

ノート

こんにゃく粉調製品中のこんにゃく粉の定量

中村 文雄*，笹谷 隆*

Determination of Konjac Powder in Konjac Preparation

Fumio NAKAMURA* and Takashi SASATANI*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba 271-0076, Japan

A major component of the Konjac powder is well known to be a glucomannan and the acid hydrolysis of glucomannan gives mannose and glucose. And it can calculate that Konjac powder content in mixture of Konjac powder and starch based on mannose content given by the acid hydrolysis. Appropriate hydrolysis conditions were: acid concentration, 2N sulfuric acid; hydrolysis time, 5 hours; substrate concentration, 0.5% (w/v); neutralizing reagent, barium carbonate. Mannose content was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). This method showed a good repeatability and recovery.

1. 緒 言

近年の健康食品ブームに伴い、低カロリーで整腸作用を持つこんにゃく粉を混入した調製食品(例えばこんにゃくラーメン、こんにゃくそうめん、こんにゃくうどん、こんにゃくケーキ等)が多く製造され、その原料であるこんにゃく粉調製品(こんにゃく粉と小麦粉やでん粉等との混合物)も輸入されている。

これらは、原則的には、こんにゃく製造試験により、こんにゃくの製造が可能であれば税番第 1212.99 号に分類され、関税暫定措置法で規定する数量以外は高関税(協定税率 2,878.17 円/kg)が課され(こんにゃく芋は、1994 年マラケシュ協定を受け、我が国では 1995 年 4 月から、関税化された)、製造が不可能であれば他の号(主に税番第 1901.90 号)に分類され、低関税が課される。しかし、こんにゃく粉の含有量もそれを決定する重要な要素となっている。

こんにゃく粉と混合されるものが小麦粉等のように、比較的たんぱく質を多く含有するものについては、ケルダール法により窒素含有量を定量することにより、こんにゃく粉含有量を算出することが可能であるが、たんぱく質をほとんど含有しないでん粉等との混合物の場合はケルダール法によっては、不可能である。

したがって、そのような場合は、試料を加水分解し、生成したマンノースを定量することにより、こんにゃく粉含有量を算出している。しかし、その加水分解条件やマンノースの定量方

法については十分に検討されているとはいえない^{1)~4)}。

そこで、我々は、それらについて、更に検討したので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬並びに装置

2.1.1 試 料

こんにゃく粉：国産、中国産、台湾産

とうもろこしでん粉：試薬(和光純薬工業製)

2.1.2 試 薬

D(+) - Mannose：試薬特級(和光純薬工業製)

D(+) - Glucose：試薬特級(和光純薬工業製)

D - Sorbitol：試薬(東和化成工業製)

H₂SO₄：試薬特級(和光純薬工業製)BaCO₃：試薬特級(和光純薬工業製)

2.1.3 装置及び測定条件

HPLC : HP - 1100 System (Hewlett Packard 製)

カ ラ ム : MCI GEL CK08EC (8mmI.D. × 300mm)

移 動 相 : H₂O

流 速 : 0.6ml / min

恒温槽温度 : 75

検 出 : RI

注 入 量 : 50 μl

* 大蔵省関税中央分析所 〒271-0076 千葉県松戸市岩瀬 531

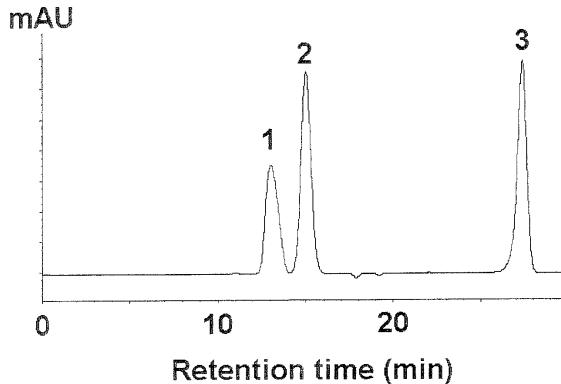


Fig.1 Chromatogram of a standard solution

Chromatographic conditions were described in 2.1.3
 Peaks in order of appearance: 1, glucose ; 2, mannose ;
 3, sorbitol

