

# 酵素添加による洗米排水成分への凝集・沈降性付加とその静電的性質

誌名	日本食品工学会誌 = Japan journal of food engineering
ISSN	13457942
著者名	渡辺,昌規 津山,力 一瀬,和紀 柏村,崇 佐々野,和雄 渡辺,健吾
発行元	日本食品工学会
巻/号	10巻1号
掲載ページ	p. 55-61
発行年月	2009年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 酵素添加による洗米排水成分への凝集・沈降性付加とその静電的性質

渡辺昌規<sup>1,†</sup>, 津山 力<sup>1</sup>, 一瀬和紀<sup>1</sup>, 柏村 崇<sup>2</sup>, 佐々野和雄<sup>3</sup>, 渡辺健吾<sup>2</sup>

<sup>1</sup>広島国際学院大学大学院 物質工学, <sup>2</sup>株式会社サタケ 技術本部, <sup>3</sup>株式会社食協

### Sedimentation and Flocculating Properties of Solid Particles in Enzymatic Treated Rice Washing Drainage and its Electrostatic Properties

Masanori WATANABE<sup>1,†</sup>, Chikara TSUYAMA<sup>1</sup>, Kazuki ICHINOSE<sup>1</sup>,  
Takashi KASHIWAMURA<sup>2</sup>, Kazuo SASANO<sup>3</sup> and Kengo WATANABE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Material Science, Hiroshima Kokusai Gakuin University, 6-20-1 Nakano, Hiroshima 739-0821, Japan

<sup>2</sup>Satake Co., Ltd, 2-30 Saijo-Nishihonmachi, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8602, Japan

<sup>3</sup>Shokkyo Co., Ltd, 1-10-28 Fukawa, Asakita-Ku, Hiroshima 739-1751, Japan

The addition of the supernatant derived from enzyme (protease M) - treated rice washing drainage to purified rice starch showed highest sediment ability of starch particles. Besides, phosphate ion discharges from solid particles to the supernatant that were promoted by the addition of protease M, the decrease of the supernatant phosphate concentration after additions of purified rice starch was also observed. Moreover, to determine the dissociation of phosphate ions in relation to flocculation and sedimentation of purified rice starch, these processes were observed with the same pH range under the existing dissociate form of phosphate. In addition, as the results of FT-IR analysis of the solid surface of purified rice starch show, using the same pH the transmittance decrease of the P-O group and the flocculation and sedimentation ability of purified rice starch particles were observed. These results suggest that the occurrence of flocculation and sedimentation of purified rice starch particles as a result of pH dependent dissociate form of phosphate joins with the surface of the starch particles and form negative electron charges derived from the dissociate form of phosphate on the surface of starch particles, respectively. Finally, macromolecules of starch particles were formed by constructing bridges by electrostatic interaction.

**Keywords:** rice washing drainage, protease M, sludge volume, dissociate form of phosphate, FT-IR

#### 1. 緒 言

我々は前々報より、無洗米製造プロセス（白米から精白米を製造する過程、精白過程（polishing）から排出される無洗米製造排水（洗米排水）中に含まれる固形成分（精白かす）への凝集・沈降性付加、濃縮による、洗米排水の処理、同固形成分の「非可食部」バイオマスとしての有効利用について、検討を行ってきた。

これまでに、酸性プロテアーゼ、ペプチダーゼを含

有する酵素剤（プロテアーゼ M）の洗米排水への添加により、洗米排水成分中に含まれる固形成分に対し、高い凝集・沈降性を与えるとともに、固形成分表層に、強い負電荷（ゼータ電位）を形成する事を報告した [1]。また、FT-IR（フーリエ変換赤外分光光度計）を用い、洗米排水固形成分表層の負電荷を形成している官能基の特定を行った結果、プロテアーゼ M 処理により、固形成分中に含まれるデンプン質の露出に伴い、水酸基（-OH）由来の吸収増大（透過率の低下）が確認された。このことから、洗米排水中の固形成分表層は、プロテアーゼ M 添加により水酸基（-OH）由来の負の表面電位が増大し、汚泥容積を減少させたものと考えられた。さらに、種々の金属キレート剤添加による洗米排水の汚泥容積の変化について検討を行った結果、洗米排水

（受付 2008 年 10 月 10 日, 受理 2008 年 12 月 8 日）

1 〒 739-0321 広島県広島市安芸区中野 6-20-1

2 〒 739-8602 広島県東広島市西条西本町 2-30

3 〒 739-1751 広島県広島市安佐北区深川 1-10-28

† Fax: 082-820-2560, E-mail: watanabe@hkg.ac.jp

中の固形成分の凝集・沈降には、洗米排水中に含まれる固形成分由来の陽イオンが関与している事が示唆された [2].

