

澱粉糊の調理特性に及ぼす呈味物質の影響

平 島 円*

Madoka Hirashima



はじめに

食べ物の「おいしさ」は、様々な要因により決定される^{1), 2)}。食品の製造時や調理過程において制御可能な要因は味やにおいの化学的要因やテクスチャーなどの物理的要因といった食品の特性であり、これらの特性がおいしさに貢献する割合は高い。なかでも「テクスチャー」は固体または半固体状の食品のおいしさに大きく影響を与える³⁾ものである。食品におけるテクスチャーはタンパク質や多糖類などの食品ハイドロコロイドにより支配されている場合が多く、ゼラチンや寒天、カラギーナン、キサンタンガム、澱粉など様々な食品ハイドロコロイドに関する研究が行われている。

実際の食品では、食品ハイドロコロイドのような高分子のみで構成されているものは少なく、砂糖や食塩など味を呈する低分子の物質が共存していることが多い。これらの呈味物質は食品ハイドロコロイドの分子形状や分子間相互作用の状態に対して作用し、その結果として、食品のテクスチャーを左右する。そのために、しばしば調理において、期待した「とろみ」や「ゲル強度」が得られないことにもなる。

そこで、食品の増粘剤やゲル化剤として最も頻繁に利用されている澱粉が呈味物質によりどのような影響を受けるのか調べることで、調理時における澱粉糊の調製方法の検討を行った。澱粉には食品産業界で最も広くまたは多く用いられているコーンスターチを選んだ。したがって、コーンスターチを用いて得られた結果は、調理において幅広く応用されることが期待できる。呈味物質には基本五味の代表的な物質を選んだ。甘味にはショ糖⁴⁾、塩味には塩化ナトリウム（食塩）⁵⁾、酸味には有機酸（クエン酸など）^{6), 7)}、苦味にはカフェイン⁸⁾、うま味にはグルタミン酸ナトリウム⁸⁾を用いた。これらの呈味物質を澱粉分散液に可能な限り広い濃度範囲で添加し、それぞれの物質が澱粉糊の粘弾性に及ぼす影響について検討した。

澱粉の糊化と澱粉糊の粘弾性

澱粉は、グルコースが α -(1,4) 結合した直鎖状のアミ

ロースと α -(1,6) 結合による分岐をもつアミロペクチンからなり、粒子として自然界に存在する。澱粉粒子は水とともに加熱することにより、崩壊する。その結果、澱粉粒子内からアミロースとアミロペクチンが溶出する。澱粉の水分散液は糊化の進行とともに粘性を増し、いわゆる増粘効果を示す。これが澱粉の糊化である。澱粉の粘弾性挙動やゲル強度は糊化の起こり方により大きく左右される。すなわち、分散液中で糊化した澱粉粒子の数、澱粉粒子の大きさ（膨潤率）、溶出したアミロースやアミロペクチンの数や大きさの影響を受ける。

澱粉の糊化過程において、呈味物質が澱粉粒子や溶出したアミロースやアミロペクチンに対してどのように作用するのか調べ、澱粉糊の粘弾性の変化について検討した。また、増粘効果が著しく阻害された場合にはどのような調理操作により、十分な増粘効果が得られるかについても検討した。澱粉糊の粘度測定は静的および動的粘弾性測定により、澱粉粒子のサイズや崩壊の程度、溶出したアミロースやアミロペクチンの数は顕微鏡観察により、澱粉の糊化温度とエンタルピーについては示差走査熱量測定（DSC）により検討した。また、固有粘度測定により、アミロースやアミロペクチンの溶液中での広がりについても調べた。澱粉糊の調製は、澱粉の水分散液に呈味物質を添加するタイミングを変え、すなわち、澱粉と水の加熱前または加熱後に呈味物質を添加し、澱粉の増粘効果がどのように変化するについても調べた。この2種類の調製方法は、澱粉糊を調製するための調理技術として応用できる。

