

ノート

ヒドロキシプロピルでん粉の分析

米田 安彦, 黒谷 健治*

Analysis of Hydroxypropyl Starch

Yasuhiko YONEDA Kenji KUROTANI*

*Kobe Customs Laboratory
12-1, Shinko-cho, Chuo-ku, Kobe-shi, 650 Japan

The measurement of substitution degree of starch and hydroxypropyl starch mixture by determining propionaldehyde produced by vitriolization was studied.

It has been able to discriminate whether it is a mixture or not by getting differences of reaction behavior of starch against hydrolysis enzyme.

By applying this method, it is able to calculate substitution degree of hydroxypropyl starch in the mixture of the hydroxypropyl starch and starch or dextrin.

1 緒 言

でん粉及びでん粉誘導体は食品工業等において広く用いられており、また輸入量も多く税関分析にとって重要な分析品目のひとつである。これらは、化学変性の程度、その含有量により関税率表上、及び輸入制度上の取り扱いが異なっている。また食品製造などに用いるため輸入されるヒドロキシプロピルでん粉に、化学変性を受けていないでん粉（以下「でん粉」という）が混入されている可能性も否定できない。しかし現在のところ関税中央分析所・参考分析法 No.28 では、ヨウ化水素酸分解によって生成するプロベンの検出による定性法のみ¹⁾を規定しており、定量的な分析法は規定されていない。

そこで今回ヒドロキシプロピルでん粉について、硫酸分解生成物の吸光度測定、加水分解酵素に対する挙動の相異から、置換度の測定法、でん粉混入の判別法、ならびにでん粉が混入されている場合のヒドロキシプロピルでん粉自体の置換度、及びその含有量の定量法について検討したので報告する。

2 実 験

2.1 試薬・装置

2.1.1 試 薬

試 料：タピオカでん粉、タピオカヒドロキシプロピルでん粉（松谷化学工業製）

酵 素：グルコミラーゼ（活性度32.6u/mg、生化学工業製）

指示薬：ニンヒドリン指示薬（5%亜硫酸水素ナトリウム水溶液に溶かして3%ニンヒドリン溶液をつくる）

その他：濃硫酸 1N 硫酸 プロピレングリコール（特級）

0.2M酢酸緩衝液（グルコミラーゼの溶媒に使用する）

除たん白剤（2%硫酸亜鉛、1.8%水酸化バリウム）

HPLC 用内部標準液（2.5%イソブチルアルコール水溶液）

ぶどう糖（特級）

脱塩水（以下単に「水」という）

2.1.2 装 置

日立 U-2000型ダブルビーム分光光度計

日立 L-6000型高速液体クロマトグラフ

2.2 タピカでん粉、タピオカヒドロキシプロピルでん粉の精製

関税中央分析所参考分析法 No.28、4・2による。

2.3 プロピオンアルデヒドの濃度と吸光度の関係（検量線）

2.3.1 約500mgのプロピレングリコールを精秤して水で1リットルとする。

*神戸税関業務部分析部門 〒650 神戸市中央区新港町12-1

2.3.2 これより1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5mlとり水で50mlに定容(10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml)する。

2.3.3 1mlをホールピペットで採り, 25mlメスフラスコにいれる。

2.3.4 メスフラスコを氷浴中に浸し, 濃硫酸 8mlを滴下し氷浴中でよく混合する。

2.3.5 沸騰浴中で3分間加熱し, 冷水で十分に冷却する。

2.3.6 冷水につけた状態で, 壁面をつたわらすように0.6mlニンヒドリン溶液を素早く添加し, 直ちによく混合し, 25°C恒温槽で100分間置く。

2.3.7 濃硫酸で定容後, 素早くセルに移し5分後に590nmにて比色定量する。

(プロピレングリコールの採取量より, 正しい濃度を出しておく。ブランクとして水を用いる。)

このようにして得られた検量線を Fig.1 に示す。相関係数=0.999 良好な直線性を示した。

2.4 混合でん粉のd.s値の測定

でん粉とヒドロキシプロピルでん粉(d.s=0.107)を表の割合で混合した物の, 見かけ上の置換度について計算値と実測値を Table. 1に示す。それぞれ計算値に対し実測値は極近い値になった。

