モチ米澱粉の熱水ナノスケール微細化

吉岡泰嗣¹, 清水直人^{2,†}

¹ 北海道大学大学院農学院, ² 北海道大学大学院農学研究院

Characterization of the Nanoscale Processing of Waxy Rice Starch Using Compressed Hot Water

Hirotsugu YOSHIOKA¹, Naoto SHIMIZU^{2,†}

*Graduate School of Agriculture, Hokkaido University,
Kita 9 Nishi 9, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-8589, Japan*

Nanoscale waxy rice starch particles were prepared in compressed hot water, and the effects of the concentration of waxy rice starch dispersion, the pressure and temperature of the compressed hot water on mean particle size and particle size distribution were investigated. Particle size and particle size distribution of the waxy rice starch nanoparticles were measured by dynamic light scattering. Mean particle size was found to depend on the preparation conditions. The smallest average particle size of 150.4 nm was obtained with a starch concentration of 0.1% (w/w), an initial pressure of 3.0 MPa, and a final temperature of 180°C. It is suggested that particle size can be controlled by the preparation conditions. In addition, any sample prepared in compressed hot water tends to have a particle size distribution spanning less than 100 nm. The use of compressed hot water is also effective for preparing waxy rice starch nanodispersion with nanoparticles smaller than 100 nm. Furthermore, we have attempted to determine the reaction field of compressed hot water by the ionic product.

Keywords: waxy rice starch, nanoparticle, compressed hot water, ionic product

1. 緒 言

持続可能な社会の実現には、バイオマス資源の有効活用が急務である。そこで、現在バイオマス資源のナノスケール微細化の様々な研究が行われている。物質はナノ粒子化されることによって別の性質を発揮することが知られている。そのためバイオマス資源をナノ粒子化することでドラッグデリバリーシステム、食品包装資材、ナノコンポジット材料などの高付加価値な素材を提供し、バイオマス利用の質的、量的向上に寄与することができるのではないかと考えられる [1-8]。

澱粉は自然界に存在する代表的な多糖類であり、存在量が多く、安価であり、その機能性から食品、製紙、薬品担体などさまざまな分野で利用されている [9-11]。その中で、モチ米澱粉は難分解性の多糖類として知られており、多糖類のナノスケール微細化のモデルの1つになると考えられる。

これまで、澱粉のナノスケール微細化は様々な方法で試行されてきた。酵素を利用した方法では、澱粉- α -ブタノール複合体を α -アミラーゼを用いて加水分解して、粒径約 20~50 nm の澱粉ナノ粒子を得たが、澱粉の大半が加水分解の過程で失われ、澱粉ナノ粒子の収率は非常に低かった。また、高圧均質化法により約 100% の生成率でトウモロコシ澱粉のナノ粒子を作ったと報告されているが、この処理方法では粒子径を制御できなかった。さらに、ジェットミルなどを用いた乾式粉碎法では粉粒体の最小平均粒子径は数マイクロメートルであった。湿式媒体攪拌ミルを用いた方法では平均粒子径 100 nm 前後の粒子を得たものの、粉碎時間が 168 時間を要している [1,2,11]。そこで、湿式場の過酷な条件で澱粉鎖の加水分解を行うことで結晶構造を破壊し、平均粒子径をナノメートルまで小さくするためにナノスケール微細化の手段として加圧熱水を用いた。加圧熱水は亜臨界水を用いた反応場であり、温度・圧力を操作することで容易に水のイオン積を増加することができ、物質の分解反応を促すことができる。水のイオン積については超臨界領域までの広範囲に適用できる計算式として提案されている Marshall-Franck

(受付 2013 年 12 月 25 日, 受理 2014 年 4 月 25 日)

1 〒060-8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目

2 〒060-8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目

Fax: 011-706-3848, E-mail: shimizu@bpe.agr.hokudai.ac.jp

の式を用いて温度、圧力により求めることができる [12-15].

