

澱粉と界面活性剤の複合体形成に関する研究

Study on the Complex Formation of Starch and Surfactant

山本 郷湖*, 湯口 宜明*

Kyoko Yamamoto* and Yoshiaki Yuguchi*

Abstract

Starch is mixture of amylose and amylopectin. Amylose is α -1,4 linked glucose linear chain, while amylopectin has the branched structure from amylose chain. Amylose chain tends to have helical conformation and can include molecules in that cavity. In this study we prepared the complex of starch and surfactant by mixing at solution state, then analyzed their dried or wet samples by X-ray diffraction method (XRD) and small angle X-ray scattering (SAXS). We observed the characteristic peaks in XRD pattern of mixture of starch and surfactants with single hydrocarbon chain, which indicated the V-type crystalline structure. SAXS results showed the cluster structure in complex samples. On the other hand we could not observe the complex of starch and surfactant with double hydrocarbon chains.

1. はじめに

澱粉は α -D-グルコースが α -1,4 結合した直鎖状構造のアミロースと, α -1,6 結合の部分から枝分かれした分岐構造をもつアミロペクチンの混合物である(図 1 参照). また, その含有比率等が米の食感などに影響を与えていることから, 食品業界において分子レベルの研究についても重要と考えられる.

澱粉の性質として, 澱粉粒が溶けて糊のように粘り気のある状態を糊化, 溶けた澱粉を放置しておくくと白く固くなり結晶性が高くなることを老化という. アミロース鎖はらせん構造をとりやすく, アミロペクチンにおいては分岐鎖が 2 重らせん構造をとり結晶化している. また, その結晶構造には主に A 型と B 型の 2 種類^{[1],[2]}があり, A 型の澱粉はとうもろこしや米などの地上にできる作物に多く見られる型であり, B 型の澱粉は薯などの地中にできる作物に多く見られる型である. アミロース鎖はらせん構造をとることによりその中空部に脂質などの分子を包接できる. ヨウ素呈色反応は, アミロース鎖がらせんを組みその中にヨウ素分子を包接しているために起こる反応である.

アミロースを溶解させた溶液に界面活性剤の溶液を添加すると, アミロース鎖がらせん構造をとり, 界面活性剤の炭素鎖の部分にアミロースが巻きついたような形になる. 結晶構造はアミロースがらせん構造をとるため V 型という型^{[3],[4]}を示すようになる. 界面活性剤がアミロースに包接され複合体を形成することはすでに報告されている^[5]. また溶性澱粉と界面活性剤が複合体を形成することについて報告されている^[6]. アミロペクチン試料と界面活性剤の複合体は, 界面活性剤がアミロペクチンの粘性に及ぼす影響^[7]や示差走査熱量測定による研究^{[7],[8]}がされているが, 結晶構造についての詳しい報告などは十分ではない. そのため, 本研究ではアミロースに炭素鎖長や電荷の異なるさまざまな界面活性剤

*大阪電気通信大学大学院 工学研究科 先端理工学専攻

を添加し複合体を形成させることと、アミロペクチンに界面活性剤を添加し複合体を形成させ、広角 X 線回折測定(X-ray diffraction, XRD), 小角 X 線散乱測定(Small angle X-ray Scattering, SAXS)を用いて分子集合体構造を調べることを目的とした。

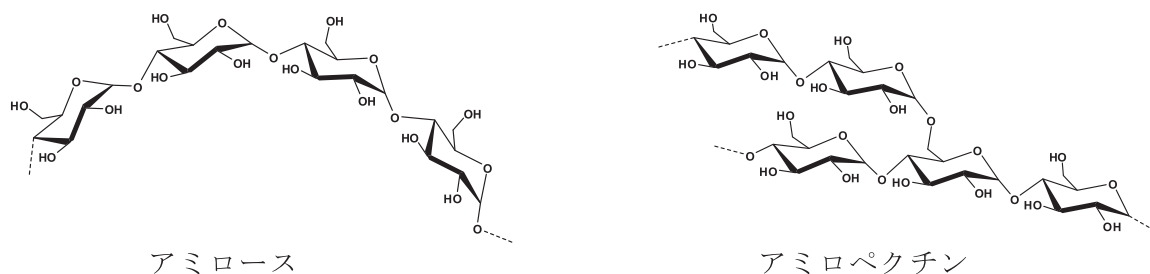


図 1. アミロース及びアミロペクチンの化学構造

2. 実験方法

2.1 試薬

澱粉はアミロースとして Amylose EX-I(林原製 DP=17), アミロペクチンとして Lintner's Soluble Waxy cornstarch (林原製 Mw:1.63×10⁵)を用いた。ここで、アミロース試料はアミロース(EX-I)と表記し、アミロペクチン試料についてはアミロペクチン(Lintner)と表記する。1 本鎖の界面活性剤には、Sodium Dodecyl Sulfate (以下 SDS と略す), Sodium Tetradecyl Sulfate (以下 STS と略す), Sodium Hexadecyl Sulfate (以下 SHS と略す), Trimethyl Stearyl Ammonium Chloride (以下 STAC と略す)を使用し、炭素鎖が 2 本のものには、Dimethyl Distearyl Ammonium Chloride (以下 DDAC と略す)を使用した。また二重結合(Cis 体)を含む界面活性剤として Linoleic Acid Sodium Salt (以下 LASS と略す), Oleic Acid Sodium Salt (以下 OASS と略す)を使用した(図 2 参照)。