Table 1 Substitution degree of mixture of hydroxypropyl starch and raw starch(Dry base)

starch added	hydroxypropyl group in starch(ds 0.107) added	calculated	analyzed
g	g		
0.1010	0.0000	0.000	0.000
0.0900	0.0105	0.011	0.010
0.0804	0.0206	0.022	0.021
0.0703	0.0301	0.032	0.030
0.0299	0.0703	0.075	0.075
0.0102	0.0903	0.096	0.097
0.0000	0.1005	0.107	0.108

2.4.1 試料100mg~150mgを精秤し, 100mlメスフラスコに採る。

2.4.2 1N硫酸を25ml加え, 沸騰浴中で透明になるまで加熱する。

2.4.3 冷却水で100mlに定容する。

2.4.4 以下2.3.3と同様に操作し置換度を求める。(ブランクとしてでん粉を用いる。)

$$HP\% = \frac{r \times 0.7763}{\text{サンプル (g)} \times (100 - \text{水分率})}$$

$$d.s = \frac{162 \times HP\%}{5,900 - 58 \times HP\%}$$

HP% ヒドロキシプロピル基重量%

r 検量線からの計算値 (µg/ml)

(注) 25倍に希釈しているのでこの計算値を25倍する。

0.7763 ここではヒドロキシプロピル基をプロピレングリコールとして測定している。従って $59 \div 76 = 0.7763$

162 でん粉の1単位 (ぶどう糖残基) の分子量

2.5 ぶどう糖の生成量と置換度の関係

6種類の置換度のヒドロキシプロピルでん粉, でん粉, 及びヒドロキシプロピルでん粉とでん粉の混合物(以下「混合でん粉」という)を酵素液(グルコアミラーゼ 8.3units/ml)で加水分解し, 生成したぶどう糖を高速液体クロマトグラフで定量し, でん粉の分解率と置換度の関係を検討した。

2.5.1 精製した試料100mgを精秤し, 30ml共栓付き三角フラスコに採る。

2.5.2 水を10ml加え, 冷却管をつけ沸騰浴中で1時間加熱し, α化する。

2.5.3 常温まで冷却後, 酵素液を4ml添加し37°Cで2.5時間加水分解する。

2.5.4 除たん白後, 内部標準を加え水で25mlメスフラスコに定容しHPLCで生成したぶどう糖を定量し, 分解されたでん粉量を求める。

分解% = 生成したぶどう糖% × 0.9

6種の置換度のヒドロキシプロピルでん粉を, 酵素液で加水分解したときの置換度と分解率の関係を Fig. 2に示す。

置換度 0.107 のヒドロキシプロピルでん粉をもととした混合でん粉を酵素液で加水分解したときの置換度と分解率の関係を Fig. 3に示す。

Fig. 2と Fig. 3を重ねて Fig. 4に示す。

置換度 0.073 のヒドロキシプロピルでん粉をもととした混合でん粉を酵素液で加水分解したときの置換度と分解率の関係を Fig. 2を重ねて Fig. 5に示す。

2.6 分解時間と分解率の関係

置換度 0.073 のヒドロキシプロピルでん粉をもととした混合でん粉を, 酵素液でそれぞれ2.5時間と4時間かけて分解し, 分解率の比較をしたものを Table. 2に示す。