一般に、固体表面（粒子表面）の表面電位、荷電状態は、溶液中の水素イオン濃度（pH）変化に伴う、電解質の解離状態により、影響を受けるとされている。 [3]

この事に関連し、デンプン粒子表面は、構成グルコース由来のアルコール性水酸基にリン酸基、硫酸基が結合し、デンプン表面に負電荷を形成している事が報告されている [4]. 加えて、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  などの2価の陽イオンは、グルコースにエステル結合しているリン酸基の間に一種の架橋結合を形成し、デンプン粉の物性（粘性、膨潤性、透明度）に大きな影響を与えることが報告されている [5]. このように、デンプンを主体とした粒子成分表面の静電的性質は、デンプン粒・粉の性状に大きな影響を与える可能性がある。

しかし、現在までにデンプンを主成分とした洗米排水中固形成分表面層の上記酵素添加による静電的性質の変化、ならびに固形成分表面層・排水中に含まれるイオン種（陽・陰イオン）それぞれの静電的相互作用とその凝集・沈降性付加との関連性および、その機構については、明らかにされていない。

そこで本報では、酵素添加による洗米排水中固形成分の凝集・沈降性付加とその表面性状と静電的性質との関連を明らかにするために、精製米デンプン粒子への凝集・沈降性付加に及ぼす洗米排水中に含まれるイオン種の関与と水素イオン濃度（pH）の影響について検討を行った。

## 2. 実験方法および材料

### 2.1 供試試料の調製

本研究に使用した洗米排水は、共同研究者である（株）食協 深川精米工場の無洗米加工装置（SJR2A型、（株）サタケ）より得られた洗米排水を実験サンプルとして実験に供した。この時の無洗米製造は処理量  $2000 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1}$ 、使用水量（排水量） $300 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 、稼働時間  $8 \text{ h} \cdot \text{day}^{-1}$  の条件で行った。また、米デンプン標品として、精製米デンプン（starch from rice, S7260 SIGMA）を実験に供した。

### 2.2 酵素加水分解反応（酵素処理）

ポリプロピレン 15 ml 遠心管  $120 \text{ mm} \times 16 \phi$ （corning 430790, Corning）に洗米排水 10 ml を準備し、任意の酵素（0.01~2.0 mg）を、酢酸緩衝液（pH 5.0, 0.1 M）0.05 ml に溶解させ洗米排水中に添加し、ポルテックスミキサにて十分に攪拌・混合した。本実験では、食品添加物用酵素であるプロテアーゼ M（ $3000 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 、（株）天野エンザイム）を洗米排水の酵素処理実験に供した。

酵素反応溶液は、酵素添加後、レシプロ式振とう恒温槽（BW201+BF400型、（株）yamato）により、振とう速度 100 rpm、反応温度  $30^\circ\text{C}$  の条件の下で振とうし、酵素反応の進行中には均一に分散する状態を維持した。酵素反応処理後の反応溶液は、全量をサンプルとし、沈降定数  $SV_{60}$  [%] 測定に使用した。沈降定数測定後に得られた上清成分は、精製米デンプンの凝集・沈降性付加試験に用い、沈降性成分は、後述の FT-IR（フーリエ変換赤外分光光度計）測定に供した。

### 2.3 洗米排水成分の沈降性評価

酵素処理後の洗米排水の汚泥容積（ $SV$ , [%]）は、100 ml メスシリンダーに洗米排水を採取し、60 分間静置した後の固形物の容量を  $SV_{60}$  [%] として測定した。汚泥容量指数 [ $SVI$ ,  $\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$ ] および、汚泥濃度 [ $MLSS$ ,  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ] は、渡辺らの方法に従った [6].

### 2.4 FT-IR 測定

表面電位測定と同様に、沈降性試験後の反応溶液（洗米排水）中に含まれる沈降成分を遠心分離（ $11,000 \times \text{g}$ ,  $4^\circ\text{C}$ , 10 min）により回収し、 $60^\circ\text{C}$  にて 24 時間乾燥後、1 g を KBr（片山化学工業製）1 g と混練し、錠剤成型器により錠剤化後、FT-IR 分析装置（FT/IR-400 Plus 型、日本分光（株））を用いて、IR スペクトルを測定した [7].