澱粉糊の諸特性に及ぼす呈味物質の影響

1. ショ糖と澱粉⁴⁾

ショ糖を添加して澱粉を加熱した場合、基本的にショ糖は澱粉の糊化を阻害するように働いた。すなわち、ショ糖濃度の増加に伴い、澱粉の糊化温度は高温側に移行し、糊化エンタルピーは高くなった（Fig.1 左）。これはショ糖が澱粉粒子の膨潤に必要な自由水の減少を引き起こすことにより、十分に澱粉粒子が膨潤せず、糊化が起こりにくくなると考えられている^{9)~13)}。しかし、ショ糖を添加すると澱粉糊の粘弾性はショ糖添加濃度の増加に伴い減少していくわけではなく、添加ショ糖濃度により異なった。ショ糖を添加した澱粉糊の定常ずり粘度および複素粘性率はと

* 三重大学教育学部
(Mie University)

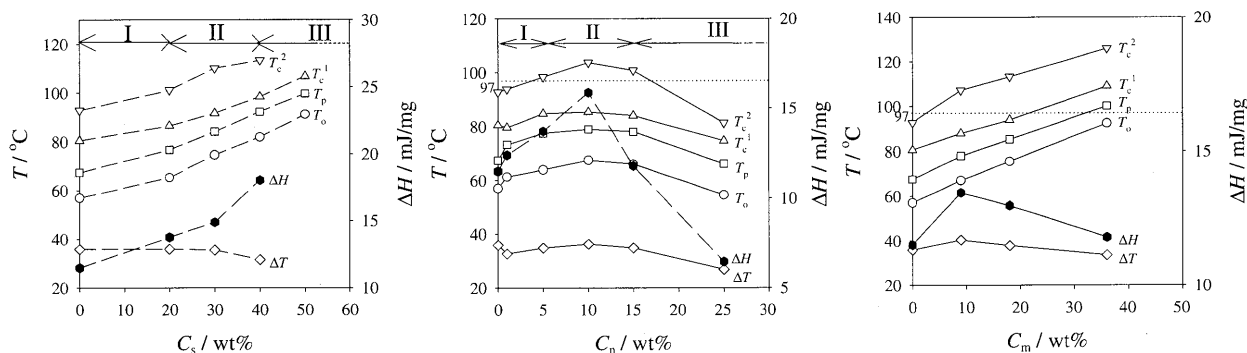


Fig. 1 3.0 wt% コーンスターチ水分分散液の糊化温度 (T) および糊化エンタルピー (ΔH) に及ぼすシヨ糖濃度 (C_s) (左), 食塩濃度 (C_n) (中) およびグルタミン酸ナトリウム濃度 (C_m) (右) の影響^{4), 5), 8)}

T_0 : 糊化開始温度, T_p : 糊化ピーク温度, T_c^1 : アミロペクチンの糊化終了温度, T_c^2 : アミロース+脂質複合体分離温度, ΔT : 糊化温度範囲 ($T_c^2 - T_0$), ΔH : コーンスターチ 1 mg あたりの糊化エンタルピー