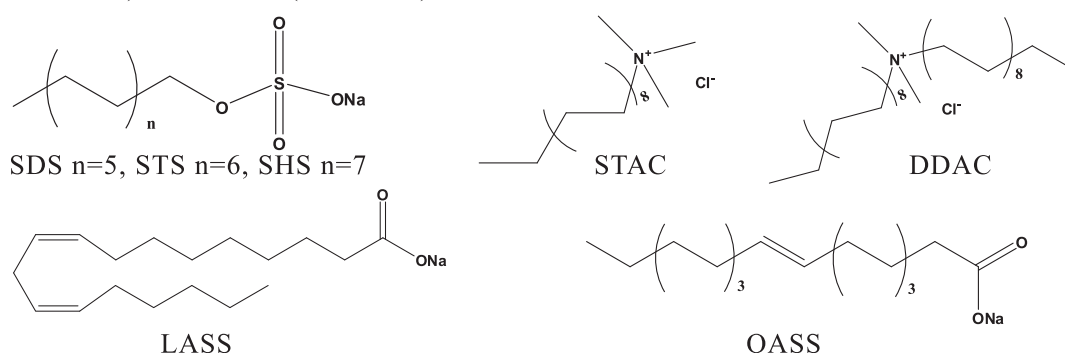


図 2. 各種界面活性剤の化学構造

2.2 アミロース(EX-I)と界面活性剤の混合試料の調製方法

アミロース(EX-I)は加圧加熱することができるハイパーグlasta(耐圧硝子工業株式会社製)を使用して、135℃で加圧加熱し溶液を調製した。その後、室温まで冷まし溶液を取り出したが、アミロース(EX-I)がすでに沈殿していたため、約 80~85℃のウォーターストームで再加熱した。しかし、均一には溶けておらず、分散状態であった。

界面活性剤 SDS, STS, SHS, STAC, DDAC, LASS, OASS はそれぞれあらかじめウオ

ウォーターバスで溶かし、溶液を調製してからアミロース(EX-I)と混合させた。DDAC の場合のみ、水に溶解させた後 DDAC がゲル状であったため、混合後、ウォーターバスにて再加熱を行った。溶液調製時の各濃度は表 1 に示す。例えば DDAC は水への溶解度が低いため、高い濃度条件で分散させた。

LASS 以外の複合体試料は 1 日または 3 日間静置後、固体試料を得るため 1 日間 70℃で乾燥させた。LASS 系の複合体試料のみ 7 日間静置後、遠心分離(5000rpm, 15min.)にかけ、沈殿物等に分け後乾燥させ固体試料を得た。そして、複合体試料を乳鉢で粉砕し粉末試料を得た。

表 1. Amylose と界面活性剤の混合液の濃度

試料	濃度(wt%)	試料	濃度(wt%)	試料	濃度(wt%)
Amylose	4.5	Amylose	4.5	Amylose	5.0
SDS	0.25	STAC	0.5	OASS	2.5
STS	0.5	DDAC	4.5	LASS	5.0
SHS	0.5				

2.3 アミロペクチン(Lintner)と界面活性剤の混合試料の調製方法

アミロペクチン(Lintner)は約 90℃のウォーターバスで加熱し、溶液を調製した。

界面活性剤には SDS, STS, SHS, STAC, DDAC, OASS, LASS を使用し、溶液の調製方法としてはアミロース(EX-I)のときと同様の調製方法で溶液を調製し、混合させた後、均質化するために 80℃~90℃で 20 分~40 分程度、再加熱を行った。各濃度は表 2 に示す。

複合体試料を 1~4 日静置後、1~4 日間乾燥機で乾燥させ、固体試料を得た。この試料についても乳鉢で粉砕し、粉末試料を得た。

表 2. Amylopectin と界面活性剤の混合液の濃度

試料	濃度(wt%)	試料	濃度(wt%)	試料	濃度(wt%)
Amylopectin	4.5	Amylopectin	4.5	Amylopectin	5.0
SDS	0.25	STAC	0.5	OASS	2.5
STS	0.25	DDAC	4.5		
SHS	0.25	LASS	4.5		

2.4 広角 X 線回折と小角 X 線散乱の測定条件

アミロース(EX-I)と界面活性剤の複合体と、アミロペクチン(Lintner)と界面活性剤の複合体の形成を確認するために広角 X 線回折(X-ray diffraction, 以下 XRD と略す)を測定した。XRD 測定は RINT Ultima⁺(理学電機株式会社製)を使用し、CuK_α線(波長λ=0.154nm)を用い、スキャン角のステップ幅は 0.020° , 発散スリットおよび散乱スリットは 1° , 受光スリット幅は 0.8mm, 積算時間は 1.0 秒とした。試料は粉末とした。小角 X 線散乱(Small angle

X-ray Scattering, 以下 SAXS と略す)測定については大型放射光施設 SPring-8 にあるステーション BL40B2 にて測定を行った。試料に入射 X 線(波長 0.1nm)を照射し, 試料からの散乱 X 線を, カメラ長約 1m を通じて検出器イメージングプレートにて二次元の等方的な散乱データを検出した。そして二次元等方的な散乱データを円平均化し, 一次元データを得た。ここで測定試料には約 50%の水分を添加した。このため水分を含む試料からの散乱を, 水からの散乱で引き算し, 試料からの散乱とした。

3. 結果・考察

3.1 アミロース(EX-I)と界面活性剤の混合試料

アミロース(EX-I)と SDS, STS, SHS のそれぞれの混合試料についての XRD 測定結果を図 3 に示す。またアミロース(EX-I)と LASS, OASS の混合試料, アミロース(EX-I)と STAC, DDAC の混合試料についての XRD 結果を図 4, 図 5 にそれぞれ示す。混合試料の XRD 結果については, アミロース(EX-I)と界面活性剤それぞれ単体で XRD 測定したときに観測されるピークはなく, 新たな角度にピークが観測された。SDS, STS, SHS, LASS, STAC のそれぞれの混合物については 3 つの新たなピークが見られ, OASS の混合物については 4 つのピークが見られた。面間隔 d は以下のブラッグの式より求めた。

$$2d\sin\theta=n\lambda \quad (1)$$

ここで 2θ は回折角, λ は入射 X 線の波長, n は自然数である。回折ピークの値は文献にあるアミロースが界面活性剤などに 6 回らせん程度の形で巻き付いて形成される V 型結晶構造と考えられる。複合体の分子モデルを図 6 示す^[9]。得られた 3 つの回折ピーク (表 3 参照) の実験値は, 面間隔が約 0.4nm, 0.7nm, 1.1nm となっており, V 型結晶形の文献値と一致している^{[10],[11]}。