### 2.5 陰イオン濃度測定

上記の酵素処理・沈降分離後により得られた、上清成分は、イオン交換高速液体クロマトグラフィ（島津製作所製、LC-10ADVP）を用い、測定した。

## 3. 結果および考察

### 3.1 洗米排水成分添加による精製米デンプンへの凝集・沈降性の付加の検討

我々は、前報において、デンプンを主体とした洗米排水中固形成分表面層のプロテアーゼ添加による除タンパク処理により、固形成分からの陽イオン（cation）の溶出（放出）とその固形成分への凝集・沈降性付加効果について報告した [2]. 本検討では、上記、デンプン粒子の凝集・沈降性付加への洗米排水成分の寄与を明らかにするために、プロテアーゼ処理を行った洗米排水の上清成分を精製米デンプンに添加し、デンプン粒子への凝集・沈降性の付加とその pH（水素イオン濃度）依存性について検討を行った。

Fig. 1 は、左から、精製米デンプンをそれぞれ、純水 (a)、洗米排水上清 (b)、酵素処理洗米排水上清 (c) にて懸濁、1 時間静置後のデンプン粒子の凝集・沈降の様子を示したものである。純水、洗米排水上清を精製米デンプンに添加したサンプル (a, b) においては、デンプ

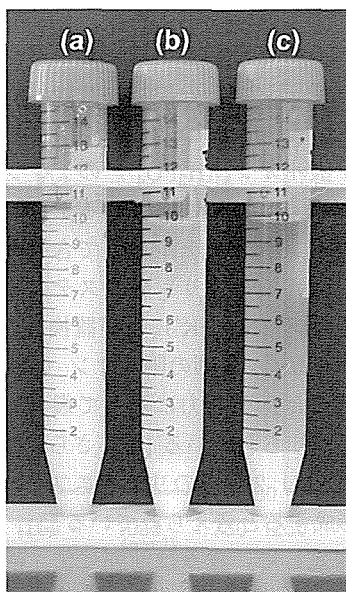


Fig. 1 Macroscopic appearance of purified rice starch in distilled water (a), in supernatant of rice washing drainage (b), in supernatant of protease M- treated rice washing drainage (c) after sedimentation. Sedimentation was carried out in 300 ml screw capped bottles containing 100 ml supernatant of rice washing drainage with enzyme treatment or not. These samples were contained 4.6 g purified rice starch $\cdot$ L $^{-1}$ , respectively. \*The clear supernatant of stock solution obtained by the centrifugation (11,000 $\times$ g, 10 min).

ン粒子の凝集・沈降性付加効果は得られなかったが、酵素処理洗米排水上清を含むサンプル(c)では、著しい凝集・沈降性付加効果が得られた。

さらに、上記サンプル(c) (プロテアーゼ処理を行った洗米排水上清成分を含む精製米デンプン懸濁液)の凝集・沈降性に及ぼす pH の影響について検討を行った結果を Figs. 2, 3 に示す。Fig. 2 は、pH 2~8 の範囲に

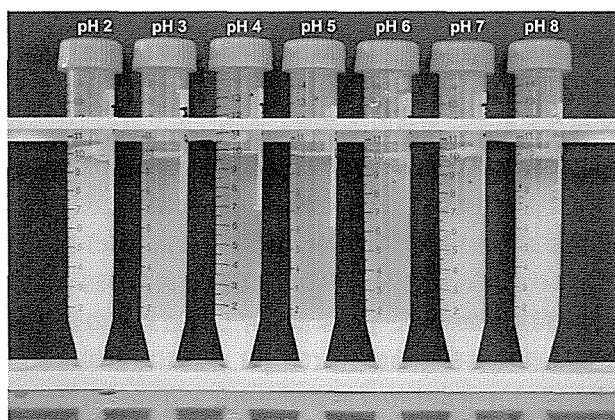


Fig. 2 Macroscopic appearance of purified rice starch in supernatant of protease M- treated rice washing drainage after sedimentation under several pH conditions. Sedimentation was carried out (see legend Fig. 1) for 60 min at 20 $^{\circ}$ C.