そこで、本報では澱粉の濃度、反応場の温度、圧力などの調製条件による澱粉ナノ粒子の性質（平均粒子径、粒度分布）の違いを観察し、加圧熱水を用いたモチ米澱粉のナノスケール微細化特性について明らかにすることを目的とした。また、Marshall-Franckの式を用いて温度と圧力からイオン積を求め、加圧熱水の反応場のイオン積と澱粉ナノ粒子の平均粒子径との関係を調べた。

2. 供試材料と実験方法

2.1 供試材料

供試材料として、モチ米澱粉（モチール B、平均粒子径 4~5 μm 、上越スターチ（株））を用いた。

2.2 澱粉ナノ粒子分散系の調製

加圧熱水による澱粉ナノ粒子分散系の反応容器を Fig. 1 に示し、澱粉ナノ粒子分散系を下記の操作により調製した。耐圧容器（ステンレス鋼容器：内径 4.8 cm、テフロン樹脂製内筒：内径 3.6 cm、高さ 12 cm）に純水 50 ml とモチ米澱粉を投入した。分散液の澱粉濃度を 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1% (w/w) の 5 水準とした。次に、窒素ガスを用いて耐圧容器内の空気を置換えし、容器内

Fig. 1 Nanodispersion preparation reactor.

圧力を調整して、2.0, 2.5, 3.0 MPa の 3 水準の初期圧力条件を設定した。有機合成装置（Chemi Station PPV-3000, 東京理化器械（株））を用いて澱粉溶液の加熱、攪拌を行い、反応容器内の温度が 140, 160, 180℃ になるまで加熱、攪拌した。攪拌は磁気式スターラにより、回転数 1,000 rpm で行った。反応時間は、容器内の試料が設定温度に達するまでとし、設定温度 140, 160, 180℃ において 3000, 3600, 4000 秒間であった。加熱、攪拌の後、有機合成装置から耐圧容器を取り出し、5℃ の水で冷却し、澱粉ナノ粒子分散系を採取した。Table 1 に 9 水準の調製条件をとりまとめて示した。また、反応中の温度変化を K 型熱電対により計測し、圧力変化を圧力計を用いて計測した。

2.3 平均粒子径・粒度分布測定

採取した澱粉ナノ粒子分散系をシリンジを用いてフローセルに注入し、ゼータ電位粒度分布測定装置（Delsa Nano HC, ベックマン・コールター（株））を用いて動的光散乱法により溶液内の澱粉粒子の散乱強度を測定し、平均粒子径と粒度分布を求めた。動的光散乱法は溶液や懸濁液中でブラウン運動している粒子にレーザー光を照射し、粒子からの散乱光のゆらぎを感知することで平均粒子径、粒度分布を測定する方法である [16].

2.4 span による粒度分布の評価

次式で表される相対 span 値を用いて粒度分布の広がり評価した。

$$\text{span} = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (1)$$

D_n : 累積頻度分布 $n\%$ における平均粒子径

span は相対的に粒度分布の広がり示す数値であり、その数値が大きいほど粒度分布の広がり大きく、数値が小さいほど粒度分布の広がり小さく平均粒子径が均一な試料であることを示す [17].

2.5 加圧熱水とイオン積

加圧熱水の反応場は亜臨界水を用いたものであり、温度・圧力を操作することでイオン積を増加させることができる。亜臨界水は常圧における沸点から臨界温度（374℃）までの温度域で加圧することにより液体状態を保った流体のことであり、常温常圧の流体とは異なった性質をもつ。常温常圧の水に比べて比誘電率が

Table 1 Experimental condition.

Concentration (% , w/w)	Pressure (MPa)	Temperature(℃)	Time(s)
0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1	2.5	180	4000
0.1	2.0, 2.5, 3.0	180	4000
0.1	2.5	140, 160, 180	3000, 3600, 4000

小さく、有機溶媒に似た性質を示し、亜臨界水は常温より高濃度に疎水性物質を溶解する [14]. さらに、水素イオンと水酸化物イオンの濃度の積であるイオン積が大きな値を示す. 室温における水のイオン積は 10^{-14} (mol/kg)² 程度であるが、200℃またはそれ以上の温度では 10^{-11} (mol/kg)² となり、約 1000 倍も大きくなり、亜臨界水が酸または塩基触媒として作用する可能性が予想される [14,15]. イオン積を求める式として Marshall-Franck の式が超臨界領域までの広範囲に適用できる計算式として提案されている. 反応場の到達温度と到達圧力から、下記の Marshall-Franck の式を用いて加圧熱水のイオン積を求めた [13,15].