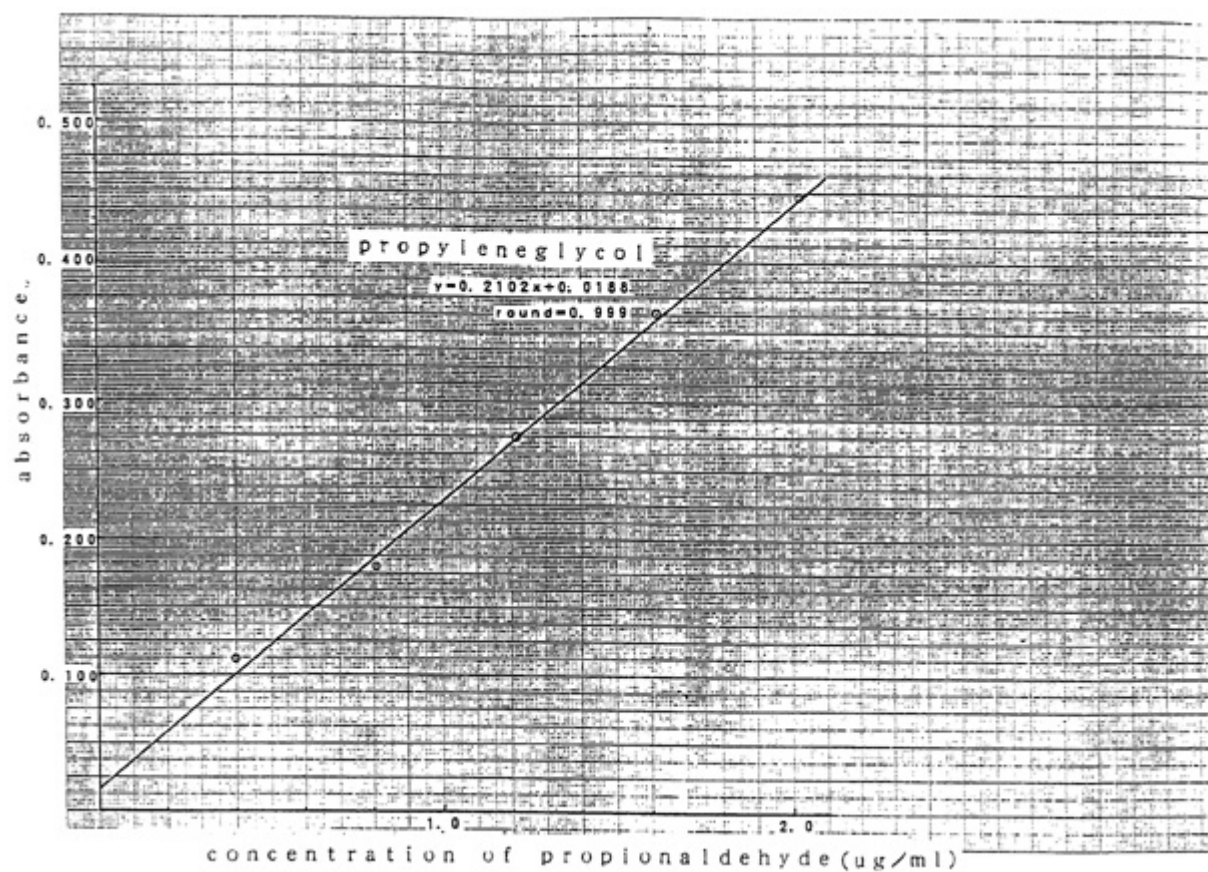


Fig. 1 Relationship between concentration of propionaldehyde and absorbance

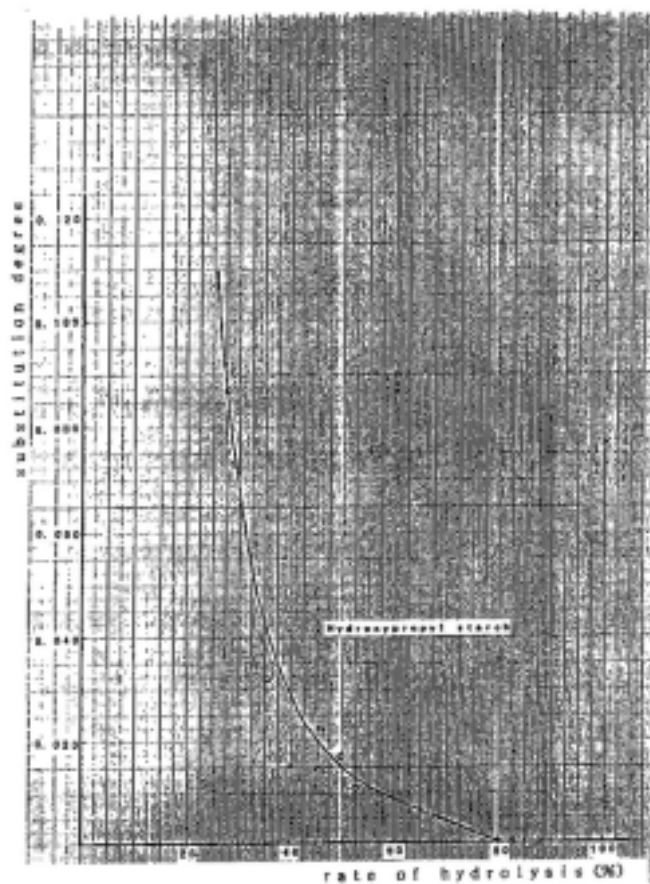