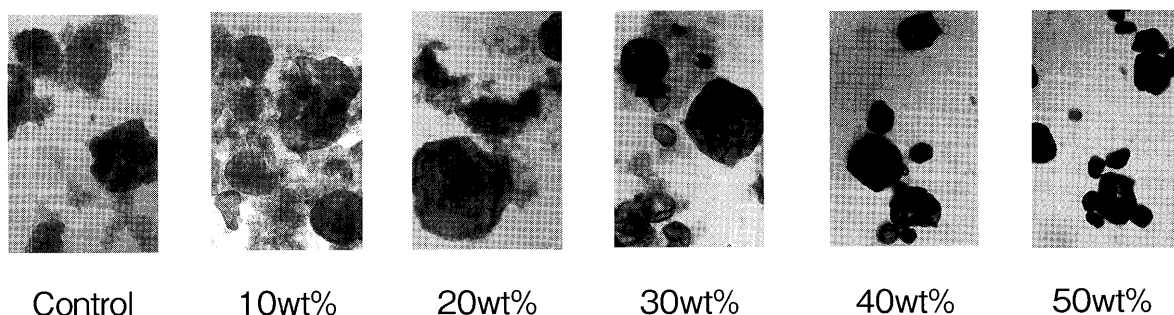


Fig. 2 シヨ糖を添加した 3.0 wt% コーンスターチ糊中の澱粉粒子⁴⁾

シヨ糖は澱粉の加熱前に添加した。澱粉粒子はヨウ素溶液で染色した。写真のサイズは 725 mm×390 mm。

もに添加シヨ糖濃度 20 wt% 以下において、シヨ糖濃度の増加とともに増加するが、それ以上の添加濃度では、逆にシヨ糖濃度の増加に伴い減少した。シヨ糖濃度 40 wt% 以上ではほぼ一定の粘度となった。これは顕微鏡観察の結果から、添加シヨ糖濃度が 20 wt% 以下ではシヨ糖が澱粉粒子の膨潤を促進するためであることがわかった (Fig. 2)。一方、20 wt% 以上のシヨ糖を添加すると澱粉粒子の膨潤率は減少し、40 wt% 以上の添加では澱粉粒子はほとんど膨潤せず、溶出するアミロースやアミロペクチンもほとんどみられなかった (Fig. 2)。しかし、シヨ糖溶液自体の粘度が増加するため、澱粉粒子の膨潤は阻害されていてそれによる粘度増加はないが、シヨ糖溶液の粘度増加と相殺されるため、澱粉糊の粘度は変化しないと考えられる。

これらのことより、シヨ糖が澱粉に与える影響を 3 種類のパターンに分類した。

- I) シヨ糖濃度 20 wt% 以下: 澱粉の膨潤が促進され、粘度が増加する
- II) シヨ糖濃度 20 wt% 以上, 40 wt% 未満: 澱粉の膨潤, すなわち糊化が抑制され、粘度が減少する
- III) シヨ糖濃度 40 wt% 以上: 澱粉の糊化は阻害されているが、粘度は一定である

シヨ糖の添加による澱粉の糊化度の減少を解消するため

には、澱粉と水のみで加熱し、澱粉を十分に糊化させた後にシヨ糖を添加すれば、粘度の低下は起こらないことがわかった。この場合、シヨ糖が一般的に溶解できる濃度である 55 wt% までは、シヨ糖添加濃度の増加に伴い澱粉糊の粘度は増加した。

このように、澱粉にシヨ糖を添加する場合には澱粉の糊化後に添加するほうが澱粉による増粘効果を活かすことができるため、有効である。しかし、味付けの点においてはシヨ糖をあらかじめ添加し、澱粉を加熱するほうがよい可能性もあるため、今後さらに検討する必要がある。

2. 食塩 (塩化ナトリウム) と澱粉⁵⁾

澱粉に食塩を添加して加熱すると添加食塩濃度が 10 wt% 程度までは食塩濃度の増加に伴い糊化温度は高温側へ移行し、糊化エンタルピーは増加した。しかし、10 wt% 以上の高濃度の食塩を添加すると、逆に食塩濃度の増加に伴い糊化温度は低温側へ移行し、糊化エンタルピーは減少した (Fig. 1 中)。すなわち、シヨ糖添加の場合と異なり、澱粉の糊化は過剰に食塩を添加することで阻害されるわけではなく、添加食塩濃度 10 wt% 程度でもっとも糊化は阻害されることがわかった。顕微鏡観察の結果では、添加食塩濃度 5 wt% 以下では澱粉粒子の粒子径は、食塩無添加の澱粉粒子の大きさとほぼ同じかわずかに大きく、溶出したアミロースやアミロペクチンの量も食塩無添加の澱粉糊