$$\log K_w = A + B/T + C/T^2 + D/T^3 + (E + F/T + G/T^2) \log \rho_w \quad (2)$$

K_w : 水の解離定数 (mol/kg)², ρ_w : 水の密度 (g/cm³),

T : 温度 (K), A : -4.098,

B : -3.2452×10^3 (K), C : 2.2362×10^5 (K²),

D : -3.984×10^7 (K³), E : 13.957,

F : -1.2623×10^3 (K), G : 8.5641×10^5 (K²)

3. 結果及び考察

3.1 加圧熱水場の温度及び圧力変化

澱粉ナノ粒子調製装置における反応容器内の温度変化と圧力変化の一例を Fig. 2 に示す. 試料の温度は室温から緩やかに上昇し、180℃まで達する時間は約 4000 秒であった. 加えて、到達圧力については、3.5 MPa (初期圧力 2.0 MPa), 4.5 MPa (初期圧力 2.5 MPa), 5.0 MPa (初期圧力 3.0 MPa) に達した. 初期圧力が違って温度はほぼ同じように上昇した.

3.2 加圧熱水の澱粉溶液への効果

加圧熱水の効果を知るため、加圧熱水調製試料に加えて、圧力は大気圧、調製温度は 100℃に設定して調製した試料の粒度分布を Fig. 3 に示す. 大気圧-100℃で

Fig. 2 Temperature and pressure changes in compressed hot water. Temperatures change in initial pressures of 2.0 MPa (—○—), 2.5 MPa (—■—) and 3.0 MPa (---△---); pressures change in initial pressures of 2.0 MPa (—△—), 2.5 MPa (—■—), 3.0 MPa (---◇---).

Fig. 3 Particle distribution of waxy rice starch nanodispersion. Hot water with a temperature of 100℃ and an atmospheric pressure; The compressed hot water with an initial pressure of 2.5 MPa and final temperatures of 140℃, 160℃, 180℃.

Table 2 Mean particle size and span factors.

Processing		Mean particle size (nm)	Span
Concentration (2.5 MPa, 180℃)	0.05 % (w/w)	169.4	2.62
	0.10 % (w/w)	217.3	1.23
	0.30 % (w/w)	235.7	2.02
	0.50 % (w/w)	244.4	2.55
	1.0 % (w/w)	325.0	1.51
Pressure (0.1 % , 180℃)	2.0MPa	318.7	2.18
	2.5MPa	217.3	1.23
	3.0MPa	150.4	1.80
Temperature (0.1 % , 2.5 MPa)	140℃	530.2	1.01
	160℃	344.0	0.75
	180℃	217.3	1.23
Atmospheric pressure- 100℃		965.5	0.67

調製した試料の平均粒子径は 965.5 nm, span 値が 0.67 と非常に小さく, 平均粒子径が均一であった (Table 2). 粒度分布をみると, 粒子の大半が 1000 nm 付近に集中しており, 700 nm 以下の領域に分布は認められなかった. 加圧熱水で調製した試料の平均粒子径は大気圧 -100°C で調製した試料に比べて格段に小さかった. 粒度分布を観ると, 加圧熱水で調製した試料はいずれの試料においても 100 nm 以下の領域に分布が確認された. 大気圧 -100°C の試料では平均粒子径 100 nm 以下の小さな粒子が存在せず, 加圧熱水を用いて調製した試料においては粒子径 100 nm 以下の小さな粒子の分布が確認されたことから, 粒子径が 100 nm 以下の小さな粒子を含む澱粉ナノ粒子分散系を調製する手段として, 有用であることが示された.