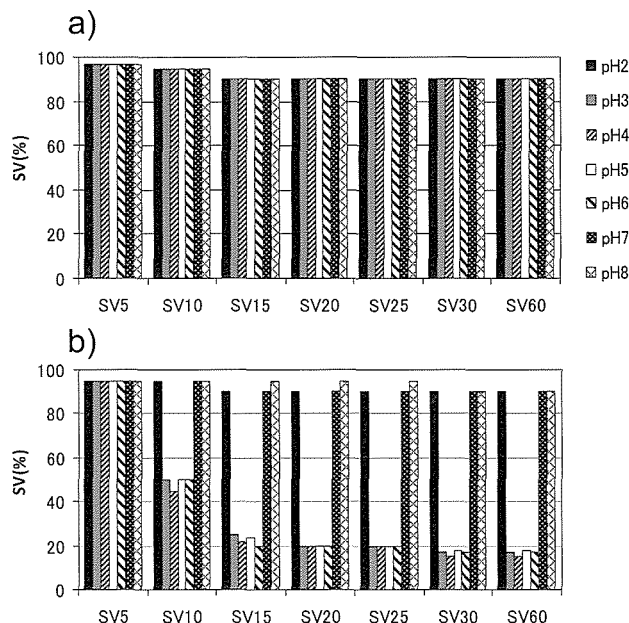


Fig. 3 Effect of pH and sedimentation time on sedimentation activity of purified rice starch in supernatant of rice washing drainage (a), in supernatant of protease M- treated rice washing drainage (b). Sedimentation was carried out (see legend Fig. 1) for each settling time at 20 $^{\circ}$ C.

おける、精製米デンプンの凝集・沈降の様子を示したものであり、pH 3~6 の範囲において、精製米デンプンの凝集・沈降性付加を確認した。また、汚泥容積 SV [%] の値がコントロールにおいて 90% 以上であるのに対し (Fig. 3a), 前述と同様、pH 3~6 において、15~20% と汚泥容積の低下が確認され、精製デンプン粒子の良好な凝集・沈降性を示した (Fig. 3a)。

### 3.2 洗米排水成分中イオン種と精製米デンプンへの凝集・沈降性の付加との関連性

これまでに、酵素添加による洗米排水中の固形成分の凝集・沈降性付加には、洗米排水中に含まれる固形成分の由来の陽イオンが静電的相互作用の架橋剤として機能していることを報告してきた [2]。また、このことに関連して、洗米排水中の主要成分である精白かす中には、著量のリン酸、硫酸を含有していることが報告されている [8, 9]。さらに、Tabata らは、馬鈴薯デンプンは、グルコース残基の主に第 6 炭素に結合したリン酸を含有する天然のリン酸エステル化合物であると報告している [10]。そこで、本検討では、洗米排水中に含まれる陰イオン種を中心に、精製米デンプンへの凝集・沈降性付加との関連性について検討を行った。

Table 1 は、前述の精製米デンプンに洗米排水上清 (コントロール: Fig. 1b), および酵素処理洗米排水上清 (Fig. 1 c) にて懸濁、1 時間静置前後のサンプルに含まれる各陰イオン濃度の変化を示したものである。

Table 1 Composition and concentration of anionic ion in supernatant of rice washing drainage.

Anionic ion (mg·L <sup>-1</sup> )	Control	Enzyme treated
	Before → after	Before → after
Cl <sup>-</sup>	542 → 533	542 → 542
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	400 → 320	992 → 560
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	77 → 69	136 → 111
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	ND	ND
SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ND	ND

Control: supernatant of rice washing drainage

Enzyme treated: supernatant of protease M- treated rice washing drainage

before: before additions of purified rice starch to sample

after: after additions of purified rice starch to sample

その結果、精製デンプン添加前の酵素を含むサンプルは、コントロールサンプルと比べ、明らかにリン酸、硫酸イオンの溶出（放出）が確認され、とくに、リン酸は陰イオン種の中で最も高い値（992 ppm PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>）を示した。本検討により、前報にて報告した陽イオンと同様に、酵素添加による洗米排水中固形成分からの陰イオンの溶出（放出）が確認された。

さらに、酵素を含むサンプルでは、精製米デンプン添加・静置後、リン酸イオン濃度は992から560 mg/lへと急激に減少する傾向を示し、塩素、硫酸イオン濃度は殆ど変化していないことが明らかとなった。また、コントロールサンプルでは、リン酸イオン濃度が若干減少した程度であり、塩素、硫酸イオンも静置前後において、有意な変化は見受けられなかった。

