散乱光による澱粉粒のアルカリ膨潤の新測定法

光散乱アルカリアミログラフィー

村山 登, 鈴木 裕* (農林省農業技術研究所, *香川大学農学部)

昭和 40 年 6 月 7 日 受 理

Light-Scattering-Alkali-Amylography, a New Method for Determining the Alkali-Susceptibility of Starch Granules by the Measurement of Scattered Light

By Noboru MURAYAMA and Hiroshi SUZUKI*

National Institute of Agricultural Sciences; *Faculty of Agriculture, University of Kagawa

Alkali-susceptibilities of various starch granules were exhibited well by a new method, light-scattering-alkali-amylography. The method was established as follows: Ten cc of 0.2~0.5% starch suspension in a test tube with a stopper was put in an electric nephelometer and the intensity of scattered light was adjusted to 100%. A definite amount of 3N KOH solution, usually 0.1 cc, was added to the suspension, the suspension was turned over several times and kept at constant temperature, and the intensity of scattered light was determined 5 or 10 minutes after the addition of alkali. Thus, a curve of light intensity against normality of alkali was obtained by the use of less than 0.5 g starch within an hour. This method could show if a sample starch was a mixture of an alkali-resistant and an alkali-susceptible starches.

(Received June 7, 1965)

澱粉粒の懸濁液に熱または化学薬品を作用させると、粒が膨潤しつつ崩壊する。この澱粉粒の糊化過程において、懸濁液の粘性と透光度が増えることは広く知られている現象である。これら澱粉粒子の膨潤と崩壊の過程を現わすものとして従来は、澱粉懸濁液の粘度⁽¹⁾や透明度⁽²⁾の変化を測定する例が多く、特殊な場合として顕微鏡による観察⁽³⁾や溶解度と膨潤度の測定によるグラフ化⁽⁴⁾も試みられている。以上の方法はいずれも澱粉粒子の膨潤と崩壊の過程を密接に反映しているため、各種澱粉の特性を表示するものと考えられている。通常利用されている澱粉懸濁液の粘度の変化や透光度の変化は、澱粉粒子の熱または化学薬品による性状変化を測定するものではあるが、澱粉粒子の変化に対してはいずれも間接的な測定といえよう。

そこで澱粉粒子からの散乱光 (Tyndall 光) を直接測定することにより、アルカリによる澱粉粒子の崩壊性の差異を明らかにする実験方法を設定しようと試みた。こうして設定された本法も、これまでの粘度あるいは透光

度測定による方法と同様に、澱粉のアルカリによる性状変化を反映しこれをグラフ化するものであるから、そこで得られた曲線は当然広い意味でのアミログラフィーの一種と考えられる。この立場からすれば、ここに設定された方法は 1 つの新らしいアミログラフィー、すなわち光散乱アルカリアミログラフィーと称すべきものである。

実 験 方 法

I. 実験装置

コタキ製作所製 A.K.A. 5 号 D 型光電管比色計に付属の比濁計補助装置を装着して使用した。これは通常の比色計において吸収セルの入るボックスを上記補助装置と交換したもので、光源からの光が鏡によって 90 度回転して測定容器に入り、試料によって散乱された光が入射光と直角の位置にある光電管に入るようになっている。

本装置に付属した測定容器は、直径 20 mm, 内容約 20 cc の共栓付試験管型のものである。

II. 実験操作

一定濃度の澱粉乳液 10 cc を上記測定容器にとり、十分攪拌して比濁装置にかけ、澱粉の種類と濃度に応じて絞りと感度を調節して、散乱光量を 100% に合わせる。なお光源からの光はフィルターなしの白色光を用いる。次にマイクロビュレット（パング 2 cc）より 3 N KOH 液を一定量加え振盪して定温に保ち、所定時間後再び振盪して散乱光量を読みとる。これを繰り返して、アルカリ添加の度に対応する測定値を得て、毎回の値をその時のアルカリ濃度または添加量に対して点描していけば、求めるグラフが得られる。

(1) 試料の調製：通常は澱粉 0.25 g を採取し、蒸留水 50 cc を加え十分攪拌して原液とする。0.5% 液で測定する場合はそのまま 10 cc を測定容器にとり、他の濃度の場合は原液の一定量を必要量の水で希釈して全容を 10 cc とする。原液の秤取は攪拌しながら迅速に行なう。

(2) アルカリの種類と濃度：鈴木、武富⁽⁵⁾にならって KOH を用い、濃度は 3 N とした。アルカリ添加による澱粉乳液のアルカリ濃度は鈴木ら⁽⁵⁾の示した式によって計算できる。