さらに, 澱粉濃度 0.1% (w/w), 到達温度 180°C にし, 初期圧力を 2.0, 2.5, 3.0 MPa の 3 水準で処理することで, 加圧による平均粒子径, 粒度分布の違いを比較した (Fig. 4(b)). 調製時の圧力が大きいほど粒子径が小さくなる傾向にあった. 初期圧力を 3.0 MPa に設定して調製した際には平均粒子径 150 nm の澱粉ナノ粒子を得ることができた. いずれの試料も大気圧 -100°C で調製した試料に比べて平均粒子径が格段に小さくなった. 大気圧 -100°C の試料に比べて加圧熱水で調製した試料において span が大きくなり, 粒度分布の幅が広がった. 2.0, 2.5, 3.0 MPa の 3 水準において加圧の違いにより span 値に差がなかったことから, 圧力による粒度分布の広がりには差は認められなかった. 初期圧力 2.0, 2.5, 3.0 MPa のいずれの処理においても粒子径 100 nm 以下に分布が認められ, 初期圧力 3.0 MPa で調製したもののについては 100 nm 以下の累積頻度分布が 30% であった. 加圧することで平均粒子径の小さい澱粉ナノ粒子分散系を調製することができた. 本研究において, 同調製条件で試料を調製した場合, 平均粒子径, 粒度分布に多少の違いはあったが, それぞれの調製条件における平均粒子径, 粒度分布の傾向は変わらなかった.

3.3 濃度が平均粒子径・粒度分布に及ぼす影響

初期圧力 2.5 MPa, 到達温度 180°C にし, 澱粉濃度を 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0% の 5 水準にして処理することで澱粉の濃度による粒子の平均粒子径と span の変化を比較した (Table 2). 澱粉が低濃度の試料ほど平均粒子径が小さくなる傾向を示した (Fig. 4(a)). 澱粉濃度 0.05% (w/w) においては, 平均粒子径 169.4 nm というように粒子径が非常に小さかった. 一方, span の値については澱粉濃度による有意差はなく, 粒度分布の広がりについては確認されなかった. いずれの試料においても粒子径 100 nm 以下に粒子の存在を認めた. 澱粉濃度 0.05% (w/w) での処理においては, 粒子径 100 nm 以下の累積頻度分布が約 20% であった. 澱粉ナノ分散系の

Fig. 4 Particle cumulative frequency distribution of waxy rice starch nanodispersion.

濃度が 1.0% (w/w) までになると, 濃度 0.05~0.5% (w/w) の場合と比べて, 並進拡散係数や散乱強度 [18] が変化したために, 粒子径の値が若干大きく算出されたものと考えられる.

3.4 到達温度が平均粒子径・粒度分布に及ぼす影響

濃度 0.1%, 初期圧力 2.5 MPa にし, 到達温度を 180, 160, 140°C の 3 水準で処理することで, 加圧熱水場の温度による粒度分布の違いを検討した (Fig. 4(c)). 熱水の温度が高いほど平均粒子径が小さくなる傾向にあった (Table 2). 到達温度 180°C で調製した試料では平均

粒子径が 217.3 nm となった。大気圧-100℃で調製した試料では span 値が最小値 0.67 であり、加圧熱水で調製した試料では span 値が大きくなり、粒度分布が広がった。到達温度 180, 160, 140℃の3水準において span 値に温度による有意差がなく、到達温度による粒度分布の広がりへの違いは認められなかった。大気圧-100℃で調製した試料では 100 nm 以下に分布はなかったが、140, 160, 180℃でのいずれの処理でも粒子径 100 nm 以下に分布が認められた。調製温度が高いほど澱粉鎖の切断が促進され、温度上昇により加圧熱水中のイオン積が室温で大気圧下の約 400 倍まで増加し、澱粉の加水分解を促したためであると考えられる。

