

ノート

酵素法による小麦粉調整品中でのん粉の定量

笹谷 隆, 山崎 光廣, 笹川 邦雄, 宮崎 博*

Determination of Starch in Wheat Flour Preparation by Enzymatic Method

Takasi SASATANI, Mitsuhiro YAMAZAKI and Kunio SASAKAWA, Hiroshi MIYAZAKI*

*Tokyo Customs Laboratory

5-5-30, Konan, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan

The enzymatic method for determination of starch in wheat flour preparations using glucoamylase and α -amylase was examined.

Starch was well gelatinized by 2 N sodium hydroxide solution in a water bath at 45 for 15 minutes. It was found that the enzymatic method making use of glucoamylase from *Rhizopus niveus* in combination with α -amylase from *Bacillus subtilis* was the best way in saccharification of starch in wheat flour preparation. Glucose which was produced by saccharification was determined by Hanes method. The influence of various additives such as sucrose, skim milk, salt, soybean oil and sodium bicarbonate was determined. It was found that this method is applied to determine accurately starch in flour preparations with those additives.

- Received April 15, 1988 -

1 緒 言

わが国に輸入される小麦粉調製品は、小麦粉に砂糖、スキムミルク、塩などを加えた種々の組成のものがあり、その用途もパン、めん、菓子など多種にわたっている。

このような調製品は、組成により関税率表上の分類や輸入制度上の取り扱いが異なるため、構成材料の定量分析が重要な分析項目となっている。

でん粉の定量法としては塩酸によりでん粉を分解し、生成したぶどう糖量から計算により求める方法が一般的である。しかし、この方法ではほとんどの小麦粉調

製品に含まれている砂糖の構成糖である果糖の分解により正確なでん粉量を定量できない。そのため、砂糖を含む小麦粉調製品でのん粉定量に当たっては、でん粉を選択的に分解する酵素による方法を用いなければならない。一方、小麦粉調製品のように多成分を共存する場合、でん粉の酵素分解による影響についての詳しい報告は見当たらない。

ここでは、酵素により小麦でん粉を分解する条件について検討し、さらに得られた条件により小麦粉調製品中でのん粉定量を行い、添加物の影響について検討したので報告する。

*東京税関輸入部分析部門 〒108 東京都港区港南 5-5-30

2 実 験

2.1 試料及び酵素

a) 試 料

外国産小麦粉

Canada Western, カナダ産, パン用 (以下 CW と略す)

Dark North Spring, アメリカ産, パン用 (以下 DNS と略す)

Primary Hard, オーストラリア産, パン用 (以下 PrH 略す)

Western White, アメリカ産, 菓子用 (以下 WW と略す)

小麦でん粉 (和光純薬, Practical Grade)

小麦粉調製品

- 1 CW85 にグラニュー糖 15 を加えたもの
- 2 CW85 にスキムミルク 15 を加えたもの
- 3 CW85 にグラニュー糖 10 及びスキムミルク 5 を加えたもの
- 4 CW85 に大豆油 5, 食塩 5 及び重曹 5 を加えたもの
- 5 WW85 にグラニュー糖 15 を加えたもの
- 6 WW85 にスキムミルク 15 を加えたもの
- 7 WW85 にグラニュー糖 10 及びスキムミルク 5 を加えたもの
- 8 WW85 に大豆油 5, 食塩 5 及び重曹 5 を加えたもの

b) 酵素等

- o グルコアミラーゼ (from *Rizopus niveus*, 35.0 あるいは 37.8 U / mg, 生化学工業)

(Unit Definition: One unit causes the formation of 10mg of glucose from soluble starch in 30 min at 40 °C, pH4.5.)

- o α -アミラーゼ (from *Bacillus subtilis*, 750U/mg, 生化学工業)

(Unit Definition: One unit causes the formation of reducing sugars equivalent to 1 μ mole of glucose from soluble starch per minute at 40 °C, pH6.0.)

- o 0.2M 酢酸緩衝溶液 (酵素溶解用): 関税中央分析所参考分析法 No.24¹⁾ による。

2.2 でん粉分解条件の検討

a) 化条件

でん粉の 化は熱による方法とアルカリによる方法がある。このうち熱による方法は長谷等の報告²⁾によるとオートクレーブを必要とするため、税関分析には適さないと考えられるので、 化はアルカリによる方法で行った。