以上の結果から、酵素添加により、著量のリン酸イオンが洗米排水中固形成分より溶出（放出）し、その後、精製米デンプンの添加により、溶出した遊離状態のリン酸イオンは、精製デンプンに吸着すると同時に、凝集・沈降性を付加したものと推察された。

### 3.3 洗米排水成分中に含まれる陰イオン種の解離状態と凝集・沈降性付加との関連性

前述の検討により、陰イオンとして、リン酸イオンが精製米デンプンへの凝集・沈降性付加に関与している事が示唆された。そこで本検討では、洗米排水成分中に含まれる陰イオン種のpH変化に伴う解離状態の変化と凝集・沈降性付加との関連性について検討を行った。

リン酸の解離状態と洗米排水上清を添加した精製米デンプンの各pH条件下における沈降定数（Fig. 3b）について検討を行った結果、H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>が存在するpH領域内（pH 2.13~7.20, pKa1: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>⇌H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>+H<sup>+</sup>, pKa2: H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>⇌HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>+H<sup>+</sup>）[11]において、精製デンプンの凝集・沈降性を示した。また、硫酸については、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の存在するpH領域（pH 1.92以上, pKa2: 1.92. HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>

⇌SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>+H<sup>+</sup>）[11]において、精製米デンプンの凝集・沈降性の有無、双方の状態が確認される事から、硫酸イオンの精製米デンプンの凝集・沈降性への直接的な関与の可能性は低いと考えられる。

上記、リン酸イオン（H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>）のデンプン性状への関与については、高い粘性を有するデンプンには、著量のリン酸をリン酸エステルとして含有することが知られている。また、そのリン酸エステル中の水素イオンと1価陽イオン（Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>）とが置換されたデンプンはさらに粘性が高く、2価の陽イオン（Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>）で置換されたものは、剪断力に対して幾分安定なデンプン糊を作る事が知られている[4]。さらに、このような2価の陽イオンは、2分子のリン酸エステル間に一種の架橋構造を形成すると考えられている[5]。

この事に関連して、我々は前報にて、洗米排水中固形成分のマクロ分子形成と凝集・沈降性付加に、多価陽イオンが関与している事を報告している[2]。したがって、本検討結果より、酵素処理により洗米排水中固形成分から溶出したリン酸イオンは、添加された精製デンプンと結合後、表層にリン酸基由来の負電荷を有するモノエステル型リン酸デンプンを形成、さらに、多価陽イオン（Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>）によるモノエステル型リン酸デンプン間への静電的な架橋体形成により、精製デンプンのマクロ分子形成が促進され、至っては凝集・沈降性付加ならびに、促進が可能となったと推察された。

### 3.4 FT-IR 解析による精製米デンプンの表面性状の変化と凝集・沈降性との関連性

上記に示した検討内容（結果および考察3.1, 3.2, 3.3）は、洗米排水の上清成分に関連したものであり、精製米デンプンへ凝集・沈降性付加に伴う、精製米デンプン表層の変化についての検討は含んでいない。そこで、本検討では、洗米排水上清添加による精製米デンプン表層の官能基構成の変化をFT-IR（フーリエ変換赤外分光光度計）を用い、陰イオン種の解析を行った。なお、IRの吸収スペクトルの帰属については、中西らの吸収スペクトルデータ[12]を参考にした。

Fig. 4に、各pH条件下における精製米デンプンのIRスペクトルを示す。Fig. 4(b)は、酵素処理洗米排水上清を添加した精製デンプンサンプル（Fig. 1(c)と同様のサンプル）であり、P-O吸収帯である950~1200 cm<sup>-1</sup>付近において、pH値に依存した透過率の変化が確認された。その傾向として、pH 2以下では透過率が増大し、pH 2以上では透過率が変化しない、もしくは減少する傾向を示した。したがって、pH 2以上では、デンプン表層にリン酸が保持されている事を示している。このpH 2以上での現象は、洗米排水上清中の解離型のリン酸イオン（H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>）のデンプンへの凝集・沈降性付加と一致し、pHの変化により、解離型のリン酸