3.5 イオン積と平均粒子径の関係

先に述べたように加圧熱水の反応場は亜臨界水を用いたものであり、温度・圧力を操作することでイオン積が増加する。温度・圧力を操作することで解離された水素イオン H^+ と水酸化物イオン OH^- により澱粉の加水分解を促進することができる [11, 13-16]。反応場の温度と圧力から、超臨界領域までの広範囲に適用できる計算式として提案されている Marshall-Franck の式を用いて加圧熱水のイオン積を求め、イオン積と平均粒子径との関係について調べた。Table 3 に初期圧力 2.5 MPa-180℃, 160℃, 140℃, 大気圧-100℃の各条件におけるイオン積を示した。イオン積は大気圧-100℃において $10^{-12.2591} (\text{mol/kg})^2$ であり、2.5 MPa-180℃において $10^{-11.4148} (\text{mol/kg})^2$ であった。Fig. 5 に水のイオン積と澱粉の平均粒子径の関係を示した。澱粉の平均粒子径は、水のイオン積が $10^{-12.2591} (\text{mol/kg})^2$ の場合には平均粒子径が 965.5 nm、水のイオン積が $10^{-11.4148} (\text{mol/kg})^2$ の場合には平均粒子径 217.3 nm であった。2.5 MPa-180℃, 2.5 MPa-160℃, 2.5 MPa-140℃, 大気圧-100℃の4つの処理条件における水のイオン積と澱粉の平均粒子径の違いをまとめると、平均粒子径の変化とイオン積の変化には負の相関 ($R^2=0.99$) があり、水のイオン積が大きいほど澱粉の平均粒子径が小さくなることがわかった。水のイオン積が大きい場合には、水から解離した水素イオン H^+ と水酸化物イオン OH^- により澱粉の加水分解が促進され、平均粒子径の小さな澱粉粒子が加圧熱水によって調製されるものと考えられる。より高温、高压の反応場を作ることによって水のイ

Fig. 5 Relation of ionic product and average particle size of waxy rice starch. Experimental condition: an initial pressure of 2.5 MPa and temperatures of 140℃, 160℃ and 180℃; atmospheric pressure and temperature of 100℃.

オン積を増加させ、澱粉粒子の平均粒子径をより小さいものにできる可能性がある。

4. 結 論

本実験の操作範囲内において、澱粉の平均粒子径は圧力・温度条件に依存し、澱粉濃度が低いほど平均粒子径は小さくなり、加圧熱水反応場の圧力と温度が大きいほど平均粒子径は小さくなった。澱粉濃度 0.1% (w/w)、初期圧力 3.0 MPa、到達温度 180℃という調製条件において平均粒子径は 150.4 nm になり、粒子径 100 nm 以下の累積分布が約 30% であり、本実験における最小の平均粒子径をもつ試料が得られた。本実験の操作範囲において温度、圧力、澱粉濃度を操作することで澱粉を所定の平均粒子径まで微細化することが示唆された。また、大気圧-100℃で処理した場合においては 100 nm 以下に分布を確認できず、加圧熱水を用いて調製した場合にはいずれの試料においても 100 nm 以下に分布があった。このことから加圧熱水によるナノスケール微細化は澱粉を粒子径 100 nm 以下の小さな粒子が含まれるように微細化する際に有効な手法であることがわかった。粒度分布の広がりを示す span には、調製条件による規則性は見られなかったが、大気圧-100℃で調製した試料に比べていずれの試料も大きく、粒度分布の広がりが大きくなった。澱粉ナノ粒子分散系には粒子径 100 nm 以下の小さな粒子から 1000 nm 程の大きな粒子まで存在しており、粒子径分布が、より均一な試料の調製が課題のひとつとしてあげられる。加圧熱水の反応場のイオン積と調製粒子の平均粒子径に相関があった。

Table 3 Experimental condition and ionic product.

Processing	log(Kw)
2.5 MPa-180℃ (4.4 MPa)	-11.4148
2.5 MPa-160℃ (3.95 MPa)	-11.5466
2.5 MPa-140℃ (3.55 MPa)	-11.7534
Atmospheric pressure- 100℃	-12.2591