2.2 実験方法

2.2.1 HPLCによるマンノースとグルコースの分離度及び定量性の確認

前記 2.1.3 の条件により、マンノース、グルコース及び内標準物質としてソルビトールを HPLC に導入し、それらの分離度及び定量性について確認する。

2.2.2 酸加水分解物の中和方法の検討

これまで、こんにゃく粉の酸加水分解物の中和剤として水酸化バリウムが用いられてきたが、ここでは中和剤として炭酸バリウムを検討した。

2N 硫酸を炭酸バリウムで中和し、No.5C のろ紙でろ過後、イオン交換フィルタ-IC-SP 及び $0.45 \mu\text{m}$ メンブランフィルターに順次通し、HPLC に導入し、夾雑物による影響を検討する。

2.2.3 加水分解手順

こんにゃく粉及び調製品の加水分解手順は以下のとおりである。

200ml なすフラスコに試料を内壁面に付着しないように（固体ろうと又はガラス管等を用いればよい）一定量精粹し、規定濃度の硫酸 10ml を加え、液面が動搖しないように静かにかくはんし 5 分間静置する。静置後、さらに規定濃度の硫酸 40ml を追加し（ここではかくはんしない）、空気冷却管を取り付け、沸騰水浴中で一定時間加熱する。一定時間後、冷却し、内標準物質としてソルビトールを加え、よく混合する。混合液約 10ml を 50ml の三角フラスコに採り、炭酸バリウムを加え中和する。懸濁液を No.5C のろ紙でろ過後、イオン交換フィルター IC-SP 及び $0.45 \mu\text{m}$ メンブランフィルターに順次通し、HPLC に導入し、内標準法によりマンノース及びグルコースを定量する。得られたマンノース及びグルコースの定量値の和に 0.9 を乗じたものを得られたグルコマンナン量として、試料のグルコマンナン量（試料から水分、灰分及び粗たんぱく分を減じたもの）に対する割合を分解回収率とした。

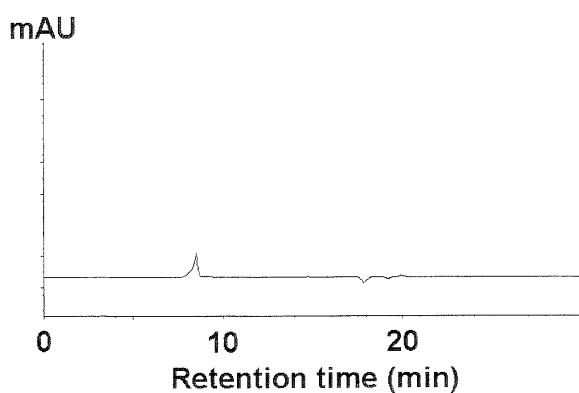


Fig.2 Chromatogram of a neutralized solution with barium carbonate

Chromatographic were same as Fig.1

2.2.4 硫酸濃度及び試料濃度の最適加水分解条件の検討

硫酸濃度 0.5N, 1N, 2N 及び 3N について、試料濃度 0.2, 0.5 及び 1.0% (w/v) について、分解回収率を求め、最適加水分解条件を検討した。試料には国産こんにゃく精粉を用い、6 時間加水分解を行った。

2.2.5 加水分解時間の検討

2.2.4 で決定した最適加水分解条件で分解時間を 2 時間から 12 時間まで変え、同様に分解回収率を求め、最適加水分解時間を検討した。

2.2.6 各種こんにゃく粉の分解回収率

各種こんにゃく粉を最適加水分解条件で分解し、同様に分解回収率を求めた。

2.2.7 模擬試料によるこんにゃく粉の定量

こんにゃく粉含有量が 40% になるようにこんにゃく粉とどうもろこしでん粉を混合したものを模擬試料とし、模擬試料及びこんにゃく粉をそれぞれ同時に、最適加水分解条件で分解し、各々のマンノース量からこんにゃく粉含有率を求めた。

3. 結果と考察

3.1 HPLCによるマンノースとグルコースの分離度及び定量性の確認

こんにゃく粉の主成分は、グルコマンナンであり、グルコマンナンはグルコースとマンノースからなる多糖類である。グルコースとマンノースの比は、文献により 1:2 あるいは 2:3 と報告されている^{5,6)}。したがって、こんにゃく粉を加水分解するとグルコースとマンノースが生成し、これらを分離定量できる HPLC 条件を検討した。

糖混合液のクロマトグラムを Fig.1 に示す。各糖濃度はマンノース 0.12% (w/v), グルコース 0.08% (w/v), ソルビトール 0.12% (w/v) である。マンノースとグルコースの分離度 R_s は 1.59