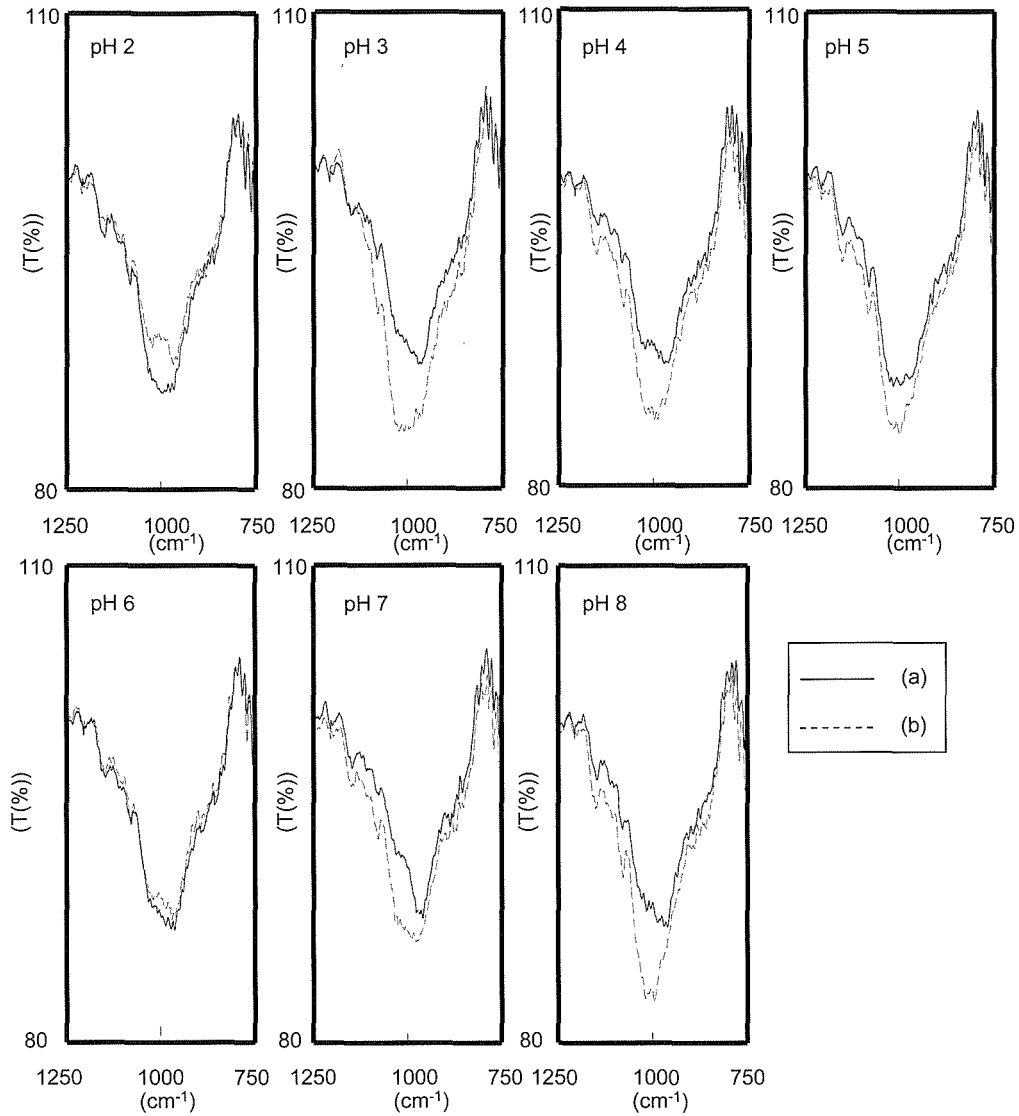


Fig. 4 FT-IR adsorption spectra of the purified rice starch in supernatant of rice washing drainage (a), in supernatant of protease M- treated rice washing drainage with (b) under several pH conditions.

イオン ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) が生成、同時に精製デンプンと結合、多価陽イオンと架橋構造を形成している事を示唆している。しかし、解離型のリン酸イオン ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) の存在しない pH 7, 8 における前述の透過率の減少は、デンプンへの凝集・沈降性付加との関連と矛盾する。これは、pH 7 以上において、リン酸イオンは Ca イオン、Mg イオンとそれぞれ、リン酸カルシウム、リン酸マグネシウムなどの不溶性塩を形成することが知られており [13]、リン酸カルシウム、リン酸マグネシウムなどの不溶性塩の含量増加に伴い、上記 P-O 吸収帯の特異的な透過率の減少が生じる (Fig. 5)。したがって、上記透過率の減少は、精製米デンプンの凝集・沈降性に寄与しない不溶性のリン酸塩形成によるものと推察される。