謝 辞

本研究は、基盤研究(C) 課題番号 23589157, 一部は食品ナノテクノロジープロジェクトで実施されていることを記し、謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) S. F. Chin, S. C. Pang, S. H. Tay; Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydr. Polym.*, **86**, 1817-1819 (2011).
- 2) H. Okadome; "Micro-nano scale pulverization of starch based food products and its properties" (in Japanese), S. Adachi, M. Nakajima, S. Sugiyama (eds.), *Advances in Nanotechnology for Food Products*, CMC Publishing Co., Ltd., Japan, 2013, pp. 109-119.
- 3) A. Rodrigues, M. Emeje; Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. *Carbohydr. Polym.*, **87**, 987-994 (2012).
- 4) D. M. A. M. Luykx, R. J. B. Peters, S. M. van Ruth, H. Bouwmeester; A review of analytical methods for identification and characterization of nano delivery systems in food. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 8231-8247 (2008).
- 5) N. Sozer, J. L. Kokini; Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends Biotechnol.*, **27**, 82-89 (2009).
- 6) V. J. Morris; Emerging roles of engineered nanomaterials in the food industry. *Trends Biotechnol.*, **29**, 509-516 (2011).
- 7) F. Chivrac, Ericpollet, L. Averous; Progress in nano-biocomposites based on polysaccharides and nanoclays. *Mater. Sci. Eng.*, **67**, 1-17 (2009).
- 8) H. Angellier, S. Molina-Boisseau, P. Dole, A. Dufresne; Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromol.*, **7**, 531-539 (2006).
- 9) S. Saito; Rice starch and rice powder as materials for food industry (in Japanese). *Denpun Kagaku*, **27**, 295-313 (1980).
- 10) Y. Kaneko, J. Kadokawa; Biomacromolecules as organic resources (in Japanese). *Nippon Gomu Kyokaishi*, **81**, 3 (2008).
- 11) D. L. Corre, J. Bras, A. Dufresne; Starch nanoparticles: A review. *Biomacromol.*, **11**, 1139-1153 (2010).
- 12) S. Ueno, M. Anzai, T. Shigematsu, T. Fujii; Kinetic analysis of partial decomposition of starch in hot-compressed water (in Japanese). *Jpn. J. Food Eng.*, **9**, 143-150 (2008).
- 13) W. F. Marshall, E. U. Franck; Ion product of water substance, 0-10000°C, 1-10000 bars, new international formulation and its background. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **10**, 295-304 (1981).
- 14) S. Adachi; Subcritical fluid: Its properties and utilization (in Japanese). *Kagaku to Seibutsu*, **47**, 697-702 (2009).
- 15) T. Mizuno; Properties and application of supercritical water (in Japanese). *Zairyou to Kankyō*, **47**, 298-305 (1998).
- 16) C. Tokoro, Y. Okano, H. Sasaki; Coagulation kinetics of monodispersed polystyrene latex particles by dynamic light scattering method (in Japanese). *Shigen to Sozai*, **116**, 193-197 (2000).
- 17) E. P. Herrero, E. M. Martín Del Valle, M. A. Galán, Modelling prediction of the microcapsule size of polyelectrolyte complexes produced by atomization. *Chem. Eng. J.*, **121**, 1-8 (2001).
- 18) S. Podzimek; "Light scattering, size exclusion chromatography and asymmetric flow field flow fraction", John Wiley & Sons, Inc. Publication, USA, 2011, pp. 59-63.

要 旨

加圧熱水の反応場を用いてモチ米澱粉のナノスケール化を行った。澱粉の濃度、加圧熱水の圧力と温度をそれぞれ操作し、調製条件の違いによる澱粉粒子の性質の違いを観察した。澱粉粒子の性質としてゼータ電位・粒度分布測定装置を用いて平均粒子径と粒子径分布を測定した。澱粉の平均粒子径は調製条件に依存し、濃度が小さいほど平均粒子径は小さくなり、圧力と温度が高いほど平均粒子径は小さくなった。濃度 0.1% (w/w)、初期圧力 3.0 MPa、到達温度 180°C という調製条件において平均粒子径が 150.4 nm となり、本実験における最小の平均粒子径を示すことが明らかになった。また、100 nm 以下の粒子が約 30% であった。本実験の操作範囲において温度、圧力および濃度を操作することで平均粒子径を制御し、目的に応じた平均粒子径の試料を調製できることが示唆された。また、大気圧 -100°C で調製した場合においては 100 nm 以下の成分が確認できず、加圧熱水を用いて調製した場合ではいずれの試料においても 100 nm 以下に粒子の分布が認められた。このことから加圧熱水は平均粒子径 100 nm 以下の小さな粒子を調製する手段として有効であることがわかった。さらに、圧力と温度から Marshall-Franck の式を用いて求めた水のイオン積によって、加圧熱水の反応場の特性を評価できることが明らかになった。