よりもやや多い傾向にあった。これはサイズの小さな Na^+ イオンや Cl^- イオンが澱粉粒子内に侵入し、澱粉の膨潤を促進する¹⁴⁾ ためであると考えられる。この影響により、澱粉糊の定常ずり粘度や複素粘性率は食塩無添加の澱粉糊よりもわずかに高くなった。食塩を 5 wt% から 15 wt% の間の濃度で添加すると、澱粉粒子の膨潤率は食塩無添加の澱粉粒子とほぼ同様であったが、溶出したアミロースやアミロペクチンの量は少なくなった。これは澱粉糊中の食塩濃度が比較的高いために水の構造が変化しており、糊化温度が高くなることと関係すると考えられる。したがって、この濃度範囲の食塩を添加した澱粉糊の定常ずり粘度や複素粘性率は食塩無添加のものとはほぼ同じであった。食塩濃度が 15 wt% 以上になると、澱粉糊内の澱粉粒子の大きさは、食塩無添加のものとはほぼ同じ大きさかやや小さくなったが、多くのアミロースやアミロペクチンが溶出した。 Cl^- イオンは、澱粉粒子内に侵入すると澱粉のアミロースやアミロペクチン間の水素結合を破壊する¹⁵⁾。食塩濃度が高くなると澱粉糊内に多量に存在する Cl^- イオンによって多くのアミロースやアミロペクチンが溶出すると考えられる。そのため、高濃度の食塩を添加した澱粉糊内では多くのアミロースやアミロペクチンが絡まりあうため、定常ずり粘度や複素粘性率は食塩濃度の増加に伴い大きく増加した。

これらのことより、食塩が澱粉に与える影響についても 3 パターンに分類した。

- I) 食塩濃度 5 wt% 未満：澱粉の膨潤が促進され、粘度がわずかに増加する
- II) 食塩濃度 5 wt% 以上、15 wt% 未満：澱粉の糊化が抑制され、粘度変化が一定である
- III) 食塩濃度 15 wt% 以上：多くのアミロースやアミロペクチンが溶出し、粘度が増加する

澱粉と水のみで加熱し、十分に澱粉を糊化させた後、食塩（食塩濃度 25 wt% 程度まで）を添加すると、澱粉糊の粘度は食塩の増加に伴い増加する。しかし、調理において使用される食塩濃度は、一般には 5 wt% 程度以下と低いいため、澱粉の増粘効果を利用する上で食塩添加の影響はほとんどないと考えられる。

3. 有機酸と澱粉^{6), 7)}

澱粉に酸を添加して澱粉を糊化させる場合、その糊化の挙動は酸の種類にではなく、pH に左右されることがわかった⁷⁾。すなわち、いずれの酸を澱粉に添加しても、pH が同じであれば同様の糊化挙動を示す。酸を用いて pH を 3.5 以上に調整した酸水溶液で澱粉を加熱すると、澱粉粒子の大きさは酸無添加の澱粉粒子（pH=6.3）とほぼ同様かわずかに小さくなり、溶出したアミロースやアミロペクチンの量は多くなった。一方、pH を 3.5 以下に調整した酸水溶液を用いると、澱粉粒子はほとんど壊れ、非常に小さい澱粉粒子のみが残っていた。澱粉に塩酸などの酸を添

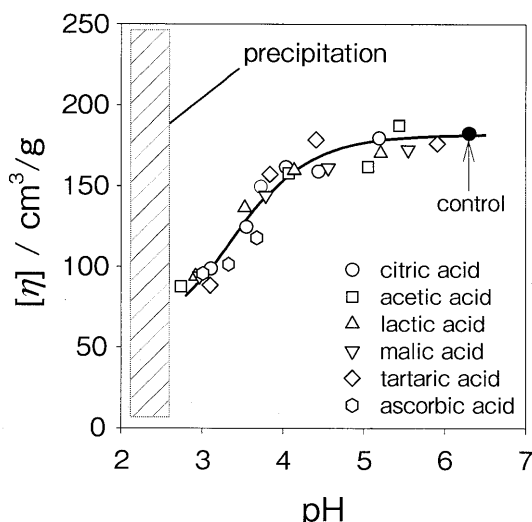


Fig. 3 3.0 wt% コーンスターチ糊の固有粘度 ($[\eta]$) の pH 依存性⁷⁾ pH はクエン酸、酢酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸およびアスコルビン酸を用いて、澱粉の加熱前に調整した。測定はすべて 40.0°C で行った。