DDAC の混合試料については, アミロース(EX-I)と DDAC の XRD 測定結果を見てみると, 2 つのパターンの線形和の形になっており, これは 2 成分が単に混合された状態で存在している。そのため, XRD 結果からはアミロース(EX-I)と DDAC 複合体は形成されていない。これは DDAC の 2 本の炭素鎖部分が会合して断面径が大きくなり, アミロース鎖が巻きつくことができなかつたと考えられる。

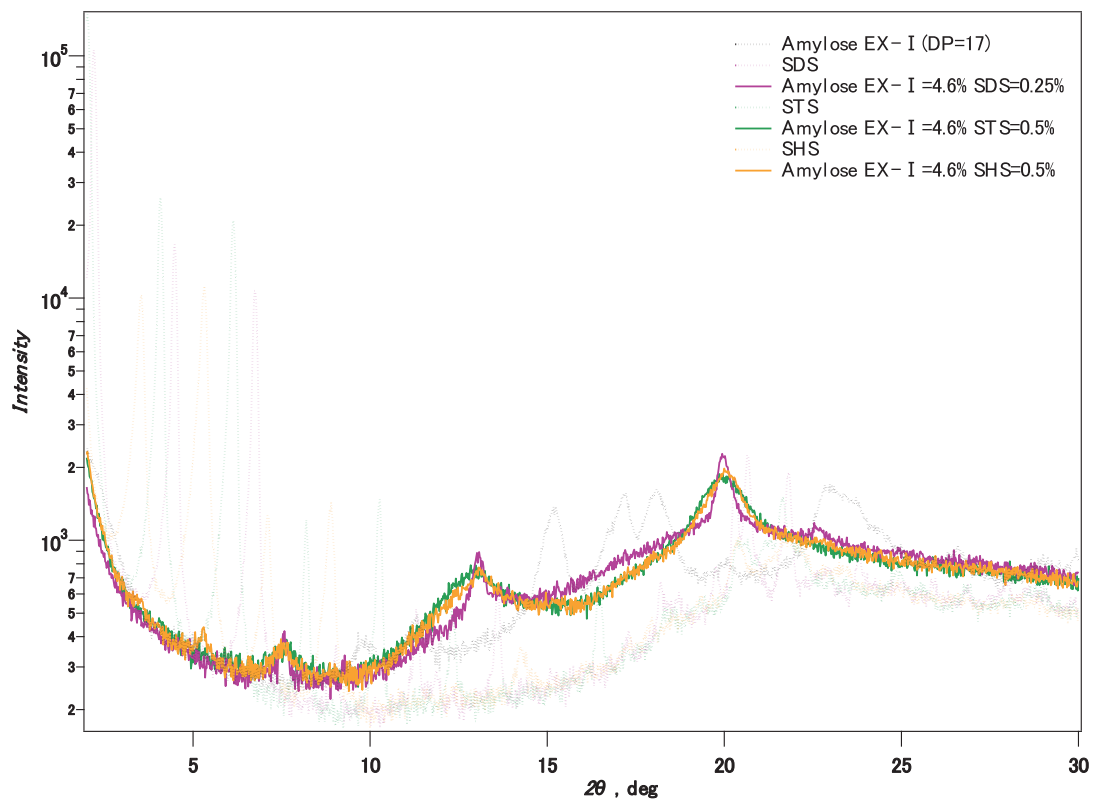


図 3. アミロース EX-I と SDS, STS, SHS との混合物の XRD 測定結果

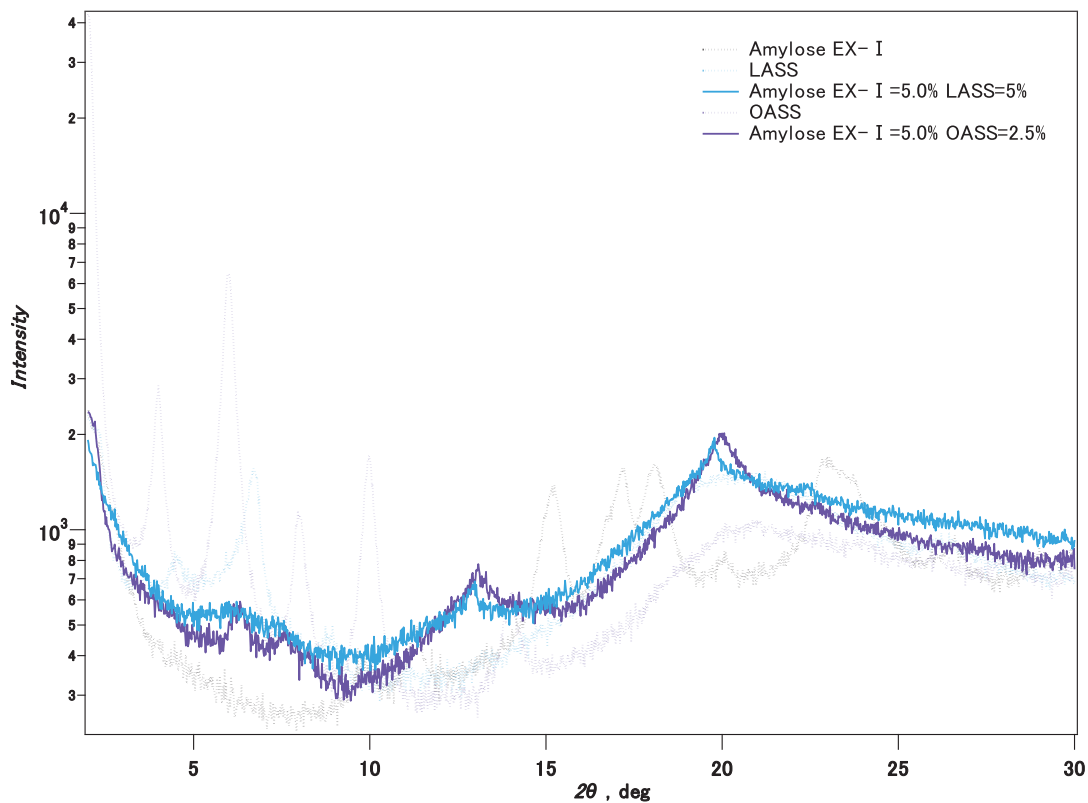


図 4. アミロース EX-I と LASS, OASS との混合物の XRD 結果

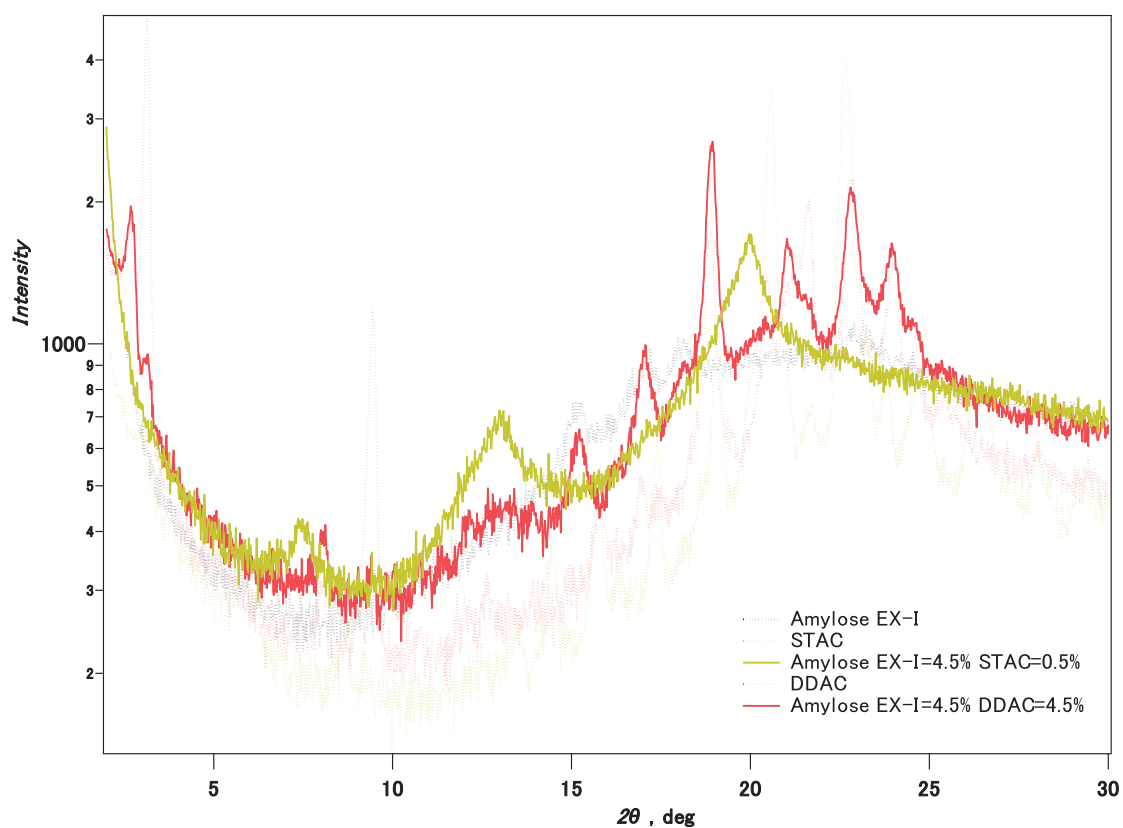


図 5. アミロース EX-I と STAC, DDAC との混合物の XRD 結果

表 3. アミロース EX-I と各界面活性剤の混合物の XRD 結果についての回折角ピークの位置 (deg) の値

混合試料	回折角ピークの位置(deg)		
アミロース EX-I + SDS	7.6	13.1	20.0
アミロース EX-I + STS	7.6	12.9	19.9
アミロース EX-I + SHS	7.6	13.1	20.0
アミロース EX-I + LASS	7.5	13.0	19.8
アミロース EX-I + OASS	7.6	13.1	20.0
アミロース EX-I + STAC	7.5	13.0	20.0

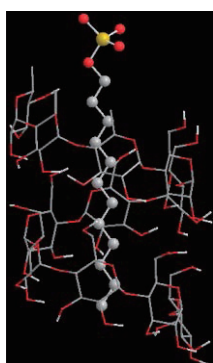