Fig. 2 Relationship between substitution degree and rate of hydrolysis by glucoamylase

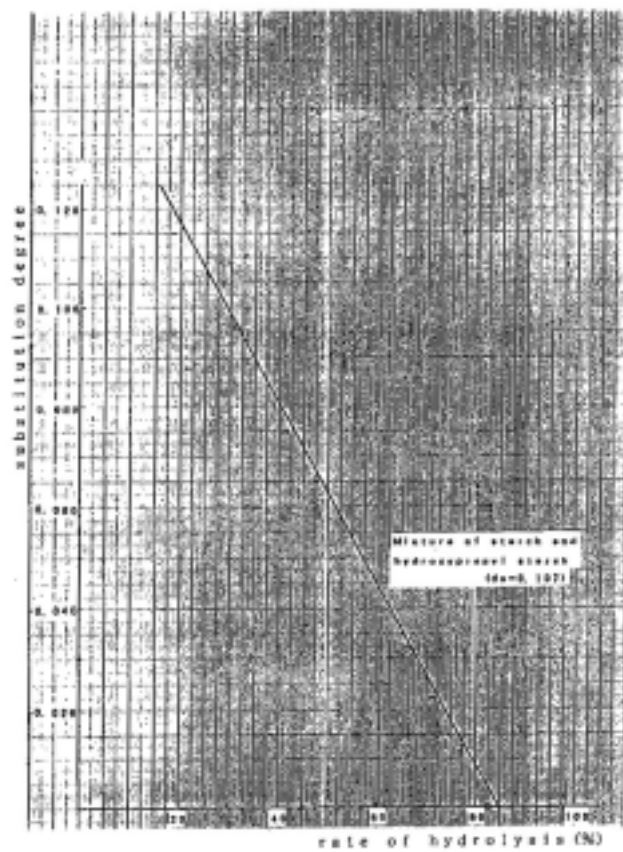


Fig. 3 Relationship between substitution degree and rate of hydrolysis by glucoamylase