Fig. 4(a) は、洗米排水上清を添加した精製米デンプンサンプル (Fig. 1(b)と同様のサンプル) の IR スペクトルである。上記、酵素処理洗米排水上清を添加した

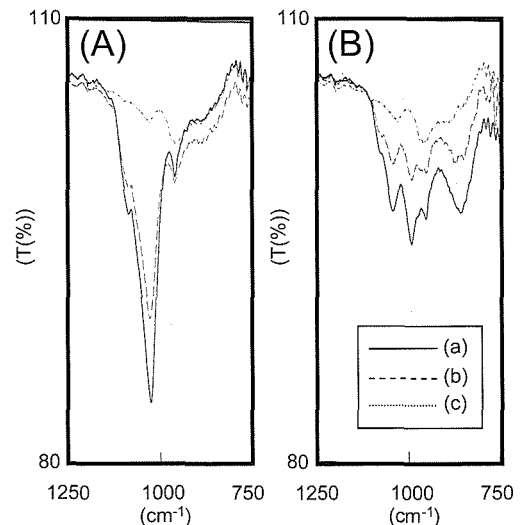


Fig. 5 FT-IR adsorption spectra of the calcium phosphate/KBr mixture (A) and magnesium phosphate/KBr mixture (B). (a) Mixture ratio 1:1, (b) 1:10, (c) KBr (control).

精製米デンプンサンプル (Fig. 4(b)) とは異なり, pH 値に依存した上記 P-O 吸収帯における透過率の変化は, 見受けられなかった. また,  $1000\text{ cm}^{-1}$  付近にデンプン由来の CO, CC 伸縮, CH 横揺れの吸収帯があり [12], 上記, P-O 吸収帯と重複する. しかし, pH 値の変化に伴う透過率の変化が見受けられなかったことから, 前述 (Fig. 4(b)) の pH 値に依存した透過率の変化は, P-O 吸収帯における透過率の変化である事を示している.

以上の検討結果より, 洗米排水上清 (酵素処理) に含まれる遊離のリン酸イオンは, 特定の pH 条件下において, 精製デンプン表層に結合しているもの考えられる.

この現象は, 酵素処理洗米排水上清を添加した精製米デンプンサンプルの pH 値に依存した, 精製米デンプンの凝集・沈降性付加, リン酸イオン濃度の減少と一致しており, 洗米排水中のリン酸イオンの挙動が精製デンプンの凝集・沈降性付加に直接関与している事を示唆した.

#### 4. 結 論

酵素添加による洗米排水中固形成分の凝集・沈降性付加とその表面性状と電気化学的性質との関連性を明らかにするために, 精製米デンプンを用い, 洗米排水成分添加による米デンプン粒子の凝集・沈降性付加に及ぼす洗米排水に含まれるイオン種, 水素イオン濃度 (pH) の影響に関する検討結果より, 以下の結論を得た.

プロテアーゼ (プロテアーゼ M) 処理を行った洗米排水上清成分を精製米デンプンに添加し, デンプン粒子への凝集・沈降性の付加とその pH (水素イオン濃度) との関連について検討を行った結果, 純水, 洗米排水上清を精製米デンプンに添加したサンプルにおいては, デンプン粒子の凝集・沈降性付加は確認されなかった. しかし, 酵素処理洗米排水上清を含むサンプルでは, pH 3~6 の範囲において, 著しい凝集・沈降性付加効果が得られた. これらの結果より, 酵素処理による洗米排水成分の変化と特定の pH 値がデンプンの凝集・沈降性促進に深く関与していることが示された.

また, 洗米排水中に含まれる陰イオン種を中心に, 精製米デンプンへの凝集・沈降性付加との関連性について検討を行った結果, 酵素添加により, サンプル中のリン酸イオン濃度が特異的に増加, その後, 精製米デンプン添加により, リン酸濃度の速やかな減少が確認された. 併せて, リン酸の解離状態について検討を行ったところ, 解離型リン酸 ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) が存在する pH 領域内において, 精製米デンプンの凝集・沈降性を示した.

さらに, 精製米デンプン表層を FT-IR により解析を行った結果, 凝集・沈降性が確認された pH 3~6 の範囲において, P-O 吸収帯の透過率の減少が確認された.

このことから, 酵素処理により洗米排水中固形成分から溶出 (放出) したリン酸イオンは, 添加された精製デンプンと結合後, リン酸基由来の負電荷をデンプン表層に形成し, さらに, 多価陽イオン ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) によるデンプン間の静電的な架橋形成により, 精製デンプンのマクロ分子形成, 至っては凝集・沈降性付加ならびに促進が可能になったと推察された.