図 6. アミロースと SDS 複合体の分子モデル

アミロース(EX-I)と SDS, STS, SHS のそれぞれの混合溶液からの小角 X 線散乱(SAXS)を図 7 に示す. SAXS 測定は試料と水を 1:1 の割合で混合させ, 水分率を約 50%にした. SAXS 測定のグラフは $I(q)$ vs q で表されるもので, 縦軸 $I(q)$ は散乱強度であり, 横軸の $q(\text{nm}^{-1})$ は散乱ベクトルの大きさを, q の定義は以下の式である.

$$q = (4\pi/\lambda)\sin\theta \quad (2)$$

ピークポジション q の値が 0.5nm^{-1} 付近にブロードなピークが観測された. この結果についてもピークポジション q とここでは結晶構造ではないと考えられるが参考までにブラッグの式より求めた d の値を表 4 に示す. ピークポジションについては, 散乱曲線にベース線を引き, そして散乱曲線からベース線を引き算し, ガウス関数でピークをフィットさせ, ピークポジションを決定した. d の値は 12nm 程度であり, これは複合体がクラスターを作り, 組織的に配置した構造によるものと考えられる. ここで考えているクラスターは界面活性剤にアミロース鎖が巻き付いたものが複数会合結晶化したもので, これらのクラスターが平均的に 12nm 程度の距離をおいて分布していると考えられる. d の数値を詳細にみると界面活性剤の炭素鎖長が長いものほど大きくなった. これはクラスターサイズが大きくなっていると考えられる. また, 複合体試料で q が 1nm^{-1} 付近以上でみられるピークは界面活性剤由来の回折ピークが観測されている. アミロース(EX-I)についてはアミロースの結晶構造の回折ピークが観測されていると思われる.