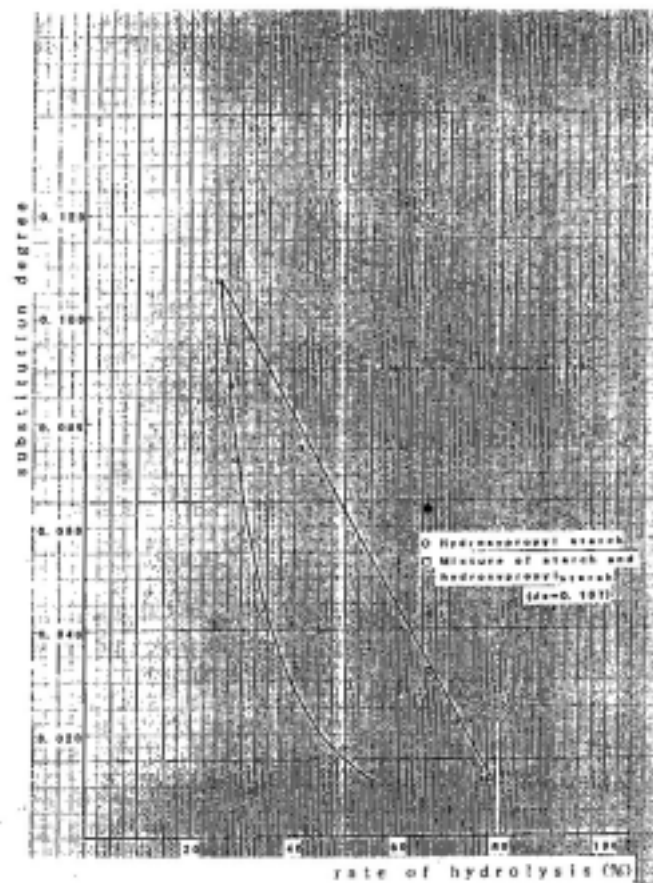


Fig. 4 Relationship between substitution degree and rate of hydrolysis by glucoamylase

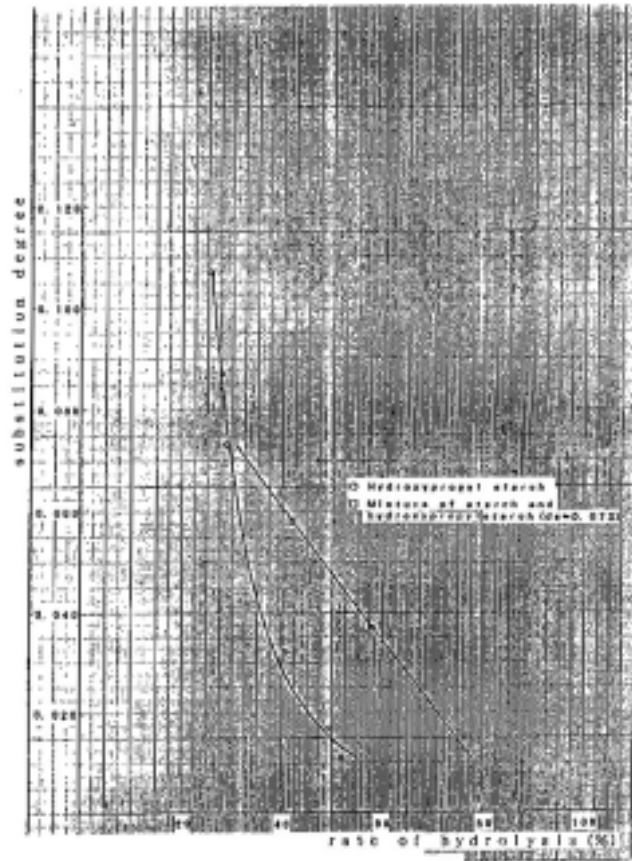


Fig. 5 Relationship between substitution degree and rate of hydrolysis by glucoamylase

3 結 果

Fig. 2 より、ヒドロキシプロピルでん粉は置換度が高ければ分解率は下がり、低いと上がるが、その変化は曲線（べき乗回帰曲線に近似）を示し比例していない。

Fig. 3 より、混合でん粉の見かけ上の置換度と分解率は反比例し変化は直線を示す。

Fig. 4 より、見かけ上は、同じ置換度でも分解率が違うので混合でん粉か否かの判別は可能である。このような差が生じるのは、混合でん粉中のでん粉は 80%以上分解されるが、ヒドロキシプロピルでん粉は、低置換度のものでも 50~60%程度しか分解されないためと考えられる。

またヒドロキシプロピルでん粉の分解率曲線と混合でん粉の分解率直線の交点は、混合でん粉を作る際に使用したヒドロキシプロピルでん粉の置換度に一致している。

Fig. 5 で示されている様にやはり混合でん粉のもとになったヒドロキシプロピルでん粉の置換度付近で接近している。これは、混合でん粉中のヒドロキシプロピルでん粉の置換度、及びその混合比率を求め得ることを示唆している。

Fig. 6 で示すが、1) ヒドロキシプロピルでん粉をスタンダードにして分解率曲線を作成、2) 輸入試料などと、原料でん粉で 2 点検量線をひき、先の分解率曲線との交点から置換度を、また横軸の値からサンプルの分解率を求め得る。3) 次にその置換度に極近い置換度のヒドロキシプロピルでん粉をもとに混