アルカリによる 化は、10 規定水酸化ナトリウム溶液を用いることが一般的³⁾であるが、pH 調製等の取り扱いに注意が必要であるので、2 規定水酸化ナトリウム溶液を用い、試料のアルカリ濃度を変えないように使用量を変更した。実際には、小麦粉 100mg を 10ml 蒸留水に分散し、2 規定水酸化ナトリウム溶液 2ml を加え、45 °C で 化し、 化時間について検討した。

b) 酵素の種類による収率の比較

でん粉分解酵素には、種々のものがあるが、ここではグルコアミラーゼ、 α -アミラーゼ及び 2 種の酵素の混合物 (Table 1) を使用して小麦でん粉 100mg を 化した後、45 °C で 2 時間糖化し収率の比較を行った (Table 2)。

c) 酵素量と糖化時間について

小麦でん粉 100mg を 化後、グルコアミラーゼ及び α -アミラーゼの混合酵素により 45 °C で糖化し、酵素量と糖化時間との関係性を求めた。

2.3 小麦でん粉及び外国産小麦粉の組成

2.2 a)~b) で求めた最適条件を用いて小麦でん粉及び外国産小麦粉の でん粉量を定量した。また、でん粉以外の組成についても定量した。

粗たんぱく質はケルダール法により窒素を定量し、係数 5.70 を乗じて求めた。水分は 80 °C 真空乾燥法、糖質はハーネス法、粗脂肪はソックスレー抽出法、灰分は 550 °C 灰化法によりそれぞれ定量した。

2.4 小麦粉調製品中のでん粉の定量

上記 2.2 a)~c) で求めた最適条件を用いて小麦粉調製品についてでん粉を定量し、添加物の影響について検討した。

小麦粉調製品約 100mg を 30ml 容の三角フラスコに秤量し、10ml の蒸留水に分散させ、2 規定水酸化ナトリウム溶液 2ml を加え攪拌後、酵素溶液 1ml

酵素法による小麦粉調整品中でのん粉の定量

(グルコアミラーゼ 50U, α -アミラーゼ 1000U) を加 45℃ で糖化する。2 時間後, 200ml 容メスフラスコに定容し, そのうちの 5ml についてハーネス法により総糖量をぶどう糖として定量する。別に直接還元糖をぶどう糖として定量し, 総糖量から差し引き, その値に 0.9 を乗じた値をでん粉とする。

Table 1 Composition of enzyme solution for starch hydrolysis

Enzyme NO	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Glucosylase (U)	50	100	250	0	0	0	0	0	0
α -Amylase (U)	0	0	0	1000	2000	5000	500	1000	2000

Note: U cited as unit of enzyme activation

Table 2 Effect of enzyme activities on starch hydrolysis

Enzyme NO	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Glucosylase (U)	50	100	250	0	0	0	0	0	0
α -Amylase (U)	0	0	0	1000	2000	5000	500	1000	2000
Starch Recovery (%)	73.3	77.6	74.4	42.4	47.5	53.8	97.5	100	100

が最大のものである。また, α -アミラーゼは酵素量を増加させると収率もわずかに増加する傾向が見られる。グルコアミラーゼと α -アミラーゼとのユニットの定義が異なるため両酵素の力価による比較はできないが, 混合酵素の場合, 単独酵素では得られない収率を示しており, 長谷等の報告¹⁾のとおり酵素は単独よりも混合したもののほうが良好な結果が得られるものと思われる。

c) 酵素量と糖化時間

3 結果及び考察

3.1 でん粉分解条件の検討

a) 化時間

小麦でん粉の 化時間とでん粉の収率との関係を Fig. 1 に示す。5 分間から 2 時間までの 化時間では, 収率に変化はなかった。

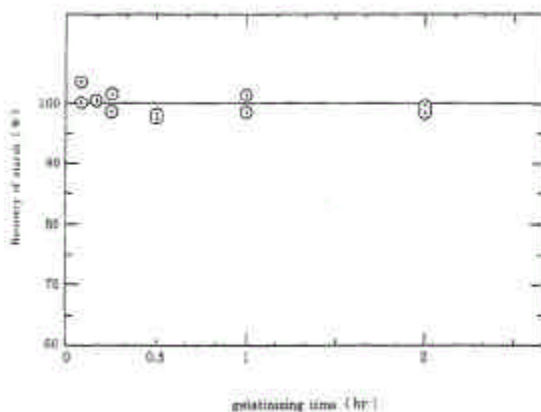


Fig. 1 Effect of gelatinizing time (hr)

b) 酵素の種類によるでん粉の収率

酵素の種類による収率の比較を Table 2 に示す。

単独酵素の場合, グルコアミラーゼは, 酵素量を増加させてもでん粉収率の増加は見られず, 75%程度

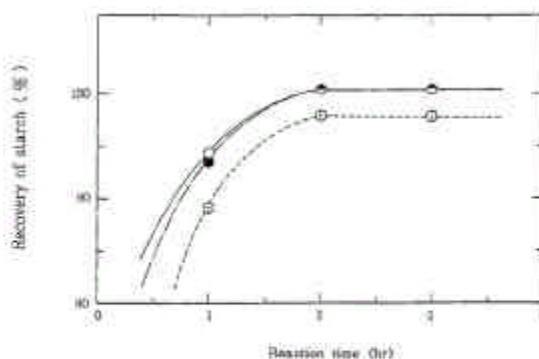


Fig. 2 Effect of reaction time and amount of enzyme

---○--- Glucoamylase 100 u + α -Amylase 2000 u
 —●— Glucoamylase 50 u + α -Amylase 1000 u
 —○— Glucoamylase 25 u + α -Amylase 500 u