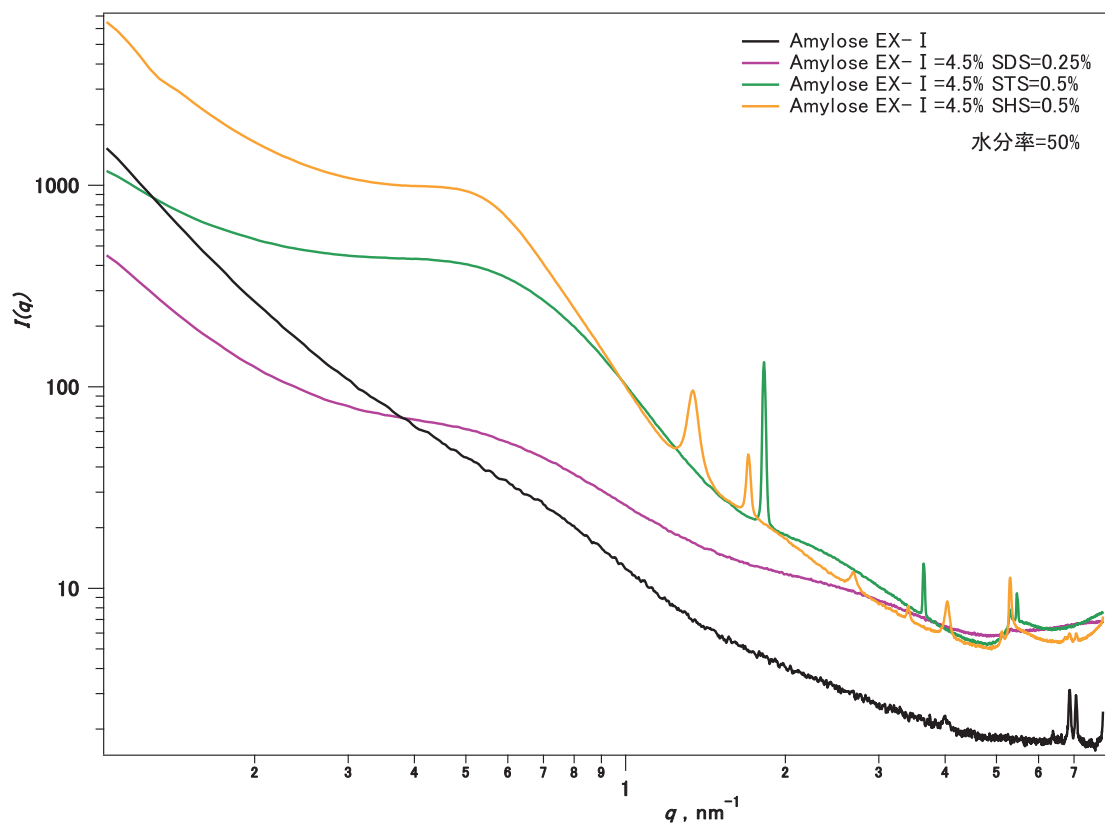


図 7. アミロース EX-I と SDS, STS, SHS との混合溶液の SAXS 測定結果

表4. アミロース EX-I と各界面活性剤の混合物の SAXS 測定結果のピークポジションと d の値

混合試料	ピークポジション(nm^{-1})	$d(\text{nm})$
アミロース EX-I + SDS	0.56	11.2
アミロース EX-I + STS	0.50	12.6
アミロース EX-I + SHS	0.48	13.2

3.2 アミロペクチン(Lintner)と界面活性剤混合試料

アミロペクチン(Lintner)と SDS, STS, SHS の混合試料についての XRD 測定結果を図 8 に示す. またアミロペクチン(Lintner)と LASS, OASS の混合試料, さらにはアミロペクチン(Lintner)と STAC, DDAC の混合試料についての XRD 結果を図 9, 図 10 にそれぞれ示す. 回折ピークの位置を表 5 に示す. 加熱処理し, 乾燥したアミロペクチン(Lintner)はアモルファスであるためアミロース(EX-I)のようにはっきりとピークはでない. つまりアミロースより結晶性は低いと考えられる. SDS, STS, SHS についてはアミロースと界面活性剤複合体のときと比べると, 7° 付近に出ていたピークが見られなかったが, その他の 13° と 20° 付近の 2 つのピークはほぼ同様の位置に確認できた. そのため, SDS 系については V 型の複合体が形成されていると考えられる.

アミロペクチン(Lintner)と STAC の混合試料は弱い回折ピークが 8° 付近に 1 つと 13° と 20° 付近に回折ピークが見られた. その結果, アミロペクチン(Lintner)と STAC の混合試料についても複合体は形成されているものと思われる. 一方, 炭素鎖が 2 本の界面活性剤 DDAC の混合試料については, アミロースの場合と同様に 2 成分が単に混合された状態で存在していると考えられる. したがってこの場合も DDAC の 2 本の炭素鎖部分が会合して断面径が大きくなり, アミロース鎖が巻きつくことができなかつたと考えられる.