加した場合、アミロースやアミロペクチンの加水分解が起こると報告されている^{16)~18)}。実際に、食品に含有される有機酸を用いて調整した酸溶液とともに澱粉を加熱すると、澱粉の固有粘度は pH の低下に伴い減少し、加水分解によりアミロースやアミロペクチンの重合度が小さくなることがわかった (Fig. 3)。また、pH を 2.7 未満に調整すると澱粉糊内で澱粉が沈殿した。これは酸加水分解によって重合度の低くなったアミロースやアミロペクチンが糊液内で析出したためである^{19)~21)} と考えられる。

しかし、酸を添加した澱粉糊の定常ずり粘度や複素粘性率は pH の低下に伴い低下するわけではないことがわかった。pH を 5.5 以上に調整した酸溶液を用いて澱粉を糊化させた場合、澱粉糊の粘度は酸無添加の澱粉糊（pH=6.3）の粘度とほぼ同じか小さくなった。pH を 5.5 から 3.5 の間に調整した澱粉糊の粘度は、酸無添加のものよりも大きくなった。その理由は、澱粉粒子の大きさが小さいにもかかわらず、溶出したアミロースやアミロペクチンの数が多く、絡まりあいが多くなるためであると考えられる。一方、pH を 3.5 以下に調整すると、澱粉粒子が破壊され、アミロースやアミロペクチンの加水分解の度合いが大きくなるため、澱粉糊の粘度は大きく減少した。

酸による加水分解は高温条件下で促進されるため、澱粉と水のみで加熱し、その澱粉糊の冷却後に酸を添加して pH を調整すれば、酸による加水分解を避けることができた。その結果、粘度低下は起こらず、むしろ常に酸無添加の澱粉糊よりも高い粘度を得ることができた。酢酸などの液体状の酸は蒸発することを避けるために澱粉の加熱後に添加されることが多いが、粘度低下を防ぐ上でも効果のある添加方法であると考えられる。

4. カフェインと澱粉⁸⁾

澱粉にカフェインを添加して加熱するとカフェイン濃度 2.6 wt% 以上の添加により、カフェインが澱粉糊中で沈澱した。カフェインは水中で凝集し、高濃度では沈澱することが知られている^{22)~26)}。カフェイン単独では 4.5 wt% 以上で沈澱するが、澱粉に添加する場合には、臨界沈澱濃度が低下した。これは澱粉がカフェインの溶解性を抑制したためと考えられる。沈澱が起こらない低濃度のカフェインを澱粉に添加して加熱しても、その澱粉粒子の大きさや溶出したアミロースやアミロペクチンの量には変化がなく、定常ずり粘度や複素粘性率も変化しなかった。したがって、カフェインは澱粉の糊化にはあまり影響を及ぼさないと考えられる。

食品に含有されるカフェイン濃度は高くても 0.3% 程度であることから、一般的な利用の範囲では、カフェインを澱粉に添加してもその澱粉糊の粘度にほとんど影響を与えないと考えられる。

5. グルタミン酸ナトリウム (MSG) と澱粉⁸⁾

グルタミン酸ナトリウム (MSG) を添加して加熱した澱粉の糊化温度は、MSG 濃度の増加に伴い高温側に移行した。しかし、糊化エンタルピーは、MSG 濃度 9 wt% 程度までは MSG 濃度の増加に伴い高くなるが、MSG 濃度がそれよりも高くなると低くなった (Fig. 1 右)。この糊化エンタルピーの減少は澱粉の糊化が起こりやすくなったためではなく、高濃度の MSG 添加により澱粉の糊化が妨げられたためと考えられる。顕微鏡観察からは MSG を 9 wt% 程度以上添加すると澱粉粒子の大きさは MSG 無添加のものに比べて非常に小さくなっており、明らかに膨潤が阻害されていることがわかった。ショ糖を澱粉に添加した場合も同様に、澱粉の糊化が妨げられたが、高温にする