酵素量と糖化時間との関係を Fig. 2 に示す。グルコアミラーゼ 25U, α -アミラーゼ 5000U の混合酵素では, 糖化力が不足していることがわかる。グルコアミラーゼ 50U, α -アミラーゼ 1000U の混合酵素とグルコアミラーゼ 1000U, α -アミラーゼ 2000U の混合酵素は, 2 時間以後の場合でん粉の収率が一致する。また, いずれの混合酵素でも 2 時間以後では収率は一定になる。

3.2 試料の組成

外国産小麦粉のでん粉定量値を Table 3 に示す。標準偏差は 0.3～1.13 となり良好な結果が得られた。

Table 3 Contents of starch in wheat flour

Starch	Wheat	CW*	DNS*	WW*	PrH*
	Max.	70.1	70.7	74.7	72.3
	Min.	69.2	68.4	73.3	68.3
	Ave.	69.5	69.5	74.1	70.5
SV		0.300	0.771	0.469	1.134

* CW : Canada Wester DNS : Dark North Spring
WW : Western White PrH : Primary Hard

小麦でん粉と外国産小麦粉の組成を Table 4 に示す。定量値の合計が 100%にならないのは、繊維及びペントサン等の多糖質が含まれているためと考えられる。

Table 4 Analytical results of starch content in wheat flour

	Wheat Starch	CW	DNS	WW	PrH
Starch	(%) 85.0	(%) 69.5	(%) 69.5	(%) 74.1	(%) 70.5
Protein	0.3	12.8	13.4	9.2	11.2
Reducing sugars*	0.2	2.3	2.8	1.6	1.8
Sucrose	Trace	0.3	0.3	0.9	0.8
Fat	0.2	1.2	1.2	1.2	1.0
Ash	0.2	0.4	0.4	0.4	0.5
Water	12.9	11.3	10.9	9.6	10.1
Total	98.8	97.8	98.5	97.0	95.9

* Calculated as maltose

3.3 小麦粉調製品中のでん粉定量における添加物の影響

CW を原料とした小麦粉調製品中のでん粉を定量し、その収率を Table 5 に、また WW を原料としたときの収率を Table 6 に示す。いずれの場合も、収率はほぼ 100%でありばらつきも小さく良好な結果が得られ

た。

Table 5 Effect of additives on determination of starch in wheat flour preparation

Additives	Sucrose	Skim milk	Sucrose and skim milk	Soybean oil, salt and Na-bicarbonate
Recovery (%)				
Max.	100.5	100.8	99.5	100.0
Min.	99.3	97.5	97.6	99.0
Ave.	100.0	99.7	98.8	99.5
SV	0.537	1.232	0.598	0.371

Wheat flour : Canada Western

小麦粉に砂糖、スキムミルク、大豆油、食塩、重曹などの添加物が含まれていてもでん粉の定量には影響がなかった。

Table 6 Effect of additives on determination of starch in wheat flour preparation

Additives	Sucrose	Skim milk	Sucrose and skim milk	Soybean oil, salt and Na-bicarbonate
Recovery (%)				
Max.	101.9	100.9	100.3	101.7
Min.	101.4	99.1	99.0	101.0
Ave.	101.6	99.5	99.5	100.1
SV	0.156	0.333	0.456	0.317

Wheat flour : Western White

4 要 約

小麦粉調製品中のでん粉の定量について、検討を行い、次のような知見が得られた。

(1) でん粉の定量としては、化をアルカリで 45℃、15 分間行い、pH 調整後、糖化をでん粉 100mg に対し酵素溶液 グルコアミラーゼ 50U と α-アミラーゼ 1000U を混合したものを加えて 45℃、2 時間行うことが適当であった。

(2) 本法では、砂糖、スキムミルク、食塩、大豆油、重曹などの添加物が含まれていてもでん粉の定量には影響がなかった。

終りに、試料の小麦粉を御提供頂いた製粉協会製粉研究所の渡辺修氏に感謝致します。

酵素法による小麦粉調整品中のでん粉の定量

文 献

- 1) 関税中央分析所参考分析法 No.24 「でん粉のアルファー化度の測定法」：大蔵省関税中央分析所（1987）
- 2) 長谷 幸・安井 健：食品総合研究所研究報告 36，98（1980）
- 3) 鈴木繁男・中村道德：澱粉科学実験法 P171～P173 1979（朝倉書店）