アミロペクチン(Lintner)と LASS の混合試料は 3 つのピークが観測された. しかし, これらは LASS のみからの回折ピークとほぼ重なっているが, 少しずつピーク位置が違うため恐らく複合体は形成されているものと思われる. アミロペクチン(Lintner)と OASS 混合試料はピークが 4 つ現れた. 4 つのうち 3 つはその他の試料の複合体と同様の位置にピークが見られ, 同様の V 型結晶の複合体が形成されていると考えられる.

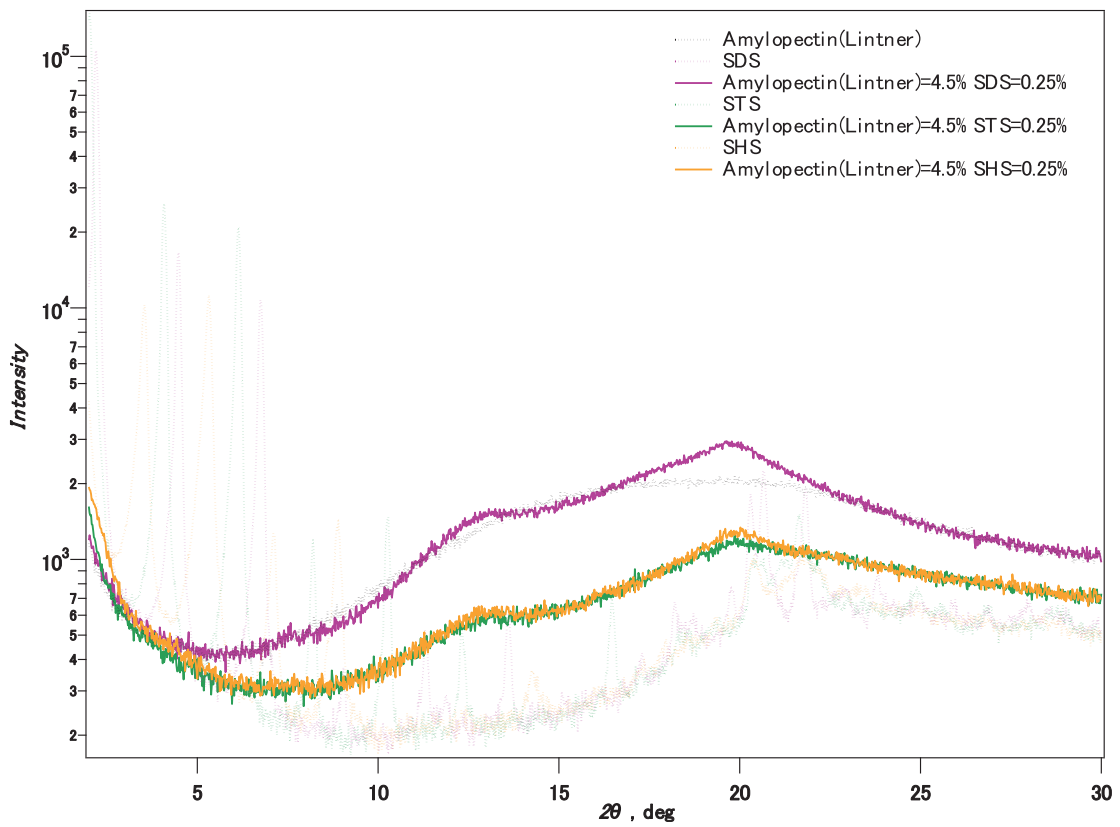


図 8. アミロペクチン(Lintner)と SDS, STS, SHS との混合物の XRD 測定結果

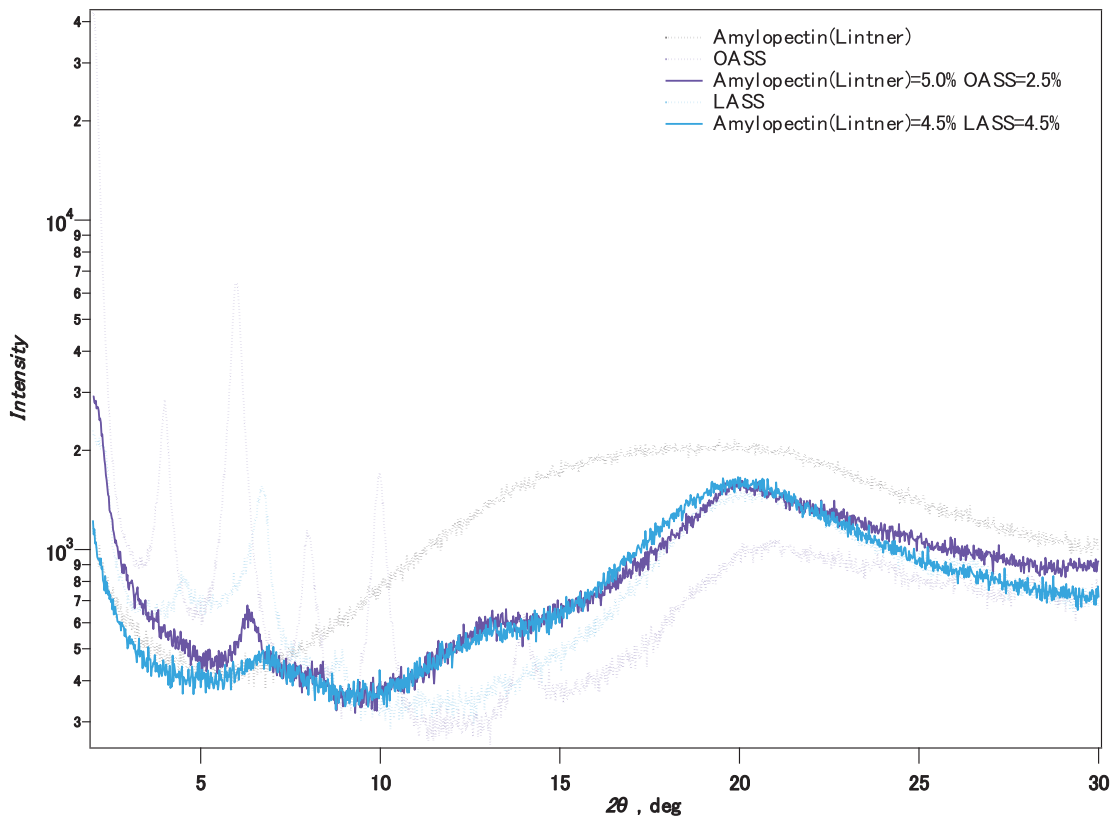


図 9. アミロペクチン(Lintner)と OASS, LASS との混合物の XRD 測定結果

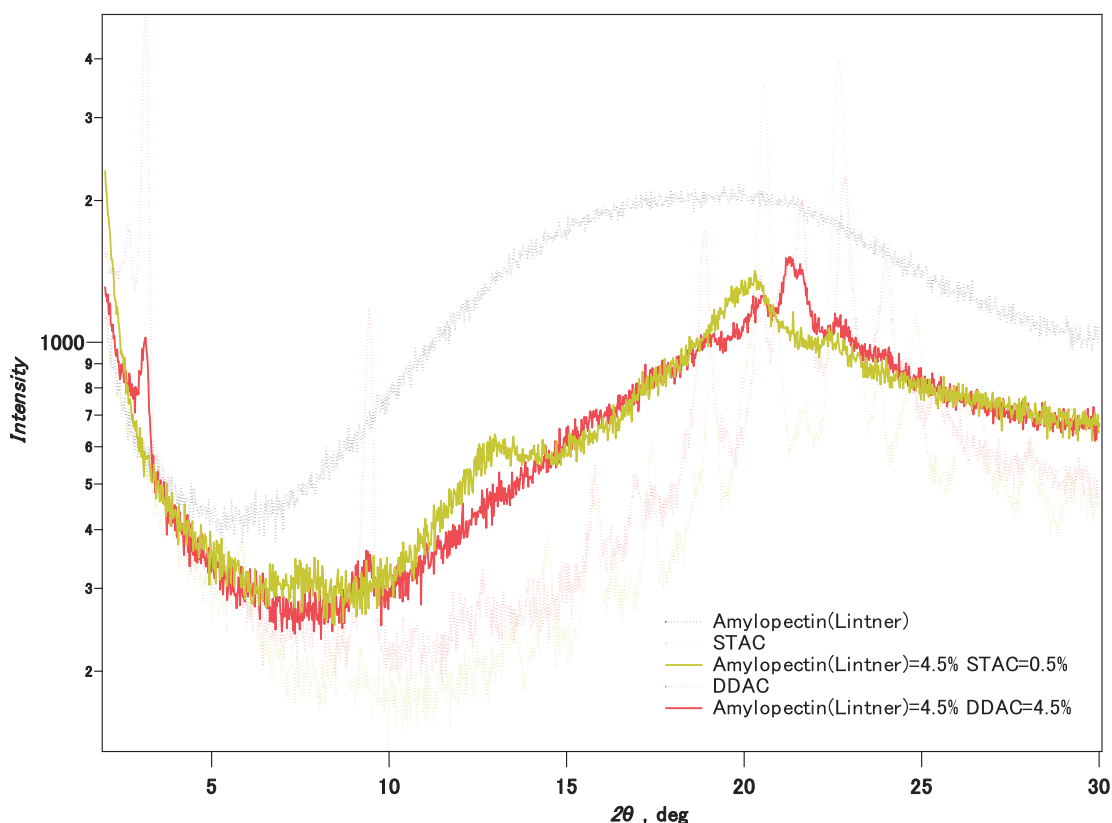


図 10. アミロペクチン(Lintner)と STAC, DDAC との混合物の XRD 測定結果

表 5. アミロペクチン(Lintner)と各界面活性剤の混合物の XRD 結果についての回折ピークの位置

混合試料	回折ピークの位置 (deg)		
アミロペクチン(Lintner) + SDS	–	13.1	19.9
アミロペクチン(Lintner) + STS	–	13.2	19.9
アミロペクチン(Lintner) + SHS	–	12.9	20.0
