(λ_{max})、中圧ゲルろ過法による単位鎖長分布、平均鎖長の測定結果を示した。B.V.と λ_{max} の結果から、亜臨界水処理の程度が強くなるに従って値が低くなったことから、アミロースが優先的に低分子化していることが予想された。イソアミラーゼで枝切りして単位鎖にした試料澱粉を中圧ゲルろ過法で調べた結果、アミロースに相当する画分I(Fr.I)は、遠心分離法、凍結乾燥法のいずれの調製法による亜臨界水処理HCSも、処理時間110秒以上でほぼ消滅していた。さらに処理時間が長くなるにつれて、アミロースとアミロペクチンの中間画分(Int.Fr.)が増加した。これらの結果は、亜臨界水処理により、澱粉中のアミロースが優先的に分解していることをさらに裏

付ける結果であった。平均鎖長は原料HCSの350から亜臨界処理時間が長くなるにつれて低くなり、処理時間が一番長い亜臨界処理HCS6では65にまで短くなった。

表2. 亜臨界水処理HCSと原料HCSの諸性質(2)

	B.V.	λ max (nm)	Fr.I (%)	Int. Fr. (%)	Fr.II (%)	Fr.III (%)	Fr.III/Fr.II	平均鎖長
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)1	0.84	596	16.2	35.0	31.7	17.1	0.5	234
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)2	0.81	594	16.5	32.4	30.0	21.1	0.7	275
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)3	0.70	586	0.6	41.3	34.2	23.9	0.7	269
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)4	0.62	580	0.0	25.4	41.7	32.9	0.8	103
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)5	0.56	578	0.0	28.4	41.5	30.1	0.7	80
亜臨界水処理HCS(遠心分離法)6	0.56	576	0.0	17.7	44.4	37.9	0.9	73
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)1	0.82	596	22.6	37.1	22.7	17.6	0.8	194
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)2	0.76	590	13.4	38.2	30.0	18.4	0.6	140
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)3	0.63	583	0.0	39.3	33.0	27.7	0.8	74
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)4	0.59	580	0.0	10.4	64.1	25.5	0.4	71
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)5	0.59	579	0.0	11.1	49.0	39.9	0.8	67
亜臨界水処理HCS(凍結乾燥法)6	0.47	570	0.0	13.5	48.8	37.7	0.8	65
原料HCS	0.87	605	33.8	28.2	20.9	17.1	0.8	350

B.V. : ヨウ素吸収曲線の680nmにおける吸光度, λ max (nm) : ヨウ素吸収曲線の最大吸収波長

Fr.I (%) : 酵素・クロマト法(澱粉をイソアミラーゼで枝切りした後、中圧ゲル濾過連結カラムにより分画する方法)により測定した画分のうち、溶出液のヨウ素吸収曲線の λ maxが \geq 620nm以上の画分の全体に対する重量パーセント(見かけのアミロース含量に相当する。)

Int. Fr. (%) : 酵素・クロマト法で得られた溶出液のヨウ素吸収曲線の λ maxが \geq 620nm未満、600nm以上の画分の全体に対する重量パーセント(アミロースとアミロペクチンの中画分含量に相当する。)

Fr.II (%) : 酵素・クロマト法で得られた溶出液のヨウ素吸収曲線の λ maxが \geq 600nm未満、540nm以上の画分の全体に対する重量パーセント(アミロペクチンの長鎖含量に相当する。)

Fr.III (%) : 酵素・クロマト法で得られた溶出液のヨウ素吸収曲線の λ maxが \geq 540nm未満の画分の全体に対する重量パーセント(アミロペクチンの短鎖含量に相当する。)

平均鎖長 : アミロペクチンの平均単位鎖長(試料をイソアミラーゼで枝切り後、全糖量と還元糖量を測定して算出する。)

レジスタントスターチ含量が最も高くなる試料は遠心分離法により調製した亜臨界水処理HCS6であり、その試料澱粉の平均鎖長は約70であり、またアミロペクチンの長鎖と短鎖に相当するFr.IIとFr.IIIの含量が高かったことから、そのような分子構造をもつHCSが高いレジスタントスターチ含量を示すことが明らかとなった。

遠心分離法と凍結乾燥法による亜臨界水処理した試料において、凍結乾燥法は全量を回収する方法であるのに対して、遠心分離法は低分子成分を除去して高分子成分を回収しているため、両調製法の違いによりレジスタントスターチ含量が異なっていると考えられる。しかしながら、その原因の詳細に関しては不明であり、さらなる研究が必要である。

【結論】亜臨界水処理したHCSを遠心分離法により回収することにより、そのレジスタントスターチ含量を原料澱粉の42%からさらに80%近くにまで高めることができること、さらにその澱粉はアミロースが優先的に分解され、平均鎖長が70程度の構造であることが明らかとなった。今後、このようなユニークな亜臨界水処理ハイアマローストウモロコシ澱粉の構造的および物理学的変化が、天然澱粉では得られない利用特性や機能性をもった澱粉として多様な食品加工への用途へとつながることが期待される。