Table 2 Relationship between substitution degree and rate of hydrolysis measured by glucoamylase method

reaction time	2.5 hour	4.0 hour
ds	rate of hydrolysis	rate of hydrolysis
0.0076	78.92%	79.64%
0.037	58.40%	58.69%
0.058	42.01%	42.42%

合でん粉を作って分解率直線を作成し、サンプルの混合比率を算出できる。

Table. 2 より、分解時間が 2.5 時間と 4 時間では分解率に大きな差は認められない。

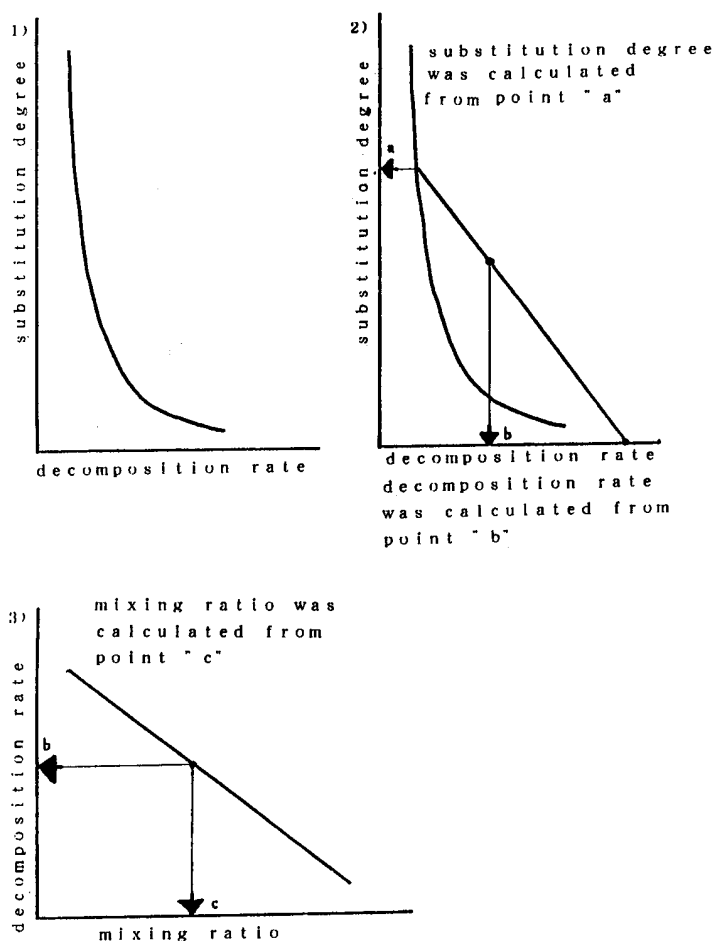


Fig. 6 How to calculate the substitution degree and mixing ratio

4 考 察

ヒドロキシプロピルでん粉の分解率変化が直線的でなく、混合でん粉では直線的になるのは酵素の作用特性によると考えられる。グルコアミラーゼの作用特性は、でん粉分子にグルコアミラーゼが付着してこれを分解するとき、ぶどう糖残基を1つずつ分解して離れるときもあれば、一度に数箇所の結合を切ることもある。よって被置換ぶどう糖残基が隣接していると切ることができない。このような事は、高置換度のものほど起こる可能性が高いので、ヒドロキシプロピルでん粉の分解挙動は、直線的にならない。

これに対して混合でん粉は、含有されるでん粉の量により分解率がほぼ決定するのでその変化はヒドロキシプロピルでん粉

の含有率に反比例し、直線的になると考えられる。

5 要 約

硫酸分解生成物の定量による置換度の測定法、加水分解酵素に対する挙動の比較によるでん粉混入の判別法、また混合でん粉中のヒドロキシプロピルでん粉の置換度とその混合比率を求める方法が得られた。

6 謝 辞

標準試料の収集、参考意見をいただいた松谷化学工業(株)研究所稲田氏に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 関税中央分析所参考分析法 NO. 28, 5・2 (1989)
- 2) 関税中央分析所所報 NO. 30, P 57 (1991)