アミロペクチン(Lintner) + LASS	6.9	13.2	19.9
アミロペクチン(Lintner) + OASS	8.4	13.2	20.0
アミロペクチン(Lintner) + STAC	7.8	12.9	20.2

アミロペクチン(Lintner)と SDS, STS, SHS の混合溶液の SAXS 測定結果を図 11 に示す。この結果についてもピークポジションと d の値を表 6 に示す。SAXS 測定の結果からアミロース(EX-I)と SDS 複合体系とほぼ同様の位置にピークが観測され、アミロース(EX-I)にみられた界面活性剤の炭素鎖の長さについての依存性は見られなかった。これはアミロペクチンは分岐構造の枝鎖のアミロースが複合体をつくると考えられるため鎖の自由度がアミロースに比べて低い。従ってアミロースのように厳密に複合体が形成されなかったためと考えられる。アミロペクチン(Lintner)については 0.4nm^{-1} 付近にブロードなピークが見られるがこれはアミロペクチン(Lintner)からの散乱であり、 4nm^{-1} 付近のピークは B 型澱粉の

結晶構造に由来するピークである。A型澱粉は地上にできる作物に多く見られる澱粉の型であり、B型澱粉は地中にできる作物に多く見られる型である。アミロペクチン(Lintner)はトウモロコシ由来の澱粉であるため、A型澱粉となる。しかし、SAXS測定結果についてアミロペクチン(Lintner)はB型澱粉の結晶構造を示した。これは、水分の添加による結晶の転移が起こり、B型を示したと考えられる。