ことで糊化は起こった。しかし、MSG を添加した場合には澱粉の糊化が完全に阻害され、糊化の起こる澱粉の割合が減少した。実際に、18 wt% 以上の高濃度の MSG を添加すると、膨潤することのできない澱粉が澱粉糊内で沈澱した。MSG を添加した澱粉糊の定常ずり粘度および複素粘性率は、9 wt% 程度未満の添加では MSG 無添加の澱粉糊とほぼ同様であったが、それ以上の添加では MSG 濃度の増加に伴い減少した。MSG にはショ糖のように澱粉の膨潤を促進するような働きがないため、低濃度の MSG を添加しても粘度増加は起こらないと考えられる。高濃度の MSG 添加による粘度の減少はショ糖を添加する場合と同様、澱粉と水のみで加熱後に MSG を添加すると澱粉の糊化が阻害されず、MSG 濃度の増加に伴い増加した (MSG 濃度 18 wt% 程度まで)。しかし、調理において用いられる MSG 濃度は、食塩やカフェイン同様、非常に低濃度であることより、MSG を添加することによる澱粉糊の粘度への影響はほとんどないと考えられる。

6. まとめ

澱粉に種々の調味料 (呈味物質) を添加して澱粉糊を調製し、呈味物質が澱粉の糊化に及ぼす影響について検討した。呈味物質には澱粉の糊化過程に澱粉粒子または溶出したアミロースやアミロペクチンに作用するものは多くあることがわかった。その結果、澱粉の増粘効果に著しい影響を与えた。澱粉の増粘効果の低下する原因は上述したとおり、澱粉粒子の膨潤を阻害し、糊化を抑制することであった。この粘度低下は澱粉と水のみで加熱した後、呈味物質を加えることで防ぐことができた。逆に呈味物質に澱粉粒子の膨潤促進作用や澱粉粒子からのアミロースまたはアミロペクチンをより多く溶出する作用があれば、澱粉の増粘効果が高められる。それぞれの呈味物質を添加した澱粉糊