#### 謝 辞

本研究を行うにあたり, 全面的に支援をしていただいた (株) サタケ・技術本部並びに, 洗米排水を提供していただいた (株) 食協 深川精米工場の皆様に深く感謝いたします.

#### 参 考 文 献

- [1] M. Watanabe, H. Honda, T. Kashiwamura, K. Sasano, K. Watanabe; Effect of Enzymatic treatment for sedimentation and concentrate of solid particles in waste water derived from rice washing process (in Japanese). *J. Food Eng.*, **7**, 49-54 (2006).
- [2] M. Watanabe, C. Tsuyama, K. Ichinose, K. Kashiwamura, K. Sasano, K. Watanabe; Sedimentation and flocculating properties of solid particles in Enzymatic treated rice washing drainage and its mechanism (in Japanese). *J. Food Eng.*, **8**, 165-172 (2007).
- [3] S. Fukuzaki, H. Urano, K. Nagata; Adsorption of Protein onto Stainless-Steel Surfaces. *J. Ferment. and Bioeng.*, **80**, 6-11 (1995).
- [4] M. Nakamura, K. Kainuma; "Experimental methods of starch and related sugars (Denpun kanrentoushitsu jikkenhou)", Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan, 1986, p. 284.
- [5] K. Kainuma, S. Miyamoto, S. Yoshioka, S. Suzuki; Studies on structure and physico-chemical properties of starch Part 3. Changes in physical properties of high phosphate potato starch by substitution of cations (in Japanese). *J. Jap. Soc. Starch Sci.*, **23**, 59-66 (1976).
- [6] M. Watanabe, K. Sasaki, Y. Nakashimada, N. Nishio; High density cell culture of marine photosynthetic bacterium *Rhodovulum* sp. with self-flocculated cells. *Biotechnol. Lett.*, **20**, 1113-1117 (1998).
- [7] M. Watanabe, K. Kawahara, K. Sasaki, N. Noparatnaraporn; Biosorption of cadmium ions using a photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides* S and a marine photosynthetic bacterium, *Rhodovulum* sp. and their biosorption kinetics. *J. Biosci. and Bioeng.*, **95**, 374-378 (2003).

- [8] B. O. Juliano, D. B. Bechtel; "The rice grain and its gross composition" . In: Rice: Chemistry and Technology, 2nd ed. B. O. Juliano, ed. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN, 1985, p. 17.
- [9] B. M. Kennedy, M. Schelstraete; Chemical, Physical, and Nutritional Properties of High-protein Flours and Residual Kernel from the Over milling of Uncoated Milled Rice. III. Iron, Calcium, Magnesium, Phosphorus, Sodium, Potassium, and Starch Content. Cereal Chem., **52**, 435-448 (1975).
- [10] S. Tabata, S. Hizuriki; Studies on Starch Phosphate. Stärke, **23**, 267-272 (1971)
- [11] H. Akaiwa; "Experiment of analytical chemistry (in Japanese)", Maruzen, Tokyo, Japan, 1996, p.5.
- [12] K. Nakanishi, P. H. Solomon, N. Furutachi; "Infrared absorption spectroscopy (in Japanese)", Nankodo, Tokyo, Japan, 1985, p. 17.
- [13] T. Shimizu; "Urinary alkalizer" (in Japanese). Hyperuricemia and gout, **9**, 41-46 (2001)

## 要 旨

本研究では、洗米排水成分添加による精製米デンプン粒子への凝集・沈降性付加について検討を行った。その結果、洗米排水への酵素添加は、サンプル中のリン酸イオン濃度を特異的に増加させ、その後、精製米デンプン添加により、リン酸濃度の速やかな減少が確認された。さらに、解離型リン酸が存在する pH 領域内 (pH 3~6) において、特異的に精製米デンプンの凝集・沈降性付加効果を確認するとともに、FT-IR 解析の結果、P-O 吸収帯の透過率の減少が確認された。以上の検討結果より、酵素処理により洗米排水中固形成分から溶出 (放出) したリン酸イオンは、精製米デンプンと結合後、リン酸基由来の負電荷をデンプン表層に形成。さらに、多価陽イオンによる静電的な架橋形成により、精製デンプンのマクロ分子を形成、至っては凝集・沈降性付加ならびに促進が可能となったと推察された。