であった。各糖とソルビトール（内標準物質）との面積比はマンノースについて平均値 0.9934($n=5$)変動係数 0.20%、グルコースについて平均値 0.6691($n=5$)変動係数 0.10%であり、良好な繰返し精度を示した。マンノースについては 0.03%~0.3% の濃度範囲において濃度比とピーク面積比との関係は、相関式： $Y = 0.99066X - 0.00048$ （相関係数 $R^2 = 0.999998$ ）、グルコースについては 0.02%~0.2% の濃度範囲においては、相関式： $Y = 1.00210X - 0.00136$ （相関係数 $R^2 = 0.999998$ ）となり、いずれも原点付近を通る良好な直線性を示した。

3.2 酸加水分解物の中和方法の検討

炭酸バリウムは水に対する溶解度が小さく、酸には発泡しながら溶解する。そのため中和点の判定に指示薬等を使用する必要が無く、HPLCにおいて供試物による影響が抑えられ、過剰に加えたとしてもバリウムイオンの影響も小さいと考えられる。

2N 硫酸を炭酸バリウムで中和したもののクロマトグラムを Fig.2 に示す。保持時間 8 分付近に微小なピークが見られるが、マンノース、グルコース及びソルビトールの保持時間付近は安定なベースラインを示し、中和剤として炭酸バリウムが適当であると考えられる。

3.3 加水分解手順による繰返し精度

こんにゃく粉は水により膨潤し、粘着性を有するようになる。そのため、酸を加えた直後にフラスコの上部内壁に付着すると、それ以後酸による加水分解が進まなくなり、分解回収率が小さくなる。また、当然付着量も一定ではなく繰返し精度が悪くなる。しかし、ある程度加水分解が進み低分子化すると、粘着性も小さくなり、良好な分解回収率及び繰返し精度が得られると考えられる。

そこで、今回行った方法では、まず、固体ろうと等を用いこんにゃく粉粉末がフラスコ内壁に付着することを防ぎ、次に一部分量の酸で、ある程度加水分解を進めることにより粘着性を低下させ、その後、酸を追加し、良好な結果を得ようとした。

国産こんにゃく粉を 2.2.3 による加水分解手順で分析した分解回収率は、平均値 89.6%($n=5$)変動係数 1.5% であり、良好な繰返し精度を有した。こんにゃく粉加水分解物のクロマトグラムの一例を Fig.3 に示す。

Table 1 Recovery of hydrolysis

Concentration of sample (%)	Concentration of sulfuric acid (N)			
	0.5	1	2	3
0.2	75.3%	89.6%	91.8%	91.9%
0.5	na	89.7%	92.5%	na
1.0	na	na	90.4%	na

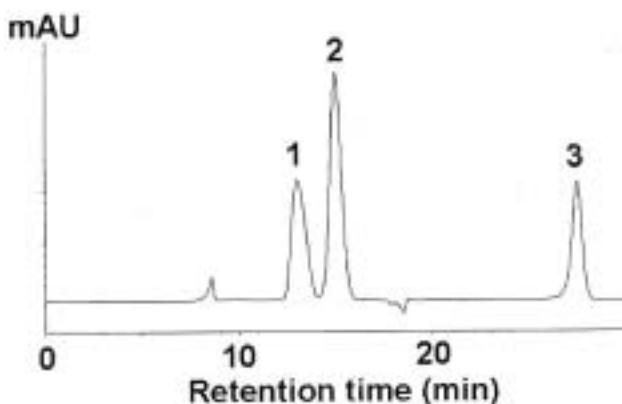


Fig.3 Chromatogram of a hydrolyzed Konjac powder

Chromatographic conditions were same as Fig.1

Peaks in order of appearance: 1, glucose; 2, mannose; 3, sorbitol

3.4 硫酸濃度及び試料濃度の最適加水分解条件の検討

各種硫酸濃度及び試料濃度における分解回収率を Table 1 に示す。

まず、試料濃度 0.2%について硫酸濃度を変化させると、酸濃度が大きくなるほど分解回収率が大きくなかった。しかし、3N 硫酸では、中和に伴う硫酸バリウムの沈殿が多量に生じ、その後の操作が困難となるため、硫酸濃度は 2N を最適とした。

次に、硫酸濃度 2N について試料濃度を変化させると、0.5% (w/v)のときに分解回収率が最大となった。これは試料濃度が大きいと酸中で膨潤するときに大きな塊となり、分散性が悪くなり分解回収率が低くなったものと考えられる。したがって、試料濃度 0.5% (w/v)を最適とした。