(3) アルカリの添加量と測定時間：鈴木ら⁽⁵⁾は澱粉懸濁液のアルカリ濃度から逆算して、毎回 0.01 N の増となるようにアルカリ添加量を定めたが、ここでは実験の便宜上アルカリ添加量は 0.10 cc を標準とした。この実験の範囲内では毎回 0.03 ないし 0.02 N の増となる。濃度は必要に応じて上述の関係式が相関図から求めた。澱粉粒の膨潤開始直前までと、膨潤がほぼ完了してからはアルカリ添加量を適宜増加した。

アルカリ添加から測定までの時間については、鈴木ら⁽⁵⁾にならって 1 サイクル 5 分間隔とした。すなわちアルカリを添加して振盪・保温し、5 分後に散乱光を測定する方式を繰り返した。この時間をさらに短縮することは操作上可能であるが、5 分間隔程度が実際上好都合である。時間の短縮は 2 試料を 2~3 分間隔で交互に処理することによって行ない得る。

(4) 測定時の温度：スライダックで調節できるようにしたマグネチックスターラー付の電気定温湯煎を用い、常時攪拌して所定の温度に保った。湯煎中の水は蒸留水を使用し、測定容器をこの中に懸垂して保温した。

(5) 振盪：アルカリビスコグラフィ⁽⁶⁾の場合は攪拌を一定にすることに留意されているが、本法では攪

拌は本質的にあまり影響がない。本法は一種の濁度測定であるから、測定時の澱粉粒子の懸濁状態が均一であることを必要とする。従って測定の前によく振盪して迅速に測定することが大切である。ただし糊化が進んでからは、過度の振盪はかえって気泡をとりこんで誤差の因となる。一般に 1 サイクル毎にアルカリの添加時・保温途中・測定直前の 3 時期に、測定容器を数回上下転倒して振盪することで十分である。

実験結果とその検討

I. 操作条件の吟味

(1) 試料濃度の影響：昭和 37 年にポットに普通栽培した金南風を穂揃期から 30° の定温ガラス室に入れて登熟させて得た米からアルカリ法⁽⁶⁾によって精製した米澱粉と、水稻農林 25 号の茎部（稈と葉鞘）から分離しアルカリ法によって精製した茎澱粉を試料として、0.1~0.5% の濃度で検討した結果は第 1 図に示すとおりである。いずれの場合も、散乱光量が急速な低下を示すアルカリ濃度は極めてよく一致する。従って濃度の設定はそれほど厳密を要しない。しかし第 1 図に見られるように、濃度が余り薄いと澱粉粒子が急速に崩壊するまでに読みの低下が著しいので、普通は 0.25% 位が適当と思われる。ただし澱粉の種類を異にした場合は、粒の大小によって同一濃度でも散乱光量が著しく異なるから、大粒の澱粉たとえば馬鈴薯の場合では 0.5% 位の濃度が適当である。なお本実験法ではその操作上試料液に対してアルカリ液が添加されるため、単なる希釈による散乱光量の変化もあるはずである。しかしアルカリ液の代り

第 1 図 澱粉濃度の影響

(1) —○— 0.25% } 米澱粉 (4) —●— 0.50% } 茎澱粉
 (2) —△— 0.20% } (5) —▲— 0.20% }
 (3) —×— 0.10% } (6) —+— 0.10% }

に蒸留水を添加した実験結果によれば、供試液 10cc に対し 2.0~2.5 cc の水を加えた範囲では測定値の変化に本質的な影響はない。

(2) アルカリ濃度の影響： 添加するアルカリ濃度は濃い方が試料溶液の濃度増大に少量で有効であるが、誤差を生む可能性も多い。そこでポット栽培の金南風を 17° の定温ガラス室中で登熟させた米の澱粉を試料として、3N と 1.5N の場合について比較した。結果は第2図(A)に示すが、両者間にはほとんど差はない。従って実験の迅速化のためには 3N の KOH で十分と考えられる。

(3) サイクル時間の影響： アルカリ添加の時間的間隔を検討するため、1 サイクルを 5 分とした場合と 10 分とした場合とを比較した。その結果第2図(B)に示すように、10 分法の場合の方がやや早く曲線の低下が認められるが、本質的には全く変らない。実験時間の短縮と