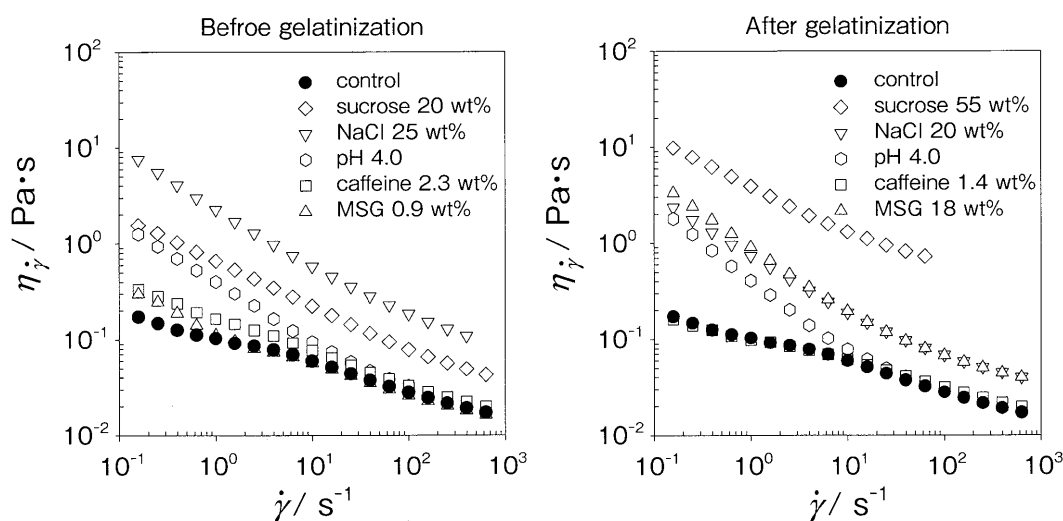


Fig. 4 3.0 wt% コーンスターチ糊の定常ずり粘度 (η_s) のずり速度 ($\dot{\gamma}$) 依存性

呈味物質を澱粉の加熱前 (左) と加熱後 (右) に添加した。加熱前に添加したそれぞれの呈味物質濃度はショ糖 20 wt% と 55 wt%, 食塩 (NaCl) 25 wt% と 20 wt%, カフェイン 2.3 wt% と 1.4 wt%, グルタミン酸ナトリウム (MSG) 0.9 wt% と 18 wt%, pH はクエン酸を用いて 4.0 に調整した。測定はすべて 25.0°C で行った。

の定常ずり粘度測定の結果から、もっとも高い粘度となったものを Fig. 4 に示した。澱粉の加熱前に呈味物質を添加した澱粉糊のうち、もっとも定常ずり粘度が高くなったのは食塩を 25 wt% 添加したものであった。これより、澱粉の増粘効果を高めるには、多くのアミロースやアミロペクチンを澱粉粒子内から溶出させる働きが必要だとわかった。また、澱粉と水のみで加熱後に呈味物質を添加した澱粉糊のなかではショ糖を 55 wt% 添加したものがもっとも定常ずり粘度が高くなった。これは高濃度の呈味物質を添加すると、澱粉の水に対する比が高くなり、澱粉の実質濃度が高くなるためと考えられる。このことは 20 wt% の食塩と 18 wt% のグルタミン酸ナトリウム (MSG) を添加した澱粉糊の粘度を比較するとほとんど差がないことからわかる。しかし、有機酸 (クエン酸など) を加えて pH 4.0 に調整するのに必要な酸の添加量はわずかである。そのため、澱粉の実質濃度はほとんど変わらないが、澱粉と水の加熱後に酸を添加した澱粉糊の粘度は呈味物質無添加の澱粉糊よりも高くなった。酸は低温でも澱粉に作用し、わずかではあるがアミロースまたはアミロペクチンの加水分解を起こすと考えられる。

以上の結果より、澱粉を用いて「とろみを付ける」または「ゲル状食品を作る」場合、澱粉濃度の設定は重要であるが、糊化過程において、より効果的に澱粉粒子を膨潤させ、粒子内からアミロースやアミロペクチンを溶出させることが重要であると考えられる。