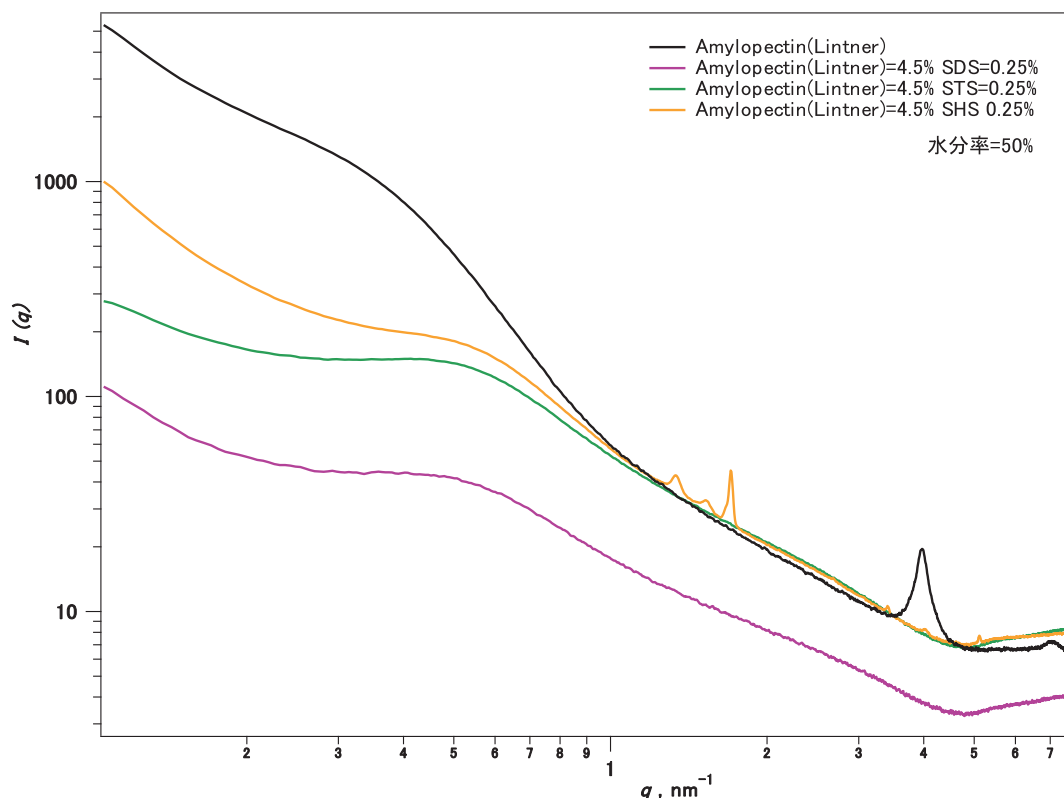


図 11. アミロペクチン(Lintner)と SDS, STS, SHS との混合溶液からの SAXS 測定結果

表 6. アミロペクチン(Lintner)と各界面活性剤の混合物の SAXS 測定結果のピークポジションと d の値

混合試料	ピークポジション(nm^{-1})	$d(\text{nm})$
アミロペクチン(Lintner)	0.23	27.3
アミロペクチン(Lintner) + SDS	0.51	12.3
アミロペクチン(Lintner) + STS	0.51	12.3
アミロペクチン(Lintner) + SHS	0.54	11.6

4. まとめ

アミロース(EX-I)およびアミロペクチン(Lintner)にいくつかの界面活性剤を添加することによって、分子レベルでのV型結晶形の複合体の形成が確認できた。その中でも2本鎖の炭素鎖を有する界面活性剤 DDAC に対してアミロースおよびアミロペクチンは複合化

されなかった。このことは2本の炭素鎖にアミロース鎖が空間的にまきつくことが困難であったためと考えられる。

SAXS 測定の結果からもアミロースおよびアミロペクチンに対して界面活性剤と複合化していることが示唆された。プロファイルにはピークがあらわれ、形成した複合体クラスターの相互作用によるものと考えられた。アミロースの場合、界面活性剤の炭素鎖長が長くなるとクラスターサイズが大きくなることが示唆されたが、アミロペクチンの場合には長さの依存性は見られなかった。分岐構造を有さないアミロースは炭素鎖長に沿って比較的厳密に複合化していると推測できた。

5.謝辞

放射光利用実験は財団法人高輝度光科学研究センター・SPring-8 の BL40B2 で行われた(課題番号：2012A1261)。

参考文献

- [1] H. C. H. Wu, and A. Sarko, *Carbohydr. Res.*, **61**, 7-25 (1978)
- [2] A. Imberty, A. Buléon, V. and Tran, S. Pérez, *Starch*, **43**, 375-384
- [3] M. C. Godet, A. Buleon, V. Tran, P. Colonna, *Carbohydr. Polym.*, **21**, 91-95 (1993)
- [4] M. C. Godet, V. Tran, P. Colonna, A. Buleon, and M. Pezolet, *Int. J. Biol. Macromol.*, **17**, 405-408 (1995)
- [5] G. G. Gelders, H. Goesart, and J. A. Delcour, *Biomacromol.*, **6**, 2622-2629 (2005)
- [6] J. F. M-Gallegos, V. B-Rodríguez, E. J-Alameda, and A. I. G-López, *Foodhyd*, **25**, 1563-1571 (2011)
- [7] 釘宮正往, 応用糖質科学, **41**, 151-155 (1994)
- [8] V. K. Villwock, A-C. Eliasson, J. Silverio, and J. N. BeMiller, *Cereal Chem*, **76**, 292-298 (1999)
- [9] A. Buléon, P. Colonna, V. Planchot, S. Ball, *Biomacromol.*, **23**, 85-112 (1998)
- [10] M. O. Elizabeth, J. L. Sandra, and M. Fles, *Cereal Chem.*, **38**, 449-462 (1961)
- [11] T. Uchino, Y. Tozuka, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **39**, 145-149 (2001)