3.5 加水分解時間の検討

3.4 で決定した最適条件で加水分解時間を変化させ、経時変化を調べた (Fig.4)。ほぼ 4 時間で一定の分解回収率が得られたが、安全のため、5 時間を最適とした。

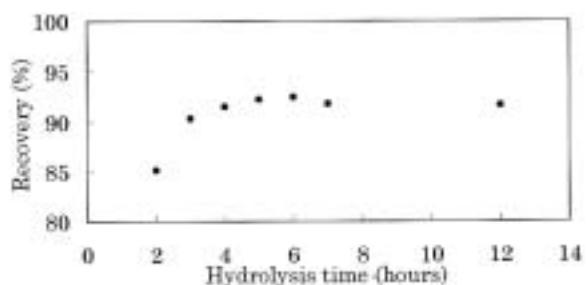


Fig.4 Change of recovery with hydrolysis time

3.6 各種こんにゃく粉の分解回収率

各種こんにゃく粉を前記最適加水分解条件で分解し、分解回収率を求めた (Table 2)。また、グルコマンナン量及びグルコースに対するマンノースの比についても併記した。

Table 2 Compositions and recoveries of Konjac powders

Origin	China	Japan	Taiwan
Glucomannan (%)	75.0	80.4	93.8
Moisture (%)	15.3	8.6	5.2
Ash (%)	3.0	5.7	0.4
Protein (%)	6.7	5.3	0.6
Recovery (%)	90.5	92.5	90.9
Mannose/Glucose	1.38	1.55	1.60

Table 3 Determination of Konjac powders in model sample

	Content of Konjac powder (%)		
	Actual	Measured	Recovery (%)
1	38.99	38.53	98.82
2	39.29	38.99	99.22
3	39.59	39.29	99.24
4	40.00	39.29	98.22
5	39.65	38.89	98.10
	Mean		98.72
	Standard deviation		0.5405
	Coefficient of variation		0.55%

各種についてグルコマンナン量に明確に差異があるが、分解回収率はすべて90%以上であった。したがって、混合前のこんにゃく粉の提示があれば、マンノースを定量することによりこんにゃく粉の定量が可能となる。

ここで、グルコマンナン量の差異は、生産地による差異ではなく、製法（精製度）による差異であると考えられる。

また、グルコースに対するマンノースの比がある程度グルコマンナン量と相関があるが、精製度が大きくなるに伴い、こんにゃく粉中のデン粉等が除かれたためと考えられる。

3.7 模擬試料によるこんにゃく粉の定量

模擬試料及びこんにゃく粉を前記最適加水分解条件で分解し、得られた各々のマンノース量から、模擬試料中のこんにゃく粉の定量を行い、実際の混合割合に対する回収率を求める、平均値98.7%($n=5$)、変動係数0.55%となり、良好な結果が得られた(Table 3)。

4. 要 約

今回、こんにゃく粉とデン粉の混合物中のこんにゃく粉の定量法について検討したが、加水分解条件として、試料濃度0.5% (w/v)、硫酸濃度2N、分解時間5時間是最適条件とした。完全分解は達成できなかったが、分解時間5時間以上でほぼ一定の分解回収率が達成されていることから、原料こんにゃく粉と同時に加水分解を行うことにより、こんにゃく粉の定量に関し良好な結果が得られた。

また、中和剤として、炭酸バリウムを用いることにより、妨害の無い安定したクロマトグラムが得られ、良好な定量精度が得られた。

ただし、こんにゃく粉とデン粉の混合物中のこんにゃく粉の定量に際し、加水分解中にいかにうまく酸中に分散させるかが、良好な定量性を確保する要因となるため、その操作には十分注意を要する。

文 献

- 1) 早野弘道、熊沢勉：関税中央分析所報、30, 39 (1991)
- 2) 竹内孝幸、藤田正憲、桐山文男、笠川邦雄、古賀哲：関税中央分析所報、37, 7 (1998)
- 3) 山内昌市、宮城好弘、赤崎哲也、平木利一、長井哲也：関税中央分析所報、39, 27 (2000)
- 4) 佐藤利夫、森谷昭彦、水口純、鈴木周一：日化誌、91, 1071 (1970)
- 5) K. Nishida, H. Hashimoto : J. Dept. Agr. Kyushu Imp. Univ. 2, 277 (1930)
- 6) F. Smith, H. C. Srivastava : J. Amer. Chem. Soc., 81, 1715 (1959)