第2図 アルカリ濃度及びサイクル時間の影響

(1) —○— 3N (3) —●— 10分法
(2) —△— 1.5N (4) —▲— 5分法

(B) 注) 25° と 21° で登熟させた金南風米澱粉の等量混合物
0.25% 分散液 1.5N KOH 使用

第3図 温度の影響
(1) —○— 35° (2) —△— 25°

いう点からは 5 分法で十分であることがわかる。

(4) 温度の影響： 実験中の温度条件の検討のために、電気湯煎の温度を 25° 及び 35° に保った場合について比較して第3図を得た。試料は 25° で登熟させた金南風からアルカリ法で精製した澱粉と、市販の玉蜀黍澱粉と甘藷澱粉とを稀アルカリで精製したものである。温度が上昇すると粒子が崩壊を起すアルカリ濃度は若干低くなるが、それほど大きなものではない。

以上のように操作条件を吟味した結果、本法の操作法を最初に述べたように決定した。

II. 澱粉粒子の膨潤崩壊過程

本法の操作中澱粉粒子がどのように膨潤崩壊し、測定値とどのような関係にあるかを知るために、顕微鏡写真を撮影した。これ(次ページ)によれば本法による特性曲線が、実際の澱粉粒子の膨潤崩壊をよく反映していることがうかがわれる。なお写真は暗視野照明で行なっているから、白点は粒子の存在を示すが形状その他は必ずしも正確ではない。しかし粒子の膨潤崩壊のようすは多少うかがうことができる。

III. 各種澱粉の差異

本操作法によって市販の澱粉を稀アルカリで精製した各種の試料について、グラフを画いた結果を第4図(A)に示す。これによれば各種澱粉粒子のアルカリ抵抗性がよく比較でき、従来の報告と一致するのが認められる。水稻茎澱粉試料は大量に得難いため、従来定性的にまた写真などによって検討表示されたのであるが⁽⁷⁾、本法に

第4図(A) 各種澱粉の光散乱アルカリアミログラフィ

(1) —●— ばれいしょ (3) —△— とうもろこし
(2) —×— 小麦 (4) —○— さつまいも

第 4 図(B) 水稻茎澱粉の光散乱アルカリアミログラフィ

- (1) —●— 収穫時茎澱粉 (3) —○— 穂摘時茎澱粉
 (2) —△— 乳熟時茎澱粉 (4) —×— 収穫時子実澱粉
 (出穂時に穂を切除して茎に多量の澱粉を蓄積させたもの)

第 4 図(C) 登熟時に温度処理をした水稻子実澱粉

- (1) —▲— 17° 区 (4) —△— 25° 区
 (2) —●— 21° 区 (5) —○— 30° 区
 (3) —×— 野外区

よれば簡易・迅速にその特性を知ることができる。水稻農林 25 号の茎部分から分離し、アルカリ法で精製した茎澱粉を試料とした場合の実験結果を第 4 図 (B) に示す。先に指摘したように⁽⁷⁾、水稻の茎に蓄積する澱粉も採取の時期によってアルカリ抵抗性を異にすることが認められる。また第 4 図 (C) は昭和 37 年に登熟時の温度条件を変えて登熟させた水稻の米澱粉についての実験結果であるが、温度処理によって同一作物の澱粉であってもアルカリ抵抗性は明らかに異なっている。これらの結果から本法がアルカリ抵抗性を異にする各種澱粉の特性

比較に有用であることがうかがわれる。

IV. 混合澱粉の分離検討

アミログラムの検討から混合澱粉の推定を行ない得ることは Morgan⁽⁸⁾ によって指摘されているが、本法によってはどのようなかを知るために若干の検討を行なった。Morgan は異種植物の澱粉混合物について顕微鏡下で粒の形態から植物種を確認した後、その混合比を推定することに重点をおいているが、ここでは同一植物種からの澱粉で顕微鏡下では全く区別し得ないが、アルカリ抵抗性は異なるものが混在した場合に、本法によってなんらかの推定を行ないうるかどうかについて検討した。

(1) 混合比を異にした場合： 本法による特性曲線が著しく異なっている 2 種類の米澱粉と甘藷澱粉を用い、全体の濃度を一定として両者の混合比を変えた場合の結果を第 5 図 (A) と (B) に示す。これによれば、特性が著しく異なっている 2 種の澱粉の曲線範囲にわたって、2 段曲線が画かれることがわかる。米澱粉の場合から判断すれば、薄いアルカリに溶け易い澱粉 (a) が多量で、抵抗性の強い澱粉 (b) が少量の場合は、その混合比がかなり偏っていても混合物であることが判断されるが、逆に (b) 澱粉が多く (a) 澱粉が少量混合しているような場合 (第 5 図 (A) の 1:4 の時など) は、この曲線だけでは混合物であるという判定はやや困難である。第 5 図 (A) と (B) の比較から推定されるように、アルカ