文 献

- 1) 島田淳子 (1990), おいしさの基本条件, 臨床栄養, **77**, 367-375
- 2) 勝田啓子 (1999), 新食感事典, 西成勝好・中沢文子・勝田啓子・戸田準編, (株)サイエンスフォーラム, 東京, 20-27
- 3) 松本伸子・松元文子 (1977), 食べ物の味, 調理科学, **10**, 97-101
- 4) 平島円・高橋亮・西成勝好 (2003), 澱粉糊の諸特性に及ぼす呈味物質の影響 (第 2 報) 甘味調味料 (ショ糖), 調理科学会誌, **36**, 371-381
- 5) 平島円・高橋亮・西成勝好 (2004), 澱粉糊の諸特性に及ぼす呈味物質の影響 (第 3 報) 塩味調味料 (食塩), 調理科学会誌, **37**, 48-56
- 6) 平島円・高橋亮・西成勝好 (2003), 澱粉糊の諸特性に及ぼす呈味物質の影響 (第 1 報) 酸味調味料 (クエン酸および酢酸), 調理科学会誌, **36**, 225-233
- 7) M. Hirashima, R. Takahashi and K. Nishinari (2005), Effects of adding acids before and after gelatinization on the viscoelasticity of cornstarch pastes, *Food Hydrocoll.*, **19**, 909-914
- 8) 平島円・高橋亮・西成勝好 (2004), 澱粉糊の諸特性に及ぼす呈味物質の影響 (第 4 報) 苦味 (カフェイン) およびうま味 (グルタミン酸ナトリウム) 調味料, 調理科学会誌, **37**, 57-64
- 9) A.-C. Eliasson (1992), A calorimetric investigation of the influence of sucrose on the gelatinization of starch, *Carbohydr. Polym.*, **18**, 131-138
- 10) A. S. Kim and C. E. Walker (1992), Effects of sugars and emulsifiers on starch gelatinization evaluated by differential scanning calorimetry, *Cereal. Chem.*, **69**, 212-217
- 11) R. L. Cheers and J. Lelievre (1983), Effects of sucrose on the rheological behavior of wheat starch pastes, *J. Appl. Polym. Sci.*, **28**, 1829-1836
- 12) K. Kohyama and K. Nishinari (1991), Effect of soluble sugars on gelatinization and retrogradation of sweet potato starch, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1406-1410
- 13) F. B. Ahmad and P. A. Williams (1999), Effect of sugars on the thermal and rheological properties of sago starch, *Biopolymers*, **50**, 401-412
- 14) B. J. Oosten (1982), Tentative hypothesis to explain how electrolytes affect the gelatinization temperature of starches in water, *Starch/Stärke*, **34**, 233-239
- 15) E. Chiotelli, G. Pilosio and M. L. Meste (2002), Effect of sodium chloride on the gelatinization of starch: A multi measurements study, *Biopolymers*, **63**, 41-58
- 16) O. B. Wurzburg (1995), Food Polysaccharides and their applications, A. M. Stephen ed., Marcel Dekker Inc., New York, 67-97
- 17) E. K. Chamberlain and M. A. Rao (2000), Effect of concentration on rheological properties of acid-hydrolyzed amylopectin solutions, *Food Hydrocoll.*, **14**, 163-171
- 18) J. H. Li, T. Vasanthan, B. Rosnagel and R. Hoover (2001), Starch from full-less barley: II. Thermal, rheological and acid hydrolysis characteristics, *Food Chem.*, **74**, 407-415
- 19) W. Burchard (1962), Streulicht- und viskositätsmessungen an wäßrigen amyloسلösungen. II., *Makromol. Chem.*, **59**, 16-27
- 20) B. Pfannemüller (1971), Conformation of amylose in aqueous solution: optical rotatory dispersion and circular dichroism of amylose-iodine complexes and dependence on chain length of retrogradation of amylose, *Biopolymers*, **10**, 243-261
- 21) M. J. Gidley and P. V. Bulpin (1989), Aggregation of amylose in aqueous systems: The effect of chain length on phase behavior and aggregation kinetics, *Macromolecules*, **22**, 341-346
- 22) H. Bothe and H. K. Cammenga (1983), Calorimetric investigation of aqueous caffeine solutions and molecular association of caffeine, *Thermochimica Acta*, **69**, 235-252
- 23) K. Weller, H. Schütz and I. Petri (1984), Thermodynamical model for insertion and aggregate binding of caffeine to the homopolymer poly (riboadenylate) and model choice by data analysis, *Biophys. Chem.*, **19**, 299-310
- 24) R. Ryndén and P. Stilbs (1985), Nucleotide aggregation in aqueous solution a multicomponent selfdiffusion study, *Biophys. Chem.*, **21**, 145-156
- 25) Y. Yanuka and F. Bergmann (1986), Spectroscopic studies on caffeine and isocaffeine, *Tetrahedron*, **42**, 5991-6002
- 26) N. Iza, M. Gil, J. L. Montero and J. Morcillo (1988), Self-association of caffeine in aqueous solution. Study of dilute solution by normal and second derivative UV absorption spectroscopy, *J. Mol. Struct.*, **175**, 25-30