第 5 図 (A) 混合米澱粉の光散乱アルカリアミログラフィー

- (1) —●— 17° で登熟した米澱粉 (a)
 (2) —○— 37° で登熟した米澱粉 (b)
 (3) —△— a:b=1:4 (5) —x— a:b=4:1
 (4) —•— a:b=2:3 (6) —▲— a:b=9:1
 試料濃度は 0.25%

第 5 図 (B) 混合甘藷澱粉の光散乱アルカリアミログラフィー

- (1) —●— 20° で肥大した甘藷澱粉 (a)
 (2) —○— 30° 付近で肥大した甘藷の澱粉 (b)
 (3) —x— a:b=1:1
 試料濃度は 0.5%

第 5 図 (C) 混合米澱粉の光散乱アルカリアミログラフィー (米澱粉混合物 a:b=1:4 の濃度を異にした場合)

- (1) —x— 0.25% (2) —○— 0.125%
 (3) —△— 0.08%

リ抵抗性の差異が少なくなるにつれて、混合物の曲線の変曲点は判別し難くなる。この場合は曲線の形状からだけでは混合物であると判定しえなくなるが、グラフは両者の曲線範囲にわたって、幅広く緩やかな傾斜を示す。

(2) 混合物の濃度を異にした場合： 第 5 図 (A) の (a) と (b) の両澱粉の 1:4 混合物を、濃度を覚えて検討してみると第 5 図 (C) が得られる。これによると供試濃度を低下すれば、この場合も 2 段曲線の傾向が見られ、混合物であるとの判定が可能となってくる。以上によ

て、未知の試料の本実験法によるグラフが2段曲線かあるいは幾つかの変曲線を持つ曲線を示す時は、異質のもの混合物であることが推定される。また曲線の傾斜が著しく緩やかな場合は、たとえ2段曲線かあるいは幾つかの変曲点を持つ曲線を示さなくても、特性の類似した幾つかの澱粉の混合物ではないかとの推察は可能であろう。たとえば第4図(B)の曲線2に見られるような場合である。また前述のように、測定条件を種々改変することによって分離測定しうる可能性も検討の余地があるものと思われる。いずれにしても本法を利用して、顕微鏡下では全く識別しえない試料澱粉であっても、特性の異なる澱粉の混合物であるか否かについて、ある程度の推定を下すことは可能であろう。

一般にアミログラフィーによって各種澱粉の糊化特性の判定がなされうるが、本法ではフォトペーストグラフと同様か、あるいはそれ以上にきわめて少量の試料(0.25 g 以下)で、しかも簡単に実施しうる特徴を持っている。その上2試料の測定が多くとも50分で済むなど、実験に要する時間が短かく、再現性が高いという利点も持っている。また他の諸法と異なり、澱粉粒子からの散乱光を直接測定するため、澱粉粒子そのものの膨潤崩壊の過程を鋭敏に反映しうるものと考えられる。

要 約

比濁装置をつけた光電管比色計を利用し、澱粉粒子のアルカリによる膨潤崩壊の過程を、その散乱光を測定することによりグラフ化する方法を設定し、測定条件について検討した。この方法によれば、澱粉のアルカリ膨潤と崩壊の特性を少量の試料で簡易・迅速に知ることができる。また顕微鏡によっては識別しえない異質澱粉の混合物についても、ある程度の推定を下すことが可能となった。

終りに臨み本報告を御高聞の上有益な御校言を賜わった大阪大学産業科学研究所長二国二郎先生に深く感謝いたします。

- (1) 二国二郎編：デンプンハンドブック，朝倉書店，p.340 (1961)。
- (2) 二国二郎編：同上，朝倉書店，p.347 (1961)。
- (3) 二国二郎編：同上，朝倉書店，p.344 (1961)。
- (4) 二国二郎編：同上，朝倉書店，p.348 (1961)。
- (5) 鈴木晴男，武富 昇：工化，59(1)，45(1956)。
- (6) 佐藤静一：米および米澱粉に関する研究，大雅堂，p.12 (1944)。
- (7) 村山 登，塚原貞雄，川原崎裕司：昭和37年度農業技術研究所化学部作物栄養科成績書。
- (8) W.L. Morgan：Ind. Eng. Chem.，12(6)，313 (1940)。